

学 位 論 文 題 名

PHYSIOLOGICAL STUDIES ON THE
REPRODUCTION OF SHRIMPS
:HORMONAL REGULATION
DURING VITELLOGENESIS

（エビ類の生殖に関する生理学的研究：卵黄形成のホルモン支配）

学位論文内容の要旨

フィリピンにおいてはエビ養殖事業は外貨の獲得、雇用の確保及び未利用地の開拓という面から極めて重要な産業である。しかしながら、その養殖法は確立しておらず、解決すべき多くの問題を残している。それらの重要な課題の一つが養殖用の種苗の確保である。現在、それらの種苗の多くは天然に依存しているのが現状である。しかし、近年、天然種苗が減少傾向を示しているため池産親エビからの採苗法の確立が強く望まれている。そのためには親エビの生殖生理学的知見の集積が必要である。そこで、本研究では池産親エビからの採苗法を確立するための基礎的知見を得るために、エビ類の生殖機構、特に、卵黄形成に及ぼすホルモンの影響に関する実験解析を以下の様に行った。先づ、三種のエビ類 *Penaeus monodon*,

P. indicus および *P. kessleri* の生殖周期に伴う卵巣発達過程を組織学的に観察し、次いで、*P. monodon* および *P. kessleri* のビテリン（ビテロゲニンの主要タンパク）の精製を行い、その抗体を得た。これを用いて卵発達に伴うビテロゲニン量の変化を調べた。更に、ビテロゲニン合成部位を検索すると共に、性ステロイドとビテロゲニン合成との関連も調べた。また、眼柄摘除がビテロゲニン合成に及ぼす影響も併せて解析した。

組織学的には *p. monodon* および *P. indicus* の卵巣は同様の発達過程を示したことにより、これらの卵発達の段階をステージ 1 から 6 までの 6 段階に分類した。他方、*P. kessleri* の卵発達では *P. monodon* および *P. indicus* の卵巣発達過程のステージ 5 に見られた *cortical rod* が観察されなかったものの、ほぼ同様のステージに分類された。

卵黄形成のホルモン支配機構を調べるために、先づ、*P. monodon* および *P. Kessleri* の卵巣からビテリンを分離し、その同定と物理化学的性質を電気泳動および免疫学的手法を用いて調べた。*P. monodon* の分離されたビテリンは分子量約 540 kDa で、4 つの主要なポリペプチドから構成されていた。免疫学的手法により、*P. Monodon* のビテリンは *P. indicus*、

P. merguiensis および *P. semisulcatus* の成熟雌卵巢抽出物と免疫交叉性を示した。このことはクルマエビ科の種レベルではビテリンの抗原性に相違がないことを示している。

次いで、*P. monodon* を材料として、ビテロゲニンの合成部位の検索を細胞免疫学的に行った。調べられた5種の組織（卵巢、肝臓、筋肉、大顎器官および表皮過下組織）のうち、卵巢のみに強い陽性反応が観察された。このことはビテロゲニンは卵巢で合成されていることを強く示している。更に *P. monodon*、*P. indicus* および *P. kessleri* の3種のエビの卵巢発達に伴う血リンパ液中のビテロゲニン量をマンシーニ法で調べたところ、何れの種においてもビテロゲニン量は卵発達に伴って増加した。

上述の結果を基に、*P. Kessleri* および *P. monodon* を用いて性ステロイドと卵発達の関連を調べた。先づ、*P. kessleri* の卵発達に伴う血リンパ液中の estradiol-17 β および progesterone 量の変化を調べたところ、progesterone 量は卵黄形成の開始時に増加したが、卵黄形成中には減少した。更にステロイドホルモンの卵成熟に果たす役割を調べるため、*P. monodon* に種々の性ステロイドを投与することによって、これらの性

ステロイドのビテロゲニン合成分泌、卵発達および脱皮への影響を調べた。投与された性ステロイドは estradiol-17 β (0.005 或いは 0.01 μ g/g 体重)、progesterone (0.05 或いは 0.1 μ g/g 体重)、17 β -hydroxyprogesterone

(0.01 μ g/g 体重) および 20-hydroxyecdysone (0.01 或いは 0.1 μ g/g 体重) であった。これらの性ステロイドのうち、estradiol-17 β の 0.05 μ g/g 体重および 17 α -hydroxyprogesterone の 0.01 μ g/g 体重が血リンパ液中のビテロゲニン量の増加を促進した。この両ホルモンは同時に卵巢卵の発達も促した。他方、20-hydroxyecdysone は何れの濃度ともビテロゲニン合成分泌を刺激しなかったが、0.1 μ g/g 体重のそれは雌の脱皮を促進した。

甲殻類においては、生殖腺発達と脱皮は逆説的に働いている。眼柄には生殖腺成熟抑制ホルモン (GIH) と脱皮抑制ホルモン (MIH) が存在している。そこで、次の実験では、眼柄摘除による血リンパ液中ビテロゲニン量および卵発達への影響を調べた。眼柄摘除によりビテロゲニン量は対照群のそれより早く増加し、卵は発達も促進された。しかし、眼柄摘除群の産卵後の卵巢内では全て発達段階の卵が観察された。

