

鶏における雄性性行動発現に及ぼすエストロジェンの作用

梶田信也*・小柳 深**

*九州東海大学総合農学研究所

**九州東海大学農学部, 熊本県阿蘇郡長陽村河陽 869-1404

鶏の雄性性行動発現機構の構築に関与するエストロジェンの作用を明らかにするため, 孵卵中に抗エストロジェン剤であるタモキシフェン (TAM) を投与し, 孵化後テストステロンプロピオネイト (TP) を投与することによって雌雛が示す性行動を調査した. 少数の雌雛は一連の雄性性行動を示した. しかし, 孵卵中にゴマ油のみを投与した雄雛と比較して求愛行動のワルツの頻度ならびに交尾行動の首くわえ, 足かけ, 乗駕および尾下げの頻度は減少する傾向を示した. TAM の投与量の増加に伴うこれらの各行動の発現頻度には明らかな傾向は認められなかった. また, 孵卵中にエストロジェンを投与した雄雛が雄性性行動を示すか否かを知るために, TP, 5 α -デヒドロテストステロンおよびエストラジオールベンゾエイトを注射後, 性行動を観察した. その結果, これらの雄雛には求愛行動および交尾行動は全く認められなかった.

これらのことから, エストロジェンは鶏における雄性性行動発現機構の構築を阻害するものと考えられるが, TAM のエストロジェン阻害効果は完全なものではないことならびに外因性エストロジェンによって雄性性行動発現に関与する中枢は機能的にも雌型に変化している可能性が推察された.

キーワード: エストロジェン, 性行動, 性中枢, 鶏

緒 言

ラットでは周生期のエストロジェンにより性中枢が雌型に誘導され, 雄では雄性性行動が発現することが知られている (MacLusky and Naftolin, 1981; 新井, 1982; 鈴木ら, 2000).

鶏およびウズラにおいても孵卵中のエストロジェンの存在は性行動の発現に大きな役割を演じると言われ (Adkins, 1975; 梶田・小柳 1990, 1998), 孵卵中に抗エストロジェン剤を投与した雌鶏および雌ウズラには雄性性行動が出現することが報告されている (Adkins, 1976; Elbrecht and Smith, 1992; Abinawant *et al.*, 1997).

しかし, 抗エストロジェン剤の投与量が鶏における雄性性行動の出現の程度に及ぼす影響および雄性性行動の発現機構が成立する時期については詳細に知られていない. また, 鶏の雄雛にアンドロジェンを投与することにより雄性性行動を発現させることができるが, 雌雛や成熟した雌にアンドロジェンを投与しても雄性性行動は発現しないことが知られている (Allee *et al.*, 1939; Davis and Domm, 1941; Andrew, 1975). さらに, 梶田・小柳

(1990) は孵卵中にエストロジェン処理した雄鶏は交尾能を消失していることを報告している. しかし, 予めエストロジェン処理された雄鶏の性中枢がステロイドホルモンに反応するか否かについての確認はされていない.

本研究は, これらのことを明らかにするための基礎的研究として, 孵卵中に抗エストロジェン剤であるタモキシフェン (TAM) を投与し, 孵化した雛の性行動を観察し, さらに孵卵中に予めエストロジェンを投与した雄雛に種々のステロイドホルモンを注射し, 雄性性行動の発現を調査したものである.

材料および方法

ロードアイランドレッド種雄×横斑プリマスロック種雌の種卵を孵卵し, 5日目に0.1 mlのゴマ油に懸濁したTAMを種卵の卵白内に投与した. TAMの投与量は, 0.1, 0.5および1.0 mgとし, 対照にはゴマ油のみを投与した. その後, 孵卵を継続し, 孵化後30日齢から43日齢まで雌雛の胸筋に0.1 mlのゴマ油に溶解したテストステロンプロピオネイト (TP) を1日当たり1 mg注射した. 注射翌日より14日間1日当たり10分間性行動を観察した. 次に, 孵卵5日目の褐色レグホーン種の種卵に0.1 mlのゴマ油に懸濁した1 mgのエストラジオール

ベンゾエイト (EB) を投与した。孵化後、25 日齢から 53 日齢まで 1 日当たり 0.1 ml のプロピレングリコールに溶解した TP, 5 α -デヒドロテストステロン (5 α -DHT) および EB を 1 mg ずつ雄雛の胸筋に注射し、41 日齢より 13 日間 1 日当たり 10 分間性行動を観察した。

