

生物胺對甲殼類性腺發育的調控

許晉榮

水產試驗所海水繫養殖研究中心

前言

在魚類的養殖上，利用注射天然或人工合成的化學物質，促使其性腺成熟，進而排出精、卵，完成授精，達到種苗生產目的，已經是一種常用的技術。然而對甲殼類 (crustacean) 而言，要利用注射藥物達成性腺催熟的目的，仍然相當困難。因為要利用注射藥物催熟性腺，端賴於兩項條件是否具備：一是對該動物的生殖生理，尤其是內分泌調控的機制必須有充分的了解；另一則是要有便宜且方便取得的藥物，不論它是由動物本身萃取提煉，或是人工合成之替代品。魚類因與哺乳類同屬於脊椎動物，因此哺乳類的生殖生理研究成果有助於對魚類生殖內分泌調控機制的了解，且兩者的生殖激素有相當高的同源性，因此可借用醫學及獸醫學上的藥物來達到催熟的目的。

甲殼類之生殖內分泌的調控機制迄今仍未完全究明 (Van Herp and Payen, 1991)。目前以人工催熟蝦類卵巢成熟，多數仍是利用剪除眼柄的方式，因為其眼柄內的 X-器官-血竇腺 (X-organ-sinus gland) 中存有卵黃生成抑制激素 (vitellogenesis inhibiting hormone, VIH)，會抑制性腺成熟。不過這種方式，除了會耗損種蝦外，卵質通常也較差 (Benzie, 1998)。因此，尋找更有效的控制性腺成熟的方式，或是經由注射某些藥物催熟種蝦而不會使其耗損，仍是許多實驗室及業者努力的目標。

生物胺 (biogenic amine)，主要是多巴胺

(dopamine, DA) 及血清素 (serotonin，或稱 5-羥色胺，5-hydroxytryptamine, 5-HT)，已被發現具有調控甲殼類性腺發育的能力，由於其相關藥物在醫學上已大量應用，若對其調控性腺成熟的機制有更為深入的了解，將有助於達成大量生產甲殼類種苗的目標。

多巴胺與血清素的介紹

多巴胺及血清素都是胺基酸的衍生物。多巴胺屬於兒茶酚胺 (catecholamines) 一類，源自酪胺酸 (tyrosine)，血清素則源自色胺酸 (tryptophan)。這兩種胺類在生物體內所扮演的生理角色，多是作為各種神經調控物質 (neuromodulators)，或是神經激素 (neurohormones) (Fingerman et al., 1994)。在甲殼類的中樞神經系統，包括 X-器官、腦、胸神經節等處，都可以發現多巴胺及血清素的存在。它們影響心跳頻率、呼吸速率、消化道肌肉收縮等生理功能，也調控體內多種神經激素和激素的分泌，如卵黃生成抑制激素、蛻殼抑制激素 (molt-inhibiting hormone, MIH)、甲殼類高糖激素 (crustacean hyperglycemic hormone, CHH)、紅色素聚合激素 (red pigment concentrating hormone, RPCH)、青春激素 (juvenile hormone, 或 methyl farnesoate) 等 (Fingerman, 1994)。

多巴胺和血清素在細胞間的作用機制大抵相同。當含有多巴胺或血清素的神經元受到刺激，胞膜上的鈣離子通道 (voltage-sensitive calcium channel) 會打開，讓胞外的

