

魚類卵巢發育、卵黃生成及其內分泌控制

黃 火 煉* · 余 玉 林**

* 國立臺灣大學動物系 · 中央研究院生物化學研究所

** 中央研究院動物研究所內分泌實驗室

摘 要

本文介紹魚類卵黃前質與卵黃之組成、肝細胞生成卵黃前質之過程與魚體代謝變化，以及其內分泌控制機制。部份資料為筆者之有關研究結果。多數魚卵由均勻之卵黃組成，不似鳥類及爬行類，可明顯區分為卵黃與卵白。魚類卵黃與其他高等卵生脊椎動物一樣，由酯卵質 (lipovitellin) 及磷卵質 (phosvitin) 組成。酯卵質為醣酯蛋白，分子量為 240,000~300,000；而磷卵質為磷化蛋白質，分子量為 19,000~43,000，視種別而異，含高量之磷。

由腦下垂體分泌「卵成熟促性腺激素」，促進卵巢產生雌性素。肝臟細胞接受雌性素後開始生成卵黃前質。其是糖脂蛋白複合物，含磷與鈣。分子量從 280,000 至 600,000，視種別而異。分泌至血液運送至卵巢，由另一型促性腺激素，「卵黃生成促性腺激素」促進卵黃前質攝入至卵巢，經稍微修改分子結構後，形成黃卵。雌性素作用於肝細胞，促使肝細胞數目增加與細胞增大，核酸與蛋白質生成，移動鈣、磷進入肝細胞，生成卵黃前質。因此，在生殖旺盛期或卵黃前質生成期，雌魚之肝一體重比變大。雌性素促進肝細胞生成之能力，無性別差異。注射雌性素至雄魚，亦可引起卵黃前質生成。類固醇激素當中只有雌性素能促進卵黃前質生成，而其他激素（如雄性素、助孕素、腎皮類固醇素）則不能。

內 容

一、前言	112
二、卵黃白質之組成及其化學特徵	112
三、肝臟卵黃素（卵黃前質）之組成與生成	112
四、卵黃生成的機制	115
五、卵黃生成時期魚體新陳代謝的變化	118
六、卵黃生成時期、肝細胞的微構造變化	118
七、卵巢之形態變化	119

八、卵黃生成之內分泌控制.....	120
1. 類固醇激素.....	120
2. 腦下垂體（腦下腺）激素.....	120
九、引用文獻.....	122

一、前 言

許多魚類的生殖非常明確，方便魚卵成長的研究。魚體產卵後，經歷一個短暫的休止期後，即開始卵的生長。魚卵的生長，依組織學的特徵，可以概分為下列諸期：卵母細胞期 (oogonial stage)、周邊核仁期 (perinucleolar stage)、油滴—卵黃泡期 (oil-droplet-yolk vesicle stage)、初期卵黃期 (primary yolk stage)、中期卵黃期 (secondary yolk stage)、後期卵黃期 (tertiary yolk stage)、核遷移期 (nucleus migratory stage) 及卵成熟期 (maturation stage)。卵母細胞期時，卵細胞大量繁殖，供應當次生殖週期欲產之卵，增生的卵細胞開始生長，早期卵細胞的生長並無卵黃的堆積，生長的幅度不大，當進入油滴—卵泡期時，卵黃開始出現，這些卵黃是由卵細胞自己所產生的，故稱此期卵黃生成為內卵黃生成 (endogeneous vitellogenesis)，所形成的卵巢堆積卵黃泡內，卵的生長速度已大幅的提升，俟後卵即進入快速生長期，此期有大量的外來卵黃物質被卵細胞所攝取，重新整合，形成卵黃堆積於卵黃粒 (yolk granule) 中，由於此期的卵黃是由卵細胞以外的其它組織所供應，故稱它為外卵黃生成 (exogenous vitellogenesis)。當卵的體積達到一個特定值時，生長活動即行停止，如果魚體能夠接受到大量的性腺刺激素 (gonadotropin, GTH)，卵即進行成熟活動，即進入核遷移期及成熟期，而後排卵。

卵黃堆積是卵生長的主要因素，大部分的卵黃來自於肝細胞所產生的卵黃素或稱卵黃前質 (vitellogenin)，為欲對卵的生長能有更進一步的了解，本文討論涉及肝臟卵黃素生成及卵巢細胞對卵黃素攝取的調控機制。

二、卵蛋白質之組成及其化學特徵

魚類的卵黃主要由脂卵黃 (lipovitelline) 及磷卵黃 (phosvitin) 所組成，一般而言，脂卵黃是一種醣脂蛋白質，而磷卵黃則為磷化蛋白質，以鮭魚為例 (Campbell and Idler, 1980)，脂卵黃的分子量為 240,000，所含的酯質約為 25%，易受鹼釋放的磷 (alkaline-labile phosphorus) 相當低，約為 0.07%，至於磷卵黃的分子量則為 43,000，不含醣類及酯質，但含有 15% 易為鹼所釋放的磷。由於磷卵黃含有高量的磷，因此認為它是磷的貯存庫，供應胚胎發育之用，有些海水魚類的卵，不含有磷卵黃，胚胎發育所需的磷，則直接獲自海水所含的磷。磷卵黃的磷化是在卵內進行的，此步驟由蛋白質磷化酶 (protein kinase) 所催化，磷化發生在絲胺酸 (serine) 上。

三、肝臟卵黃素（卵黃前質）之組成與生成

卵生脊椎動物卵黃形成之際，血清中出現了一個特殊的電泳帶，此等物質之量與卵黃形成的速率成正比，因為它是卵蛋白質的前驅物質，故命名為卵黃素 (vitellogenin)

