

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 1 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20380112

研究課題名（和文）消化酵素トリプシンの魚類配偶子形成および受精に対する新規機能の解明

研究課題名（英文）Trypsin is a multifunctional factor in spermatogenesis and male reproduction in fish.

研究代表者

三浦 猛（MIURA TAKESHI）

愛媛大学・南予水産研究センター・教授

研究者番号：00261339

研究成果の概要（和文）：トリプシンは、消化酵素として一般的に知られているが、配偶子形成への作用に関する報告は全くない。本研究はトリプシンの魚類の精子形成および受精に対する作用の解析を行った。その結果、トリプシンは減数分裂の開始、精子変態および受精に重要な働きをすることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Trypsin is well known as a pancreatic enzyme that is typically secreted into the intestine to digest proteins. In this study, I provide strong evidence that the testicular trypsins are important factors in the control of meiosis, spermiogenesis and fertilization using fish models. In other words, trypsin is a multifunctional factor in male reproduction.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2009年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2010年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2011年度	3,200,000	960,000	4,160,000
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：水産学一般

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：生殖

1. 研究開始当初の背景

生物は、生殖を行うことにより、そのたびに若返りながら生命の連続性を保ち続けてきた。生物の生殖の基本原則を解明することは、有用生物資源の増大、希少種の保護、ヒトの少子高齢化対策等に大きく貢献するものと考えられる。精子形成および卵形成の過程は、配偶子を作製する過程であり、生殖プロセスの中心的な役割を担う。精子形成は、体細胞分裂による精原細胞の増殖過程、減数分裂、精子変態および精子成熟の各過程からなり、また卵形成は、卵原細胞の増殖、減数分裂、卵成長（魚類では卵黄形成）、卵

成熟の過程からなる。これらは、過程自体が複雑であるとともに、その進行には様々な因子が関与しており、非常に複雑に制御されている。これらの過程を生体外で人為的に制御することができれば、全く新しい概念の生物生産技術や遺伝子資源保全技術を確立することも可能である。

これまでの研究により、雌雄両配偶子形成での減数分裂開始の引き金を引く因子が、魚類特有の黄体ホルモン系ステロイドである $17\alpha,20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン（DHP）であることを突き止め、これを証明し、減数分裂開始の制

御機構全貌解明の突破口を開くとともに、本来減数分裂を起こす時期ではないステージの生殖細胞に対し減数分裂を誘導することに成功した (Miura et al. *PNAS* 2006)。さらに、DHP の下流で作用する分子の候補を遺伝子発現差解析により検索し、減数分裂の制御に関わると考えられる 25 種類の候補遺伝子のクローニングに成功した (Ozaki et al.

Endocrinology 2006)。これらの候補のうち、最も減数分裂の関わりが深いと考えられたのが、本申請の主役であるセリンプロテアーゼの一種であるトリプシンである。

トリプシンは、消化酵素として一般的に知られているが、配偶子形成への作用に関する報告は全く存在しない。

2. 研究の目的

本研究では、トリプシンが配偶子形成、特に精子形成の制御に作用しているか否か、しているのであれば、精子形成の何れの過程で、どのように作用しているのかを分子レベルで明らかにすること目的として行われた。

3. 研究の方法

ニホンウナギの精巣器官培養系、精原細胞と精巣体細胞の共存細胞培養系および人為成熟させた雌雄ウナギを用いてトリプシンの精子形成、精子変態および受精に対する作用を分子・細胞学的に調べた。

4. 研究成果

トリプシンの精子形成への制御機構を調べるモデル生物として、ニホンウナギ (*Anguilla japonica*) を用いた。ニホンウナギ雄は、飼育環境下では精巣中に、増殖開始前の精原幹細胞のみが存在し、それ以上に発達した生殖細胞は認められない。この様なウナギに対し、外因性の生殖腺刺激ホルモンを投与すると精子形成が惹起され、精子が得られるまでに成熟を誘導できる。またその精子形成は、ほぼ同調して進行する。さらに上述のように、申請者が世界に先駆け開発した精巣器官培養系

