

農学部門長 殿

代 表 者 薙平 裕次

助言・評価者 深田 陽久

令和 4 年度農学部門個人・グループ研究プロジェクト  
成 果 報 告 書

標記について、下記のとおり報告いたします。

記

1. プロジェクト名称 アユの体色を利用した環境ホルモン評価法開発に向けた基盤研究

2. 研究成果（2 ページ程度）

内分泌かく乱物質（以後、環境ホルモン）には性ホルモンと似た作用をもつ物質が多く存在し、それらの物質が河川中へ流入すると魚類の繁殖活動へ影響を及ぼす可能性がある。そのため、性ホルモン様物質の影響をモニタリングすることは重要であるが、雄性ホルモン（アンドロゲン）様物質を検出できる生物指標はほとんどない。魚類の体色は鱗に存在する色素胞によって調節され、アユは成熟すると雄の体色が黒く変化する。この体色黒化は精巣発達のために体内で合成・分泌されたアンドロゲンが鱗上に存在するアンドロゲン受容体（AR）と結合することによって起こると考えられる。しかしながら、アユにおける *ar* の発現時期や体色黒化過程における色素胞の変化に関する知見はほとんどない。将来、雄アユの黒化を環境ホルモンの指標として用いるためには、適切な調査条件を決定することが不可欠である。そこで本研究では、雄アユの成熟（成長）過程におけるアンドロゲン受容体の遺伝子発現量と色素胞の変化を明らかにすることを目的とした。

令和 4 年 8 月 29 日に物部川漁業協同組合から友釣り用のおとりアユ 60 尾を本学の淡水魚飼育実験室へ活魚輸送し、500 L 円形水槽に各 20 尾収容した。その後、アユは市販の配合飼料（あゆソフト EPC4 号、日本農産工業）を 1 日 1 回飽食給餌し、地下水によるかけ流しで飼育した。9 月 22 日、10 月 6 日、11 月 3 日に雄を後述の手順で 4～6 尾サンプリングした。0.05% 2-フェノキシエタノールで麻酔した後、標準体長と体重を計測した（表 1）。次に、体側部から鱗を採取し、一部は *ar* の発現量を測定するために RNA later で固定して -30°C 保存し、残りの鱗は色素胞の観察のためにダビッドソン液で固定して室温保存した。さらに、生殖腺を摘出した後、重量を測定し、生殖腺体指数（生殖腺重量/体重×100、GSI）を算出した。生殖腺の一部は組織学的観察のためにダビッドソン液で固定して室温保存した。飼育期間中の平均水温とその標準偏差は  $19.8 \pm 0.3^\circ\text{C}$  であった。

表1 本研究にてサンプリングした雄アユの個体データ

サンプリング日	n	標準体長 (cm)	体重 (g)	生殖腺重量 (g)
2022年9月22日	6	16.3 ± 1.1	49.20 ± 7.19	2.28 ± 0.73
2022年10月6日	4	16.3 ± 0.8	50.05 ± 3.94	4.02 ± 0.60
2022年11月3日	5	16.9 ± 1.0	55.02 ± 5.60	6.24 ± 0.53

各値は平均値 ± 標準偏差で示す

鱗における *ar* の発現量は逆転写リアルタイム定量 PCR 法によって StepOnePlus (Thermo Fisher Scientific) を用いて測定した。また、鱗における色素胞は実体顕微鏡 (Stemi 305 cam, ZEISS) にて観察した。色素胞の直径は ImageJ (U. S. National Institutes of Health) にて測定し、上位 10 個の平均値をその個体の色素胞径とした。生殖腺は常法によりパラフィン包埋した後、滑走式マイクロトーム (REM-700、大和光機工業) にて組織切片を作製し、光学顕微鏡 (BZ-9000、キーエンス) にて生殖腺の発達段階を確認した。

雄アユの GSI はサンプリング日に伴い、有意に増加した (図 1A)。また、鱗における *ar* 発現量も GSI と同様の変化を示した (図 1B)。一方、鱗における色素胞径は 9 月 22 日と 10 月 6 日で有意差はなく、11 月 3 日で有意に増大した (図 1C)。

