# 性ステロイドホルモンによる精子形成および初期卵形成の制御機構


| | |
|---|---|
| 誌名 | 水産総合研究センター研究報告 |
| ISSN | 13469894 |
| 著者名 | 三浦,猛 |
| 発行元 | 水産総合研究センター |
| 巻/号 | 26号 |
| 巻号補足 | |
| 掲載ページ | p. 115-122 |
| 発行年月 | 2008年12月 |



農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

# 正誤表

水産総合研究センター研究報告　第26号
独立行政法人水産総合研究センター交付金プロジェクト
「形態・生理機能の改変による新農林水産生物の創出に関する総合研究」
水産生物サブチーム

訂正箇所を以下に示します。謹んでお詫び申し上げます。

| 項 | 誤 | 正 |
|---|---|---|
| P. 35 | 水研センター研報, 第24号, 35－39, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 35－39, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 35－39, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 35－39, 2008 |
| P. 41 | 水研センター研報, 第24号, 41－46, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 41－46, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 41－46, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 41－46, 2008 |
| P. 47 | 水研センター研報, 第24号, 47－52, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 47－52, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 47－52, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 47－52, 2008 |
| P. 53 | 水研センター研報, 第24号, 53－61, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 53－61, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 53－61, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 53－61, 2008 |
| P. 63 | 水研センター研報, 第24号, 63－68, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 63－68, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 63－68, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 63－68, 2008 |
| P. 69 | 水研センター研報, 第24号, 69－75, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 69－75, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 69－75, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 69－75, 2008 |
| P. 77 | 水研センター研報, 第24号, 77－82, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 77－82, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 77－82, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 77－82, 2008 |
| P. 83 | 水研センター研報, 第24号, 83－89, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 83－89, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 83－89, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 83－89, 2008 |
| P. 91 | 水研センター研報, 第24号, 91－97, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 91－97, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 91－97, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 91－97, 2008 |
| P. 99 | 水研センター研報, 第24号, 99－105, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 99－105, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 99－105, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 99－105, 2008 |
| P. 107 | 水研センター研報, 第24号, 107－114, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 107－114, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 107－114, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 107－114, 200 |
| P. 115 | 水研センター研報, 第24号, 115－122, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 115－122, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 115－122, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 115－122, 2008 |
| P. 123 | 水研センター研報, 第24号, 123－128, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 123－128, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 123－128, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 123－128, 2008 |
| P. 129 | 水研センター研報, 第24号, 129－134, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 129－134, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 129－134, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 129－134, 2008 |
| P. 135 | 水研センター研報, 第24号, 129－134, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 129－134, 2008 | 水研センター研報, 第26号, 135－141, 平成20年<br>Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 135－141, 2008 |

水研センター研報，第24号，115－122，平成20年
Bull. Fish. Res. Agen. No. 26. 115－122, 2008

報　文



# 性ステロイドホルモンによる精子形成および初期卵形成の制御機構

三浦　猛*

# Control mechanisms of fish spermatogenesis and early oogenesis by steroid hormones

Takeshi MIURA

**Abstract** Fish spermatogenesis is controlled by the sex steroid hormones. Mitotic divisions of spermatogonia can categorized by spermatogonial stem cell renewal and spermaogonial proliferation toward meiosis. Spermatogonial renewal is regulated by estradiol-17 β (E2) and spermatogonial proliferation toward meiosis is promoted by 11-ketotestosterone (11-KT). The action of E2 and 11-KT is mediated by other factors produced by Sertoli cells; E2 is mediated by spermatogonial stem-cell renewal factor and 11-KT is mediated by spermatogenesis preventing substance (anti-Müllerian hormone: AMH) and activin B. Meiosis is induced by 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP), which is progestin in teleost. In oogenesis, DHP also initiate meiotic prophase. After spermiogenesis, immature spermatozoa undergo sperm maturation. Sperm maturation is also regulated by DHP. The DHP acts directly on spermatozoa to active the carbonic anhydrase existed in the spermatozoa. This enzymatic activation causes an increase in the seminal plasma pH, enabling spermatozoa to motile.

