



Title	人為催熟ウナギ( <i>Anguilla japonica</i> )雌の成熟に伴う雌特異血清蛋白の変化
Author(s)	高島, 葉二; TAKASHIMA, Youji; 高野, 和則 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 30(1), 50-61
Issue Date	1979-02
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/23672">https://hdl.handle.net/2115/23672</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	30(1)_P50-61.pdf



人為催熟ウナギ (*Anguilla japonica*) 雌の成熟に伴う雌特異血清蛋白の変化\*

高島 葉二\*\*・高野 和則\*\*・原 彰彦\*\*\*

Changes in Female-Specific Serum Proteins during the Course  
of Induced Maturation of Female Japanese Eels  
(*Anguilla japonica*)\*

Youji TAKASHIMA\*\*, Kazunori TAKANO\*\*  
and Akihiko HARA\*\*\*

Abstract

Silver migratory forms of female Japanese eels were induced to mature by weekly injections of 2 mg (per 100 g body weight) of powder of acetone-dried pituitaries of salmonid fishes in 1976 and 1977. All of the 65 fish treated with pituitaries showed noticeable gonadal maturation, and 4 specimens among them naturally ovulated after 8 to 10 injections. However, the eggs obtained from these fish did not show normal development.

Changes in female-specific serum proteins (FSSP) of the fish during the course of induced maturation were analyzed by means of disc electrophoresis and Mancini's immunological method. Immuno-electrophoresis revealed that two protein fractions appearing in the globulin region of the disc electrophoretic pattern corresponded to FSSP. In initial control fish, FSSP fractions contained about 10% of the total protein in the disc electrophoretic pattern. After the commencement of induced maturation, FSSP increased markedly with an increment of the number of injections, and attained the highest level of about 60% of the total amount of serum proteins in some individuals with gonadosomatic indices (GSI) of about 60. In the fish which had exceeded 40 in GSI but could not ovulate in spite of their full maturity, a superfluous amount of FSSP was kept in the serum until up to the time of sacrifice. On the contrary, serum protein fractions except for FSSP gradually decreased in number and lost its affinity to dye during the course of maturation. Distinct changes in the composition of serum proteins were not observed in saline-injected control fish throughout the experimental period. A similar trend of variation of FSSP was also revealed by Mancini's method. The serum total protein content measured by the biuret reaction ranged from 21.1 to 49.3 mg/ml, and no obvious changes in these values were detected throughout the maturation.

The hepatosomatic index (HSI) was about 1 at the start of experiment, and then slightly increased following the gonadal maturation. The liver cells of the initial control fish with a small roundish nucleus were stained weakly with

\* 本研究の一部は文部省科学研究費補助金によってなされた。

\*\* 北海道大学水産学部淡水増殖学講座  
(Laboratory of Fresh-Water Fish-Culture, Faculty of Fisheries Hokkaido University)

\*\*\* 北海道大学医学部生化学第一講座  
(Department of Biochemistry, Hokkaido University School of Medicine)

hematoxylin. In maturing females, the cytoplasm of liver cells became increasingly basophilic, and the nucleus showed a hypertrophy with a single obvious nucleolus. The liver cells of fully matured fish were characterized by having large vacuoles surrounded by a scanty cytoplasm and nuclei which were irregular in contour and varied in size. Since the vacuolation could not be detected in the liver cells of saline-injected control fish, it appears that the characteristic profiles of the cells seen in the fully matured fish were related to maturation rather than starvation.

## 結 言

ホルモン投与によって下りウナギ雌の成熟を図った多くの試みの中において、山本ら<sup>1)-4)</sup>はサケ科魚の脳下垂体を用いて人為催熟に成功し、初めてニホンウナギ (*Anguilla japonica*) の孵化仔魚を得た。その後、下りウナギの人為催熟によって成熟卵または孵化仔魚を得たことが相次いで報告された<sup>6)-7)</sup>が、これらの諸例に見られるように、魚類、特にサケ科魚の脳下垂体の反復投与による成熟誘起法が、現時点では最も実用的且つ効果的な手法として多用されている。しかし、この方法によっても正常卵を得る確率はなお極めて低く、処理魚の多くは排卵まで至らずに終わっている。これまで人為的に成熟を促した雌ウナギの生理状態については、成熟度の進行に伴う体重変化<sup>1)8)-10)</sup>、肝臓および血液性状の変化<sup>11)12)</sup>、卵巣卵、排卵された卵および発生初期の卵の性状<sup>10)13)14)</sup>などの報告が見られるが、的確な催熟法を確立するための基盤となる生理学的な知見はなお極めて乏しい。

著者らは人為催熟した雌ウナギについて、卵巣卵の成熟、特に卵黄形成に重要な関わりを持つ血清中の雌特異蛋白の挙動を明らかにし、併せてその合成臓器である肝臓の組織学的変化について観察した。

稿を進めるに先立ち、この研究に対して種々御助言を頂いた北海道大学水産学部高橋裕哉教授、並びに同医学部平井秀松教授に深く感謝する。また、この実験に尽力を惜まなかった北海道大学水産学部淡水増殖学講座の山内皓平博士を初め大学院生、学部学生諸氏に心から感謝の意を表す。この研究における血清の分析に際しては同水産学部米田勤氏から有益な御助言と御協力を頂き、また実験に供した下りウナギの入手に際しては青森県上北郡六ヶ所村橋本勝次郎氏の御協力を得た。これらの諸氏に厚く御礼申し上げる。

