



Title	ヒブナの生殖腺の成熟と血漿蛋白質におよぼす数種ホルモン物質の影響
Author(s)	吉越, 一馬
Citation	長崎大学水産学部研究報告, v.34, pp.63-68; 1972
Issue Date	1972-12
URL	http://hdl.handle.net/10069/30894
Right	

This document is downloaded at: 2019-04-19T20:46:17Z

ヒブナの生殖腺の成熟と血漿蛋白質におよぼす
数種ホルモン物質の影響

吉 越 一 馬

Effects of Hormonal Substances on Plasma Protein of Goldfish,
with Special Reference to the Gonadal Maturation

Kazuma YOSHIKOSHI

Plasma protein fractions and total protein in plasma in relation to the gonadal maturation and the effects of exogenous estrogenic substances (diethylstilbestrol and estradiol-17 β), gonadotropin (a mixture of human chorionic gonadotropin and mammalian anterior pituitary extracts), androgenic substances (testosterone propionate and methyltestosterone), and progesterone on plasma protein fractions and total protein in plasma of goldfish were investigated.

The results obtained were as follows:

1. Conspicuous elevation of the IVth fraction level in female fish was observed in breeding season. The level of total protein was increased in breeding season and was higher in female fish than in male one.
2. Conspicuous elevation of the levels of total protein and the IIIrd and IVth fractions was observed by estrogen treatment.
3. The elevation of the IIIrd fraction level by estrogen treatment was lowered by simultaneous administration of gonadotropin, and the pattern obtained from immature fish was similar to that of normal mature female. The level of total protein was also lowered slightly by the same treatment.
4. Slight elevation of total protein and IVth fraction levels in female fish in breeding season was observed by gonadotropin treatment.
5. No remarkable changes were detected on plasma protein after the administration of androgenic substances and progesterone.

From these results it is suggested that both endogenous estrogen and gonadotropin control over the ovarian maturation through regulation of plasma protein constituents.

魚類の血漿(清)蛋白質性は生殖巣の成熟に伴って変化することが知られており、その変化と卵黄形成との関連、およびその内分泌支配について研究が進められてきた¹⁻¹²⁾。筆

者はヒブナについて、生殖巣の成熟との関連において数種ホルモン物質が血漿総蛋白量および血漿蛋白組成におよぼす影響について調べたので、結果を報告する。

本文に入るに先だち、御指導賜わった本学高 良夫教授ならびに東京大学日比谷 京教授に厚く御礼申し上げます。

西海区水産研究所山下秀夫博士ならびに青山恒雄博士には、血漿蛋白定量に当り各種の便宜を計っていただき、また本学石原 忠助教授には好意ある御協力をいただいた。これらの各位に対して心から感謝の意を表する。

材料および方法

養殖業者より購入した1才魚のヒブナは、循環濾過式水槽で約2週間予備飼育の後、実験に供した。予備飼育および実験期間中、市販の配合飼料を与えた。

実験群として次に述べる8群を設けた。

(1) Diethylstilbestrol (DES)	50 μ g/0.1 ml/fish
(2) Estradiol-17 β	50 μ g "
(3) Synahorin (HCG+APE)	10 RU "
(4) Testosterone propionate	50 μ g "
(5) Methyltestosterone	50 μ g "
(6) Progesterone	100 μ g "
(7) Diethylstilbestrol	5 μ g "
(8) DES + Synahorin	5 μ g + 10 RU "

これらのホルモン物質は、懸濁液あるいは溶液として、腹腔内に注射した。対照にはエチルアルコールを1%含む生理塩類溶液を同量腹腔内に注射した。8群のうち、(1)~(6)群については1日おきに投与し、2回、5回および10回投与の1日後に採血し、(1),(2)群についてはさらに10回投与の10日後および20日後にも採血した。(7),(8)群は2日おきに投与し、3回および6回投与の2日後に採血した。

血液採取：MS 222 で軽度麻酔後、尾柄部前方の血管弓門中を通る血管より採血した。抗凝固剤としてヘパリンを用いた。**血漿分離：**採血後直ちに2500~3000 rpm で30分間遠心分離した。血漿は-20°C で凍結し、1週間以内に電気泳動および蛋白量の測定を行った。上記期間内では、電気泳動像および総蛋白量は新鮮な血漿のそれと差は認められなかった。**血漿総蛋白量：**血清蛋白屈折計(アタゴ光学機器製作所)で測定した。血漿総蛋白量が12 g/dl を超える高蛋白血漿は、キエルダール法で測定した。

