

# オオタニシの精巣発達に伴う右触角の雄性化

舟木賢治\*・宮下健太\*\*

Kenji FUNAKI\* and Kenta MIYASHITA\*\*

Masculinization of the right antenna with the testicular development in the snail *Cipangopaludina japonica*

## ABSTRACT

Pond snail is widely distributed in rice field and pond in Japan except for Hokkaido. It is possible in the mature individuals of the pond snail to easily distinguish male and female only by observing the form of the right antenna. Because the right antenna of male bends like a hook and functions as a penis, while that of female is straight. In the childish male shell, however, the bending of the right antenna is not observed. Therefore, the bending of the right antenna in the mature male seems to be the secondary sexual character which is generated with the the testicular development.

In present study, morphological and histological changes in right antenna and testis in the male adult shell of *Cipangopaludina japonica* were examined in order to clarify whether the bending of the right antenna in male pond snail is secondary sexual character. As the result, the right antenna in male bends like a hook after the active spermatogenesis would be observed in the seminiferous tubule which was rapidly developed by the proliferation of reproductive cells. In addition, the histological changes with testicular development were observed in seminal duct which longitudinally passes through the inside of antenna and in the surface of antenna.

These results indicate that morphological and histological changes in the right antenna of the male adult shell of pond snail is the secondary sexual character which is generated with the development of seminiferous tubule.

【Key words : *Cipangopaludina japonica*, right antenna, testicular development】

## I. はじめに

タニシ類では、雄の右触角が鉤状に曲がって雄性交接器として機能しているため、右触角の形態を観察するだけで雌雄を判別することができる。このような右触角の鉤状化は、産出後2～3ヶ月の幼貝ではみられない。また、右触角の鉤状化直後の雄個体では、精巣が発達して精子形成も観察できる。このことから、右触角の鉤状化は、性成熟（精子形成の開始）に伴って起こる二次性徴である可能性が高い。

一般に、脊椎動物の雄では、成長に伴って発達した精巣から雄性ホルモンが分泌されるようになり、その雄性ホルモンが標的器官の受容体に結合することによって二次性徴が起こる。一方、無脊椎動物では当初、生殖腺が脊椎動物のようなホルモン分泌機能を持つとは考えられていなかった。しかし、後にナメクジ類やマイマイ類などで生殖腺の除去や移植が行われるようになって、無脊椎動物の生殖腺も内分泌機能をもつことが示唆され、実際に、種々の軟体動物の生殖腺からテストステロンやエストラジオールなどの性ステロイドホルモンが分泌されることが明らかとなった<sup>(1)(2)(3)(4)</sup>。

無脊椎動物においても、脊椎動物のような性ステロイ

ドホルモンによる二次性徴の現象が明らかになれば、無脊椎動物における環境ホルモンの影響などを調べる指標になり得ると考えられる。

本研究では、オオタニシの右触角の鉤状化と精巣発達との関係を詳細に検討することによって、雄タニシにおける右触角の鉤状化が二次性徴であるか否かを明らかにする。

## II. 材料と方法

実験には、松江市福原町の水田および用水路から採取した雄オオタニシを用いた。发育段階を殻高14～16.4 mm, 16.5～18.9 mm, 19～21.4 mm, 21.5～23.9 mm, 24～26.4 mm, 26.5～28.9 mm, 29～31.4 mm, 31.5～33.9 mmの8グループに分け、各グループについて3個体以上を供試した。

雄個体の殻高と重量を測定した後、脱殻し、軟体部だけの重量を測定する。次に、精巣を剖出し、その重量と大きさを測定する。なお、大きさを調べるために精巣を写真撮影し、写真上で精巣の外周を測定する。