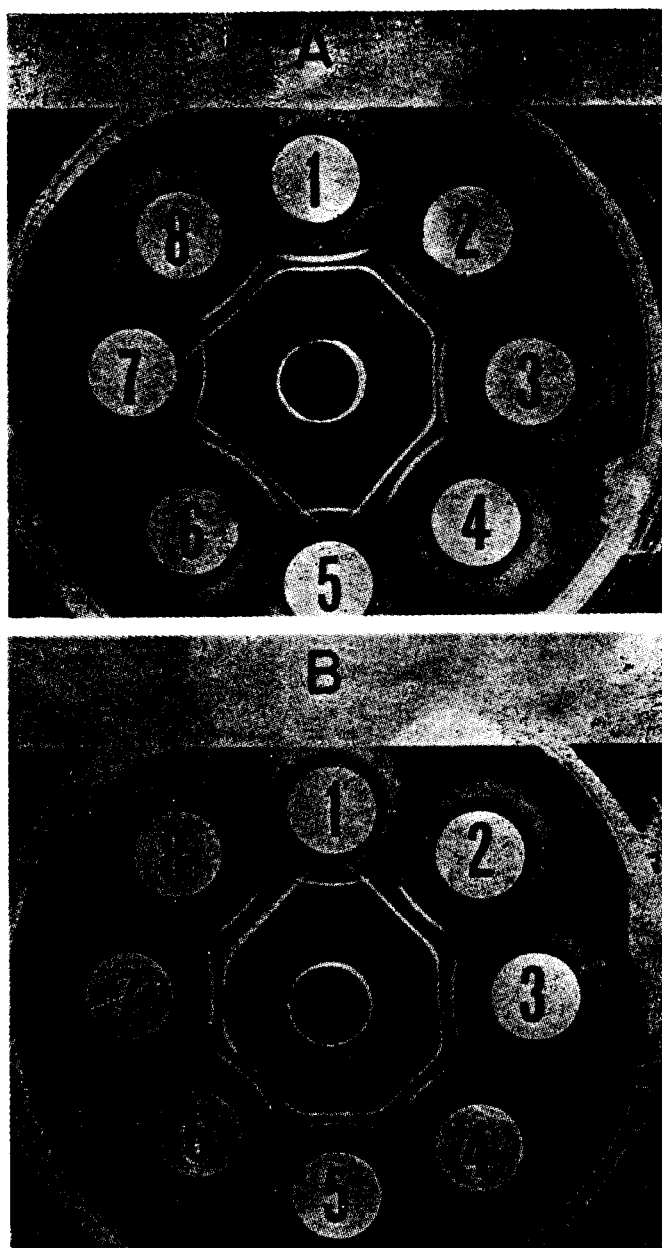


Fig. 1. Comparison of immunodiffusional patterns of the plasmas from vitellogenic females, males, and sexually immature females following incubation with anti-hagfish yolk serum. The center wells each contained $160 \mu\text{l}$ of the antiserum. The side wells each contained $200 \mu\text{l}$ serum samples from individual fish. (A) Nos. 1-4, 6 and 8: vitellogenic females with elongated eggs having ovarian weights of 12.3, 6.3, 16.7, 7.6, 9.1, and 1.2 g, respectively; Nos. 5 and 7: sexually immature females with small and round eggs each measuring less than 2 mm in diameter. (B) No. 1: male; Nos. 2-8 vitellogenic females with ovarian weights of 1.1, 1.6, 1.0, 3.0, 8.0, 11.2, and 1.2 g, respectively. (From Yu *et al.*, 1981)

(Pan *et al.*, 1969), 亦稱為卵黃前質 (egg yolk precursor)。此外, 卵黃素是雌性動物所特有, 故亦稱為雌性動物專有血漿蛋白 (female-specific plasma protein)。如以雌性素處理雄性動物, 亦可以引發卵黃素的生成 (Yu *et al.*, 1981)。關於此雌性專有之蛋白, 可由筆者從事於盲鰻之研究示例 (Yu *et al.*, 1980; 1981)。圖一表示以瓊膠培養皿免疫擴散, 探測雌性動物專有血漿蛋白。以抗卵黃蛋白血清與雄魚或雌魚血清反應; 只有卵黃生成期雌魚之血液具有該 female-specific plasma protein, 雄魚及無卵黃生成雌魚則無。

卵黃素在肝中產生, 產生後再進行轉譯後的修飾工作, 使蛋白質接上醣類、脂質及磷, 而後再釋放至血液中。各種魚類的卵黃素, 分子量均很大, 約介於 280,000 至 60,000 之間。以鮭魚為例, 分子量為 470,000, 約含 22% 的脂質, 0.8% 易為鹼所釋放的磷 (Cambbell and Idler, 1980)。

有關卵黃前質磷之存在, 以筆者之實驗示例之 (Yu *et al.*, 1981)。以放射性磷注射至盲鰻, 再以瓊膠培養皿免疫擴散法 (agar Ouchterlony immunodiffusion plate), 以抗卵黃血清沉澱魚血中之卵黃前質; 然後, 以放射自顯術 (autoradiography) 顯出 ^{32}P 存於該雌性專有之血漿蛋白, 即是卵黃前質之部分組成。如圖二所示, 卵黃生成期雌魚具有放射性磷, 而沒有卵黃生成之雌魚或雄魚則無。卵黃生成期之雌魚之卵黃前質具有