鈣離子進入細胞，含有兩種生物胺的小泡會在神經末端的活化區 (active zones) 與胞膜癒合，釋放出的分子經過突觸間隙與突觸後細胞上的受器結合，即引發作用細胞一連串的反應。作用後的多巴胺或血清素或被酵素分解代謝，或被原分泌的神經元回收，留待下次分泌再使用 (Strange, 1992)。目前在哺乳動物體內發現有五種多巴胺的受器 (receptor)，分屬兩大類，D₁ 及 D₅ 結構相似屬一類，D₂、D₃ 及 D₄ 則是另一大類；而血清素受器則由 5-HT₁ 到 5-HT₇，可分為七大類，其中有些又可再細分為數類，例如 5-HT₁ 可再分為 5-HT_{1A}、5-HT_{1B}、5-HT_{1D}、5-HT_{1E}、5-HT_{1F}，這些受器所牽涉的訊號傳遞系統並不相同 (Cooper et al., 1991; Kuhar et al., 1999; Frazer and Hensler, 1999; Barends and Sharp, 1999)。不同受器對於不同藥物的親合力不同，因此可以利用不同型態的類似物 (agonist) 與拮抗物 (antagonist) 去分析、鑑別不同反應細胞上受器的型態。在甲殼類動物，有關兩種胺類受器的了解較少，多數只有片段的知識，未有較為完全的調查。

多巴胺與血清素對甲殼類性腺的調控

基本上，經過近 15 年來研究，目前已知道，血清素可促進甲殼類性腺成熟，而多巴胺則是相反。血清素具促進甲殼類性腺發育的功能，是由美國杜蘭大學 Fingerman 教授之實驗室所發現，他們在異鉗蟹 (*Uca pugilator*) 體內注射三種生物胺—血清素、多巴胺及真蛸胺 (octopamine)，每隻蟹的劑量由 1.25×10^{-9} 到 1.25×10^{-7} mole。以間隔一天注射的方式，共注射 3 次，於實驗第 7 天取出卵巢。由卵巢發育的情形看來，三

種藥物中，以血清素對卵巢發育促進的效果最好。接著，他們注射了血清素受器的拮抗物—LY53857，果然對異鉗蟹卵巢的發育產生抑制效果，正反兩實驗顯示血清素的確具有促進異鉗蟹卵巢發育的作用 (Richardson et al., 1991)。Kulkarni and Fingerman (1992) 又在異鉗蟹體內注射兩種血清素的類似物—fluoxetine 及 fenfluramine。fluoxetine 是血清素專一性回收抑制劑 (selective serotonergic reuptake inhibitor, SSRI)，它可以專一性地抑制已分泌的血清素回收，延長其作用時間；fenfluramine 則具有刺激血清素分泌的功能，兩者皆能模擬血清素的作用。兩種藥物及血清素皆以每隻蟹 1.25×10^{-7} mole 的劑量注射，在實驗的第 1、5、10 天注射，第 15 天取出卵巢檢視其發育進度。結果不論是卵巢指數 (ovarian index，卵巢濕重/體重 $\times 100$) 或是卵細胞面積，注射藥物的實驗組均比注射生理食鹽水的對照組高，且兩種藥物與血清素之間還具有加成性。Sarojini et al. (1993) 也發現血清素亦具有促進雄異鉗蟹精巢發育的效果；不過這種促進效果卻會被多巴胺及其類似物 ADTN 所抑制；相反的，多巴胺拮抗物-spiperone 和血清素一樣會促進雄異鉗蟹精巢的發育 (Sarojini et al., 1995a)。

除了異鉗蟹外，Kulkarni et al. (1992, 1994) 同樣也發現注射血清素及其類似物可以促進紅沼螯蟹 (*Procambarus clarkii*) 之性腺發育。Kulkarni et al. (1992) 更經由離體實驗 (*in vitro*)，嘗試了解血清素對性腺促進作用的機制。他們將注射過血清素，fenfluramine 或 fluoxetine 的紅沼螯蟹卵巢取下，與含有 ¹⁴C-白胺酸 (leucine) 的培養液共同培養一天後，發現 ¹⁴C-白胺酸併入各組之卵巢的卵蛋白質含量比對照組高出許多。但將未施打任何藥物的卵巢，與血清

