

## 岐阜地鶏における抱卵中絶後の血漿プロラクチン, 黄体形成ホルモン, 卵胞刺激ホルモン及びエストラジオール濃度の推移

桑山岳人<sup>1</sup>, 勝又瑞穂<sup>1</sup>, 岩澤 淳<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 東京農業大学農学部畜産学科, 神奈川 246-0063

<sup>2</sup> 岐阜大学応用生物科学部生物資源生産学科, 岐阜 501-1193

抱卵行動が確認された鶏を抱卵開始3日目から3日間ケージに移し, その後元の場所に戻すという抱卵中絶処理を行ない, 抱卵開始3日目から15日間毎日採血し, 血漿のプロラクチン, 黄体形成ホルモン, 卵胞刺激ホルモンの各濃度をラジオイムノアッセイにより測定し, また血漿エストラジオール17 $\beta$ 濃度を時間分解蛍光免疫測定法で測定した。

抱卵行動はケージに移すと直ちに中止し, その後元の場所に戻しても再び抱卵行動を示すことはなかった。

血漿プロラクチン濃度はケージに移すと急激に低下し, その後も低いレベルのまま推移した。

黄体形成ホルモン濃度はケージに移すと急激に上昇し, その後も緩やかに増加した。

卵胞刺激ホルモン濃度は顕著な変化を示さなかった。

エストラジオール17 $\beta$ 濃度ケージに移すと急激に上昇し, その後も緩やかに増加した。

以上の結果より, 抱卵行動を中絶させると卵巣機能が速やかに回復の方向へ向かい産卵の再開が早められることが示唆される。

**キーワード:** 抱卵中絶, プロラクチン, 黄体形成ホルモン, 卵胞刺激ホルモン, エストラジオール

### 緒 言

抱卵行動は, 脳下垂体からのプロラクチン (PRL) の分泌が増加することによって発現するとみなされている。このことは, 抱卵行動が PRL の投与により発現すること (Riddle *et al.*, 1935; Nakajyo and Tanaka, 1956), 抱卵中の脳下垂体前葉中の PRL 含量 (Saeki and Tanabe, 1955; Nakajyo and Tanaka, 1956) や血漿 PRL 濃度 (Sharp *et al.*, 1979; 1988; Lea *et al.*, 1981; Talbot *et al.*, 1991) が高いことにもとづいている。一方, 抱卵行動が発現しているときは, 血漿中の黄体形成ホルモン (LH) (Sharp *et al.*, 1979; 1988; Lea *et al.*, 1981; Zadworny *et al.*, 1988; Kuwayama *et al.*, 1992) やエストラジオール濃度 (Zadworny *et al.*, 1988; Kuwayama *et al.*, 1992) は PRL とは逆に低下していることが知られている。従って, 抱卵に伴う産卵の停止は, それらのホルモン分泌の変化によって引き起こされている

と考えられている。抱卵行動の発現・維持には巣箱の存在, 卵の存在, 暗い場所, 暖かい環境温度が要因となっているといわれている。しかし, これが不可欠な要因であるとは考えられていない。抱卵 (抱卵) の中絶処理は, 古く頭部電気刺激 (Nakajyo, 1952) や夜間電灯照明 (中条, 1953) などの方法が報告された。その後, ケージに移動することが抱卵の中絶に有効であるといわれるようになった。しかし, ケージに移動して抱卵が一旦中絶した鶏を巣箱がある状態にしても再び抱卵することが一部のブロイラーで確認されているが (Richard-Yris *et al.*, 1998) 地鶏の場合, 明らかにされていない。また, もし再び抱卵することはないとすれば, 抱卵の中絶によって産卵が早く開始する筈であると思われるが確かめられていない。抱卵の中絶によって, PRL の分泌は既に報告されているように (El Halawani *et al.*, 1980; Talbot *et al.*, 1991; Richard-Yris *et al.*, 1998; Ramesh *et al.*, 2001) 速やかに減少するであろうが, 産卵を促す性腺刺激ホルモンである卵胞刺激ホルモン (FSH) や黄体形成ホルモン (LH) の分泌が増加するかどうかは明らかでなく, また性腺刺激ホルモンによって促される卵胞ホルモ