電気泳動は次の要領で行った。**装置：**微量分析泳動装置(常光産業株式会社)。**セルローズアセテート膜：**セパラックスを用いた。**緩衝液：**ペロナール緩衝液、pH, 8.6 イオン強度 0.06。**通電：**膜幅 1 cm 当り 0.8 mA の定電流を45分間通電した。**染色：**ボンソー 3R 染色液にて約1分30秒間行った。**弁色：**1%氷酢酸水溶液で行った。**定量：**流動パラフィンで透明化した標本を、波長 500 m μ で 0.5 \times 6 mm のスリットを用い、中央部の吸光度を測定した。デントメーターはアタゴオズマー 8 型(自記式)を使用した。上記の条件で正常なヒブナの血漿蛋白は6成分に分離されるが、本報では、便宜的に陽極側より I~VI の符号で表わした。この6成分のうち、分画 I および II の分離の不明りような個体が雌雄共に認められた。

結 果

成熟に伴う正常魚の血漿総蛋白量および血漿蛋白組成の変化 11~12月 および 3~4月の両時期における血漿総蛋白量、各成分の分画値および両時期における代表的とみられる個体の電気泳動像を Table 1, Fig. 1 に示した。血漿総蛋白量は雌雄共に成熟期に高い値を示し、また雌は雄より高い傾向が認められる。血漿蛋白泳動像ならびに分画値は、未熟な個体では雌雄の間に顕著な差異は認められないが、成熟に伴って分画IIIおよび分画IVに明りような雌雄差が生じ、特に雌の分画IVの増加が顕著となる。両期を通じて、雄の血漿蛋白泳動像および分画値には大きな変化は認められない。

Table 1. Mean values of plasma protein fractions and total protein in plasma from intact goldfish by sex and season.

Group	Sex	B.W.* (g)	GSI**	Protein (g/dl)	Protein fraction (%)					
					I	II	III	IV	V	VI
Nov. - Dec.	♀	16.4(11)***	7.5	4.0	23.15	34.16	11.36	14.73	14.09	1.64
	♂	13.9(7)	3.4	3.4	20.58	35.62	8.99	13.96	16.84	3.97
Mar. - Apr.	♀	24.6(12)	18.5	4.5	18.05	30.49	13.30	27.94	8.76	1.35
	♂	21.6(12)	4.8	4.0	21.20	42.90	6.94	13.35	13.17	2.28

* Body weight; ** Gonado-somatic index; *** Number of fish

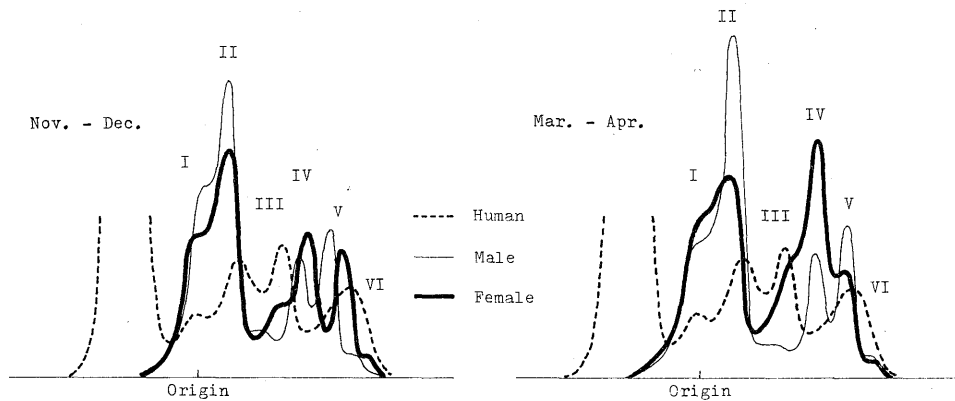


Fig. 1. Cellulose acetate membrane electrophoretic patterns of plasma protein from intact goldfish by sex and season.

血漿総蛋白量および血漿蛋白組成におよぼす数種ホルモン物質の影響 数種のホルモン物質 5回投与後の血漿総蛋白量および血漿蛋白組成を Table 2 に示した。

これら数種のホルモン物質のうちで、エストロジェンが血漿総蛋白量および血漿蛋白組成に著しい変化をひき起す。エストロジェン投与によって血漿総蛋白量は著しく増加し、対照のはぼ3倍に達する。この値は10回投与後はさらに増加し、DES処理群では平均15g/dlに達するが、その増加傾向は鈍る。エストロジェン投与によるこの著しい高蛋白値は、投与中止後10日目ではほとんど変化しないが、20日目には明きらかに減少し血漿蛋白組成

Table 2. Plasma protein fractions and total protein in plasma of goldfish after the fifth injection of diethylstilbestrol (DES), estradiol-17 β , gonadotropin (Synahorin), testosterone propionate (TP), methyltestosterone (MT), and progesterone.