性行動の観察法は、梶田・小柳 (1990) の方法に準拠した。すなわち、供試鶏と同日齢の対照雌鶏を 1.5m 四方の囲いの中央にうづくまりの姿勢になるように保定後、囲いの中に供試鶏を 1 羽ずつ放し 1 日当たり 10 分間供試鶏が示す行動を観察した。求愛行動として、羽ばたき、ワルツおよび長なき、交尾行動として、首くわえ、足かけ、乗駕および尾下げの回数を調査し、Duncan (1955) の方法に従い、有意差の有無を検討した ($P < 0.05$)。

結 果

孵卵中にゴマ油を投与した雄雛に TP を投与することにより 5 羽中 3 羽に羽ばたきから尾下げに至る一連の雄性性行動が認められた。TAM を 0.1 および 1.0 mg 投与

した雌雛ではそれぞれ 1 羽に対照雄雛と同様の一連の雄性性行動がみられた。性行動を示さないものを含め、各行動の 1 羽当たりの頻度を表 1 に示した。求愛行動では TAM 投与群の羽ばたきは対照雄よりも増加し、TAM 0.5 mg 投与群を除き、長なきも増加する傾向にあった。一方、ワルツは TAM 1.0 mg 投与群にわずかにみられただけであり、0.1 および 0.5 mg 投与群では全く認められなかった。交尾行動については、TAM 0.1 および 1.0 mg 投与群では調査したすべての交尾行動が認められた。しかし、交尾行動の各頻度は対照雄よりも小さい傾向を示した。TAM 0.5 mg 投与群では足かけ以外の交尾行動はみられなかった。孵卵中にゴマ油を投与した対照の雌雛には羽ばたきおよび長なき以外の行動は全く認められなかった。

孵卵中にゴマ油を投与し、孵化後 TP を投与した対照の雌雛ではすべてが一連の雄性性行動を示した (表 2)。しかし、孵卵中に EB を投与した雄雛では孵化後 TP, 5 α -DHT あるいは EB を投与しても求愛行動および交尾行動は全く認められなかった。

表 1. 孵卵中に抗エストロゲン剤タモキシフェン (TAM) を投与した雌雛における性行動の頻度¹⁾

Table 1. Frequency of sexual behavior in the female chicks injected tamoxifen (TAM), anti-estrogen, during incubation¹⁾

| 性 Sex | TAM (mg) | 供試羽数 No. of chicks | 求 愛 行 動 Courting behavior | | | 交 尾 行 動 Mating behavior | | | |
|-------------|---|--------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------|----------------------|
| | | | 羽ばたき Wing- flapping | ワルツ Waltzing | 長なき Sex-calling | 首くわえ Neck- grasping | 足 か け Foot- putting | 乗 駕 Mounting | 尾 下 げ Tail-down |
| 雌 Female | 0.1 | 5 | 128.0 \pm 24.5 ^a [5] | 0 ^b | 21.4 \pm 18.2 [5] | 2.4 \pm 3.6 ^{ab} [2] | 2.0 \pm 1.7 ^{ab} [5] | 2.2 \pm 3.5 [2] | 0.4 \pm 0.9 [1] |
| | 0.5 | 5 | 102.0 \pm 53.5 ^{ab} [5] | 0 ^b | 4.6 \pm 4.0 [4] | 0 ^b | 0.4 \pm 0.5 ^b [2] | 0 | 0 |
| | 1 | 5 | 118.8 \pm 48.3 ^a [5] | 0.2 \pm 0.4 ^b [1] | 28.8 \pm 25.4 [4] | 1.0 \pm 1.7 ^b [2] | 0.8 \pm 1.1 ^b [2] | 1.6 \pm 2.5 [3] | 0.4 \pm 0.9 [1] |
| | 対照 ²⁾ Control ²⁾ | 5 | 42.2 \pm 17.4 ^c [5] | 0 ^b | 3.6 \pm 5.0 [2] | 0 ^b | 0 ^b | 0 | 0 |
| 雄 Male | 対照 ²⁾ Control ²⁾ | 5 | 71.0 \pm 25.9 ^{bc} [5] | 3.4 \pm 3.5 ^a [3] | 19.4 \pm 24.0 [3] | 7.2 \pm 8.6 ^a [3] | 7.0 \pm 9.0 ^a [4] | 6.8 \pm 10.0 [3] | 1.2 \pm 1.6 [3] |

¹⁾ 30 日齢よりテストステロンプロピオネイトを 14 日間連続投与して (1 mg/日)、各行動の回数を調査した。各値は供試は供試羽数 5 羽の 14 日間の合計回数の平均値 \pm 標準偏差。

¹⁾ After injection of TP between 30 and 43 days old (1 mg/day), sexual behavior of the chicks was investigated for 14 days from the day following the injection (10 min/day).

