ニワトリの放卵機構に関する内分泌学的研究

名古屋大学大学院農学研究科畜産学専攻

齋藤　昇

大学図書
998949

目次

ページ

緒言　1

第１章，放卵に関与するプロスタグランジンの産生部位　5

第１節，　序文

第２節，　材料及び方法

第３節，　結果

第４節，　考察

第５節，　要旨

第２章，プロスタグランジンに対する放卵と排卵の関係　１６

第１節，　序文

第２節，　材料及び方法

第３節，　結果

第４節，　考察

第５節，　要旨

第３章，放卵に関するアルギニンバソトシンと
プロスタグランジンの役割　２５

第１節，　序文

第２節，　材料及び方法

第３節，　結果

第４節，　考察

第５節，　要旨

結語 33
謝辞 36
図 37
参考論文 65

緒言

ニワトリは，数日間連続して産卵を続け，その後１日か場合によっては２日休産し，再び数日間産卵を続ける周期性を示す（Fraps, 1961)．この連続する一連の産卵をクラッチと言い，クラッチの第１卵は明期の比較的早い時間に放卵が起こり，続く第２卵，第３卵となるにしたがって放卵時刻は少しずつ遅れてくる．そして，明期の遅くに放卵が起きると次の日は休産し，その翌日に第１卵を放卵し次のクラッチが始まる（Warren and Scott, 1935）．

排卵された卵は，卵管の漏斗部に取込まれ膨大部，峡部を経て卵殻腺部（子宮）に至る．卵が子宮に入る排卵の約 5時間後に子宮運動が増加しはじめて10時間後まで増加した後ほぼ一定のレベルの子宮運動が維持され，放卵の約10分前からさらに増加して放卵時にピークに達しその後は直ぐに減少する(Shimada and Asai, 1978)．放卵は，この子宮の収縮による膣部への卵の移行と膣部の蠕動運動並びに腹筋の収縮運動による卵の体外への放出という２つの過程から成立っている．そして，この放卵のタイミングが前にずれると卵殻形成が不十分な軟卵の状態で放卵されたり，後ろにずれると次に排卵された卵の卵殻形成に影響するようなことになる．しかし，放卵がどのような調節機構によって起きるのか明らかでないために，放卵のタイミングが何によって決まっているか明らかでない．

放卵の調節機構に関与する物質として，Riddle（1921）が哺乳類の下垂体神経葉の抽出物により放卵を誘起し下垂体神経葉ホルモンとの関係が考えられるようになった．その後，ニワトリの下垂体神経葉に含まれるホルモンが，アルギニンバソトシン（ＡＶＴ）であることが明らかにされた（Munsick et al., 1961）．そして，Tanaka and Nakajo （1962）はバイオアッセイにより下垂体神経葉中のＡＶＴ含量が放卵時に減少することを示し，これはＡＶＴが放卵に

一致して血中に放出されたためであろうと考えた．この提案はその後の研究により支持されることになった．すなわち，血液中のＡＶＴ濃度も放卵時に増加することがSturkie and Lin, (1966) とNiezgoda et al., (1973) が相次いで血中のＡＶＴ濃度をバイオアッセイした結果から明らかになり，放卵時に下垂体神経葉からＡＶＴが放出されてそのＡＶＴが子宮筋収縮を起こし放卵が起きると考えられた．しかしながら，バイオアッセイは測定感度が低く，アッセイ内変動も高いことから今日までＡＶＴの放卵に関する研究は進展をみないままに至っていた．最近になって，ＡＶＴのラジオイムノアッセイが開発され少量の試料でＡＶＴが測定出来るようになり，しかもバイオアッセイの欠点を十分に補うものが確立した．ＡＶＴのラジオイムノアッセイの結果は，バイオアッセイの結果と同様に放卵時に血中のＡＶＴ濃度の増加することまでは明らかになった（Arad et al., 1984 ; Nouwen et al., 1984; Tanaka et al., 1984; Shimada et al., 1986a).

この放卵時の血中へのＡＶＴの放出がどのような要因によって起きるかについては，ほとんど不明である．わずかにOpel（1964）が脳の視束前野の電気刺激によりＡＶＴ放出が起きることから上位の神経系がＡＶＴ放出に関係していると考えられているにすぎない．しかし，これも実際に血中ＡＶＴ濃度を測定したわけでなく，この脳領域を電気刺激した結果数時間後に放卵が起きたことから示唆された．

一方，視索上核を破壊したにもかかわらず放卵は起り（Ralph, 1960)，下垂体神経葉除去が放卵に影響しなかった（Opel, 1965）という報告がある．これらの報告から放卵とＡＶＴとの関係に疑問が持たれるが，どちらも実験中のＡＶＴ濃度が測定されていないので，放卵時に血中ＡＶＴ濃度が増加しなかったか明らかでない．

プロスタグランジン（ＰＧ）も放卵を誘起する活性を持つことが報告された

(Hertelendy, 1972; Hertelendy et al., 1974). また，PG合成阻害剤であるインドメサシン(Hertelendy, 1973; Day and Nalbandov, 1977; Shimada and Asai, 1979; Shimada et al., 1986b)やPGの抗血清(Hetelendy and Bielijer, 1978)の投与により放卵が遅延する．そして，放卵時には血中PG濃度が増加し(Wechsung et al.,1978; Hammond et al., 1980)，インドメサシン投与により血中および卵胞組織中のPG濃度が減少すること(Shimada et al., 1986b)，卵管子宮部(卵殻腺部)にPGのレセプターが存在することも示された(Toth et al., 1979; Asboth et al., 1985)．これらの結果は，PGが放卵の調節要因として生理学的な意義を有していることを示していると思われる．

さらに，卵巣の卵胞を除去すると放卵の遅延が起きること(Rothchild and Fraps, 1944; Tanaka and Nakada, 1974;Wood-Gush and Gilbert, 1964)から，卵胞には放卵調節物質があるのではないかと考えられ，その一因子として多量のPGが卵胞中に存在する(Day and Nalbandov, 1977; Hammond et al.,1980; Shimada et al., 1984; Olson et al., 1986)ことから，PGが卵胞で産生される放卵調節物質である可能性が示唆された．しかしながら，放卵時に増加する血中PG濃度がどこに由来するものかについてはまだ特定されていない．すなわち，Day and Nalbandov (1977)が排卵後の第1卵胞(R1)が放卵時に増加し他の卵胞に比べ100 倍以上高い値であることからR1卵胞が産生部位であると示唆した．それに対し,Hammond et al. (1980)は排卵前の第1卵胞(F1)がR1卵胞より高いと報告した．しかし最近の報告によると，F1卵胞にもR1卵胞にも同程度の非常に高いPG濃度が放卵時に存在すること(Shimada et al., 1984; Olson et al., 1986)が報告された．一方，子宮もPGを産生すること(Wechsung et al.,1980 ; Asboth et al., 1983)が報告されているが，放卵時の血中濃度の増加に関与しているか明らかではない．

以上のようにＡＶＴとＰＧがそれぞれ放卵に作用すると考えられているが，放卵に対するこれらの関係およびそれぞれの役割がわかっていないために放卵の機構が明らかになっていない．すなわち，以下のいくつかの不明な点がある．１），卵胞除去により放卵が遅延することから，卵巣が放卵に必要であり放卵の調節因子を持っていると考えられている．放卵調節因子としてはＰＧが考えられているが，ＰＧがどこで産生され何により産生が刺激されるか明らかではない．２），子宮におけるＰＧ産生は，放卵時の血中ＰＧ濃度の増加に貢献するのかあるいは産生されても分泌されなく子宮内のみで働くのか明らかではない．また，子宮ＰＧが放卵に関与するかも明らかではない．３），子宮運動と血中ＰＧ濃度の増加は，放卵時に起きるのみでなく連産の第１排卵前にも起き，排卵の放卵への関与が考えられている．しかし排卵のどのような過程が，放卵に関係するのか明らかではない．また，放卵にも排卵を伴う場合と伴わない場合があり，これらの場合に放卵の機構に違いがあるのかないのかわからない．４），ＡＶＴ放出はＰＧ投与による早期放卵時に誘起されるが(Shimada et al., 1986a)，ＰＧが直接ＡＶＴ放出に働らくのかあるいは神経系を介して間接的に作用するのか明らかではない．

従って，本研究では，初めに放卵周期中の卵巣や子宮の組織中とそれぞれの静脈血中ＰＧ濃度を詳しく調べ，卵巣および子宮ＰＧの放卵時の産生部位および放卵への役割について調べた．次に，連産中の放卵時と連産の第１排卵前および排卵を伴わない連産の最終放卵時における卵巣と子宮組織中と血中ＰＧ濃度を測定し，それぞれの場合におけるＰＧの産生部位や機構の違いを比較した．最後に，放卵を誘起および抑制した場合におけるＰＧとＡＶＴの血中濃度と子宮運動を調べこれらの相互関係について検討した．以上の実験から得られた結果および放卵に関する多くの報告から，放卵機構の解明について検討した．

第１章．　放卵に関与するプロスタグランジンの産生部位

第１節．　序文

ニワトリへのプロスタグランジン（ＰＧ）の投与は，早期放卵を誘起し（Hertelendy et al., 1974; 1975), in vitro (Olson et al., 1978) においてもin vivo (Shimada and Asai, 1979) においてもＰＧは子宮筋の収縮を起こす活性を持っている．これらの結果と共に，血中ＰＧ濃度が放卵時に増加することから (Wechsung et al., 1978; Hammond et al., 1980)，ＰＧが放卵に関与すると考えられている．また，第１位の排卵前卵胞（Ｆ１）あるいは第１位の排卵後卵胞（Ｒ１）の除去が放卵を遅延させるという報告（Rothchild and Fraps, 1944; Tanaka and Nakada, 1974; Wood-Gush and Gilbert, 1964)があり，卵胞が放卵機構に関与すると考えられている．Day and Nalbandov (1977) は，卵胞壁中のＰＧを測定しＲ１卵胞のＰＧＦ濃度が放卵時に増加しＦ１卵胞より100 倍以上高いと報告し，Ｒ１卵胞のＰＧが放卵に関係することを示唆した．それに対し，Hammond et al.（1980）はＦ１卵胞の方がＲ１卵胞よりもＰＧ含量が高いと報告し，Olson et al. (1986) はＦ１卵胞とＲ１卵胞のＰＧ含量がほぼ同じであると報告した．したがって，卵胞におけるＰＧ含量の報告は一致しておらず放卵時における血中ＰＧ濃度の増加の主要な産生部位は特定されていない．

