女性ホルモン物質 (DES-Na) のニホンウナギに及ぼす 成長促進効果

佐藤 英雄, 二村義八郎

(1990 年 6 月 18 日受付)

Growth Promotion In Japanese Eel by the Oral Administration of an Estrogen (Diethylstilbestrol)

Hideo Satoh*¹ and Yoshihachiro Nimura*²

Oral administration of an estrogen, sodium diethylstilbestrol (DES-Na) was found to promote the growth in Japanese eel elvers when DES-Na was mixed with the basal feed at the level of 0.5-1.0 ppm; the higher the dose, the faster the growth. However, it retarded the growth when applied at the levels above 2.5 ppm. The elvers of 0.3 g grew to 22-28 g within 104 days at the temperature of 23.0-25.5°C when they fed on the feed having 1.0 ppm DES-Na; the final body weight was 2.7 times of that of control group. Including the control group, the specific daily growth rate in body weight ranged 0.033-0.044. The feed efficiency was 12-19% in terms of wet weight. Since the maintenance ration during the experimental period did not changed in spite of different mean body weight, DES-Na is thought to save the maintenance cost under the optimal application.

性ホルモンと成長との関係については, **androgen** は全身的な蛋白同化作用を持つことが認められ, 男性化作用の少ない蛋白同化ホルモンが開発されて, 臨床にも使用されている。¹⁾ 魚類でも適量の男性ホルモン²⁻¹⁰⁾および蛋白同化ホルモン^{11,12)}は成長促進作用を持つことが知られている。

estrogen では, 投与量・動物の種・生理条件などによって異なった結果が出されており, **androgen** のような強力な全身的蛋白同化作用は持たないと考えられていた。^{13,14)} しかし, 牛・羊などで **diethylstilbestrol (DES)** は, 強力な蛋白同化作用を持つことが知られ, 産業上利用されていた。¹⁵⁻²⁰⁾ 一方, **DES** は飼料への添加承認・承認取り消し・承認復活などの紆余曲折の末, 現在ではその発癌性の故にカナダ・日本・アメリカ合衆国で全面的に禁止されている。²⁰⁾ 1940年代から全面的に使用禁止(1979, 合衆国)されるまでに実施された **DES** の肥育効果に関する研究は, 他に類を見ないほど多数にわたり, かつ禁止後も発表が続ぎ, さらに **DES** に代わる肥育用ホルモン剤の開発にも比較参照されている。^{15,20)} しかし, 魚類では **estrogen** は成長促進効果を持たないとする報告が多く,^{4,9,21-24)} 効果を認めたものはわずかない。^{10,25)}

Table 1. Composition of basal feed

		Ratio
Commercial feed for eel		100
Fish meal	67%	
Potato starch	23%	
Soybean oil cake	3%	
Yeast & minerals	7%	
Vitamin mixture ¹⁾		2
Water		200

1) Contents of the vitamin mixture per kilogram

Vitamin A	500.00 K IU
Vitamin D	100.00 K IU
Vitamin E	3.00 g
Vitamin K ₃	.05 g
Vitamin B ₁	1.00 g
Vitamin B ₂	3.00 g
Vitamin B ₆	0.70 g
Vitamin B ₁₂	2.00 mg
Calcium D-pantothenate	4.00 g
Nicotinamide	10.00 g
Folic acid	.30 g
Choline chloride	70.00 g
D-Biotine	50.00 g
Calcium L-ascorbate	12.10 g

*¹ 東京大学農学部水産実験所 (Fisheries Laboratory, University of Tokyo, Maisaka, Hamana, Shizuoka 431-02, Japan).

*² 東京大学農学部水産学科 (Department of Fisheries, University of Tokyo, Yayoi, Bunkyo, Tokyo 113, Japan).

