

硬骨魚之類固醇合成與功能

劉恩良、黃德威、楊順德

水產試驗所淡水繁養殖研究中心

前言

歷史上第一個合成的類固醇是 1935 年德國研究人員所發表的睪固酮 (testosterone)，當時主要是用於治療憂鬱症。1954 年蘇聯舉重選手因使用睪固酮，在當年的奧運會上大放異彩，引起舉世注目。早期魚類內分泌學研究多建立在人類或哺乳類內分泌學技術基礎之上；根據世界魚類分類階層樹狀名錄 (臺灣魚類資料庫)，軟骨魚綱 (1,201 種)、盲鰻綱 (78 種) 及七鰓鰻綱 (47 種) 總計僅佔現今魚類 4%，因此大多數類固醇的研究多以硬骨魚類為對象 (以條鰭魚綱為主)。

硬骨魚類之類固醇合成器官為生殖腺、腎間腺 (interrenal gland) 與腦，常見的硬骨魚類固醇如圖 1 所示，其共同的前驅物為膽固醇 (cholesterol)。硬骨魚之類固醇合成途徑與人類相似，以具有 27 個碳的膽固醇 (C27) 為原料，經細胞色素 P450 (CYP) 與羥基類固醇脫氫酶 (hydroxysteroid dehydrogenase, HSD) 作用，依序合成 C21、C19、C18 之類固醇 (圖 2)。與人類不同之處在於：(1) 魚類缺少醛固酮 (aldosterone)，故皮質酮 (corticosterone) 在魚類合成代謝途徑是終端產物，而在人類是中間產物；(2) 魚類的成熟誘導類固醇是 $17\alpha, 20\beta$ -dihydroxy-

4-pregnen-3-one ($17\alpha, 20\beta$ DHP) 和 $17\alpha, 20\beta, 21$ -trihydroxy-4-pregnen-3-one (20β -S)，但是人類並不具有這兩種類固醇；(3) 魚類雄激素合成途徑則較為多元，主要功能雄激素是 11-ketotestosterone (11KT)；而人類是睪固酮和 5α -dihydrotestosterone (DHT) (Tokarz et al., 2015)。

類固醇在魚類生殖之調控

硬骨魚類的生殖作用受到下視丘-腦下垂體-生殖腺軸 (Hypothalamus-Pituitary-Gonad, HPG axis) 之調控，腦下垂體分泌促性腺激素 (gonadotropins) 刺激生殖腺合成性類固醇激素，促進生殖細胞之發育與成熟。雌魚腦下垂體分泌濾泡刺激素 (follicle stimulating hormone, FSH)，促使卵巢顆粒膜細胞 (granulosa cells) 產生雌激素 (estradiol, E_2)， E_2 隨血液到肝臟刺激肝細胞合成卵黃素前質 (vitellogenin, Vg)，Vg 再由血液運送到卵巢，由卵細胞吸收經酵素作用形成卵黃。待卵黃堆積完成， E_2 濃度會受環香化酵素 (aromatase, CYP19A1) 調控而減少 (Lubzens et al., 2010)，腦下垂體分泌黃體激素 (luteinizing hormone, LH) 刺激卵顆粒膜細胞合成 $17\alpha, 20\beta$ DHP，便開啟卵細胞成熟機制。其細胞學特徵包括生殖泡崩解

