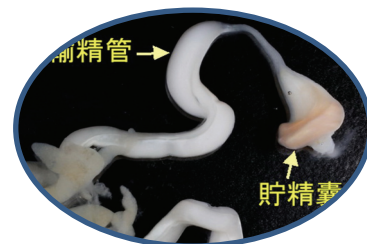


第3節 雄の生殖器官と精子形成及び内分泌調節

Section 3

奥村 卓二



1. 雄の生殖器官

生殖器官として雄は精巣を持ち、精巣から伸びた輸精管が開口する第5歩脚の基部から精莢を放出する。また、雄の第1遊泳脚（腹肢）内肢は伸長して左右が合一し、生殖補助器官である雄性交接器（petasma）となる（図 2-3-1A）。雄性交接器の形成は、雌性交接器よりも小型の稚エビから判別でき、稚エビ期に雌雄を識別する特徴として利用できる。雄は雌と腹側を合わせて交尾する¹⁾。その際に、雄性交接器を雌性交接器に挿入して精莢を雌の受精嚢に届けるガイドの役目をさせられると思われる。

精巣は肝臓の背面を広く被うように位置し、左右一対の構造をとってそれぞれが8個に分かれる分葉形態を持つ（図 2-3-1B）。8番目の最後葉から輸精管（vas deferens）が伸びている。輸精管は白く太い管で、U字状に屈曲して第5歩脚の基部で開口する（図 2-3-1A,B）。輸精管の末端部は膨らんでラッキョ型の貯精嚢を形成する。その中で精巣から送られてきた精子が入った精包と輸精管からの分泌物で作られる交尾栓（stopper）とが形成されて精莢（spermatophore）となる（図 2-3-1C）。貯精嚢の手前の部分は、細い管になっていて射精管と呼ばれる。

2. 精子形成

精巣には生殖細胞である精原細胞や精母細胞などが含まれる。精原細胞から精子にいたる過程が精子形成（spermatogenesis）である。精原細胞が体細胞分裂（mitosis）を繰り返して増殖した後に減数分裂（meiosis）を開始して第1精母細胞へ分化する。次に、第1精母細胞が分裂して第2精母細胞になる。さらに、第2精母細胞が分裂して精細胞になる。その結果、1個の第1精母細胞が2回分裂して4個の精細胞ができる。精細胞は形態変化して成熟精子になる。減数分裂の過程で、DNAが複製されて核相は2nから4nになり、2回分裂して最終的にnになる（図 2-3-2）。各段階の組織学的な特徴を洪の記述²⁾に基づき解説する。

精原細胞期（spermatogonium stage） ほぼ球形の細胞で、7~10 μm の核とその周りの薄い細胞質からなる（図 2-3-1F）。核内にはヘマトキシリンに染まる2~3個の仁がある。この段階では、体細胞分裂により分裂、増殖する。減数分裂を開始して第1精母細胞へ分化する。

第1精母細胞期（primary spermatocyte stage） 細胞の大きさは精原細胞期より少し大きくなる（図 2-3-1G）。核はヘマトキシリンで濃染されるようになる。DNAを合成して核相が4nになる。核が凝集して（図 2-3-1H）分裂し、第2精母細胞になる。

第2精母細胞期（secondary spermatocyte stage） 細胞の大きさは第1精母細胞の約半分になり、球状の核を持つ（図 2-3-1I）。核相は2nである。さらに分裂して精細胞になる。

精細胞期（spermatid stage） 細胞の直径は4~5 μm で、核は細胞の片側に偏在する（図 2-3-1J）。また、第2精母細胞期までと異なり、各細胞が分散、独立するようになる。核相は単相n（haploid）である。精細胞が形態変化して精子になる（図 2-3-1K）。

精子期（spermatozoa stage） 頭部の直径は約5 μm であり、細胞質側に細い5 μm 程度の尾を持つ（図 2-3-1D,E）。全体の形態は押しピン状である。精巣内では、精子は完全に分散、独立している（図 2-3-1L）。核相はnである。精細胞から精子に変化することを精子変態（または精子完成、精子形態形成、spermiogenesis）という。精子は精巣内で変態を完了せず、受精可能な状態になるためには輸精管と貯精嚢での変化と雌の受精嚢内での変化が必要となるようである。

