

Endocrinological studies on gonadal development in a hybrid sturgeon, Bester

「チョウザメ（ベステル）の生殖腺発達に関する内分泌学的研究」

学位論文内容の要旨

チョウザメは非常に商業価値の高い魚種の一つであり、食肉として世界各国で利用されている。また、その卵巣はキャビアとして極めて珍重されている。しかし、最近では、その需要の拡大に伴い、天然資源は減少の一途をたどり、人工孵化放流や養殖の必要性が指摘されている。中でも、養殖対象魚として注目されているのがベステルと呼ばれるオオチョウザメ *beluga* (*Huso huso*) 雌とコチョウザメ *sterlet* (*Acipenser ruthenus*) 雄の雑種である。ベステルは飼育環境下で成熟が進行するが、自発的な排卵および放精は起こらない。ベステルを人為的に管理、増殖を行うためにはその精子形成および卵形成の内分泌制御機構の詳細を知る必要があるが、これらに関する研究は殆どなされていない。そこで本研究では、排卵および放精が自然に起こらない理由を明らかにすることを目的として、生殖腺の発達過程を内分泌学的に詳細に調べた。

実験には、北海道電力総合研究所で飼育されている 11 年魚（雄：体長 95-130 cm 体重 3.7-11.5 kg、雌：体長 109-140 cm 体重 7.5-14.6 kg）を用いた。1991 年 5 月から 1992 年 5 月にかけて、合計、雄 165 尾、雌 140 尾の生殖腺をバイオプシーで採取し、生殖腺の発達過程を組織学的に観察した。また、生殖腺の発達に伴う血中ステロイドホルモン量の変動を調べた。雄では 11-ケトテストステロ

ン(11KT)、雌ではエストラジオール・ 17β (E₂)、また、雄雌ともにテストステロン(T)および $17\alpha, 20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン(DHP)量をそれぞれラジオイムノアッセイ(RIA)法により測定した。雌では卵黄前駆タンパクのビテロゲニンの血中量をマンシーニ法で測定した。さらに、生殖腺の発達に伴うステロイド産生能の変動についても調べた。様々な発達段階の精巣片および卵濾胞をL-15培養液中でプレグネノロン、 17α -ヒドロキシプロゲステロン(17α OHP)またはTとともに15℃18時間培養し、培養液中の11KT、E₂およびDHP量を測定した。加えて、卵母細胞の最終成熟(卵成熟)誘起ホルモンに対する感受性の変化も調べた。また、ベステルの成熟個体に黄体形成ホルモン放出ホルモンアナログ(LHRHa: 0.1~0.3 mg/kg BW)を投与し、その後の血中DHP量の経時的変化を測定した。

多くの雄個体では、精巣中に精母細胞が観察されるようになるのは9月頃で、11月には多くの精子が観察された。その後、精巣は4月にかけて緩やかに発達したが、自発的放精は起こさず、5月以降の精巣内では食細胞による貪食が顕著になった。しかし、同じ時期でも個体によって精巣の発達にかなりのばらつきがみられた。血中11KTおよびT量は精子形成の進行に伴い増加し、前排精期まで高値が維持された。退行が始まると11KT量は低値を示したが、T量は高値のまま維持された。一方、血中DHP量は周期的に低値を示した。様々な発達段階の精巣片をプレグネノロン、 17α OHPまたはTの存在下で培養した結果、11KTの濃度は精子形成後期で高値を示し、前排精期および退行期では低値を示した。これに対し、DHP産生量は前排精期に急激に増加した。

雌個体の卵形成は3年を要するよう思われた。最初の1年は、卵巣中の卵母細胞は6から7月頃から緩やかな成長を開始し、第1次卵黄球期に達し、次の1年に第2から3次卵黄球期となった。最後の1年は、卵母細胞は9月頃には核移