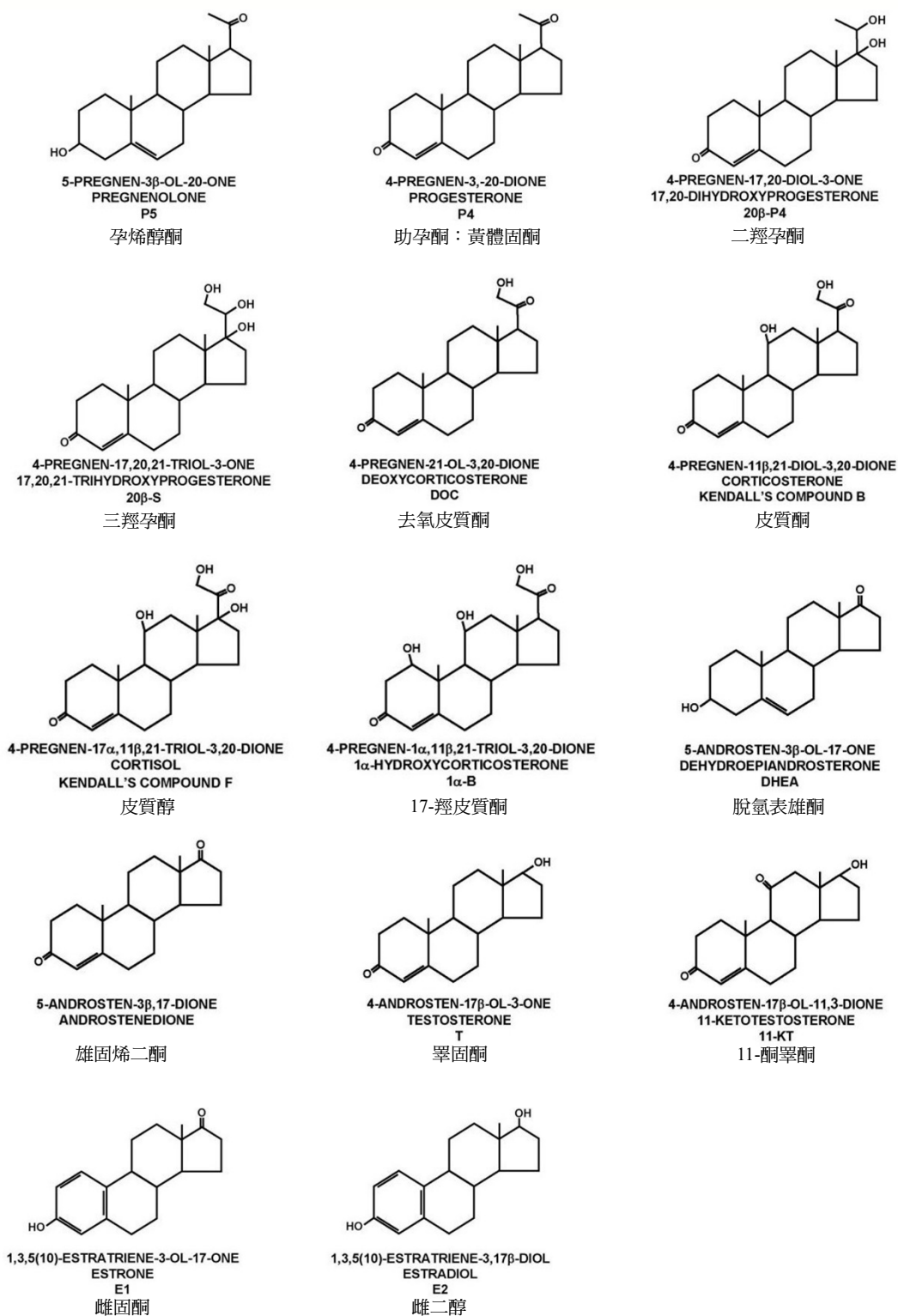
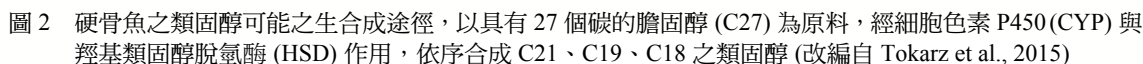


圖 1 硬骨魚常見之類固醇 (改編自 Nunez, 2007；中文名：國家教育研究院雙語語彙)



