

# クルマエビの成熟に対する各種ホルモンの作用の解明 —クルマエビのホルモンは脊椎動物と同じか?—

奥村卓二\*

## Hemolymph levels of vertebrate-type steroid hormones during ovarian development in the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus*

Takuji OKUMURA\*

**Abstract** For further development of shrimp seed-production, the importance of broodstock management is increasing. However, few hormones have been determined, and hormonal manipulation of shrimp reproduction is limited to eyestalk ablation for the induction of ovarian development and oviposition. In this study, involvement of vertebrate-type steroid hormones on ovarian development was examined in the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus*. Fluctuation of hemolymph levels of estradiol- $17\beta$ , estriol, testosterone, 11-ketotestosterone, and progesterone were not correlated to ovarian development. This suggests that the examined vertebrate-type steroid hormones do not play an important role in ovarian development of *M. japonicus*.

**Key words:** kuruma prawn, steroid, maturation, eyestalk ablation, blood level

姿形が良く味覚も良いクルマエビは水産上重要視され、以前から天然資源の増殖が進められている。放流用種苗生産には、漁獲された成熟雌エビが用いられるが、天然エビに依存しているため、成熟エビの入手や採卵成績が安定しない問題がある。この問題を解決するために、飼育下で成熟させたり、天然エビの産卵を促進したりする技術開発が求められているが、実現できていない。その主な原因として、クルマエビの成熟関連ホルモンが同定されていないことがあげられる。

成熟に関与するホルモンは、脊椎動物でよく研究されている。卵形成の過程で卵母細胞は減数分裂を中断して卵黄を蓄積する。魚やカエルなどの卵生脊椎動物では、脳の下垂体から分泌される生殖腺刺激ホルモンが卵巣濾胞細胞でのエストラジオール- $17\beta$ の合成と分泌を促進し、血中に分泌されたエストラジオール- $17\beta$ が肝臓に働いて卵黄タンパク前駆物質（ビテロジェニン）の合成を促進して卵黄形成を進める。

卵黄形成が完了した卵母細胞は減数分裂を再開して極体を放出するが、この過程を卵成熟という。卵成熟は、生殖腺刺激ホルモンが卵巣濾胞細胞の $17\alpha$ ,  $20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プロゲネン-3-オン（アマゴ）またはプロジェステロン（カエル）の分泌を促進し、これらのホルモンが卵母細胞に働くことで引き起こされる。

こうした脊椎動物のホルモンは、甲殻類にも存在することが知られており、同様な内分泌調節があることが示唆されているが、まだ明らかになっていない。そこで本研究では、脊椎動物のホルモンについて雌クルマエビの血中量を測定して卵形成との関連を調べ、その役割を検討した。

### 自然成熟過程での血中ステロイドホルモン量

百島栽培センターの素ぼり池で自然成熟した雌クルマ

2005年11月15日受理 (Received: November 15, 2005)

\* 養殖研究所 〒516-0193 三重県度会郡南伊勢町中津浜浦422-1 (National Research Institute of Aquaculture, Nakatsuhamaura, Minami-ise, Mie 516-0193, Japan)

マエビから採血し、血中のホルモン量を市販の酵素免疫測定キットを利用して測定した (Okumura and Sakiyama, 2004)。卵形成段階を組織観察により、前卵黄形成期 (RNAの蓄積が進んでいるが、脂肪やタンパク質の蓄積はまだ進んでいない段階)、内因性卵黄形成期 (脂肪やタンパク質が卵母細胞で合成され蓄積される段階)、外因性卵黄形成期 (ビテロジェニンが取り込まれて卵黄タンパク質が卵母細胞に蓄積され、急激に卵母細胞が大きくなる段階) の3段階にわけた (Fig.1)。卵形成にともなって生殖腺指数 (GSI) は急激に大きくなった (Fig.2 a)。

脊椎動物のステロイドホルモンであるエストラジオール-17 $\beta$ 、エストリオール、テストステロン、11-ケトテストステロンおよびプロゲステロンの血中量は、

1~30pg/mLと低く、卵黄形成との間に明瞭な関連は見られなかった (Fig.2 b)。

#### 眼柄切除で誘導された成熟過程での血中ステロイドホルモン量

眼柄を切除していない未熟な雌クルマエビと両眼柄を切除して卵黄形成を誘導した雌クルマエビとから採血し、血中のホルモン量を測定した (Okumura and Sakiyama, 2004)。未切除エビの卵巣は前卵黄形成期で、GSIは0.80であった (Fig.3 a)。眼柄切除エビでは、卵黄形成が進んで卵巣は外因性卵黄形成期になり、GSIは2.43であった。