ン(主として Estradiol-17 $\beta$ : E2)の分泌も増加するかどうか不明である。そこで本実験では、3日間巣箱のないケージに転居させることによって抱卵行動を人為的に中断させたとき、母鶏の卵巣機能が速やかに回復の方向に向かうのか内分泌学的に検討を加えた。

### 材料及び方法

供試鶏には、岐阜地鶏の成鶏(1~2年鶏)で抱卵を開始したもの4羽を用いた。これらの供試鶏は、14L:10D(5時点灯)照明(30~4,000 lux)条件下で、自由採餌、自由飲水とし、床面の一端に巣箱(幅21 cm×奥行き41 cm×高さ41 cm)を設置したケージ(幅57 cm×奥行き57 cm×高さ57 cm)に1羽ずつ収容して飼育した。抱卵の開始日は、抱卵行動を発現している個体の最終産卵日の翌日と定義した。

抱卵行動の中絶処理は、予備実験において抱卵行動を発現して3日目に採卵用単飼ケージ(幅45 cm×奥行き20 cm×高さ40 cm)へ1日間あるいは2日間移動した後、元のケージに戻した場合、それぞれ5羽中2羽、9羽中2羽が抱卵行動を再発現したため、その移動期間は3日間とした。

血液の採取は、採卵用単飼ケージに移した日とその後14日間毎日正午に実施した。採取した血液は直ちに遠心分離して血漿を得た後、-30°Cの冷蔵庫内で保存し、PRL, LH, FSH, E2の各ホルモン濃度測定に使用した。PRLの測定には、Parlow博士から提供されたPRLの標準品(cPRL reference preparation AFP-10328B)および1次抗体(rabbit anti-cPRL AFP-151040789)を用い、LHの測定には、Proudman博士から提供された鶏LHの標準品(USDA-cLH-K-3)および1次抗体(USDA-AcLH-5)を用い、FSHの測定には、Proudman博士から提供された鶏FSHの標準品(USDA-cFSH-K1)および1次抗体(USDA-AcFSH-16)を、いずれの場合も2次抗体としては若林博士より提供されたHAC-RBA2-03-GTP86を用いた。尚、標準品のヨード化はラクトペルオキシターゼ法で行なった。ラジオイムノアッセイの測定内変動係数および測定間変動係数は、PRL:9.5%, 13.8%, FSH:11.2%, 13.2%, LH:7.5%, 8.8%であった。血漿E2濃度の測定は、Wallac社の測定キット(R056-101J)を用いて時間分解蛍光測定法で測定した。尚、測定内変動係数および測定間変動係数は、6.0%および5.9%であった。

### 結 果

#### 抱卵行動

抱卵行動は、単飼ケージに移動すると直ちに中断し

た。その後、巣箱を設置した元の平飼いケージに戻しても、抱卵行動を示す個体は見られなかった。尚、抱卵行動中絶処理開始後から次期産卵が開始されるまでの日数は15.8 $\pm$ 2.5日であった。

#### プロラクチン (PRL)

血漿PRL濃度は、抱卵中絶処理開始時では314 $\pm$ 96 ng/mlであったが、処理開始翌日には、15 $\pm$ 7 ng/mlまで低下した。その後、低い値のまま推移した。

#### 黄体形成ホルモン (LH)

血漿LH濃度は、処理開始時では1.05 $\pm$ 0.35 ng/mlであったが、翌日には、2.21 $\pm$ 0.42 ng/mlまで上昇した。その後も、徐々に上昇して、14日目では4.65 $\pm$ 2.61 ng/mlであった。

#### 卵胞刺激ホルモン (FSH)

血漿FSH濃度は、処理開始時では42.0 $\pm$ 12.4 ng/mlであったが、6日目で若干増加しており66.7 $\pm$ 27.7 ng/mlであった。その後は顕著な変動は示さず50 ng/ml前後の値で推移した。

#### エストラジオール 17 $\beta$ (E2)

血漿E2濃度は、処理開始時では19 $\pm$ 2 pg/mlであったが、翌日には、78 $\pm$ 25 pg/mlまで上昇した。その後も、徐々に上昇して、14日目で155 $\pm$ 15 pg/mlまで上昇していた。

### 考 察

抱卵を開始した鶏を抱卵開始3日目から3日間単飼ケージに移すと巣箱のある元の場所に戻しても再び抱卵することはないことが明らかとなった。この場合、3日間という移動期間が抱卵中絶に絶対的に必要であるかどうかは十分に確かめられていないが、1日又は2日間では元の場所に戻すと再び抱卵することがあることを予め認めているので全ての鶏で抱卵を中断させるためには3日間という移動期間は必用最小限の期間であろうと思われる。

