

# TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

次世代ドラックデリバリーシステムを用いた生殖腺  
刺激ホルモン放出ホルモンアナログの経口投与によ  
るサバ科魚類の産卵誘発法の開発

|       |   |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: jpn<br>出版者:<br>公開日: 2018-06-14<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 雨澤, 孝太郎<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/1546">https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/1546</a>   |

博士学位論文内容要旨  
Abstract

|               |   |            |        |
|---------------|---|------------|--------|
| 専攻<br>Major   | 応用生命科学  | 氏名<br>Name | 雨澤 孝太郎 |
| 論文題目<br>Title | 次世代ドラックデリバリーシステムを用いた生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンアナログの経口投与によるサバ科魚類の産卵誘発法の開発 |            |        |

海産魚の養殖において、飼育のストレス等が原因で親魚が産卵不全を示す場合、生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンアナログ(GnRH<sub>a</sub>)の投与による人為的な産卵誘発が有効である。GnRH<sub>a</sub>の投与は、徐放性ペレットを体内に埋め込むインプラント法(Imp)が一般的だが、ハンドリングストレスに弱い魚種においては、これに代わる非侵襲的な投与法が求められる。近年、完全養殖が達成されたクロマグロにおいても、産卵誘発技術が求められているが、本種親魚のハンドリングは容易ではない。そこで、本研究ではマグロにおける非侵襲的な産卵誘発法の確立を目指し、サバ科魚類に有効なGnRH<sub>a</sub>経口投与法の開発を試みた。しかし、経口投与したGnRH<sub>a</sub>の効果はImpに比べて極めて低い。これを解決するため、三つのステップに分けて、以下の研究を実施した。

一つ目は、コストを削減したGnRH<sub>a</sub>を大量に経口投与する試みである。従来用いられて来たGnRH<sub>a</sub>は、8,100円/mgと非常に高価格であるため、大量に経口投与するのは非現実的であった。そこで本研究では、近年普及したペプチド合成サービスを利用し、粗精製ながら90円/mgと安価なGnRH<sub>a</sub>を入手した。この粗精製GnRH<sub>a</sub>をゴマサバおよびスマに経口投与したところ、Impの60倍の投与量(6.0mg/kgBW/day)を用いれば、産卵誘発が可能であることが分かった。また、経口投与により誘発された産卵量はImpと同等であり、孵化率等の卵質は有意に高くなった。さらに、スマにおいては長期間連続で経口投与を行うことで、5週間にわたり継続して産卵が認められた。すなわち、粗精製GnRH<sub>a</sub>を用いれば、コストを抑えつつ、小型サバ科魚類の産卵誘発が可能であることが確かめられた。しかし、巨大なマグロ親魚においては、安価なGnRH<sub>a</sub>を用いたとしても、大量投与する方法では莫大なコストが必要となってしまう。

そこで、二つ目の試みとして、投与量の低減を目的としたGnRH<sub>a</sub>の腸管吸収性を改善する技術の開発を行った。GnRH<sub>a</sub>は魚類の主要な消化酵素であるキモトリプシンに耐性をもつ人工ホルモンであり、経口投与における問題点は、消化酵素で分解されることよりも、その吸収性の低さにあると考えられる。これを解決する手段として、本研究では細胞膜透過性ペプチドであるペネトラチンに着目した。GnRH<sub>a</sub>のような親水性のペプチドは、疎水性を示す細胞膜との親和性が低いため、吸収上皮細胞をほとんど透過できない。ペネトラチンは両親媒性であるため、親水性分子と細胞膜の親和性を向上することで腸管吸収性を改善することが知られている。そこで、GnRH<sub>a</sub>と共にペネトラチンを経口投与することで、より少量のGnRH<sub>a</sub>投与によるマサバの産卵誘発を試みた。その結果、GnRH<sub>a</sub>の腸管吸収性が有意に向上した。また、産卵誘発を行ったところ、卵数が増加する傾向が認められた。ただし、その産卵数は少なく、孵化した卵も僅かであったことから、ペネトラチンの細胞膜透過性を強化する試みを行った。ペネトラチンは、その疎水性部分の疎水性相互作用によって細胞膜透過性を呈する。本研究では、疎水性部分の疎水性を強化することで、細胞膜透過性の向上を試み、この改変型ペネトラチンの細胞膜透過性を、小腸上皮細胞株を用いて測定した。その結果、天然型のペネトラチンと比較して有意に高い値を示した。また、マサバへGnRH<sub>a</sub>と共に経口投与した結果、天然型ペネトラチン投与区における投与30分後のGnRH<sub>a</sub>血中量は45ng/mlであったが、改変型ペネトラチンでは101ng/mlであり、有意に向上した。さらに、改変型ペネトラチンを産卵誘発に用いたところ、経口投与に必要なGnRH<sub>a</sub>の投与量を1/5に低減することが可能となり、卵量・卵質ともに6.0mg/kgBW/dayのGnRH<sub>a</sub>

を投与した際と同等であった。

ここまでに、経口投与技術を実験により検証してきたが、これらは理論上、併用可能である。本研究の展望として、実際にクロマグロに対しての本法による産卵誘発実験を実施し、実用的な技術へと発展させることを試みる。