## 材料および方法

この研究に用いた材料はニホンウナギ (*Anguilla japonica*) で、1976年10～11月に青森県上北郡六ヶ所村字平沼の河川で採捕された下りウナギ雌である。魚を北海道大学水産学部に運び、循環濾過式のコンクリート水槽の天然海水に馴致させた後、山本ら<sup>1)</sup>の方法に準拠して人為催熟を行った。処理期間中、水槽は自然光下で  $18 \pm 1^\circ\text{C}$  に保ち、魚には餌を与えなかった。処理開始時のウナギの体重は 255～1080 g で、実験に先立って全個体に標識を付した。催熟処理にはサケおよびヤマメの脳下垂体のアセトン乾燥品を用いた。これらの脳下垂体は粉末として保存し、処理開始時の体重 100 g 当たり 2 mg を食塩水 (0.6% NaCl) に懸濁して、週 1 回、MS-222 で麻酔したウナギの背筋に注射した。処理開始時の対照魚として 7 個体と、全処理魚数 65 個体中 41 個体を催熟期間の様々な時期に屠殺して採血を行った。その他、1977 年の催熟処理開始時の対照魚 7 個体と、食塩水のみを週 1 回、合計 12 回注射した 1 個体からも採血した。採血時には魚を MS-222 で麻酔して体長、体重を計測した後、尾柄部を切断し、試験管に血液を採取した。血液が自然凝固するまで室温で放置した後、3000 rpm で 10 分間遠沈して血清を分離し、分析時まで  $-20^\circ\text{C}$  で保存した。採血後、生殖腺と肝臓を取り出して計測し、それぞれ一部をブアン液で固定して組織学的観察に供した。組織標本は通常のパラフィン法により、生殖腺は 8～10  $\mu$ 、肝臓は 5～7  $\mu$  の切片とし、ヘマトキシリン・エオシンの二重染色を施して作製した。

血清の分析にはディスク電気泳動法と Mancini 法を用いた。ディスク電気泳動法は米田・石原<sup>10)</sup>に準じて行い、7.5% の分離用ゲルを用いて泳動した後、コマジープリリアントブルー染色を施した。泳動後の全てのゲルについて島津二波長クロマトスキャナーを用いてデンストグラムを作成し、その積分値から全蛋白に対する雌特異血清蛋白 (female-specific serum protein, 以下 FSSP) 分画の割合を求めた。なお、試料の泳動時にはヒト血清を対照に用いて変動のないことを確認した。Mancini 法は松橋ら<sup>10)</sup>の方法に準拠して行った。用いた抗血清は、杉本ら<sup>10)</sup>によりサケ脳下垂体を用いて成熟を促された雌ウナギの血清を complete adjuvant (Freund) と共に家兎に注射し、抗雌ウナギ抗血清を作製した後、さらに雄ウナギ血清で吸収した FSSP 抗血清である。この抗血清については、あらかじめ成熟途上の雌ウナギ血清、同卵巣卵のホモジネイトおよび雄ウナギ血清を用いて Ouchterlony 法 (松橋ら<sup>10)</sup>) によって検討し、前二者とのみ沈降反応を示すことを確認しておいた。また、この研究では抗原量既知の血清が得られなかったため、卵巣卵が卵黄形成中であることを確認した3個体の雌の血清をプールし、これを標準血清とした。この標準血清の持つ抗原量を便宜的に 100 とし、各試料の抗原量を相対的な値で表した。なお、同じ抗血清を用いて松橋ら<sup>17)</sup>の方法によってディスク免疫電気泳動を行い、ゲル中の FSSP 分画の位置を確認した。

血清中の蛋白量は Biuret 法<sup>19)</sup>によって測定した。

## 結 果

### 成熟に伴う生殖腺と肝臓の変化

人為催熟したウナギの卵巣卵の成熟過程は山本ら<sup>14)</sup>によって詳しく報告されており、この研究ではこれに従って卵の発達段階を区分した。

処理開始時の対照魚7個体と、催熟処理を受けた雌ウナギの、脳下垂体投与回数増加に伴う生殖腺成熟度指数 (生殖腺重量/体重  $\times 100$ , 以下 GSI) の変化を図 1A に示した。処理開始時の下りウナギ雌の GSI は 1.8~3.4 (平均 2.6) を示した。これらの7個体はすべて第1次卵黄球期に達していたが、その卵巣卵は、周辺細胞質中に卵黄球がわずかに認められる程度のもので、すでに核周辺部まで蓄積が進んでいるものまで、個体によって差異が見られた。処理開始後、脳下垂体の投与回数を増すごとに急速に成熟が促され、5~7回で GSI は 10.0~24.1 (平均 17.6) に達し、第2次卵黄球期に入っていた。さらに投与7回以上のものでは GSI が 17.1~35.6 (平均 27.8) で第3次卵黄球期、32.6~68.6 (50.3) で胚胞移動期、48.5~64.5 (57.6) で前成熟期と、GSI の増大とほぼ並行して成熟度の進行を示した。このようにして成熟を促された65個体中、排卵が認められたものはわずかに4個体であり、しかも得られた卵は人工受精後正常発生を示さなかった。なお、食塩水を週1回づつ12回投与した対照魚は GSI が 2.5 で、第1次卵黄球期に留っていた。