Table 2. Preliminary feeding test of DES-Na (July 3-Nov. 14, 135 days)

DES-Na in feed ppm	Survival rate (%)	Total feed given (kg)	Feed effi- ciency (%)	Condition of eels at the end of test					
				Total length (cm)		Body weight (g)		Condition factor (mg/cm ³)	
				mean	sd	mean	sd	mean	sd
0	81.0	7.38	13.58	22.5	3.32	13.6	10.55	1.05	.16
1.25	97.0	13.23	11.64	23.5* ³	2.49* ²	16.9* ²	6.07* ³	1.24* ³	.14* ²
2.5	78.0	8.67	8.84	21.3* ³	2.09* ³	11.1* ³	3.65* ³	1.11* ³	.17
12.5	27.0	2.84	4.28	18.6* ³	1.61* ³	8.2* ³	2.34* ³	1.22* ³	.07* ³

The initial number and mean body weight of eels were 100 and 1.0 g respectively.

*1, *2 and *3 show the data different from those of control (0 ppm) group at the significant levels of 10, 5 and 1% respectively (t-test).

著者らは、DES-Na の経口投与によるニホンウナギの性統御実験中に、これが成長促進効果を持つことを見いだした。DES は発癌性を持つために産業上の利用は出来ないが、魚類での estrogen の成長に及ぼす効果を究明する上では重要な手掛かりを与えるものと考えられるので報告する。

材料と方法

飼料 Table 1 に示したものをを用いた。DES-Na は十分に磨砕し、あらかじめ計算量をビタミン剤に混和しておいて、使用時に調餌した。給餌量は、前日の摂餌量を参考にして、30 分以内にほぼ食べつくされるように与えた。

供試魚 DES を混和していない基本飼料への餌付けが完了した約 0.28 g のニホンウナギ (*Anguilla japonica*) を無作為に 100 尾ずつ 13 群に分け、その内 12 群を

DES-Na 投与量の異なる 4 区に各 3 群ずつ無作為に割り付けた。各区には DES-Na を、基本飼料 1 g 当たりそれぞれ 0, 0.5, 0.75 および 1.0 μ g (以後 0, 0.5, 0.75, 1 ppm と記す) を添加して 4 月 1 日から 7 月 14 日まで 104 日間飼育した。他の 1 群は実験開始時の全長・体長組成を明らかにするための測定に供した。

各区 2 群は 2 m², 1 群は 4.5 m² 水槽 (水深 30 cm) に収容し、井戸 (塩分約 1 ppm, 水温約 24°C) を流した。換水率は 0.5 回/時とし、十分通気を行った。この間の水槽水温は 23.0-25.5°C であった。

実験終了時に、全個体の全長・体重を測定した。なお飼育中の平均体重を各群での飼料転換効率と給餌量から推定した。減耗率に関しては、瞬間減耗率が飼育中は一定として補正した。

予備実験 体重 1.0 g のウナギを 7 月 3 日から 11 月 14 日まで同様に飼育した。水温は 10.9-25.7°C であ

Table 3. Effect of DES-Na on the growth of

DES-Na in feed ppm	Size of pond m ²	Number of eels		Total weight of eels (TW)		Specific growth rate of TW 10 ⁻² /d	Total feed given wet kg	Feed effi- ciency (%)
		Initial	Final	Initial (g)	Final (g)			
0	2	100.0	100.0	26.8	837	3.309	6.66	12.16
	2	100.0	94.0	27.9	996	3.498	6.86	14.11
	4.5	100.0	98.0	28.1	988	3.443	7.17	13.39
	mean	100.0	97.3	27.6	941	3.416	6.90	13.22
0.5	2	100.0	97.0	27.4	1618	3.951	10.61	14.99
	2	100.0	97.0	27.7	1075	3.548	7.85	13.35
	4.5	100.0	94.0	26.0	1249	3.782	7.87	15.54
	mean	100.0	96.0	27.0	1314* ²	3.760* ¹	8.78	14.63
0.75	2	100.0	97.0	28.1	2440	4.321	13.50	17.87
	2	100.0	96.0	27.2	1549	3.926	9.49	16.04
	4.5	100.0	97.0	27.4	1580	3.928	9.70	16.00
	mean	100.0	96.7	27.6	1856* ²	4.059* ³	10.90* ²	16.64* ²
1.0	2	100.0	100.0	28.0	2538	4.334	13.82	18.17
	2	100.0	99.0	29.4	28.07	4.393	14.80	18.77
	4.5	100.0	96.0	26.8	2214	4.284	11.46	19.09
	mean	100.0	98.3	28.1	2520* ³	4.337* ³	13.36* ³	18.68* ³

*1, *2 and *3 show the data different from those of control (0 ppm) group at the significant levels of 10, 5 and 1% respectively (t-test).