本研究では，放卵周期中における末梢，Ｆ１から第３位（Ｆ３）までの排卵前卵胞の卵胞壁静脈および子宮静脈血中とＦ１から第５位（Ｆ５）までの排卵前卵胞とＲ１から第３位（Ｒ３）までの排卵後卵胞の卵胞膜層と顆粒膜層および子宮内膜層と子宮筋層の組織中におけるＰＧＦとＰＧＥを測定し，ＰＧの放卵周期中の血中濃度の変化と主要な産生部位を明らかにし放卵との関連につい

て考察した．

第２節．　材料及び方法

動物

産卵用交雑種のニワトリ（GOTO 360, 10-14 か月齢）は，個別のケージに飼われ，水と餌は自由摂取とした．光条件は，14 L: 10 D（点灯，0600 h；消灯，2000 h）とした．放卵時刻の記録方法はShimada and Asai (1978) に従い，放卵された卵が水銀スイッチを取付けた棒を倒すことにより，接続している時計が止まりその時間を記録した．実験に用いたニワトリは，5 日から12日間卵を連産し，連産の間に１日の休みがある規則正しい連産を示すものを選んだ．

血液と組織の採取

連産中の放卵前16, 12, 8および 4時と放卵直後に，1.5 % ハロタンを含む亜酸化窒素：酸素混合ガス（2:1, 1500 ml/min）でニワトリを麻酔した．上腕静脈にカテーテルを付けヘパリン（500 unit）を投与し，Etches et al.(1981) の方法に従い，Ｆ１卵胞の内の１本分枝の静脈を切りヘパリン処理した毛細管で血液を採取した．その後，Ｆ２卵胞，Ｆ３卵胞，上腕および子宮のそれぞれの静脈から血液を続けて採取した．卵胞からは 0.6-1.2 ml の血液を，上腕と子宮静脈からは2.0 mlの血液を採取した．すべての採血は麻酔から15分以内に終了した．採血終了後直ちに，Ｆ１からＦ５までの排卵前卵胞，Ｒ１からＲ３までの排卵後卵胞および子宮組織を採取した．採取した卵胞は，すぐに氷冷した生理食塩溶液（9 g NaCl/l）中で，卵胞をカミソリで切りそこから卵黄を除去し，先の丸いピンセットを用いて顆粒膜層が出来るだけ破れないように卵胞壁を卵胞膜層と顆粒膜層に分けた（Huang and Nalbandov, 1979)．卵胞膜層，顆粒膜層および子宮組織は，実験に供するまで-20 ℃で凍結して保存した．凍

結保存中に，子宮組織はカミソリで子宮筋層と子宮内膜層に分けて保存した．血液は採血後に遠心し（1500×g, 10 min, 4℃），血漿を分離し-20 ℃で凍結して保存した．

ＰＧのラジオイムノアッセイ

血液と組織サンプルからのＰＧの抽出は，Shimada et al.（1984）の方法に基づいて行なった．血漿は，1NＨＣｌを加えてpH 3にした後にジエチルエーテルを加えてよくかくはんし，次にクライオクーラーを用いて血漿層を凍結させてエーテル層を分離した．エーテルは，窒素ガスにより蒸発させ代わりにアッセイ用緩衝液（0.05M リン酸緩衝液，0.1 % ゼラチン， pH 7.4)を加えてアッセイに用いた．組織の抽出は，初めにエチルアルコールでホモゲナイズし，遠心後に上清のアルコール層を窒素ガスで蒸発させ，アッセイ用緩衝液を加えてアッセイに用いた．

アッセイは，Evans et al. (1981) とOlson et al. (1984) に従い，ＰＧＦ２αとＰＧＥ２の標準品（小野薬品）とDr. Kennedy (University of Western Ontrario)から提供されたＰＧＦ２α抗体とＰＧＥ２抗体を用いて行った．ＰＧＦ２α抗体とＰＧＥ２抗体の交叉反応は，それぞれEvans et al. (1981) とOlson et al. (1984) に記載されている．ＰＧＦ２α抗体は，ＰＧＦ１αもＰＧＦ２αと同程度に交叉反応するのでアッセイの測定値にＰＧＦ１αが含まれることが予想されるので，ＰＧＦ２α抗体を用いたアッセイはＰＧＦと呼ぶことにした．しかし，実際的には組織と血液中にＰＧＦ１αの前駆物質であるジ・ホモ・σ－リノレン酸はほとんど含まれないので，ＰＧＦはＰＧＦ２αの濃度を表していると考えられる．ＰＧＥ２のアッセイにおいても同様な理由からＰＧＥとして示した．ＰＧＦとＰＧＥのアッセイの検出限界は，共に7.8 pg/tubeであった．抽出の回収率は，ＰＧＦの場合 71.1 ± 2.6 %でＰＧＥの場合 61.1 ± 1.2 %であった．アッセイ内と間の変動係数は，ＰＧＦでは13.2 %と

14.0 %で，ＰＧＥでは9.9 % と16.0 %であった．

ＤＮＡの測定

Burton法（Burton, 1956）を用いて，組織中のＤＮＡ含量を測定した．ホモゲナイズした組織を遠心して沈澱させ，エチルアルコールとジエチルエーテルにより脂質を除き，つぎに5%トリクロロ酢酸により酸可溶性ヌクレオチドを除いた後に，5%のトリクロロ酢酸を加えて10分間90℃に加熱して抽出した．抽出した溶液に，1.5%ジフェニールアミンとアセトアルデハイドを加えて吸光度を測定した．

統計処理

個々の測定値は，分散分析により分析した．また，卵胞の組織中の測定値は，各卵胞ごとの卵胞成長のステージの間，卵胞膜層と顆粒膜層の間およびＰＧＦとＰＧＥの間についても分散分析により分析した．有意差検定は， Duncan's New Multiple Range test により行った．

第３節．　結果

血中ＰＧＦとＰＧＥ濃度

図 1-1は，放卵周期中における末梢，子宮及びＦ１からＦ３卵胞壁静脈中の血中ＰＧＦとＰＧＥ濃度を示す．末梢血中ＰＧＦ濃度は，放卵12時間前に有意に増加し（P<0.01），その後減少して放卵時に再び増加した（P<0.01）．子宮血中ＰＧＦ濃度も末梢とほぼ同じ濃度で推移し，放卵時に有意に増加した（P<0.01）．Ｆ１卵胞の血中ＰＧＦ濃度は，放卵時に他の時間帯よりも約10倍近く著しく増加し（P<0.01），放卵時の末梢血中ＰＧＦ濃度よりも16倍高い値であった．Ｆ２卵胞の血中ＰＧＦ濃度も放卵時に増加した（P<0.01）が，Ｆ１卵胞の1/6 の値であった．放卵時における血中ＰＧＦ濃度の増加に比べＰＧＥでは，末梢，子宮および卵胞壁静脈の血中濃度において放卵周期中に有意な変化が見

られなかった．

卵胞組織中のＤＮＡ含量

図 1-2は，Ｆ１からＦ５の卵胞とＲ１からＲ３の卵胞から分離した卵胞膜層と顆粒膜層のＤＮＡ含量の放卵周期中の変化を示す．卵胞膜層のＤＮＡ含量は，Ｆ５からＦ１卵胞までの卵胞成熟の間に約 2倍に増加した．排卵後卵胞では，Ｆ１からＲ３卵胞までの退行の間に約1/3 に減少した．顆粒膜層のＤＮＡ含量は卵胞膜層の1/10から1/20であるが，Ｆ５からＦ１卵胞までの卵胞成熟の間に約 3倍に増加し，排卵後のＲ１からＲ３卵胞までに約2/3 に減少し，ほぼ卵胞膜層のＤＮＡ含量と同じ変化を示した．

卵胞組織中のＰＧＦとＰＧＥ濃度

図 1-3は，Ｆ１からＦ５までとＲ１からＲ３までの卵胞から分離した卵胞膜層と顆粒膜層中のＰＧＦ濃度の放卵周期中の変化を示す．卵胞膜層のＰＧＦ濃度は，Ｆ５からＦ１卵胞の排卵直前までの卵胞成長の間に約20倍増加した．Ｆ５からＦ２卵胞までのそれぞれの放卵周期内では，放卵前24時と16時あるいは16時と12時の間に有意な増加（$P<0.05$）が観察され，各放卵周期内で放卵前12時が最も高い値を示す変化を繰返した．それに対し，Ｆ１卵胞では放卵時まで増加を続け，放卵時に最高値を示した．各卵胞の放卵周期中における卵胞膜層の平均ＰＧＦ濃度は卵胞成長にともない増加した（Ｆ５（0.15± 0.03 ng/ug DNA, n=25 ） vs Ｆ４（0.28± 0.04 ng/ug DNA, n=25 ），$P<0.01$; Ｆ３（0.37± 0.06 ng/ug DNA, n=25) vs Ｆ２（ 0.64 ± 0.07 ng/ug DNA ,n=25), $P<0.05$; Ｆ２ vs Ｆ１(1.06 ± 0.12 ng/ug DNA, n=25), $P<0.01$）．排卵後のＲ１卵胞とＦ１卵胞ではほぼ同じＰＧＦ濃度であった． Ｒ１卵胞におけるＰＧＦ濃度は， 放卵前４時から放卵時において有意に増加($P<0.01$)した．