上記の成熟過程における肝臓指数 (肝臓重量/体重  $\times 100$ , 以下 HSI) の変化を図 1B に示した。処理開始時のウナギの HSI はいずれも 1.0 前後であり、肝細胞は核が小さく、核周辺の細胞質がヘマトキシリンにわずかに染るのみである (図 2)。脳下垂体の反復投与に伴って HSI はやや増大する傾向を示した。この間、多くの個体の肝細胞は1個の大きな仁を含む大形の核を有し、その細胞質はヘマトキシリンに濃染する (図 3)。しかし一部の個体では肝臓の部位によって細胞の形態が異なり、血管周辺の細胞がヘマトキシリンに濃染する密な細胞質を有するのに対し、他の部位の多くの細胞ではその細胞質内に大小の空胞を含んでいる (図 4)。概ね成熟が進むに従ってこのような肝細胞の部位差を示す個体が多くなり、また空胞を有する細胞部位が拡がる。卵巣の成熟度が胚胞移動期から前成熟期に達するころには、血管周辺部にも大形空胞を有する肝細胞が増し、核径も不規則であった (図 5)。しかしこの時期においても極く一部には、核径が不規則な点を除いて成熟途上の魚の肝細胞の特徴を留めている例も見られた。なお、食塩水を投与した対照魚の HSI は 0.8 で、肝細胞は細胞質

がヘマトキシリンにわずかに染る程度で、空胞も認められず、処理開始時の状態とほとんど差がなかった(図6)。

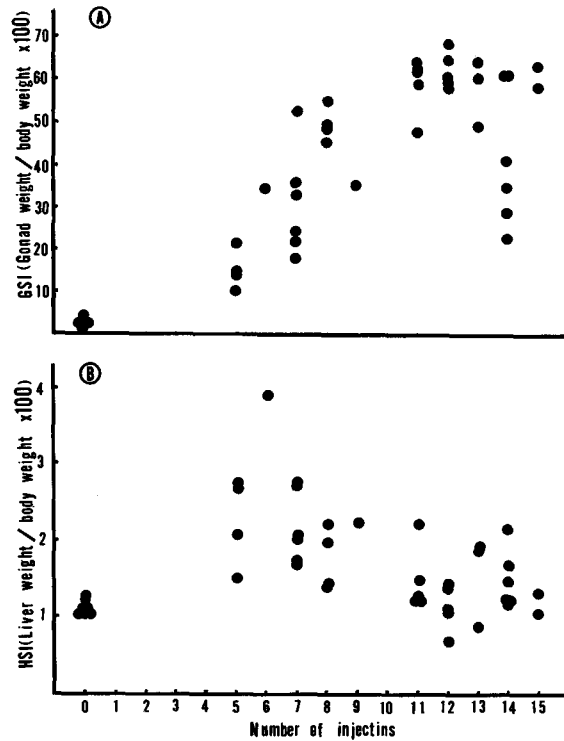


Fig. 1. Changes in gonadosomatic indices (A) and hepatosomatic indices (B) during the course of induced maturation.

#### 雌特異血清蛋白の変動

ディスク電気泳動法による検討: 先ずディスク電気泳動像における FSSP 分画の位置を確かめるために免疫電気泳動を行った。その結果、グロブリン位の中で移動度の小さい2分画がこれに相当することが示された(図7)。

泳動後のゲルを成熟度の進行順に並べると図7のようになり、また図8にはこれらのゲルから得たデンストグラムのうち代表的な例を示した。これらの図から明らかなように、成熟が進むに従って FSSP 分画の占める割合が順次大きくなり、逆に通常の血清蛋白分画が数量ともに著しく減少する。一方、食塩水のみを投与した対照魚の泳動像は、処理開始時のものと大きな差異はない(図8)。さらにこれらのデンストグラムの積分値から FSSP 量を算出し、GSI および成熟度との関係を調べた(図9)。前述のように処理開始時の雌ですでに卵黄の蓄積が始っており、このうち卵黄球がわずかに出現した程度の個体でも、その FSSP 量が 10 前後の高い値を示した。その後、第3次卵黄球期で著しく高い値を示した1例を除いて、FSSP 量は GSI の増加に伴ってほぼ直線的に増加し、両者の相関係数は 0.77 を示す。しかし、GSI が 40 を越えると、FSSP 量は 20.9~60.6 と個体差が著しくなった。また排卵した4例における FSSP 量はそれぞれ 31.9, 41.9, 42.6, 50.0 であった。これらの FSSP 量と成熟度との関係について見ても、GSI の場合と同様に成熟度が進むにつれてこの FSSP 量

が増える傾向が示された(図9)。成熟度の段階別にまとめると、開始時対照の第1次卵黄球期で  $11.3 \pm 0.93$ 、第2次卵黄球期で  $21.7 \pm 4.16$ 、第3次卵黄球期では  $35.7 \pm 11.00$ 、さらに胚胞移動期で  $39.6 \pm 13.19$ 、前成熟期には  $41.8 \pm 10.61$  であった。