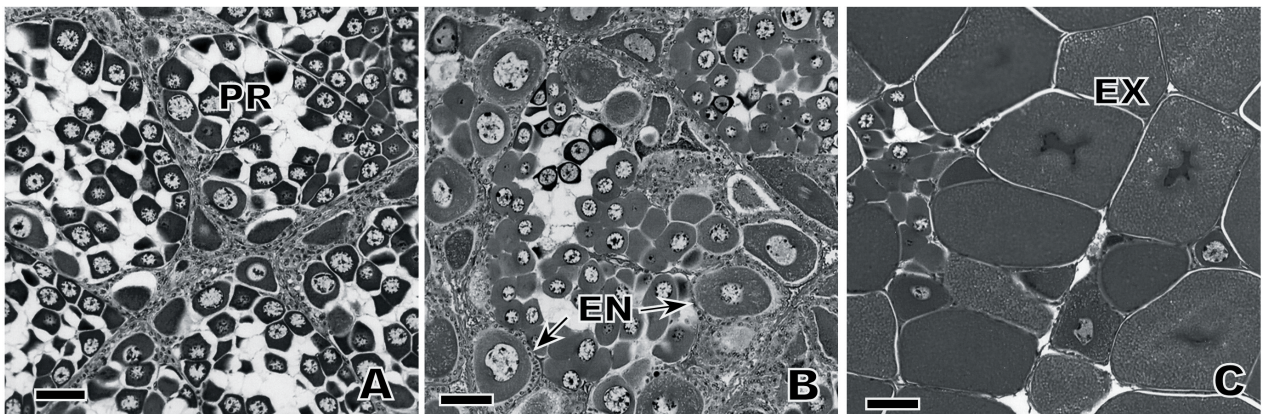


Fig. 1. Ovarian development in *Marsupenaeus japonicus*. A, previtellogenic ovarian stage; B, endogenous vitellogenic ovarian stage; C, exogenous vitellogenic ovarian stage. PR, previtellogenic oocyte; EN, endogenous vitellogenic oocyte; EX, exogenous vitellogenic oocyte. Bar=0.1mm. Hematoxylin-eosin staining.

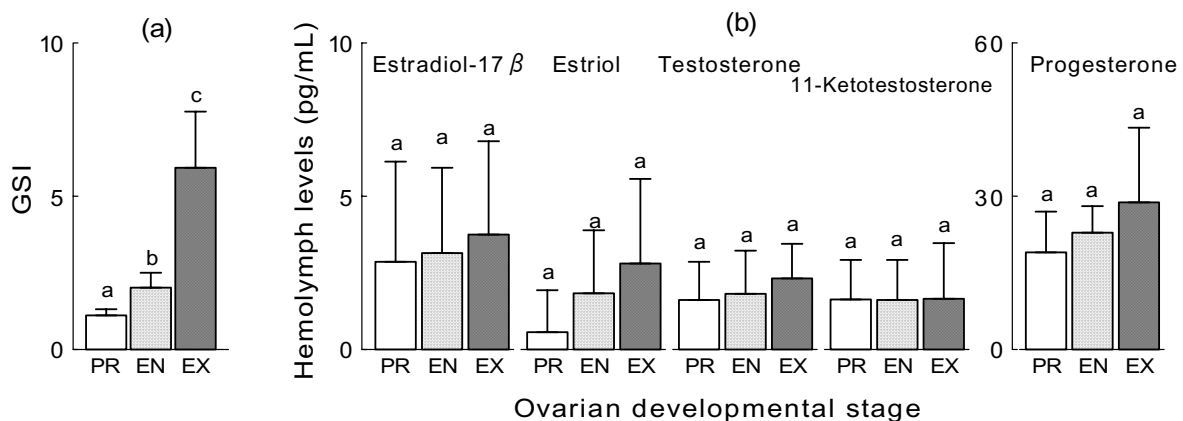
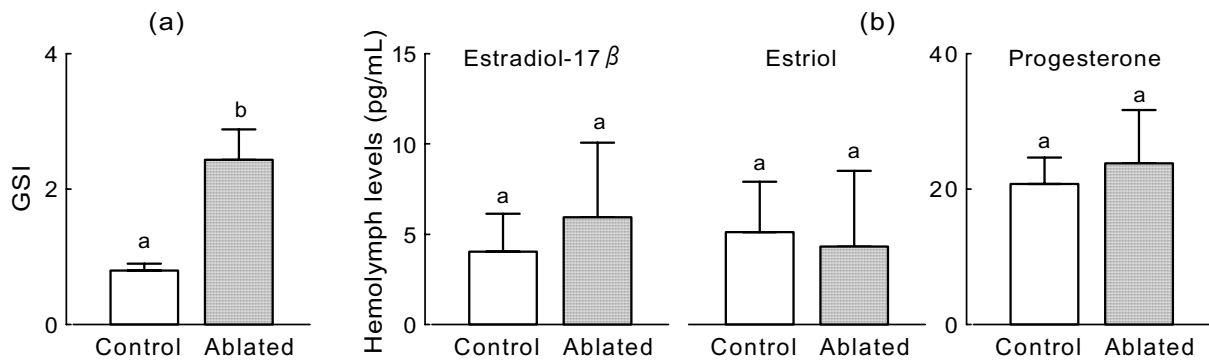