精子形成および卵形成は、生殖腺刺激ホルモンをはじめとする様々な内分泌因子および成長因子によって複雑に制御されている。とくに雄性ホルモン、雌性ホルモンおよび黄体ホルモンといった性ステロイドホルモンは、配偶子形成の制御に対し、中心的な役割をなしている。私たちはこれまで、ニホンウナギ（*Anguilla japonica*）を中心とした精巣や卵巣の各種培養系を用いてこの制御機構の解析を行ってきた。ここでは、1998年度から2007年度まで行われたバイオデザイン計画の中で得られた成果を中心に、主として精子形成の制御機構、および精子形成の初期過程とよく似た制御機構である卵原細胞の増殖から減数分裂開始までの卵形成の初期過程をステロイドホルモンの役割を中心に解説する。

## 配偶子形成制御機構解析系

精子形成および卵形成の初期過程の制御機構を解明するためには、解析に適した実験系の存在が重要である。ウナギは、淡水での飼育条件化では精巣中に精子形成開始前の精原幹細胞のみが存在すること、ヒト絨毛性生殖腺刺激ホルモン（hCG）の投与により人為的に精子形成の全過程を誘導することが可能なこと（Miura et al., 1991a）、精巣器官培養（Miura et al., 1991b）および精原細胞と精巣体細胞の共存細胞培養系（Miura et al., 1996）により、生体外で精子形成の全過程を再現することが可能なことより、精子形成の制御機構に適した動物ということができる。卵形成の過程は、卵原細胞の増殖から減数分裂開始の過程の期間が精子形成の場合と比較して非常に短く、また卵黄形成の過程が存在するため、解析するのが困難であると考えられてきた。しかし近年、サケ科魚類のイトウ（*Hucho perryi*）およびコイ（*Cyprinus carpio*）等の卵巣器官培養系が開発され（Miura et al., 2007）、卵原細胞の増殖から減数分裂開始の過程に関しては解析することが可能となった。私たちはこれらの実験系を用いて、精子形成および卵形成初期過程の制御機構を解析してきた。

2008年4月23日受理　(Received on April 23, 2008)
* 〒798-4292 愛媛県南宇和郡愛南町船越1289-1 (South Ehime Fisheries Research Center, Ehime University, Funakoshi, Ainan, Ehime)

## 精原細胞の増殖

精子形成は、精原幹細胞（A型および初期B型精原細胞）の再生分裂、減数分裂に向けた増殖型精原細胞（後期B型精原細胞）の体細胞分裂による増殖分裂、2回の分裂を伴う減数分裂、著しい形態変化を伴う精子変態、精子が運動能・受精能を獲得する精子変態の各過程から構成される。これらは、非常に複雑な、しかも巧妙な機構によって制御されている。

精原細胞は体細胞分裂によって、その数を増やす。この体細胞分裂は、緩やかなスピードで進行し、個体の精子数を既定する精原幹細胞から精原幹細胞への再生分裂と、急激で不可逆的な減数分裂に向けた増殖分裂の2種類が存在する。これらの過程はステロイドホルモンによる異なる制御機構によって制御されている。

### 1）精原幹細胞の再生分裂

雌性ホルモンは、これまでメスのホルモンであり、オスでの作用はあまり考慮されてこなかった。しかし、精原幹細胞の再生分裂は、雌性ホルモンであるエストラジオール-17 β（E2）によって制御されていることが明らかとなった（Miura et al., 1999, Amer et al., 2001）。魚類の血中には、メスのみならずオスにも、精子形成の何れの時期にもE2が低いレベル（50pg/mlから1ng/ml程度）ながら存在する。また、E2のレセプターである雌性ホルモンレセプター（ER）も、精原細胞を取り囲むセルトリ細胞を中心に発現している。このようにE2は、オスの血中に存在し、そのレセプターがセルトリ細胞に存在することから、精子形成の何らかの過程に作用することが考えられた。E2をサイラスティックチューブを用いてウナギに投与したところ、精原幹細胞のDNA合成が誘導され、また、E2の競争阻害剤であるタモキシフェンを投与したところ、精原細胞のDNA合成が有意に減少した。E2投与によって体細胞分裂が誘導された精原細胞は、いわゆる増殖型の精原細胞（後期B型精原細胞）の体細胞へ分化しなかったことより、この精原細胞の体細胞分裂は、精原幹細胞から精原幹細胞への再生分裂過程であるものと考えられた。このE2による精原幹細胞の再生分裂はウナギおよびサケ科魚類のイトウの精巣器官培養に10pg/mlの低濃度を添加した場合でも再現されたことから、E2は精巣に直接作用し、精原幹細胞の再生分裂を誘導していることが明らかとなった。