### 【精巣組織の組織学的観察】

摘出した精巣をホルマリン固定し、パラフィン切片法により厚さ5 μmの組織標本を作成する。標本をヘマトキシリン—エオシン染色した後、光学顕微鏡観察する。

\* 鳥根大学教育学部自然環境教育講座

\*\* 鳥根大学大学院教育学研究科教科教育専攻

## [触角の組織学的観察]

右触角の組織学的構造については、パラフィン切片標本の光学顕微鏡観察により内部構造を調べ、走査型電子顕微鏡によって表面微細構造を観察した。走査型電子顕微鏡標本の作製では、剖出した右触角を10%ホルマリンで、室温にて24時間、前固定する。その後、試料を0.1Mリン酸バッファ緩衝液 (pH7.4) で洗浄し、0.1Mカコジル酸緩衝液 (pH7.4) で希釈した1%四酸化オスミウム溶液中加入し、4℃で2時間、後固定を行なう。固定した試料を0.1Mリン酸バッファ緩衝液 (pH7.4) で洗浄し、1%タンニン酸溶液中に24時間浸漬した後、0.1Mリン酸バッファ緩衝液 (pH7.4) で洗浄し、再度1%四酸化オスミウムに3時間浸漬する。次に、試料を0.1Mリン酸バッファ緩衝液 (pH7.4) で洗浄し、エタノール脱水してt-ブチルアルコールに浸漬した後、凍結乾燥して標本作製する。標本をオスミウムコーター (真空デバイス社製HPC-1S) で蒸着し、走査型電子顕微鏡で観察する。

## III. 結果

表1に示す8つのグループの合計50個体について、右触角の形状、精巢の重量と大きさおよび精細管の発達状態を観察した。

## [殻高と右触角の鈎状化]

右触角の鈎状化は殻高21.5~26.4mmの間で起こり、殻高26.5mm以上の雄個体は鈎状化が起っていた(表1)。

## [殻高と精巢発達]

精巢は個体の成長に伴って発達するが、殻高23mm付近まではあまり変化は見られず、殻高が23~25mmに達した段階から精巢の重量、大きさともに著しく増加し続けた(図1, 図2, 図3)。なお、図4に示すように精巢の重量と大きさは互いに相関して増加していた ( $R=0.94$ )。

一方、精細管は精巢の重量や大きさが著しく増加し続けるのとは異なり、殻高や精巢重量が急激に増加し始めた段階(殻高25mm前後、精巢重量が約0.15g)から径の増加率が低下した(図5, 6)。これらのことから、精細管は個体の成長に伴って径が太くなった後に、伸長することによって、精巢の重量や大きさが著しく増加し続けることが示された。

## [精子形成]

オオタニシの精子形成過程における生殖細胞の発達段階を精原細胞、精母細胞、精細胞、および精子の4段階に分け、殻高によって8つに分けた各グループにおける精巢内でのそれぞれの出現頻度を表2に示した。殻高16mmでは、精細管内はほとんどが精原細胞で占められ、内腔側に精母細胞が散在していた。また、一本の精細管の径も小さく、精細管構造が明瞭でないものもみられた(図7-a)。殻高約18mmでは、精原細胞がやや増加し、精母細胞だけではなく精細胞や精子もみられたことから、精子形成が始まっていることが確認された(図7-b)。その後、次第に精子形成が活発化し始め、特に、殻高23~25mmの発達段階で生殖細胞の数が著しく増加し、活発な精子形成が行われていた(図7-c, d)。殻高26mm以降、活発な精子形成が持続され、精細管構造に大きな変化はみられなかった(図7-e, f)。

表1. 殻高と右触角の鈎状化

殻高 (mm)	14~16.4	16.5~18.9	19~21.4	21.5~23.9	24~26.4	26.5~28.9	29~31.4	31.5~33.9
鈎状化個体/総個体数 (鈎状化個体の割合)	0/5 (0%)	0/7 (0%)	0/13 (0%)	1/8 (12.5%)	3/6 (50%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)	5/5 (100%)

