

令和 6 年 5 月 19 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K02959

研究課題名(和文) 考える「生物」のためのホルモン分泌の可視化教材の開発

研究課題名(英文) Development of observation-based teaching materials to present the secretion of hormones as an investigational activity in biology classes

研究代表者

中村 依子 (Nakamura, Yoriko)

愛媛大学・教育学部・准教授

研究者番号：60435667

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,400,000円

研究成果の概要(和文)：メダカの性成熟までの成長過程において仔稚魚が個体間で差が少なく成長する飼育方法および雌の卵巣の組織切片標本の作製方法を確立した。孵化後30日目までの雌の仔稚魚の成長過程における卵巣内の変化を観察した結果、卵巣の卵巣腔の形成過程、背側卵巣腔上皮のめり込んだ構造や腹側のくぼみの推移、左右2葉の形態の変化及び融合過程、卵母細胞の発達段階の変化が観察された。よって、孵化直後から性成熟までの過程で、卵巣構造および卵巣内の卵母細胞の発達段階に着目した、卵巣の発達段階を可視化する教材が作製可能であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

雌の成長に伴う卵巣の構造や卵母細胞の発達段階の変化は、ヒトの実物を見ることは難しく、メダカなどの動物を用いて卵巣の発達過程とホルモンの発現場所を観察できる組織切片を作製することは、ホルモンの分泌と作用を学習する上で高い効果が得られると考えられる。本研究において、メダカの卵巣の組織切片標本を用いて、雌の卵巣構造と卵母細胞の発達過程に着目した卵巣の発達過程を観察できることにより、ホルモンが作用する標的器官・細胞を観察することができ、特に卵母細胞が発達するなど標的細胞の変化も観察することが可能となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We established a breeding method that allows medaka fry to grow with little difference between fries during the growth process until sexual maturation and we also established a method for preparing tissue sections of female ovaries.

As a result of observing changes in the ovary during the growth process of female fry up to 30 days after hatching, we observed the developmental process of the ovarian cavity, of the invaginations of the dorsal ovarian epithelium and the ventral pit, and the morphological changes and fusion process of left and right lobes of the ovary.

Therefore, focusing on the ovarian structure and the oocyte development within the ovary during the growth process from just after hatching to sexual maturation, we consider that teaching materials to present the development of the ovary can be prepared.

研究分野：科学教育

キーワード：メダカ 卵巣 卵母細胞 性成熟

1. 研究開始当初の背景

高等学校学習指導要領では、「体内環境の維持に自律神経とホルモンがかかわっていることを理解すること」と明記されており、高等学校の生物基礎および生物の教科書では、ホルモンと内分泌系および情報伝達について学習する。しかし、動物のホルモンの分泌経路とその作用について理解を深めるための教材は、アドレナリンを用いたカキの心拍数の変化を測定する実験が1社の教科書で扱われているのみであった。また、動物のホルモンの作用に関する教材研究の報告は、環境ホルモンに関するもの以外はほとんどなかった。

2. 研究の目的

メダカの成長に伴う性ホルモンの分泌と卵母細胞の発達段階を明らかにし、それらを可視化することにより、内分泌系による卵の形成を理解する教材を開発する。さらに、性ホルモンの分泌と卵形成の関係を示すタイル状テーブルを作成する発展的探究活動を考案し、実践することを目的とする。

3. 研究の方法

孵化直後から孵化後30日までのメダカの稚魚の個体間で差が少なく成長する飼育条件(水槽のシステム、飼育ケースの大きさ・種類、成長段階に応じた餌の種類、密度等)を検討した。卵巣の組織切片標本の作製方法(固定方法およびヘマトキシリン・エオシン(HE)染色方法)を検討した。メダカの稚魚を雌雄判別し、卵巣の組織切片標本を作製し、成熟までの過程において卵巣構造の変化および卵巣内の卵母細胞の発達段階を、細胞・組織学的手法により観察した。

4. 研究成果

(1) 卵巣構造

孵化直後から孵化後10~30日、全長4.5~13.5 mmの稚魚について、卵巣の横断面の組織切片を観察した。孵化後10日までは、全長5.0 mm以下の稚魚では、左右2葉の卵巣は全ての領域で融合していなかった。左葉の前端より右葉の前端の方がかなり前に出ている(図1)。全長5.0 mmより大きい個体になると、左右2葉が接触している領域が観察された。接触している領域では、左右2葉の境界上の間膜が卵巣内に残っていた。孵化後20日では、全長が大きくなると、左右2葉の境界上の間膜が卵巣内に残らず完全に融合した領域が見られた。全長9 mmでは、卵巣腔が形成された個体が観察された。孵化後30日までは、完全に卵巣を覆った卵巣腔が前側で観察され、後ろ側では形成途中と思われる卵巣腔が多かった。孵化後30日では、全長が大きくなると、卵巣はほぼすべての領域で左右2葉が完全に融合していた。孵化後20、30日の稚魚の卵巣でも、10日目より差は少ないが、左葉の前端より右葉の前端が前に出ている。成魚では、卵巣の上皮が背側にめり込んだ構造が複数見られたが、孵化後10日では、めり込んだ構造が観察されない成長段階があり、孵化後20、30日では、成長段階によって、めり込みが見られない個体と、小さいめり込みの構造が見られる個体があった。孵化後30日で、より大きくなってくると、めり込みがない個体とめり込みがある個体が見られた。孵化後30日以降、体長8.5~12.5 mmの卵巣で観察した限りでは、左右2葉間の多くの領域でくびれが観察された。くびれは背側のみ、腹側のみ、背側両方にある場合が観察されたが、前部ほど背側、後部ほど腹側にある傾向が見られた。左右2葉間のくびれは、成長に伴って見られなくなった。孵化後40日以降の、大きく成長した個体で観察した限り、卵巣腔はほとんどの領域で形成され、背側の卵巣上皮は腹側付近までめり込んでいた。