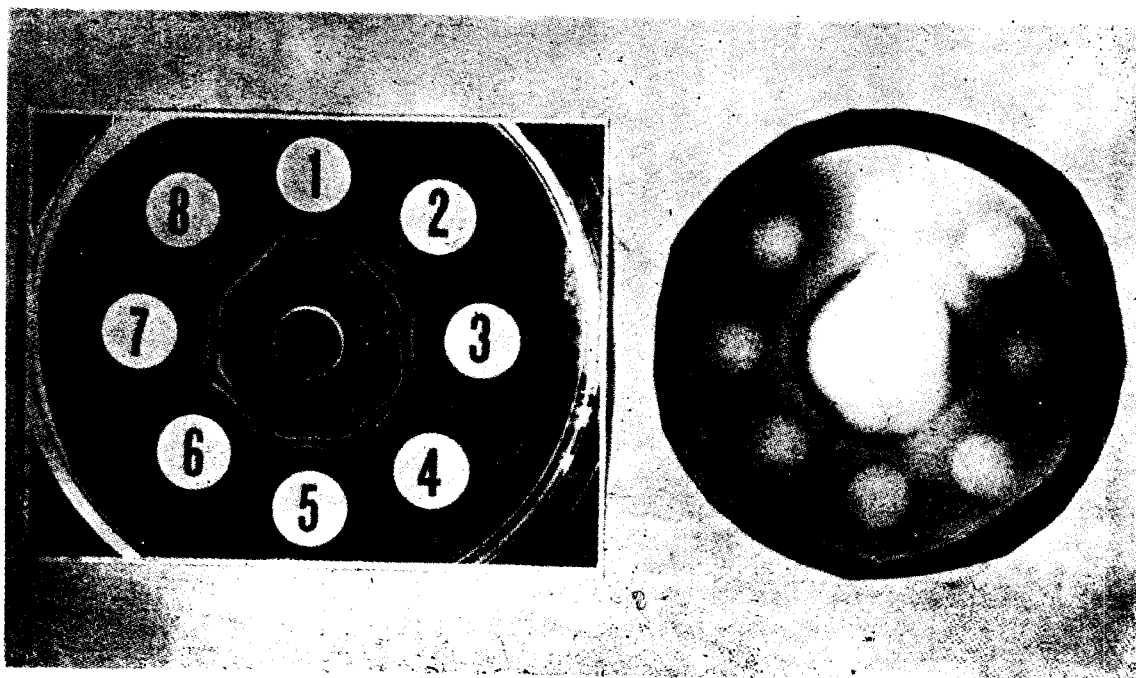


Fig. 2. Autoradiography showing ^{32}P radioactivity from the precipitin lines in an immunodiffusion plate shown in Fig. 1B. Only the vitellogenin bands (inner ones) showed ^{32}P radioactivity. No radioactivity was detected in the nonspecific precipitin bands (outer ones). The degree of darkness in the autoradiography appeared to be dependent on the ^{32}P radioactivity contained in the plasma vitellogenin in vitellogenic females. (From Yu *et al.*, 1981)

高量之磷，而另一非卵黃前質血漿蛋白（雌雄都有，可能係 albumin），因不具有磷，因此無放射性顯影。

血漿中卵黃素的含量可用多種方法定量，如免疫電泳法 (immunoelectrophoresis)、鹼釋放磷法 (alkaline-labile phosphorus determination)、電泳染色掃描法 (densitometric scanning) 及放射免疫測定法 (radioimmunoassay)。血漿中卵黃素之量與卵巢發育狀態、雌性素含量、性腺體重比 (gonadosomatic index) 均呈正相關，此等事實指出，雌性素至卵黃素對卵巢的發育具有非常密切的關係。在生殖周期肝一體重比與性腺一體重比，有極密關係。茲以等養殖黑鯛為例 (余等, 1985)，如圖三與圖四所示，肝一體重比之幅度變化，不如性腺 (卵巢) 一體重比者大。此因為卵黃前質生成後分泌運輸送卵巢形成卵黃，而體積增大。但是肝一體重比之高峯出現，則早於性腺一體重比。而肝及性腺體積與生殖周期中雌二醇之濃度變化，有正比相關 (圖五)。

鮭魚的生殖週期可概分為四個時期：五月至七月為內卵黃生成期，七月至十二月為外卵黃生成期，十二月為產卵期，十二月至三月為產卵後期及前卵黃生成期 (previtellogenesis)。在這四期中，血漿卵黃素的含量分別為：內卵黃生成期，含量低；在卵黃生成期之初期，含量由 0.5 mg/ml 逐漸上昇，產卵期時達到 2 mg/ml，產卵後期則高達 5 mg/ml，此可能是由於肝中所形成的卵黃素無法被卵細胞所攝取，致有更高量的卵黃素於血漿中堆積 (van Bohemen and Lambert, 1981)。

四、卵黃生成的機制

一般認為鵝、鮭卵黃的形成，是經由下列的機制而達成的：卵巢所分泌的雌性素作用於肝，產生卵黃素，釋放至血液，再輸送至卵巢，被卵細胞攝取後，於卵內重組為卵

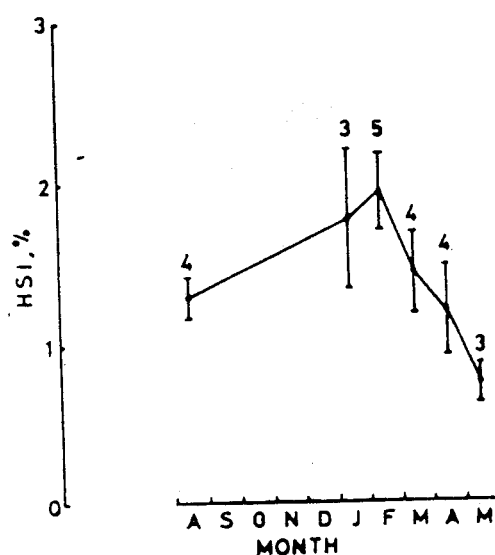


Fig. 3. Changes in hepatosomatic index during an annual cycle of female black porgy (*Acanthopagrus schlegeli*). The data are expressed as mean \pm SEM. The numbers on top of the bars (SEM) represent the number of fish. (余等, 1985)

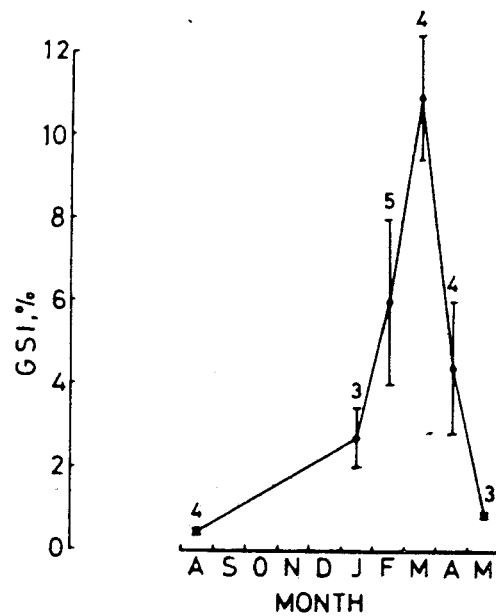


Fig. 4. Changes in gonadosomatic index during an annual cycle of female black porgy (*Acanthopagrus schlegeli*). The data are expressed as mean \pm SEM. The numbers on top of the bars (SEM) represent the numbers of fish. (余等, 1985)