素、 ^{14}C -白胺酸共同培養一天後，卻未發現與對照組有任何差異。Sarojini et al. (1995b) 則是將紅沼螯蟹的卵巢分別與肌肉 (對照組)、眼柄、腦或胸神經節共同培養，再依培養液中是否添加血清素分為八組。在培養一天後，與腦或胸神經節共同培養的卵巢，其卵母細胞卵徑明顯大於其餘兩組，且添加血清素者更有加成的作用。他們繼以血清素和上述四組織共同培養 30 分後，取其上清液，不論是添加在卵巢培養液中，或注射入蝦體內，都可以明顯看出，腦及胸神經節組具有最好的促進卵巢發育效果。這些實驗說明血清素無法直接促進卵巢發育，而是間接的，經過腦、胸神經節組織的某種未知因子與性腺作用，才能促進它們的發育。Sarojini et al. (1995c,d) 及 Rodríguez et al. (2002) 也發現紅沼螯蟹注射多巴胺及其類似物，具有抑制血清素誘導促進性腺發育的效果。

血清素和多巴胺的作用機制

由上述可知，血清素促進甲殼類性腺發育的作用，主要是經由刺激胸神經節或腦中某種「會促進性腺發育的因子」分泌所致，而此物質可能是卵黃生成促進激素 (vitellogenesis stimulating hormone, VSH)。四十餘年前，Ostu and Hanoaka (1951) 就認為甲殼類體內有一種卵黃生成促進激素可以促進性腺的發育，它所在的部位可能是腦或胸神經節。有些實驗的確也顯示不論是移植腦、胸神經節或注射其均質液都會促進甲殼類卵巢的發育 (Eastman-Reks and Fingerman, 1984 ; Takayanaki et al., 1986 ; Yano et al., 1988 ; 廖等, 2001 ; 孫及廖, 2003)。而 Fuji and Takeda (1988) 及 Real and Czernasty (1990) 以免疫細胞化學的技術，在紅沼螯蟹

的腦及胸神經節均曾發現含血清素神經元的分布。Kulkarni and Fingerman (1992) 則以高效液相層析配合電化學偵檢 (HPLC-EC) 測出其含量約在 120-170 pg/mg tissue 之間。最近，Sosa et al. (2004) 也在紅沼螯蟹、淡水長臂大蝦及龍蝦 (*Panulirus interruptus*) 的胸神經節找到一種 5-HT_1 受器。但至目前為止，還是未能將卵黃生成促進激素加以確定、純化及定序。

至於多巴胺對甲殼類性腺的抑制作用，Sarojini et al. (1995d) 認為，可能是經由抑制腦或胸神經節的卵黃生成促進激素、刺激 X-器官-血竇腺內卵黃生成抑制激素，或兩個生理調控共同作用所致。Chen et al. (2003) 最近發現多巴胺抑制淡水長臂大蝦卵黃前質合成 (vitellogenesis) 的作用可能是經由 D_1 型受器進行，且其作用在眼柄去除者仍有效果，因此認定多巴胺對甲殼類卵巢的抑制效果，是經由抑制腦或胸神經節的卵黃生成促進激素所致，而非刺激 X-器官-血竇腺內卵黃生成抑制激素所造成。不過 Zapata et al. (2003) 在蟹類 (*Chasmagnathus granulata*) 的離體實驗卻發現，多巴胺拮抗物-spiperone 與胸神經節及卵巢共處時，具有促進卵巢發育的能力，而它與眼柄及卵巢共處時，又具有反轉眼柄內卵黃生成抑制激素對卵巢發育的抑制效果。此顯示多巴胺調控卵巢發育的機制，仍有待進一步研究。

血清素與多巴胺對甲殼類性腺發育的調控作用，不論是經由注射或體外培養的方式，已陸續在多種蝦、蟹類身上發現，其處理方法與結果可見表 1、2。

結語

Alfaro et al. (2004) 發現，以血清素及

spierone 共同注射白蝦 (*Litopenaeus vannamei*) 及尖額濱對蝦 (*L. styliostris*) 時，其卵巢成熟及產卵的誘導效果與所產下之卵質均不遜於單邊眼柄摘除者，且又有較低的死亡率。更有趣的是，他們發現注射血清素及 spierone 組之蝦子似乎會產生費洛蒙來誘導未注射的蝦子，造成其卵巢也有發育的現象。此結果讓利用這兩種胺類及相關藥物去促進甲殼類性腺發育的研究更有吸引力。