顆粒膜層のＰＧＦ濃度では，Ｆ４卵胞がＦ５卵胞に比べ約半分に減少した．その後，Ｆ１卵胞までの各放卵周期内では卵胞膜層の場合と類似して放卵前12

時が高く放卵時が低い変化を示した．しかしながら，卵胞膜層で見られたような卵胞成長にともなう増加は見られなかった．排卵後のＲ１からＲ３卵胞では，顆粒膜層のＰＧＦ濃度の増減変化が大きくＲ１卵胞の放卵前8 時と4 時およびＲ２卵胞の8 時と4 時および16時と12時，Ｒ３卵胞の16時と12時の間に有意に増加した（$P<0.01$）．

図 1-4は，Ｆ１からＦ５までとＲ１からＲ３までの卵胞から分離した卵胞膜層と顆粒膜層のＰＧＥ濃度の放卵周期中の変化を示す．卵胞膜層のＰＧＥ濃度は，Ｆ４からＦ１卵胞を通して放卵周期の12と 8時の間で有意な減少を示した（$P<0.01$）が，卵胞成長にともなう変化は見られなかった．顆粒膜層中のＰＧＥ濃度は，Ｆ５からＲ３卵胞まで低い値で推移し有意な変化が見られなかった．

子宮組織中のＰＧＦとＰＧＥ濃度

図 1-5は，放卵周期中における子宮筋層と子宮内膜層のＰＧＦとＰＧＥ濃度の変化を示す．ＰＧＦ濃度は，子宮筋層においても子宮内膜層においても放卵16時間前から 4時間前までに約 4倍増加したが，放卵時に急激に減少した（$P<0.01$）．しかし，ＰＧＥ濃度では，子宮筋層においても子宮内膜層においても放卵周期中ほぼ一定濃度で推移した．

第４節．　考察

放卵時に一致して末梢血中ＰＧＦ濃度が増加することが報告されているが（Wechsung et al., 1978; Hammond et al., 1980; Olson and Hertelendy, 1981），本研究も同様の結果を得た．さらに本研究では，放卵時にＦ１卵胞の血中ＰＧＦ濃度が末梢血中濃度に比べ約16倍の非常に高い値を示すことを明らかにした．これは，放卵時にＦ１卵胞から多量のＰＧＦが分泌されＰＧＦの末梢血中濃度を高めていると考えられる．そして，Ｆ１卵胞の卵胞膜層のＰＧＦ

濃度も放卵時に最高になることから，主として卵胞膜層のＰＧＦが末梢血中ＰＧＦ濃度の増加に大きく関与していると考えられる．しかしながら，Ｒ１卵胞は血管系の退行により採血出来なかったのでＲ１卵胞の血中ＰＧＦ濃度はわからないが，Ｒ１卵胞の卵胞膜層のＰＧＦ濃度は放卵時にＦ１卵胞に次いで二番目に高い値を示した．また，Ｒ１卵胞を除去することによって放卵が遅延するという報告(Rothchild and Fraps,1944; Tanaka and Nakada,1974; Wood-Gush and Gilbert, 1964）と考え合せると，Ｒ１卵胞がＦ１卵胞と同様に放卵に関与するＰＧ産生をしているとも考えられる．ただ，Ｆ１卵胞の血流量はＲ１卵胞に比べ３倍以上高い（Scanes et al., 1982)ことから，末梢ＰＧ濃度の増加はＦ１卵胞の方がより大きく関与していると見られる．

放卵は，通常排卵前 30-60分に起り（Warren and Scott, 1935），プロジェステロン（Ｐ4)の投与により排卵を誘起した場合放卵も誘起され，Ｐ4 の投与時間を変えて排卵を遅延させれば放卵も遅延する（Wilson and Sharp, 1976）．このような放卵への排卵の影響に比べ，ＰＧ合成阻害剤のインドメサシンを投与して放卵を遅延させても排卵に影響しない(Day and Nalbandov, 1977）．このように放卵が排卵に大きな影響をうけることは，排卵直前のＦ１卵胞のＰＧＦが放卵に大きく関与するためであると考えられ，そのＰＧＦの産生および分泌は排卵機構と関連している可能性を示唆している．連産中の放卵と排卵の両方が起きる場合と異なり，連産の最終放卵では排卵をともなわないが，放卵時にＰＧＦ２αの代謝物である 13,14-dihydro-15keto-F2α（ＰＧＦＭ）が血中に増加することが観察されている（Olson and Hertelendy, 1981）．このＰＧＦＭ自身は子宮収縮作用をほとんど持たないのでＰＧＦＭは放卵調節に関与しない．また，この結果が生理活性を有するＰＧＦ２αの血中増加を意味するとは断定できない．このＰＧＦＭの供給源は，Olson et al. (1986) によると連産の最終放卵時にＲ１卵胞でＰＧＦが増加することから，排卵を伴わない連産

の最終放卵においてはＲ１卵胞からＰＧＦが分泌されると考えられる．最終放卵の調節に関するＰＧの役割についてはさらに第２章で連産中の放卵時と最終放卵時におけるＰＧの末梢血中濃度と卵胞の血中と組織濃度を比較し検討した．

以上のように卵胞のＰＧが血管系を経て子宮に作用して放卵を起こすのではないかと考えられているが，ＰＧは一般に様々な組織で産生され血中に放出されたＰＧはほとんど肺で代謝されると考えられている．したがって，卵巣で産生されたＰＧが子宮を刺激して放卵を誘起するような考えは受け入れ難く思われる．しかしながら，ＰＧを静脈注射した場合においても子宮内に投与した場合よりも高濃度のＰＧが必要とされるものの，放卵は誘起されると報告されており（Hertelendy et al., 1975)，多量のＰＧが血中に分泌された場合においてはすべてのＰＧが肺で代謝されないのではと考えられる．それで，本実験における上腕と子宮の静脈血中で放卵時に同程度のＰＧの増加が見られた結果は，卵胞からＰＧが分泌されても全てが代謝されないために，子宮筋収縮に作用したものと考えられる．

卵胞成長の間の卵胞膜層と顆粒膜層のステロイドホルモンとＰＧＦの変化を比較すると，Ｆ５からＦ２卵胞の放卵周期における卵胞膜層のＰＧＦ濃度は24-16 時か16-12 時において有意な増加をしながら卵胞成長とともに増加するのに対して，各卵胞の卵胞膜層のエストラジオール－17β（Ｅ2)は放卵周期の24-16 時間において有意に減少し，卵胞が成長するにともなって減少する（Bahr et al., 1983)という，互いに正反対の変化を示している．従って，これらの結果から卵胞膜層においてＰＧＦがＥ2 産生を抑制するかＥ2 がＰＧＦ産生を抑制するような関係が可能性として考えられる．ニワトリでは，インドメサシンを投与しても血中ステロイドホルンモン濃度に変化を及ぼす影響が見られず(Day and Malbandov, 1977)，ＰＧがＥ2 産生を抑制しないと考えられる．他方，Ｅ2 のＰＧ産生に対する影響については報告がない．ただ，in vitro条件

下の単離顆粒細胞において生殖腺刺激ホルモンを投与するとプロジェステロンが多量に産生されたが，ＰＧ産生には何の影響もみられなかったと報告されている（Hertelendy and Hammond, 1980）．ラットにおいては，ＰＧ産生に対してエストロジェンが抑制的に作用する(Thaler-Dao et al., 1982）という報告があり，ニワトリにおいても，Ｅ2 がＰＧ産生に抑制的に作用する可能性が残されている．今後さらにニワトリにおけるＰＧとステロイドホルモンの相互作用について調べる必要があると思われる．

卵胞膜層のＰＧＦ濃度が，卵胞成長にともない増加し排卵直前に最高になるのは，ＰＧＦが排卵に関係しているからとも考えられる．哺乳類においては，ＰＧが排卵時のコラゲナーゼ様蛋白分解酵素を活性化し卵胞壁破裂機構に関与しているといわれている（Espey, 1980)．しかし，ニワトリにインドメサシンを投与しても排卵が抑制されない（Day and Nalbandov, 1977)，それゆえＰＧと排卵との間には強い関連がないかもしれない．しかしながら，ＰＧＦが卵胞膜層の収縮を起こすという結果は（Yoshimura et al., 1983），ニワトリの排卵にＰＧが必須ではなくてもより確実に排卵するための付加的意味があるかもしれない．

子宮組織もＰＧを合成することが出来（Wechsung et al., 1980; Asboth et al., 1983; Toth et al., 1983)，Wechusung et al. (1980) によればアラキドン酸からの子宮のＰＧ合成活性はＲ１卵胞の2/3 であり，子宮ではＰＧＥ合成の活性が高いと報告している．しかし，子宮静脈中のＰＧ濃度は末梢血中とはほ同じであり子宮筋層と子宮内膜層のＰＧＦ濃度も放卵時に減少することから，子宮のＰＧ産生が末梢ＰＧ濃度の増加に寄与しているとは考えられない．最近のMolnar et al. （1987）のニワトリ子宮組織を用いた研究によると，ＰＧのセカンドメッセンジャーと考えられるｃＡＭＰとＣａのＰＧＥとＰＧＦに対する動態から，ＰＧＦの子宮収縮作用にはＰＧＥの存在が重要であることを

示している．子宮での主要なＰＧ合成がＰＧＥであり，子宮組織のＰＧＥがＰＧＦのように放卵時に減少しないことから，子宮組織は放卵時にＰＧＦの筋収縮作用を高めるためにＰＧＥ産生をしていると考えられる．本研究では子宮組織のＰＧＦ濃度は，放卵前16時間から4 時間にかけて高いことが示された．この結果は，排卵された卵が子宮に入り子宮運動が増加する時間(Shimada, 1978)とほぼ一致しており卵殻形成における子宮運動に関係していると考えられる．

