



Title	ドジョウ <i>Misgurnus anguillicaudatus</i> の生殖周期に伴うピテロジェニンの変動
Author(s)	寺西, 哲夫; TERANISHI, Tetsuo; 原, 彰彦 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 32(4), 281-292
Issue Date	1981-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23767
Type	departmental bulletin paper
File Information	32(4)_P281-292.pdf



ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* の生殖周期に伴うピテロジェニンの変動

寺西 哲夫*・原 彰彦**・高橋 裕哉*

Changes of Serum Vitellogenin Levels during the Course of Annual Reproductive Cycle of the Loach, *Misgurnus anguillicaudatus*

Tetsuo TERANISHI*, Akihiko HARA** and Hiroya TAKAHASHI*

Abstract

Quantitative alterations of vitellogenin in the serum of the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*, collected from rivers in the suburbs of Hakodate were examined in relation to changes of their ovaries during the annual reproductive cycle.

The gonadosomatic index (GSI) of female loaches began to increase in April and reached a maximum in June. Spawning of the loaches appeared to occur repeatedly in the months from July to September, with a gradual decrease in GSI throughout that period. During the successive months toward March, GSI in female loaches remained relatively low. It was noticed that a considerable number of the females examined in these months retained normal ovarian oocytes at various stages of vitellogenesis. Remarkable differences in GSI values were found among females sampled in every month of the year, which corresponded histologically to an asynchronous type of the development of ovarian oocytes in the fish.

The presence of two protein fractions containing phosphorus and lipids was detected by polyacrylamide gel disc electrophoresis in the serum of mature female loaches but not in that of male and immature female fish. Treatment of adult male loaches with estradiol could induce the appearance of these protein fractions in their sera. The proteins were identified as vitellogenin by disc immunoelectrophoresis and Ouchterlony's immunodiffusion test using an anti-loach egg yolk antiserum.

Vitellogenin was present in females captured in every month of the year except for a small number of fish in which ovaries did not contain vitellogenic oocytes. In relative quantification of vitellogenin in each individual fish by the radial immunodiffusion method of Mancini, mean levels of serum vitellogenin showed a prominent increase in April with a rise in GSI values, reached a peak in May, remained high until up to July, then decreased quite gradually in parallel with a decrease in GSI during the spawning period. In the sexually inactive months from October through March, vitellogenin was detectable still clearly, though small in amount generally, in sera of most of the females examined. Serum vitellogenin levels, which were checked in relation to histological maturity of ovaries in each fish, exhibited a tendency to become increasingly high as vitellogenesis in each ovarian oocyte advanced and as the number of vitellogenic oocytes increased in the ovary.

* 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)

The characteristic profiles of serum vitellogenin in the loach may reflect the phenomena that the fish as a whole have a long period of high reproductive activities during the year, and that each of them can carry out multiple spawnings at different times of that period according to different individuals. The implication of serum vitellogenin in the maintenance of yolky oocytes in loaches of sexually inactive periods is to be studied further.

硬骨魚の雌における卵黄形成過程は卵母細胞の成長および成熟に直接関連をもつ最も重要な現象であるが、この卵黄形成過程にある雌魚の血清中に、雄魚や未熟雌魚の血清蛋白とは物理化学的性状の異なる蛋白成分が出現することはよく知られている¹⁾。この雌に特異的な血清蛋白は卵黄蛋白前駆物質とみなしうるもので、一般にピテロジェニンとよばれており、これが雌性ホルモンの刺激により肝臓で合成されて血中に放出され、生殖腺刺激ホルモンの作用のもとに卵母細胞に取りこまれ卵黄蛋白として蓄積されることは硬骨魚においても確認されている^{2),3)}。従ってある魚種の生殖周期に伴うピテロジェニンの量的変動の検討は、その魚種における卵黄形成活動の推移を知るための重要な資料を与えると思われる。

硬骨魚の卵巣成熟と産卵に伴うピテロジェニンの消長については、*Oncorhynchus nerka*⁴⁾ や *Salmo salar*⁵⁾ での初期の免疫学的手法による研究につづいて近年、*Platichthys flesus*⁶⁾ や *Gobius niger*⁷⁾ でアルカリ不安定性磷の定量法や電気泳動法による観察がなされており、ピテロジェニンが卵巣での卵黄形成活動の開始とともに増量し産卵期に先立って最大量となり、産卵後減少することが報告されている。同様な現象は *Salmo trutta*⁸⁾ や *Salmo gairdneri*^{9),10)} でも知られている。また胎性魚の *Zoarcetes viviparus* でも、卵巣成熟、妊娠とピテロジェニンの量的変化との関連が調査され、興味ある知見が得られている¹¹⁾。

わが国の重要養殖魚種の一つであるドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* については久保田¹²⁾ が卵巣の成熟過程を、また鈴木¹³⁾ が卵巣卵の卵径分布を調べて、本州産のドジョウの卵巣卵の発達が非同時発生型であることを報じ、同一個体が一産卵期に反復して産卵する可能性を示唆している。またドジョウの成熟が光や温度など外部条件の影響を受けやすいことも実験的に示されており^{14),15)} 本州と環境条件の異なる北海道でのドジョウの産卵期前後の卵巣卵の挙動について興味もたれる。林¹⁶⁾ は北海道岩見沢地区のドジョウの卵巣重量の月別変化を調査し、産卵期が本州でのそれよりも1~2か月おくれて5月下旬から8月中旬にあるとしているが、各月の数値の個体差がきわめて著しいのが注目される。従って本研究では北海道南部の河川から周年的に採集したドジョウについて血清中のピテロジェニンの量的変動を調べ、並行して観察した卵巣の組織学的変化との関連を追って、ドジョウの卵黄形成過程の特色を検討した。

材料と方法

ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* は函館市近郊の久根別川本流およびその支流において、1979年10月から1980年9月までの間の各月に採集したもので、体長 8.50~13.19 cm、体重 3.12~18.40 g の範囲にある雌を観察に用いた。

