

学 位 論 文 題 名

Cytophysiological studies on chronological appearance of hormone-producing cells
in the pituitary gland of some teleost fishes.

（数種の硬骨魚類における腺性脳下垂体ホルモン産生細胞の出現
および発達に関する細胞生理学的研究）

学位論文内容の要旨

硬骨魚類の内分泌系の構造と機能についての研究は古くからなされており、特に脳下垂体のそれについては多数の研究があるがその多くは、成魚の脳下垂体を解析している。さらに、脳下垂体を発生学的に検索した研究は、主に形態学的な古典的手法を用いており、免疫細胞化学的手法を用いて脳下垂体ホルモン産生細胞の出現を検索した研究は少ない。また、発生初期における腺性脳下垂体の構造と機能に関する研究は、水産増養殖においても稚仔魚の成長および性分化機構の解明に繋がるため重要である。

本研究は、ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*)、ティラピア (*Oreochromis niloticus*) とアユ (*Plecoglossus altivelis*) を材料とし、脳下垂体の発達と腺性脳下垂体ホルモン産生細胞の出現および発達を形態学的並びに免疫細胞化学的に検索したものである。一次抗体として、シロサケ・プロラクチン (PRL)、ティラピア・PRL₁₇₇、PRL₁₈₈、シロサケ・成長ホルモン (GH)、ティラピア・GH、合成・副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)、ヒト・甲状腺刺激ホルモン (TSH) β 、ギンザケ・生殖腺刺激ホルモン (GTH) - I β 、II β 、マダイ・GTH - I、II α 、II β 、 α -黒色素胞刺激ホルモン (MSH)、シロサケ・

ソマトラクチン (SL) をそれぞれ抗原とする抗体と、合成・生殖腺刺激ホルモン放出刺激ホルモン (LHRH) 抗体を用いた。また、腺性脳下垂体ホルモン産生細胞の出現は硬骨魚類のみならず、他の脊椎動物で報告されている結果と比較して考察した。さらに、ニジマスにおいては、視床下部・脳下垂体・生殖腺系の形成過程を解析した。サケ科魚類では、GTH-I と GTH-II があり、それらが別々の細胞で産生され、性成熟過程でこれら 2 種類の GTH の血中濃度が変化し、GTH-I は性成熟初期に、GTH-II は最終成熟期への関与が示唆されている。しかし、GTH 細胞の出現時期や、その出現と性分化との関連は不明である。また、GTH 分泌に関与する LHRH 神経線維についても、発生学的研究は硬骨魚類ではほとんどない。さらに、腺性脳下垂体の各ホルモンは血管系を介して各標的器官へ運ばれるため、血管系の確立時期を検索することも視床下部・脳下垂体・生殖腺系の形成過程の解析のために重要である。そこで、腺性脳下垂体ホルモン産生細胞の出現に加え、生殖腺、LHRH 神経線維、血管系の形成過程を発生学的に検索した。

ニジマス成魚の腺性脳下垂体では 8 種類のホルモン産生細胞 (PRL、GH、TSH、ACTH、GTH-I、GTH-II、MSH、SL) が識別され、ティラピアとアユ成魚では、7 種類のホルモン産生細胞 (PRL、GH、TSH、ACTH、GTH、MSH、SL) が確認された。脳下垂体ホルモン産生細胞の分布は、他の硬骨魚類での報告とはほぼ同様な傾向を示していたが、ニジマスでは、PRL 細胞が分布する主葉前部の細胞群は濾胞状を呈していた。GTH 細胞は、GTH-I と GTH-II 細胞がそれぞれ別の細胞であることが示され、Kawauchi ら (1987) や Nozaki ら (1990) による報告と一致していた。ティラピアでは、2 種類の PRL (PRL₁₇₇ と PRL₁₈₈) が報告されており、これら両抗体に陽性反応を示す細胞が主葉前部に広く分布することが観察されたが、これら細胞群は濾胞状には配列し