Values represent means \pm SD of 5 birds of total frequency for 14 days.

²⁾ ゴマ油。

²⁾ Sesame oil.

[] 各行動を示した羽数。

[] No. of chicks showed behavior.

^{a,b,c}: 同一カラムの異符号間に有意差あり。

^{a,b,c}: Means with the different superscripts within the same column are significantly different ($P < 0.05$).

考 察

孵卵中に TAM を投与しておく、孵化後のアンドロジェン投与により雌雛にも雄性性行動が発現した。この現象は、孵卵中にエストロジェン結合阻害剤を投与した雌ウズラおよび孵卵中にアロマトーゼインヒビターを投与した雌鶏には交尾行動が出現するとの報告 (Adkins, 1976; Elbrecht and Smith, 1992; Abinawant *et al.*, 1997) と一致した。したがって、エストロジェンは鶏およびウズラの雄性性行動発現機構の構築を阻害するものと考えられる。鳥類の雄性性行動の発現中枢に関する情報は少ないが、鶏の内側視索前野には組織学的性的二型が認められ、孵卵 10 日目以前にエストロジェンを投与すると雄鶏の内側視索前野は雌化することが報告されている (樹田・小柳 1998)。本研究では 31~41 日齢で雌雛に TP を投与することによって雌雛に交尾行動を誘起できた。Andrew (1966) はヒトの手のこうを交尾対象として用い、2 日齢の雄鶏に交尾行動が起こることを報告している。また、孵卵 5 および 10 日目にエストロジェンを投与した成熟雄鶏では交尾行動は消失するが、孵卵 15 日目エストロジェン処理鶏では全ての雄性性行動が発現することが知られている (樹田・小柳 1990)。したがって、鶏において交尾行動発現機構の構築に最も重要な時期は孵卵 15 日目以前であると推察され、少なくとも孵化前後にはこの機構は完成しているものと考えられる。

ラットの性中枢を構成する神経核のシナプスの結合パターンには雌雄差が認められており (Raisman and Field, 1973; Guldner, 1982; Le Blond *et al.*, 1982; Matsumoto and Arai, 1980, 1981, 1986)、マウスおよびラットの視索前野を含む視床下部をエストロジェン添加液で培養すると軸索の伸長が促進され (Toran-Allerand, 1976; Toran-Allerand *et al.*, 1983; Uchibori and Kawashima, 1985)、さらに軸索の伸長、樹状突起の棘状突起の増加およびシナプスの増加はエストロジェン濃度に依存することが報告されている (Lustig, 1994)。本研究では、孵卵中に TAM を投与した雌雛の交尾行動の頻度は雌雛より少ない傾向を示し、交尾行動を発現しない雌雛も認められた。この原因の一つには TAM のエストロジェン阻害効果に差があり、交尾行動発現中枢の構築程度に差を生じた可能性がある。

雌雛にアンドロジェンを投与することにより交尾行動が発現することが明らかになった。しかし、交尾行動を発現させるホルモンの作用機序は現在のところ十分に知られていない。しかし、キンカ鳥およびウズラが交尾行動を発現させるためには、アンドロジェンのエストロジェンへの芳香化が必須であり (Adkins *et al.*, 1980; Harding, 1986)、ウズラでは内側視索前野におけるアロマトーゼの活性化が不可欠であると言われている (Balthazart *et al.*, 1990; Balthazart and Surlemont 1990 a, b)。本研究において、孵卵中にエストロジェンを