第５節．　要旨

ラジオイムノアッセイにより末梢，子宮および卵胞静脈の血液中と，排卵前の第１位（Ｆ１）から第５位（Ｆ５）までの卵胞および排卵後第１位（Ｒ１）から第３位（Ｒ３）までの卵胞の卵胞膜層と顆粒膜層中および子宮筋層と子宮内膜層中のプロスタグランジン（ＰＧ）ＦとＰＧＥの濃度を測定した．血液と組織の採取は，排卵をともなう連産内の放卵前16，12，　8および　4時と放卵直後に行った．末梢と子宮の血中ＰＧＦ濃度は放卵時に増加し，Ｆ１卵胞の血中濃度もまた放卵時に増加して末梢の濃度の約16倍高かった．卵胞膜のＰＧＦ濃度は，排卵前卵胞では成熟にともなって増加し，その際のＦ５からＦ２までの排卵前卵胞では放卵前の24－16時間か16－12時間に増加し放卵前12時で最高値になり放卵時に減少した．それに対し，Ｆ１卵胞では排卵（放卵）が近付くにつれて増加を続け，放卵時に最高値を示した．Ｒ１卵胞も放卵時に著しい増加を示した．顆粒膜層のＰＧＦ濃度は，排卵前卵胞ではほぼ一定の濃度であるが，排卵後卵胞では変化が大きく有意な増加が見られた．卵胞膜層のＰＧＥ濃度は，Ｆ１とＦ２卵胞で変化が大きく有意な増加を示したが，卵胞成長にともなう増加は示さなく，排卵後卵胞ではほぼ一定の濃度で推移した．顆粒膜層のＰＧＥ濃度は，排卵前卵胞においても排卵後卵胞においても低い値で推移した．子宮筋層および子宮内膜層のＰＧＦ濃度は，放卵8　時間前に増加し放卵時に急に減少した．これらの結果は，放卵時の末梢血中ＰＧＦ濃度の増加は，Ｆ１およびＲ１卵胞の卵胞膜層に由来するものであることを示唆する．そして，ＰＧが子宮筋の収縮活動を強め卵が体外に放卵されると考えられる．

第２章．　プロスタグランジンに対する放卵と排卵の関係

第１節．　序文

前章では，連産内の放卵（Ｃｓ放卵）つまり排卵をともなう放卵に関しての末梢，卵胞および子宮静脈の血中ＰＧ濃度とＦ５からＦ１までの排卵前卵胞とＲ１からＲ３までの排卵後卵胞の卵胞膜層と顆粒膜層および子宮内膜層と子宮筋層のＰＧ濃度を測定した．そして，放卵時における末梢血中ＰＧ濃度の増加はＦ１卵胞とＲ１卵胞の卵胞膜層から分泌されたものであると考えられることを示し，卵胞のＰＧが放卵の誘起に関与することを示唆した．

しかしながら，放卵の起きない連産の第１排卵前（Ｃ１排卵）にも子宮運動（Shimada and Asai, 1979）と血中ＰＧ濃度（Shimada et al., 1984）は，排卵をともなうＣｓ放卵と同様に増加する．このことは，卵胞が放卵に寄与するＰＧの産生部位であると考えられること（第１章）と考え合せて，排卵機構が卵胞のＰＧ産生および分泌に関与していると考えられる．そして，Ｃｓ放卵と異なり排卵を伴わない連産の最終放卵（Ｃｔ放卵）においても，排卵を誘起すると放卵も早くなる（Wilson and Sharp, 1976）と報告されている．しかし，Ｃｔ放卵においては排卵をともなっておらずＲ１卵胞のＰＧ濃度は高いがＦ１卵胞では低いと報告されており（Olson et al., 1986），卵胞のＰＧがＣｔ放卵においてもＣｓ放卵と同様に作用するのか明らかではない．

しかし，Ｃｔ放卵やＣ１排卵における卵胞膜の分離細胞層のＰＧ濃度についてのデータは未だ発表されていない．従って，Ｃｔ放卵における卵胞から分離した卵胞膜層と顆粒膜層のＰＧ濃度とＣｓ放卵とＣ１排卵の場合を比較することにより放卵に関する卵胞の役割を研究することが本研究の目的である．

第２節．　材料及び方法

動物

産卵用交雑種(Goto 360,約10か月齢，1.6-2.1kg)は，水と餌は自由摂取とし，光条件は14 L:10 D(1100 h，点灯）とした．放卵時刻の記録方法は，Shimada and Asai，(1978)の方法に従って行った．実験に用いたニワトリは，４日から８日間卵を連産し，連産の間に１日の休みがある規則的な連産を示すものを選んだ．

血液と組織の採取

１）．連産内の放卵直後（Ｃｓ放卵）に，1.5 % ハロタンを含む亜酸化窒素：酸素混合ガス（2:1，1500 ml/min）で麻酔した．上腕静脈にカテーテルをつけ，500 unitのヘパリンを投与し，その後Etches et al. (1981)の方法に従い，Ｆ１卵胞の内の１本の分枝の静脈を切りヘパリン処理した毛細管で血液を採取した．卵胞からは0.6-1.2 mlの血液を，上腕と子宮静脈からは2.0 mlの血液を採取した．すべての採血は麻酔から15分以内に終了した．採血終了後直ちに，第１位から第５位までの排卵前卵胞と第１位から第３位までの排卵後卵胞および子宮組織を採取した．採取した卵胞は，すぐに氷冷した生理食塩溶液中で，卵胞膜層と顆粒膜層に分けた（Huang and Nalbandov，1979)．血液サンプルは遠心し，血漿を分離し -20℃で凍結保存した．

２）．連産の最終放卵直後（Ｃｔ放卵）に，１）と同様に血液と組織を採取した．

３）．連産の第１排卵（Ｃ１排卵）に伴う血液と組織の採取は，採取の 4-5 日以上前にShimada and Asai，(1978)に従って卵管の子宮に電極を植え，第１排卵の予定時刻の 2-3時間前から子宮運動の記録を取り子宮運動が最高になった時に１）のように血液と組織を採取した．

ＤＮＡの測定

組織中のＤＮＡ含量の測定はBurton法(Burton,1956) に従って，第１章で示したような方法で行った．

ラジオイムノアッセイ

血液中と組織中のＰＧＦとＰＧＥ濃度は，第１章で述べた方法でラジオイムノアッセイにより測定した．ラジオイムノアッセイは２対づつにして１回で行い，アッセイ内の変動係数は，ＰＧＦの場合7.8 %,ＰＧＥの場合8.1 % であった．回収率は，ＰＧＦで72.2 %ＰＧＥで67.2 %であった．

統計処理

データは，分散分析により分析した後，Duncan's New Multiple Range test により平均値の有意差を検定した．

第３節．　結果

血液中のＰＧＦとＰＧＥ濃度

図 2-1にＣｓ放卵，Ｃｔ放卵，Ｃ１排卵における末梢と子宮静脈中の血中ＰＧＦとＰＧＥ濃度を示す．末梢と子宮静脈の血中ＰＧＦとＰＧＥ濃度は，Ｃｓ放卵，Ｃｔ放卵とＣ１排卵においていずれもほぼ同じ値であった．しかし，末梢でも子宮静脈においても，ＰＧＦ濃度はＰＧＥ濃度より約 5倍以上高かった．

図 2-2に，Ｆ１からＦ３卵胞までの静脈中の血中ＰＧＦとＰＧＥ濃度を示す．Ｃｓ放卵では，Ｆ１卵胞の血中ＰＧＦ濃度がＦ２やＦ３卵胞より10倍以上高く（$P<0.01$），末梢濃度の約30倍であった．Ｃ１排卵においても卵胞が大きいほど血中ＰＧＦ濃度が高く，Ｆ１卵胞の濃度はＣｓ放卵の次に高い値であった．しかしこれに対し，Ｃｔ放卵においてはＦ１卵胞のＰＧＦ濃度がＦ２卵胞と有意に差がなく，Ｃｓ放卵とＣ１放卵のＦ１卵胞のそれぞれ約1/3 と約1/2 であ

り有意に低い値であった（P<0.01）．ＰＧＥ濃度では，Ｆ３卵胞においてＣｔ放卵がＣｓ放卵よりも有意に高い値であった（P<0.01）が，Ｆ２とＦ１卵胞においては差が見られなかった．卵胞間においてはＰＧＦのＦ１卵胞の様な増加がなく，卵胞成長による差が見られなかった．

卵胞膜層と顆粒膜層中のＰＧＦとＰＧＥ濃度

図 2-3に，Ｆ５からＦ１卵胞までとＲ１からＲ３卵胞の卵胞膜層と顆粒膜層中のＰＧＦ濃度を示す．Ｃｓ放卵とＣ１排卵における卵胞膜層のＰＧＦ濃度は，卵胞成長に伴い増加しＦ１卵胞においてそれぞれ最も高い値を示した（図 2-3，上）．これに比較して，Ｃｔ放卵ではＦ１卵胞のＰＧＦ濃度がＦ２卵胞とほぼ同じ値であり，他の群の約半分の濃度であり有意に低かった（P<0.01）．しかし，Ｃｔ放卵のＲ１卵胞は，Ｆ１卵胞のＰＧＦ濃度の約 1.8倍に増加しＣｓ放卵のＲ１卵胞と同じ濃度であった．それに対し，Ｃ１排卵ではＲ１卵胞のＰＧＦ濃度がＦ１卵胞の約 1/6に減少した．顆粒膜層のＰＧＦ濃度は，Ｆ４卵胞においてＣ１排卵がＣｔ放卵に有意に低く（P<0.01），Ｆ２卵胞においてはＣｔ放卵が他の群よりも有意に低かった（P<0.01）が，各群とも卵胞膜層のような卵胞成長にともなうＰＧＦ濃度の増加は見られなかった．（図 2-3，下）．しかしながら，排卵後のＲ１卵胞ではＣｓ放卵とＣｔ放卵のＰＧＦ濃度がＦ１卵胞より約 5倍増加した．反対に，Ｃ１排卵のＰＧＦ濃度はＲ１卵胞で減少し，他の群の1/6 以下の低い値であった（P<0.01）．