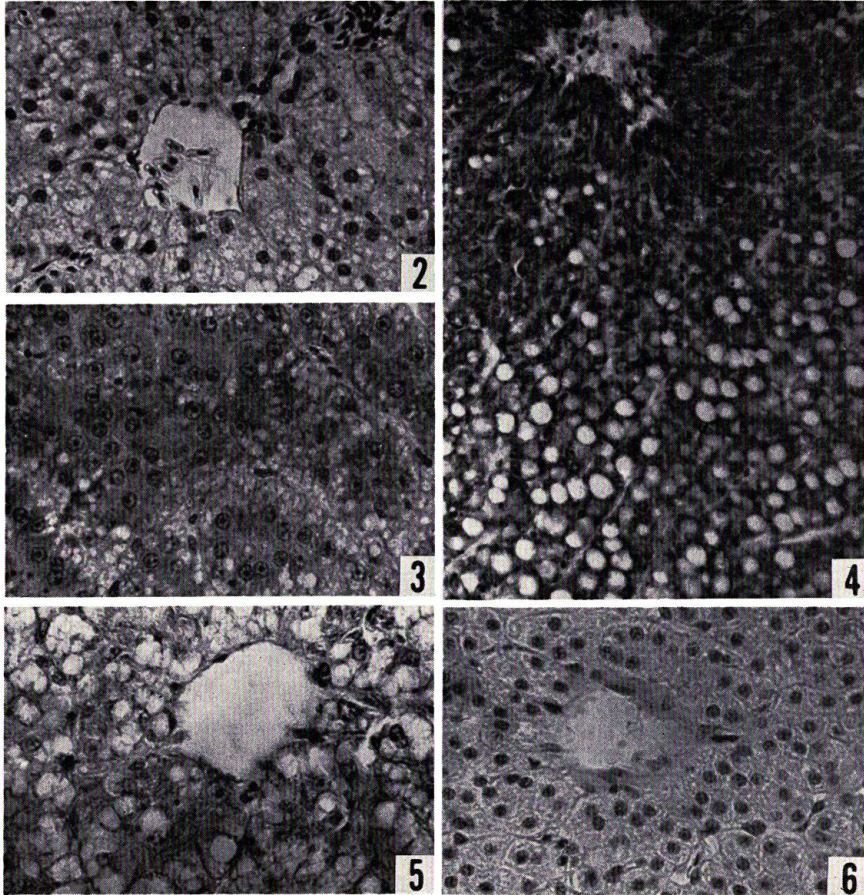


Fig. 2-6. Photomicrographs from sections of liver of the Japanese eels, fixed in Bouin's fluid and stained with Delafield's hematoxylin and eosin. Fig. 2, liver of initial control fish ( $\times 400$ ); Fig. 3, liver of maturing female examined at the early phase of pituitary treatment, showing hypertrophic nuclei and the cytoplasm stained strongly with dye ( $\times 400$ ); Fig. 4, liver of vitellogenic female, revealing the appearance of roundish vacuoles in a part of liver cells ( $\times 250$ ); Fig. 5, liver of matured fish, showing a vacuolation of the cytoplasm in the cells extended over a wide area ( $\times 400$ ); Fig. 6, liver of saline-injected control fish ( $\times 400$ ).

Mancini 法による検討: ディスク電気泳動法によって分析した成熟途上の雌ウナギ41個体中、卵巣卵の成熟段階別に3~5例、合計25例について、Mancini法を用いてFSSP量を相対的な抗原量として求めた。この値と、GSIおよび成熟度との関係を図10に示した。その結果はディスク電気泳動法によって得たところとほぼ同様の傾向を見せ、前成熟期に著しく低い値を示した1例を除けば、

FSSP 量は GSI の増大、成熟度の進行に伴って明らかに増加を示し、その相関係数は 0.74 である。しかし、GSI が 30~40 の胚胞移動期を過ぎると、その後は GSI 値に関係なく、ほぼプラトー状態を呈した。

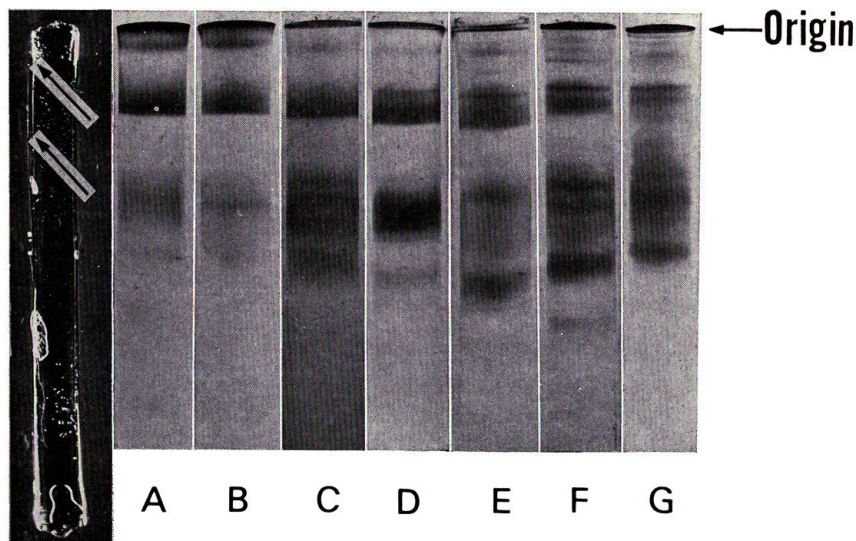


Fig. 7. Electrophoresis of blood serum proteins of female Japanese eels. The leftmost gel shows the result of immunoelectrophoresis for female-specific serum proteins; two precipitin lines are observed near the origin for protein migration (arrows). The seven disc electrophoretic patterns were obtained from the following different females; A, ovulated fish after 10 injections of salmon pituitaries; B, fish at the pre-maturation stage (after 11 injections); C, fish at the migratory nucleus stage (after 13 injections); D, fish at the tertiary yolk stage (after 7 injections); E, fish at the secondary yolk stage (after 5 injections); F, initial control fish; G, saline-injected control fish.