ていなかった。アユでは、ニジマスと同様にPRL細胞が分布する主葉前部が濾胞状を呈していた。他の細胞の分布はニジマス、ティラピアと同様な傾向を示していた。

発生学的検索において、ニジマスでは、脳下垂体は発生段階21期に小さな細胞塊として間脳底部に出現していた。この段階では脳下垂体前部にPRL細胞が、後部にMSH細胞が観察された。28期になると脳下垂体背側部にGH細胞が、中央部にACTH細胞が出現していた。29期では、脳下垂体の中央背側部にTSH細胞がわずかに出現していた。孵化は30期直前に起こり、32期では脳下垂体はさらに発達し、主葉と中葉が明らかに区別できた。この時期に初めて、主葉後部背側に少数のGTH・I細胞が出現していた。ティラピアでは、脳下垂体が初めて出現する孵化前の個体(受精72時間後)において、PRL₁₇₇とPRL₁₈₈免疫陽性反応が脳下垂体前方腹側部の同一細胞に、またその背側部に少数のGTH細胞が認められた。孵化直前の個体(受精84時間後)においてはGH細胞が脳下垂体後方背側部に、ACTH細胞が前方背側部と中央部に、MSH細胞が後方腹側部に、少数のSL細胞が後方中央部に出現していた。TSH細胞は孵化後17日に脳下垂体中央部に少数出現していた。アユでは、孵化1日前の個体の脳下垂体原基腹側部に少数のPRL細胞とGH細胞が出現していた。孵化直後には、新たにACTH細胞が脳下垂体前方部に、MSH細胞とSL細胞が後方部の中葉に分化する領域に認められた。最後に少数のTSH細胞の出現が孵化後50日の個体に確認された。

これらの結果、ニジマス、ティラピア、アユ成魚における各ホルモン産生細胞の分布は、他の硬骨魚類とほぼ同様な傾向を示していた。しかし、細胞の出現順序については、スズキにおける報告(Cambréら,1990)とは異なっていた。申請者がこれまで検索してきたゴールデン・ハムスター

(*Mesocricetus auratus*)、スッポン (*Trionyx sinensis japonicus*)、カスミサンショウウオ (*Hynobius nebulosus*) を含む他の脊椎動物種における結果とも比較すると、哺乳類、鳥類、爬虫類等の羊膜類や海産硬骨魚類ではPRL細胞の出現が遅く、両生類や淡水産硬骨魚類ではPRL細胞の出現が早いという大きな違いが確認された。これはPRLが浸透圧調節作用を持つためではないかと推察された。

ニジマスにおける、生殖腺、LHRH神経線維、血管系の形成過程の解析では、脳下垂体が小さな細胞塊として間脳底部に出現する発生段階21期では、光学顕微鏡レベルでは脳下垂体周辺に血管系は観察されなかった。28期になると脳下垂体の周辺部に血管系が認められ、29期では、1列に並んだ少数の始原生殖細胞が、生殖隆起中に確認された。孵化後の32期では、少数のGTH-I細胞が、主葉後部の背側に出現しており、LHRH神経線維もこの時期に初めて確認され、嗅球の先端部から、視床下部方向へ走行していた。生殖腺では、生殖細胞が分裂を開始し、その数を増していた。35期では、生殖腺はさらに発達しており、約半数の個体ではいくつかの生殖細胞が初期の減数分裂像を示す一次卵母細胞になっており、これらは後に卵巣に分化することがTakashimaら(1980)により報告されている。この段階においてもGTH-II細胞は認められなかった。LHRH神経線維は32期で出現しており、GTH-I細胞の出現時期と一致していることが確認された。

さらに、GTH-I細胞が出現し発達する時期と、生殖細胞の分化の時期にも関連が認められ、血管系もこの段階にはすでに完成されていることから、GTH-Iの性分化への関与が推察される。以上、ニジマスにおいてはLHRH神経線維、GTH-I細胞の出現、血管系の発達や生殖腺の分化の間には、密接な関係があり、視床下部-脳下垂体-生殖腺系は32期以降に完成されることが確かめられた。

学位論文審査の要旨

主査	教授	山内	皓平
副査	教授	山崎	文雄
副査	教授	原	彰彦
副査	助教授	上田	宏
副査	助教授	足立	伸次

学位論文題名

Cytophysiological studies on chronological appearance of hormone-producing cells
in the pituitary gland of some teleost fishes.

(数種の硬骨魚類における腺性脳下垂体ホルモン産生細胞の出現
および発達に関する細胞生理学的研究)

硬骨魚類の脳下垂体の構造と機能についての研究は多数あるが、発生学的に免疫細胞化学的手法を用いて脳下垂体ホルモン産生細胞の出現を検索した研究は少ない。また、発生初期における腺性脳下垂体の構造と機能に関する研究は、水産増養殖においても稚仔魚の成長および性分化機構の解明に繋がるため重要である。本研究は、ニジマス、ティラピアとアユを用い、脳下垂体の発達と腺性脳下垂体ホルモン産生細胞の出現および発達を形態学的に免疫細胞化学的手法を用い検索したものである。さらに、ニジマスでは、視床下部-脳下垂体-生殖腺系の形成過程を解析した。サケ科魚類では、生殖腺刺激ホルモン(GTH)-IとGTH-IIがあり、それらが別々の細胞で産生され、性成熟過程への関与が示唆されている。しかし、それらの出現時期や、性分化との関連は不明である。また、生殖腺刺激ホルモン放出刺激ホルモン(LHRH)神経線維や血管系についても、発生学的研究は硬骨魚類ではほとんどない。そこで、腺性脳下垂体ホルモン産生細胞の出現に加え、生殖腺、LHRH神経線維、血管系の形成過程を発生学的に検索した。

