

岐阜地鶏における抱卵中絶処理直後のプロラクチン、 黄体形成ホルモンおよびエストラジオール-17 β の分泌

桑山岳人¹・勝又瑞穂¹・岩澤 淳²

¹ 東京農業大学農学部畜産学科, 神奈川 246-0063

² 岐阜大学応用生物科学部生物資源生産学科, 岐阜 501-1193

岐阜地鶏を抱卵開始後3日及び21日に別の巣箱の無いケージに移すことにより抱卵を中絶させ、その後6時間の血漿プロラクチン(PRL)、黄体形成ホルモン(LH)をラジオイムノアッセイで、エストラジオール-17 β (E2)を時間分解蛍光測定法で測定した。

血漿PRLレベルは抱卵の3日及び21日の両日において抱卵中絶後2時間で低下し、その後も6時間まで低下を続けた。その低下の割合は、抱卵を21日に中絶した方が3日に中絶させた方より大きかった。

PRLの変化に反して、LHレベルは抱卵中絶後6時間で上昇を示したが、その上昇の割合は抱卵開始後21日に抱卵を中絶させた場合より、3日に抱卵を中絶させた場合の方が顕著ではなかった。

血漿E2レベルは、抱卵開始後3日で抱卵を中絶した場合少しも上昇を観察できなかったが、21日で抱卵を中絶した場合上昇が観察された。

本実験結果は、抱卵開始後3日で抱卵を中絶した場合と21日で中絶した場合とでは抱卵中絶直後の血漿PRL、LH及びE2レベルに違いがあることを示している。しかしながら、その違いの理由は明らかでなく、これを明らかにするのが今後の課題であろう。

キーワード: 抱卵中絶, プロラクチン, 黄体形成ホルモン, エストラジオール-17 β

緒 言

鶏やチンメンチョウの抱卵行動は、巣箱を除去したり巣箱のない場所へ移すことによって人為的に中絶させることができる(El Halawani *et al.*, 1980; Richard-Yris *et al.*, 1998; Sharp *et al.*, 1988; 桑山ら, 2005)。岐阜地鶏において、このような抱卵中絶処理を行うと、抱卵の発現並びに維持に関与するとみなされている下垂体前葉のプロラクチン(PRL)の分泌(Sharp *et al.*, 1979; Lea *et al.*, 1981; Sharp *et al.*, 1988; Kuwayama *et al.*, 1992)が処理翌日には低下していることが明らかにされている(桑山ら, 2005)。これに対して、下垂体前葉の性腺刺激ホルモンである黄体形成ホルモン(LH)の分泌や性腺刺激ホルモンの作用によって卵巣から分泌されるエストラ

ジオール17 β (E2)の分泌は、処理翌日には上昇している(桑山ら, 2005)。従って、これらのホルモンの分泌は抱卵中絶処理によって翌日までに変わると思われるが処理直後の時間的変化は明らかにされていない。また、このようなホルモンの分泌変化が抱卵開始後の中絶処理を行なう時期によって異なるかどうかにも明らかにされていない。そこで本実験では、抱卵中絶処理を抱卵初期及び末期に行った場合について、その直後のPRL、LH及びE2の血漿濃度の変化を明らかにしようとした。

材料及び方法

岐阜地鶏の成鶏(1~2年鶏)を巣箱(幅41cm×奥行き21cm×高さ41cm, 木製)を設置した平飼いの単飼ケージ(間口57cm×奥行き57cm×高さ57cm)内で飼育した(自由採飼, 自由飲水, 5時点灯14時間照明)。抱卵開始後3日及び21日にこのケージから鶏を取出し巣箱がない採卵用単飼ケージ(間口20cm×奥行き45cm×高さ40cm)へ移し、これによって抱卵を中絶させた。この中絶処理を抱卵開始3日に行ったものは8羽, 21日