精子形成、卵形成ともに、減数分裂により、最終的に核相nの精子と卵ができる（図 2-3-2）。両者の形成過程を比較して大きく異なるのは次の3点である。まず、卵形成では第1減数分裂前期の複糸期で減数分裂を長期間停止して卵黄成分を蓄積し、大きく成長する。卵原細胞と精原細胞では大きさがほぼ同じだが、卵母細胞の直径は第1精母細胞の約20倍に達する。次に、卵形成では減数分裂の途中（クルマエビでは第1極体放出前の第1減数分裂中期と考えられる）で産卵され受精する。受精後に、第1極体と第2極体を放出して第1減数分裂と第

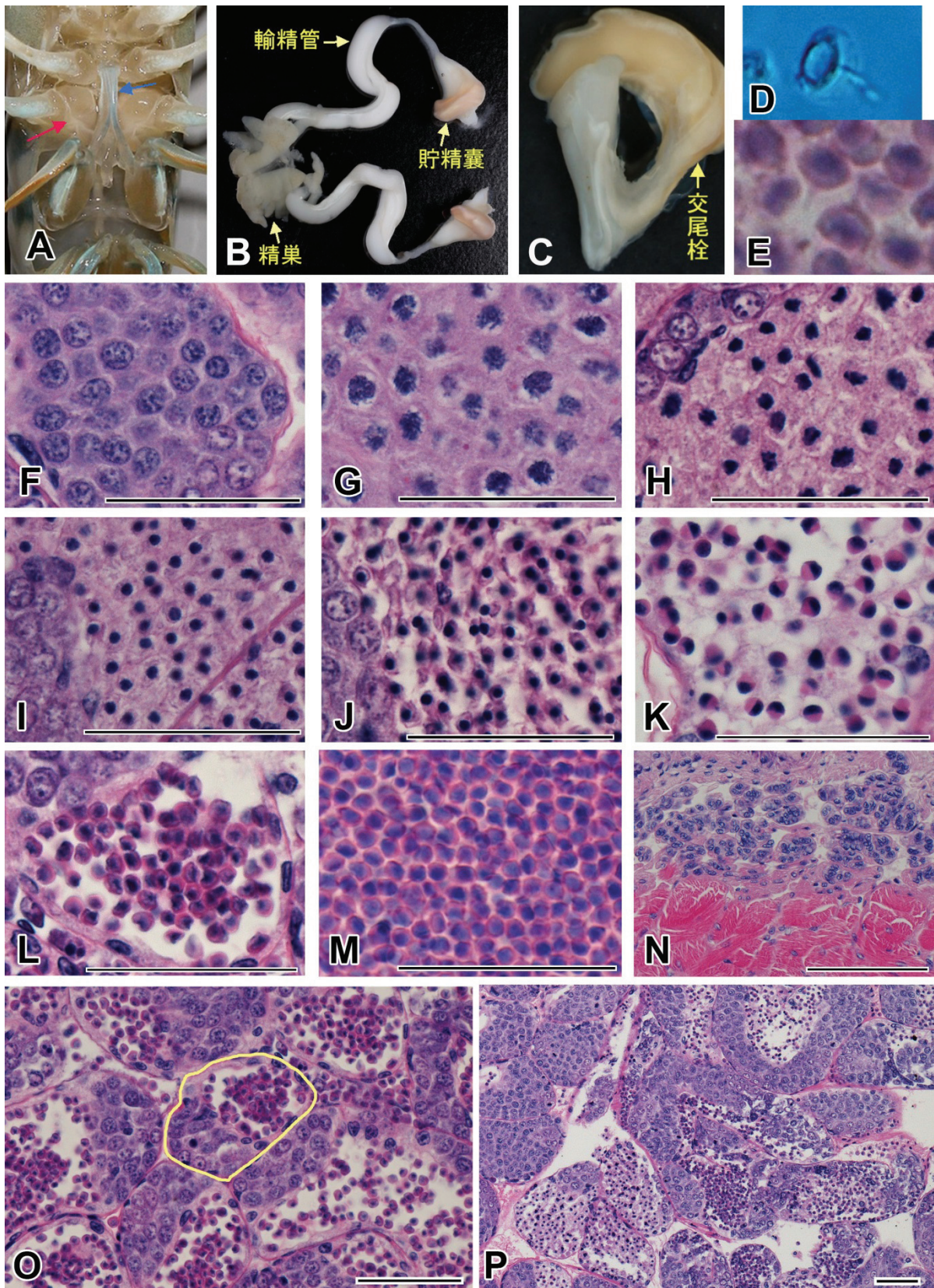


図 2-3-1 雄クルマエビの生殖器官と精巣組織像

A, 雄性交接器 (petasma, 青矢印), 赤矢印は第 5 歩脚基部の生殖孔。B, 精巣, 輸精管, 貯精囊の外観。C, 精莖。D, 尾部を持つ精子, 微分干涉顕微鏡像。E, 貯精囊内の精子。F, 精原細胞。G, 第 1 精母細胞。H, 第 1 精母細胞, 分裂に向けて核が凝集している。I, 第 2 精母細胞。J, 精細胞。K, 精子に変態途中の精細胞。L, 精巣内の精子。M, 貯精囊内の精子。N, 貯精囊先端部に付属する造雄腺, 赤く染まるのが結合組織, その上に造雄腺細胞がある。O, 精小囊, その一つを黄色で示す。P, 精小囊, 精小囊間で精子形成は同調していない。E - P, ヘマトキシリン-エオシン染色。バーは 50 μ m。