(Miura et al. *PNAS* 1991)、あるいは精原細胞と精巣体細胞の共存細胞培養系

(Miura et al. *Dev. Growth Diff.* 1996) により、試験管内で減数分裂を含む全精子形成過程を精子形成誘起ステロイド：11-ケトテストステロンを培養液に添加することにより再現できる。この様にウナギは、減数分裂開始の制御機構を解析する上で優れた形質を多数有している。これらの利点に加え、ウナギの実験系で遺伝子操作の手法を用いることができれば、他に類を見ない強力な減数分裂開始機構の解析系となることは間違いない。

トリプシンの精巣での発現制御を、ウナギ精巣器官培養系を用いて行った。トリプシンは、精子形成を制御する性ステロイドホルモン；11-ケトテストステロン、エストラジオール-17 β およびDHPの内、DHPの刺激によってのみ、著しく精巣での発現を誘導した。また、その精巣での発現部位は、減数分裂開始前の後期B型精原細胞を取り囲むセルトリ細胞であることが、免疫組織学による解析で明らかとなった。トリプシンの精子形成での機能を明らかにするために、ウナギ組換えトリプシン、トリプシンの作用を阻害するセリンプロテアーゼの阻害剤、抗-ウナギトリプシン抗体を用い、トリプシン精子形成への作用を精原細胞およびセルトリ細胞の共存細胞培養系により調べた。セリンプロテアーゼ阻害剤および抗トリプシン抗体はDHPによる精原細胞のDNA合成のみを阻害し、11-KTによるDNA合成を阻害しないこと、DHP組換えトリプシンが精原細胞のDNA合成を促進することから、トリプシンは精子形成の過程のうちDHPにより制御される精原細胞のDNA合成に作用することが明らかとなった。

精原細胞でのDNA合成は、体細胞分裂による増殖分裂時、および減数第一分裂前期に起こる。DHPによるDNA合成は、その濃度により増殖分裂と減数分裂前期の何れにも作用するものと考えられている (Miura et al. 1996 *PNAS*)。トリプシンにより刺激した精原細胞を、減数分裂マーカーであるspo11抗体を用いて免疫染色を施したところ、特異的に染色されることから、トリプシンは減数第一分裂前期の制御に関わるものと推察された。しかしながら、電子顕微鏡による観察の結果、トリプシン処理を施した精原細胞には減数分裂時の相同染色体の対合を示すシナプトネマ構造が観察されなかったことから、減数分裂の制御にはトリプシン以外の何らかの因子の存在が必要であるものと考えられた。

トリプシンの精巣での発現を詳細に観察すると、先に述べたセルトリ細胞以外に、精細胞および精子の細胞膜に存在することが免疫組織学的解析により明らかとなった。そこで、これら精子形成後期の生殖細胞に対するトリプシンの作用メカニズムを解析した。

本来精子変態をしないステージである精原幹細胞を単離し、トリプシンを添加した培養液で培養すると、精原細胞の核は伸長し、また、鞭毛用の構造が出現した。これらのトリプシンにより形態変化した精子を抗チュウブリン抗体を用いて染色したところ、細胞体上に正常精子で認められ

るマンシユット構造様のチューブリンの束が観察されるとともに、鞭毛用構造もチューブリンを含むタンパクで構成されていることが明らかとなった。これらのことから、トリプシンは精子変態時の形態変化にも重要な働きを示している可能性が示された。

精子上でのトリプシンの存在部位は細胞膜上であるが、特に精子の先端部分で特に強い発現が認められた。ウナギを含む硬骨魚類の精子には、一部の例外を除き、先体が存在しないが、受精時にプロテアーゼが働く可能性は否定できない。そこで、精子膜上に存在するトリプシンあるいはトリプシン様プロテアーゼが受精に関わるか否かを、抗トリプシン抗体およびセリンプロテアーゼ阻害剤を用いたウナギの受精実験により確かめた。その結果、抗トリプシン抗体およびセリンプロテアーゼ阻害剤により精子を処理すると、受精率の著しい低下が観察された。この現象は、ウナギだけではなくハタ科の魚類によっても確認された。これらの結果から、トリプシン様のプロテアーゼは、受精にも重要な役割を果たすことが、明らかとなった。