ニジマス成魚の腺性脳下垂体では8種類のホルモン産生細胞(プロラクチン(PRL)、成長ホルモン(GH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、GTH-I、GTH-II、黒色素胞刺激ホルモン(MSH)、ソマトラクチン(SL))が、ティラピアとアユ成魚では、7種類のホルモン産生細胞(PRL、GH、TSH、ACTH、GTH、MSH、SL)が確認された。脳下垂体ホルモン産生細胞の分布は、他の硬骨魚類とはほぼ同様な傾向を示していたが、ニジマスでは、PRL細胞が分布する主

葉前部の細胞群は濾胞状を呈していた。また、GTH細胞は、GTH-IとGTH-II細胞がそれぞれ別の細胞であることが示され、他のサケ科魚類での報告と一致していた。ティラピアではPRL細胞群は濾胞状には配列していなかった。アユは、ニジマスと同様な傾向を示していた。発生学的検索において、ニジマスでは、脳下垂体は発生段階21期に小さな細胞塊として間脳底部に出現していた。この段階ではPRL細胞とMSH細胞が観察された。28期になるとGH細胞とACTH細胞が出現していた。29期では、TSH細胞が出現していた。孵化は30期直前に起こり、32期では、主葉と中葉が明らかに区別でき、この時期に初めて、GTH-I細胞が出現していた。ティラピアでは、脳下垂体が初めて出現する受精72時間後に、RPL細胞とGTH細胞が認められ、孵化直前の個体（受精84時間後）ではGH細胞、ACTH細胞、MSH細胞とSL細胞が出現していた。最後にTSH細胞が孵化後17日に出現していた。アユでは、孵化1日前にPRL細胞とGH細胞が出現し、孵化直後には、新たにACTH細胞、MAH細胞とSL細胞が認められた。最後にTSH細胞の出現が孵化後50日の個体に確認された。

以上、ニジマス、ティラピア、アユにおける各ホルモン産生細胞の分布は、他の硬骨魚類とほぼ同様な傾向を示しているが、各ホルモン産生細胞の出現順序については、それぞれ異なっていた。申請者がこれまで検索してきたゴールデン・ハムスター、スッポン、カスミサンショウウオを含む他の脊椎動物種における結果と比較すると、種固有の出現順序があることが明らかとされた。特にPRLでは、哺乳類、鳥類、爬虫類等の羊膜類や海産硬骨魚類では出現が遅く、両生類や淡水産硬骨魚類では出現が早いという大きな違いが確認された。これはPRLが浸透圧調節作用を持つためではないかと推察された。

ニジマスにおける、生殖腺、LHRH神経線維、血管系の形成過程の解析では、脳下垂体が小さな細胞塊として出現する発生段階21期では、光学顕微鏡レベルでは脳下垂体周辺に血管系は観察されなかった。28期になると脳下垂体の周辺部に血管系が認められ、29期では、1列に並んだ少数の始原生殖細胞が、生殖隆起中に確認された。孵化後の32期では、GTH-I細胞が出現しており、LHRH神経線維もこの時期に初めて確認された。35期では、生殖腺はさらに発達し、約半数の個体ではいくつかの生殖細胞が初期の減数分裂像を示す一次卵母細胞になっており、これらは後に卵巣に分化することがTakashimaら(1980)により報告されている。この段階においてもGTH-II細胞は認められなかった。以上、GTH-I細胞が出現、発達する時期と、LHRH神経線維、生殖腺の分化時期に関連が認められ、血管系もこの段階にはすでに完成されていることから、GTH-Iの性分化への関与が推察される。以上、ニジマスにおいてはLHRH神経線維、GTH-I細胞の出現、血管系の発達や生殖腺の分化の間には、密接な関係があり、視床下部・脳下垂体・生殖腺系は32期以降に完成されることが確かめられた。

上述のように、本研究では、ニジマス、ティラピア、アユにおいて腺性脳下垂体の形態形成過程の解析を行い、腺性脳下垂体ホルモン産生細胞の出現と発達を

明らかにし、さらにニジマスにおいては、視床下部・脳下垂体・生殖腺系の確立時期を明らかにした。これらの結果は、魚類の初期発生時の内分泌機構の解析に重要な基礎的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。