2005年5月26日受付, 2005年6月21日受理

連絡者: 桑山岳人

Tel 046-270-6589

Fax 046-247-4338

E-mail: takehito@nodai.ac.jp

に行ったものは6羽である。これらの鶏から中絶処理の直前, 2 時間後, 4 時間後及び6 時間後に翼下静脈から採血して血漿を採取し, その PRL, LH, E2 濃度を測定した。PRL 及び LH の測定には鳥類の抗体を使用したラジオイムノアッセイ (桑山ら, 2005) で行い, E2 の測定は Wallac 社のキット (R056-101J) を用いて時間分解蛍光測定法で行った。ラジオイムノアッセイにおける測定内変動係数は 9.5% (PRL) 及び 7.5% (LH) であり, 測定間変動係数は 13.8% (PRL) 及び 8.8% (LH) であった。E2 測定における測定内変動係数は 6.0%, 測定間変動係数は 5.9% であった。

結 果

血漿 PRL レベルは, 図 1 に示すように, 中絶処理を抱卵開始後 3 日に行った場合も 21 日で行った場合もともに処理後 2 時間までに低下を示し, その後も低下した。処理後 4 時間及び 6 時間における PRL レベルは抱卵 21 日に処理を行った方が抱卵 3 日に処理を行ったものより低かった。

血漿 LH レベルは, 抱卵 3 日に中絶処理を行ったものでは処理後 6 時間で若干上昇した。これに対し抱卵 21 日に行ったものでは処理後 2 時間で上昇を示し, その後も上昇したレベルであった (図 2)。

血漿 E2 レベルは, 抱卵 3 日に処理を行ったものでは処理後 6 時間までほとんど顕著な変化を示さなかったが, 抱卵 21 日に処理を行ったものでは処理後 6 時間で僅かな上昇を示した (図 3)。

考 察

プロラクチン (PRL) の分泌が抱卵の中絶によって減少することは既に明らかにされていることであるが (El Halawani *et al.*, 1980 ; Richard-Yris *et al.*, 1998 ; Sharp *et al.*, 1988 ; 桑山ら, 2005), 抱卵中絶処理を抱卵開始後