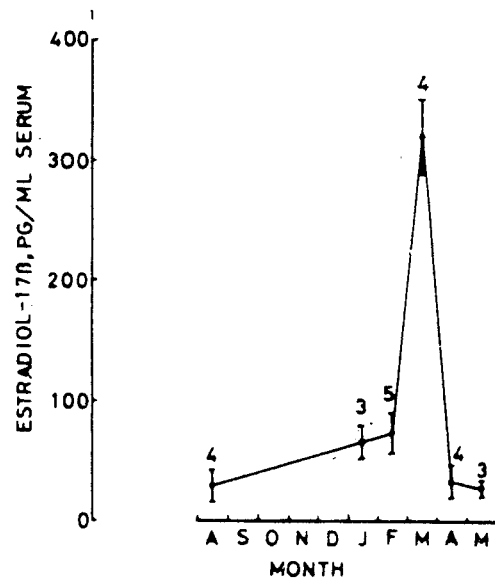


Fig. 5. Changes in the circulating level of estradiol-17 β during an annual cycle of female black porgy (*Acanthopagrus schlegeli*). The data are expressed as mean \pm SEM. The numbers on top of the bars (SEM) represent the numbers of fish. (余等, 1985)

黃。魚類卵黃的形成，亦經由上述的機制。在 Zebrafish, Korfseimer (1966) 以放射性的胺基酸注射至魚體，3 小時後，肝將放射性物質生成為蛋白質的活動最為旺盛，之後，卵內即出現此等帶有放射性的蛋白質，卵攝取蛋白質的活動可持續 24 小時，卵以胞

飲 (pinocytosis) 的方法攝取卵黃素，此外 Heesen and Engels (1973) 及 Anderson (1968) 也發現，卵巢內含有與血中及肝中組成相似的磷脂蛋白。肝中合成卵黃素的活動可因雌性素的處理而增強，此外，雌性素也可以促進未成熟雌魚及雄魚合成卵黃素 (Ng and Idler, 1978)。

關於肝臟卵黃前質生成與分泌之時間過程，以筆者曾探討過之盲鰻 (hagfish) 作一模式說明 (Yu *et al.*, 1980)。將放射性標識之胺基酸， ^{14}C -glycine 注射至性成熟之雄魚及雌魚。在注射後 6 至 72 小時內，定時犧牲動物，取肝臟及血液分析，追蹤 ^{14}C -glycine 攝入蛋白質之速率 (amino acid uptake to protein)。如圖六所示，雄魚及無卵黃生成期之雌魚 (即生殖休止期) (nonvitellogenic female) 之肝臟總蛋白質之 ^{14}C -glycine 之比活性 (specific activity)，在注射後，24 小時才達高峯，持續至 72 小時。而卵黃生成期之雌魚 (即生殖旺盛期) (vitellogenic female) 在注射後 6 小時， ^{14}C -glycine 之比活率，已達最高峯，然後下降，至 48 小時後維持水平。因此，生殖旺盛與休止期之雌魚，其肝臟蛋白質生成率最大差距有 9 倍之多；生成時間次序，差異亦大。

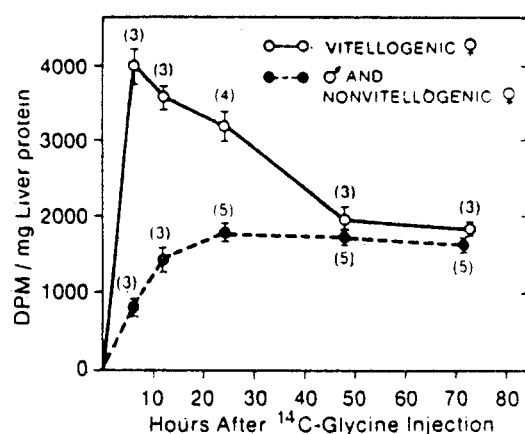


Fig. 6. Time course of the incorporation of [^{14}C] glycine into total protein in liver from vitellogenic females and male-nonvitellogenic females at 6, 12, 24, 48 and 72 hr following intravenous injection of [^{14}C] glycine. $10 \mu\text{Ci}/100 \text{g}$ body wt. The data is expressed as dpm (disintegration per minute)/mg of liver protein. Each symbol with a vertical line represents the mean \pm SE. The numbers in parentheses represent the numbers of animals used in each group. The vitellogenic females had markedly greater specific activities than the male-nonvitellogenic females at 6, 12 and 24 hr intervals. (From Yu *et al.*, 1980)

而血液蛋白質之 ^{14}C -glycine 出現順序，是在肝臟者之後 (圖七)。如圖所示，卵黃生成期雌魚之 ^{14}C -glycine 比活率，在注射後 12 至 24 小時急劇升高，維持至 72 小時。而同時無卵黃生成雌魚，或雄魚之血液蛋白質 ^{14}C -glycine 比活率低微，升高幅度甚小。在注射後 72 小時，卵黃生成與無卵黃生成雌魚，兩者之差異，仍然甚大。

經由上述示例，可知卵黃生成與無卵黃生成之雌魚，其肝臟蛋白質生成速率與代謝之差異，係因為卵黃前質生成。如果，進一步以卵黃抗體血清與卵黃前質反應，沉澱卵

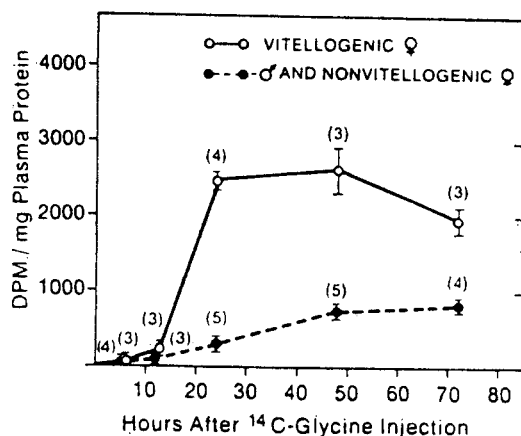


Fig. 7. Time course of the incorporation of [^{14}C] glycine into plasma protein from the vitellogenic females and male-nonvitellogenic females at 6, 12, 24, 48 and 72 hr following intravenous injection of [^{14}C] glycine. $10\ \mu\text{Ci}/100\ \text{g}$ body wt. The data is expressed as dpm (disintegration per minute)/mg of plasma protein. Each symbol with a vertical line represents the mean \pm SE. The numbers in parentheses represent the numbers of animals used in each group. (From Yu *et al.*, 1980)

黃前質，更能表現肝臟及血液蛋白質之 ^{14}C -glycine 比活性差異。

在兩棲類，被攝取的卵黃素於卵內經蛋白質水解酶的作用，分解為酯卵黃及磷卵黃，再重組成卵黃 (Birgink and Wallace, 1974)，目前尚無確切的資料顯示此等機制亦進行於魚卵內，然而由於魚類的卵黃素極易受到蛋白質水解酶的作用，因此魚類卵黃的形成，也可能經由蛋白質水解酶的作用，重組卵黃素分子 (Hickey and Wallace, 1974)。

