

魚類雄の血中ビテロゲニンを測る

魚類のビテロゲニンについて

以前、本誌紙上に「魚の成熟度を調べる」と題して、魚の成熟度を血中ホルモン濃度から判定する方法について述べたことがありました(海生研ニュースNo.60、1998)。その中で、「雌のシロギスではエストラジオール-17βの上昇が確認されてから数週間後、今度は血中のビテロゲニンというタンパク質が急増します。それというのも、このビテロゲニンは卵黄の原料となるタンパク質だからです。エストラジオール-17βが肝臓に働くことにより、肝臓がせっせと作り、さあできましたと、血中に放出したものがビテロゲニンなのです。卵はビテロゲニンを血中から取り込んでどんどん大きくなっていきます。」と記述しているのですが、まさか自分が雄のビテロゲニンについて調べることになるとは思っていませんでした。雄の血中ビテロゲニンが調査対象として登場するようになったのは、内分泌かく乱物質が社会問題として大きく取り上げられるようになったごく最近のことです。

血中ビテロゲニンと内分泌かく乱物質

「ビテロゲニンは卵黄の原料」であることは間違いありません。それではなぜ卵を生まない雄魚のビテロゲニンが注目されるようになったかと言えば、雄の血中ビテロゲニンが雄の雌化等の生殖異常の内分泌かく乱物質バイオマーカー(生物指標)として用いることができるからです。

現在知られている内分泌かく乱物質の多くのはエストロゲン(女性ホルモン；魚のエストロゲンの代表は前出のエストラジオール-17β)様作用を示すと言われてます。もし、魚が水中で内分泌かく乱物質に曝されたら、内分泌かく乱物質は体内に吸収され血流で肝臓に送られ、雌であれば、ビテロゲニンの産生を促すことになるでしょう。しかし、雌の体内にはもともとビテロゲニンが存在するので、雌の血中ビテロゲニンを測定しても、微量の内分泌かく乱物質の影響を把握することは難しいのです。そこで、雄の出番になるのですが、雄の肝臓もエストロゲンに反応してビテロゲニンを産生する潜在的な能力を持っていることは20年ほど前(引用)に明らかにされていました。したがって、雄の血中ビテロゲニン濃度は外因性の内分泌かく乱物質影響の指標として使えるのです。

実際にイギリスの研究者らによって河川の汚濁を調べるために雄の血中ビテロゲニンの測定が行われたのが今から十数年前のことで、日本の研究者により用いられ始めたのはここ数年のことです。

シロギス雄に検出された血中ビテロゲニン

当初、ビテロゲニンをバイオマーカーとして内分泌かく乱物質の調査を行っている研究者達からいろいろ話しを聞

いているうちに、雄でも微量のビテロゲニンは頻繁に検出されていることを知りました。しかしながら、これらの原因をすべて内分泌かく乱物質の影響と考えていいのでしょうか。もし雄のビテロゲニンの血中レベルが雌と同じほど高い値を示すのであれば明らかに異常と判断できるでしょう。しかし、雌よりはるかに低い濃度の場合、どこまでが正常の範囲で、どこからが異常であるのか判断できません。

そこで、我々は過去に自然水温条件下で周年飼育したシロギス雄の凍結血清サンプルについて、ビテロゲニンを測定することにしました。少なくとも、雄の平常時の血中ビテロゲニンの変動内に収まる値は正常値としてよいのではないかと考えたからです(後で、そんなに簡単に解決する問題ではないことを知らされましたが)。ただここで一つの問題が生じました。それはシロギス雄の血中ビテロゲニンレベルは雌のそれよりはるかに微量であるため、我々が採用してきた従来のビテロゲニン分析法では雄のレベルを分析できないということです。しかしながら、この点について水産庁北海道区水産研究所資源増殖部浅海育種研究室長 松原孝博博士に多大なご協力をいただき、試行錯誤を繰り返しながらシロギスビテロゲニンの高感度分析法、ELISA(酵素結合免疫吸着検定法)法を確立することができました。

さて、この分析法を用いたビテロゲニンの測定結果は以下のようなものでした。

すなわち、シロギス雄における血中ビテロゲニンは、精巢が未発達な3月までは検出されず、成熟が始まる4月から5月にかけて徐々に値が上昇し、成熟盛期の6月から7月にかけてもっとも高くなり、以後徐々に減少し10月以降は検出されなくなりました(図1)。

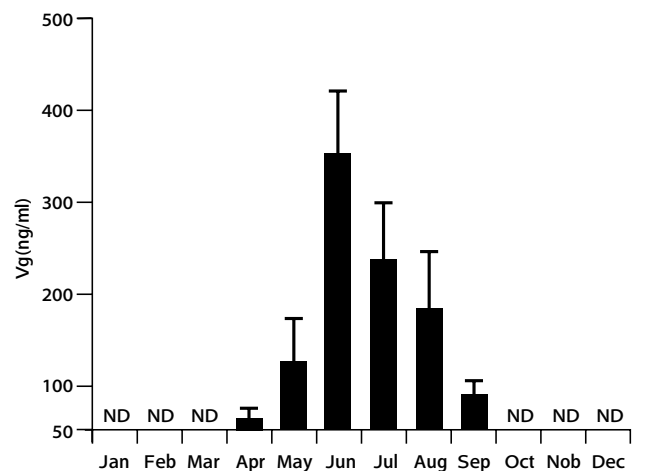


図1 シロギス雄の血中ビテロゲニン(Vg)濃度の季節変化
NDは検出限界値(50ng/ml)以下を示す。

測定された雄のピテロゲニン濃度は、もっとも高い値を示す6月で、同時期の雌の値の1万～2万分の1程度の値でした。顕微鏡で精巣組織を観察すると、血中ピテロゲニンが検出された個体の精巣では概して精子形成が活発で多量の精子が観察されましたが(図2)、ピテロゲニンが検出されなかった個体の精巣では、まだあまり多くの精子が作られていなかったり(図3)、すでに精子形成を終えて精巣が小さくなり始めていました(図4)。これらの結果から、