一般に、ステロイドホルモンは、その核内受容体を介して、標的遺伝子の発現を誘導し作用するものと考えられている。そこで、ウナギの各種精巣培養系を用いて雌性ホルモンの精子形成への作用機構を分子レベルで解析した（Miura et al., 2003）。ウナギの精巣器官培養系を用いてE2の刺激によって精巣で発現するcDNAのクローニングを行った。その結果、精子形成関連因子34（eSRS34）のクローニングに成功した。この因子は、その予想されるアミノ酸配列から、ヒトのPD-ECGFと相同であることが明らかとなった。ウナギPD-ECGF（ePD-ECGF）は、後に解説する精子形成誘起ステロイド:11-ケトテストステロン(11-KT)の刺激では精巣で発現せず、E2の刺激によってのみ精巣で発現した。ePD-ECGFの組み換え体タンパクをバキュロウイルスの発現系で作製し、精原細胞とセルトリ細胞の共存培養系に添加したところ、組み換え体ePD-ECGFは精原幹細胞の再生分裂を誘導した。また、作製した抗ePD-ECGFは、E2によって誘導される精原幹細胞の再生分裂を有意に抑制した。以上の結果より、ePD-ECGFはE2の下流で精原細胞の再生分裂を制御する「精原幹細胞再生分裂因子」であることが明らかとなった。フィブリノーゲン(FgBおよびFgG)は、傷口や癌での細胞増殖の制御していることが知られている(Staton et al., 2003)。マダイでは、これらFgBおよびFgGがE2の刺激により精巣での発現が誘導する(Pinto et al., 2006)。これらの因子は、ePD-ECGFと同様精原幹細胞の再生分裂を誘導する因子の一つであるのかもしれない。

### 2）精原細胞の減数分裂に向けた増殖分裂の制御

脳下垂体から分泌される生殖腺刺激ホルモンの刺激により、精原幹細胞の再生分裂は、減数分裂へ向かう精原細胞の不可逆的な増殖分裂へと移行する。一般的には、この時点を精子形成の開始点、すなわち春期発動とする。魚類の下垂体には、他の脊椎動物と同様、濾胞刺激ホルモン（FSH）と黄体ホルモン（LH）の2種類の生殖腺刺激ホルモンが存在する。この2種類の生殖腺刺激ホルモンは、魚類では生殖周期を通して、異なる産生分泌パターンを示す。具体的には、FSHは春期発動に伴い、その血中量が増加し、LHの血中量は産卵期直前に著しく増加する（Part et al,, 1996, Shimizu et al., 2003, Swanson et al., 1989, Gomez et al., 1999）。このことは、FSHは主として精子形成の初期過程に、LHは主として成熟後期課程に作用する可能性が高いことを示している。最近私たちは、ウナギの精巣器官培養系を用いて、FSHが精子形成開始の引き金を引く鍵となる生殖腺刺激ホルモンであることを示すことに成功した（Ohta et al., 2007）.

ウナギのFSH受容体（FSH-R）cDNAをクローニングし、これを基にして作製した組み換え体タンパクを

抗原にFSH-R特異抗体を作製し、これを用いて精巣でのFSH-Rの発現を調べた。その結果、FSH-Rの発現部位は、ステロイド産生細胞であるライディッヒ細胞と精原幹細胞を取り囲むセルトリ細胞で発現していることが明らかとなった。

バキュロウイルスの発現系で作製された組み換え体ウナギFSH（r-eFSH）をウナギの精巣の器官培養に添加して培養したところ、精原細胞の増殖から精子変態にいたる一連の精子形成過程が誘導された。このr-eFSHによって誘導された精子形成は、Δ5ステロイドから活性型のΔ4ステロイドへの転換に関与するステロイド転換酵素：3β-水酸基脱水素酵素（3β-HSD）の活性阻害剤であるトリロスタンによって抑えられた。r-eFSHは、主として雄性ホルモン：11-ケトテストステロン（11-KT）の精巣での産生を直接誘導すること（Kamei et al., 2006, Ohta et al., 2007)、以前に報告しているように11-KTは、精子形成誘起ステロイドであることから（Miura et al. 1991）から、FSHの精子形成への主要な作用は、11-KTの産生であり、この産生された11-KTが、精子形成を誘導しているものと考えられた。しかしながら、FSH-Rが未熟な精原細胞を取り囲むセルトリ細胞で発現していることから、11-KTの産生誘導以外にも何らかの作用があるものと考えられる。

11-KTは、Idler (1961) らによって、オスのベニザケ（*Oncorhynchus nerka*）で、主要な雄性ホルモンとして同定されたステロイドである。多くの魚種では、このステロイドは生殖腺刺激ホルモンの刺激により精巣で産生され、精子形成の進行中、血中に高濃度認められることが知られている（Billard et al., 1982).