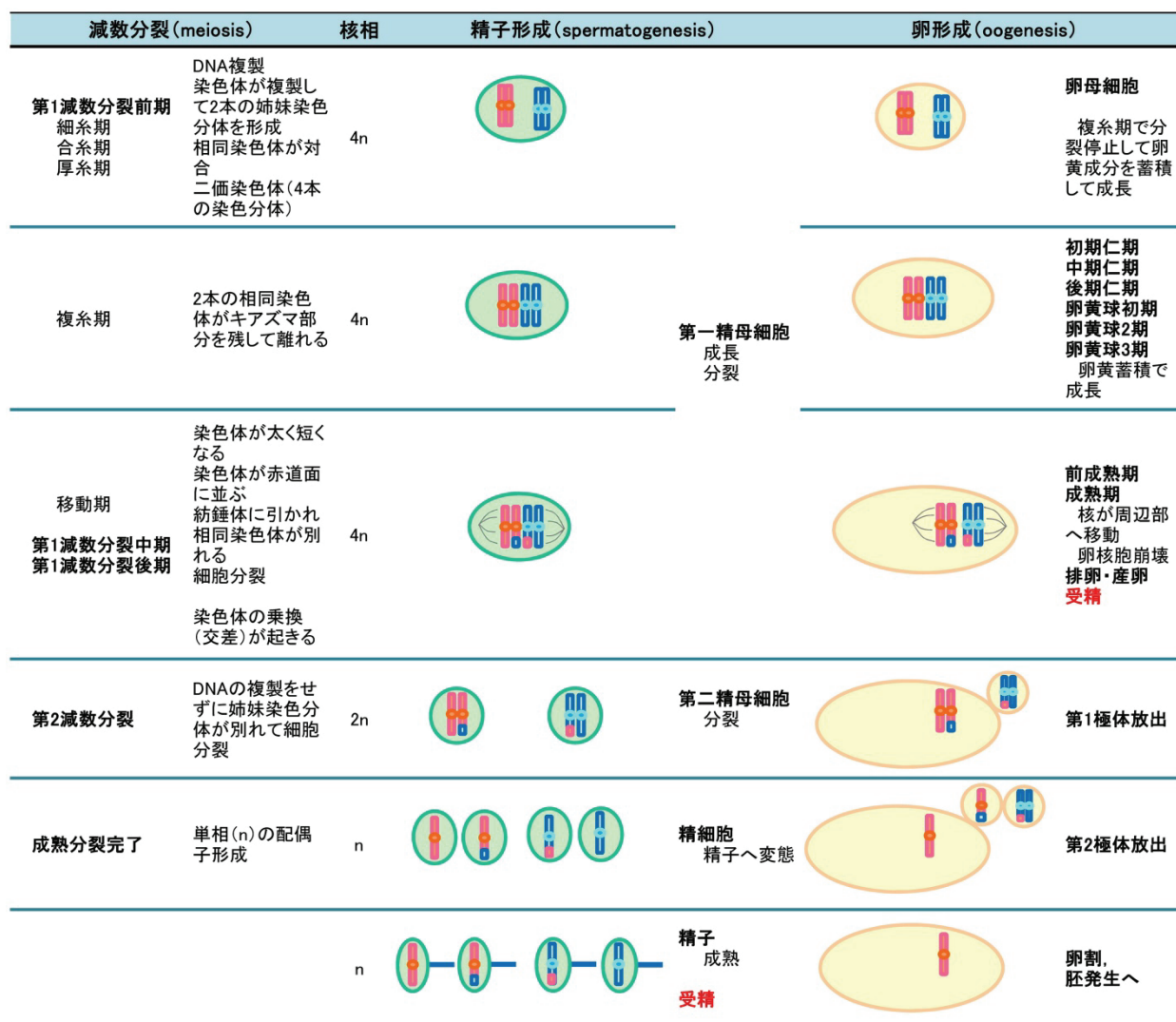


図 2-3-2 クルマエビにおける精子形成と卵形成の減数分裂過程

赤色の染色体が母由来の染色体で、青色の染色体が父由来の染色体を示す。第 1 減数分裂前期以降に染色体乗換 (交差) が起きている。卵形成の発達段階は第 2 章第 1 節を参照。

2 減数分裂を完了する。それに対して精子形成では、減数分裂を完了して精細胞になった後に精子に変態・成熟し、それから受精する。3 つめに、卵形成では 1 個の卵母細胞は 1 個の卵になるが、精子形成では 1 個の第 1 精母細胞が 4 個の精子になる。

3. 精巣と輸精管の構造

精巣は、左右一対の構造をとってそれぞれが 8 個に分かれる分葉形態を持つ (図 2-3-1B)。各葉の断面を見ると、基底膜に囲まれた精小囊が集まっている (図 2-3-1O,P)。各精小囊は、片側に精原細胞が集まって存在する。残りの部位には精原細胞から分化した精母細胞、または精細胞、精子がつまっている。それらの精子形成段階は同調している。精原細胞の部位と残りの部位の間は膜で仕切られている (図 2-3-1L)。各精小囊内で、精原