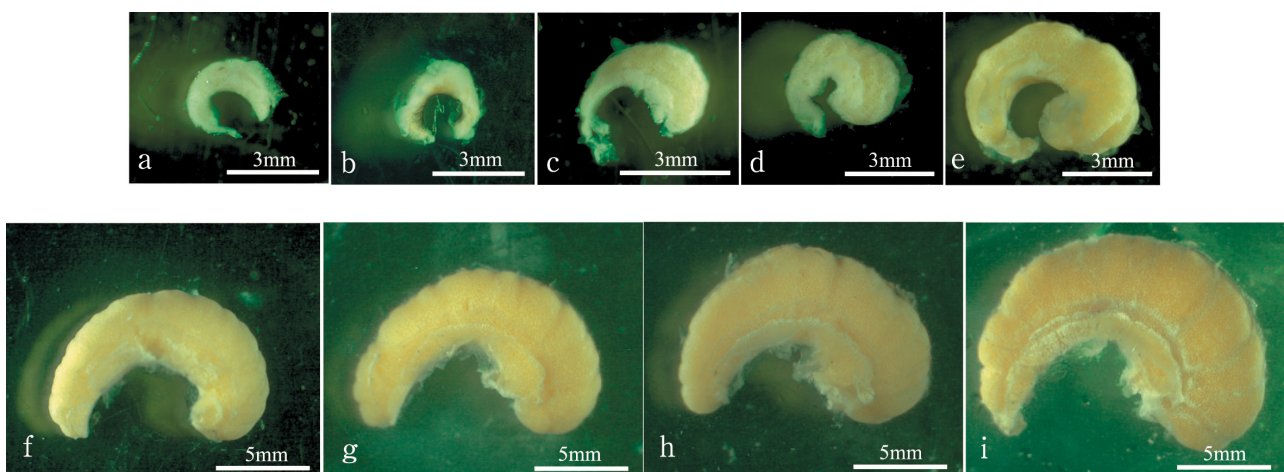


図1. 殻高と精巢の大きさ

- a. 殻高 14.5 mm,    b. 殻高 19.1 mm,    c. 殻高 22.1 mm,    d. 殻高 23.5 mm,    e. 殻高 24.2 mm  
f. 殻高 26.1 mm,    g. 殻高 28.0 mm,    h. 殻高 29.8 mm,    i. 殻高 32.8 mm