11-KTの精子形成への機能は、ウナギの精巣器官培養で行われた私たちの研究により、既に明らかになっている（Miura et al., 1991)。この研究では、11-KTをL-15を基本とした血清を含まない培養液に添加し、精原幹細胞のみを持つウナギの精巣をすると、精子形成が惹起され、精原細胞の増殖から精子変態にいたる一連の精子形成過程を誘導することから、11-KTがウナギの精子形成誘導因子であることが証明された。キンギョ（Kobayashi et al. 1991）およびイトウ（Amer et al., 2001）でも11-KTが精子形成を誘導することから、11-KTは、魚類共通の精子形成誘起ホルモンである可能性が高い。

11-KTの精子形成誘導のメカニズムは、どのようなものであろうか？ 11-KTの受容体が、セルトリ細胞に発現していることから（Ikeuchi et al., 2001)、11-KTの精子形成への作用はセルトリ細胞での何らかの物質産生を介しているものと考えられる。そこで、hCG投与によるウナギの精子形成誘起時に、血液中での11-KT量が著しく増加するが、この時期に精巣での発現が変化するcDNAのクローニングを遺伝子発現差解析により行った。この解析により35種類の精子形成の進行でユニークな発現変化を示すcDNAクローンを得ることに成功した（Miura and Miura 2001)。得られたcDNAクローンの中で、最も重要な作用を示したのが、アクチビンBと抗ミュラー氏管ホルモン（AMH）であった。

アクチビンBは2つのアクチビンβ-BサブユニットからなるTGF-βスーパーファミリーに属する二量体の成長因子である。アクチビンBのウナギ精巣での発現を調べたところ、精子形成開始の引き金が引かれた直後の精巣で発現が認められ、その発現部位は生殖細胞の支持細胞であるセルトリ細胞であった。また、精巣器官培養の解析では、11-KTの刺激によりその転写および翻訳が著しく誘導された。チャイニーズハムスター卵巣由来のCHO細胞の発現系を利用して組み換え体タンパクを作製し、精巣器官培養を用いてアクチビンBの精子形成に対する直接的な作用を解析したところ、アクチビンBは精原細胞の増殖を誘導した。しかし、アクチビンBは減数分裂以降の過程を誘導することはできなかった。このことよりアクチビンBは、精原細胞の増殖を誘導する因子であるものと考えられた（Miura et al., 1995a, b)。

AMHもアクチビンと同様TGF-βスーパーファミリーに属している因子である。AMHは、その名前が示すように、ほ乳類では、ミュラー氏管の発生を抑え、オスの性分化に重要な役割を果たす因子である（Balanchard and Josso, 1974)。

ウナギでは、AMHは未熟な精巣で発現しており、hCG投与による精子形成開始時に消失する因子としてクローニングされた。AMHは、未熟精巣のセルトリ細胞で発現しており、このmRNAの発現は、hCGのみならず11-KTの刺激によっても消失する。CHOの発現系により組み換え体ウナギAMH（r-eAMH）を作製し、ウナギ精巣の各種培養系を用いてAMHの精子形成に対する機能を調べた。その結果、r-eAMHは、11-KTによって誘導される精原細胞の増殖分裂を抑制した。また、抗-eAMH抗体を培養液に添加して精原幹細胞とセルトリ細胞の共存培養を行ったところ、抗-eAMH抗体は、精原細胞の増殖分裂を誘導した。これらの結果より、AMHは、精子形成抑制因子として、精子形成の開始を抑える働きがあることが明らかとなった。ウナギ以外の魚でもAMHは、精子形成の進行とともにその発現が減少することが報告されており、魚全般を通して、AMHは、精子形成の進行を抑

えているものと考えられる。

最近、メダカを用いた研究により、AMHは生殖隆起に到達した始原生殖細胞の増殖を誘導すること(Shiraishi, 2008)、また性分化期のオスの生殖細胞の増殖を抑える作用(Morinaga et al., 2007)があることが報告されており、ここで解説した精子形成への作用も含めて、AMHは魚類の生殖の諸現象に対して、多機能な因子であるものと考えられる。

## 減数分裂の開始機構

増殖型の精原細胞(後期B型精原細胞)は、FSHおよび11-KTの刺激によって開始される増殖分裂の後、減数分裂へと移行し、精母細胞となる。魚類の主要な黄体ホルモン:17 α,20 β-ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン(DHP)は、この精原細胞の減数分裂開始にとって無くてはならない因子であることが最近明らかになった(Miura et al., 2006)。

黄体ホルモンは、妊娠の準備や、妊娠期間中の胚への栄養供給など、哺乳類のメスの生殖にとって重要な因子である。また、魚類を含め脊椎動物全般で、黄体ホルモンは卵成熟を誘起する。このメスの性成熟に関わるホルモンが、オスの成熟にも作用する。