採集したドジョウは、研究室に運び MS-222 で麻酔したのち直ちに尾柄部切断により採血した。血清は血液を室温に静置して凝固させたのち、6000 rpm で10分間遠沈して分離し、実験に用いるまで -20°C に凍結保存した。また、採血後の各個体から卵巣ならびに肝臓を摘出し重量を測定したのち、Bouin 氏液で固定、7~10 μm の連続切片を作製し、Delafield のヘマトキシリンとエオシンによる二重染色を施して組織学的に観察した。

血清蛋白は、Davis¹⁷⁾ の方法に従い、7.5% ポリアクリルアミドゲル・ディスク電気泳動法で分離した。泳動は 4°C においてカラム 1 本当たり 2mA の定電流で行い、プロムフェノールブルーの色線が

分離用ゲルを通過するまでとした。全血清蛋白バンド染色にはクーマシーブリリアントブルー G250 を、脂質蛋白バンド染色にはズダンブラックBを用いた。また磷蛋白バンドは Cutting and Roth¹⁸⁾ の方法に従い染色した。

血清中のビテロジェニンの検出にはディスク免疫電気泳動法¹⁰⁾ ならびに Ouchterlony の二重免疫

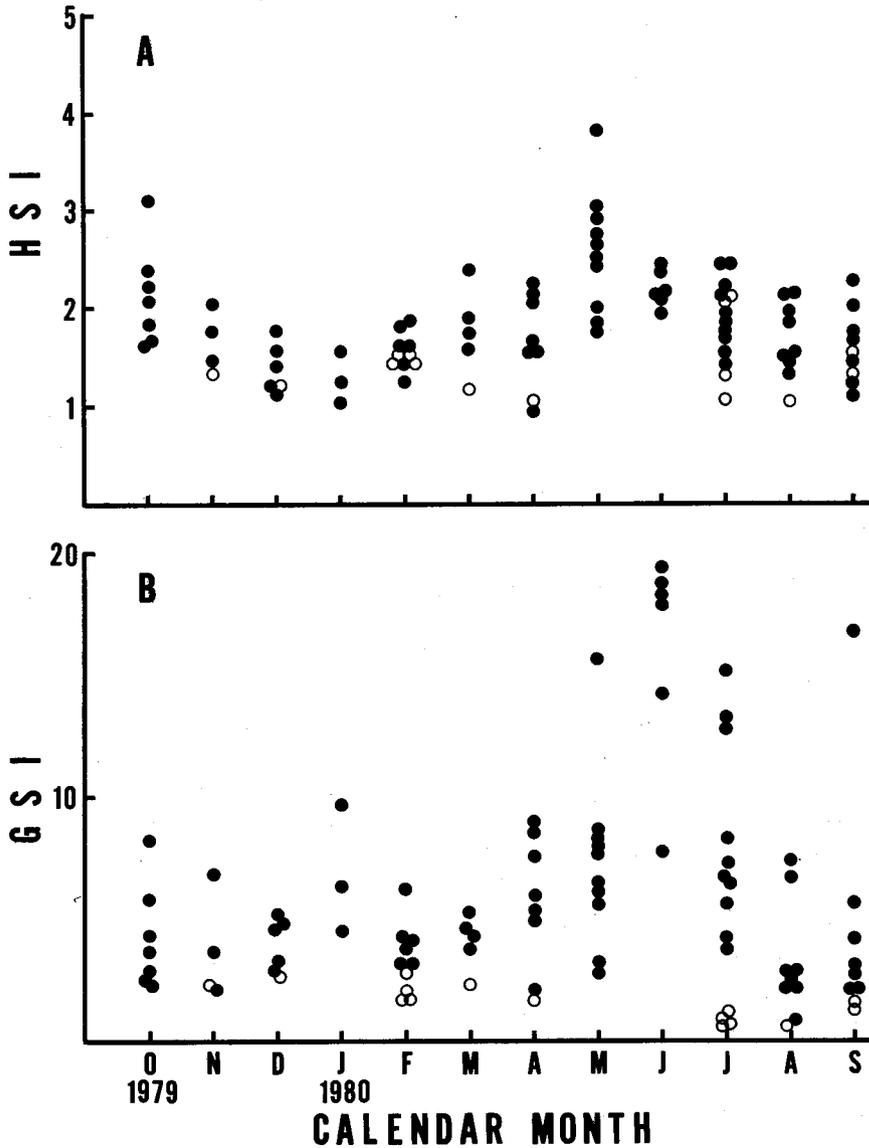


Fig. 1. Seasonal changes of gonadosomatic indices (GSI) and hepatosomatic indices (HSI) of female loaches in which serum vitellogenin was detectable (●) or undetectable (○) by the Ouchterlony's test.

拡散法²⁰⁾を用いた。これらに使用した抗血清は抗ドジョウ卵黄蛋白抗血清で、卵黄形成途上にある卵を含むドジョウの卵巣を0.9%食塩水で磨砕し、その上清を Freund の完全アジュバントと共に家兔に注射して得たものである。またピテロジェニンの定量には同じ抗血清による Mancini の放射状免疫拡散法²⁰⁾を用いたが、抗原量既知の血清が得られなかったため、卵母細胞が卵黄形成途上にあることを確認した雌魚の血清を標準血清とした。本研究に用いた抗血清に対して、1, 3, 6, および 36 倍の標準血清の希釈系列が明確に比例反応をみせることをたしかめたるうえで非希釈の標準血清のもつ抗原量を便宜的に 100 として、各試料の抗原量を相対値で表わした。

結 果

1. 生殖周期に伴う卵巣および肝臓の変化

図 1B に示したようにドジョウ雌の成熟度指数 (GSI, 卵巣重量/体重 $\times 100$) は、4 月から 5 月にかけてその個体差はかなり大ではあったが次第に上昇する傾向をみせ、6 月下旬には最高値に達した。これらの各月には卵黄形成の顕著な進行をみせる個体はその数を増し (図 2a), とくに 6 月下旬に観察した 6 個体のすべての卵巣には第 3 次卵黄球期の卵母細胞が卓越して存在していた (図 2b) が、核移動期以降の成熟状態に達したものはまだみられなかった。