五、卵黃生成時期魚體新陳代謝的變化

卵黃形成與魚體的營養狀況具有密切的關係，Petersen and Emmersen (1977) 調查 flounder 生殖週期中血清內一些代謝物質的變化，發現磷脂含量與卵黃素含量呈正相關，磷脂是卵黃素及原生質膜形成所不可缺少的物質；此外，他們也發現，卵黃開始堆積之前，血中含有大量的葡萄糖及酯質，這兩類物質於卵黃形成的早期稍呈下降，之後則持續上升，而於產卵期時達到最高值；產卵後，它們的含量則又下降。

六、卵黃生成時期，肝細胞的微構造變化

鮭魚的肝細胞於內卵黃生成期時，具有中等發育程度的粗糙內質網路 (rough endoplasmic reticulum)，高氏體 (Golgi body) 小，不含「電子不易穿透」(electron-dense) 的物質，但具有較高量的肝醣及脂質。在這個時期內，雌雄魚體的肝細胞在形態上並無明顯的差異。在外卵黃生成期，雌魚肝細胞的粗糙內質網路非常發達，高氏體中充塞着許多不易為電子穿透的物質，粒線體 (mitochondria) 的內膜緻密地排列着，細胞質內的肝醣及脂質則消失，核及核仁較先前為大，由以上所述肝細胞的微構造方面的變化，

可以了解粗糙內質網路參與蛋白質的合成，高氏體則負責物質的整合及分泌，而粒線體則供應高合成及分泌活動所需的能量。與雌魚比較，同生殖季節的雄魚的肝細胞，則無上述的微構造方面的變化。但若以雌性素處理雄魚或未成熟的雌魚，則可以引起相似的變化 (Aida *et al.*, 1973)。

七、卵巢之形態變化

卵細胞為卵膜所包圍，卵膜可以分為二層，接近卵細胞者稱為幅射層 (zona radiata)，而對於外緣者稱為透明層 (zona pellucida)，透明層外圍，則有濾泡細胞 (follicle cell)，此等細胞形成一連續的表皮層 (圖八)。卵生長之際，濾泡細胞呈現旺盛的蛋白質合成活動，細胞核呈圓形。卵細胞及濾泡細胞的表面突出許多微絨毛 (microvillus)，彼此嵌鑲着，一般認為，這些微絨毛負責卵細胞與濾泡細胞間物質的輸送。

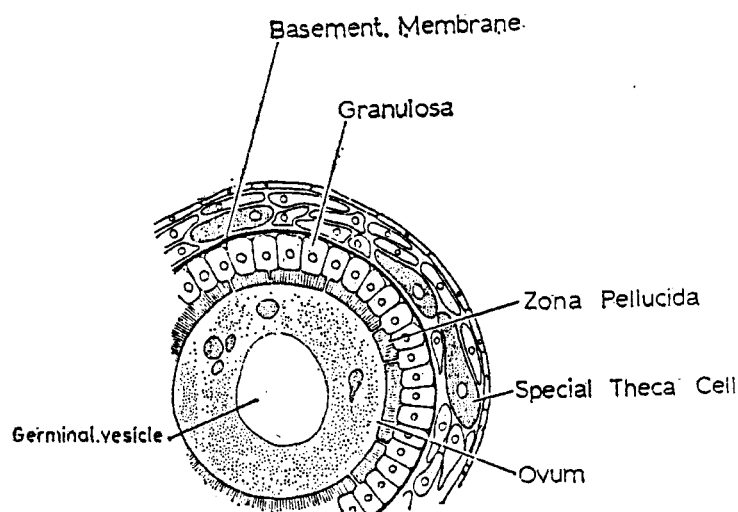


Fig. 8. Diagram showing the follicle layer surrounding an vitellogenic oocyte of teleost ovary.

內生卵黃 (endogenous yolk) 一般認為是在卵內的粗糙內質網路或高氏體形成，不同的研究者以不同的名詞稱呼這些內生的卵黃，如卵黃泡、表層囊泡 (cortical alveolus)、內囊泡卵黃 (intravesicular yolk)、空泡 (vacuole)、卵黃球 (yolk globule) 等。

當卵黃泡開始出現時，它們分佈在卵細胞質的邊緣部位，之後逐漸出現於卵的中心部位，直至分佈於所有的細胞質，在內卵黃形成期，幅射層不發達，當卵進入外卵黃生成期時，幅射層的條紋明顯的出現，此表示卵細胞與濾泡細胞生出許多的微絨毛，此期卵外圍的濾泡細胞已很發達，卵黃粒逐漸受代卵黃泡。一般來說，卵黃粒及卵黃泡並存於卵中。Khoo (1979) 的組織化學研究指出，卵黃泡及卵黃粒具有不同的組成：卵黃泡含有肝醣以及帶有酸根的多醣，但不含脂質，至於卵黃粒則含有中性脂肪及磷酯，但無醣類。此外，卵黃泡的蛋白質含量則低於卵黃粒。由於卵黃的大量堆積，使得卵徑也大幅的增加。卵於成熟之際，由於吸水之故，卵徑又呈現另一階段的增加。

卵細胞攝受血液中卵黃素的活動於卵成熟時 (以核囊, germinal vesicle, 破裂為

劃分標準)，即行停止，但血液中卵黃素的含量則無明顯的變化，此等事實顯示，卵成熟時，卵或濾泡細胞的性狀發生變化，致使卵黃素不能被卵細胞所攝取 (Ng *et al.*, 1980b)。

八、卵黃生成之內分泌控制

1. 類固醇激素 (steroid hormones)

雌性素能够增加魚類血漿中鈣的濃度，高鈣效應 (hypercalcemic effect) 是雌性素的特有功能，其它固酮激素，如睪固酮 (testosterone)、助孕素 (progesterone)、腎上腺可體醇 (cortisol) 則無此功能，血液中鈣的含量與卵巢發育呈正相關，但與睪丸之發育則無關係。雌性素的作用，只能增加與大分子相結合的鈣的量，對游離的鈣的含量則無影響，增加的鈣，有一部分是與卵黃素結合在一起。雌性素尚可以增加血液中與蛋白質結合的磷的含量。由於雌性素具有促進血液中鈣與磷含量增加之效應，因此多位研究者發現在虹鱒 (Whitehead *et al.*, 1980)、吳郭魚及金魚血液中卵黃素，鈣、脂質與雌性素之間具有相關。

