

(7) 魚類の性フェロモンの基礎とその応用例

山家秀信(東京農業大学生物産業学部)

魚類ではフェロモンについて生物学および水産学の観点から研究され、特に繁殖期の行動および生理に関わる性フェロモンは大変興味深い。その性フェロモンは代謝されたホルモンが体外ではフェロモンとして機能する「ホルモン様フェロモン」とそれらとは異なる「非ホルモン様フェロモン」に大別される。前者は性ステロイドホルモンや脂肪酸の1種のプロスタグランジンであり、後者はアミノ酸のほか毒分子も含まれる。これら性フェロモンの機能は同種異性の誘引や雌雄の成熟同期である。繁殖可能な異性を効率よく見つけるためのフェロモン機構を利用した資源管理や成熟制御が今後期待されている。

■魚類のホルモン様フェロモン

魚類では現在までに約2万5千種が確認されている。その生態や生活史は多岐にわたり、研究者のみならず多くの人々を魅了してきた。漁業や養殖現場においては、その優れた化学受容を応用し、異性の匂いにより誘引されるトラップ漁法や成熟促進が行われてきた。これらの要因である性フェロモンについては古くからその現象が知られていたが、それを物質レベルで言及できるようになったのは1970年代以降のカニやハゼによる報告からである。1980年代後半になるとキンギョを中心に研究が進められてきた。これは、雌の体内で成熟に関わった性ホルモンが代謝され糞尿や鰓を介して体外へ排泄され雄に対する性フェロモンとして機能するというものであり、これら一連の研究からホルモン様フェロモンという用語が生まれた(Stacey 1991)。

■キンギョの性フェロモン

魚類の性フェロモンに関する研究はコイ科キンギョにより最も詳細に報告されている。先ず女性ステロイドホルモンのエストラジオールを投与された未成熟魚は合成雄性ステロイド投与魚に追尾されることから(Yamazaki 1976)、エストラジオールの血中濃度が高い成熟の初期段階で雄による雌の認知が既に成立していると考えられる。このフェロモン物質は未同定である。最終成熟期に入ると、水温上昇が刺激となり雌は黄体形成ホルモン(LH)の大量分泌を起こし、それが最終成熟誘起ステロイドホルモン(17,20 β -P)を産生させ排卵に至る。その際に鰓、腎臓、腸から排泄される17,20 β -P類が成熟雄にフェロモン効果をもたらし、雄では血中LHに続き17,20 β -Pと精液量を増加させる(Dulka ら 1987)。また排卵後には、卵濾胞の崩壊に関わったプロスタグランジン F_{2 α} (PGF_{2 α})が雌自身の性行動を誘起するだけでなく、その代謝物 15-keto-PGF_{2 α} と共に尿中に含まれ雄の性行動を解発するフェロモンのリリーサー効果をもたらす(Sorensen ら 1988)。これらのフェロモンに対する嗅上皮応答について、17,20 β -Pへの応答レベルに性差や成熟度差は無いが、PGF_{2 α} と15-keto-PGF_{2 α} への応答には雄

表 1. 魚類におけるフェロモン化合物, 産生器官および放出ルート, 機能.