7 月の GSI の平均値 (6.2) は 6 月のそれ (16.1) よりも明らかに低かったが、個体ごとの値は 0.6 から 15.1 にわたるきわめて著しい差をみせた。この月に GSI が 3.8 以上を示した 10 個体の卵巣には第 3 次卵黄球期の卵母細胞が多数存在し、それらのうち 4 個体の卵母細胞は核移動期に達していた (図 2c)。またこの 7 月の 1 個体では剖検時に排卵があったことを確認し得た。この個体は GSI が 3.8 で、その卵巣には核移動期の卵母細胞はみられなかったが、多数の第 3 次卵黄球期の卵母細胞が依然として存在していた。8 月下旬および 9 月下旬には GSI の低下が明らかとなり、個体差も小となったが、8 月の 9 個体中 8 個体および 9 月の 9 個体中 7 個体の卵巣には第 1 次～第 3 次卵黄球期にある卵母細胞が少数ながら認められた。これらのうち 8 月の GSI 7.4 の個体、および 9 月の GSI 16.8 の個体の卵巣には卵黄蓄積途上の卵母細胞と共に核移動期にあるものが明らかに存在していた。これらの観察結果から、本研究に用いたドジョウの産卵期は 7 月から 9 月にわたるものと推定された。

10 月から翌年 3 月までの間の各月には GSI は全体として比較的低い値にとどまっていたが、各月とも個体によりかなりの差をみせる傾向が注目された。10 月に観察した 7 個体全ての卵巣には周辺仁期および卵黄胞期の卵母細胞に加えて卵黄蓄積期にある卵母細胞が存在しており (図 2d), うち 5 個体で観察された卵母細胞のあるものは第 3 次卵黄球期に、また他の 2 個体のそれは第 1 次卵黄球期にあった。11 月から翌年 3 月までの各月における調査でも、常に卵黄を蓄積させた正常な形態を示す卵母細胞をもつ個体がみいだされた (図 2e, f)。しかし、11 月の 4 個体中 1 個体、12 月の 6 個体中 1 個体、2 月の 10 個体中 4 個体および 3 月の 5 個体中 1 個体の卵巣では、卵母細胞はすべて卵黄胞期以下の成熟段階にとどまっていた。また、卵黄球を蓄積した卵母細胞の退行像は、10 月の若干の個体においてかなりの頻度で観察されたが、他の各月に観察した個体では同様な退行途上の卵母細胞の出現は顕著ではなかった。

ドジョウ雌の肝臓指数 (HSL, 肝臓重量/体重 $\times 100$) は 5 月に相対的にやや高い値を示し 12 月から 2 月にかけて低い値をとる傾向にあったが、周年的な変動は著しくなかった (図 1A)。肝細胞の組織像にも季節ないし成熟度による著しい変化は認められなかったが、6 月から 9 月にかけて肝細胞質内の空胞の出現が顕著となるように思われた。

2. ピテロジェニンの検出と量的変化

ディスク電気泳動法により血清蛋白を分離した。これらの泳動パターンを比較した結果、成熟雌の

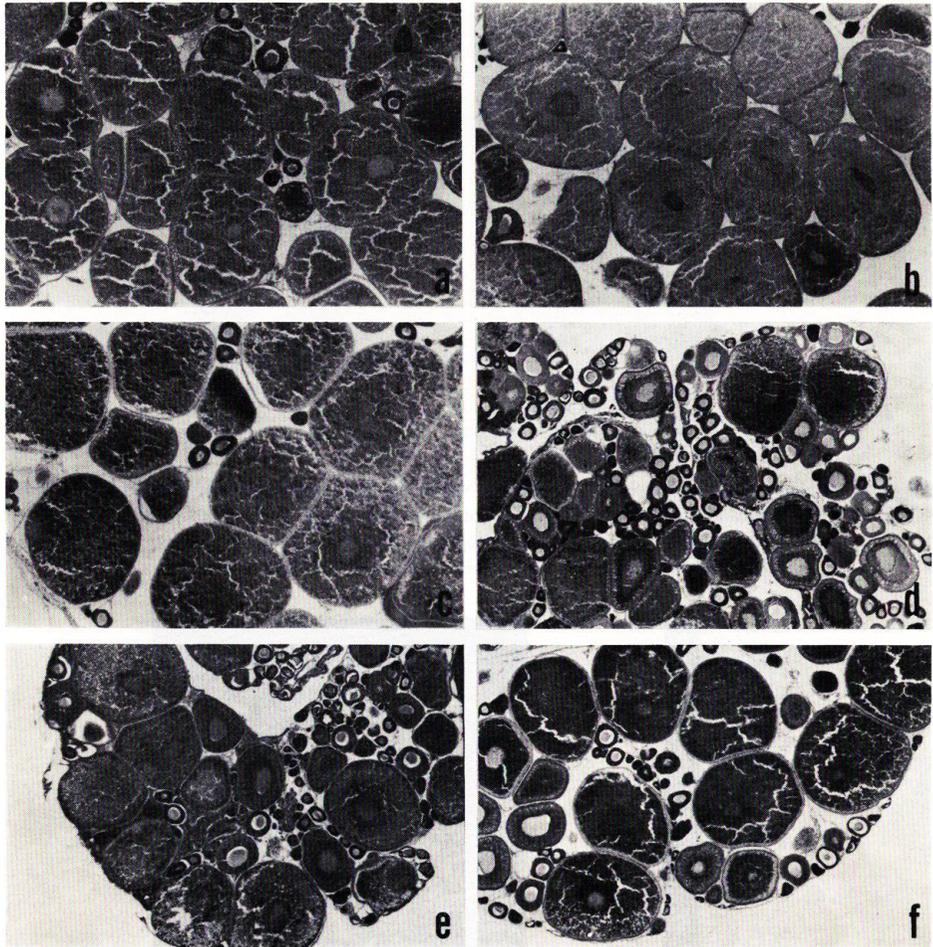


Fig. 2. Sections of ovaries of female loaches sampled in April (a), June (b), July (c), October (d), January (e), and March (f), fixed in Bouin's fluid and stained with hematoxylin-eosin. $\times 27$.