Fig. 1. Gaussian probability plot of total length of eels at the start and end of feeding experiment.

Solid lines are for eels at the start of experiment and for those at the end of experiment which were fed with the basal feed only. Dotted, broken or chained line is for those at the end of experiment which were fed at the dose of 0.5, 0.75 or 1.0 ppm DES-Na respectively.

Fig. 2. Relation between the increase in body weight and the feed given during the feeding experiment.

Triangles, circles, squares or countertriangles are for those at the dose of 0, 0.5, 0.75 or 1.0 ppm DES-Na in feed respectively. $Y = 233.3X - 700.7$ ($r = 0.990$), where Y and X are the weight increased and total ration in kg respectively.

young Japanese eels (April 1–July 14, 104 days)

DES-Na in feed ppm	Size of pond m ²	Condition of eels at the end of experiment					
		Total length (cm)		Body weight (g)		Condition factor (mg/cm ³)	
		mean	sd	mean	sd	mean	sd
0	2	18.02	4.09	8.37	8.70	1.12	.23
	2	18.63	5.03	10.60	11.96	1.19	.22
	4.5	18.48	5.36	10.08	10.16	1.12	.24
	mean	18.38	4.83	9.68	10.27	1.14	.23
0.5	2	20.53	6.40	16.69	20.13	1.22	.33
	2	18.97	5.61	11.09	14.12	1.10	.23
	4.5	19.37	5.84	13.28	17.50	1.17	.32
	mean	19.62 ^{*2}	5.95 ^{*2}	13.69 ^{*2}	17.25 ^{*8}	1.16	.29 ^{*2}
0.75	2	23.38	7.19	25.15	25.76	1.30	.31
	2	20.19	6.38	16.14	17.27	1.19	.25
	4.5	20.39	6.12	16.29	20.08	1.25	.31
	mean	21.32 ^{*3}	6.56 ^{*3}	19.19 ^{*2}	21.04 ^{*8}	1.25 ^{*3}	.29 ^{*2}
1.0	2	22.93	6.69	25.38	25.87	1.42	.38
	2	24.77	6.78	28.35	24.47	1.36	.28
	4.5	21.68	7.41	23.07	28.42	1.32	.39
	mean	23.13 ^{*3}	6.96 ^{*8}	25.60 ^{*3}	26.25 ^{*8}	1.37 ^{*3}	.35 ^{*3}

Fig. 3. Growth curves of the mean body weight.

Solid circles are measured ones and open circles are those estimated from the product of monthly ration and the mean feed efficiency. The vertical lines show the range of mean body weight for each dose.

Fig. 4. Relation between the monthly mean daily ration and body weight.

Triangles, circles, squares or countertriangles are those at the dose of 0, 0.5, 0.75 or 1.0 ppm DES-Na in feed. The mean daily ration was calculated from the daily record and the body weight was estimated from Fig. 3. The dotted line shows the data at the temperature of 24°C given by Inaba³¹⁾ for comparison.

Fig. 5. Relation between the daily specific rate of weight increase and body weight.

Triangles, circles, squares or countertriangles are those at the dose of 0, 0.5, 0.75 or 1.0 ppm DES-Na in feed. The specific growth rate was estimated as it was done in Fig. 2. The dotted line shows the data at the temperature of 24°C given by Inaba³¹⁾ for comparison.

た。

結 果

予備実験 結果を Table 2 に示した。これからわかるように 1.25 ppm 区で最も成長が速く、それ以上では成長は対照区に比べて遅くなり、12.5 ppm 区では死亡個体が見られた。この区では生き残った個体でも体全体が

浮腫を示し、肝臓および腎臓が異常に肥大していた。2.5 ppm 区でも肝臓・腎臓の肥大が認められた。1.25 ppm 区では対照区に比べて成長は速かったが、個体の大きさ（とくに体重）の変動が対照区に比べて小さかった。これは Table 3 に示したように、ウナギの場合には体重の変動係数が 100% 位であることからいくらか異常と思われる