上述のように、トリプシンは減数分裂の制御に関わるものの、単独では減数分裂の全過程を誘導することが出来ない。そこで、トリプシン以外の減数分裂の制御に関わる因子、あるいはトリプシンとの相互作用によって減数分裂の制御に関わる因子の検索を行った。

減数分裂を誘導する性ステロイドホルモン：DHPにより精巣で発現が誘導されるものの中にシステインデオキシゲナーゼ (CDO1) がある。この酵素は、システインからタウリンを合成する際に必須の酵素である。そこで、本研究では、トリプシン以外の減数分裂の制御に関わる因子の候補の一つとしてタウリンに着目して、研究を行った。

アミノ酸の誘導体であるタウリンは、肝臓で合成され、様々な生理機能を有していることが知られているが、配偶子形成への作用に関する知見は、ほとんど存在しない。タウリンの精子形成および減数分裂への作用を解析する第一段階として、精巣でのタウリン合成機構について調べた。

ウナギの生体外精巣器官培養系を用いて、タウリンの精巣での産生機構を調べた。タウリン合成には、上述の CDO とシステインするフィン酸脱炭酸酵素 (CSD) が関わっているが、これらの酵素のうち CDO のみが DHP の刺激により精巣での発現が遺伝子レベルで誘導され、タウリンの産生を誘起することが明らかとなった。CDO および CSD の精巣内での局在により、タ

ウリンが精巣のどこで産生されているかを調べたところ、セルトリ細胞で産生されていることが明らかとなった。

タウリンが精子形成に及ぼす作用を各種生体外培養系により調べた。その結果、タウリンには精原細胞の DNA 合成と活性酸素除去酵素 (SOD) の活性を促進させる作用があること、この作用は、タウリンの細胞への輸送を司り、DHP の刺激により精巣での発現が促進されるタウリントランスポーター (TauT) を介していることが明らかとなった。

DHP の作用により発現が誘導されるタウリンとトリプシンの間に相互関係があるか否かを生体外培養系により解析した。その結果、タウリンとトリプシンは、精原細胞での DNA 合成を相互に促進し合っていることが明らかとなり、その機構はトリプシンがタウリントランスポーターの発現を誘導し、これによってタウリンの精原細胞内への輸送が促進されることが明らかとなった。

タウリンとトリプシンの相互作用が減数分裂の制御に関わるか否かを解析した。その結果、タウリンとトリプシンの相互作用により、精原細胞で、減数分裂時の相同染色体の対合を示す分子マーカー SYCP3 の発現が誘導されることから、両因子の相互作用により減数分裂が誘導されることが明らかとなった。この相互作用のメカニズムは、トリプシンが減数分裂の誘導に関わる *spo11β* の発現を誘導するとともに、TauT の発現を誘導し、精原細胞内に DHP の刺激により精巣内で合成されたタウリンを精原細胞内に輸送し、さらに輸送されたタウリンが *spo11β* のスプライシングを誘導し *spo11α* を出現させ、この 2 種類の *spo11* が減数分裂を誘導することが明らかとなった。

以上本研究では、精巣で発現が認められた消化酵素：トリプシンが精子形成および受精に重要な働きを持つこと、特に減数分裂の過程に関して、トリプシンとアミノ酸誘導体であるタウリンが、相互に作用し制御していることを明らかにした。

今後これらの基礎研究の成果が、精子形成に限らず、卵形成も含めた配偶子形成の制御機構の解明、さらには新しい生物生産技術の確立にも役立つものと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 28 件)