表 2. 孵卵中にエストラジオールベンゾエイトを投与した雄鶏のステロイドホルモン投与による性行動の誘起¹⁾
Table 2. Induction of sexual behavior in the male chicks, injected with estradiol benzoate during incubation, by the injection of steroid hormones¹⁾

| 孵化後に投与した ホルモン Hormone injected after hatching | 供試羽数 No. of chick | 交尾行動 Mating behavior | | | | |
|--|----------------------|-------------------------------|-----------------|-----------------------|---------------------|----------------|
| | | 求愛行動 Courtship behavior | ワルツ Waltzing | 首くわえ Neck-grasping | 足かけ Foot-putting | 乗駕 Mounting |
| TP | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 α -DHT | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| EB | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| TP (対照) ²⁾ | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| TP (Control) ²⁾ | | | | | | |

¹⁾ 25 日齢よりテストステロンプロピオネイトを 29 日間連続投与して (1 mg/日)、各行動の出現を調査した。数字は各行動を示した羽数。

¹⁾ After injection of TP between 25 and 53 days old (1 mg/day), sexual behavior of the chicks was investigated for 13 days from 41 days old (10 min/day). Values represent No. of chicks showed respective behavior.

²⁾ 孵卵 5 日目にゴマ油を投与。

²⁾ Sesame oil was injected on 5th day of incubation.

TP テストステロンプロピオネイト, 5 α -DHT 5 α -デヒドロテストステロン, EB エストラジオールベンゾエイト, TP testosterone propionate, 5 α -DHT 5 α -dehydrotestosterone, EB estradiol benzoate.

投与した雄雛に、TP, 5 α -DHT および EB を投与しても性行動はまったく誘起できなかった。これは、性行動発現に関与する中枢が外因性エストロゲンにより機能的にも雌型に変化した可能性を示唆している。

引用文献

- Abinawanto, Shimada K and Saito N. Sex-reversal effects of non-steroidal aromatase inhibitor on aromatase (P450_{arom}) mRNA expression in adult chicken gonads. *Japanese Poultry Science*, 34 : 158-168. 1997.
- Adkins EK. Hormonal basis of sexual differentiation in the Japanese quail. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 89 : 61-71. 1975.
- Adkins EK. Embryonic exposure to an antiestrogen masculinizes behavior of female quail. *Physiology and Behavior*, 17 : 357-359. 1976.
- Adkins EK, Boop JJ, Koutnik DL, Morris JB and Pniewski EE. Further evidence that androgen aromatization is essential for the activation of copulation in male quail. *Physiology and Behavior*, 24 : 441-446. 1980.
- Allee WC, Collias NE and Lutherman CZ. Modification of the social order in flocks of hens by the injection of testosterone propionate. *Physiological Zoology*, 12 : 412-440. 1939.
- Andrew RJ. Precocious adult behavior in the young chick. *Animal Behaviour*, 14 : 485-500. 1966.
- Andrew RJ. Effects of testosterone on the behaviour of the domestic chick I. Effects present in males but not in females. *Animal Behaviour*, 23 : 139-155. 1975.
- 新井康允. 視床下部・大脳辺縁系の性分化: 実験生殖生理学の展開—動物モデルの視点から (鈴木善祐 編集). 第1版. 92-100頁. ソフトサイエンス社. 東京. 1982.
- Balthazart J, Foidart A and Hendrick JC. The induction by testosterone of aromatase activity in the preoptic area and activation of copulatory behavior. *Physiology and Behavior*, 47 : 83-94. 1990.
- Balthazart J and Surlemont C. Androgen and estrogen action in the preoptic area and activation of copulatory behavior in quail. *Physiology and Behavior*, 48 : 599-609. 1990 a.
- Balthazart J and Surlemont C. Copulatory behavior is controlled by the sexually dimorphic nucleus of the quail POA. *Brain Research Bulletin*, 25 : 7-14. 1990 b.
- Davis DE and Domm LV. The sexual behavior of hormonally treated domestic fowl. *Proceeding of Society for Experimental Biology and Medicine*, 48 : 667-669. 1941.
- Duncan DB. Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, 11 : 1-42. 1955.
- Elbrecht A and Smith RG. Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens. *Science*, 255 : 467-470. 1992.
- Guldner FH. Sexual dimorphism of axo-spine synapses and postsynaptic density material in the suprachiasmatic nucleus of the rat. *Neuroscience Letters*, 28 : 145-150. 1982.
- Harding CF. The importance of androgen metabolism in the regulation of reproductive behavior in the avian male. *Poultry Science*, 65 : 2344-2351. 1986.
- Le Blond CB, Morris S, Karakiulakis G, Powell R and Thomas PJ. Development of sexual dimorphism in the suprachiasmatic nucleus of the rat. *Journal of Endocrinology*, 95 : 137-145. 1982.
- Lustig RH. Sex hormone modulation of neural development *in vitro*. *Hormones and Behavior*, 28 : 383-395. 1994.
- MacLusky NJ and Naftolin F. Sexual differentiation of the central nervous system. *Science*, 211 : 1294-1303. 1981.
- 榎田信也・小柳 深. 孵卵中にエストロゲンを投与した種卵から孵化した雄鶏の性行動. *日本畜産学会報*, 61 : 661-662. 1990.
- 榎田信也・小柳 深. 鶏における内側視索前野の性分化に及ぼすエストロゲンの効果. *日本家禽学会誌*, 35 : 245-248. 1998.
- Matsumoto A and Arai Y. Sexual dimorphism in 'wiring pattern' in the hypothalamic arcuate nucleus and its modification by neonatal hormonal environment. *Brain Research*, 190 : 238-242. 1980.
- Matsumoto A and Arai Y. Effect of androgen on sexual differentiation of synaptic organization in the hypothalamic arcuate nucleus: An ontogenic study. *Neuroendocrinology*, 33 : 166-169. 1981.
- Matsumoto A and Arai Y. Male-Female difference in synaptic organization of the ventromedial nucleus of the hypothalamus in the rat. *Neuroendocrinology*, 42 : 232-236. 1986.
- Raisman G and Field PM. Sexual dimorphism in the neuropil of the preoptic area of the rat and its dependence on neonatal androgen. *Brain Research*, 54 : 1-29. 1973.
- 鈴木正寿・西原真杉・高橋迪雄. 脳の性分化誘導機構に関する分子生物学的解析—グラニューリン遺伝子の単離とその機能—. *Journal of Reproduction and Development (Supplement)*, 46 : 51-57. 2000.
- Toran-Allerand CD. Sex steroids and the development of the newborn mouse hypothalamus and preoptic area *in vitro*: implications for sexual differentiation. *Brain Research*, 106 : 407-412. 1976.
- Toran-Allerand CD, Hashimoto K, Greenough WT and Saltarelli M. Sex steroids and the development