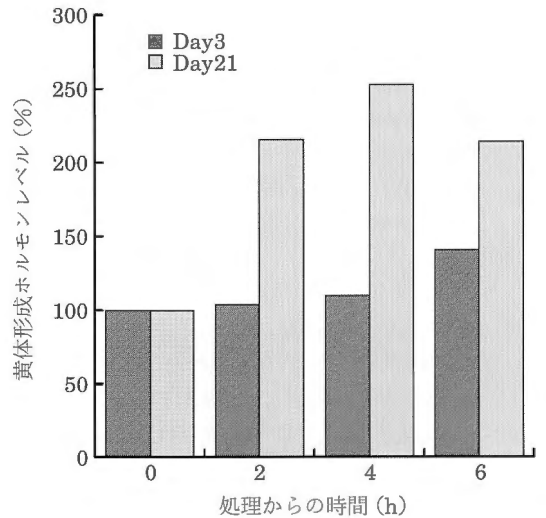


図 2 抱卵中絶処理後の血漿黄体形成ホルモンレベルの推移
処理直前 (0 h) の平均値を 100% ととした。

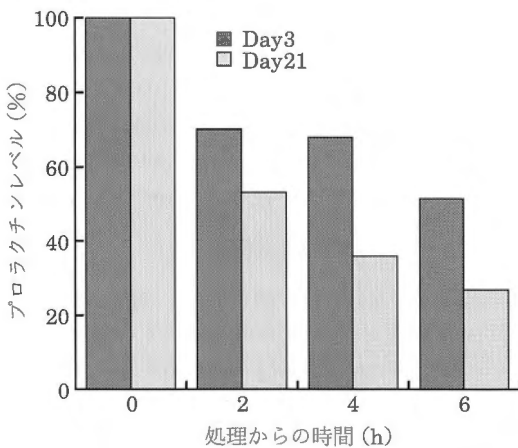


図 1 抱卵中絶処理後の血漿プロラクチンレベルの推移
処理直前 (0 h) の平均値を 100% ととした。

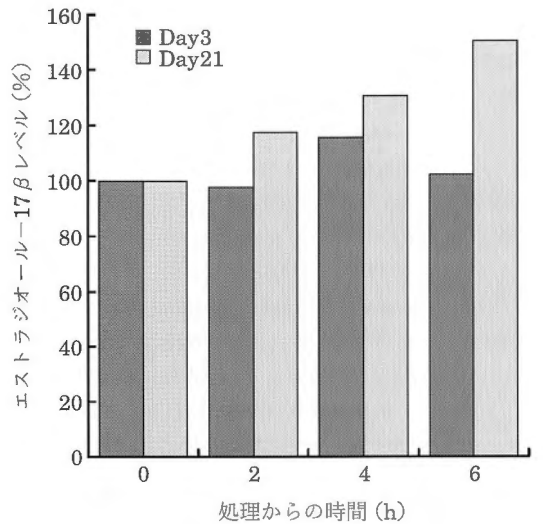


図 3 抱卵中絶処理後の血漿エストロジオール-17β レベルの推移
処理直前 (0 h) の平均値を 100% ととした。

3日に行った場合及び21日に行った場合のいずれにおいても血漿PRLレベルは処理後2時間で顕著な低下を示すことが明らかとなった(図1)。それ故、抱卵中絶処理が引き起こすPRL分泌低下反応は極めて速やかなものであると言えよう。抱卵中絶処理後6時間までの血漿PRLレベルの低下は、抱卵開始後3日に中絶処理を行った場合よりも21日に行った場合の方が著しい(図1)。このように、抱卵中絶処理に対するPRL分泌低下反応は抱卵中絶処理を行う時期によって相違するとみなされる。しかし、このような相違がいかなる理由で生じるかは明らかではない。敢えて想像すれば以下のように言えよう。すなわち、抱卵継続作用を示すPRLを高濃度レベルに維持する要因である血管作動性腸ペプチド(VIP)の視床下部における産生が増加し(Sharp *et al.*, 1989)、VIPは抱卵中絶処理のPRL分泌低下作用と拮抗するものであるが、VIPは抱卵初期に抱卵中絶処理を行っても容易にはその産生を減少させない。これに対し、抱卵末期では抱卵中絶処理によって産生が減少するか、もしくはその作用が弱まるのであろう。そのため、抱卵末期では初期よりも抱卵中絶処理のPRL分泌低下作用が顕著となるのであろう。

抱卵の中絶によって黄体形成ホルモン(LH)の分泌が増加することは既に知られていることであるが(Richard-Yris *et al.*, 1998; Sharp *et al.*, 1988; 桑山ら, 2005)、抱卵開始後3日及び21日に抱卵中絶処理を行うと処理後6時間までにLHレベルが上昇した。しかし、抱卵中絶処理を抱卵開始後3日に行った場合の上昇は僅かであり、21日に処理を行った場合よりも顕著ではない。21日に処理を行った場合のものでは処理後2時間で既に顕著な上昇を示した。処理後2時間ではPRLレベルも明らかな低下を示したので(図1)、LHレベルの上昇はPRL分泌の減少と相俟ったかなり速やかな変化であるとみなされる。抱卵開始後3日に中絶処理を行ったものではPRL分泌は明らかに減少を示したのに対し、LH分泌は増加を示さなかった。このように抱卵開始後3日に抱卵中絶処理を行った場合と21日で処理を行った場合とではLH分泌反応に明らかに相違が認められるが、このような相違が生じる理由は明らかではない。この理由については、次のように想像することが可能であろう。すなわち、抱卵の中絶は中枢神経を介してLH分泌を促すものではあるが抱卵初期ではLH分泌を抑制する要因(性腺刺激ホルモン放出抑制ホルモン<GnIH>: Bentley *et al.*, 2003; Ubuka *et al.*, 2003; Osugi *et al.*, 2004; Yin *et al.*, 2005)が強く働いているので抱卵を中絶させてもLH分泌は容易には増加しないものと考えられる。これに対して抱卵末期では、この抑制因子を支配

する中枢神経の働きが衰えてしまうので、中絶処理のLH分泌促進作用が強く発揮されるのであろう。また、抱卵期の鶏の下垂体は黄体形成ホルモン放出ホルモン(cLH-RH)の投与によりLHの分泌が促進されることが報告されていることから(Kuwayama *et al.*, 1997)、抱卵末期において中絶処理によって視床下部からのcLH-RH分泌が促進されたものと考えられる。