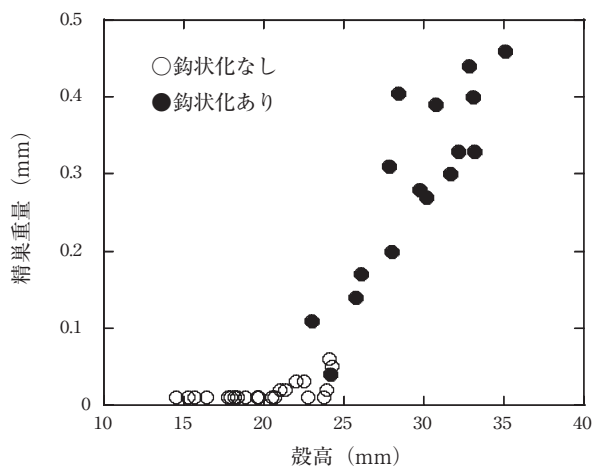


図2. 殻高と精巣重量の関係

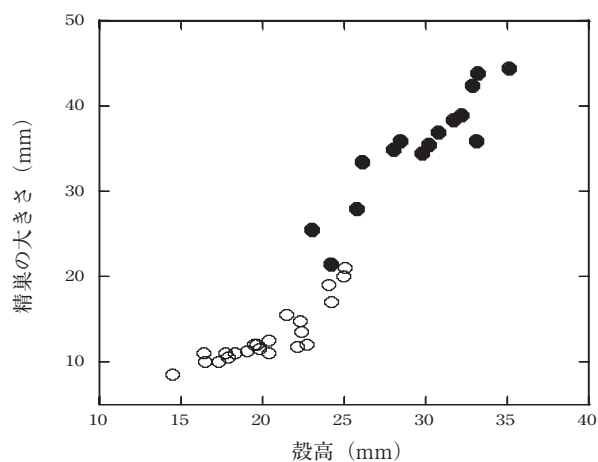


図3. 殻高と精巣の大きさの関係

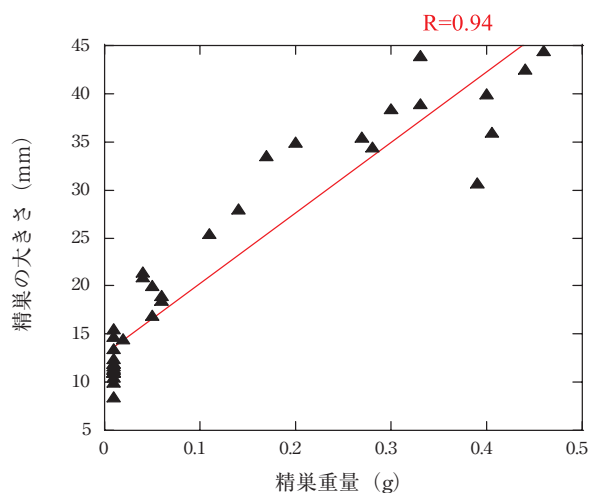


図4. 精巣重量と精巣の大きさの関係

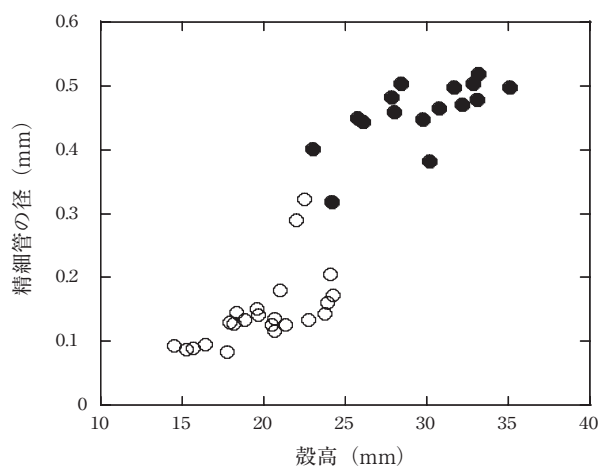


図5. 殻高と精細管径の関係

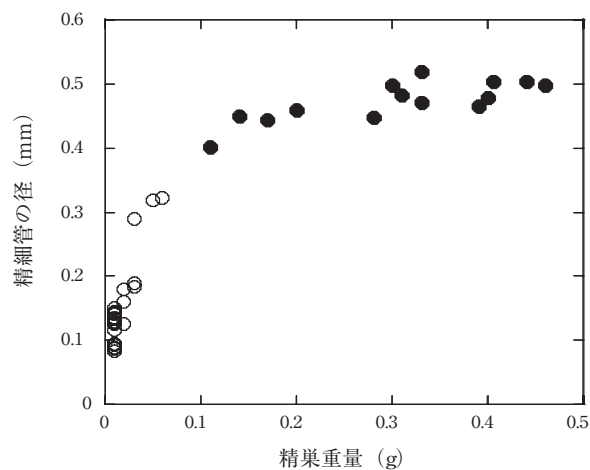


図6. 精巣重量と精細管径の関係

表2. 殻高の雄個体における精巣内の生殖細胞の頻度

精原細胞	++	++	++	+++	+++	++++	++++
精母細胞	+	+	++	++	+++	++++	++++
精細胞	-	+	+	++	+++	++++	++++
精子	-	+	+	++	+++	++++	++++
殻高(mm)	16	18	20	22	24	26	28