1. Higuchi, M., Celino, F. T., Tamai, A., Miura, C. and Miura, T.: The synthesis and role of

- taurine in the Japanese eel testis. *Amino Acids*, DOI 10.1007/s00726-011-1128-3 (in press).
2. Higuchi, M., Celino, F. T., Miura, C. and Miura, T.: The role of taurine in the eel spermatogenesis. *Proceedings of YSEPE2011* (in press).
 3. Kazeto, Y., Koyama, M., Tosaka, R., Gen, K., Yokoyama, M., Miura, C., Miura, T., Adachi, S. and Yamauchi, K.: Molecular characterization and gene expression of Japanese eel (*Anguilla japonica*) gonadotropin receptors. *Zoological Science* (in press).
 4. Celino F.T., Yamaguchi, S., Miura, C., Ohta, T., Tozawa, Y., Iwai, T. and Miura, T.: Tolerance of spermatogonia to oxidative stress is due to high levels of Zn and Cu/Zn superoxide dismutase. *Plos One*, 6(2) e16938 (2011).
 5. Ito, K., Nozaki, M., Ohta, T., Miura, C., Tozawa, Y. and Miura, T.: Differences of two polychaete species reflected in enzyme activities. *Marine Biology* 150:1211-1221 (2011).
 6. Ohta, T., Ueda, Y., Ito, K., Miura, C., Yamashita, H., Miura, T. and Tozawa, Y.: Anti-viral effects of interferon administration on seven-band grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. *Fish & Shellfish Immunology* 30:1064-1071 (2011).
 7. Miura, C., Miura, T.: Analysis of spermatogenesis using an eel model. *Aqua-Bio Science Monographs*. 4:105-129 (2011).
 8. Miura, C., Shimizu, Y., Uehara, M., Ozaki, Y., Young, G. and Miura, T.: Growth hormone is produced by the testis of Japanese eel and stimulates proliferation of spermatogonia. *Reproduction* 142:869-877 (2011).
 9. 三浦智恵美・三浦 猛：マダイの成長と免疫系に及ぼすオニヒトデの効果. 養殖 48 (2): 44-47 (2011).
 10. 三浦 猛・三浦智恵美・三浦仁嗣：技術-養殖ブリの産卵リスクとその制御のための給餌管理-制限給餌による成熟抑制と成長遅滞の解消-. アクアネット 14 (1): 52-59 (2011).
 11. 三浦 猛：“嫌われ者”オニヒトデの意外な利用法. アクアネット, 13 (3), 25. (2010).
 12. 三浦 猛：魚粉代替飼料減量としてのイェバエ幼虫とサナギの有効性. 養殖, 47 (3): 44-46 (2010).
 13. Schulz, R., Luiz, F., Jean-Jacques L., LeGac F., Chiarini-Garcia F., Nobrega, H. and Miura, T.: Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology* 165: 390-411 (2010).