雌性素除可增加血液中某些成分外，尚可對肝細胞的合成機能具有促進作用，即它可以增加肝一體重比 (hepatosomatic index)，肝內蛋白質及 RNA 的含量，但對肌肉內的蛋白質及 RNA 含量則無影響，此等作用，見諸目前所曾研究過的各魚種。

就上述雌性素之作用而言，各種雌性素中，以雌二醇 (estradiol) 的效力最強，雌一醇 (estrone) 的效力只有雌二醇的 5 至 10%，但若以雌一醇與雌二醇共同處理魚體，或是以雌一醇預先處理魚體，則雌一醇可以增強雌二醇的效力 (Lambert and van Bohemen, 1981)。雌性素對卵黃素合成的促進作用，可因雌性素的連續處理而增強 (Sundararaj and Nath, 1981)，此等事實顯示，雌性素對肝細胞具有制約作用 (conditioning effect)。

如以大量的甲基睪固酮 (methyltestosterone) 處理魚體，也能引發魚體產生卵黃素，此外肝細胞的微構造變化也如經雌性素處理的情形一樣，雄性素之能引起卵黃素之合成，是因為它可被魚體轉變為雌性素之故。脊椎動物雌性素的生物合成，均以雄性素為前驅物質，在魚類的卵巢中，含有芳香化酶 (aromatase)，可將卵鞘細胞 (theca cell) 所產生的雄性素轉變為雌性素。

筆者在盲鰻之研究 (Yu *et al.*, 1981)，發現睪固酮與腎皮質酮不能引發肝臟卵黃前質生成；而雌一醇與雌二醇同樣有效促進卵黃前質生成；且無性別差異，即雌性素亦能引發雄魚肝臟產生卵黃前質。在鳥類亦是如此 (Yu and Marquardt, 1973a, b)。

雌性素促進與控制肝臟生成卵黃前質，為非哺乳類脊椎動物共同特性。即是從圓口魚類上至鳥類全是如此。例如圓口魚類之七日鰻 (Pickering, 1976) 與盲鰻 (Yu *et al.*, 1981)、軟骨魚類 (Craig, 1978)、兩棲類 (Wallace and Bergink, 1974)、爬行類 (Hahn, 1967; Ho *et al.*, 1981) 及鳥類 (Heald and McLachlan, 1965; Yu and Marquardt, 1973a)。

2. 腦下垂體 (腦下腺) 激素 (pituitary hormones)

魚類腦下腺切除後，性腺體重比下降，卵細胞攝受卵黃素的活動也受到干擾 (Campbell and Idler, 1976)。若以鮭魚的性腺刺激素處理具小型卵巢的魚體，則可增加血液中脂質及膽固醇的含量，但對含有大型卵巢的魚體，則會導致血液脂質的下降，此可能是因為性腺刺激素可促進卵巢攝取脂質之故 (Wiegand and Peter, 1980)。

產卵後期，卵母細胞的增殖可能受到腦下腺某些物質的控制，這些物質可能不是性腺刺激素，此外早期卵細胞的生長，並無卵黃的堆積，這時期卵的生長可能不受腦下腺刺激素的控制，但後期卵的生長，則受腦下腺刺激素的控制。至於濾泡細胞的生長是否受到腦下腺刺激素的控制，目前尚不清楚，在哺乳類動物中，顆粒細胞 (granulosa cell) 及卵鞘細胞的生長與功能則與性腺刺激素具有密切的關係。

純化後的鯉魚性腺刺激素或部分純化的鮭魚性腺刺激素，可以促進卵黃素的產生及卵黃在卵內的堆積，可是哺乳類的性腺刺激素雖可促進切除腦下腺的印度塘虱魚產生卵黃素，但不能促進卵黃的堆積 (Nath and Sundararaj, 1981)。

加拿大 Idler 等人的研究結果顯示 American plaice (Campbell and Idler, 1976), winterflounder (Ng and Idler, 1979), chum salmon, 及鯉魚 (Idler and Ng, 1979) 的腦下腺中含有一種可以促進卵細胞攝取卵黃素的激素，稱為卵黃生成促性腺激素 (vitellogenic GTH)，此激素與負責卵成熟的卵成熟促性腺激素 (maturation GTH) 有別，即前者所含的醣類很少，而後者含有相當量的醣類，因之在 concanavalin A 的親和管柱中，卵黃生成促性腺激素不能與管柱結合，但卵成熟促性腺激素則可與管柱結合。卵成熟促性腺激素不能促進卵細胞攝取卵黃素。若將魚體於卵黃素形成之前，以卵黃生成促性腺激素處理切除腦下腺的魚體，則無法促進卵黃素的合成，因之亦無法促進卵細胞堆積卵黃，但若先以雌性素處理此等魚體，則此激素可以促進卵黃的堆積。如以部分純化的性腺刺激素處理切除腦下腺的魚體，則可同時促進卵黃素的合成及卵黃的堆積，此乃因部分純化的性腺刺激素同時含有上述兩種性腺刺激素之故，即卵成熟促性腺激素可以增加卵巢產生雌性素，再由雌性素促進肝合成卵黃素，而後由促卵黃生成促性腺激素促進卵細胞攝取卵黃素。

魚類可能含有兩種性腺刺激素的說法，亦可由下列實驗得到併證：如以卵成熟促性腺激素的抗體處理魚體，則會導致血液中雌性素及卵黃素含量的下降，但對卵的形態不產生影響。可是如以卵黃生成促性腺激素的抗體處理魚體，則會抑制卵黃的堆積及導致卵的退化 (Ng *et al.*, 1980a, b)。此外，可以利用螢光抗體標識法研究上述二種激素在卵巢中的標的組織 (target tissue)，結果發現，卵黃生成促性腺激素可與卵細胞及濾泡細胞結合，而卵成熟促性腺激素則與間質細胞 (interstitial cell) 結合，此等結果顯示這兩種激素各有其標的組織，因而也各有其不同的生理功能。