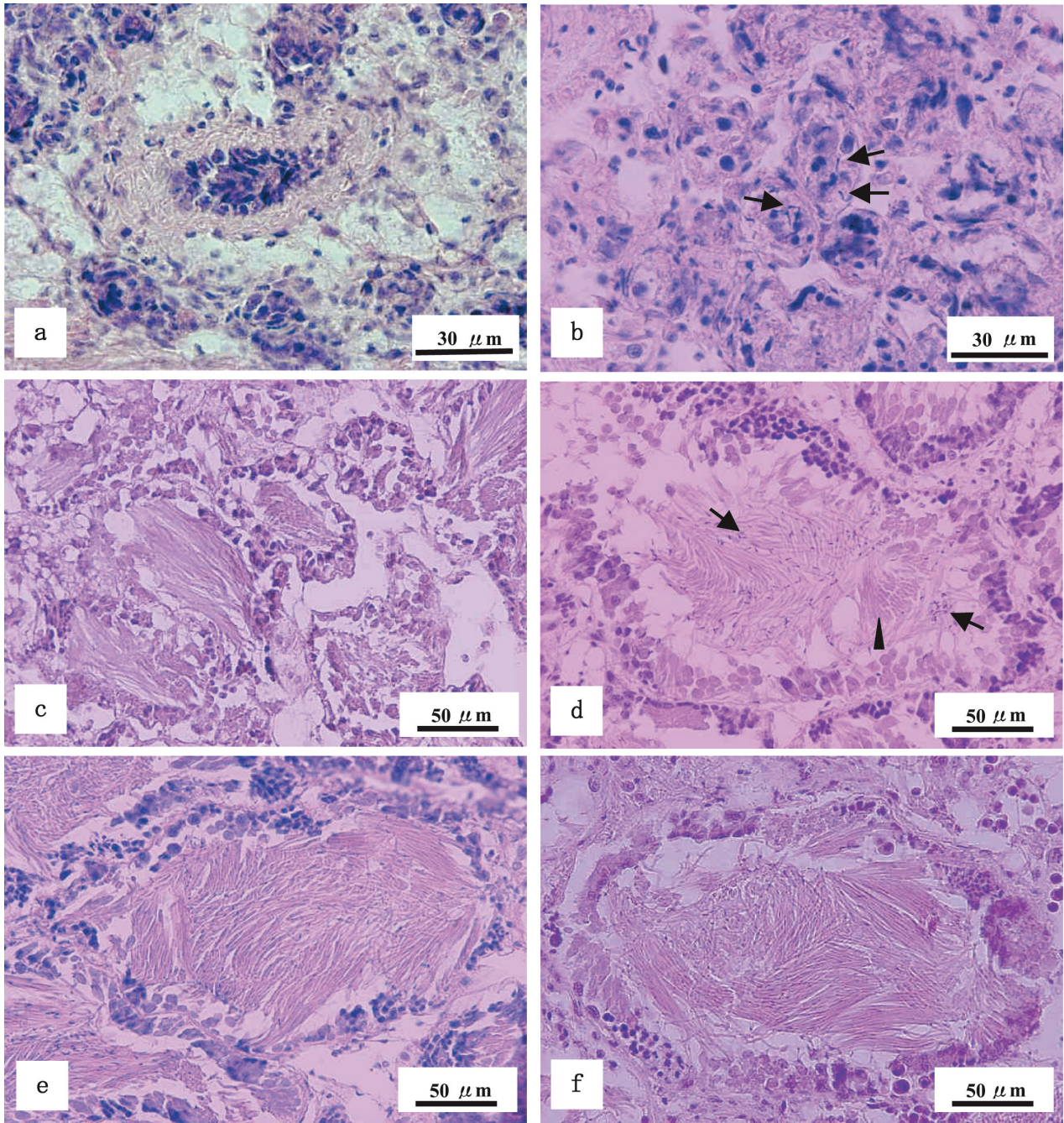


図7. 各殻高の雄個体における精細管構造

- a. 殻高15.6mm：精細管の管状構造はみられない。
- b. 殻高18.3mm：精細管の管状構造は明瞭ではないが、少数の正型精子(矢印) がみられる。
- c. 殻高24.2mm：精細管の管状構造が明瞭になり、活発な精子形成がみられる。
- d. 殻高25.6mm：精細管が著しく発達し、その内腔では多数の正型精子(矢印) と異型精子(矢頭) がみられる。
- e. 殻高26.1mm, f. 殻高29.7mm：d とほぼ同じ精細管の発達がみられる。

#### [触角の組織学的構造]

触角は最外層が重層扁平上皮細胞で覆われ、内側は大半が繊維性結合組織で占められていた。触角の中心部近くには、触角内を縦走する円柱状の筋繊維の束がみられ、さらに、雄の右触角では、その筋繊維束に隣接して輸精管が観察された。輸精管は幼貝でもみられたが、成貝に比べ未発達で、不明瞭な構造を呈していた(図8-a, b)。

走査型電子顕微鏡観察により、鈎状化している右触角の先端部では、精子が放出されると思われる多数の小孔が確認された(図9-a)。また、孔の開閉部周縁は柔毛で覆われていた(図9-c)。一方、鈎状化していない触角では、小孔は全く見られず、滑らかな表面構造を呈していた(図9-b)。