サケ科魚類では、成熟に伴う血中のDHP量の変化を調べると、産卵期での大きなピークと、精原細胞の増殖期での小さなピークの2つが認められる。このうち産卵期のDHPの大きなピークは精子の成熟に関与するが、これに関する詳細は後述する。一方、精原細胞増殖期のDHPの小さなピークは、1985年以来知られているが(Baynes and Scott, 1985)、その役割は明らかとなっていなかった。私たちの研究グループは、このDHPのピークの意味をウナギの実験系を用いて解析した。

ウナギではDHPおよびそのレセプターが、精子形成の初期過程の精巣で存在することから、精子形成の制御にDHPが関与する可能性が高い。そこで精巣器官培養系にDHPを添加して培養したところ、DHPは精原細胞のDNA合成を誘導した。先に述べたように11-KTは、精子形成開始の引き金を引くホルモンであり、精巣の培養系へこのホルモンを添加しても、精原細胞のDNA合成は誘導される。11-KTとDHPの関係を調べるために、精巣中での精子形成に伴う11-KTとDHPの挙動を調べたところ、精子形成開始とともにまず、11-KTが精巣で産生され、続いてDHPが産生されることが明らかとなった。さらに11-KTを添加して精巣を生体外で培養すると、精巣はDHPを産生することから、11-KTがDHPの産生を誘導していることが明らかとなった。11-KTによるDHPの産生のメカニズムの詳細は明らかではないが、11-KTがP450c17などの精巣でのステロイド転換酵素の発現量を変化させることから、11-KTはステロイド合成経路に作用する酵素の発現を調節して、DHPの産生を制御しているものと考えられた。次に、抗DHP抗体を精原細胞とセルトリ細胞の共存培養系に添加してDHPの作用を阻害し、11-KTにより誘導される精子形成にどのような影響を与えるかを調べたところ、抗DHP抗体は、11-KTによって誘導される精原細胞の増殖は抑制しないが、減数分裂開始時の生殖細胞のDNA合成を抑えることが明らかとなった。さらに精巣培養系へのDHP処理は、精原細胞に対し、減数分裂前期での相同染色体の組み換えに作用するDmcIやSpo11の発現や、本来減数分裂を起こさない精原幹細胞に対して減数分裂前期に出現するシナプトネマ構造を出現させることから、DHPは減数分裂の減数分裂の開始の引き金を引く因子であることが明らかとなった。

最近DHPが、精子形成のみならず卵形成に関しても、減数第一分裂の開始を誘導することが、イトウ(*Hucho perryi*)およびコイ(*Cyprinus carpio*)の卵巣器官培養を用いた実験によって示された(Miura et al., 2007)。イトウの卵原細胞を多く含む卵巣器官培養系およびコイの卵母細胞を取り除いた卵原細胞のみを含む卵巣培養系にDHPまたはE2を添加して培養したところ、E2を添加して培養した卵巣片中の卵原細胞は体細胞分裂によるDNA合成が盛んに行われたのに対し、DHPを添加して培養した卵巣片中の生殖細胞は、DNA合成が盛んになるとともに、減数分裂前期のマーカーとなるSpo11の発現やシナプトネマ構造が出現した。この結果は、初期の卵形成ではE2が卵原細胞の増殖を誘導し、DHPが精子形成の場合と同様に、減数第一分裂の開始を誘導することを示している。

以上に示すように、黄体ホルモンDHPは、精子形成および卵形成の何れに関しても減数第一分裂の開始の制御に無くてはならない因子であることが明らかとなった。

DHP以降の減数分裂の開始制御機構に関しては、現在DHPによって精巣での発現が変化する遺伝子のクローニング等を行っており(Ozaki et al., 2006)、今後解析が進んでいくものと思われる。

## オスの最終成熟の制御

魚類の産卵期には、雌雄とも、様々な生殖現象が引き起こされる。メスでは卵成熟・排卵および卵巣腔液の産生、および産卵、オスでは、輸精管に排出される

精子量の増加、吸水を伴う精液量の著しい増加、精液の性状の変化とそれに伴う精子の運動能の獲得および放精などがそれである。これらの現象の制御には、様々な内分泌因子が関わる。ここでは、これらのうち、特に私たちが解析してきた精子の運動能の獲得の内分泌制御機構を解説する。

産卵期のオスでは、下垂体からのLHの産生分泌と、LHの刺激により精巣で産生される11-KTとDHPの著しい血中量の増加が認められる。この産卵期の内分泌のイベントと、吸水を伴う精液量の増加が一致することから、LHをはじめとする内分泌因子が精液量の増加に関係するものと考えられるが、その詳細のメカニズムは明らかとなっていない。