抱卵鶏を単飼ケージに移すと血漿PRL濃度は忽ち減少し、以後再び上昇することはなかった(図1)。このようなPRL濃度の速やかな減少はSharp *et al.* (1988)及びRichard-Yris *et al.* (1988)が報告した巣箱剝奪の場合と良く似ている。Sharp *et al.* (1988)は巣箱を剝奪すると血漿PRL濃度は一旦は減少するが、2日後に巣箱に戻すとPRL濃度は再び上昇すると報告している。本実験では3日間経過後に巣箱のある場所に戻しているが血漿PRL濃度は減少したままであった。PRLは抱卵を発現させ、これを維持する作用を有するホルモンであるから、PRL分泌が低下したままであることは抱卵が中絶したままで再現しないことの原因であろうと思われる。

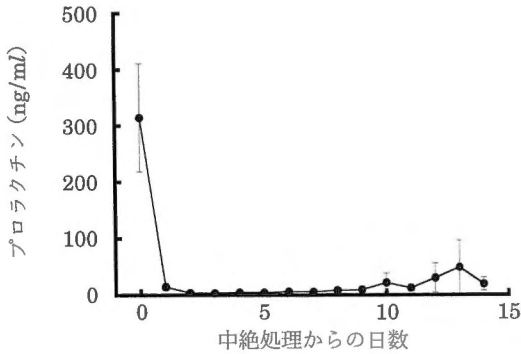


図 1. 抱卵行動中絶処理後の血漿プロラクチン濃度の推移  
値は平均値±SE (n=4)  
SE (縦棒) が示されていないものは黒点内に入っている

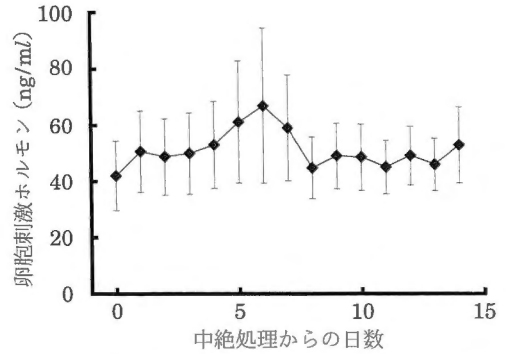


図 3. 抱卵行動中絶処理後の血漿卵胞刺激ホルモン濃度の推移  
値は平均値±SE (n=4)

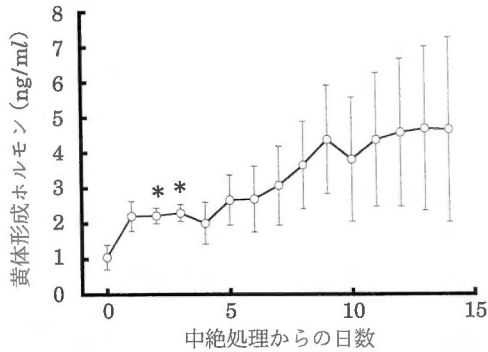


図 2. 抱卵行動中絶処理後の血漿黄体形成ホルモン濃度の推移  
値は平均値±SE (n=4)  
\*: 0日の値と有意差あり (P<0.05, Student's t-test)

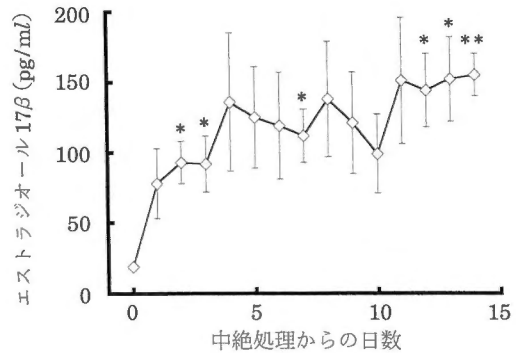


図 4. 抱卵行動中絶処理後の血漿エストロジオール 17β 濃度の推移  
値は平均値±SE (n=4)  
\*\*\*: 0日の値と有意差あり (\*: P<0.05, \*\*: P<0.01, Cochran-cox test)