類固醇對魚類性別決定之影響

因或多基因調控)或環境因子控制(諸如溫度、pH、族群結構)。魚類性別形態有所謂兩性(gonochorism)與變性(hermaphroditism)兩種,變性魚依性成熟時間可分同時(synchronic)與順序(sequential)變性兩型,後者又可分雄性先熟(protandrous)與雌性先熟(proto gynous)兩類。儘管魚類的性別具有高度可塑性,雌激素與雄激素在性別決定與性別分化過程扮演重要角色是不變的。雌激素與雄激素的比例決定魚類性別分化的走向;較多的雌激素導致雌性分化;較多的雄激素導致雄性分化(Devlin and Nagahama, 2002)。當魚類原始生殖細胞(primordial germ cells)在性別分化前有一段性別空窗期,此時性類固醇激素可以逆轉遺傳的性別,這一點已經在日本青鱈獲得證明,而每一魚種的性別未分化期的時間不一,是人工性轉變重要的施作時間。性類固

醇激素不僅是性別分化所必需，而且對魚類外表性徵的維持也扮演重要角色。在許多雄性先熟的變性魚（如黑鯛、小丑魚等），雌激素與性轉變有高度相關表現，雄激素的角色則尚未釐清（Frisch, 2004）。

魚類類固醇性費洛蒙之作用

魚類雖生存在視覺受限的水域，卻擁有嗅覺感受費洛蒙訊息的生理系統，諸如抵抗掠食、環境預警、非生殖性群游、與生殖刺激等。

魚類費洛蒙研究最多的屬生殖費洛蒙，其中包括類固醇與非類固醇兩種（Stacey, 2015）。以金魚為例，生殖費洛蒙主要是由性腺類固醇激素衍生而來；具有單離類固醇、葡萄糖醛酸化類固醇、硫酸化類固醇三種分子型態。單離類固醇主要由鰾部釋出，葡萄糖醛酸化類固醇由膽汁釋出，硫酸化類固醇則由尿液分泌（Vermeirssen and Scott, 1996）。實驗證明此三種費洛蒙皆可釋放到水中，且與血漿中個別對應之類固醇激素濃度呈高度相關。雌金魚在完成卵黃堆積之後會分泌雄固烯二酮（androstenedione），造成雄金魚間產生打鬥行為。在卵細胞成熟階段，雌金魚釋放 DHP 引起雄魚精巢啟動類固醇生成作用。雌魚在開始排卵之際釋放出硫酸化 DHP，促使雄金魚開始追尾和產精。最後，雌金魚卵巢產生一種非類固醇激素-前列腺素 prostaglandin F2 α 而造成產卵。釋放出的前列腺素 prostaglandin F2 α 隨即促使雄魚開始追尾和排精（Scott et al., 2010）。最近斑馬魚的研究顯示，魚類嗅覺神經系統無法偵

測到葡萄糖醛酸化的雌激素（E₂）和睪固酮（T），但是可以與前列腺素 prostaglandin F2 α 和硫酸化 DHP 反應。不同的魚類雖然使用相同的生殖費洛蒙，但是種間的專一性依然存在，這可能與釋出費洛蒙精準的混合比例，環境中生存時間長短，接受者一方之生理或行為狀態，視覺或聽覺訊號，和小的作用空間等的限制有關（Belanger et al., 2010）。

類固醇對魚類滲透壓之調控

一般認為魚類糖皮質醇（cortisol）執行糖皮質醇（glucocorticoid）與礦物皮質醇（mineralcorticoid）之功能；魚類糖皮質醇受體（glucocorticoid receptor, GR）僅與皮質醇結合，而礦物皮質醇受體（mineralcorticoid receptor, MR）可與皮質醇和糖皮質酮（11-deoxycorticosterone, DOC）結合（Takahashi and Sakamoto, 2013）。糖皮質酮雖存在魚類血漿中，但濃度比皮質醇低（McCormick et al., 2008）。眾多的實驗證據顯示，皮質醇相對於皮質酮在魚類滲透壓調控過程扮演更重要的角色（Prunet et al., 2006）。根據臺灣魚類資料庫顯示，全球魚類共約 26,000 多種，其中有 41.2% 為淡水魚，包括 33.1% 初級淡水魚（狹鹽性），8.1% 次級淡水魚（廣鹽性），0.6% 的雙向洄游魚種，而海水魚則多為狹鹽性，僅少部分屬於廣鹽性。魚類血漿約維持海水 1/3 滲透壓之濃度，所以在淡水中必須逆著濃度梯度吸收離子進入體內，同樣在海水中必須逆著濃度梯度將離子排出體外。在淡水魚的鰾部，皮質醇和泌乳激素（prolactin）相互作用，促使