エストラジオール-17β(E2)の分泌は性腺刺激ホルモンであるLHによって促されるものであるが、抱卵を中絶させると増加することは既に明らかにされている(Richard-Yris *et al.*, 1998; 桑山ら, 2005)。しかし、抱卵中絶処理を抱卵開始後3日に行った場合では、血漿E2レベルは処理後6時間までほとんど上昇を示さなかった(図3)。これは、LH分泌がほとんど増加しなかった(図2)ためであろうと考えられる。抱卵中絶処理を抱卵開始後21日に行った場合には処理後6時間まで緩やかに上昇した。これは21日に処理を行った場合にはLH分泌が増加する(図2)ことによるものと思われる。

本実験結果は抱卵中絶処理を行うと処理後6時間までに血漿PRLレベルの低下、LHレベルの上昇及びE2レベルの上昇が認められることを示しており、このような反応は抱卵中絶処理を行う時期によって異なり抱卵初期よりも末期の方が顕著であることが明らかとなったが、そのような相違が示される理由は明らかでなく、これを明確にすることが抱卵の内分泌生理機構解明の為必要であり、今後の課題であらう。

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の標準品を御提供頂いたProudman博士並びにLH測定のため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英克先生に深く感謝致します。

引用文献

- Bentley GE, Perfito N, Ukena K, Tsutsui K and Wingfield JC. Gonadotropin-inhibitory peptide in song sparrows (*Melospiza melodia*) in different reproductive conditions, and in house sparrows (*Passer domesticus*) relative to chicken-gonadotropin-releasing hormone. *Journal of Neuroendocrinology*. 15: 794-802. 2003.
- El Halawani ME, Burke WH and Dennison PT (1980) Effect of nest-deprivation on serum prolactin level in nesting female turkeys. *Biology of Reproduction*. 23: 118-123.

- Kuwayama T, Shimada K, Saito N, Ohkubo T, Sato K, Wada M. and Ichinoe K (1992) 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*.
- 桑山岳人, 勝又瑞穂, 岩澤 淳. 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ロジオール濃度の推移. *日本家禽学会誌*, 42 : J94-J98. 2005.
- Lea RW, Dods AS, 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.
- Osugi T, Ukena K, Bentley GE, O'Brien S, Moore IT, Wingfield JC and Tsutsui K. Gonadotropin-inhibitory hormone in Gambel's white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys gambelii*): cDNA identification, transcript localization and functional effects in laboratory and field experiments. *Journal of Endocrinology*, 182 : 33-42. 2004.
- Richard-Yris MA, Guemene D, Lea RW, Sharp PJ, Bedecarrats G, Foraste M and Wauters AM. Behaviour and hormone concentrations in nest deprived and renesting hens. *British Poultry Science*. 39 : 309-317. 1998.
- 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, Sterling RJ, Talbot RT and Huskisson NS. The role of hypothalamic vasoactive intestinal polypeptide in the maintenance of prolactin secretion in incubating bantam hens: observations using passive immunization, radioimmunoassay and immunohistochemistry. *Journal of Endocrinology*, 122 : 5-13. 1989.
- Ubuka T, Ueno M, Ukena K and Tsutsui K. Developmental changes in gonadotropin-inhibitory hormone in the Japanese quail (*Coturnix japonica*) hypothalamo-hypophysial system. *Journal of Endocrinology*, 178 : 311-318. 2003.
- Yin H, Ukena K, Ubuka T and Tsutsui K. A novel G protein-coupled receptor for gonadotropin-inhibitory hormone in the Japanese quail (*Coturnix japonica*): identification, expression and binding activity. *Journal of Endocrinology*. 184 : 257-266. 2005.