産卵期に起こる様々な現象のうち、精液量の増加とともに重要なのは、精子の運動能の獲得である。サケマスをはじめとする数種の魚類では、変態した直後の精子は、運動能をもっておらず、精子成熟の過程を経て、精子が運動能を獲得することがあきらかとなっている。この精子成熟の過程は、輸精管内の精液の水成分である精漿の重炭酸イオンの増加に伴うpH値の上昇に起因する。一般に魚類の体液のpHは7前後と中性であるが、成熟した魚類の精漿のpHは、8から9のアルカリ性である。このpH値の上昇が未成熟精子に働きかけ、精子内のcAMPを増加させ、精子に運動能を与えるものと考えられる（Morisawa and Morisawa 1988; Miura et al., 1992, 1995; Ohta et al., 1997）。

この精子成熟は内分泌の制御を受けており、サケ科魚およびウナギではDHPがこの過程の制御に関わっているものと考えられる（Miura et al., 1991 d, e, 1992）。DHPを最終的に産生する細胞は精子であるが（Ueda et al., 1985）、この精子で作られたDHPが精漿のpHを上昇させ、精子に運動能を与えるものと考えられる（Miura et al., 1991d, 1992, 1995c）。

## まとめ

図に、これまで解説した精子形成と初期卵形成過程の制御機構を示す。この図が示すように、精原細胞の再生分裂から精子変態・精子成熟にいたる精子形成過程と卵原細胞の増殖から減数分裂開始までの初期卵形成過程は、性ステロイドホルモンを中心とした様々な内分泌因子、およびこれらの内分泌因子によって制御を受ける様々なタンパク性の成長因子によって複雑に制御されている。バイオデザイン計画で得られた成果のうち、特筆すべき点は、精子形成の初期過程と卵形成の初期過程の各制御機構は、共通点が非常に多いことが明らかになったことである。卵形成では、いわゆる11-KTによる急激な原細胞の増殖過程は無いが、E2による再生分裂過程、DHPによる減数分裂の開始などは、精子形成および卵形成でほぼ同様である。このように雌雄配偶子形成での似ている点、異なる点を比較しながらさらに解析を進めることにより、難種苗生産魚の人為催熟を行うにあたっての、精子形成および卵形成でのそれぞれの問題点の解決の一助になるのではないかと考える。