Na^+ 、 Cl^- 被吸收，同時也刺激 Na^+/K^+ -APTase 活性表現增加 Na^+ 的吸收 (Kumai et al., 2012)。在海水，皮質醇與生長激素 (growth hormone, GH)/類胰島素生長因子 (insulin-like growth factor I, IGF1) 相互作用，控制上皮細胞膜離子運輸通道 Na^+ 與 Cl^- 之分泌 (McCormick, 2001)。對正在適應海水的廣鹽性魚種，皮質醇會提升 Na^+/K^+ -APTase 活性和鰓部 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ 協同運輸離子通道的表現；且腸道中皮質醇會誘導鹽類與水分之吸收，以維持體內水的平衡 (Wood and Marshall, 1994)。而對正在適應淡水的廣鹽性魚種，皮質醇會提升 NKAa1a (Na^+/K^+ -APTase) 基因表現，增加對 Na^+ 、 Cl^- 的吸收 (McCormick, 2001)。

環境內分泌干擾物質對魚類生殖之影響研究

近年來，環境內分泌干擾物質 (endocrine disrupting chemicals, EDCs) 相關問題引起廣泛注意 (Hotchkiss et al., 2008)；魚類生存在具有眾多化合物排放的水域中，自然無法迴避這種影響。內分泌干擾物質包含兩大類：(1)天然內分泌干擾物質：如植物性雌激素異黃酮；(2)人為內分泌干擾物質：如除草劑、殺蟲劑、除黴劑、多氯聯苯、塑化劑、化妝保養品、船用防污塗料、人類或其他動物用藥 (Falconer et al., 2006)。這些化合物可以影響魚類下視丘-腦下體-生殖腺軸、下視丘-腦下體-腎間腺軸 (hypothalamus-pituitary-interrenal axis, HPI axis) (León-Olea et al., 2014)、類固醇合成

(Holbech et al., 2012)、類固醇運送 (Miguel-Queralto and Hammond, 2008)、類固醇代謝 (Fisher, 2004)、類固醇與受體的結合 (Filby et al., 2007)，進而干擾正常類固醇生理調控。其影響的程度可分可逆與不可逆二型，和干擾物質本身的強度、存在濃度、曝露時間、恢復期長短、魚種、魚齡有關。多種以上的干擾物質會產生加乘 (synergistic) 或拮抗 (antagonistic) 作用。目前，以斑馬魚 (*Danio rerio*) (Scholz et al., 2008)、日本青鱗 (*Oryzias latipes*) (Lee et al., 2012)、北美三刺魚 (*Gasterosteus aculeatus*) (Katsiadaki et al., 2007)、胖頭鰻 (*Pimephales promelas*) (Ankley and Johnson, 2004) 用來研究內分泌干擾物質居多，主要探討內分泌干擾物質對魚類生殖 (產卵、產精、生殖力、配子形成、卵巢發育、卵黃生成作用) 與魚類性別 (生殖腺分化、生殖腺組織病變、性轉變、雌雄間性、性比偏差) 之影響。

結語

類固醇在人類醫療上扮演重要的角色，主要在抑制過度反應的免疫功能、抗過敏、抗發炎、疼痛舒緩、降低血管通透性、調節生殖生理等；雖然對皮膚、肌肉、骨骼、視網膜、眼球、腎臟、中樞神經、代謝作用等具有一定程度負作用，但仍是醫療上不可或缺藥物 (Shaikh et al., 2012)。類固醇過去在魚類生理學上的研究，目前雖然多聚焦在前文所述之各項領域，但參考其在人類醫學上的應用，未來應可在魚類生理研究上開拓新的學術視野。