図 2-4に，Ｆ５からＦ１卵胞までとＲ１からＲ３卵胞までの卵胞膜層と顆粒膜層のＰＧＥ濃度を示す．卵胞膜層のＰＧＥ濃度は，Ｆ５からＦ３卵胞まで各群間に差がなく卵胞成長による変化も見られなかった（図 2-4，上）．Ｆ２とＦ１卵胞においては各群ともＰＧＥ濃度が約3 倍増加した（P<0.01）が，排卵後卵胞では減少してＦ３卵胞とほぼ同じ濃度であった．顆粒膜層のＰＧＥ濃度は，Ｆ３卵胞においてＣｓ放卵が他の群に比べ有意に高い値（P<0.01）で，Ｆ

２卵胞においてはＣｓ放卵がＣｔ放卵よりも有意に高い値であった（P<0.01）．他の卵胞では，各群の間に有意差がなく卵胞間の差も見られなかった（図 2-4，下）．

子宮筋層と子宮内膜層中のＰＧＦとＰＧＥ濃度

図 2-5に，子宮筋層と子宮内膜層中のＰＧＦとＰＧＥ濃度を示す．ＰＧＦ濃度は，子宮筋層と子宮内膜層において差が見られなかった．ＰＧＥ濃度は，子宮筋層においてＣｓ放卵が他の群よりも低い値を示した（P<0.01）が，子宮内膜層では差が見られなかった．

第４節．　考察

本研究は，Ｃｓ放卵においてはＦ１卵胞静脈の血中ＰＧＦ濃度が著しく増加するのに対し（第１章），Ｃｔ放卵では極めて低い濃度であるという以前の結果（Ｃｓ放卵の 1/3以下）（Olson et al., 1986）を確認した．同様な差は，Ｃｓ放卵の排卵直前のＦ１卵胞と同程度に成長しているけれども排卵しないＣｔ放卵のＦ１卵胞の組織中のＰＧＦ濃度にも明確に示されている（Olson et al., 1986)ことも観察した．本研究はさらに，このような差が卵胞の顆粒膜層ではなく卵胞膜層中のＰＧＦ濃度変化に起因していることを示唆した．

しかしながら，Ｃｔ放卵におけるＦ１卵胞以外の卵胞の卵胞膜層中のＰＧＦ濃度はＣｓ放卵のそれぞれの対応する卵胞のＰＧＦ濃度とほぼ同じであった．これらの結果から，Ｃｔ放卵のＦ１卵胞は排卵しないためにＣｓ放卵のようにＰＧＦ濃度が増加しないのではないかと考えられ，排卵がＣｓ放卵におけるＦ１卵胞のＰＧ産生および分泌に関係していると考えれる．さらに，プロジェステロンや黄体形成ホルモン放出ホルモン（ＬＨＲＨ）の投与により排卵を誘起すると放卵も誘起されるが(Wilson and Sharp, 1976; Shimada et al., 1986b

)，最近ＬＨＲＨ投与による誘起排卵の約１時間前に血中ＰＧＦＭが増加することも観察された（personal communication, J. Kelly and R. J. Etches)ことから，排卵に関連した機構がＦ１卵胞におけるＰＧ産生を促進し，そのＰＧが放卵に関与するのではないかと考えられる．

一方，Ｃｔ放卵のＲ１卵胞はＣｓ放卵と同様に高濃度のＰＧを含有しており，Ｆ１卵胞と異なり卵胞膜層のみならず顆粒膜層にも多量に含まれていることが本研究で明らかになった（図 2-3）．Ｒ１卵胞の除去による放卵遅延は，Ｃｓ放卵においては排卵遅延も伴っており放卵遅延が排卵の遅延によって間接的に起きたとも考えられる．しかしながら，Ｃｔ放卵においてもＲ１卵胞除去により放卵遅延が起り（Tanaka and Nakada, 1974)，この結果はＲ１卵胞除去そのものが放卵遅延を起こしたものと考えられる．また，Ｒ１卵胞を除去するとＦ１卵胞を除去した場合に比べより長く放卵が遅延することから(Rothchild and Fraps, 1944)，放卵にはＲ１卵胞がより重要と考えられる．さらにＣｔ放卵の30分前の末梢血中ＰＧＦ濃度は1.17±0.16 ng/mlからＣｔ放卵時の 2.11 ± 0.24 ng/ml に有意に増加し，卵胞のＰＧＦ産生を抑制するに足りる量のインドメサシン（25 mg/hen)をＣｔ放卵の２時間前に投与するとＣｔ放卵は予定放卵時刻から8-13時間遅延する（未発表，斎藤．島田）ことから考え合わせるとＲ１卵胞のＰＧはＣｔ放卵の調節に重要な役割を果たしていると考えられる．

Ｃｔ放卵とその前の放卵との時間間隔がＣｓ放卵とその前の放卵との間隔よりも著しく長い（Warren and Scott, 1935）ことは，Ｃｔ放卵では次の排卵を伴わないためにＲ１卵胞のＰＧ産生が遅れるということによるかもしれない．では，どのようにしてＣｔ放卵において排卵なしにＲ１卵胞のＰＧ産生が起きるのであろうか？　Ｃｓ放卵の場合，排卵前卵胞の卵胞膜層におけるＥ2 濃度が十分に減少するとＰＧ産生の抑制が解除されＰＧＦ産生が増加するのではないかと示唆した（第１章）．このような可能性がＣｔ放卵調節にあるかもしれ

ないがＣｔ産卵におけるＲ１卵胞のＥ２含量変化を示す報告が得られていないので現在のところ憶測の域を出ない．

要旨

連産中の放卵（Ｃｓ放卵），連産の最終放卵（Ｃｔ放卵）と連産の第１排卵（Ｃ１排卵）前の子宮運動の最高時に，末梢と第１位（Ｆ１）から第３位（Ｆ３）までの排卵前卵胞および子宮静脈中の血中プロスタグランジン（ＰＧ）ＦとＥ濃度とＦ１とＦ５卵胞までの排卵前卵胞と第１位（Ｒ１）から第３位（Ｒ３）までの排卵後卵胞の卵胞膜層と顆粒膜層および子宮筋層と子宮内膜層中のＰＧＦとＰＧＥ濃度を測定した．末梢と子宮静脈中の血中ＰＧＦとＰＧＥ濃度は，Ｃｓ放卵，Ｃｔ放卵とＣ１排卵の場合ではほぼ同じ濃度であった．Ｃｓ放卵におけるＦ１卵胞の血中ＰＧＦ濃度は，Ｆ２やＦ３卵胞よりも10倍以上高く，末梢濃度の約30倍であった．Ｃ１排卵においても同様な傾向が見られたが，Ｃｔ放卵ではＦ１卵胞の血中ＰＧＦ濃度がＦ２卵胞とほぼ同じ値であった．ＰＧＥ濃度においては，卵胞成長による差が見られず各群における差も見られなかった．卵胞膜層におけるＰＧＦ濃度は，Ｃｓ放卵とＣ１排卵においては卵胞が大きいほど高い値を示し，それぞれＦ１卵胞が最高値を示した．それに対して，Ｃｔ放卵ではＦ１卵胞のＰＧＦ濃度がＦ２卵胞と同じ値であり，他の群よりも低かった．しかし，Ｒ１卵胞においてはＣｔ放卵がＣｓ放卵とほぼ同じ値を示したが，Ｃ１排卵では減少して低い値になった．顆粒膜層のＰＧＦ濃度は，排卵前卵胞において卵胞成長による変化が見られず，各群ともほぼ同じ濃度であった．しかし，排卵後卵胞のＲ１卵胞ではＣｓ放卵とＣｔ放卵のＰＧＦ濃度がＦ１卵胞より約5 倍増加した．ＰＧＥ濃度は，卵胞膜層では各群による差は見られず，Ｆ2とＦ１卵胞では各群とも増加した．顆粒膜層では，各群ともＦ５からＲ３卵胞まで変化が見られずほぼ一定の値であった．以上の結果は，Ｃｓ放卵とＣ１排卵の場合にはＦ１卵胞およびＲ１卵胞の卵胞膜層からＰＧが分泌されるが，Ｃｔ放卵の場合にはＲ１卵胞の卵胞膜層からＰＧが分泌されて放卵

に寄与するかもしれないことを示唆した．

第３章．　放卵に関するアルギニンバソトシンとプロスタグランジンの役割

第１節．　序文

下垂体神経葉ホルモンであるアルギニンバソトシン（ＡＶＴ）は放卵に関与すると考えられている．すなわち，ＡＶＴの投与は子宮運動を増加させ早期放卵を誘起し(Rzasa and Ewy, 1970; Olson et al., 1978)，自然放卵時において下垂体神経葉中のＡＶＴ含量が減少し（Tanaka and Nakajo, 1962)，血中濃度が増加する（Arad and Skadhauge, 1984; Nouwen et al., 1984; Tanaka et al., 1984; Shimada et al., 1986a)と報告されている．また，第１章から第２章で示したようにＰＧも放卵に関係すると考えられ，ＰＧを投与し早期放卵を誘起すると，血中ＡＶＴ濃度が放卵時に増加する（Shimada et al., 1986a)と報告されている．反対に，インドメサシン（ＰＧ合成阻害剤）を投与しＰＧ合成を抑制すると放卵が遅延する（Day and Nalbandov, 1977; Shimada and Asai, 1979; Shimada et al., 1986b)が，この場合，血中ＰＧ濃度が増加しないためにＰＧが直接子宮運動を刺激しないのか，あるいは間接的にＡＶＴ放出を介しての子宮運動が起きないためなのか明らかではない．