しかし、対照群の産卵後の卵巢では多くは
primary oocyte と僅かの退化卵が観察さ
れたのみであった。これらのことは眼柄摘除に
より卵への卵黄蓄積が不規則になることを示唆
している。この現象の詳細な解析は今後に残さ
れた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 山 内 皓 平

副 査 教 授 中 尾 繁

副 査 助 教 授 原 彰 彦

学 位 論 文 題 名

PHYSIOLOGICAL STUDIES ON THE REPRODUCTION OF SHRIMPS : HORMONAL REGULATION DURING VITELLOGENESIS

(エビ類の生殖に関する生理学的研究：卵黄形成のホルモン支配)

フィリピンにおいてはエビ養殖事業は経済的に極めて重要な産業であるが、その養殖法は確立しておらず、解決すべき多くの問題を残している。それらの重要な課題の一つが養殖用の種苗の確保である。近年、天然種苗が減少傾向を示しているため池産親エビからの採苗法の確立が強く望まれている。そのためには親エビの生殖生理学的知見の集積が必要である。そこで、本研究では池産親エビからの採苗法を確立するための基礎的知見を得るために、エビ類の生殖機構、特に、卵黄形成に及ぼすホルモンの影響に関する実験解析を以下の様に行った。

まず、組織学的には*P.monodon*および*P.indicus*の卵巣は同様の発達過程を示したことにより、これらの卵発達の段階をステージ1から6までの6段階に初めて分類した。他方、*P.kessleri*の卵発達では*P.monodon*および*P.indicus*に見られたcortical rodが観察されなかったものの、ほぼ同様のステージに分類された。これらの分類により、卵発達とホルモンとの関連の解析を可能にした。次いで、*P.monodon*および*P.kessleri*の卵巣からビテリンを分離し、その同定と物理化学的性質を電気泳動および免疫学的手法を用いて調べた。分離されたビテリンは、何れも4つの主要なポリペプチドから構成されていた。*P.monodon*のビテリンを免疫して得た抗体は、*P.indicus*、

P. merguiensis および *P. semisulcatus* の成熟雌卵巢抽出物と免疫交叉性を示したが、*P. kessleri* のそれとは反応しなかった結果、クルマエビ科の種レベルではビテリンの抗原性に相違がないことが明らかとなった。続いて、*P. monodon* を材料として、ビテロゲニンの合成部位の検索を細胞免疫学的に行った。調べられた5種の組織（卵巢、肝臓、筋肉、大顎器官および表皮過下組織）のうち、卵巢のみに強い陽性反応が観察された。このことはビテロゲニンは卵巢で合成されていることを強く示している。更に *P. monodon*、*P. indicus* および *P. kessleri* の3種のエビの卵巢発達に伴う血リンパ液中のビテロゲニン量をマンシーニ法で調べたところ、何れの種においてもビテロゲニン量は卵発達に伴って増加した。

上述の結果を基に、*P. kessleri* および *P. monodon* を用いて性ステロイドと卵発達の関連を調べた。先づ、*P. kessleri* の卵発達に伴う血リンパ液中の estradiol-17 β および progesterone 量の変化を調べたところ、progesterone 量は卵黄形成の開始時に増加したが、卵黄形成中には減少した。一方、estradiol-17 β 量は卵黄形成終了期に増加した。更にステロイドホルモンの卵成熟に果たす役割を調べるため、*P. monodon* に種々の性ステロイドを投与することによって、これらの性ステロイドのビテロゲニン合成分泌、卵発達および脱皮への影響を調べた。投与された性ステロイドのうち、estradiol-17 β (0.05 μ g/g 体重) および 17 α -hydroxyprogesterone (0.01 μ g/g 体重) が血リンパ液中のビテロゲニン量の増加を促進した。この両ホルモンは同時に卵巢卵の発達も促した。他方、20-hydroecdysone は何れの濃度ともビテロゲニン合成分泌を刺激しなかったが、0.1 μ g/g 体重のそれは雌の脱皮を促進した。

眼柄には生殖腺成熟抑制ホルモン(GIH)と脱皮抑制ホルモン(MIH)が存在している。そこで、次の実験では、眼柄摘除による血リンパ液中ビテロゲニン量および卵発達への影響を調べた。眼柄摘除によりビテロゲニン量は対照群のそれより早く増加し、卵巢の発達も促進された。しかし、眼柄摘除群の産卵後の卵巢内では全て発達段階の卵が観察され、対照群のそれとは大きく異なっていた。これらのことは眼柄摘除により卵への卵黄蓄積が不規則になる何らかの要因が働いていることを示唆している。

上述のように、エビ類の卵黄形成機構の解析をホルモンレベルから解析して得られた結果はエビ類の生殖生理機構を知る上で重要な示唆を与えるに留まらず、エビ類の人工催熟法確立のための

基礎的資料を提供したものとして高く評価され、本論文が博士
(水産学)の学位請求論文として相当の業績であると認定した。