る。

抱卵鶏を単飼ケージに移すと血漿 LH は急激に上昇し、その後元の場所に戻しても LH 濃度は上昇を続けた (図 2)。LH は FSH とともに卵巣に作用し、その機能を賦活するものであるから、LH 分泌の上昇は卵巣機能の活性化を促しているものと考えられる。LH 分泌の急上昇と相俟って血漿 E2 濃度も単飼ケージ移動後急激に上昇した (図 4)。その後、LH 濃度の上昇変化と同様に上昇し続けた。E2 は肝臓における卵黄物質の生産 (Chapman, 1980)、卵管の発達 (Oka and Schimke, 1969) や卵白生成機能 (O'Malley and Schrader, 1976)、その他産卵と密接に関連する血液成分の変化 (Jackson *et al.*, 1976; Heald and Rookledge, 1964; Heller and Thayer,

1948) を促すものとして知られている。

血漿 LH と E2 濃度の上昇は、育雛行動をしている母鶏から雛を隔離した場合 (Kuwayama *et al.*, 1992) と同様の傾向を示したが、抱卵期では血漿 PRL が高く育雛期では血漿 PRL が低いことから、それらのホルモンの抑制機構は異なるものと考えられる。また、抱卵期の鶏の脳下垂体は黄体形成ホルモン放出ホルモン (cLH-RH) の投与によって LH を分泌し、更なる LH の分泌により卵巣からの E2 の分泌も促進されることが報告されていることから (Kuwayama *et al.*, 1997)、今回の抱卵の中断処理によって視床下部からの cLH-RH の分泌が促進された結果、血漿 LH および E2 濃度が急激に上昇し、卵巣機能が速やかに回復の方向に向かったものと考えられる。

以上のように抱卵中絶処理を行なった場合、約2週間 で産卵が再開することを認めた。このような産卵の再開は通常の抱卵終了後の産卵再開の時期（育雛しない場合約1ヶ月）よりも遙かに早い。従って、本実験で実施した3日間の単飼ケージへの移動による抱卵の中絶は産卵の開始を早める効果があるとみなされる。

## 謝 辞

実験の遂行にあたり鶏 PRL の標準品を御提供頂いた Parlow 博士、鶏 LH および鶏 FSH の標準品を御提供頂いた Proudman 博士並びに LH と FSH 測定 の 2 次抗体を御提供頂いた若林博士に深く感謝の意を表します。また、終始懇切丁寧なる御指導を賜りました岐阜大学名誉教授田中克英先生に深く感謝致します。