種名	化合物	産生器官・放出ルート	主な機能
キンギョ <i>Carassius auratus</i>	女性ステロイドホルモンの代謝物あるいはそれにより生じる未知物質	未排卵雌の尿	成熟雄を誘引
キンギョ	17,20 β -P(魚類の最終成熟誘起ステロイド), 17,20 β -Pの硫酸抱合体	排卵直前雌	雄の性ステロイドホルモン量と精液量の増加
キンギョ	アンドロステンジオン	未排卵雌、成熟雄	成熟雄や未排卵雌への攻撃行動
キンギョ	PGF ₂ α , 15-keto-PGF ₂ α	排卵雌の尿	成熟雄を誘引し、性行動を誘起
ドジョウ <i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	13,14-dihydro-15-keto-PGF ₂ α	排卵雌	成熟雄の性行動を誘起
グッピー <i>Poecilia reticulata</i>	女性ステロイドホルモン	成熟雌	成熟雄を誘引
ゼブラフィッシュ <i>Brachydanio rerio</i>	男性ステロイドホルモンおよび女性ステロイドホルモンのグルクロン酸抱合体	成熟雌	成熟雄を誘引
アフリカナマズ <i>Clarias gariepinus</i>	7種の男性ステロイドホルモンのグルクロン酸抱合体混合物	成熟雄	排卵雌を誘引
ブラックゴビ <i>Gobius joso</i>	男性ステロイドホルモンの1種のグルクロン酸抱合体	成熟雄の精囊	排卵雌を誘引
ラウンドゴビ <i>Neogobius melanostomus</i>	男性ステロイドホルモンの1種	成熟雄の精囊	成熟雌雄の鰓蓋運動の増加
ラウンドゴビー	女性ステロイドホルモンのグルクロン酸抱合体	成熟雌	成熟雄の鰓蓋運動の増加
ウミヤツメ <i>Petromyzon marinus</i>	ウミヤツメ特有の胆汁酸の1種Petromyzonamine disulfate (PADS)	幼生	成熟雌雄を誘引
ウミヤツメ	ウミヤツメ特有の胆汁酸の1種Petromyzosterol disulfate (PSDS)	幼生	成熟雌雄を誘引
ウミヤツメ	ウミヤツメ特有の胆汁酸の1種Petromyzonol sulfate (PZS)	幼生	成熟雌雄を誘引
ウミヤツメ	ウミヤツメ特有の胆汁酸の1種3-keto petromyzonol sulfate (3kPZs)	排精雄の鰓	排卵雌を誘引
タイセイヨウサケ <i>Salmo salar</i>	PGF ₂ α , PGF ₁ α	排卵雌	雄の性ステロイドホルモン量の増加
ブラウントラウト <i>Salmo trutta</i>	PGF ₂ α , 13,14-dihydro-15-keto-PGF ₂ α	排卵雌	成熟雄の遊泳活性と17,20 β -P量の増加
ホッキョクイワナ <i>Salvelinus alpinus</i>	PGF ₂ α	成熟雄	成熟雌を誘引、雌の 造巢行動を誘起
サクラマス <i>Oncorhynchus masou</i>	キヌレニン(アミノ酸、トリプトファン代謝物)	排卵雌の尿	排精雄を誘引
タイリクバラタナゴ <i>Rhodeus ocellatus</i>	アミノ酸(システイン、セリン、アラニン、グリシン、リジン)、そのジペプチド	排卵雌の濾胞・卵巣腔液	排精雄による雌への ツツキまたは放精
クサフグ <i>Takifugu niphobles</i>	フグ毒のテトロドトキシン	排卵雌の卵・卵巣腔液	成熟雄を誘引

特異性があり、それらに対する閾値はいずれも 10^{-12} M(モル数/L) 前後である. キンギョを皮切りに幾つかの魚種でホルモン様フェロモンが報告されている(表 1).

■サケ科魚類の性フェロモン

サケ科魚類の性フェロモンについても、サケ属のニジマスでは雄を誘引するリリーサー効果が排卵雌尿にあること(Yambe & Yamazaki 2001a), 精子形成から最終成熟にかけて重要な性ホルモンの血中濃度や精液量を増加させるプライマー効果が排卵雌尿や胆汁にあることが判っているが、いずれも活性物質は未同定である. また、ニジマスではホルモン様フェロモン説に否定的な報告が多い. タイセイヨウサケ属のタイセイヨウサケでは、雄誘引のリリーサー効果は排卵雌尿にあり、プライマー効果は排卵雌尿や排卵雌の尿および体腔液に含まれる PGFs が有効であるが、PGFs の放出濃度から推定すると未知の主成分の関与が予想される. これと同属に入るブラウントラウトのリリーサーまたはプライマー効果にも PGFs が有効であるが、嗅覚応答閾値と放出濃度から判断すると未知の活性物質が期待される. イワナ属のホッキョクイワナでは、成熟雄由来とされる PGFs が成熟雌雄を誘引し雌による造巢行動までも引き起こすリリーサー効果が報告されているが、PGFs の濃度や由来などに疑問が残る.