動期に達したが、最終成熟および排卵は起こらず、4月になると一齐に退行し始めた。しかし、雄同様、同じ時期でも卵巣の成熟段階はかなりのばらつきがみられた。血中 E₂、T およびビテロゲニン量の季節変化は卵母細胞の発達とよく関連して変化した。E₂、T およびビテロゲニン量は卵黄形成前期から後期にかけて増加し、核移動期には E₂ およびビテロゲニン量は減少したが、T 量は高値を維持し続けた。一方、血中 DHP 量は周年的に低値を示した。様々な発達段階の卵母細胞を含む卵濾胞をプレグネノロン、17 α OHP および T の存在下で培養した結果、卵黄形成に達していない濾胞での E₂ の産生は低値を示し、卵黄形成期に劇的に上昇し、核移動期には急激に減少した。また、プレグネノロンおよび 17 α OHP は核移動期の濾胞で相当量の DHP に変換された。

生体外での卵成熟実験では、ベステルの卵母細胞はプロゲステロン系ステロイドに反応して最終成熟した。DHP は卵成熟誘起能の最も高いステロイドの一つであった。卵成熟が起こる率は卵母細胞の核移動が始まる 7 月では極めて低く、その後徐々に増加し、11 月から 1 月にかけて最高に達した後、卵母細胞が退行し始めると同時に急激に減少した。卵濾胞におけるこの間の DHP の産生は、その変化と同様な傾向を示した。

最後に、雄では排精直前の精巣、雌では核移動期に達した卵母細胞を含む卵巣を有する個体に対して LHRHa 処理を行なった結果、雌雄ともに多くの個体で最終成熟を完了させ、排卵および放精が誘導された。排卵および放精が誘導された個体における血中 DHP 量は、排卵が誘導されなかった個体に比べて約 10 倍量を示した。

以上の結果から、雄の精巣の発達に伴う 11KT の産生と血中の 11KT 量および雌の卵形成に伴う卵濾胞における E₂ の産生と血中の E₂ 量がそれぞれよく関連し、この二つのステロイドがベステルの生殖腺の発達を制御していると考えられた。

また、血中 DHP 量が周期的に低値を示すにも関わらず、雄雌ともに生殖腺はプレグネノロンおよび 17α OHP を DHP に変換する能力を有すること、さらに、LHRHa 処理された雌雄ともに多くの個体で血中 DHP 量が急増したことから、ベステルが最終成熟に至らないのは、生殖腺に DHP の産生能がないからではなく自身の脳下垂体からの生殖腺刺激ホルモンの十分な分泌がなされていないことに起因すると考えられた。以上の結果は、ベステルは、外因性ホルモン処理を行うことにより十分増殖が可能であることを示しており、さらに、排卵および放精を誘導するための人為的処理の適期は多くの個体の生殖腺が成熟状態にある 11 月から 4 月であることが示された。

学位論文審査の要旨

主査	教授	山内	皓平
副査	教授	麦谷	泰雄
副査	教授	原	彰彦
副査	講師	足立	伸次

学位論文題名

Endocrinological studies on gonadal development in a hybrid sturgeon, Bester

「チョウザメ（ベステル）の生殖腺発達に関する内分泌学的研究」

チョウザメは非常に商業価値の高い魚種の一つであるが、その需要の拡大に伴い、天然資源は減少の一途をたどり、人工孵化放流や養殖の必要性が指摘されている。その中でも、養殖対象魚として注目されているのがベステルと呼ばれるオオチョウザメ *beluga* (*Huso huso*) 雌とコチョウザメ *sterlet* (*Acipenser ruthenus*) 雄の雑種である。ベステルは飼育環境下で成熟が進行するが、自発的な排卵および放精は起こらない。ベステルを人為的に管理、増殖を行うためにはその精子形成および卵形成の内分泌制御機構の詳細を知る必要があるが、これらに関する研究は殆どなされていない。そこで本研究では、排卵および放精が自然に起こらない理由を明らかにすることを目的として、生殖腺の発達過程を内分泌学的に詳細に調べた。