た。しかしながら、それ以外の異常は認められなかった。したがって 1.25 ppm 以下で成長促進効果を持つものと思われた。

予備実験の結果を踏まえて、DES-Na を 1 ppm 以下の範囲で投与してその成長促進効果を調べ、結果を Table 3, Fig. 1, 2 および 3 に示した。また日間給餌率・日間増重率と体重の関係を Fig. 4 と 5 に示した。

Table 3 に示したように、減耗率に差はなかったが、全長・体重・給餌量（摂餌量）・飼料効率・肥満度など

は対照区 (0 ppm 区) に比べて差がみられた。また全長・体重・肥満度とも変動が大きかったが、前 2 者についてみると、変動係数としては差がない。すなわち DES-Na の投与量が増すにつれて成長の良い個体が多く出現し (Fig. 1), 1 ppm 区の総体重は対照区の約 2.7 倍にもなった。この間の日間比成長速度は、対照区でも約 3.4% と稲葉⁸¹⁾の標準諸係数表 (第 5-2 表) の値と比べても優っていた。

飼料効率も DES-Na 投与量の多い方が高く、1 ppm

Table 4. Examples of steroids' effect on the animal growth

Steroids*1	Species	Duration	Dose, ppm	Effect on growth	Note Ref. No.
Androgen					
17 α -MT	<i>Anguilla anguilla</i>	73 d	1, 5-15	+, -	8
17 α -MT	<i>Anguilla rostrata</i>	40 d	1, 10	+, +?	7
17 α -MT	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	42 d	1, 10, 50	+, +, +	2
17 α -MT	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	104 d	100, 500	-, -	3
17 α -MT	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	10 wk	25-200, 400	+, +?	9, *2
17 α -MT	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	14 wk	2.5	+	10
17 α -MT	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	84 d	0.2, 1	+, +	2
17 α -MT	<i>Tilapia aurea</i>	3 wk (120 d)	15, 30, 60	+?, +, +	4, *3
MT	<i>Sarotherodon niloticus</i>	59 d	30, 60	+, +	5
MT	<i>Tilapia nilotica</i>	30 d (339 d)	50, 100	+, +	6, *3
17 α -ET	<i>Tilapia aurea</i>	3 wk (120 d)	15, 30, 60	+, +?, +?	4, *3
ET	<i>Sarotherodon niloticus</i>	59 d	30, 60	+, +	5
DHT	<i>Tilapia aurea</i>	3 wk (120 d)	15, 30, 60	+, +?, +?	4, *3
T	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	14 wk	2.5	+	10
Estrogen					
DES	<i>Anguilla japonica</i>	104 d	0.5, 0.75, 1.0	+, +, ++	this rpt
DES	<i>Anguilla japonica</i>	135 d	1.25, 2.5, 32.5	+, -, --	this rpt
DES	<i>Ictalurus punctatus</i>	25 d	0.22, 2.2, 22	-, -, -	21
DES	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	112 d	1, 10, 50	0, -, -	3
DES	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	49 d	100, 500	-, -	3
DES	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	159 d	200	0	3
DES	<i>Pleuronectes platessa</i>	10 wk	0.6, 1.2, 2.4	+, +?, 0	25
DES	<i>Sarotherodon niloticus</i>	59 d	25, 100	+, +	5
DES	lamb	56-67 d	0.3, 0.7, 1.3	0, +, ++	16
DES	lamb	56-67 d	2, 2.7	+, +	16
DES	lamb	40 d	0.3, 0.6, 1.2	+, ++, +++	17
DES	steer	167 d	10, 20, 40 mg/ind./d	+, ++, ++	18
17 β -E	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	30 d	20	-	22
17 β -E	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	10 wk	25-400 ppb	-	9
17 β -E	<i>Salmo gairdnerii</i>	30 d	20	-	22
17 β -E	<i>Salmo salar</i>	21 d	20	-	22
17 β -E	<i>Salvelinus fontinalis</i>	60 d	20	-	23
17 β -E	<i>Tilapia aurea</i>	3/5 wk	30, 60, 120	0, 0, 0	24
E	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	14 wk	2.5	+	10
Estriol	<i>Tilapia aurea</i>	3/5 wk	30, 60, 120	0, 0, 0	24
Estone	<i>Sarotherodon niloticus</i>	59 d	100, 200	+, +?	5
Estrone	<i>Tilapia aurea</i>	3/5 wk	30, 60, 120	0, 0, 0	24

*1 DES: diethylstilbestrol DHT: dehydrotestosterone
ET: ethyltestosterone E: estradiol
MT: methyltestosterone T: testosterone

*2 Embryos were kept in the solution of stated concentration (in ppb) before hatching and then given the feed which contained the steroid at the level of either 10 or 20 ppm.