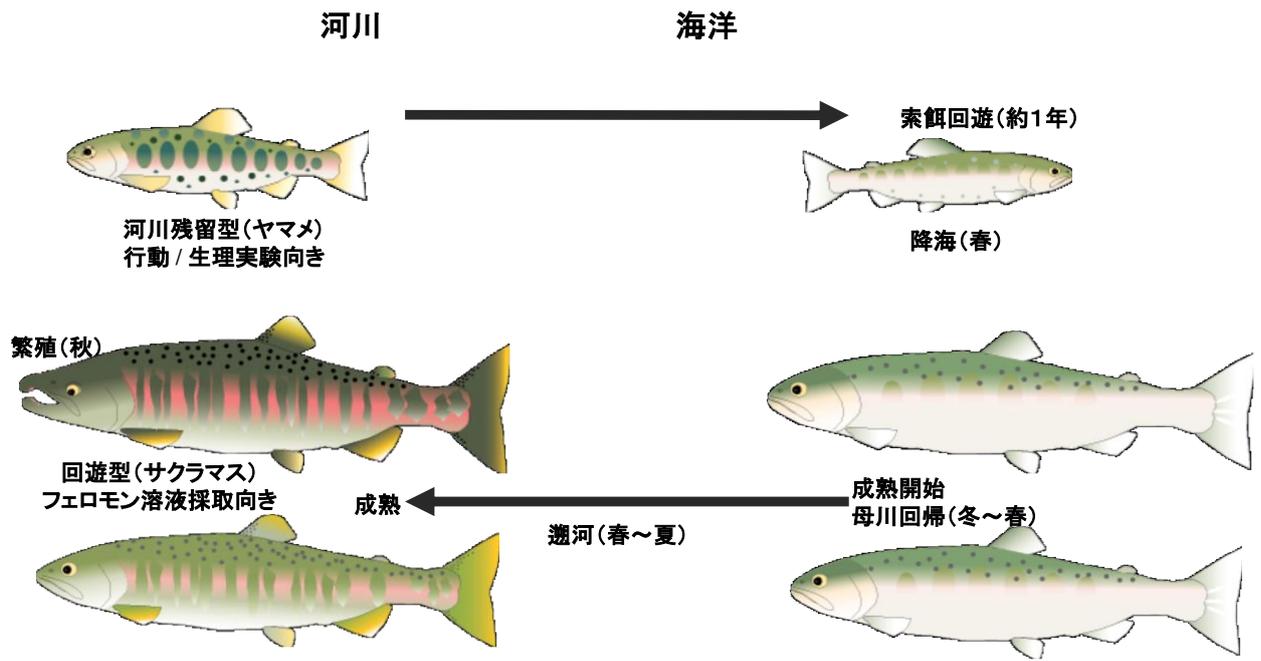


図1. サクラマスの生活史と実験特性

■ サクラマスの非ホルモン様フェロモン

サクラマスは遡河回遊型と河川残留型という2つの生活史を持ち(図1), 春に母川へ遡上し秋になると上流において雌1尾に対し回遊型と残留型の雄が複数集まり産卵を行う。その生活史を有効に活かし, 大きな回遊型からサンプル液を集め, 小さな河川残留雄を用いて各種実験を行った。Y字水路を用いて各サンプルに対する行動反応を観察した結果, 排精している残留型雄は排卵雌尿に誘引されるが(図2), 未成熟雌雄の尿, 排精雄尿, 排卵雌の体腔液は雄を誘引しなかった(Yambeら1999)。さらに, 成熟雄尿が未成熟雄を忌避させる匂いを含むことも示唆された(Yambeら2006a)。行動試験と様々な機器分析を経て, 排卵雌尿に含まれる雄誘引フェロモンはアミノ酸の1種, トリプトファンの代謝物「キヌレニン」であることが判明した(表1)。実験水路中におけるキヌレニンに対する行動閾値は $10^{-11} \sim 10^{-12} M$ と推定された。さらに, フェロモンの嗅覚応答閾値は排精雄で $10^{-14} M$ となった。以上の結果により, 性特異的かつ成熟期特異的な反応様式と分泌様式を示すキヌレニンが, サクラマスの排卵雌尿に含まれ排精雄を誘引するリリーサーフェロモンの主成分であると結論した(Yambeら2006b)。また, 雄の血中 $17,20\beta-P$ を上昇させるフェロモンのプライマー効果についてもキヌレニンかその代謝物による可能性が高い(Yambeら2007)。また, 系統分類学的に近縁であり繁殖生理生態が似ているサクラマスとニジマスにおいて性フェロモンの種特異性を行動反応の観点から調べたところ, それぞれ同種の排卵雌尿にのみ誘引されることがわかった(Yambe & Yamazaki 2001b)。