細胞が分裂・増殖し、減数分裂を始めて第 1 精母細胞になる。第 1 精母細胞は精原細胞群と膜で隔てられた別室で減数分裂を同調的に進め、第 2 精母細胞、精細胞、そして精子になる。ひとつの精小囊内では精子形成が同調して進むが、異なる精小囊間では精子形成は同期していない場合がある (図 2-3-1P)。また、精巣内に精子が観察されない場合でも輸精管と貯精囊に精子が貯蔵されている場合がある。精巣で精子が形成されるとすぐに輸精管へ運ばれると考えられる。雄の成熟状況を調査する場合は、精巣の組織観察だけでなく輸精管と貯精囊の組織観察もする必要がある。

精小囊内には、精原細胞や精母細胞などの生殖細胞とは異なる体細胞が見られる。脊椎動物では、精細管内にセルトリ細胞 (Sertoli cell)、精細管の間にある間質にライディッヒ細胞 (Leydig cell) が存在する。セルトリ細胞は、精細胞の支持、栄養供給、種々のタンパク質の分

泌、精子離脱の補助などの機能を持ち、精子を育成する作用を持つ。また、セルトリ細胞間に密着結合帯が形成されて血液精巣関門となっている。一方、ライディッヒ細胞は、脳下垂体から分泌される黄体形成ホルモン（luteinizing hormone, LH）の刺激によりアンドロゲン（男性ホルモン）を分泌する。クルマエビの精小囊に見られる体細胞がどのような役割を持っているかは不明である。