*3 x(x2): fed with the feed added with the steroid hormone for x days and then with the basal feed for x2 days.

区では約 19% にもなった。この間の給餌量と増重率の関係は Fig. 2 に示すように、相関係数 0.99 の直線になった。ただし、飼育期間が比較的長く、かつ成長に大きな差ができたので、この解釈は単純ではない。このような大きな平均体重の違いにもかかわらず、見かけの維持食量が各区で同じであることは、DES-Na の投与により代謝が低下して成長に寄与する分が増えたのではないかと考えられる。

肥満度は、外観上は余り差が認められなかったが、DES-Na 投与量の多い方が大きかった。このことは大型個体ほど一般に太っていることと一致する。

月間投餌量と全期間の飼料効率から各月末の体重を推定し、各区の平均値を Fig. 3 に示した。これから見ると、ほぼ指数関数的に成長していた。この値を基に日間給餌率・日間増重率を求めて、それらと体重（推定体重の幾何平均）との関係を Fig. 4 と 5 にそれぞれ示した。これらからわかるように、日間給餌率（摂餌率）は体重の 16-44% であり、体重の増加と共に減少した。しかし同じ体重でみると、DES-Na の投与量によっては変わらないようであった。これに対して日間増重率は DES-Na の投与量の増加と共にいくらか増えるようであった。しかしながら、これも体重の増加と共に減少した。日間給餌率は稲葉⁵¹⁾の準諸係数表の値に比べて 1.5 倍ぐらいであった。DES-Na 投与区において、日間摂餌率が対照区と変わらないにもかかわらず日間増重率が大きかったことは、Fig. 2 の解釈のところで述べた DES-Na による代謝抑制効果を示唆しているものと考ええる。

考 察

魚類においては成長に性差が認められる魚種が多いので、性ホルモンが成長に関与しているのではないかと推測され、その関係を明らかにしようとする試みが古くからなされてきた。²⁶⁾ 増養殖が盛んになるに従い、一層の経済効果を求めて性統御と成長促進が図られ、簡便な性ホルモン物質の投与が行われるようになった。例えば Table 4 に示したように多数の実験がある。これからわかるように *angrogen* では対照区に比べて成長促進効果の認められた例が多いが、*estrogen* では反する動物の牛や羊を除いてはそのような例は少ない。魚類においては僅かにギンザケ¹⁰⁾・カレイ²⁵⁾・テラピア⁵⁾と本報のウナギのみである。この理由は *estrogen* の適量範囲、特に DES のそれが *androgen* の適量範囲に比べて狭いためではないかと思われる。しかもテラピアを除いて比較的低い投与量でのみ促進効果が認められている。この DES の適量範囲の検討は牛・羊でも行われているが、これらの種では多量投与の際の抑制効果は顕著でないとい

う。¹⁰⁻¹⁹⁾

DES-Na の成長促進作用の作用機序は、反する動物においては成長ホルモン^{29, 80)}・インシュリンなどの代謝関与ホルモンの生産ならびに分泌促進に起因する間接的な蛋白同化作用によるものと考えられている。⁸⁰⁾ 魚類ではまだこの検討はなされていない。ウナギの DES-Na による成長促進効果は、DES-Na 投与開始後 10 日ぐらいから摂餌行動が活発になり、摂餌量が増加した結果生じている。また、この効果の発現が性分化以前に現れるので、DES による雌性化に起因する間接的なものではなく、直接的な成長関与によるものと考えられる。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、御指導並びに御鞭撻を賜った日比谷 京東京大学名誉教授に深く感謝する。また実験を手伝って戴いた神田 (旧姓 山下) 安子、故南部定吉、平井 旭の各位及びその他東京大学農学部付属水産実験所職員一同に厚く御礼申し上げる。