卵黃生成之步驟與控制系統，以鳥類 (雞) 及兩棲類研究最多。而魚類在此方面之探討，起步較晚；因此，常以鳥類或兩棲類之研究，作為模式與比較。但因為鳥類及兩棲類腦下垂體促性腺激素，明顯分為 LH 及 FSH 兩型 (參見本研討會集刊第一篇：魚類腦下垂體促性腺激素之純化、生化特性、生理功能及生物活性測定)；而魚類之促性腺激素，不盡與較高等卵生脊椎動物相同。所以，在卵巢攝入卵黃前質、生成卵黃步驟之控制激素與機制可能有所差異。魚類卵黃生成之內分泌控制，簡言之，由腦下垂體

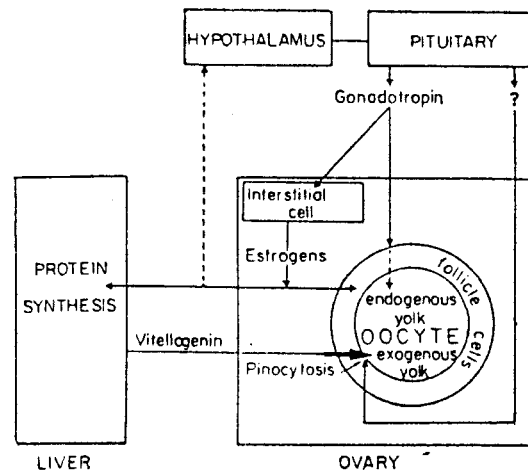


Fig. 9. Generalized scheme showing major vitellogenic steps and its hormonal control in fish.

分泌單一型之促性腺激素或兩型之激素（一為卵成熟促性腺激素，另一為卵黃生成促性腺激素）。由促性腺成熟激素，促進卵巢產生雌性素，而作用於肝臟引發卵黃前質生成；經由血液運送之卵巢，再由促卵黃生成激素促進攝入而形成卵黃。如係單一型促性腺激素，即可促進雌性素產生，又可促進卵巢之卵黃前質攝形入而成卵黃（圖九）。當然，雌性素可直接促進腦下垂體促性腺激素之分泌，同時或經由促使下視丘分泌性釋素（GnRH），以分泌促性腺激素（Idler and Ng, 1983; Peter, 1983; Yu *et al.*, 1985）。

九、引用文獻

- 余玉林、王俊文、王淑麗、顏枝麟、黃丁士、胡興華、劉繼源(1985). 黑鯛生殖週期性腺類固醇激素分泌型態，海洋生物科學學術研討會論文集、國科會生物科學研究中心專刊第14集 pp. 113-121。
- Aida, K., Hirose, H, and Yokote, M. (1973b.) Physiological studies on gonadal maturation of fishes. II. Histological changes in the liver cells of ayu following gonadal maturation and estrogen administration. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **30**: 1107-1115.
- Anderson, E. (1968). Cortical alveoli formation and vitellogenesis during oocyte differentiation in the pipefish, *Syngnathus fuscus*, and the killifish, *Fundulus heteroclitus*. *J. Morphol.*, **125**: 23-60.
- Bergink, E. W. and Wallace, R. A. (1974). Precursor-product relationship between amphibian vitellogenin and phosvitin *J. Biol. Chem.*, **249**: 2897-2903.
- Campbell, C. M. and Idler, D. R. (1976). Hormonal control of vitellogenesis in hypophysectomized winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus* Walbaum). *Gen. Comp. Endocrinol.* **28**: 143-150.
- Campbell, C. M. and Idler, D. R. (1980). Characterization of an estradiol-induced protein from rainbow trout serum as vitellogenin by the composition and radioimmunological crossreactivity to ovarian yolk fractions. *Biol. Reprod.* **22**: 605-617.
- Craik, C. A. (1978). The effects of estrogen treatment of certain plasma constituents

- associated with vitellogenesis in the elasmobranch *Scyliorhinus canicula* L. *Gen. Comp. crinol.*, **35**: 455-464.
- Hahn, W. E. (1967). Estradiol-induced vitellogenesis and fat mobilization in the lizard *Uta stansburiana*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **23**: 83-95.
- Heald, P. J. and McLachlan, P. M. (1965). The synthesis of phosphovitin *in vitro* by slices of liver from the laying hen. *Biochem. J.*, **94**: 32-39.
- Heesen, P. T. and Engels, W. (1973). Electrophoretic studies on vitellogenesis in *Brachydanio rerio*. *Wilhelm Roux Arch. Entwicklungsmech. Org.* **173**: 45-59.
- Hickey, E. D. and Wallace, R. A. (1974). A study of the vitellogenic protein in the serum of estrogen-treated *Ictalurus nebulosus*. *Biol. Bull. (Woods Hole, Mass.)*, **147**: 481.
- Ho, S. M., Dando, D. and Callard, I. (1981). Effect of exogenous estradiol-17 β on plasma vitellogenin levels in male and female *Chrysemys* and its modulation by testosterone and progesterone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **43**: 413-421.
- Idler, D. R. and Ng, T. B. (1979). Studies on two types of gonadotropins from both salmon and carp pituitaries. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **38**: 421-440.
- Idler, D. R. and Ng, T. B. (1983). Teleost gonadotropins: Isolation, Biochemistry, and Function. In "Fish physiology, Vol. IX. Reproduction part A, Endocrine Tissue and Hormones" ed. by Hoar, W. S., Randall, D. J. and Donaldson, E. M. *Academic Press, N. Y.* pp. 187-212.
- Khoo, K. H. (1979). The histochemistry and endocrine control of vitellogenesis in the goldfish ovary. *Can. J. Zool.*, **57**: 617-626.
- Korfsmeier, K. H. (1966). Zur Genese der Dottersysteme in der Oocyte von *Brachydanio rerio*. Autoradiographische Untersuchungen. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, **71**: 283-296.
- Lambert, J. G. D. and van Bohemen, C. G. (1981). Oestrone and oestradiol participation in vitellogenin synthesis in the female rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Abstr. Pup. Int. Symp. Comp. Endocrinol.*, 9th, 1981 p. 170.
- Nath, P. and Sundararaj, B. I. (1981b). Induction of vitellogenesis in the hypophysectomized catfish, *Ictalurus punctatus* (Bloch): Effects of piscine and mammalian hormones. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **43**: 191-200.
- Ng, T. B. and Idler, D. R. (1978a). "Big" and "little" forms of plaice vitellogenic and maturational hormones. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **34**: 408-420.
- Ng, T. B. and Idler, D. R. (1979). Studies two types of gonadotropins from both American plaice and winter flounder pituitaries. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **38**: 410-420.
- Ng, T. B., Campbell, C. M. and Idler, D. R. (1980a). Antibody inhibition of vitellogenesis and oocyte maturation in salmon and flounder. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **41**: 233-239.
- Ng, T. B., Idler, D. R. and Burton, M. P. (1980b). Effects of teleost gonadotropins and their antibodies on gonadal histology in winter flounder. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **42**: 355-384.
- Pan, M. L., Bell, W. J. and Telfer, W. H. (196). Vitellogenic blood protein synthesis by insect fat body. *Science*, **165**: 393-394.
- Peter, R. E. (1983). The brain and neurohormones in teleost reproduction. In