of the newborn mouse hypothalamus and preoptic area *in vitro* : III. Effect of estrogen on dendritic differentiation. *Developmental Brain Research*, 7 : 97-101. 1983.

Uchibori M and Kawashima S. Effects of sex steroids

on the growth of neuronal processes in neonatal rat hypothalamus-preoptic area and cerebral cortex in primary culture. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 3 : 169-176. 1985.

Action of Estrogen on the Masculine Sexual Behavior in the Chicken

Shinya Masuda* and Fukashi Koyanagi**

* Agricultural Research Institute, Kyushu Tokai University

** Faculty of Agriculture, Kyushu Tokai University,
Choyo-mura, Aso gun, Kumamoto 869-1404, Japan

The purpose of this study was to clarify the function of estrogen regarding the construction of mechanism for the masculine sexual behavior in the chicken. The sexual behavior of female chicks injected with tamoxifen (TAM), anti-estrogen, during incubation was investigated after the injection with testosterone propionate (TP) after hatching. A few female chicks showed series of sexual behavior. However, the frequencies of courting behavior (Waltzing) and mating behavior (Neck-grasping, Foot-putting, Mounting, Tail-down) were less compared with those of sesame oil-treated males during incubation. The change in the frequencies of the behavior did not parallel the increase of the dose of TAM. Furthermore, for the purpose of investigation that the estrogen-treated male chicks during incubation express sexual behavior or not, the sexual behavior of these male chicks was studied after injecting with TP, 5 α -dehydrotestosterone and EB. As a result, the courting behavior and mating behavior were not found at all in these male chicks.

From these results, it is considered that the estrogen inhibits the construction of mechanism in masculine sexual behavior of the chicken, and that estrogen-inhibitory effect of TAM is not complete. Furthermore, it is suggested that the central nervous system responsible for the expression of the masculine sexual behavior is feminized functionally by exogenous estrogen.

(Japanese Poultry Science, 39 : J159-J163, 2002)

Key words : estrogen, sexual behavior, central nervous system, chicken