なお、本研究の経費の一部は文部省科学研究費によった。

文 献

- 1) 徳山一郎, 吉住孝之: ホルモンと臨床, **14**, 37-40 (1966).
- 2) J. R. McBride and U. H. M. Fagerlund: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **30**, 1099-1104 (1973).
- 3) U. H. M. Fagerlund and J. R. McBride: in "Fish Physiology" (eds. by W. S. Hoar, D. J. Randall, and J. R. Brett), Vol. 8, Academic Press, New York, 1977, pp. 492-531.
- 4) R. D. Guerrero III: *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **2**, 342-348 (1975).
- 5) M. M. Tayamen and W. Shelton: *Aquaculture*, **14**, 349-354 (1978).
- 6) 中村 将, 岩橋正雄: 日水誌, **48**, 763-769 (1982).
- 7) G. Degani and M. L. Gallagher: *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **42**, 185-189 (1985).
- 8) G. Degani: *Aquaculture*, **50**, 23-30 (1985).
- 9) F. W. Goetz, E. M. Donaldson, G. A. Hunter, and H. M. Dye: *Aquaculture*, **17**, 267-268 (1979).
- 10) T. C. Yu, R. O. Sinnhuber, and T. D. Hendricks: *Aquaculture*, **16**, 351-359 (1979).
- 11) 広瀬慶二, 日比谷京: 日水誌, **34**, 466-472 (1968).
- 12) 広瀬慶二, 日比谷京: 日水誌, **34**, 473-479 (1968).
- 13) 赤須文男, 西田悦郎: ホルモンと臨床, **14**, 43-45 (1966).
- 14) 楠 智一: ホルモンと臨床, **19**, 8-16 (1971).
- 15) 小野浩臣: 畜産の研究, **38**, 91-96 (1984).
- 16) W. H. Hale, P. G. Homeyer, C. C. Culbertson, and W. Burroughs: *J. Animal Sci.*, **14**, 909-

- 918 (1955).
- 17) D. H. Hutcheson and R. L. Preston: *J. Animal Sci.*, **32**, 146-151 (1970).
- 18) R. L. Preston, E. W. Klosterman, and V. R. Cahill: *J. Animal Sci.*, **33**, 491-496 (1971).
- 19) R. L. Preston: *Veter. Med./Small Animal Clin.*, **67**, 179-185 (1972).
- 20) 小野浩臣: 畜産の研究, **38**, 81-87 (1984).
- 21) R. S. Bulkey: *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **3**, 537-539 (1972).
- 22) R. Johnstone, T. H. Simpson, and A. F. Youngson: *Aquaculture*, **13**, 115-134 (1978).
- 23) R. Johnstone, T. H. Simpson, and A. F. Walker: *Aquaculture*, **18**, 241-252 (1979).
- 24) G. L. Jensen and W. L. Shelton: *Aquaculture*, **16**, 233-242 (1979).
- 25) C. B. Cowey, J. A. Pope, J. W. Adron, and A. Blair: *Mar. Biol.*, **19**, 1-6 (1973).
- 26) J. W. Atz: in "The Physiology of the Pituitary Gland of Fishes" (eds. by G. E. Pickford and J. W. Atz), New York Zoological Society, New York, 1957, pp. 184-185.
- 27) T. Yamamoto and N. Matsuda: *Gen. Comp. Endocrinol.*, **3**, 101-110 (1963).
- 28) T. Yamamoto: in "Fish Physiology" (eds. by W. S. Hoar, D. J. Randall, and J. R. Brett), Vol. 3, Academic Press, New York, 1969, pp. 117-175.
- 29) S. L. Davies, U. S. Garrigus, and F. C. Hinds: *J. Animal Sci.*, **30**, 241-244 (1969).
- 30) 小野浩臣: 畜産の研究, **39**, 75-81 (1985).
- 31) 稲葉 俊: 養魚講座 (大島泰雄, 稲葉伝三郎監), **6**, 緑書房, 東京, 1971, p. 45.