Secretion of Prolactin, Luteinizing Hormone and Estradiol-17 β immediately after Interruption of Incubating Behavior in Gifujidori Hens

Takehito Kuwayama¹, Mizuho Katsumata¹ and Atushi Iwasawa²

¹ Department of Animal Science, Tokyo University of Agriculture, Atsugi Kanagawa 246-0063

² Department of Biological Diversity and Resources, Gifu University, Gifu 501-1193

Plasma concentrations of prolactin (PRL), luteinizing hormone (LH) and estradiol-17 β (E2) were measured by using radioimmunoassay (for PRL and LH) and time-resolved fluoroimmunoassay (for E2) in Gifujidori hens during a period of 6 h after interruption of incubation behavior on day 3 and day 21 of incubation by transferring the hens to another cage that was not equipped with a nest.

The plasma level of PRL decreased at 2 h after the interruption of incubation, and this decrease continued up to 6 h on both day 3 and day 21. The rate of decrease was greater in hens whose incubation was interrupted on day 21 than in hens whose incubation was interrupted on day 3.

In contrast to the change in the plasma level of PRL, the plasma level of LH increased at 6 h after the interruption ; however, the increase was not very remarkable when the interruption was induced on day 3 of incubation as compared to the interruption induced on day 21.

With regard to the plasma level of E2, an appreciable increase was not observed when the incubation was interrupted on day 3 ; however, a little increase was observed when the incubation was interrupted on day 21.

The results of the present study indicate that the plasma levels of PRL, LH and E2 measured immediately after the interruption of incubation behavior differ between the hens whose incubation was interrupted on day 3 and the hens whose incubation was interrupted on day 21. The reason behind this difference is unknown and remains to be investigated.

(Japanese Journal of Poultry Science, 42 : J165-J169, 2005)

Key words : interrupted incubation, prolactin, LH, estradiol-17 β

The Journal of Poultry Science Vol. 42 No. 3 和文抄録

総説

神経内分泌学的観点からみた 視床下部における鳥類のエネルギーバランス調節

Tim Boswell

ロスリン研究所, 英国

エネルギーの恒常性維持は、動物が生きる上において非常に重要であり、家禽産業においては家畜生産および家畜福祉の点からも重要である。哺乳類の場合、エネルギーバランスの調節にあずかる視床下部神経経路に関して、この十年で非常に多くの解明がなされてきた。とりわけ、弓状核（鳥類では漏斗核）にある2つの細胞群（一つはニューロペプチド Y (NPY) とアグーチ関連蛋白質 (AGRP)、もう一方はプロオピオメラノコルチン (POMC) とココイン-アンフェタミン制御転写物 (CART) の mRNA が発現する細胞群) が、同化 (NPY/AGRP) と異化 (POMC/CART) に大きく影響することから重要といえる。実験的に絶食や制限給餌をおこなった場合やレプチン、インスリン、グレリン等のホルモンの影響によってエネルギー不足の状態になった場合、上記の遺伝子発現はエネルギーの恒常性維持のために協調して変動する。この2つの神経細胞群 (NPY/AGRP と POMC/CART) の解剖学的分布、行動への影響、栄養状態の変化に対する遺伝子発現の変動は、鳥類と哺乳類との間で類似点が多く、進化の過程においてほとんど損なわれていない。しかし、視床下部外側野のオレキシン (ヒポクレチン) およびメラニン凝集ホルモンは、哺乳類の場合では同化に関連しているが、鳥類では認められない。本総説は、このような鳥類の脳内における神経経路網について、エネルギー調節の観点から概観するとともに今後の研究の方向性について述べたものである。

キーワード：視床下部, 摂食量, エネルギーの恒常性維持, ニューロペプチド Y, メラノコルチン, レプチン

(The Journal of Poultry Science, 42 : 161-181, 2005)

研究報告

同じ飼料を2つの給餌器で選択採食させたニワトリヒナの摂食行動 —ヒナの右利き・左利き—

上田博史・末廣香織

愛媛大学農学部, 松山市樽味, 790-8566

二者択一の選択試験では、嗜好性に差のない飼料を給与した場合、2つの給餌器からの摂取量は等しくなるはずである。本試験では、選択試験において、この大前提が正しく反映されるか、同じ飼料あるいは栄養価に差のない飼料を給与して調べた。選択試験は単冠白色レグホン雄ヒナを代謝ケージに単飼