## 引用文献

- Chapman MJ. Animal lipoproteins: chemistry, structure and comparative aspects. *Journal of Lipid Reserch*, 21 : 789-853. 1980.
- El Halawani ME, Burke WH and Dennison PT. Effect of nest-deprivation on serum prolactin level in nesting female turkeys. *Biology of Reproduction*, 118-123. 1980
- Heald PJ and Rookledge KA. Effect of gonadal hormones, gonadotrophins and thyroxine on plasma free fatty acids in the domestic fowl. *Journal of Endocrinology*, 30 : 115-130. 1964.
- Heller VG. and Thayer RH. Chemical changes in the blood composition of chickens and turkey fed synthetic estrogens. *Endocrinology*, 42 : 161-167. 1948.
- Jackson RL, Morrisett JD and Gotto Jr. AM. Lipoprotein structure and metabolism. *Physiological Reviews*, 56 : 259-316. 1976.
- Kuwayama T, Shimada K, Saito N, Ohkubo T, Sato K, Wada M and Ichinoe K. Effects of removal of chicks from hens on concentrations of prolactin, luteinizing hormone and oestradiol in plasma of brooding Gifujidori hens. *Journal of Reproduction and Fertility*, 95 : 617-622. 1992.
- Kuwayama T, Shimada K, Wada M and Tanaka K. Increase in plasma luteinizing hormone and estradiol-17 $\beta$  concentrations following an injection of luteinizing hormone-releasing hormone in incubating and brooding Gifujidori hens. *Japanese Poultry Science*, 34 : 404-409. 1997.
- Lea RW, Dods SM, Sharp PJ and Chadwick A. The possible role of prolactin in the regulation of nesting behaviour and the secretion of luteinizing hormone in broody bantams. *Journal of Endocrinology*, 91 : 89-97. 1981.
- Nakajyo S. Effect of electrical stimulation of head on broodiness of chickens. *Poultry Science*, 31 : 337-342. 1952.
- 中条誠一. 鶏の抱卵性に関する研究. III 夜間照明が抱卵に及ぼす効果. *日本畜産学会報*, 24 卷 増補 7 頁. 1953.
- Nakajyo S and Tanaka K. Prolactin potency of the cephalic and caudal lobe of the anterior pituitary in relation to broodiness in the domestic fowl. *Poultry Science*. 35 : 990-994. 1956.
- Oka T. and Schimke RT. Interaction of estrogen and progesterone in chick oviduct development. *Journal of Cell Biology*, 41 : 816-831. 1969.
- O'Malley BW and Schrader W T. The receptors of steroid hormones. *Scientific American*, 234 : 32-43. 1976.
- Ramesh R, Kuenzel WJ and Proudman JA. Increased proliferative activity and programmed cellular death in the turkey hen pituitary gland following interruption of incubation behavior. *Biology of Reproduction*, 64 : 611-618. 2001.
- Richard-Yris MA, Guemene, D, Lea RW, Sharp PJ, Bedecarrats G, Foraste M and Wauters A M. Behaviour and hormone concentrations in nest deprived and re-nesting hens. *British Poultry. Science*, 39 : 309-317. 1998.
- Riddle O, Bates RW and Lahr EL. Prolactin induces broodiness in fowl. *American Journal of Physiology*, 111 : 352-360. 1935.
- Saeki Y and Tanabe Y. Changes in prolactin content fowl pituitary during broody period and some experiments on induction of broodiness. *Poultry Science*, 32 : 909-919. 1955.
- Sharp PJ, Scanes CG, Williams JB, Harvey S and Chadwick A. Variations in concentrations of prolactin, luteinizing hormone, growth hormone and progesterone in the plasma of broody bantams (*Gallus domesticus*). *Journal of Endocrinology*, 80 : 51-57. 1979.
- Sharp PJ, Macnamee MC, Sterling RJ, Lea RW and Pedersen HC. Relationships between prolactin, LH and Broody behaviour in bantam hens. *Journal of Endocrinology*, 118 : 279-286. 1988.
- Talbot RT, Hanks MC, Sterling RJ, Sang HM and Sharp PJ. Pituitary prolactin messenger ribonucleic acid levels in incubating and laying hens: effects of manipulating plasma levels of vasoactive intestinal polypeptide. *Endocrinology*. 129 : 496-502. 1991.
- Zadworny D, Shimada, K, Ishida H, Sumi C and Sato K. Changes in plasma levels of prolactin and estradiol, nutrient intake, and time spent nesting during the incubation phase of broodiness in the chabo hen (*Japanese bantam*). *General and Comparative Endocrinology*, 71 : 406-412. 1988.

## Changes in Plasma Concentrations of Prolactin, Luteinizing Hormone, Follicle Stimulating Hormone and Estradiol-17 $\beta$ after Interruption of Incubating Behavior in Gifujidori Hens

Takehito Kuwayama<sup>1</sup>, Mizuho Katsumata<sup>1</sup> and Atushi Iwasawa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Animal Science, Tokyo University of Agriculture, Atsugi Kanagawa 246-0063

<sup>2</sup> Department of Biological Diversity and Resources, Gifu University, Gifu 501-1193

Incubating hens of Gifujidori breed were transferred to another cage on the third day of incubation for 3 days and then returned to the original place where a nest was provided. Blood was obtained every day for 15 days from the third day of incubation. Plasma concentrations of prolactin (PRL), luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) were measured by a homologous radioimmunoassay, and plasma concentrations of estradiol-17 $\beta$  (E2) were measured by time-resolved fluoroimmunoassay.

The incubating behavior was ceased promptly and never appeared after the return to the original place.

The plasma PRL concentration decreased sharply after the transference and maintained a low level until the next egg laying.

The plasma LH and E2 concentration increased sharply after the transference and then gradually increased until the next egg laying.

The plasma FSH concentration did not show any appreciable increase.

Egg laying was started at 16<sup>th</sup> day after the transference.

The results suggest that the interruption of incubation may cause the recrudescence of ovarian function leading to an earlier start of egg-laying in Gifujidori hens.

*(The Japanese Journal of Poultry Science, 42 : J94-J98, 2005)*

**Key words** : incubation, prolactin, LH, FSH, estradiol