精小囊で作られた精子は細管を通して集められて輸精管に入る。輸精管は、基端部、中間部、末端部（射精管）に分かれ、その最終末端は貯精囊になっている。輸精管の中間部は太くて白い（図 2-3-1B）。その横断面を見ると 2 室に分かれている²⁾。一つは精子が充満しており、精子を貯蔵して貯精囊へ送る通路である。もう一方は、エオシン好染のキチン様物質が充満しており、キチン様物質を合成する機能をもっていると考えられている。2 つの管は末端部（射精管）で合一し、精子とキチン様物質が合わさって貯精囊内で精莢が作られる。

貯精囊は精莢を完成させる部位である。精莢は精子がつまった白い精包部分（図 2-3-1C,M）とキチン質でできた交尾栓からなる（図 2-3-1C）。両者は貯精囊内で形成される。

交尾時には、左右ペアの貯精囊から精莢が放出され、雌の雌性交接器に挿入される。交尾により貯精囊はいったん空になるが、輸精管から精子とキチン様物質が貯精囊に送られて精莢が再生される。精莢の再生が完了するまで雄は交尾しないと考えられる。

精巣と輸精管は成長とともに形成される。組織学的に精巣形成を調べた研究³⁾によると、まず輸精管がポストラーバ 20（P20）期で判別できるようになる。次に、外部形態の雄性交接器（petasma）が形成される（P50 期）。続いて、造雄腺（後述）が形成される（P50-60

期）。最後に精巣が判別できるようになる（P60 期）。この時期の精巣には生殖細胞として精原細胞のみが存在する。その後成長とともに、精巣も大きくなり精小囊が増える。さらに精子形成が進み、当歳で交尾可能になる。雄の生物学的最小形は体長約 100 mm といわれている。

漁獲されたクルマエビを観察すると、産卵期だけでなく、周年交尾栓を持つ雌がいる。おそらく冬季を除いて雄は精子を形成して交尾可能な状態にあり、雌が産卵期を終了している晩秋でも脱皮した雌に対して交尾するのだろう。そして、水温が下がる冬季は雌が脱皮しないため、晩秋に受け取った交尾栓を翌春まで持ち続けていると考えられる。雄は、脱皮直後の雌としか交尾しないため、水温が低くて雌が脱皮しない冬季には、貯精囊に精子を持っていても交尾していないと考えられる。

4. 内分泌調節

4-1. 造雄腺ホルモン

造雄腺ホルモン（androgenic gland hormone）は造雄腺から分泌され雄への性分化と精子形成に働く 2 本鎖糖ペプチドホルモンである⁴⁻⁷⁾。その構造は、2 本鎖のペプチドがジスルフィド結合でつながり、一方のペプチド鎖に糖が付いている（図 2-3-3）。造雄腺ホルモンの存在は 1950 年代にフランスと日本の研究グループにより、ヨコエビとオカダンゴムシを使って明らかにされた。造雄腺ホルモンの精製と構造決定は、日本とフランスの研究グループが同じオカダンゴムシを使って激しい競争をした後、1999 年に両グループから別々に、糖鎖をもつ 2 本鎖ペプチド（73 アミノ酸残基）として報告された^{8, 9)}。造雄腺ホルモンはまず 1 本のペプチドとして合成され、最初にシグナルペプチドが切断される。次に 1 本鎖の状態ではジスルフィド結合が形成された後に C ペプチド