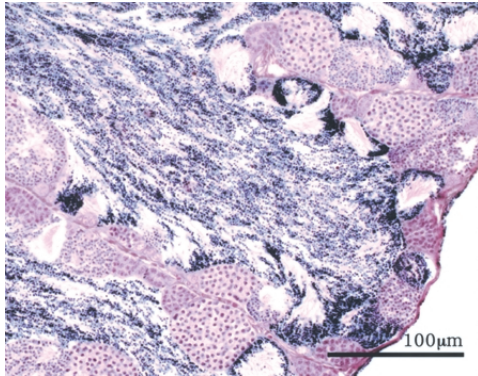


図2 6月の雄個体の精巣組織像
血中ピテロゲニン濃度600ng/ml。

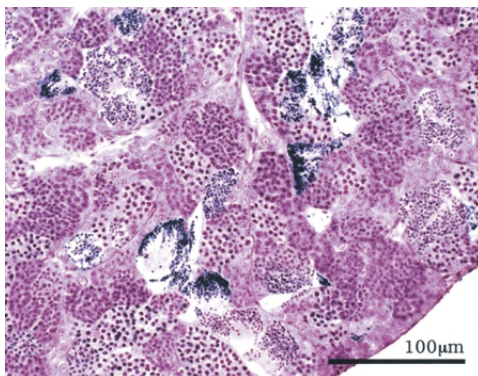


図3 4月の雄個体の精巣組織像
血中ピテロゲニン濃度は検出限界値以下。

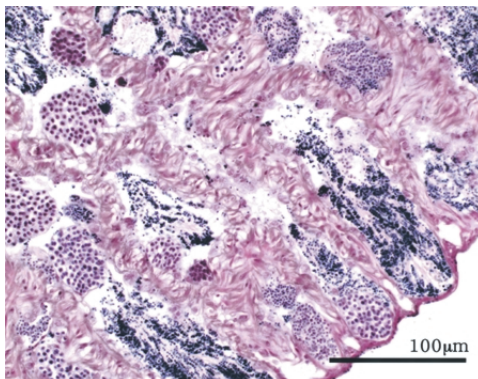


図4 9月の雄個体の精巣組織像
血中ピテロゲニン濃度は検出限界値以下。

雄の血中ピテロゲニン濃度は成熟期に上昇することが明らかになったわけです。

今のところ、シロギス雄魚においてピテロゲニンが成熟期に上昇する要因として、

①成熟期に雄の血中に大量に作られる雄性ホルモン(テストステロン)が微量ながら雄の体の中でエストロゲンに転換され、その結果としてピテロゲニンが産生された。

②成熟した雌の尿中あるいは産卵時に排出された微量のエストロゲンが雄のピテロゲニン産生を促した。

③成熟期に雄の肝臓に存在するエストロゲン受容体の感受性が増し、その結果として、血中の微量のエストロゲンまたはエストロゲン様物質に強く反応した。

④成熟が春から夏の水温上昇期に起こることから、水温の上昇がピテロゲニンの産生を促している。

⑤これらの要因が複数関与する。
等が推察されています。

再び、正常値の範囲を知る

シロギス雄の血中に測定された数百ng/mlはシロギス雄における正常値を決めるための目安になると思われますが、今のところこの値をそのまま正常値と断定するにはデータが不足しています。もしかしたら、調べた雄は餌に含まれる可能性がある植物性エストロゲンの影響を受けていたかもしれませんし、雌雄混在で水槽に収容されていたため天然海域よりはるかに雌の影響を受けやすくなっていたかもしれません。「魚の成熟度を調べる」の最後でも述べたことなのですが、正常値の範囲を明らかにするためにはもっと多くのデータが必要になってきます。

海生研は平成11年度から水産庁からの委託を受けて「内分泌かく乱物質魚介類影響実態把握等調査」に着手しました。この調査においても雄魚血中のピテロゲニン濃度を指標として、水産生物に対する内分泌かく乱物質影響の実態調査および物質暴露による飼育試験などを行い、種々の知見、情報の集積を図っています。我々は今後も、この内分泌かく乱物質影響の有力なバイオマーカーとして期待されるピテロゲニンの反応特性について更に検討を重ね、正常値を明らかにして、それらデータを天然海域における内分泌かく乱物質の海生生物への影響の評価に役立てたいと考えています。

最後に、このような調査研究の実施に際しては、特殊な専門技術や分析装置が必要であることは勿論、専門的な知識、経験等が必須であることから、産官学の各機関およびそれに所属する多数の研究者の皆様からのご協力が必要であることは言うまでもありません。関連諸機関の皆様、今後ともご指導ご鞭撻のほど何卒宜しくお願い申し上げます。

(実証試験場応用生態グループ 堀田公明)

本件はH12年度春期日本水産学会講演口頭発表済