成熟に伴う血清蛋白量の変化: Biuret 法によって測定した血清中の蛋白量を GSI 値と対比して図 11 に示した。人為催熟したウナギの血清蛋白量は、GSI 40 までは一旦減少し、その後は個体差が大きくなる傾向を示す。しかし、1977 年 11 月に採取した無処理の下りウナギでは、この値が 21.1~45.4 と大きく変動し、処理個体の値はほとんどこの変動範囲に含まれた。

#### 考 察

魚類において、成熟途上の雌血清の電気泳動像に、雄には見られない特異な蛋白分画が出現すること<sup>19)20)</sup>、またこの蛋白が肝臓で合成され、血液を介して発達中の卵に取り込まれる卵黄前駆物質であること<sup>21)</sup>が知られている。しかし、この FSSP の動態についての知見は乏しく、わずかにニジマス<sup>20)</sup>、アユ<sup>22)</sup>、ゼブラフィッシュ<sup>23)</sup>で、いずれも大まかにこの蛋白が成熟の進行に伴って量的に変ることが報告されているに過ぎない。この研究では、ディスク電気泳動法と Mancini 法を用いて、人為的に催熟したウナギの成熟に伴う FSSP の変化を調べた。その結果、いずれの方法によっても GSI の増大、組織学的な成熟度の進行とほぼ並行して FSSP 量が増加する傾向が認められた。実験

に用いた下りウナギは、処理開始時にすでに第1次卵黄球期に達していたが、この期の初期にある個体でもかなり多量の FSSP が検出された。これまで、魚類の成熟過程における FSSP の出現時期についてはほとんど明らかにされておらず、わずかに Aida *et al.*<sup>22)</sup> が澱粉ゲル電気泳動法を用いて、

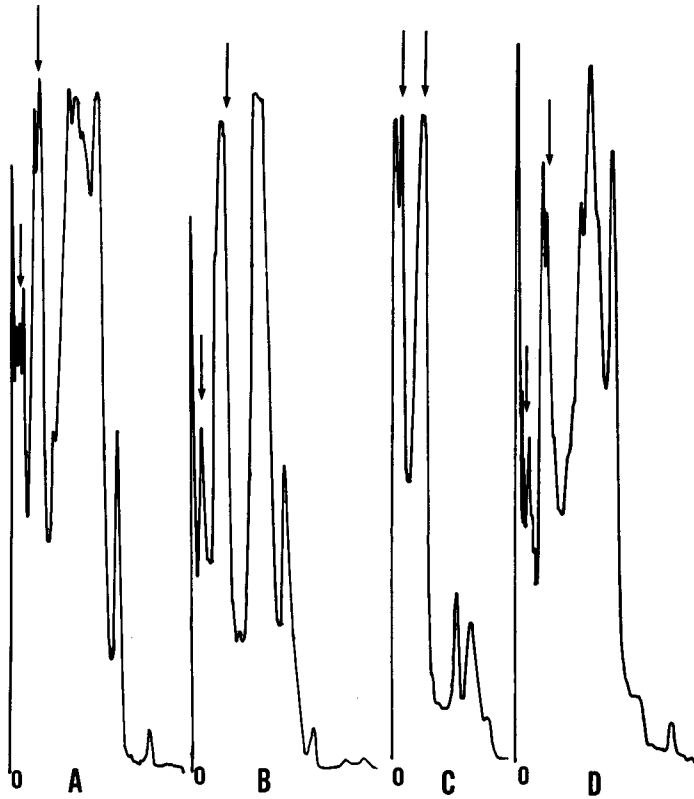


Fig. 8. Disc electrophoretograms of whole blood sera from (A) initial control fish at the primary yolk stage, (B) fish at the tertiary yolk stage, (C) fish at the pre-maturation stage and (D) saline-injected control fish. Origin of protein migration is at 0 and FSSP fractions are showed by arrows.

アユで成熟抑制条件から促進条件に切り替えた後、11日目から第9、第11分画が卵黄球の形成とともに増加することを報告しているだけである。しかし、ヤマベについて Ouchterlony 法を用いて調べた結果では、油球期の個体ですでにこの蛋白が出現している\* ことから、下りウナギでも FSSP の合成は卵黄球の出現に先立って開始されているものと思われる。

処理開始後、脳下垂体の投与回数が増すごとに成熟は促され、血中の FSSP 量も直線的に増加し、ディスク電気泳動法では GSI 50~60 で FSSP が全蛋白の 50% を越す例も見られる。同じ方法で Thurston<sup>20)</sup> は自然成熟したニジマスの第10分画が 70% にも達すると述べていることから、人為催熟ウナギについて今回得られた値は必ずしも異常に高いものではない。しかし、催熟処理を受けたウナギの場合には、GSI が 40 以上で前成熟期に達していながら排卵し得ない個体が多く、これらの例

\* 未発表

では一般に FSSP が高い濃度で血中に持続されている。この事実は、少なくとも卵巣卵には不必要な過剰の卵黄前駆物質の産生が長期にわたって続いていることを示し、このような生理的に異常な状態が、卵成熟から排卵への機構の円滑な転換を妨げる要因の一つをなしている可能性がある。杉本ら<sup>10)</sup>は人為催熟ウナギの卵の生理的成熟の指標として油球の変化に注目し、GSI 40~50 を越して体重増を示しながら排卵しない個体の卵巣卵には、ニジマス<sup>24)</sup>やアユ<sup>25)</sup>で報告された過熟卵に見られると