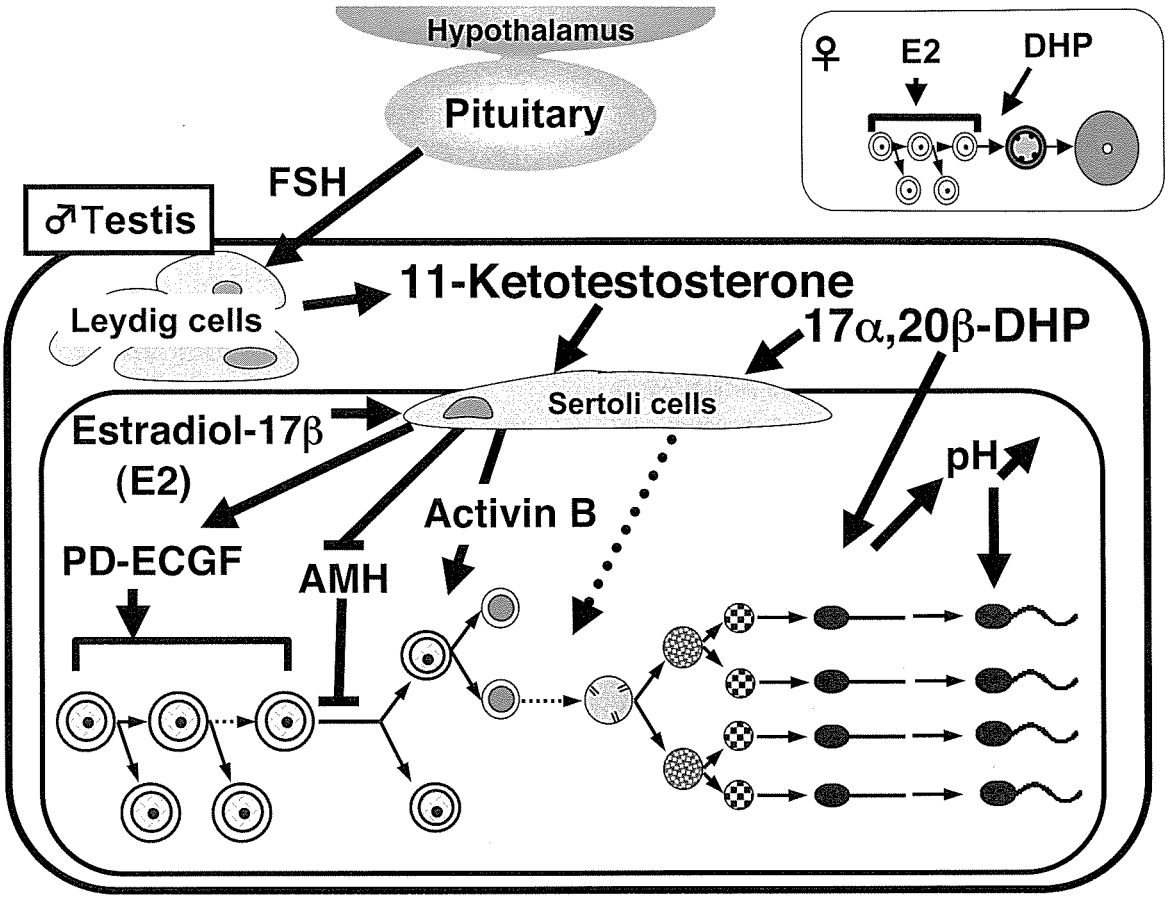


Fig. A schmatic summarizing the possible control mechanisms of fish spermatogenesis and early oogenesis by steroid hormones.

## 文 献


Amer, M.A., Miura, T., Miura, C., Yamauchi, K., 2001. Involvement of sex steroid hormones in the early stages of spermatogenesis in Japanese huchen (*Hucho perryi*). Biol. Reprod. 65, 1057-1066.

Baynes, S.M., Scott, A.P., 1985. Seasonal variations in parameters of milt production and in plasma concentration of sex steroids of male rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Gen. Comp. Endocrinol. 57, 150-160.

Billard, R., Fostier, A., Weil, C., Breton, B., 1982. Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. Can. J. Fish. Aquat. 39, 65-79.

Blanchard, M., Josso, N., 1974. Source of anti-Müllerian hormone synthesized by the fetal testis: Müllerian inhibiting activity of fetal bovine Sertoli cells in culture. Pediatr. Res. 8, 968-971.

Gomez, J.M., Weil, C., Ollitrault, M., Le Bail, P.Y., Breton, B., Le Gac, F., 1999. Growth hormone (GH) and gonadotropin subunit gene expression and pituitary and plasma changes during spermatogenesis and oogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Gen. Comp. Endocrinol. 113, 413-428.

Idler, D.R., Bitners, I.I., Schmidt, P.J., 1961. 11-Ketotestosterone: an androgen for sockeye salmon. Can. J. Biochem. Physiol. 39, 1737-1742.

Ikeuchi, T., Todo, T., Kobayashi, T., Nagahama, Y., 2001. Two subtypes of androgen and progestogen receptors in fish testes. Comp. Biochem. Physiol. 129B, 449-455.

Kobayashi, M., Aida, K., Stacey, N.E., 1991. Induction of testis development by implantation of 11-ketotestosterone in female goldfish. Zool. Sci. 8, 389-393.

Miura, C., Higashino, T., Miura, T., 2007. A progestin and an estrogen regulate early stages of oogenesis in fish. Biol. Reprod. 77, 822-828.

Miura, C., Higashino, T., T., M., 2007. A progestin and estrogen regulate early stages of oogenesis in fish. Biol. Reprod. 77, 822-828.

Miura, C., Miura, T., Yamashita, M., Yamauchi, K., Nagahama, Y., 1996. Hormonal induction of all stages of spermatogenesis in germ-somatic cell coculture from immature Japanese eel testis. Dev. Growth Deffer. 38, 257-262.

Miura, T., Miura, C., 2001. Japanese eel: a model for analysis of spermatogenesis. Zool. Sci. 18, 1055-1063.

Miura, T., Yamauchi, K., Nagahama, Y., Takahashi, H., 1991a. Induction of spermatogenesis in male Japanese eel, *Anguilla japonica*, by a single injection of human chorionic gonadotropin. Zool. Sci. 8, 63-73.

Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H., Nagahama, Y., 1991b. Hormonal induction of all stages of spermatogenesis in vitro in the male Japanese eel (*Anguilla japonica*). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 5774-5778.

Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H., Nagahama, Y., 1991c. Involvement of steroid hormones in gonadotropin-induced testicular maturation in male eel (*Anguilla japonica*). Biomed. Res. 12, 241-248.

Miura, T., Yamauchi, K., Takahashi, H., Nagahama, Y., 1992. The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. J. Exp. Zool. 261, 359-363.