 14. Ito, K., Nozaki, N., Kunihiro, T., Miura, C. and Miura, T.: Study of sediment cleanup using polychaete. *International Symposium on Modeling and Analysis of Marine Environmental Problems* (MAMEP Sympo. 2010)133-139 (2010).
 15. Yamaguchi, S., Miura, C. and Miura, T.: The influence of water pollution on reproduction of aquatic animals living in the Indochina Peninsula. *Chemical Pollution in Indochina*. Edt. By Satoru Suzuki and Hideshige Takada. Tokai University Press, 113-126 (2009).
 16. Miura, C., Ohta, T., Ozaki, Y., Tanaka, H. and Miura, T.: Trypsin is a multifunctional factor in spermatogenesis. *PNAS*, 106: 20972-20977 (2009).
 17. Celino, F. T., Yamaguchi, S., Miura, C., and Miura, T.: Arsenic inhibits *in vitro* spermatogenesis and induces germ cell apoptosis in Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Reproduction*, 138: 279 - 287 (2009).
 18. Yamaguchi, S., Miura C., Kikuchi, K., Celino, F. T., Agusa, T., Tanabe, S., and Miura, T.: Zinc is an essential trace element for spermatogenesis. *PNAS*, 106: 10859-10864 (2009).
 19. Nozaki, M., Miura, C., Tozawa, Y. and Miura, T.: The contribution of endogenous cellulase to cellulose digestion in the gut of earthworm. *Soil Biol. Biochem.* 41: 762-769 (2009).
 20. 三浦 猛：環境化学物質と魚介類の生殖分子でよむ環境汚染（鈴木聡編著）・東海大学出版会. 102-121 (2009).
 21. Miura, T. and Miura, C.: Progesterin is an essential factor for the initiation of the meiosis in spermatogenesis and early oogenesis in fish. *Cybium* 32(2): suppl. 130-132 (2008).
 22. Miura, C., Ozaki, Y., Higuchi, M., Ohta, T. and Miura, T.: 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one induced substances, trypsin and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase, are important factors for control of spermatogenesis in Japanese eel. *Cybium* 32(2): suppl. 164 (2008).
 23. Ohta, T., Miura, C., Shimizu, Y., Mizuno, K., Matsubara, H., Tanaka, H. and Miura, T.: The role of trypsin-like protease in sperm on fertilization in fish. *Cybium* 32(2): suppl. 166 (2008).
 24. Yamaguchi, S., Miura, C., Celino, F. T., and Miura, T.: Effects of trace elements on spermatogenesis and androgen production in fish. *Cybium* 32(2): suppl. 165 (2008).