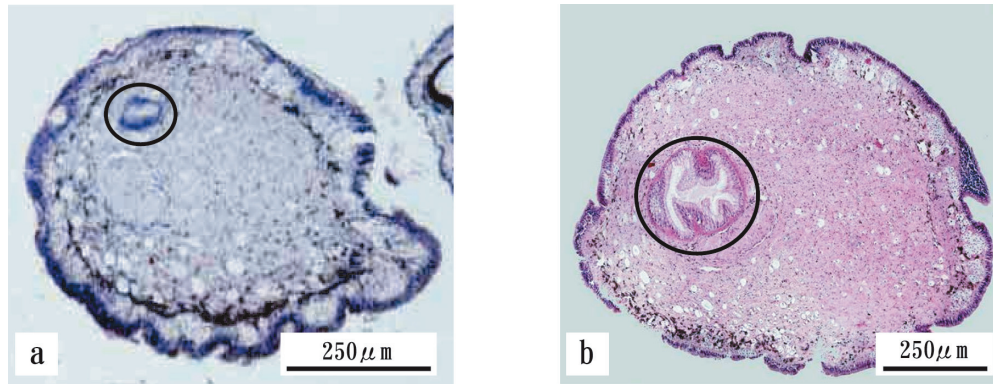


図8. 右触角の輸精管 (a. 幼貝, b. 成貝)  
○内は輸精管

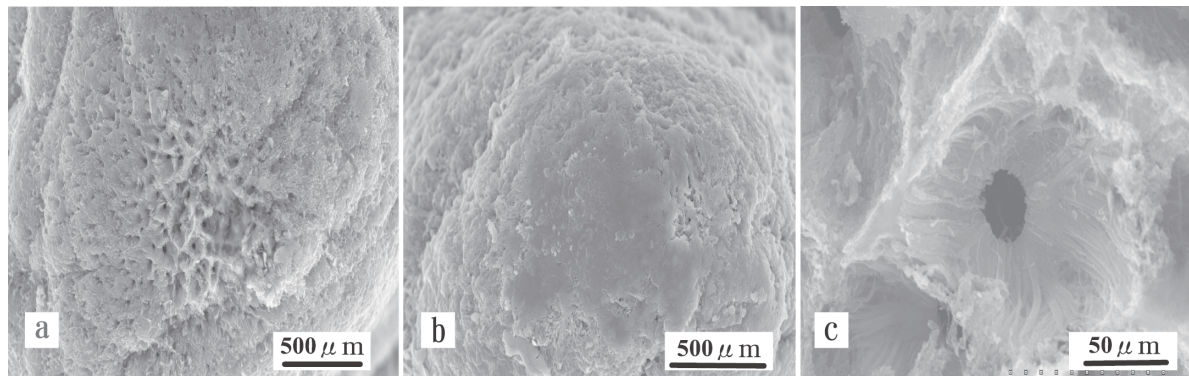


図9. 右触角の表面構造  
a. 鈎状化している個体, b. 鈎状化していない個体, c. 小孔の拡大

#### IV. 考察

今回、慣行田に生息するオオタニシの精巣発達について詳細な組織学的観察を行なった結果、右触角の鈎状化は、精巣内で生殖細胞が次第に増加して精細管構造が明瞭になり、さらに、精細管が急激に発達して活発な精子形成がみられるようになってから起こることが明らかとなった。このことから、タニシの右触角の鈎状化は、精細管の発達に伴って起こる二次性徴であるということが強く示唆された。

さらに、右触角の組織学的観察により、精巣が発達した成貝の右触角では、鈎状化といった肉眼的変化だけではなく、触角内を縦走する輸精管や触角表面における明瞭な組織学的変化も確認された。雄個体の右触角内部の輸精管構造は、幼貝でも未発達ではあるが認められる。したがって、雄性交接器としての右触角の構造は遺伝的に決定されているが、鈎状化や先端部の小孔形成は性成熟に伴って起る二次性徴であるといえる。

右触角の鈎状化の機構について、一般的には性腺刺激ホルモンによる精巣の発達、発達した精巣からの性ステロイドホルモン分泌、右触角の受容細胞への性ステロイドホルモンの結合といった経過が考えられる。しかし、これはあくまでも脊椎動物における二次性徴の発現機構であり、タニシのような無脊椎動物の内分泌機構や生理機

能は、脊椎動物とは全く異なるのではないかという意見もある<sup>(5)</sup>。

いずれにせよ、右触角の鈎状化が精巣の発達に伴う二次性徴であることはほぼ間違いないと考えられることから、鈎状化は内分泌攪乱化学物質によって阻害される可能性がある。残留性塩素系化合物はもとより、農薬を含む各種化合物に至る様々な合成化学物質の中には、生体内に取り込まれて内分泌系を攪乱して、生殖能を低下させるものがある<sup>(6)</sup>。すなわち、これらの物質は、ホルモン受容体に巧みに取り入り、生殖に関わるホルモン類似作用やホルモン遮断作用を示すため、結果的に生殖異常を引き起こす。