血清中には成熟雄ならびに未熟雌のそれにはない2本の特異的な蛋白バンドが存在すること、およびそれらが隣らびに脂質染色に陽性反応を示すことを確認した(図3)。また1尾当り $50\mu\text{g}$ のエストラジオール- 17β を4日おきに6回腹腔内に注射されたドジョウ雄の血清中にも、ディスク電気泳動上成熟雌にみられた特異的な蛋白分画と同様な易動度を持ち、未処理雄の血清中にはない2本の蛋白バンドがきわめて明確に出現することを確認した(図3)。次いで成熟雌の血清について抗ドジョウ卵黄蛋白抗血清によるディスク免疫電気泳動を行った結果、上記の2本の特異蛋白分画域のそれぞれに対応する位置に連続した1本の沈降線が抗血清との間に形成されることがわかった(図4A)。またOuchterlonyの免疫拡散法によっても、本研究に用いた抗ドジョウ卵黄蛋白抗血清がドジョウの成熟雌上雌の血清、成熟卵巣の抽出物、ならびにエストラジオール処理雄からの血清との間には連続した1本の沈降線を形成するが、未熟雌または成熟雄の血清との間にはそれがみられないことが確かめら

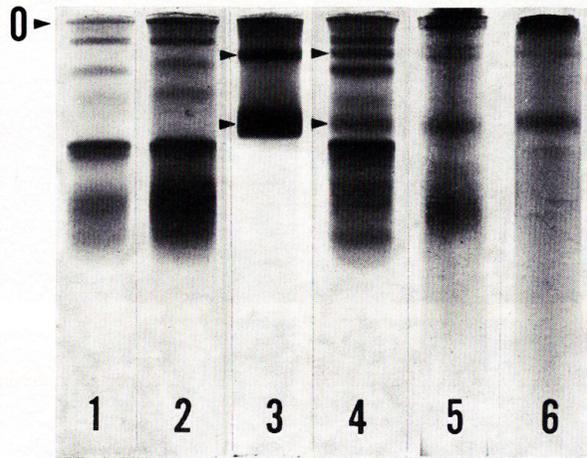


Fig. 3. Electrophoresis of blood serum proteins of mature male (1), immature female (2), estradiol-treated male (3), and mature female (4-6) loaches. 0 locates the origin of protein migration. Vitellogenin fractions are shown by arrow-heads. 1-4, protein staining; 5, phosphoprotein staining; 6, lipid staining.

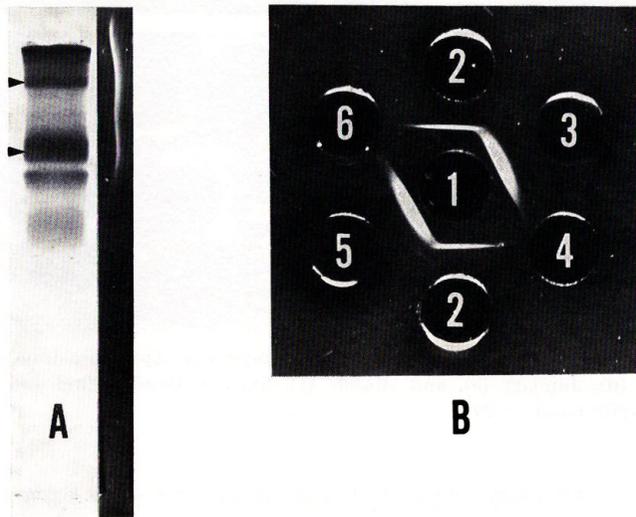


Fig. 4. A. Disc immunoelectrophoretic pattern of serum of a mature female loach. Vitellogenin fractions are shown by arrows. B. Detection of vitellogenin of the loach by the Ouchterlony's immunodiffusion method. 1, rabbit anti-loach egg yolk antiserum; 2, serum of mature female loach; 3, extract of mature ovary of loach; 4, serum of immature female loach; 5, serum of estradiol-treated male loach; 6, serum of normal male loach.

れた (図 4B)。以上の事実に基づいて、本研究ではドジョウのこれらの雌特異血清蛋白を一般にビテロジェニン (以下 Vg と略記する) として知られる卵黄蛋白前駆物質であるとみなした。