本研究では，インドメサシンの投与により血中ＰＧ濃度を減少させて放卵を遅延させた場合と，ＰＧＥ２の投与によって放卵を誘起させた場合の血中ＡＶＴ濃度と同時に子宮運動と血中ＰＧＦとＰＧＥ濃度を測定し，放卵機構に関してＰＧとＡＶＴのどちらが高位であるかについて考察した．

第２節．　材料及び方法

<u>動物</u>

産卵用交雑種のニワトリ（10-14 か月齢，1.6-2.1 Kg）は，個別にケージで飼われ，水と餌は自由摂取とした．光条件は，14 L: 10 Dとして1100 hに点灯した．放卵時刻の記録は，Shimada and Asai (1978) に従って行った．一連産が４日以上で，連産の間に１日休みがある規則正しい放卵周期を持つニワトリを選び，実験の 4-5日以上前に子宮壁に電極を植えて（Shimada and Asai, 1978），放卵周期の確認後に実験に用いて子宮運動を記録した．

実験１：インドメサシン投与による放卵遅延

予定放卵時刻の３時間前にインドメサシン（Sigma Co.)を5 mg/ 0.2 mℓ（ゴマ油）胸筋に注射した．対照群には，同時刻にゴマ油を0.2 mℓ胸筋に注射した．インドメサシン投与直前から予定放卵時刻60分後まで子宮運動を記録した．採血は，その3-4 時間前に局所麻酔（キシロカイン，藤沢薬品）下で上腕静脈に付けたカニューレにより予定放卵時刻の 180分前， 120分前，60分前，30分前，15分前，予定放卵時刻（対照群では自然放卵直後）および予定放卵時刻の 5分後，15分後，30分後，60分後に行った．対照群においても，同様に子宮運動の記録と採血をした．採血した血液は，1500 gで10分間遠心し，血漿は -20℃で保存した．

実験２：ＰＧＥ２投与による放卵誘起

予定放卵時刻の３時間前に子宮内にカニューレを入れ，ＰＧＥ２（小野薬品）を 1μg／mℓ（0.1 % アルコール含有生理食塩溶液）投与した．対照群では，同時刻に子宮内に1 mℓの0.1 % アルコール含有生理食塩溶液を投与した．ＰＧＥ２投与の15分前から30分後までと予定放卵時刻15分前から30分後まで子宮運動を記録した．採血は，ＰＧＥ２投与15分前，誘起放卵直後（対照群では投与 5分後）， 5分後，15分後，30分後および予定放卵時刻の15分前，予定放卵時刻（対照群では自然放卵直後）， 5分後，15分後，30分後に実験１と同様に行った．対照群も同様に，子宮運動の記録と採血を行った．

実験３：インドメサシン処理後のＰＧＥ２投与による放卵誘起

予定放卵時刻の3 時間前にインドメサシンを5 mg/ 0.2 mℓ（ゴマ油）胸筋に注射した後，予定放卵時刻にＰＧＥ２を 1μg/ mℓ（生理食塩溶液）子宮内に投与し，対照群ではインドメサシン処理後の予定放卵時刻に1 mℓの生理食塩溶液を子宮内に投与した．ＰＧＥ２および生理食塩溶液の投与 5分前，誘起放卵直後（対照群では投与 5分後），5分後に実験１と同様に採血した．

ラジオイムノアッセイ

血中ＡＶＴ濃度は，Shimada et al. (1986a)の方法に従いラジオイムノアッセイにより測定した．抽出は，octadecasylil-silica- カートリッジ(Sep-Pac C18, Waters Association) により行い，合成のＡＶＴ（Bachem, Inc.）とＡＶＴ抗体（R70; Skowsky et al., 1974)を用いた．使用したＡＶＴは，Dr. Sawyerに依頼したバイオアッセイの結果ラットの血圧上昇活性で191 U/mgであった．血中ＰＧＦとＰＧＥ濃度は，第１章に述べた方法に従って測定した．アッセイは２対づづにして１回で行い，アッセイ内の変動係数は，ＡＶＴの場合11.2 %，ＰＧＦの場合7.77 %，ＰＧＥの場合7.35 %であった．また，回収率は，ＡＶＴの場合 78.2 ± 6.1 %で，ＰＧＦの場合 72.5 ± 3.1 %およびＰＧＥの場合 67.1 ± 2.1 %であった．

統計処理

データは分散分析により分析した後，Duncan's New Multiple Range testにより同時間の処理群と対照群の有意差を検定した．

第３節．　結果

実験１：インドメサシン投与による放卵遅延

図 3-1に，予定放卵時刻 180分前（インドメサシン投与）から予定放卵時刻

60分後までの子宮運動，血中ＡＶＴ，ＰＧＦ，ＰＧＥ濃度を示す．対照群では，放卵が予定時刻に起き，子宮運動が増加し放卵時に最高値を示した．これに対してインドメサシン投与群の子宮運動は，予定放卵時刻にも変化が見られず対照群に比べ有意に低い一定の値で推移し（P<0.01），放卵が8-14時間以上遅延した．しかしながら，放卵後の対照群の子宮運動は急激に減少し，30分後と60分後ではインドメサシン投与群より有意に低い値を示した（P<0.05）．血中ＡＶＴ濃度は，対照群では放卵に一致して約10倍増加したが，インドメサシン投与群ではそのような増加がみられなかった．そして，対照群が放卵時刻から15分後および60分後にインドメサシン投与群よりも有意に高い値を示した（P<0.05）．血中ＰＧＦ濃度は，予定放卵時刻60分前から15分後までインドメサシン投与群が対照群より有意に低い値を示した（60分前から 5分後まで，P<0.05；15分後，P<0.01）．血中ＰＧＥ濃度は，両群ともほぼ一定の値で推移した．

実験２：ＰＧＥ２投与による放卵誘起

図 3-2に，ＰＧＥ２投与（予定放卵時刻 180分前）の15分前から30分後までと予定放卵時刻の15分前から30分後までの子宮運動，血中ＡＶＴ，ＰＧＦ，ＰＧＥ濃度を示す．ＰＧＥ２投与により放卵は約5 分後に誘起されたが，対照群では早期放卵は誘起されず放卵は予定時刻に起こった．ＰＧＥ２投与後，対照群の子宮運動はほぼ一定の値で変化が見られなかったが，ＰＧＥ２投与群は誘起放卵直後に約 2倍増加し誘起放卵直後から15分後まで対照群よりも高い値を示した（放卵直後と 5分後，P<0.01；15分後，P<0.05）．反対に30分後では対照群より低い値を示した（P<0.05）．血中ＡＶＴ濃度も，対照群では変化がないがＰＧＥ２投与群では誘起放卵直後に約12倍増加し誘起放卵直後と 5分後に対照群よりも高い値を示した（P<0.01）．血中ＰＧＦとＰＧＥ濃度は，ＰＧＥ２投与群においても対照群においても誘起放卵前後に変化が見られずほぼ一定の値で推移した．

ＰＧＥ２投与群の予定放卵時刻における子宮運動は，約 3時間前に放卵が誘起されたにもかかわらず，再び予定放卵時刻にほぼ同じレベルまで増加した．対照群は，子宮運動が増加し予定放卵時刻に放卵した．両群の血中ＡＶＴとＰＧＦ濃度は，共に予定放卵時刻に著しく増加した．しかし，血中ＰＧＥ濃度は，両群ともほぼ一定の値で変化がみられなかった．

実験３：インドメサシン処理後のＰＧＥ２投与による放卵誘起

図 3-3に，インドメサシン処理後のＰＧＥ２投与に関連した血中ＡＶＴとＰＧＦ濃度を示す．ＰＧＥ２投与群では，放卵が投与約 5分後に誘起されたが，対照群では放卵が誘起されなかった．血中ＰＧＦ濃度は，実験期間を通じて両群とも低下したままであった．これに対し，血中ＡＶＴ濃度は対照群において変化がみられなかったが，ＰＧＥ２投与群では誘起放卵直後に約 6倍増加し対照群に対して有意な差を示した（$P<0.01$）．

第４節．　考察

本研究における実験１のインドメサシン投与の結果は，放卵遅延の従来の報告(Day and Malbandov, 1977; Shimada and Asai, 1979) を確認しただけでなく，さらにこの条件下では予定放卵時に血中ＡＶＴ濃度が増加しなかったことを示した．このことは，下垂体神経葉からのＡＶＴ放出がＰＧあるいは子宮運動に依存することを示唆する．

正常なニワトリおよびインドメサシン処理したニワトリにＰＧＥ２を投与して放卵を誘起すると血中ＡＶＴ濃度が増加するが，血中ＰＧ濃度は増加しなかった．従って，子宮内に投与したＰＧＥ２が，循環血液中に入りＡＶＴ放出を直接起こすとは考え難く，子宮運動がＡＶＴ放出に関係するのではないかと考えられる．

Shimada et al. (1986a)は，ＰＧＦ２αを子宮内に投与した場合に早期放卵にともなうＡＶＴ濃度の増加を示したが，これと同様にＰＧＥ２投与による早期放卵にともなって血中ＡＶＴ濃度の増加が起こった．早期放卵にともないＡＶＴ放出がどのような機構で起こるのか今のところ明らかではない．哺乳類においては，膣あるいは子宮を刺激すると仙骨神経（T6-T12）から" bearing down" reflexによりオキシトシン放出が起きる（Debackere et al., 1961）という報告がある．ニワトリにおいても子宮は交感神経と副交感神経の神経支配を受けており，Sykes （1953; 1955）は，子宮と膣からの“bearing down“ reflexによって強い腹筋の放卵時の収縮あるいは呼吸数の増加が起きることを示唆しており，ニワトリにおいても子宮運動が神経を介してＡＶＴ放出を起こすことが考えられる．