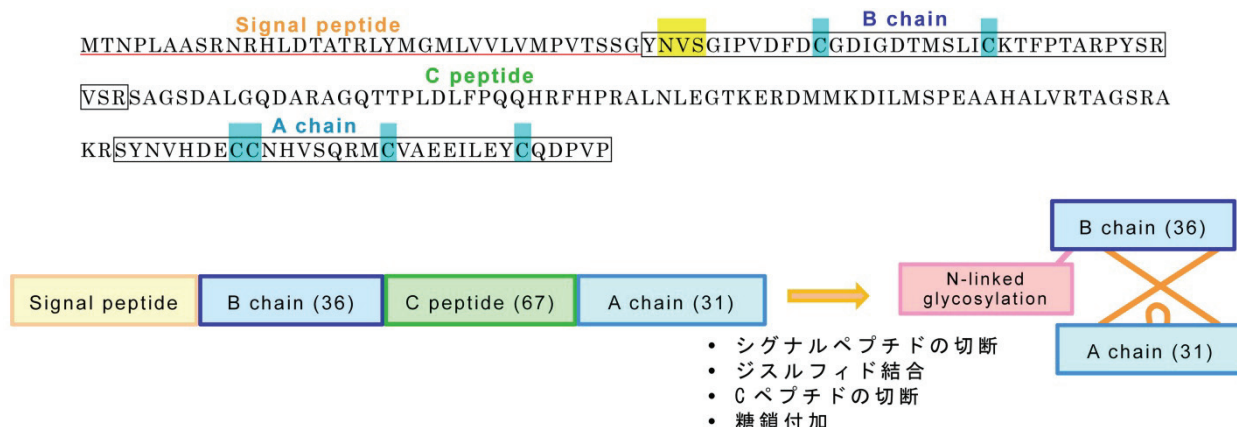


図 2-3-3 クルマエビ造雄腺ホルモンの構造

上段は前駆体の一次構造で、黄色が糖鎖付加部位（NVS）、青がジスルフィド結合を作るシステイン残基（C）を示す。下段は前駆体から成熟ホルモン形成の模式図で、（）内の数字はアミノ酸残基数、A 鎖と B 鎖を結ぶジスルフィド結合の位置と糖鎖の付加はオカダンゴムシ造雄腺ホルモンの構造から推定。

が除かれて A 鎖と B 鎖がジスルフィド結合でつながった 2 本鎖ペプチドになる。さらに、どの合成段階かは不明だが、オカダンゴムシでは A 鎖（クルマエビでは B 鎖）に糖鎖が付加される。

オカダンゴムシ造雄腺ホルモンの構造が決定してからエビ・カニ類の造雄腺ホルモンの構造が報告されるまで 8 年かかり、2007 年に初めてザリガニの造雄腺ホルモンが insulin-like androgenic gland hormone (iAG) として報告された¹⁰⁾。「insulin-like」というのは、2 本鎖ペプチドの構造がインシュリンに似るからである（ただし、インシュリンに糖鎖はつかない）。その後、エビ・カニ類でも造雄腺ホルモン同定の報告がなされ、2014 年 2 月の時点ではクルマエビを含む 10 種のエビ・カニ類から造雄腺ホルモンが報告されている（表 2-3-1）。

表 2-3-1 造雄腺ホルモンが報告された甲殻類（2014 年 2 月現在）

種名	発表年
オカダンゴムシ	<i>Armadillidium vulgare</i> 1999
オビワラジムシ	<i>Porcellio dilatatus</i> 2003
ワラジムシ	<i>Porcellio scaber</i> 2003
ザリガニ類の一種	<i>Cherax quadricarinatus</i> 2007
ブルークラブ(ガザミ類)	<i>Callinectes sapidus</i> 2011
オニテナガエビ	<i>Macrobrachium rosenbergii</i> 2009
テナガエビ	<i>Macrobrachium nipponense</i> 2013
コンジテナガエビ	<i>Macrobrachium lar</i> 2013
イソスジエビ	<i>Palaemon pacificus</i> 2013
スジエビ	<i>Palaemon paucidens</i> 2013
ウシエビ	<i>Penaeus monodon</i> 2011
クルマエビ	<i>Marsupenaeus japonicus</i> 2011
タイショウエビ	<i>Fenneropenaeus chinensis</i> 2012

造雄腺ホルモンを合成・分泌する造雄腺は、オカダンゴムシでは例外的に精巣の末端部に付着しているが、その他の甲殻類では輸精管（特にその末端部の貯精囊）に付着した器官である。テナガエビ類では、貯精囊に付着した薄い膜状の造雄腺を容易に見つけることができる¹¹⁾が、クルマエビでは外観ではっきりわかる構造をとっていない。クルマエビの造雄腺は貯精囊の先端部に付着している¹²⁾。造雄腺は、楕円形の核を持つ直径数 μm の細胞が集まった器官である（図 2-3-1N）。

造雄腺ホルモンの作用はヨコエビとオカダンゴムシを使って調べられている^{13, 14)}。造雄腺を雄から除去すると雌化する。また、造雄腺を未熟な雌に移植すると雄化する。造雄腺移植により雌を雄に性転換して交配させ、次世代を作ることにも成功している。以上の結果から、造雄腺ホルモンは雄性化の性分化に働くと考えられている。また、オカダンゴムシの性決定機構は ZW 型（雄が ZZ、雌が ZW）であることがわかっている。