Miura, T., Kasugai, T., Nagahama, Y., Yamauchi, K., 1995. Acquisition of potential for sperm motility in vitro in Japanese eel (*Anguilla japonica*). Fisheries Sci. 61, 533.

Miura, T., Miura, C., Yamauchi, K., Nagahama, Y., 1995a. Human recombinant activin induces proliferation of spermatogonia in vitro in the Japanese eel *Anguilla japonica*. Fisheries Sci. 63, 434-437.

Miura, T., Miura, C., Yamauchi, K., Nagahama, Y., 1995b. Activin B is a major mediator of hormone-induced spermatogonial proliferation in the Japanese eel. In: Goets, F.W., Thomas, P. (Eds.), the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of the Fish., University of Texas, Austin, pp. 284-286.

Miura, T., Ohta, T., Miura, C., Yamauchi, K., 2003. Complementary deoxyribonucleic acid cloning of spermatogonial stem cell renewal factor. Endocrinology 144, 5504-5510.

Miura, T., Higuchi, M., Ozaki, Y., Ohta, T., Miura, C., 2006. Progestin is an essential factor for the initiation of the meiosis in spermatogenetic cells of the eel. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 7333-7338.

Miura, T., Miura, C., Ohta, T., Nader, M.R., Todo, T., Yamauchi, K., 1999. Estradiol-17 β stimulates the renewal of spermatogonial stem cells in males. Biochem. Biophys. Res. Commun. 144, 5504-5510.

Morisawa, S., Morisawa, M., 1988. Induction of potential for sperm motility by bicarbonate and pH in rainbow trout and chum salmon. J. Exp. Biol. 136, 13-22.

Ohta, H., Ikeda, K., Izawa, T., 1997. Increase in concentrations of potassium and bicarbonate ions promote acquisition of motility in vitro by Japanese eel spermatozoa. J. Exp. Zool. 277, 171-180.

Ohta, T., Miyake, H., Miura, C., Kamei, 2007. Follicle-stimulate hormone induces spermatogenesis mediated by androgen production in Japanese eel, *Anguilla japonica*. Biol. Reprod. 77, 970-977.

Ozaki, Y., Higuchi, M., Miura, C., Yamaguchi, S., Tozawa, Y., Miura, T., 2006. Roles of 11 β -hydroxysteroid deheydrogenase in fish spermatogenesis. Endocrinology 147, 5139-5146.

Pinto, P.I.S., Teodosio, H.R., Galay-Borgos, M., Power, D.M., Sweeney, G.E., 2006. Identification of estrogen-responsive genes in the testis of sea bream (*Sparus auratus*) using supression subtractive hybridization. Mol. Reprod. Dev. 73, 318-329.

Pinto, E., Sumpter, J.P., Tyler, C.R., 1996. Validation of radioimmunoassays for two salmon gonadotropins (GTHI and GTHII) and their plasma concentrations throughout the reproductive cycle in male and female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Biol. Reprod. 54, 1375-1382.

Shimizu, A., Tanaka, H., Kagawa, H., 2003. Immunocytochemical applications of specific antisera raised against synthetic fragment peptides of mummichog GtH subunits: examinig seasonal variations of gonadotrophs (FSH cells and LH cells) in the mummichog and applications to other acanthopterygian fishes. Gen. Comp. Endocrinol. 132, 35-45.

Shiraishi, E., Yoshinaga, N., Miura, T., Yokoi, H., Wakamatsu, Y., Abe, S.-I., Kitano, T., 2008. Müllerian inhibiting substance is required for germ

cell proliferation during early gonadal differentiation in medaka (*Oryzias latipes*). Endocrinology, in press.

Staton, C.A., Brown, N.J., Lewis, C.E., 2003. The role of fibrinogen and related fragments in tumour angiogenesis and metastasis. Expert. Opin. Biol. Ther. 3, 1105-1120.

Swanson, P., Duckey, J.T., Campbell, B., 2003. Biochemistry and physiology of fish gonadotropins. Fish. Physiol. Biochem. 28, 53-59.

Swanson, P., Bernard, M., Nozaki, M., Suzuki, K., Kawauchi, H., Dickhoff, W.W., 1989. Gonadotropins I and II in juvenile coho salmon. Fish. Physiol. Biochem. 7, 169-176.

Ueda, H., Kanbegawa, A., Nagahama, Y., 1985. Involvement of gonadotropin and steroid hormones in spermiation in the amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus*, and goldfish, *Carassius auratus*. Gen. Comp. Endocrinol. 59, 24-30.