実験２において，ＰＧＥ２投与群では早期放卵のあとの予定放卵時においても自然放卵と同様な子宮運動と血中ＡＶＴ(Shimada et al., 1986a) とＰＧＦ(Olson and Hertelendy,1981)濃度の増加が見られた．これは，外因性ＰＧＥ２投与により早期放卵は誘起されても排卵は影響されず内因性のＰＧ増加が予定時刻に起こるためであると考えられる．放卵がなくても連産の第１排卵において子宮運動，ＡＶＴ（Shimada et al.,1986a）およびＰＧＦＭ（Olson and Hertelendy, 1981）やＰＧＦの血中濃度（Shimada et al., 1984）が増加することと同様であると見られる．しかしながら，子宮運動や血中ＰＧＦとＡＶＴ濃度の増加はどの様な順序により起こるのか明らかではない．Rzasa (1984)とGoto et al. (1985)は，ＡＶＴが子宮運動を起こすと同時に子宮組織のＰＧＥ合成を促進すると報告した．そして最近のMolnar et al.,(1987)の報告は，子宮におけるＰＧＥ産生がＰＧＦに対する子宮の感受性を高めることを示唆しており，ＡＶＴは子宮収縮作用とともにＰＧＦに対する子宮の感受性を高めていると考えられる．放卵時に一致して増加する末梢血ＰＧ濃度の増加がＦ１卵胞

とＲ１卵胞から分泌され（第１章），子宮運動を促進していると考えられる．そして，この研究結果が示すように子宮運動がＡＶＴ放出に関係していると考えられることから，血中ＰＧ濃度の増加が子宮運動を増加させ，子宮運動の増加がＡＶＴ放出を誘起し，血中ＡＶＴ濃度の増加が一段と子宮運動を高めると考えられる．このような機構により放卵が起きるのではないかと考えられる．

第５節．　要旨

プロスタグランジン（ＰＧ）合成阻害剤のインドメサシン投与による放卵遅延とＰＧＥ２投与による放卵誘起に対する子宮運動と血中ＰＧＦ，ＰＧＥ，アルギニンバソトシン（ＡＶＴ）濃度の変化を測定し，放卵に関するＡＶＴ放出，ＰＧと子宮運動の関係について調べた．予定放卵時刻の 3時間前にインドメサシン(5mg) を投与した場合，予定放卵時刻の60分前から15分後まで血中ＰＧＦ濃度が対照群より低下した．予定放卵時刻において対照群と異なり子宮運動と血中ＡＶＴ濃度の増加が起こらず，放卵は遅延した．予定放卵時刻の 3時間前にＰＧＥ２（１μg）を子宮内に投与した場合，早期放卵が約 5分後に誘起され子宮運動と血中ＡＶＴ濃度が放卵時に増加し対照群よりも高くなったが，血中ＰＧＦとＰＧＥ濃度は変化しなかった．予定放卵時では，対照群と同様に子宮運動と血中ＰＧＦとＡＶＴ濃度が増加した．予定放卵時刻の3 時間前にインドメサシンを投与した後予定放卵時刻にＰＧＥ２を投与した場合，放卵は約 5分後に誘起され血中ＡＶＴ濃度が増加した．しかし，血中ＰＧＦ濃度には変化が見られなかった．以上の結果から，ＰＧが子宮運動を増加させ，子宮運動はＡＶＴを放出させさらに子宮運動を高め放卵を起こすと考えられる．

結語

本研究の結果および今までのいくつかの報告から図４－１に示したような放卵機構の仮説が考えられた．

①の排卵刺激周期は，Bastian and Zarrow（1955）が表した排卵の調節機構の説で示したもので，中枢神経に排卵を刺激する生殖腺刺激ホルモンの分泌を誘起することが出来る時間が毎日８時間ありそれと卵胞の成熟とが一致すると排卵が起きると言うものである．しかし，卵胞間の成熟に必要な時間は24時間よりも長いので少しづつずれて一致しなくなると，休産日になるとしている．排卵と放卵との関係では，排卵を誘起あるいは遅延させると放卵もそれに伴って放卵時間が変化する（Wilson and Sharp, 1976）が，放卵は遅延させても排卵に影響しない（Day and Nalbandov, 1977)ので排卵が放卵に関与すると考えられる．

②は，この周期と卵胞の成熟が一致して排卵が起こる場合，排卵前の血中の黄体形成ホルモン，ステロイドホルモン（プロゲステロン，エストラジオール，テストステロン）が増加する変化が起り（Shodono et al., 1975: Etches et al., 1981)，これらの排卵前の変化が排卵直前の排卵前第１卵胞（Ｆ１）を刺激して卵胞膜層でのプロスタグランジン（ＰＧ）産生を高め血中への分泌を誘起する（③）．この排卵前のどのような変化がＦ１卵胞のＰＧ産生を刺激するのか明らかではないが，第１章の結果からエストラジオールの減少がＰＧ産生に関与することが考えられる．ＰＧの産生はＦ１卵胞のみでなく，排卵後の第１卵胞（Ｒ１）においても誘起されて血中にＰＧが分泌される（④）．

Ｆ１とＲ１卵胞から分泌されたＰＧは子宮に作用して子宮運動を高める（⑤）．この子宮運動は，第３章の考察で示唆したように中枢神経を刺激して（⑥）下垂体神経葉のアルギニンバソトシン（ＡＶＴ）の放出（⑦）を起こす．ＡＶ

Ｔは子宮に働いて子宮運動をさら一段と高めて（⑧），卵が子宮から出される（⑨）．

連産の最終放卵時での排卵が起きない場合においては，排卵前の内分泌的変化（②）およびＦ１卵胞でのＰＧの産生増加は起きない（③）が，排卵刺激周期は動いていると仮定するのである．そして，この周期が直接Ｒ１卵胞のＰＧ産生の増加を刺激すると考えるのである．しかしながら，排卵を伴う場合よりも連産の最終放卵では他の放卵間隔よりも最終放卵前の放卵から長い時間が必要であることから（Warren and Scott, 1935），この伝達系は明らかでないが排卵を伴う場合よりも時間が掛かると考えられる．Ｒ１卵胞のＰＧ産生以下の系については排卵を伴う連産内の放卵と同じと考えられる．

また，放卵が起きないが連産の第１排卵前に血中ＰＧ濃度の増加および子宮運動の増加がみられるのは，以上に述べたように排卵がＦ１卵胞のＰＧ産生を刺激するために放卵と同様な子宮運動や血中ＡＶＴ濃度の増加が起きるものと考えられる．

ウズラにおける放卵機構に関する報告では，ＰＧ投与により早期放卵が誘起され（Heretelendy, 1972)インドメサシン投与により放卵が遅延される（Heretelendy, 1973)．そして，放卵時に血中ＰＧ濃度が増加し，Ｆ１卵胞とＲ１卵胞の卵胞壁のＰＧ濃度も増加する（未発表，斉藤，島田）．また，放卵のない連産の第１排卵前にも子宮運動が増加し（Shimada and Etches, 1986），排卵が放卵に関係することが考えられる．シチメンチョウにおいても，放卵時に血中ＰＧ濃度が増加することが報告されている（Hammond et al., 1981）．ニワトリ以外の鳥類の放卵機構に関する報告は多くなく明らかでない点も多いが，ニワトリの放卵機構と似ているのではないかと考えられる．

哺乳類の分娩機構についてLoggins et al, (1973) によれば，胎児の下垂体からの刺激により始まり，この刺激により母体の妊娠を維持していたプロジェ

ステロンが減少しエストロジェンが増加し，ＰＧ産生が増加すると考えられており，このＰＧ産生は子宮で起きると考えられている．そして，下垂体神経葉からのオキシトシンの放出は”bearing down”reflexにより起きると考えられている．ＰＧがオキシトシンよりも前に子宮収縮に働くのは，本研究のニワトリの結果と一致する．しかしながら，本研究では卵胞におけるＰＧ産生がどのような機構により起きるのか明らかでない．哺乳類で考えられているようなステロイドホルモンのＰＧ産生への関与が，ニワトリにおいても本研究で示唆したように考えられ，今後排卵機構と関連したＰＧ産生がどのような機構により起きるかにする必要があると思われる．また，哺乳類のオキシトシン放出には，エストロジェンの血中増加が促進的にプロゲステロンの血中増加が抑制的に働くことが報告されて，最近ではレラキシンもオキシトシン放出を促進することも示唆されており（Dayanithi et al., 1987），ニワトリにおいても神経系だけでなく子宮あるいは卵巣で産生される何等かの物質がＡＶＴ放出に関与する可能性があると考えられる．

謝辞

本研究にあたり子宮筋電図，サンプリングなどの直接的技術援助をはじめ本論文の作成を御指導していただいた指導教官の島田清司助教授に深く感謝の意を表します．激励をして下さった当家畜生理学教室主任の佐藤孝二教授並びに，甲斐蔵教官と高老原史樹文教官に感謝の意を表します．実験に際して，ニワトリの飼養管理，放卵記録装置の作製と放卵時刻の記録など手伝って下さった家畜生理学教室の方々に感謝します．また，長時間のアッセイに際して時間外使用などの特別の御便宜をはかっていただきました名古屋大学アイソトープ総合センターの方々に感謝します．

ＡＶＴのアッセイをして下さいました，Dr. T. I. Koike(Univ. Arkansas, USA)に感謝の意を表します．ＰＧのアッセイに際して，抗体を提供していただいたDr. T. G. Kennedy (Univ. Western Ontario, Canada)およびＰＧの抽出とアッセイに関して助言をしていただいたDr. D. M. Olson (Univ. Western Ontario, Canada)および各種ＰＧの標準品を提供していただいた小野製薬株式会社に心よりお礼申上げます．

Fig. 1-1. Concentrations of PGF and PGE in peripheral(●), uterine(○) and follicular venous plasma during the oviposition cycle. The sources of venous plasma were: F1 (▲), the largest preovulatory follicle; F2 (■), the second largest preovulatory follicle; F3 (△), the third largest preovulatory follicle. Each datum point is the mean ± SEM for 5 hens.