実験には、ベステル 11 年魚（雄 165 尾、雌 140 尾）を用いた。多くの雄個体では、精巣中に精母細胞が観察されるようになるのは 9 月頃で、11 月には多くの精子が観察された。その後、精巣は 4 月まで緩やかに発達したが、自発的放精は起こさず、5 月以降の精巣内では食細胞による貪食が顕著になった。また、血中 11-ケトテストステロン (11KT) およびテストステロン (T) 量は、双方ともに精子形成の進行に伴い増加し、前排精期まで高値が維持された。退行が始まると 11-KT 量は低値を示したが、T 量は高値のまま維持された。一方、血中 $17\alpha, 20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン (DHP) 量は周期的に低値を示した。さらに、様々な発達段階の精巣片をプレグネノロン、 17α -ヒドロキシプロゲステロン (17α OHP) または T の存在下で培養した結果、11KT 産生量は精子形成後期で高値を示し、前排精期および退行期では低値を示した。これに対し、DHP 産生量は前排精期に急激に増加した。

一方、雌個体の卵形成は3年を要するように思われた。最初の1年では、卵巢中の卵母細胞は6から7月頃から緩やかな成長を開始し、第1次卵黄球期に達し、次の1年に第2あるいは第3次卵黄球期となった。最後の1年では、卵母細胞は9月頃には核移動期に達したが、最終成熟および排卵は起こらず、4月になると一斉に退行し始めた。血中のエストラジオール- 17β (E_2)、Tおよびビテロゲン量の季節変化は卵母細胞の発達とよく相関して変化した。 E_2 、Tおよびビテロゲン量は卵黄形成前期から後期にかけて増加し、核移動期には E_2 およびビテロゲン量は減少したが、T量は高値を維持し続けた。一方、血中DHP量は周年的に低値を示した。また、雄と同様に様々な発達段階の卵濾胞をプレグネノロン、 17α OHPおよびTの存在下で培養した結果、卵黄形成に達していない卵濾胞での E_2 の産生は低値を示し、卵黄形成期に劇的に上昇し、核移動期には急激に減少した。また、プレグネノロンおよび 17α OHPは核移動期の卵濾胞で相当量のDHPに変換された。

生体外での卵成熟実験では、ベステルの卵母細胞はプロゲステロン系ステロイドに反応して最終成熟した。DHPは卵成熟誘起能の最も高いステロイドの中の一つであった。卵成熟が起こる率は卵母細胞の核移動が始まる7月では極めて低くその後徐々に増加し、11月から1月にかけて最高に達した後、卵母細胞が退行し始めると同時に急激に減少した。卵濾胞におけるこの間のDHPの産生は、その変化と同様な傾向を示した。

最後に、雄では排精直前の精巢、雌では核移動期に達した卵母細胞を含む卵巢を有する個体に対して、黄体形成ホルモン放出ホルモンアナログ(LHRHa)処理を行った結果、雌雄ともに多くの個体で最終成熟を完了させ、排卵および放精が誘導された。排卵および放精が誘導された個体における血中DHP量は、排卵が誘導されなかった個体に比べて約10倍量を示した。

以上の結果から、雄の精巢の発達に伴う11KTの産生と血中の11KT量および雌の卵形成に伴う卵濾胞における E_2 の産生と血中の E_2 量がそれぞれよく相関しこの二つのステロイドがベステルの生殖腺の発達を制御していると考えられた。また、血中DHP量が周年的に低値を示すにも関わらず、雄雌ともに生殖腺はプレグネノロンおよび 17α OHPをDHPに変換する能力を有すること、さらに、処理された雌雄ともに多くの個体で血中DHP量が急増したことから、ベステルが最終成熟に至らないのは、生殖腺にDHPの産生能がないからではなく自身の脳下垂体からの生殖腺刺激ホルモンの十分な分泌がなされていないことに起因すると考えられた。以上の結果は、ベステルは、外因性ホルモン処理を行うことにより十分増殖が可能であることを示しており、さらに、排卵および放精を誘導するための人為的処理の適期は多くの個体の生殖腺が成熟状態にある11月から4月であることが示された。

上述のように、本研究では、ベステル雌雄の生殖腺の発達過程並びにその内分泌制御機構を詳細に調べた。これらの結果は、ベステルの人工種苗生産のための

極めて重要な知見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。