エビ・カニ類でも、オニテナガエビで、造雄腺の移植による雌の雄化と造雄腺除去による雄の雌化が報告されている¹⁵⁾。また、RNA 干渉という、標的遺伝子と相補的な配列をもつ 2 本鎖 RNA を注射して標的遺伝子の発現を抑制する技術を用い、雄オニテナガエビの造雄腺ホルモンの機能を阻害し、雄の二次性徴を抑制することも報告されている¹⁶⁾。オニテナガエビでも造雄腺ホルモンは雄性化の性分化に働くと考えられる。

オニテナガエビは雄の方が大型になり商品価値が高いため、雄だけを養殖できれば経済効率が高まる。そのため、RNA 干渉により造雄腺の機能を抑制して雄（ZZ）を雌に性転換させて偽雌（ZZ）を作り、雄と交配（ZZ × ZZ）して全雄を作る試みが行われている¹⁷⁾。商業レベルで実用化が進んでいるようである。

造雄腺は、性分化時期だけでなく性的に成熟して精子形成をしている段階でも、細胞質に粗面小胞体が発達して活発にタンパク質を合成している細胞像を示す¹¹⁾。そのため、造雄腺ホルモンは、性分化時期だけでなく、性的に成熟した後も精子形成の維持・促進に働いていると考えられる。

クルマエビで造雄腺ホルモンの構造が報告されている¹⁸⁾が、その作用についてはまだよくわかっていない。クルマエビは、オニテナガエビと違って雌の方が早く成長して大型化する。その特徴を活かして雌だけを生産できる性統御技術が開発されれば養殖の効率化が進むと期待されるが、まだだれも成功していない。

4-2. 眼柄因子

甲殻類では、雌の眼柄を除去すると卵巣が発達するが、同じように雄の眼柄を除去すると造雄腺の肥大と精巣の発達が生じることが知られている¹⁹⁻²¹⁾。雄の眼柄因子が造雄腺に対して抑制作用を持ち、眼柄を除去することでその抑制作用が無くなって造雄腺が肥大し、造雄腺ホルモンの分泌量が増え、その結果精巣が発達すると考えられている。雌では、眼柄神経節の X 器官ーサイナス腺から卵黄形成抑制ホルモンが分泌されて卵巣発達を抑制的に調節している（第 2 章第 1 節参照）。それに対して雄では、卵黄形成抑制ホルモンが造雄腺の抑制に働いている可能性がある。しかし、まだ明らかにされておらず、雄の眼柄因子は不明のままである。

4-3. その他のホルモン

脊椎動物でアンドロゲンとして働いているテストステロンのような雄性ステロイドホルモンが甲殻類でも働いていると期待して実験が行われたが、明確な結果は得られていない。

造雄腺ホルモンだけで複雑な雄の生殖が調節されているとは考えにくいので、他にも雄の生殖に働くホルモン

が存在すると期待できるが、ほとんど手がかりが得られていないのが現状である。

5. 最後に

クルマエビから採卵する場合、雌エビは交尾済みのことが多く、雄エビを使わなくても採卵できるため、雄の生殖が注目されることは少ない。そのため雌に比べて雄の生殖の研究は進んでいない。これからエビ養殖業をさらに発展させるために、高成長や抗病性など、優れた形質を持つ系統の育種に取り組み、人工交配による一対一交配を実施する必要があるだろう。人工交配する際には、雄の精子形成の状態が悪くてふ化率が悪くなることもあると考えられる。そうした問題が起きたときには、雄の生殖に関する知見が必要になる。今後、雄の繁殖生理の基礎研究がさらに進展することが期待される。

(奥村卓二)