し、同色・同型の給餌器を給水器の左右に配置した。試験期間中、給餌器の位置は固定した。試験に先立つ前処理として、12時間絶食と、予備飼育期間中2つの給餌器で飼料を24時間給与して選択試験に馴化させた区を設けた。基礎飼料は、市販の育雛用飼料をクランブルとして再調製した。また、基礎飼料と栄養価の等しい飼料として1%コレステロール添加飼料を供試した。

同一飼料（基礎飼料）を2つの給餌器で給与すると、選択試験開始直後数時間は2つの給餌器から飼料を均等に摂取するヒナは稀であり、多くの場合、一方の給餌器からほぼ飼料を摂取した。この好みの給餌器は、左右いずれかの方向に偏るのではなく、右側から食べるもの、左側から食べるものがあり、個体によって異なった（ヒナの右利き・左利き）。この偏りが大きく、長く続けば、結果を誤認する可能性が高くなるが、特定の給餌器に対する固執は試験が進むにつれて解消した。選択試験に対する馴化や日齢の高いヒナの使用でも偏りは軽減した。また、コレステロールの添加は選択性に影響を与えなかった。

キーワード：コレステロール、摂食行動、選択試験、ヒナの右利き・左利き

(The Journal of Poultry Science, 42 : 182-192, 2005)

研究報告

ニワトリの精巣上体における T 細胞サブセットの 分布に及ぼす加齢と性ステロイドの影響

吉村幸則・梁 金錫・田村嘉子

広島大学大学院生物圏科学研究科，東広島市，739-8528

本研究はニワトリの精巣上体における T 細胞サブセットの分布を調節する要因を明らかにするために、これに及ぼす加齢と性ステロイドの影響を追及した。白色レグホン種の未成熟および成熟雄鶏を供試し、一部の未成熟鶏には 1mg テストステロンプロピオネート (TP)，1mg エストラジオールベンゾエイト (EB) または 100 μ l ゴマ油 (対照区) を3または6日間筋注投与した。精巣上体のクリオスタット切片を作製して、マウス抗ニワトリ CD4 または CD8 抗体を用いて免疫染色した。未成熟鶏と成熟雄鶏のいずれにおいても CD4⁺ および CD8⁺ T 細胞は精巣上体管系の粘膜上皮下層に多く認められ、間質にも分布していた。精巣輸出管の粘膜上皮下層と間質において、CD4⁺ および CD8⁺ T 細胞は未成熟鶏より成熟鶏で有意に多く分布していたが、CD4⁻/CD8⁺ T 細胞比は未成熟鶏と成熟鶏との間で有意差を示さなかった。未成熟鶏の粘膜上皮下層では、CD4⁺ および CD8⁺ T 細胞の分布は TP を投与すると3日目では増加したが、6日目には投与前と同程度に減少した。EB 投与区では、これらの T 細胞分布は3日目と6日目のいずれにおいても投与前より有意に高い値を示した。CD4⁺ と CD8⁺ T 細胞の分布は、投与3日目では対照区より TP および EB 区で多く、6日目では対照区と TP より EB 区で多かった。間質では、CD4⁺ T 細胞の分布は TP の影響を受けなかったが、CD8⁺ T 細胞は TP 投与3日目と6日目で投与前より有意に多かった。EB 投与区では、CD4⁺ および CD8⁺ T 細胞の分布はいずれも投与3日目と6日目で投与前より有意に多かった。CD4⁺ T 細胞の分布は、投与3日目ならびに6日目において対照区、TP 区および EB 区の間で差を示さなかったが、CD8⁺ T 細胞の分布は投与3日目で対照区より TP 区および EB 区で多く、6日目では対照区と TP 区より EB 区で多かった。対照区、TP 区および EB 区の粘膜上皮下層と間質のいずれにおいても CD4⁺/CD8⁺ T 細胞比は処理日数の間で差を示さなかった。これらの結果から、精巣上体の CD4⁺ および CD8⁺ T 細胞は未成熟鶏に比べて成熟鶏で増加し、この増加には