本研究に用いたドジョウの全個体の血清について Ouchterlony 法によって Vg の有無を判定し、そ

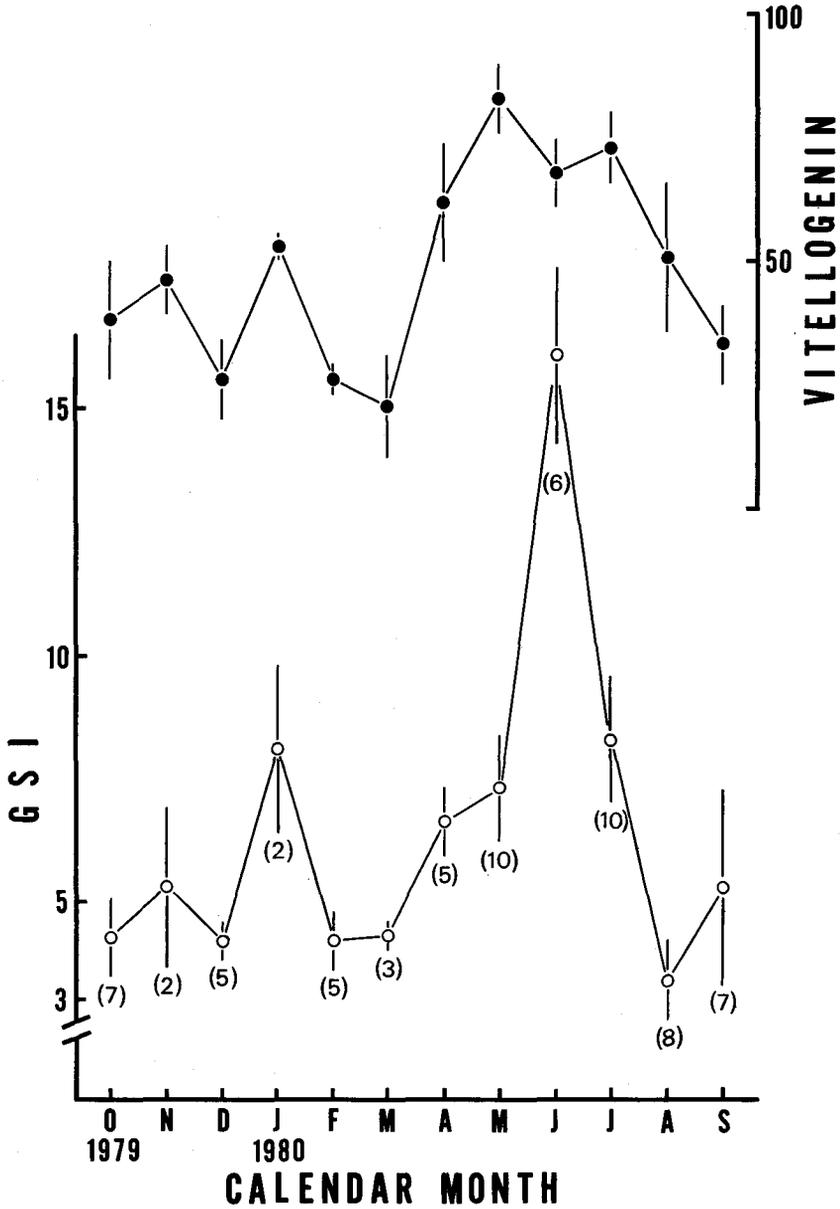


Fig. 5. Changes of gonadosomatic indices (GSI) and relative levels of serum vitellogenin of female loaches during the annual reproductive cycle. GSI values of the fish in which serum vitellogenin was undetectable by immunological tests and of those in which a sufficient amount of serum was not available for quantification, were excluded from the representation.

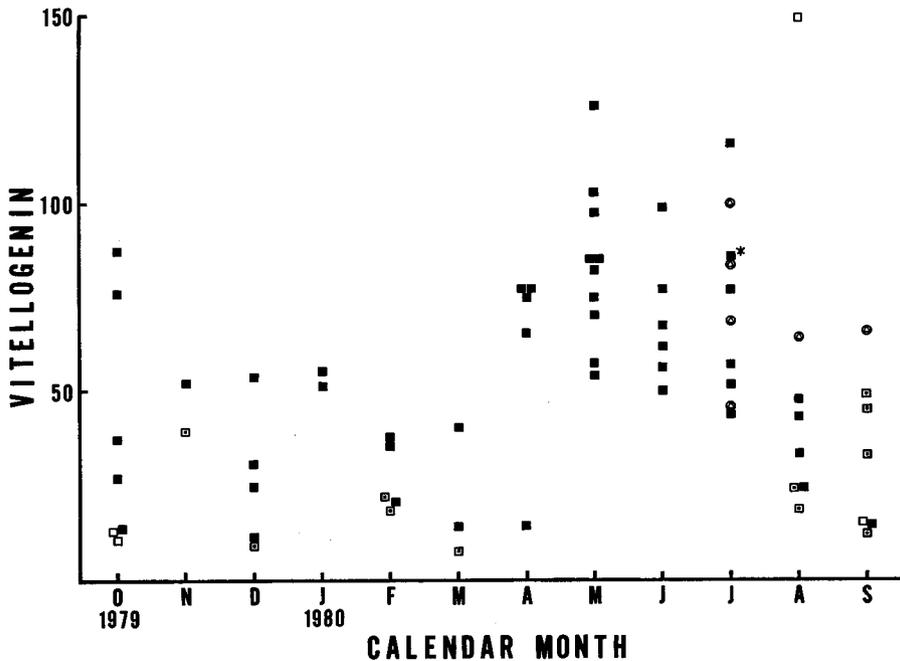


Fig. 6. Relation between relative levels of vitellogenin and stages of oocyte development in female loaches. Each of the marks in the figure corresponds to each of the fish with most advanced ovarian oocytes at the primary yolk stage (□), the secondary yolk stage (◻), the tertiary yolk stage (■), and the migratory nucleus stage (○). The mark with an asterisk indicates the fish showing ovulation.

れと GSI との関連をみた。Vg をもつ雌は 4~6 月の GSI 上昇期および 7~9 月の産卵期はもちろん、産卵期後の翌年 3 月までの冬期間の各月にふつうに出現する点が特徴的であった。しかし、これらの Vg をもつ個体は卵巣内に第 1 次卵黄球期以上の成熟度を示す卵母細胞を有するものに限定されていた。Ouchterlony 法によってもまた Mancini 法によっても Vg が検出され得なかった個体も、観察対象群中に少数ながらほぼ周期的に見いだされた (図 1) が、これらの個体の卵巣では卵母細胞の成熟が常に卵黄胞期以下にとどまった状態にあった。

Mancini 法により測定した各月の採集個体の Vg の平均値と、Vg を有する個体の GSI の平均値との関連を図 5 に示した。Vg 量は GSI の上昇開始と一致して 4 月に顕著な増加をみせ 5 月にはピークに達するものとみられた。しかし、GSI 値がピークとなる 6 月には Vg 量は 5 月とほぼ同レベルにあり、GSI が低下しはじめる産卵期初期の 7 月にも同様なレベルに保たれていた。8 月および 9 月には GSI 値の減少とともに Vg 量もまた低下していた。10 月から 3 月までの期間には Vg 量は GSI 値と同様に低いレベルにあったが、特に 10~12 月の間には個体による変動がやや大であった。