文 献

- 1) Hudinaga M. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. *Japan J. Zool.* 1942; **10**: 305-393.
- 2) 洪 徳仁. クルマエビの性成熟及び産卵に関する研究. 博士論文, 東京大学, 東京. 1977.
- 3) Nakamura K. Differentiation of genital organs and androgenic gland in the kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.* 1992; **41**: 87-94.
- 4) 長澤寛道. 甲殻類のホルモン. 「ホルモンの分子生物学 8 無脊椎動物のホルモン」(日本比較内分泌学会編) 学会出版センター, 東京. 1998; 199-222.
- 5) 長澤寛道, 奥野敦朗. 甲殻類の性分化を制御する造雄腺ホルモンの無脊椎動物で初めて同定された性ホルモン. *化学と生物* 2000; **38**: 722-727.
- 6) Katayama K, Ohira T, Nagasawa H. Crustacean peptide hormones: structure, gene expression and function. *Aqua-BioScience Monographs* 2013; **6**: 49-90.
- 7) Ventura T, Rosen O, Sagi A. From the discovery of the crustacean androgenic gland to the insulin-like hormone in six decades. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2011; **173**: 381-388.
- 8) Martin G, Sorokine O, Moniatte M, Bulet P, Hetru C, Van Dorsselaer A. The structure of a glycosylated protein hormone responsible for sex determination in the isopod, *Armadillidium vulgare*. *Eur. J. Biochem.* 1999; **262**: 727-736.
- 9) Okuno A, Hasegawa Y, Ohira T, Katakura Y, Nagasawa H. Characterization and cDNA cloning of androgenic gland hormone of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999; **264**: 419-423.
- 10) Manor R, Weil S, Oren S, Glazer L, Aflalo ED, Ventura T, Chalifa-Caspi V, Lapidot M, Sagi A. Insulin and gender: an insulin-like gene expressed exclusively in the androgenic gland of the male crayfish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2007; **150**: 326-336.
- 11) Okumura T. Perspectives on hormonal manipulation of shrimp reproduction. *JARQ* 2004; **38**: 49-54.
- 12) 杉岡浩行, 鶴岡慎哉, 石坂紀子, 朝比奈潔, 大平剛. クルマエビ造雄腺ホルモン様分子の組織学的な局在解析. 平成 25 年度日本水産学会春季大会講演要旨集 2013; 34.
- 13) Katakura Y. Sex differentiation and androgenic gland hormone in the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare*. In: Sutton SL, Holdich DM (eds). *Biology of Terrestrial Isopods. Symp. Zool. Soc. Lond. No. 53*. Oxford Univ. Press, Oxford. 1984; 127-142.
- 14) Charniaux-Cotton H, Payen G. Sexual differentiation. In Bliss DE, Mantel LH (eds). *The Biology of Crustacea Vol. 9*. Academic Press, New York. 1985; 217-299.
- 15) Nagamine C, Knight AW, Maggenti A, Paxman G. Masculinization of female *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) (Decapoda, Palaemonidae) by androgenic gland implantation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1980; **41**: 442-457.
- 16) Ventura T, Manor R, Aflalo ED, Weil S, Raviv S, Glazer L, Sagi A. Temporal silencing of an androgenic gland specific insulin-like gene affecting phenotypical gender differences and spermatogenesis. *Endocrinology* 2009; **150**: 1278-1286.
- 17) Monosex culture of prawns through temporal androgenic gene silencing. *The Global Magazine for Farmed Seafood, St Louis* 2013; **16(6)**: 70-72.
- 18) Banzai K, Ishizaka N, Asahina K, Suitoh K, Izumi S, Ohira T. Molecular cloning of a cDNA encoding insulin-like androgenic gland factor from the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus* and analysis of its expression. *Fish. Sci.* 2011; **77**: 329-335.
- 19) Hoffman DL. Seasonal eyestalk inhibition on the androgenic glands of a protandric shrimp. *Nature* 1968; **218**: 170-172.

- 20) Khalaila I, Manor R, Weil S, Granot Y, Keller R, Sagi A. The eyestalk–androgenic gland–testis endocrine axis in the crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2002; **127**: 147-156.
- 21) Okumura T, Nikaïdo H, Yoshida K, Kotaniguchi M, Tsuno Y, Seto Y, Watanabe T. Changes in gonadal development, androgenic gland cell structure, and hemolymph vitellogenin levels during male phase and sex change in laboratory-maintained protandric shrimp, *Pandalus hypsinotus* (Crustacea: Caridea: Pandalidae). *Mar. Biol.* 2005; **148**: 347-361.