- "Fish physiology," Vol. IX. Reproduction Part A. "Endocrine Tissue and Hormones," ed. by Hoar, W. S., Raudall, O. J., and Donaldson, E. M. *Acadmic Prem*, N. Y. pp. 97-127.
- Petersen, I. M. and Emmersen, B. K. (1977). Changes in serum glucose and lipids and liver glycogen and phosphorylase during vitellogenesis in nature in the flounder (*Platichthys flesus*, L.). *Comp. Biochem. Physiol. B*, **58B** 167-171.
- Pickering, A. D. (1976). Effects of gonadectomy, oestradiol and testosterone on the migrating river lamprey *Lampetra fluviatilis* L. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **28**: 473-480.
- Sundaraj, B. I. and Nath, p. (1981). Steroid-induced synthesis of vitellogenin in the catfish. *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **43**: 201-210.
- van Bohemen, C. G. and Lambert, J. G. D. (1981). Estrogen synthesis in relation to estrone, estradiol and vitellogenin plasma levels during the reproduction of the female rainbow trout. *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **45**: 105-114.
- Wallace, R. A. and Bergink, E. W. (1974). Amphibian vitellogenin, properties, hormonal regulation of hepatic synthesis and ovarian uptake, and conversion to yolk proteins. *Am. Zool.*, **14**: 159-175.
- Wiegand, M. D. and Peter, R. E. (1980a). Effects of salmon gonadotropin (SG-G100) on plasma lipids in the goldfish. *Carassius auratus*. *Can. J. Zool.*, **58**: 957-966.
- Whitehead, C., Bromage, N. R., Herbin, R. and Matty, A. J. (1980). Oestradiol-17 β , calcium and vitellogenin interrelations during accelerated and biannual spawnings in the rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **40**: 329-330.
- Yu, J. Y. L. and Marquardt, R. R., (1973a). Effects of estradiol and testosterone on the immature female chicken (*Gallus domesticus*). I. Quantitative changes in nucleic acids, proteins and lipids in the liver. *Comp. Biochem. Physiol.* **46B**: 749-757.
- Yu, J. Y.-L. and Marquardt, R. R. (1973b). Effects of estradiol and testosterone on the immature female chicken (*Gallus domesticus*). II. Immunodiffusional patterns of yolk lipoproteins in the liver and plasma. *Comp. Biochem. Physiol.*, **46B**: 759-757.
- Yu, J. Y.-L., Dickhoff, W. W. Inui, Y. and Gorbman. A. (1980). Sexual patterns of protein metabolism in liver and plasma of Hagfish, *Eptatretus stouti* with special reference to vitellogenesis. *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. **65B**: 111-117.
- Yu, J. Y.-L., Dickhoff, W. W. Swanson, P. Gorbman and A. (1981). Vitellogenesis and its hormonal regulation in the Pacific hagfish *Eptatretus stouti* L. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **43**: 492-502.
- Yu, J. Y. L., Fei, M. C. Lin, T. M. and Wang, L. M. Gonadotropin release from carp (*Cyrinus Carpio*) pituitary studied under in vitro continuous perfusion. Ninth Int. Cong. Comp. Endocr. Hong Kong, 1981, *Current Trends in Comparative Endocrinology*, (1985) pp. 85-86.

Proceedings of the Symposium on "Fish Reproduction and Its Endocrine Control: Basic and Practical Aspects", Sponsored by Institute of Zoology, Academia Sinica, and Department of Fisheries, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taipei, Taiwan, R. O. C. June 19-20, 1987, pp. 111-125

Vitellogenesis and its Hormonal Control in Fish

Fore-Lien Huang* and J. Yuh-Lin Yu**

* *Department of Zoology, National Taiwan University, and
Institute of Biological Chemistry, Academia Sinica,
Taipei, Taiwan, R. O. C.*

** *Endocrinology Laboratory, Institute of Zoology,
Academia Sinica, Taipei, Taiwan, R. O. C.*

This article introduces the vitellogenesis and its hormonal regulation in fish.

Most of piscine eggs are composed of homogeneous egg yolk only, unlike the reptilian and avian eggs being composed of egg white and egg yolk. Nevertheless, the chemical components of egg yolk resemble each other among the oviparous vertebrates. The egg yolk consists of lipovitellins and phosvitin. Lipovitellin is a lipoglycoprotein complex containing calcium and phosphorus, with a molecular weight of 240,000-300,000. Phosvitin is a protein with high phosphorus content, having a molecular weight from 19,000 to 43,000.

Pituitary gland secretes "maturation gonadotropin" which stimulates the ovary to produce estrogen. Hepatocytes, under estrogenic action, synthesize vitellogenin, the egg yolk precursor; this process is referred to as "hepatic vitellogenesis". Vitellogenin is a large lipoglycoprotein complex containing phosphorus and calcium. After formation by the hepatocytes, vitellogenin is secreted into blood and transported to ovary into which it is taken up and transformed to egg yolk with minor modification under the influence of "vitellogenic gonadotropin". Estrogen acts on hepatic tissue to stimulate hyperplasia and also the cellular hypertrophy; it enhances the formation of nucleic acids and proteins, the mobilization of calcium and phosphorus into hepatocytes for synthesizing vitellogenin. As a consequence, the hepato-somatic index increases during the active vitellogenic stages. The capability of estrogenic stimulation of hepatic vitellogenesis is not sex specific. Injection of estrogen to male fish can also evoke vitellogenesis in the liver. Estrogen is the only steroid that can cause hepatic vitellogenesis; other steroids such as androgen, progesterone, adrenal corticosteroids, do not possess such function, unless with prior transformation to estrogen in the body.