無脊椎動物では、海産貝類のイボニシにおいて、化学物質、とりわけ有機スズ化合物によって生殖器の発達異常を生じることがよく知られている<sup>(7)</sup>。有機スズのトリブチルスズは、フジツボやイガイ、藻類などの船底付着を防除するための船底塗料剤に用いられてきたため、広範囲にわたって海産貝類に影響を及ぼしている。軟体動物の中には、同個体で雄と雌が周期的に変化する雌雄同体の個体も多く存在するが、タニシのような前鰓類は雌雄異体が常態である。通常、雌雄異体の種では性転換は起こらないが、タニシの仲間である新腹足類や中腹足類のある種の雌では、有機スズのトリブチルスズの影響によって雄の性徴であるペニスや輸精管が発達し、不妊に

なることが報告されている<sup>(8)(9)</sup>。このような現象をインボセックスとよび、インボセックスの程度は、有機スズ化合物の曝露量に依存しており、曝露量が増すにつれてペニスも大きくなる。このような個体では、最終的に卵形成が抑制されて精子形成が誘導される。このような生殖器の発達異常は他の内分泌攪乱化学物質によっても引き起こされるが、その作用機序については、有機スズ化合物と他の物質とでは大きく異なっている。多くの内分泌攪乱化学物質は、ホルモン類似物質としてその受容体と結合し、ホルモン作用を現す。一方、有機スズ化合物は、ある種の酵素作用を妨害することによって異常を誘発する。すなわち、海産巻貝の正常な雌の体内では、アロマトラーゼとよばれるステロイド転換酵素の作用でテストステロンから雌性ホルモンのエストラジオールが産生されるが、スズ化合物は、この酵素作用を阻害する。その結果、多量のテストステロンが雌の体内に蓄積し、このテストステロンにより雌体内に雄性生殖器が生じたと考えられ、実際に、テストステロンがインボセックスを誘導することや、逆にステロイド阻害剤処理がインボセックスの進行を抑制することが実験的に確認されている<sup>(10)</sup>。

これらのことから、日本中に広く分布する淡水産巻貝のタニシでも、内分泌攪乱化学物質によって精巣の発達が阻害され、右触角の鈎状化が抑制される可能性が高い。したがって、タニシの生殖腺発達と右触角の鈎状化は影響評価のエンドポイントとなり得るものと考えられる。今後は、タニシを用いた環境評価システムを確立するために、除草剤として広く用いられ、内分泌攪乱作用を持つことが知られているアトラジンの曝露実験を行い、その影響について検討する。

#### 引用文献および参考文献

- 1) Takeda, N.: Induction of egg-laying by steroid hormones in slugs, *Comp. Biochem. Physiol.*, 62A, 273-278 (1979)
- 2) Takeda, N.: Endocrine regulation of reproduction in the snail *Euhadra peliomphala*, In *Molluscan Neuro-Endocrinology*, North-Holland Publishing Company, 106-111 (1983)
- 3) 武田直邦, 杉山完司: 貝類学雑誌, 43, 2-85 (1984)
- 4) 武田直邦, 高柳博, 岡和之, 大竹伸一, 杉山完司, 長谷川和範: 蝸牛類の防除に関する基礎的研究, 日産科学振興財団研究報告書, 161-203 (1985)
- 5) Depledge, M. H.: 水生無脊椎動物における内分泌攪乱, 第4回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム報告書 (2001)
- 6) Corbon, T., Dumanoski, D. and Myers, J. P.: *Our Stolen Future*, The Spieler Agency (1996)
- 7) Horiguchi, T., Shiraiishi, H., Shimizu, M. and Morita, M.: Imposex and organotin compounds in *Thais clavigera* and *T.bronni* in Japan, *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 74, 651-669 (1994)
- 8) 堀口敏宏ほか: 有機スズ汚染と腹足類のインボセックスの経年変化と現状, *沿岸海洋研究*, 37, 7-13 (2000)
- 9) Depledge, M. H. and Billinghamurst, Z.: Ecological significance of endocrine disruption in Marine Invertebrates, *Marine Pollution Bulletin*, 39, 32-38 (1999)
- 10) Bettin, C., Oehlmann, J. and Stroben, E.: TBT-induced imposex in marine neogastropods is mediated by an increasing androgen level, *Helgol. Meeresunters.*, 50, 299-317 (1996)