排精雄が嗅覚で感じるのに必要なキヌレニンの最低濃度(嗅覚応答閾値)は, 25 m プールに約

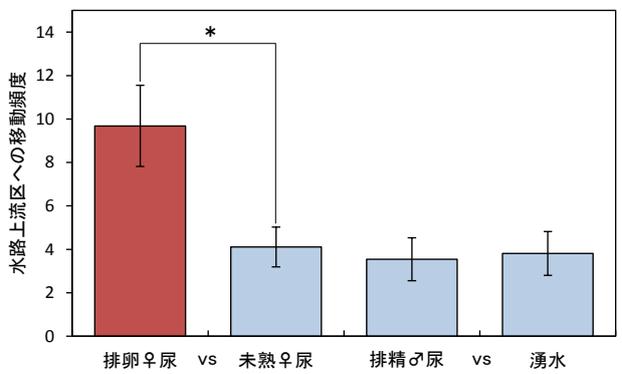


図2. サクラマスにおけるY字水路に滴下した各尿に対する河川残留型排精雄の反応。引用文献 Yambeら2006bを改変。

0.78 μg を溶かしたレベルである。実際の河川では想像を超えるフェロモンの希釈が予想されるが、匂い物質は拡散前に筋状になり流れに沿って移動することから、短時間で嗅覚応答しなくなるレベルにまで希釈されることは無いと推察される。また、サケ科魚類は一般に雄の遡上の方が雌よりも先に行われ、それが雄にとってフェロモン探知に不都合と思われるが、成熟期では雄は雌よりも広範囲にわたって河川を頻繁に移動しており (Sakata ら 2005)、その際にフェロモンの帯と遭遇していると予想される。

■魚類における性フェロモンの多様性

ホルモン様フェロモンの概念は、既知のホルモン物質をそのまま実験に使用でき、成熟期に作用する性フェロモン機構を説明する上で大変理解しやすい。しかし、魚類は脊椎動物のなかで最も種が多くその生息域に適応し多様に進化してきた動物群である。種の多様性に応じて、より種特異的で多種多様な性フェロモンが存在しても不思議ではない。実際にサクラマスを含めて、3 種で非ホルモン様フェロモン物質が報告されている。タイリクバラタナゴのフェロモンは卵巣腔液に含まれる。産卵床としての二枚貝の出水口に雌が卵と共に卵巣腔液を注入し、直ぐに吐き出された卵巣腔液を嗅いだ雄は放精し、その精液が入水口から吸い込まれ貝内で受精するという仕組みである。一般的なアミノ酸 12 種類でフェロモン活性が確認され、そのうち顕著なのはシステイン、セリン、アラニン、グリシン、リジンである。この活性は照度依存的に雄の行動反応を変化させ、暗いと雌を貝へ誘導するためのツツキ行動が、明るいと放精行動が誘起される (Kawabata ら 1992)。また、クサフグは産卵期になると渚で集団産卵を行うが、雌から放出されたテトロドトキシン (TTX) により雄が誘引されるらしい。排卵すると卵の内部から卵膜外の卵巣腔液へと TTX が移行する。卵巣腔液の体外への漏出に伴い TTX は雄誘引フェロモンとして作用し、その閾値は約 1.5×10^{-12} M である (Matsumura 1995)。

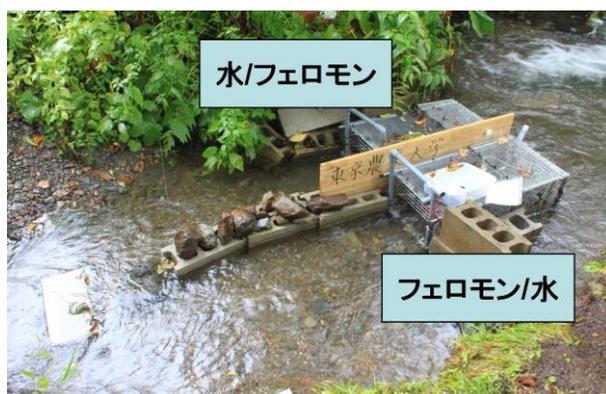


図 3. サクラマス用のフェロモントラップ

■サクラマスのフェロモントラップ試験

Y 字水路実験においてもサクラマスの排精雄はキヌレニンに誘引されることを確認した (山家ら 未発表)。そこで、自然環境下で産卵期にある雄にもキヌレニンが作用するか否か検証した。河床に仕切りを立て金属格子製の棚と組み合わせて Y 字型トラップを造り (図 3)、河川水で希釈した 10^{-4} M のキヌレニンとコントロール (DW) をトラップからそれぞれ滴下し捕獲尾数を比較した。産卵期のピークにオスが 6 尾捕獲され (図 4)、メスは捕獲されなかった。その内、オス 4 尾がキヌレニンを滴下したトラップに捕獲された。6 尾は、



