

魚類の卵細胞質の成熟機構の解明による生体外  
良質卵作出技術の開発

(研究課題番号：18580187)

平成18年度～平成19年度科学研究費補助金

(基盤研究(C)) 研究成果報告書

平成20年5月

研究代表者 香川浩彦

宮崎大学農学部教授

## 〈はしがき〉

浮性卵を産む多くの海産魚類では正常な受精や胚発生が進行するためには、細胞質の透明化や吸水による卵径の増大とその結果起こる浮力の獲得などの卵細胞質の成熟が正常に行われることが必須である。しかし、卵母細胞の透明化や吸水現象などの卵細胞質の成熟に係わる内分泌機構についてはほとんど研究されてないのが現状である。そこで、本研究ではウナギの卵母細胞の細胞質の成熟機構を解明するとともに、生体外卵子作出方法を開発することを目的として研究を行い以下の結果を得た。

1. ウナギの生体内での卵成熟・排卵に伴う卵母細胞の成熟現象の仔細を明らかにし、これらの現象を生体外で再現することに成功した。この生体外培養法を用いて実験を行い、卵母細胞の吸水や油球の融合や卵細胞質の透明化等の卵細胞質の成熟は、生殖腺刺激ホルモンにより卵濾胞組織で産生される卵成熟誘起ステロイドにより誘導されることが明らかとなった。このような、卵成熟誘起ステロイドによる卵母細胞の吸水には、卵細胞内での何らかのタンパク質が合成されることにより卵母細胞内の卵黄球が分解され、その結果、卵母細胞内の浸透圧が上昇することにより誘起されることが判明した。さらに、このような急激な吸水は卵母細胞や卵黄塊の原形質膜に存在するアクアポリンを介していることがウナギで初めて明らかとなった。これらの卵母細胞の成熟には、IGF-Iが関与するが、GAP結合は関与しないことも明らかとなった。また、これらの吸水による卵径の増大は個体毎に進行が異なり、これが卵質に影響を及ぼす可能性が示唆された。
2. 吸水に必須のアクアポリン遺伝子をクローニングし、部分配列に対するポリクロナール抗体を用いて、免疫組織化学的に検討した結果、アクアポリンは卵黄形成開始時に卵母細胞中に出現し、卵細胞質の成熟に伴って卵黄塊および卵母細胞の原形質膜に存在するようになることが初めて明らかとなり、このアクアポリンがウナギの吸水に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。
3. 開発した生体外培養法を用いてウナギの成熟排卵を誘起したところ、卵成熟誘起ステロイドにより生体外で12時間後に成熟が、18時間後に排卵が誘起されることが判明し、得られた卵に人工授精を行ったが受精卵は得られなかった。今後、培養液などの条件を検討する必要がある。

## 研究組織

研究代表者：香川 浩彦（宮崎大学農学部教授）

## 交付金決定額（配分額）

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 18 年度	2,200,000	0	2,200,000
平成 19 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,500,000	390,000	3,890,000

## 研究発表

### （1）雑誌論文

- 1) 香川浩彦 ウナギの卵成熟・排卵および卵質に及ぼす要因の解明 水産総合研究センター研究報告、別冊 5 号、39-44（2006）
- 2) Ozaki, Y., Fukada, H., Tanaka, H., Kagawa, H., Ohta, H., Adachi, S., Hara, A., Yamauchi, K. Expression of growth hormone family and growth hormone receptor during early development in the Japanese eel (*Anguilla japonica*) Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 145, 27-34（2006）
- 3) Sawaguchi, S., Kagawa, H., Ohkubo, N., Hiramatsu, N., Sullivan, C.V., Matsubara, T. Molecular characterization of three forms of vitellogenin and their yolk protein products during oocyte growth and maturation in red seabream (*Pagrus major*), a marine teleost spawning pelagic eggs. Molecular Reproduction and Development, 73, 719-736（2006）.
- 4) Amano, H. Fujita, T., Hiramatsu, N., Shimizu, M., Sawaguchi, S., Matsubara, T., Kagawa, H., Nagae, M., Sullivan, C.V., and Hara, A. Egg yolk proteins in gray mullet (*Mugil cephalus*): Purification and classification of multiple lipovitellins and other vitellogenin-derived yolk proteins and molecular cloning of the parent vitellogenin genes. Journal Experimental Zoology Part A, 307, 324-341（2007）.

### （2）学会発表

- 1) 堀内泰宏, 足立純一, 西明文, 橋本博, 加治俊二, 春日陽軸, 香川浩彦 ウナギの卵成熟・排卵に伴う卵細胞質の成熟 2006 年度日本水産学会
- 2) 香川浩彦 The first success of glass eel production in the world: basic biology on fish reproduction advances new applied technology in aquaculture. 第 6 回宮崎日伊科学技術交流会、2006.
- 3) 堀内泰宏, 足立純一, 西明文, 橋本博, 加治俊二, 春日陽軸, 香川浩彦 ウナギ

の卵母細胞の成熟に伴う吸水に及ぼす  $\text{HgCl}_2$  及び bafilomycinA1 の影響 2006 年度日本水産学会九州支部大会

- 4) 森本玲, 足立純一, 西明文, 橋本博, 加治俊二, 堀内泰宏, 香川浩彦 オスモティックポンプを用いたサケ脳下垂体抽出液投与が雌ウナギの成熟に及ぼす影響 2007 年度日本水産学会春季大会
- 5) Horiuchi, Y., Adachi, J., Nishi, A., Hashimoto, H., Kaji, S., Kasuga, Y., and Kagawa, H. Aquaporin and proteolysis of yolk and ovarian follicles play essential roles in the regulation of oocyte hydration during oocyte maturation in the Japanese eel. 8th International Symposium of Reproductive Physiology of Fish (2007).
- 6) 岸 貴史, 玄 浩一郎, 松原 創, 香川 浩彦 ウナギの卵巣におけるアクアポリンの発現・動態に関する免疫組織学的観察 2007 年度日本水産学会秋季大会
- 7) 藤江伸博, 足立純一, 西明文, 橋本博, 加治俊二, 岸貴史, 熊丸克也, 香川浩彦 オスモティックポンプを用いた種々のホルモン投与が雌ウナギの成熟に及ぼす影響 2008 年度日本水産学会

### (3) 図書

- 1) 川口恭一ほか、朝倉書店、水産大百科事典、2006