Treatment	Sex	B.W. (g)	GSI	Protein (g/dl)	Protein fraction (%)					
					I	II	III	IV	V	VI
Control	♀	23.2(10)	16.7	4.3	19.51	29.24	12.63	26.88	9.82	1.45
	♂	21.7(9)	4.7	4.8	19.34	45.01	6.14	13.24	13.42	2.27
DES 50 μ g	♀	25.7(3)	20.6	13.2	0.58	7.76	47.91	35.72	2.73	0.03
	♂	17.3(3)	6.6	13.5	3.33	7.49	40.65	43.76	4.68	0.13
Estradiol-17 β 50 μ g	♀	23.1(3)	18.1	12.7	1.89	7.85	36.08	50.85	3.36	0.03
	♂	24.0(3)	3.7	13.7	2.67	11.32	48.73	32.25	4.88	0.12
Synahorin 10 RU*	♀	33.3(3)	15.1	5.9	15.76	26.96	8.11	40.29	7.89	0.94
	♂	20.9(3)	5.6	4.3	18.82	45.00	6.10	14.11	13.90	2.03
TP 50 μ g	♀	21.7(3)	15.1	4.0	15.05	38.83	15.04	20.60	9.73	0.70
	♂	17.8(3)	5.1	3.9	22.16	41.26	6.76	13.34	14.42	2.02
MT 50 μ g	♀	16.6(3)	17.8	3.4	16.68	41.92	11.43	19.09	9.23	1.62
	♂	20.3(4)	5.7	4.2	17.28	46.15	8.14	13.33	13.66	1.41
Progesterone 100 μ g	♀	24.8(3)	19.2	3.6	22.35	30.80	15.16	18.18	11.44	1.15
	♂	18.8(3)	5.4	4.2	19.30	37.49	8.75	16.16	16.68	1.73

* Rabbit unit; Other abbreviations are as in Table 1.

も正常に近いとみられる個体が出現した。

エストロゲン以外のホルモン物質は血漿総蛋白量に大きな変化はひき起さないが、シナホリン処理群の雌では対照よりいくぶん高い値を示した。

エストロゲンは、また、血漿蛋白組成に著しい変化を与え、雌雄共に分画IIIおよび分画IVを著しく増加させる。エストロゲン10回投与群では、この両成分の分画値の合計は91%以上に達する。

エストロゲン以外のホルモン物質は血漿蛋白組成に大きな変化を与えないが、シナホリン処理群の雌では分画IVがいくぶん高い値を示した。

Table 3. Effects of DES and of simultaneous administration of DES and Synahorin on plasma protein fractions and total protein in plasma of goldfish.

Treatment	Dose injected	B.W. (g)	GSI	Protein (g/dl)	Protein fraction (%)					
					I	II	III	IV	V	VI
Control		16.4(7)	1.79	3.8	17.63	38.49	8.31	14.53	19.17	1.85
DES 5 μ g	15 μ g	18.4(6)	1.88	10.0	7.60	8.80	35.76	41.22	6.33	0.69
	30 μ g	21.7(6)	1.96	13.9	3.47	4.97	38.30	49.05	3.99	0.19
DES 5 μ g + Synahorin 10 RU	15 μ g+30RU 30 μ g+60RU	22.3(6) 21.5(7)	2.27 1.53	8.7 12.8	7.45 4.58	16.39 8.28	20.40 16.12	46.91 65.99	8.05 4.66	0.73 0.34

The abbreviations are the same in Tables 1 and 2.

血漿総蛋白量および血漿蛋白組成におよぼす DES およびシナホリン同時投与の影響

血漿総蛋白量および血漿蛋白組成におよぼす DES およびシナホリンの同時投与の影響を Table 3 に示した。実験は雌雄の区別なしで行なったが、雌の GSI の最大は 2.87 であり未熟であった。

血漿総蛋白量はシナホリンの同時投与により、DES 単独投与の場合より、いくぶん低く抑えられる。

血漿蛋白組成は、DES 単独投与の場合には分画 III および分画 IV 共に著しく増加するが、シナホリン同時投与によって分画 III の増加はより低く抑えられる。

考 察

魚類の血漿（清）成分がエストロゲン投与によって著しく変化し、その変化が雌魚の成熟と密接な関係があることが報告されており⁸⁻¹³⁾、これらの成果は魚類の卵黄形成が主として内因性のエストロゲンによって支配され、血液を介して行なわれることを示唆するものであろう。