各月に観察したドジョウの卵巣の成熟度が必ずしも均一ではなかったことを考慮して、卵母細胞の成熟の進行と Vg 量の変化との関連を知るために、各月のそれぞれの個体について成熟度と Vg 量とを対比し検討した (図 6)。全体的にみて、第 3 次卵黄球期の卵母細胞をもつ個体の Vg 量は第 1 次ないし第 2 次卵黄球期のそれをもつ個体の Vg 量よりも高い傾向が認められた。また第 3 次卵黄球期の卵母細胞の増数が著しい 4 月から 6 月の個体では、Vg 量は相対的に高いレベルにあり、また多数の第 3 次卵黄球期の卵母細胞に加えて核移動期に達したのもをもつ産卵期の個体の Vg 量も同様に高

いレベルにあった。卵黄形成期にある卵母細胞の数が總体的に減少する8月および9月にはVg量もまた低下していた。ただ8月にはGSIが0.93で卵巣内の第1次卵黄球期の卵母細胞が少数にすぎない個体に、著しく大量のVgが測定された。

考 察

本研究で観察したドジョウ雌に特異的に存在する血清蛋白成分が、ピテロジェニン (Vg) とよばれる卵黄蛋白前駆物質に相当するものであることは疑いないと思われる。すなわち、この雌特異血清蛋白は卵黄蓄積期にある卵母細胞をもつ雌に限って出現し、免疫学的に抗ドジョウ卵黄蛋白抗血清との間に明確な沈降線を形成した。Vgは雌性ホルモンの刺激により肝臓で合成され血中に放出される²¹⁾⁻²³⁾が、雌性ホルモン処理をうけたドジョウ雄の血清中に、雌に特異的な血清蛋白と同一の泳動像をみせた免疫学的にも同一の抗原性を示す蛋白成分が新たに出現したことは本研究の雌特異血清蛋白がVgとしての性格をもつことを強く支持するものである。

これまでVgないしVgに相当する血清蛋白は血中のアルカリ不安定性燐量、カルシウム量、燐蛋白燐量、ならびに脂質量を測定する間接的な方法によって測定されているが、これらのうちアルカリ不安定性燐の定量による方法は、*Heteropneustes fossilis*のVgを検討したNath and Sundararaj²³⁾の最近の報告においても信頼すべき方法としてあげられている。本研究に用いたドジョウは卵巣の成熟度の個体差が著しいのが常であり、従って卵巣成熟度とVg量との関連を個体毎に検討する必要があったが、1個体から分離しうる血清量は平均50 μ l、最高80 μ lにすぎず、アルカリ不安定性燐量によるVg定量は困難であった。従って、高島ら²⁴⁾およびHara¹⁾がそれぞれウナギ *Anguilla japonica* およびニジマス *Salmo gairdneri* のVgの定量に用いて好結果を得ているMancini法を本研究に用いた。近年、放射免疫検定法によるVg定量もIdler et al.²⁵⁾ およびIdler and Campbell²⁶⁾により試みられており、より精度の高い定量法として望ましいと考えられるが、小型魚の血清Vg量の相対的变化を追うには、本研究に用いたより簡便なMancini法で十分な結果が得られると思われる。

Vgが産卵期前の卵黄形成期を通じ活発に増加し、産卵期に入るとともに減少することは *Platichthys flesus*⁶⁾、ブラウンマス *Salmo trutta*⁹⁾、*Gobius niger*⁷⁾ および *Salmo gairdneri*¹⁰⁾ で知られている。Emmersen and Emmersen⁶⁾ の報告によると *Platichthys flesus* では、卵黄形成期後期における卵巣へのVgの取り込みが初期でのそれに比して低下するため、血中Vg量は産卵期前に最大に達するという。ドジョウにおいてもVg値はGSIがピークに達する6月に先立ち5月に最大となり、以後産卵期の7月まで高いレベルを保っており、また血中値は卵母細胞の卵黄形成の進行度が高いほど、また卵巣のもつ卵黄蓄積期の卵母細胞が多数であるほど高い傾向をみせた。この現象は *Platichthys* で示唆されたように肝臓のVg合成活性が卵黄形成期に上昇し高い状態に維持されるが、卵母細胞のVgとり込みが卵黄形成の進行とともに減少することを反映するのかもしれない。肝臓重量が生殖周期と相関した変化をみせることはよく知られており^{10),11)} *Platichthys* では肝臓重量はVg量のピーク時に最大となり、以後減少する⁶⁾。ドジョウの肝臓重量も、HSIからみた場合、最大量のVgが計測される5月に最大となる傾向があったが、個体差が著しいためもあり、それ以降産卵期終了までの減少傾向は必ずしも顕著ではなかった。

ギンザケ *Oncorhynchus kisutch* ではVgに相当する雌特異蛋白は産卵期および産卵後の雌の血中から消失するとされている²⁷⁾。しかし、Le Menn⁷⁾ は *Gobius niger* で、卵黄形成期に免疫学的に検出されるVg相当の雌特異蛋白は産卵後の卵巣退縮期にもなお残存するが、休止期に入ると免疫学的に認められなくなると述べている。van Bohemen et al.¹⁰⁾ も産卵後のニジマスの血清Vgが産卵前よりも増加して、その後急激に減少すると報じ、産卵後の高値のVgの存在を肝臓のVg合成の維持と卵母細胞によるVgの取り込みの欠如によるものとみなしている。

産卵期後の雌魚の血清中における Vg の存在は本研究に用いたドジョウでも確認し得た。しかしドジョウでのこの現象が、これまで他の魚種で報告されている例と大きく異なるのは、相対的に少量とはいえ Vg を有する個体が産卵期後の 10 月から 3 月までの卵巣発達休止期を通じて常に存在し、またその Vg の存在が卵巣に卵黄を貯留している卵母細胞が多少とも存在することと明らかな関連をもつ点である。