図 4. サクラマスの雄

各種性ステロイドホルモンの血中濃度はいずれも高値を示し、全て排精していた。これらの結果から、キヌレニン は自然環境下のサクラマスにも作用しうると考えられた。しかし、一般にフェロモンは複数成分による混合液から成ると考えられていることから、各種トリプトファン代謝物を混合したフェロモンブレンドによる実験を行う必要がある。

■円口類のフェロモン機構

魚類の祖先に位置付けられる円口類ウミヤツメのフェロモン機構には、河川にいる幼生が放出し湖にいる成魚の雌雄を河川の産卵場付近へ誘引する遡上フェロモンと、雌雄を惹き合わす性フェロモンが存在する。これらは機器分析および嗅覚応答実験による活性物質の単離と行動実験による活性の確認を経て同定され、物質レベルで詳細にわかってきた。

はじめ性フェロモンは成熟雄から放出される雄性ステロイドホルモン「テストステロン」である可能性が示唆されたが、尿中濃度や雌での有効濃度から判断すると、それは副成分に過ぎないと考えられた。その後長い時を経て、2002年に排精雄の鰓から出る胆汁酸の硫酸抱合体「3kPZS」が排卵雌を誘引する性フェロモンの主成分であることが証明された(Liら 2002)。このフェロモンは雄の肝臓で産生され鰓から天然河川中に充分量で放出され、行動反応および嗅覚応答の閾値は 10^{-12} Mである。

当初期待されていた遡上フェロモン候補物質は、幼生が出す胆汁酸(PZS)であり、その嗅覚応答の見地から詳細に調べられた。嗅覚応答閾値は 10^{-12} Mであり、特有の受容体を持っていることが推察された。幼生は摂餌後に十分なPZSを河川中へ放出しその主なルートは糞便中であること、さらに室内実験と野外実験により遡上フェロモンの活性は遡上の初期で夕方から夜にかけて高いことがわかった。そして2005年、幼生の飼育水約8000 Lから新規性のある2種の胆汁酸硫酸抱合体(PADSとPSDS)が新たに同定され、これらの行動反応および嗅覚応答の閾値は 10^{-13} M程度であった(Sorensenら 2005)。これらの物質も摂餌後に多く放出し、劣化試験から半減期は3日と推定された。

■フェロモンを利用したウミヤツメの駆除

最近は大湖において侵略的な生物といわれるウミヤツメの駆除に役立てるための応用研究が盛んである。1つは薬剤により不妊化させた成熟雄の性フェロモン産生と排卵雌に対する誘引活性を確認した上で、それらの雄を河川に放流し雌と無駄に配偶させることで未受精卵を増やすことである(Siefkesら 2003)。これにより卵は浪費され資源量の減少が期待される。もう1つは、直接的に親魚を駆除するフェロモントラップである。遡上フェロモンと性フェロモンのフィールド試験では共に強くフェロモントラップに捕獲された(Wagnerら 2006)。特に性フェロモントラップでは、排卵雌に対する3kPZSは放出源の数メートル下流まで有効であり、雄から放出される天然のフェロモンと等しい活性を示した。高濃度の3kPZSを滴下すると、雄の飼育水を滴下したトラップから雌を逸らして3kPZSのトラップの方に誘導可能であった。計算によると、ヒューロン湖、ミシガン湖、スペリオル湖の流入河川に仕掛けたトラップを産卵期の3週間にわたって有効にするには僅か270 gの3kPZSで充分である(Johnsonら 2009)。このようなフェロモンを利用したトラップは自然環境に悪影響を与えない安全な駆除法として期待されている。

■今後の展開

これまでの研究から、魚類にはホルモン様フェロモンも含めて高度に多様化した種特異的な性フェロモンがあり、その多くは混合物(ブレンド)として存在していると考えられる。今後、幅広い視点でフェロモン物質の同定を試みることが重要であり、モデル生物のみならず、経済活動に繋がる多くの魚種でフェロモン物質を決定できれば幸いである。それらの成果を基に有用種および外来種における選択的な漁獲を行うことで、効率の良い漁業や駆除に活かしていきたい。

引用文献

Dulka, J. G., Stacey, N. E., Sorensen, P. W. & Van Den Kraak, G. J. 1987. A steroid sex pheromone synchronizes male-female spawning readiness in goldfish. *Nature* 325: 251-253.