25. Celino, F. T., Yamaguchi, S., Miura, C. and Miura T.: Testicular Toxicity of Arsenic on Spermatogenesis in Fish. *Proceedings of the International Symposium on Biological Responses to Chemical Pollutants: Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry*, Ehime, March 2007, 55-60 (2008).
 26. Nozaki, M., Miura, C., Tozawa, Y. and Miura, T.: The role of the earthworm, *Pheretima (Metaphire) hilgendorfi*, in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Proceedings of the International Symposium on Biological Responses to Chemical Pollutants: Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry*, Ehime, March 2007, 275-279. (2008)
 27. Yamaguchi, S., Celino, F. T., Ito, A., Agusa, T., Tanabe, S., Tuyen, B. C., Miura, C. and Miura, T.: Effects of arsenic on gonadal development in freshwater crab, *Somanniathelphusa pax*, in Vietnam and *Geothelphusa dehaani* in Japan. *Ecotoxicology* 17: 772-780. (2008).
 28. Kazeto Y., Kohara M., Miura T., Miura C., Yamaguchi S., Trant J. M., Adachi S. and Yamauchi, K.: Japanese Eel Follicle-Stimulating Hormone (Fsh) and Luteinizing Hormone (Lh): Production of Biologically Active Recombinant Fsh and Lh by Drosophila S2 Cells and Their Differential Actions on the Reproductive Biology. *Biol. Reprod.* 79: 938-946 (2008).
- [学会発表] (計 37 件)
1. Higuchi, M., Celino, F. T., Miura, C. and Miura, T.: Effect of taurine on eel spermatogenesis. *International symposium on Advanced Studies by Young Scientists on Environmental Pollution and Ecotoxicology*, Matsuyama, Japan, August. Abstract book, 33 (2011).
 2. Miura, T.: Recent research trend for the culture of pearls in Uwa sea, Ehime. The international Symposium on Pearl Research, Tokyo, Japan, October, Abstract book, 23 (2011).
 3. Watanabe, N., Celino, F. T., Miura, C., Ohashi, H., Fukushima, E., Iwai, T., Hosokawa, H., Uchimura, Y. and Miura, T.: The induction of sterility using RNA interference technique in *Pinctada fucata martensi*. The international Symposium on Pearl Research, Tokyo, Japan, October, Abstract book, 31 (2011).
 4. Sone, K., Iwai, T., Uehara, M., Watanabe, N., Celino, F. T., Hosokawa, H., Odawara, K., Miura, C. and Miura, T.: Selective bleeding of disease-resistant Japanese pearl oysters using molecular markers. The international Symposium on Pearl Research, Tokyo, Japan, October, Abstract book, 32 (2011).
 5. Fukushima, E., Iwai, T., Miura, C., Watanabe, N., Urasaki, S., Kuwayama, K., Odawara, K. and Miura, T.: Newly developed technique of producing pearl using mantle fragment of *Pinctada margaritifera* and *Pteria penguin* in hyposensitized Akoya pearl oyster, *Pinctada fucata*. The international Symposium on Pearl Research, Tokyo, Japan, October, Abstract book, 33 (2011).
 6. Higuchi, M., Miura, C. and Miura, T.: Synthesis of taurine and its role in Japanese eel spermatogenesis. World Congress on Reproductive Biology, Cairns, Australia, October. Abstract book, 123 (2011).
 7. Miura, C., Shimizu, Y., Uehara, M., Ozaki, Y., Young, G. and Miura, T.: Growth hormone in synthesis in the testis and stimulates spermatogonial proliferation in Japanese eel, *Anguilla japonica* World Congress on Reproductive Biology, Cairns, Australia, October. Abstract book, 189 (2011).
 8. Bhatta, S., Iwai, T., Miura, C., Higuchi, M., Yamaguchi, S. and Miura, T.: Gonad in one of the control organs for growth in fish. World Congress on Reproductive Biology, Cairns, Australia, October. Abstract book, 191 (2011).
 9. Miura, C., Ohta, T. and Miura, T.: Testicular trypsins are important substances for the control of initiation of meiosis, spermiogenesis and fertilization. An international symposium in honor of Professor Nagahama, Y.: Sex determination and gametogenesis in fish: current status and future directions. Hawaii, USA, May, Abstract P26 (2008).
 10. Maugars, G., Shimizu, Y., Uehara, M., Miura, C. and Miura, T.: Study on the role of GH and GH-related proteins in spermatogenesis in Japanese eel. An international symposium in honor of Professor Nagahama, Y.: Sex determination and gametogenesis in fish: current status and future directions. Hawaii, USA, May, Abstract P23 (2008).
 11. Yamaguchi, S., Miura, C., Celino, F. T., Agusa, T. and Miura, T.: Effects of zinc on spermatogenesis in Japanese eel (*Anguilla Japonica*). An international symposium in honor of Professor Nagahama, Y.: Sex determination and gametogenesis in fish: current status and future directions. Hawaii, USA, May, Abstract P25 (2008).
 12. Celino, F. T., Yamaguchi, S., Miura, C. and