Fig. 2. Gonadosomatic index (GSI, a) and hemolymph levels of vertebrate-type steroid hormones (b) at the ovarian developmental stage in female *Marsupenaeus japonicus* under the natural reproductive cycle. PR, previtellogenic ovarian stage; EN, endogenous vitellogenic ovarian stage; EX, exogenous vitellogenic ovarian stage. Data are given as mean and SD. Bars with no common letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).



**Fig. 3.** Gonadosomatic index (GSI, a) and hemolymph levels of vertebrate-type steroid hormones (b) in control unablated and eyestalk-ablated female *Marsupenaeus japonicus*. PR, previtellogenic ovarian stage; EN, endogenous vitellogenic ovarian stage; EX, exogenous vitellogenic ovarian stage. Data are given as mean and SD. Bars with no common letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

脊椎動物のステロイドホルモンであるエストラジオール-17β, エストリオール, およびプロジェステロンの血中量は, 4~25pg/mLと低く, 卵形成段階がことなる未切除エビと切除エビとの間に有意な差異が見られなかった (Fig. 3 b)。

一般にホルモンの血中量変化は, そのホルモンの作用を示す指標である。本研究では, 自然成熟過程と眼柄切除による成熟誘導過程で血中ホルモン量と卵形成との関連を調べたが, 明瞭な関連は見られなかった。このことは, 脊椎動物のステロイドホルモンがクルマエビでは卵形成に生理作用を持たないことを示唆する。これまでにこれらのステロイドホルモンをエビに投与しても明瞭な効果がないことが報告されてきたが, もともと甲殻類に生理作用をもたないことが原因と考えられる。こうしたステロイドホルモンを利用した催熟の試みは, クルマエビに有効でないと考えられる。

#### おわりに

これまで脊椎動物のステロイドホルモンが甲殻類でも作用をもつと考えられて, ステロイドホルモンを利用した催熟が試みられてきたが, 本研究により, 脊椎動物のステロイドホルモンがクルマエビの卵形成の進行と関連した動態を示さないことが示された。以上から, 甲殻類の卵形成を調節する内分泌機構は, 脊椎動物と異なると考えられた。

脊椎動物とは異なる甲殻類独自のホルモンとして, これまでに, 卵黄形成抑制ホルモン, メチルフェルネソエートや造雄腺ホルモンなどが卵形成に関与することが報告されてきた (Okumura, 2004)。しかし, それらのホルモンの作用は十分に明らかになっていない。

最近では培養法とビテロジェニン遺伝子発現測定を組み合わせた生理活性検定法が利用できるになっている。今後は, こうした活性検定法を利用して, 既知のホルモンの作用を明らかにするとともに, 未知のホルモンを探索することが必要だろう。そして, 甲殻類の成熟に関与するホルモンが明らかになれば, ホルモンを利用した催熟技術開発が可能になると期待される。

#### 文 献

- Okumura, T., 2004: Perspectives on hormonal manipulation of shrimp reproduction. *JARQ*, **38**, 49-54.
- Okumura, T. and Sakiyama, K., 2004: Hemolymph levels of vertebrate-type steroid hormones in female kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) during natural reproductive cycle and induced ovarian development by eyestalk ablation. *Fisheries Sci.*, **70**, 372-380.