多巴胺及血清素都是生物體內即有的神經激素，在醫學上，由於此兩種胺類與許多

精神疾病有關，因此許多類似物與拮抗物都已被發展出來。以血清素為例，缺乏血清素被發現與憂鬱症有關，前述之 fluoxetine 可專一性地抑制已分泌的血清素回收，延長其作用時間，已被廣泛地使用在臨床上治療憂鬱症的藥物 (Clark et al., 1992)，其商品名稱為 Prozac，就是有名的“百憂解”。因此能否利用這兩種藥物在醫學上的藥理基礎於漁業，尤其是甲殼類動物的性腺催熟，減少種蝦蟹的耗損，是一個很有潛力的發展方向。

表 1 血清動素促進雌性甲殼類卵巢發育的情況

種	類	處	理	情	形	結	果
中國對蝦 (<i>Penaeus chinensis</i>) ¹		實驗 20 天，第 1、10 天注射 10 ng/g				GSI 上升 44.7%	
白蝦 (<i>Litopenaeus vannamei</i>) ²		實驗 46 天，第 1、11、21 天注射 15 及 50 µg/g				刺激卵黃成熟及產卵	
淡水長臂大蝦 (<i>Macrobrachium resenbergi</i>) ³		實驗 20 天，每隻蝦在第 1 天及每 4 天注射 2.5 × 10 ⁻⁶ –10 ⁻⁸ mole				刺激卵黃前質合成	
紅沼螯蟹 (<i>Procambarus clarkii</i>) ⁴		A. 實驗 15 天，每隻蟹在第 1、5、10 注射 15 µg/g				促進 GSI 及卵母細胞直徑增加	
		B. 離體實驗，將 15 µg/g 之 5-HT 與腦或胸神經節及卵巢共置				促進卵母細胞直徑增加	
鋸緣青蟹 (<i>Scylla serrata</i>) ⁵		A. 實驗 15 天，每隻蟹在第 1、5、10 注射 1 µg/g				促進 GSI 及卵母細胞直徑增加	
		B. 離體實驗，將 1 µg/g 之 5-HT 與腦或胸神經節及卵巢共置				促進卵母細胞直徑增加	
中華絨螯蟹 (<i>Eiocheir sinensis</i>) ⁶		離體實驗，將 1 µg/g 之 5-HT 與腦或胸神經節及卵巢共置				促進卵母細胞直徑增加	
異鉗蟹 (<i>Uca pugilator</i>) ⁷		實驗 7 天，第 1、3、5 天注射 1.25 × 10 ⁻⁷ –10 ⁻⁹ mole				刺激卵黃成熟	

資料來源：¹ 蔡及楊(2000); ² Vaca and Alfaro (2000); ³ Chen et al. (2003); ⁴ Kulkarni et al. (1992); ⁵ 葉等(2003); ⁶ 崔等(2005); ⁷ Richardson et al. (1991)

表 2 多巴胺抑制甲殼類性腺發育的情況

種	類	處	理	情	形	結	果
淡水長臂大蝦 ¹		實驗 20 天，每隻蝦在第 1 天及每 4 天注射 2.5 × 10 ⁻⁶ –10 ⁻⁸ mole DA				抑制卵黃前質合成	
紅沼螯蟹 ²		實驗 15 天，每隻蟹在第 1、5、10 注射 10 ⁻⁶ mole 的 DA 及 5-HT				抑制 5-HT 所誘發的卵黃成熟及精巢發育	
鋸緣青蟹 ³		實驗 15 天，每隻蟹在第 1、5、10 注射 1 µg/g DA				精巢成熟節段比例較低	
異鉗蟹 ⁴		實驗 15 天，每隻蟹在第 1、5、10 注射 10 ⁻⁷ –10 ⁻⁹ mole 的 DA				抑制精巢發育	

資料來源：¹ Chen et al. (2003); ² Sarojini et al. (1995c); ³ 葉等(2006); ⁴ Sarojini et al. (1995a)