Le Menn⁷⁾ は産卵後の *Gobius niger* の血中の Vg の残存を、卵巣内で退行中の卵黄蓄積卵に由来する卵黄蛋白が血中に再放出されその肝臓内での異化が比較的緩徐になされるためと考えている。ドジョウの場合、産卵期が終了したとみられる 10 月に調査した個体の卵巣には卵黄形成のさまざまな段階にあったとみられる退行途上の卵母細胞が比較的高率に出現するのが観察された。しかし、つづく卵巣発達休止期の各月の個体における退行卵の出現頻度はごく小であり、またそれらの個体の卵巣にみられた卵黄を蓄積した卵母細胞は組織学的に正常な像をみせていた。従って、産卵期後のドジョウの血清 Vg が退行卵の吸収に由来するという可能性は非常に少ないといえる。

本研究が示したように、ドジョウの産卵期は他魚種に比して比較的長い。林¹⁶⁾ は道央地区のドジョウの産卵期を GSI の変化からみて 5 月下旬から 8 月中旬としているが、本研究に用いた道南産のドジョウの産卵は、卵巣の組織学的観察からすると 7 月から 9 月までの 3 ヶ月間にわたるとみられる。この間の GSI の変化にも、また血中 Vg 量の変化にも著しい個体差がみられたことは、鈴木¹³⁾ が指摘したように、ドジョウの卵母細胞の発達様式が非同時発生型であって、同一個体が同一産卵期間に反復して産卵する可能性を反映するものであろう。また GSI および Vg 量の同様な個体差が産卵後の休止期の各月におけるドジョウにも著しかったことは、各個体の反復産卵が産卵期間内の異なる時期になされることによるのかもしれない。いずれにせよ、ドジョウの卵巣の発達がかなりの長期にわたって継続してなされることは、産卵期末期の大多数の個体が卵巣に卵黄蓄積途上の卵母細胞をもっていったことからもうかがわれる。

ドジョウの卵巣成熟は環境条件、とくに水温に大きく左右されるようであり²⁰⁾、鈴木¹⁶⁾ はドジョウ雌を連続して 25°C の一定水温におくと季節とは拘りなく長期間にわたって月 1 回の人為的採卵をくり返すことが可能であると報告している。本研究に用いたドジョウの生息場所の水温は、9 月下旬にはすでに 8.5°C とかなりの低下をみせていた。このような水温低下が卵母細胞の卵黄形成ならびに成熟の進行と維持にかかわる因子の作用を低減させるように働き、結果として排産卵の停止と一部の卵母細胞の退行を導いた可能性が考えられる。その後の卵巣発達休止期にもこの因子の作用が完全に消失はせず、卵黄蓄積期の卵母細胞の若干が卵巣内に正常な状態に維持され得たと考えることもできよう。本研究ではこの因子がどのようなものを明らかにし得なかったが、この点に関しては Sundararaj and Goswami²⁰⁾ が *Heteropneustes fossilis* で得た実験結果に興味をもたれる。彼らは脳下垂体を摘出された成熟雌の卵巣では卵黄をもつ卵母細胞が広汎な退行をおこすが、脳下垂体摘出とともにエストロジオールを投与するとそれらの卵母細胞が退行からまぬかれると報じている。雌性ホルモンの卵巣での合成および血中への放出が脳下垂体のゴナドトロピンにより制御されることは明らかである²⁰⁾ が、*Pseudopleuronectes americanus* では、雌での肝臓の Vg 合成活動が脳下垂体摘出後にも低い度合ではあるがみられるという²²⁾。

魚類の卵黄形成過程の始動、停止などその調節にかかわる機構については未知の面が少なくない。本研究でみられた産卵後のドジョウの卵巣内での卵黄を蓄積した卵母細胞の維持と血中の Vg の継続した存在が、次の卵巣成熟にいかなる意義をもつか、またそれが雌性ホルモンなど卵黄形成に関わる内分泌因子の消長といかなる関連をもつかは、この観点からしても検討に値する重要な問題といえよう。

要 約

函館市近郊の野外で周年的に採集したドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* の血中ビテロジェニン (Vg) の量的変化を卵巣の組織学的変化と対比し、卵黄形成の進行との関連を検討した。

ドジョウ雌の成熟度指数 (GSI) は4月に増加を始め、6月にピークに達した。この間には、非同時型の発達様式をとる卵母細胞での卵黄蓄積の進行と卵黄形成期末期の卵母細胞の増数が顕著であった。GSI は7月から9月にかけて徐々に減少したが、排卵個体や核移動期の卵母細胞をもつ個体が出現しており、この間が産卵期であることを示した。10月から3月の生殖活動休止期にはGSI は一般に低くまた個体差も著しかったが、卵黄球期の正常な卵母細胞をもつ個体が各月に常に存在していた。

Vg とみなしうる血清蛋白は7.5% ポリアクリルアミドゲル・ディスク電気泳動により成熟雌ドジョウの血清中に2本のバンドとして分離され、それらが燐および脂質を含むことも確認された。これらは抗ドジョウ卵黄蛋白抗血清に対して明確な免疫学的反応をみせた。またこれらが雌性ホルモン処理をうけた雄ドジョウの血清に新たに出現する蛋白と同一の泳動パターンおよび抗原性をもつことも確かめた。

Ouchterlony 法によって検出可能な血清 Vg は、卵母細胞が卵黄形成過程にある卵巣をもつドジョウに限って存在していた。

Mancini の放射状免疫拡散法により定量した血清 Vg 量は、4月にGSIの増加と一致して上昇し、5月にピークに達した後、7月まで高いレベルにあった。Vg量は産卵期の経過とともに徐々に減少したが、産卵期後の10月から3月にかけても大多数の個体の血中にVgが少量ながら存在することが確かめられた。またVgは、各個体の卵巣の組織学的成熟度と対比して検討すると、卵母細胞における卵黄形成の進行ならびに卵巣内の卵黄形成期にある卵母細胞の数の増加と相伴って増量する傾向を示した。このようなVg量の特徴的な変動は、ドジョウの卵巣の発達がかなりの長期にわたって継続してなされること、および各個体における産卵が産卵期の異なる時期に反復してなされることの反映であると考えられる。