エストロゲン投与によるヒブナの血漿蛋白組成の著しい変化は、生理的濃度を越えた投与量によって引き起されると考えられるが、分画 III の増加は正常雌の成熟に伴って起る増加よりきわめて著しい。この分画 III の著しい増加はシナホリンを同時投与することにより低く抑えられ、このようにして未熟魚から得られた血漿蛋白組成のパターンは成熟期の雌のそれと類似する。日比谷・佐藤¹⁴⁾、佐藤・日比谷¹⁵⁾は下リウナギで DES とシナホリンの同時投与がシナホリン単独投与より著しい催熟効果があることを見出し、完熟卵を得ることに成功した。シナホリンの成熟促進効果について YAMAZAKI¹⁶⁾は、キンギョでその効果が小さいことを報告している。これらのことからシナホリンは、エストロゲンと協同して血漿成分を調整し、成熟促進に好適な生理的環境を作り出すものと考えられる。

このシナホリンの血漿蛋白性状におよぼす作用が内因性のエストロゲンを介して行なわれるか否かはさらに検討を要すると思われる。

要 約

成熟に関連したヒブナの血漿蛋白性状の変化および血漿蛋白性状におよぼす数種のホルモン物質の影響を調べた。

1. 成熟に伴って雌魚の血漿蛋白分画 IV が著しく増加する。血漿総蛋白量は成熟期に増加し、雄魚より雌魚が高い値を示す。
2. エストロゲン投与により血漿総蛋白量および血漿蛋白分画 III および IV の顕著な増加が認められる。
3. エストロゲン投与による分画 III の著しい増加はシナホリンの同時投与により低められる。シナホリンの同時投与は、また、血漿総蛋白量の増加をいくぶん抑える。
4. シナホリン投与により成熟期の雌魚の血漿総蛋白量および分画 IV がいくぶん増加する。
5. アンドロゲンおよびプロゲステロン投与では血漿蛋白性状に目立った変化は認められない。

文 献

- 1) 齋藤 要：魚類血液の生化学的研究-X. 血清蛋白質組成の時期的変化について，日水誌，22, 768-772 (1957)
- 2) 山下秀夫：カサゴの血液学的研究-V. 血液要素・血清蛋白泳動像ならびに分画値の季節的变化，日水誌，35, 379-385 (1969)
- 3) 会田勝美・鈴木敬二・日比谷 京：魚類の成熟に関する生理学的研究-I. アユ血清蛋白組成における雌雄差の出現と卵巣成熟との関係，日水会年会講演要旨，1969
- 4) W. E. VANSTONE and F. CHUNG-WAI HO: Plasma proteins of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, as separated by zone electrophoresis *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 18, 393-399 (1961)
- 5) K. K. KRAUEL and G. J. RIDGWAY: Immuno-electrophoretic studies of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) serum. *Int. Arch. Allergy*, 23, 246-253 (1963)
- 6) A. DRILHON and J. M. FINE: Dimorphisme sexuel dans les protéines sériques de *Salmo salar* Etude électrophorétique. *Comp. Rend. Soc. Biol.*, 157, 1897-1900 (1963)
- 7) R. V. THURSTON: Electrophoretic patterns of blood serum proteins from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 24, 2169-2188 (1967)
- 8) R. E. BAILEY: The effect of estradiol on serum calcium, phosphorus, and protein of goldfish. *J. Exp. Zool.*, 136, 455-469 (1957)
- 9) M. R. URIST and A. O. SCHJEIDE: The partition of calcium and protein in the blood of oviparous vertebrates during estrus. *J. Gen. Physiol.*, 44, 743-756 (1961)
- 10) F. CHUNG-WAI HO and W. E. VANSTONE: Effect of estradiol monobenzoate on some serum constituents of maturing sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 18, 859-864 (1961)
- 11) 会田勝美・ファン・バン・ガン・日比谷 京：魚類の成熟に関する生理学的研究-II. 雌特异性血漿蛋白と卵黄蛋白および肝臓機能との関係，日水会年会講演要旨，1970
- 12) F. TAKASHIMA, T. HIBIYA, PHAN-VAN NGAN, and K. AIDA: Endocrinological studies on lipid metabolism in rainbow trout-II. Effects of sex steroids, thyroid powder and adrenocorticotropin on plasma lipid content. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 38, 43-49 (1972)
- 13) M. OGURI and N. TAKADA: Serum calcium and magnesium levels of goldfish, with special reference to the gonadal maturation. *ibid.*, 33, 161-166 (1967)
- 14) 日比谷 京・佐藤英雄：ウナギの性分化ならびに生殖腺の成熟に関する研究-VII. 女性ホルモンよう物質が卵巣成熟に及ぼす効果，日水会年会講演要旨，1967
- 15) 佐藤英雄・日比谷 京：ウナギの性分化ならびに生殖腺成熟に関する研究-VIII. 完熟卵の採取例，日水会秋季大会講演要旨，1969
- 16) F. YAMAZAKI: Endocrinological studies on the reproduction of the female goldfish, *Carassius auratus L.*, with special references to function of the pituitary gland. *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 13, 1-64 (1965)