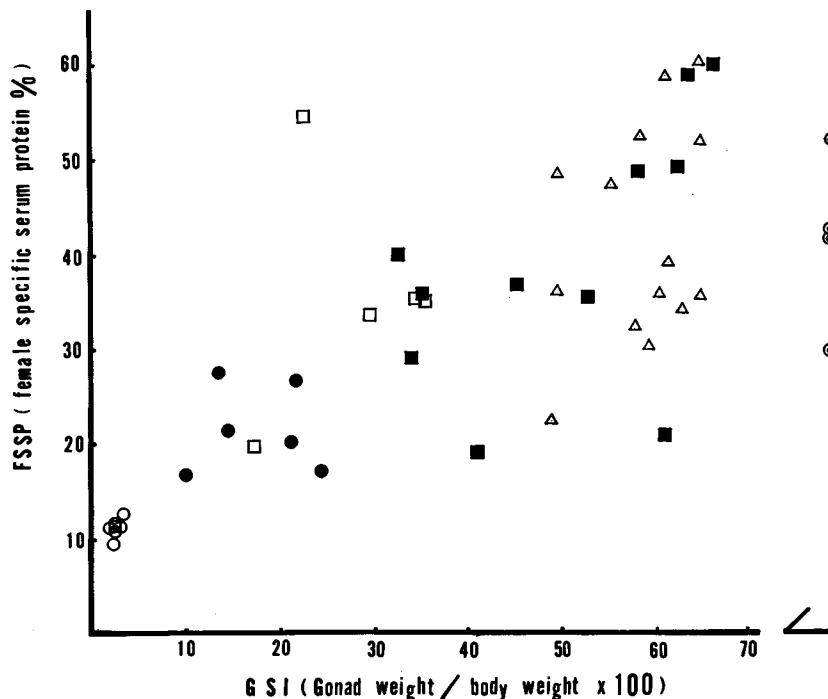


Fig. 9. Relation between FSSP levels and GSI for eels injected with salmon pituitaries. FSSP level expressed as per cent of total protein in disc electrophoretograms. Each mark represents the maturity of the specimens used; (○) the primary yolk stage; (●) the secondary yolk stage; (□) the tertiary yolk stage; (■) the migratory nucleus stage; (△) the pre-maturation stage; (⊙) the ripe egg stage.

同様の変化が起っていることを指摘している。従って、少なくともサケ科魚の脳下垂体を用いてウナギの催熟を図るに当っては、GSI 40 を大略の目処として下垂体の投与を終り、有効な人為的排卵誘起の処置を講ずることが望ましい。この転機を的確にとらえるためには生検 (biopsy) が有効な手段となろうが、いずれにせよ確実な排卵誘起法を開発することが焦眉の問題である。

血清中の FSSP の動態を明らかにするために、この研究では従来のディスク電気泳動法に加えて、Mancini 法による解析を試みた。この方法はこれまで感度の優れた血清蛋白の定量測定法として知られているが、魚類の FSSP の解析に用いた例はない。今回は何れの方法によっても、ほぼ同様の FSSP の消長過程が示されたが、その動態をより正確に把握するためには、血清の全蛋白中における FSSP 分画として捉える電気泳動法よりも、単一抗原量を直接測定できる免疫学的手法を用いる方がより適切である。また、あらかじめ抗原の絶対量を求めることができれば、Mancini 法の有用性はさらに期待できると思われる。

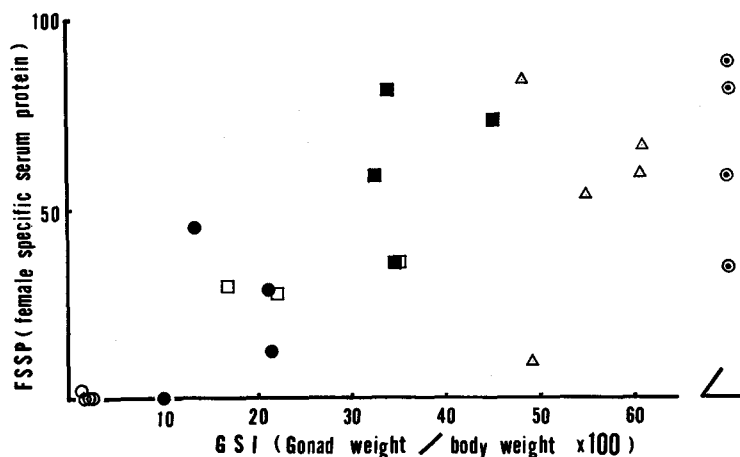


Fig. 10. Relation between FSSP levels determined by Mancini's method and GSI. FSSP level expressed as a relative amount against an amount of antigen contained within the standard blood sera which are three pools of sera collected from vitellogenic females. Each mark represents the maturity of the specimens used; (o) the primary yolk stage; (●) the secondary yolk stage; (□) the tertiary yolk stage; (■) the migratory nucleus stage; (Δ) the pre-maturation stage; (⊙) the ripe egg stage.

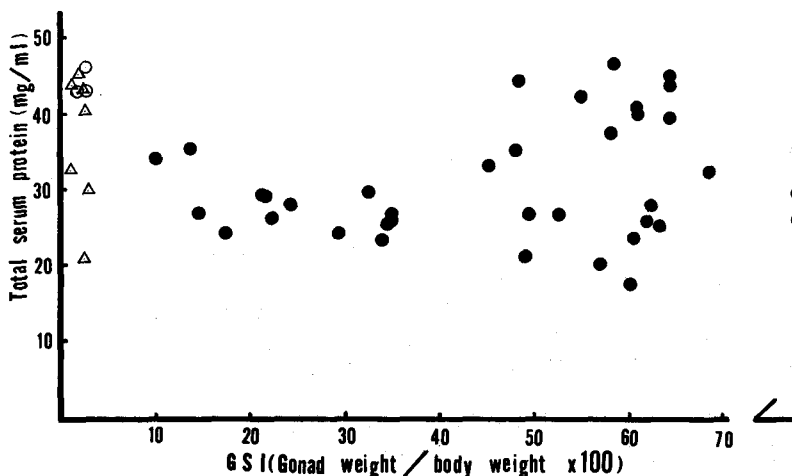


Fig. 11. Relation between serum total protein concentrations and GSI. The marks, (o) and (Δ) represent the values of initial control fish caught in 1976 and 1977 respectively. The mark (⊙) indicates the values of ovulated fish, and the mark (●) shows those of the specimens sampled during the course of maturation.