- Miura, T.: Analysis of the direct influence of arsenic on fish spermatogenesis using eel testicular culture system. An international symposium in honor of Professor Nagahama, Y.: Sex determination and gametogenesis in fish: current status and future directions. Hawaii, USA, May, Abstract P20 (2008).
13. Celino, F. T., Yamaguchi, S., Miura, C. and Miura, T.: Male reproductive toxicity of arsenic in fish: an in vitro study using eel culture system. Calgary, Canada, June. Abstract S9-4 (2008).
 14. Sandip Bhatta・岩井俊治・樋口理人・山口園子・三浦智恵美・三浦 猛: 魚類の成長を直接コントロールする器官としての生殖腺, 平成 23 年度日本水産学会春季大会, 東京都, 3 月, 講演要旨集, 29 (2011).
 15. 樋口理人・Celino, F. T.・玉井綾子・山口園子・三浦智恵美・三浦 猛: ニホンウナギ精巣でのタウリン合成機構, 平成 23 年度日本水産学会春季大会, 東京都, 3 月, 講演要旨集, 140 (2011).
 16. Sandip Bhatta・岩井俊治・三浦智恵美・*樋口理人・清水園子・三浦 猛: 生殖腺は魚類の成長をコントロールする, 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎市, 9-10 月, 講演要旨集, 53 (2011).
 17. Sandip Bhatta・樋口理人・岩井俊治・清水園子・三浦智恵美・三浦 猛: ティラピアの成長の雌雄差と生殖腺の発達の関係について, 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎市, 9-10 月, 講演要旨集, 53 (2011).
 18. 樋口理人・三浦智恵美・三浦 猛: タウリンがウナギ精子形成の及ぼす作用 1, 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎市, 9-10 月, 講演要旨集, 53 (2011).
 19. 樋口理人・三浦智恵美・三浦 猛: タウリンがウナギ精子形成の及ぼす作用 2, 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎市, 9-10 月, 講演要旨集, 53 (2011).
 20. 樋口理人・三浦智恵美・三浦 猛: タウリンがウナギ精子形成の及ぼす作用 3, 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎市, 9-10 月, 講演要旨集, 54 (2011).
 21. 三浦智恵美・伊藤克敏・上田祐輔・太田加代子・岩井俊治・太田耕平・浦崎慎太郎・山本正文・三浦 猛: オニヒトデのマダイ成長と免疫系に及ぼす効果. 平成 22 年度日本水産学会秋季大会. 京都. 9 月. 講演要旨集 47 (2010).
 22. 吉原勇作・三浦智恵美・山口園子・樋口理人・竹田 豊・浜田克人・三浦仁嗣・三浦 猛: 制限給餌による養殖ブリの成熟・成長コントロール. 平成 22 年度日本水産学会秋季大会. 京都. 9 月. 講演要旨集 49 (2010).
 23. 岩井俊治・伊藤克敏・上田祐輔・三浦智恵美・浦崎慎太郎・太田加代子・山口園子・串間充崇・三浦 猛: イエバエ由来物の魚類成長および免疫系への作用. 平成 22 年度日本水産学会秋季大会. 京都. 9 月. 講演要旨集 49 (2010).
 24. 山口園子・Fritze T. Celino・三浦智恵美・三浦 猛: 酸化ストレスに対する魚類精原細胞の防御機構. 平成 22 年度日本水産学会秋季大会. 京都. 9 月. 講演要旨集 20 (2010).
 25. 上田祐輔・太田 史・伊藤克敏・岩井俊治・浦崎慎太郎・山下浩史・戸澤 讓・三浦智恵美・三浦 猛: マハタ組み換えインターフェロンの効果. 平成 22 年度日本水産学会秋季大会. 京都. 9 月. 講演要旨集 52 (2010).
 26. 山口園子・Celino, F. T.・三浦智恵美・太田 史・戸澤 讓・三浦 猛: ニホンウナギ精巣における抗酸化機構. 平成 21 年度日本水産学会春季大会, 東京, 4 月, 講演要旨集 319. (2009).
 27. 上原真保・清水陽介・三浦智恵美・三浦 猛: 成長ホルモンのウナギ精巣への作用に関する研究. 平成 21 年度日本水産学会春季大会, 東京, 4 月, 講演要旨集 320. (2009).
 28. 三浦智恵美・太田 史・三浦 猛: ニホンウナギ精子形成でのトリプシン関連因子の発現解析. 平成 21 年度日本水産学会春季大会. 東京. 3 月. 講演要旨集 321 (2009).
 29. Celino, F. T., Yamaguchi, S., Miura, C. and Miura, T. : Impact of oxidative stress on *in vitro* Japanese eel spermatogenesis. 平成 21 年度日本水産学会春季大会, 東京, 3 月. 講演要旨集 322 (2009).
 30. 三浦 猛: 亜鉛は精子形成にとって必須元素. 日本動物学会北海道支部第 532 回支部講演会, 札幌, 11 月 (2009).
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
三浦 猛 (MIURA TAKESHI)
愛媛大学・南予水産研究センター・教授
研究者番号: 00261339
 - (2) 研究分担者
小林 亨 (KOBAYASHI TOURU)
静岡県立大学・環境科学研究所・教授
研究者番号: 30221972