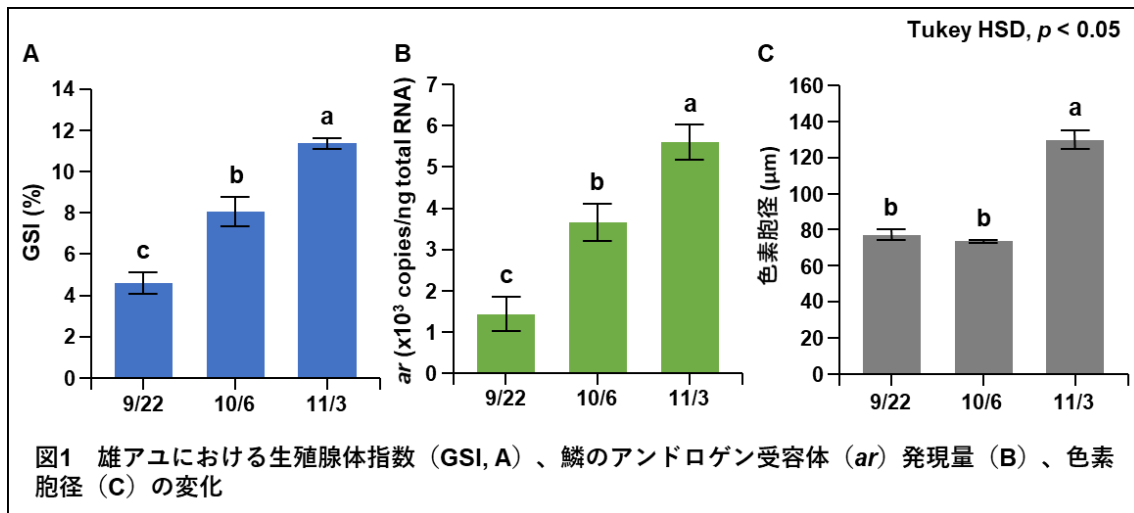


図1 雄アユにおける生殖腺体指数 (GSI, A)、鱗のアンドロゲン受容体 (*ar*) 発現量 (B)、色素胞径 (C) の変化

11 月 3 日に採取した鱗の色素胞では、9 月 22 日と 10 月 6 日に採取した鱗の色素胞径とほとんど変わらないものも存在したが、一部では色素胞径の増大が観察された (図 2)。加えて、9 月 22 日と 10 月 6 日の生殖腺では精細胞が多かったが、11 月 3 日では精子が多く観察された (図 3)。

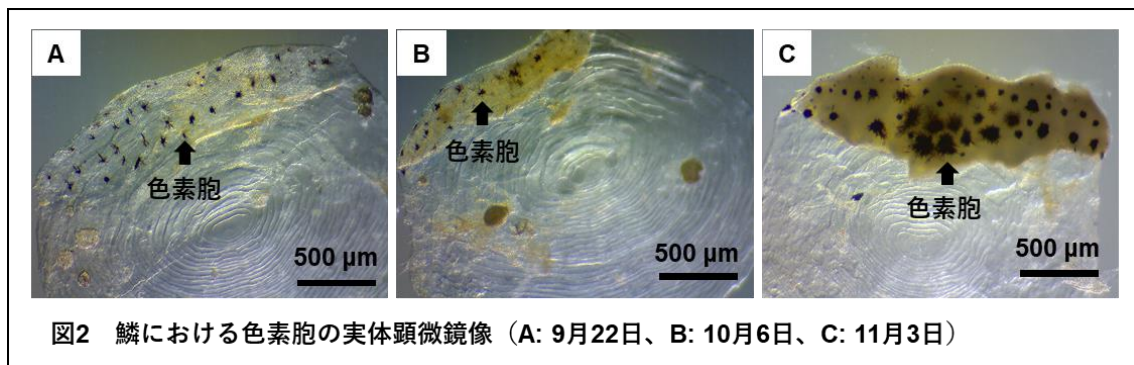


図2 鱗における色素胞の実体顕微鏡像 (A: 9月22日、B: 10月6日、C: 11月3日)

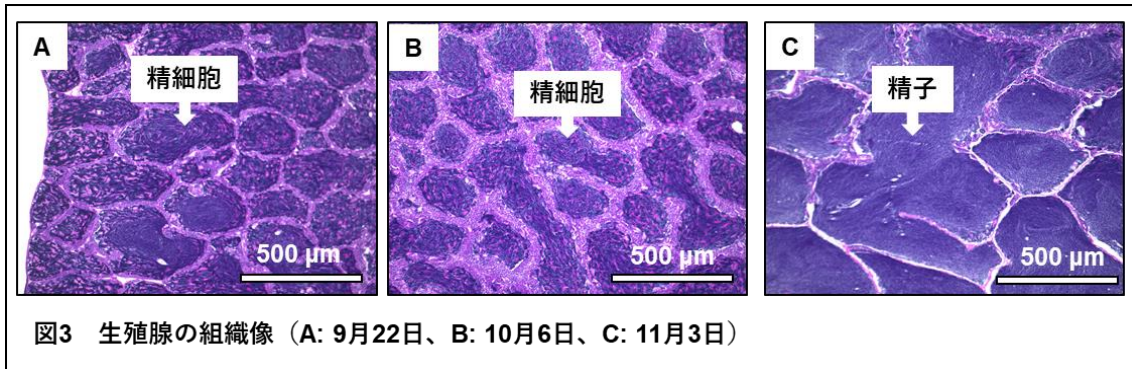


図3 生殖腺の組織像 (A: 9月22日、B: 10月6日、C: 11月3日)

本研究結果から、鱗における *ar* 発現量は GSI と同様の变化を示し、鱗における色素胞の一部は *ar* 発現量の最も高かった 11 月 3 日に直径が増大することが明らかとなった。また、鱗における色素胞径の増大は精細胞から精子への変態期に起きることが示唆され、雄アユの黒化は色素胞径の増大によるものと考えられた。

以上のことから、鱗における色素胞径の増大はアンドロゲン様物質によっても誘導される可能性があり、今後は鱗の色素胞を用いた環境ホルモン評価法の開発を目指す。

### 3. 研究助言・評価者のコメント (300字程度)

当初の研究目的を十分に達成している。本結果から、雄アユの黒化には成熟に伴って増加するアンドロゲン (男性様ホルモン) によって進行することがアンドロゲン受容体の発現量からも強く示唆されている。これにより、雄アユの黒化を指標としてアンドロゲン様物質をモニタリングできる可能性が見いだされた。今後は、どのような形で環境ホルモン評価法を確立するのかを明確にし、研究を進めてもらいたい。アンドロゲン様物質のモニタリングできる生物指標は少なく有用となる可能性が高いため、ニーズも多いと考えら得る。JST 系の予算申請なども視野に入れ、本研究を足がかりに研究費を獲得し、さらに本研究が発展することを期待する。

### 4. 研究成果の公開実績・予定

本研究は追加実験を行った上で、論文として投稿する予定である (投稿先は未定)。