Johnson, N. S., Yun, S-S., Thompson, T. T., Brant, C. O. & LI, W. 2009. Asynthesizrd pheromone induces upstream movement in female sea lamprey and summones them into trap. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 106: 1021-1026.

Kawabata, K., Tsubaki, K., Tazaki, T. & Ikeda, S. 1992. Sexual behavior induced by amino acids in the rose bitterling *Rhodeus ocellatus ocellatus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58: 839-844.

Li, W., Scott, A. P., Siefkes, M. J., Yan, H., Liu, Q., Yun, S-S. & Gage, D. A. 2002. Bile acid secreted by male sea lamprey that acts as a sex pheromone. *Science* 296: 138-141.

Matsumura, K. 1995. Tetrodotoxin as a pheromone. *Nature* 378: 563-564.

Sakata, K., Kondou, T., Takeshita, N., Nakazono, A. & Kimura, S. 2005. Movement of the fluvial form of masu salmon, *Onchorhynchus masou masou*, in a mountain stream in Kyushu, Japan. *Fish. Sci.* 71: 333-341.

Siefkes, M. J., Bergstedt, R. A., Twohey, M. B. & W. Li. 2003. Chemosterilization of male sea lampreys (*Petromyzon marinus*) does not affect sex pheromone release. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 60: 23-31.

Sorensen, P. W., Hara, T. J., Stacey, N. E. & Goetz, F. W. 1988. F-prostaglandins function as potent olfactory stimulants that comprise the postovulatory female sex pheromone in goldfish. *Biol. Reprod.* 39: 1039-1050.

Sorensen, P. W., Fine, J. M., Dvornikovs, V., Jeffrey, C. S., Shao, F., Wang, J., Vrieze, L. A., Anderson, K. R. & Hoyer, T. R. 2005. Mixture of new sulfated steroids functions as a migratory pheromone in the sea lamprey. *Nature Chem. Biol.* 1: 324-328.

Stacey, N. E. 1991. Hormonal pheromones in fish: status and prospects. In *Proceedings of the Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, FishSymp91, Sheffield*. 177-181.

Wagner, C. M., Jones, M. L., Twohey, M. B. & Sorensen, P. W. 2006. A field test verifies that pheromones can be useful for sea lamprey (*Petromyzon marinus*) control in the Great Lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 63: 475-479.

Yamazaki, F. 1976. Application of hormones in fish culture. *J. Fish. Res. Board Can.* 33 : 948-958.

- Yambe, H., Shindo, M. & Yamazaki, F. 1999. A releaser pheromone that attracts males in the urine of mature female masu salmon. *J. Fish Biol.* 55: 158-171.
- Yambe H. & Yamazaki, F. 2001a. A releaser pheromone that attracts methyltestosterone treated immature fish in the urine of ovulated female rainbow trout. *Fish. Sci.* 67 : 214-220.
- Yambe, H. & Yamazaki, F. 2001b. Species-specific releaser effect of urine from ovulated female masu salmon and rainbow trout. *J. Fish Biol.* 59: 1455-1464.
- Yambe, H., Yamada, M. & Yamazaki, F. 2006a. Responses of immature male masu salmon parr to the urine of mature males. *Ichthyol. Res.* 53: 182-184.
- Yambe, H., Kitamura, S., Kamio, M., Yamada, M., Matsunaga, S., Fusetani, N. & Yamazaki, F. 2006b. L-Kynurenine, an amino acid identified as a sex pheromone in the urine of ovulated female masu salmon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103: 15370-15374.
- Yambe, H., Munakata, A., Kitamura, S., Aida, K. & Fusetani, N. 2007. Methyltestosterone induces male sensitivity to both primer and releaser pheromones in the urine of ovulated female masu salmon. *Fish Physiol. Biochem.* 28: 279-280.