今回的人為催熟処理では、成熟度の進行に伴って FSSP 分画の占める割合が大きくなったが、逆に通常の血清蛋白分画は数量ともに著しく減少した。手法的には異なるが、同じく人為催熟したウナギの血漿蛋白の挙動については、落合ら<sup>12)</sup>が澱粉ゲル電気泳動法によって調べている。それによると、泳動像の5分画の量比では催熟処理した養殖魚の雄が無処理の対照群とほとんど変わらないのに対し、

催熟雌ウナギでは成熟に伴って第2, 第5分画に変動が見られ, それと同時に特に陽極側の第1分画の量比が著しく減少したという。落合ら<sup>12)</sup>の報告では雌特異血漿蛋白分画が泳動像の5分画のいずれに該当するか特に明示されていないが, 成熟に伴って少くとも通常血清蛋白にも変化が起っていることがうかがえる。魚類の血清蛋白についてのこれまでの研究でも, 泳動像が疾病<sup>26)27)</sup>や飢餓<sup>28)</sup>などの要因によって変動することが知られている。今回, 通常血清蛋白分画に見られた変動は, 処理魚の生理的な異常に基づく可能性を全く否定することはできないものの, 食塩水のみを投与した対照魚ではこのような顕著な変動が認められなかったことから, これは少くとも成熟と関連のある現象であろう。また, 落合ら<sup>12)</sup>は血漿蛋白量を測定した結果, 成熟を促された群では未熟状態で最も高い値を示し, その後は GSI の増大に伴って減少したという。今回の測定結果でも, GSI 40 までは同じような減少傾向が認められたが, その後に変動を示した値も含めてほとんどが無処理の下りウナギでの測定値の変動範囲に入ることから, この傾向が有意なものとは見なされない。しかし, この蛋白量については, 先の通常蛋白分画の変動と併せてさらに検討を重ね, 催熟親魚の生理状態の診断に必要な血液性状についての知見として加えることが望ましい。

前述のような成熟の進行に伴う FSSP の変化と並行して, その合成の場と考えられている肝臓にも, 組織学的に著しい変化が起ることが観察された。すなわち, 催熟処理開始時には肝細胞の核も小形で細胞質は染色性に乏しいが, 下垂体の反復投与により次第に核径は増大し, 細胞質の染色性も増した。さらに成熟の後半には細胞質中に多くの空胞が出現し, 異常な組織像を示すことが注目された。人為催熟した雌ウナギの肝細胞に空胞が出現する事実はすでに落合ら<sup>11)</sup>によって報告されている。一方, Inui and Egusa<sup>29)</sup>は長期間絶食状態においたシラスウナギの肝細胞に空胞が出現し, 絶食を続けることによってこの空胞化が顕著になることを報告している。従って今回観察された肝細胞の異常像も一面では飢餓によってもたらされたとも考えられるが, 食塩水のみを投与した対照魚の肝細胞が, 開始時の無処理魚の組織像とほとんど変わらないことから, 下りウナギ雌の場合にはこれがむしろ成熟と密接な関わりをもつ現象であると考えられる。

## 要 約

サケおよびヤマメの脳下垂体を投与して人為催熟を図った下りのニホンウナギ (*Anguilla japonica*) 雌について, ディスク電気泳動法と Mancini 法を用いて成熟に伴う雌特異血清蛋白 (FSSP) の動態を調べ, 同時に Biuret 法によって血清蛋白量を測定した。あわせて肝臓の組織学的変化についても観察した。成熟過程の指標として成熟度指数 (GSI) と, 卵巣卵の組織学的観察に基づく成熟度を用いた。

1. 処理開始時のウナギの GSI は 1.8~3.4 で第1次卵黄球期にあったが, 脳下垂体の投与回数を増すごとに急速に成熟が促され, 投与7回以上で GSI 48.5~64.5, 前成熟期に達し, GSI の増大とはば並行して成熟度の進行が見られた。処理魚 65 尾中 4 尾が自然排卵したが, 正常発生卵は得られなかった。

2. 処理開始時の個体では, 肝細胞の核は小形で細胞質もヘマトキシリンに対する染色性が弱く, 肝量指数 (HSI) は 1 前後であった。成熟途上にあるものでは HSI がやや増加し, 核も肥大し, 細胞質はヘマトキシリンに濃染する。また一部の細胞に大小の空胞が出現する。成熟後半になると顕著な空胞をもつ肝細胞が肝臓の大部分を占めるようになった。

3. 成熟途上のウナギでは, ディスク電気泳動法, Mancini 法のいずれによっても, GSI の増大, 組織学的な成熟度の進行とはば並行して FSSP が増加することが示された。その増加傾向は第1次卵黄球期から胚胞移動期までは直線的であったが, その後排卵に至らなかった個体では量的な変動が著しかった。排卵した 4 個体でもその FSSP 量は胚胞移動期に近い値を示した。