文 献

- 1) Hara, A. (1980). Studies on female-specific serum proteins (vitellogenin) and egg yolk proteins in teleosts: immunochemical, physicochemical and structural studies. Ph. D. thesis, Hokkaido University, Japan.
- 2) Wallace, R.A. (1978). Oocyte growth in nonmammalian vertebrates. p. 481-485. In Jones, R.E. (ed.), *The Vertebrate Ovary*. 853p. Plenum Press, New York and London.
- 3) Nath, P. and Sundararaj, B.I. (1979). Role of protein and steroid hormones in vitellogenesis in the catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Proc. Indian Nat. Sci. Acad.* 45, 491-496.
- 4) Ridgway, G.J., Klontz, G.W. and Matsumoto, C. (1962). Intraspecific differences in serum antigens of red salmon demonstrated by immunochemical methods. *Bull., Int. N. Pac. Fish. Comm.* 8, 1-13.
- 5) Fine, J.M. and Drillon, A. (1963). Etude immunologique des protéines du sérum de *Salmo salar*: Etude par immunodiffusion. *C.R. Soc. Biol.* 157, 1937-1940.
- 6) Emmersen, B.K. and Emmersen, J. (1976). Protein, RNA and DNA metabolism in relation to ovarian vitellogenic growth in the flounder, *Platichthys flesus* (L.). *Comp. Biochem. Physiol.* 55B, 315-321.
- 7) Le Menn, F. (1979). Some aspects of vitellogenesis in a teleostean fish, *Gobius niger* L. *Comp. Biochem. Physiol.* 62A, 495-500.
- 8) Crim, L.W. and Idler, D.R. (1978). Plasma gonadotropin, estradiol, and vitellogenin and gonad phosphitin levels in relation to seasonal reproductive cycles of female

- brown trout. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* **18**, 1001-1005.
- 9) Whitehead, C., Bromage, N.R. and Forster, J.R.M. (1978). Seasonal changes in reproductive function of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish Biol.* **12**, 601-608.
 - 10) van Bohemen, Ch. G., Lambert, J.G.D. and Peute, J. (1981). Annual changes in the plasma and liver in relation to vitellogenesis in the female rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **44**, 94-107.
 - 11) Korsgaard, B. and Petersen, I. (1979). Vitellogenin, lipid and carbohydrate metabolism during vitellogenesis and pregnancy, and after hormonal induction in the blenny, *Zoarces viviparus* (L.). *Comp. Biochem. Physiol.* **63B**, 245-251.
 - 12) 久保田善二郎 (1961). ドジョウの生態に関する研究-III. 生殖腺について. 農水講研報 **11**, 197-214.
 - 13) 鈴木 亮 (1976). ドジョウの放卵数, 卵巣卵数および卵径分布. 日本誌 **42**, 961-967.
 - 14) 鈴木 亮 (1978). ドジョウにおける人工的多回産卵. 昭和 53 年度日本水産学会 春季大会講演要旨集, 100.
 - 15) Ueda, H. and Takahashi, H. (1981). Effect of continuous light exposure on pituitary gonadotrophs of the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* **31**, 1-15.
 - 16) 林 和明 (1968). 岩見沢地区どじょう分布生態調査. 魚と水 **2**, 1-4.
 - 17) Davis, B.J. (1964). Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. New York Acad. Sci.* **121**, 404-427.
 - 18) Cutting, J.A. and Roth, T.F. (1973). Staining of phospho-proteins on acrylamide gel electropherograms. *Anal. Biochem.* **54**, 386-394.
 - 19) 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.
 - 20) 右田俊介 (1979). 免疫学的方法. p. 76-83. 平山千里・右田俊介編, 血漿タンパク質. 481 p. 医歯薬出版, 東京.
 - 21) De Vlaming, V.L., Wiley, H.S., Delahunty, G. and Wallace, R.A. (1980). Goldfish (*Carassius auratus*) vitellogenin: induction, isolation, properties and relationship to yolk protein. *Comp. Biochem. Physiol.* **67B**, 613-623.
 - 22) Campbell, C.M. and Idler, D.R. (1976). Hormonal control of vitellogenesis in hypophysectomized winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus* Walbaum). *Gen. Comp. Endocrinol.* **18**, 143-150.
 - 23) Nath, P. and Sundararaj, B.I. (1981). Isolation and identification of female-specific serum lipophosphoprotein (vitellogenin) in the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Gen. Comp. Endocrinol.* **43**, 184-190.
 - 24) 高島業二・高野和則・原 彰彦 (1979). 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動. 北大水産彙報 **30**, 50-61.
 - 25) Idler, D.R., Hwang, S.J. and Crim, L.W. (1979). Quantification of vitellogenin in Atlantic salmon (*Salmo salar*) plasma by radioimmunoassay. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **36**, 574-578.
 - 26) Idler, D.R. and Campbell, C.M. (1980). Gonadotropin stimulation of estrogen and yolk precursor synthesis in juvenile rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.* **41**, 384-391.
 - 27) Vanstone, W.E. and Ho, F.C.-W. (1961). Plasma proteins of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, as separated by zone electrophoresis. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **18**, 393-399.
 - 28) 鈴木 亮・山口元吉 (1976). ドジョウの成熟におよぼす水温の影響ならびに周年採卵. 日本誌 **43**, 367-373.
 - 29) Sundararaj, B.I. and Goswami, S.V. (1968). Effects of estrogen, progesterone, and testosterone on the pituitary and ovary of catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *J. Exp. Zool.* **169**, 211-228.