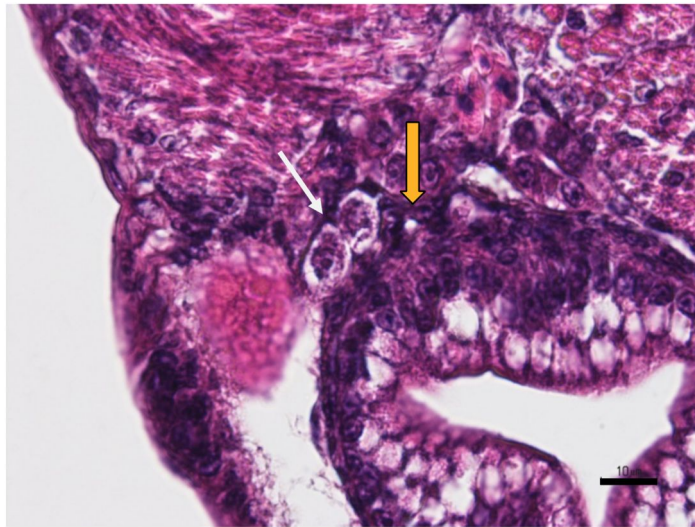


図1 孵化直後，
全長 4.5～5.0 mm の稚魚
の卵巢
白い矢印：卵巢（右葉），
黄色い矢印：間膜
スケールバー：10 μm

(2) 卵巢内の卵母細胞の発達段階

メダカの卵母細胞は、直径が 20 μm の時期に第一減数分裂前期に入り、卵母細胞を囲む濾胞細胞が観察されるようになる (Iwamatsu, 2018)。卵母細胞の細胞質は第一減数分裂前期の複糸期（ディプロテン期）で増加して成長する。直径が 150 μm ほどになると、第一減数分裂前期で一度停止した卵母細胞は減数分裂を再開する。

孵化直後の全長 4.5～5 mm の個体では、卵巢内に直径が 20 μm 以上の卵母細胞は見られなかった。卵母細胞の周辺に黒い粒々が見られたが、大きな卵母細胞がもつような濾胞細胞は周辺に観察されなかった。孵化後 5 日の個体で観察した限りでは、直径が 20 μm 以上、またディプロテン期の卵母細胞は見られなかった。

孵化後 10 日では、全長が大きくなるほど、直径が 20 μm 以上の卵母細胞が多くなると思われた。全長が大きい個体で、直径が 20 μm 以上の卵母細胞を観察すると、濾胞細胞が見られる傾向があった (図 2)。

孵化後 60 日までには、調べた限り、減数分裂を再開する大きさの卵母細胞は観察されなかった。

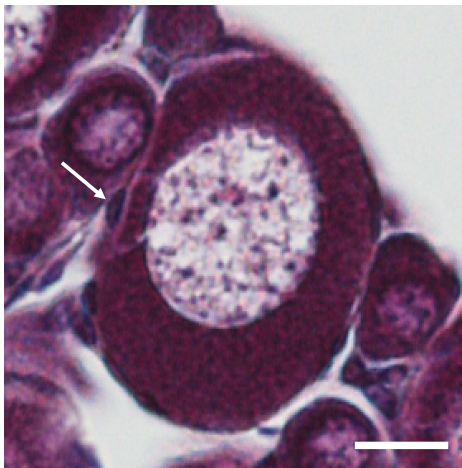


図2 孵化後 20 日における稚魚の卵巢
内の卵母細胞
白い矢印：濾胞細胞
スケールバー：10 μm

本研究により、孵化直後から孵化後 30 日のメスのメダカにおいて稚仔魚の卵巢が発達する様子を掴むことができた。稚仔魚の成長に伴う卵巢の発達における孵化後日数と全長の関係を理解することができた。卵巢構造および卵母細胞の発達段階の変化は形態観察ができるため、成長段階から卵巢の発達段階を識別することが可能である。よって、孵化直後から性成熟までの過程で、卵巢内の卵母細胞の発達段階に着目すると、卵巢の発達段階を可視化する教材を作製することが可能である。

今後は、各種性ホルモンの分泌時期・場所を明らかにすることによって、各種ホルモンの分泌とそれに伴う卵巢内の卵母細胞の成長段階を示す標本作製し、ホルモン分泌と卵黄蓄積の関係を理解する探究活動を考案し、実践する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 北川 拓生, 中村 依子
2. 発表標題 メダカの成長に伴う卵巣形成に関する組織学的研究
3. 学会等名 中国四国地区生物系三学会合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北川 拓生, 中村 依子
2. 発表標題 メダカの成長過程における卵巣形成に関する形態学的研究
3. 学会等名 日本動物学会中国四国支部 愛媛県例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北川 拓生, 中村 依子
2. 発表標題 メダカの成長に伴う卵巣形成に関する組織学的観察
3. 学会等名 日本動物学会中国四国支部 愛媛県例会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村 依子, 北川 拓生
2. 発表標題 メダカの成長過程における卵巣の融合に関する組織学的観察
3. 学会等名 日本動物学会中国四国支部 愛媛県例会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------