4. ディスク電気泳動像では、成熟が進むにつれて通常の血清蛋白分画が数量ともに著しい減少を示し、FSSP 分画が全蛋白の大きな割合を占めるようになった。

血清中の全蛋白量は個体による変動が著しく、成熟との関係を明瞭に認めることはできなかった。

## 文 献

- 1) 山本喜一郎・森岡孝朗・広井 修・大森正明 (1974). サケ・マス類脳下垂体投与による雌ウナギの催熟. 日水誌 40, 1-7.
- 2) Yamamoto, K. and Yamauchi, K. (1974). Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. *Nature* 251, 220-222.
- 3) 山本喜一郎・山内皓平・春日清一 (1975). ウナギの初期発生について. 日水誌 41, 21-28.
- 4) 山本喜一郎・山内皓平・森岡孝朗 (1975). ウナギの前レプトケファルス期の仔魚について. 日水誌 41, 29-34.
- 5) 千葉県内水面水産試験場 (1976). ウナギの人工種苗生産試験. 千葉県内水面水試昭和50年度指定調査研究種苗生産報告書 1-22.
- 6) 元信 堯・山下一臣・岡 英夫 (1976). 催熟ニホンウナギより得た孵化仔魚について. 静岡水試研報 10, 87-90.
- 7) Yamauchi, K., Nakamura, M., Takahashi, H. and Takano, K. (1976). Cultivation of larvae of Japanese eel. *Nature* 263, 412.
- 8) 岡 英夫・元信 堯・長谷川仁 (1975). ニホンウナギ (*Anguilla japonica*) の催熟に関する研究-I. 実験過程に認められた雌ウナギの体重増加について. 静岡水試研報 9, 27-37.
- 9) 岡 英夫・元 信堯・橋本利夫・長谷川仁 (1976). ニホンウナギ (*Anguilla japonica*) の催熟に関する研究-II. 催熟過程における雌ウナギの体重変化の型と投与ホルモンとの関係について. 静岡水試研報 10, 61-76.
- 10) 杉本良郎・武内良雄・山内皓平・高橋裕哉 (1976). サケ脳下垂体投与によるウナギ (*Anguilla japonica*) 雌の成熟誘導と成熟卵の油球の状態について. 北大水産彙報 27, 107-120.
- 11) 落合 明・榎田 晋・小川 学 (1974). ホルモン投与による雌ウナギの成熟促進と成熟中の肝臓および血液性状の変化について. 日水誌 40, 43-50.
- 12) 落合 明・小川 学・榎田 晋・谷口順彦 (1975). ホルモンで成熟促進させたウナギの血液性状の変化. 日水誌 41, 609-614.
- 13) 酒井 清・野村 稔・石田 修・石井俊雄 (1971). ウナギの種苗生産に関する研究-III. 卵巣卵および卵排された卵の性状. 水産増殖 19, 201-209.
- 14) 山本喜一郎・大森正明・山内皓平 (1974). 日本産ウナギ (*Anguilla japonica*) の卵形成について. 日水誌 40, 9-15.
- 15) 米田 勤・石原義雄 (1973). シロザケ (*Oncorhynchus keta*) およびサクラマス (*Oncorhynchus masou*) の血清蛋白ディスク電気泳動像. 北大水産彙報 24, 76-89.
- 16) 松橋 直・臼井美津子・成内秀雄 (1971). 免疫化学実験法. (2) 化学と生物 9, 125-131.
- 17) 松橋 直・臼井美津子・成内秀雄 (1971). 免疫化学実験法. (3) 化学と生物 9, 193-199.
- 18) 池田和夫 (1977). ニジマス血清総蛋白定量法について. 淡水研報 27, 27-34.
- 19) Vanstone, W.E. and Chung-Wai Ho, F. (1961). Plasma proteins of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, as separated by zone electrophoresis. *J. Fish. Res. Bd. Canada* 18, 393-399.
- 20) Thurston, R.V. (1967). Electrophoresis patterns of blood serum proteins from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Bd. Canada* 24, 2169-2188.
- 21) 会田勝美 (1974). 卵黄たん白の蓄積. p. 88-99. 日本水産学会編, 魚類の成熟と産卵. 127 p. 恒星社厚生閣, 東京.
- 22) Aida, K., Phan-Van-Ngan and Hibiya, T. (1973). Physiological studies on gonadal maturation of fishes I. Sexual difference in composition of plasma protein of ayu in relation to gonadal maturation. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 39, 1091-1106.
- 23) Heesen, D. und Engels, W. (1973). Elektrophoretische Untersuchungen zur Vitellogenese von *Brachydanio rerio* (Cyprinidae Teleostei). *Wilhelm Roux' Archiv* 173, 46-59.

- 24) 野村 稔・酒井 清・隆島史夫 (1974). ニジマス卵の過熟現象について I. 過熟卵の形態ならびに出現時期. 日水誌 **40**, 977-984.
- 25) 酒井 清 (1974). 産出卵の評価(淡水魚). p 100-112. 日本水産学会編, 魚類の成熟と産卵. 127 p. 恒星社厚生閣, 東京.
- 26) Shinderman, C.J. and Maris, D.F. (1958). Serum protein changes in diseased sea herring. *Anat. Record* **131**, 599-600.
- 27) 木村正雄 (1968). 海産魚とくにブリの疾病に関する基礎的研究. 宮崎大. 農. 研究時報 **5**, 154-161.
- 28) 坂口宏海 (1976). 絶食時におけるハマチの血液, 肝すい臓の化学成分などの変化について. 日水誌 **42**, 1267-1272.
- 29) Inui, Y. and Egusa, S. (1967). Histological changes observed in glass eel liver during starvation. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **33**, 181-189.