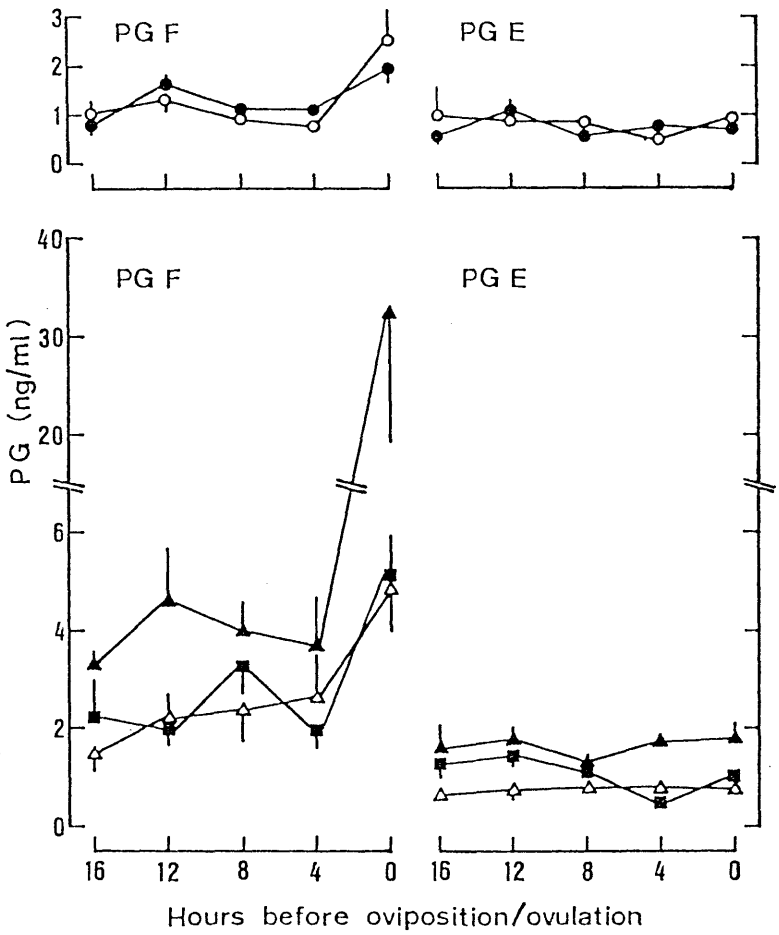

PG F
PG E
PG F
PG E
PG (ng/ml)
3
2
1
0
40
30
20
6
4
2
0
16
12
8
4
0
16
12
8
4
0
Hours before oviposition/ovulation

Fig. 1-2. DNA contents in the isolated theca (upper panel) and granulosa layers (lower panel) of five largest preovulatory follicles and three largest postovulatory follicles. Tissues are: F5, the fifth largest preovulatory follicle; F4, the fourth largest preovulatory follicle; F3, the third largest preovulatory follicle; F2, the second largest preovulatory follicle; F1, the largest preovulatory follicle; R1, the largest postovulatory follicle; R2, the second largest postovulatory follicle; R3, the third largest postovulatory follicle.

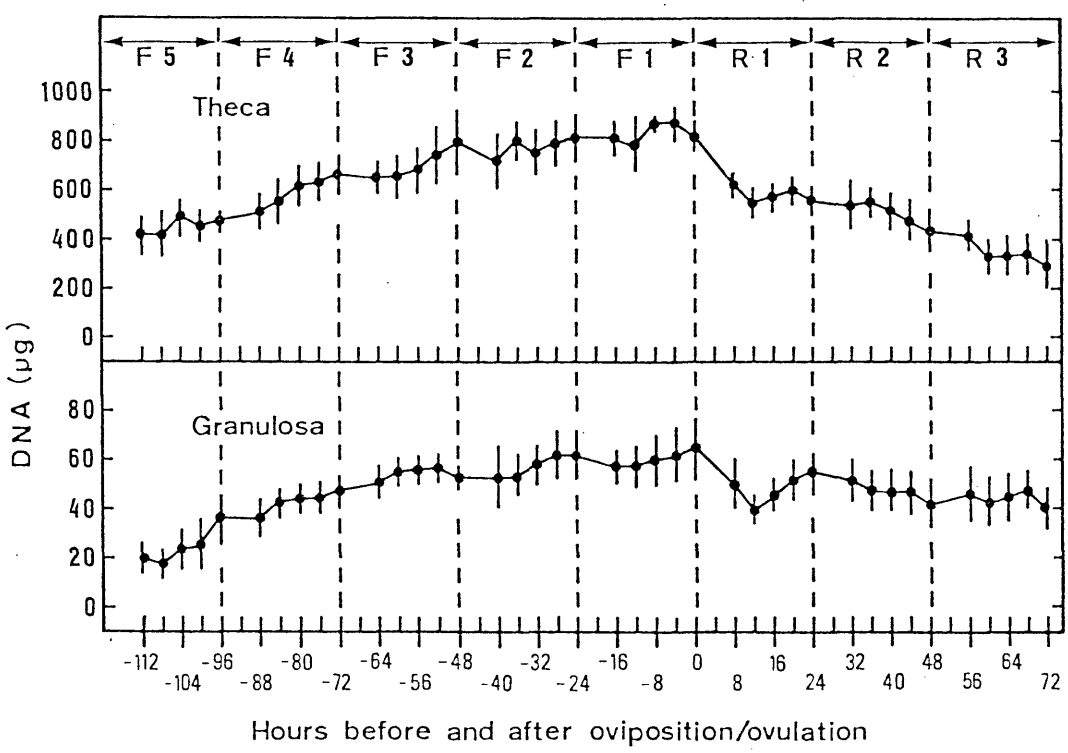

F 5
F 4
F 3
F 2
F 1
R 1
R 2
R 3
Theca
Granulosa
DNA (µg)
1000
800
600
400
200
0
80
60
40
20
0
-112
-104
-96
-88
-80
-72
-64
-56
-48
-40
-32
-24
-16
-8
0
8
16
24
32
40
48
56
64
72
Hours before and after oviposition/ovulation

Fig. 1-3. Concentrations of PGF in the isolated theca (upper panel) and granulosa layers (lower panel) of five preovulatory follicles and three postovulatory follicles. Same abbreviations as in Fig. 1-2.

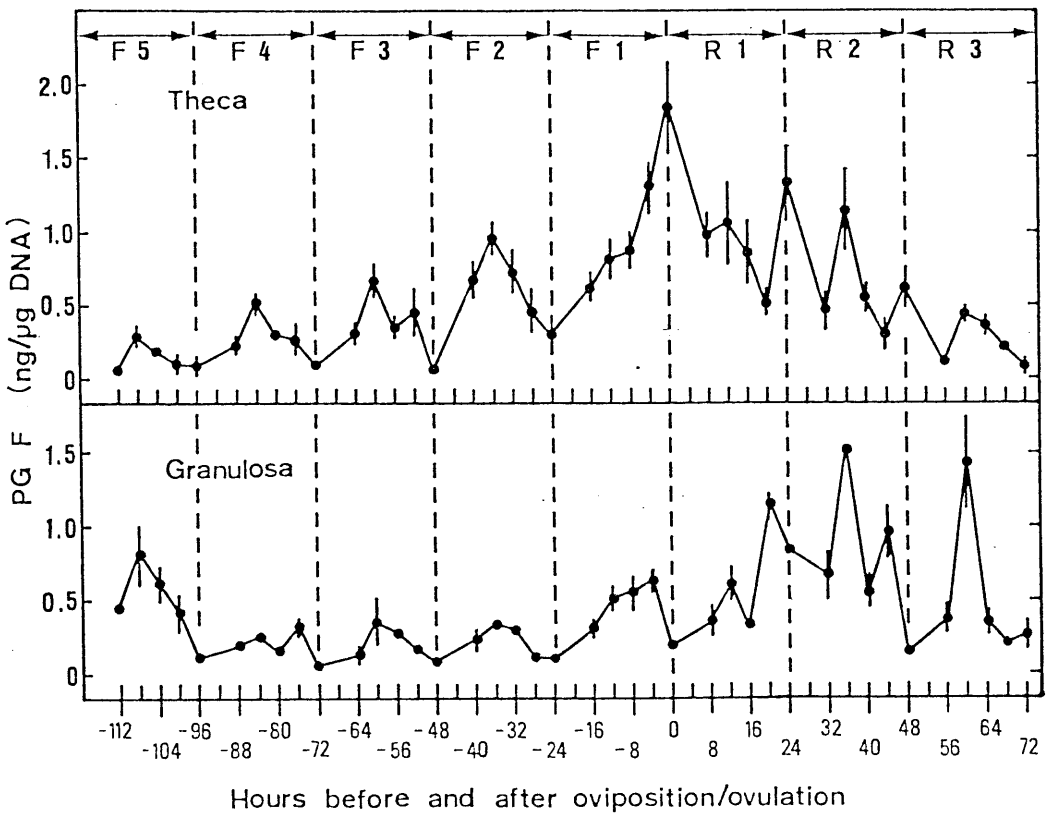

F 5
F 4
F 3
F 2
F 1
R 1
R 2
R 3
Theca
Granulosa
PG F (ng/μg DNA)
2.0
1.5
1.0
0.5
0
-112
-104
-96
-88
-80
-72
-64
-56
-48
-40
-32
-24
-16
-8
0
8
16
24
32
40
48
56
64
72
Hours before and after oviposition/ovulation

Fig. 1-4. Concentrations of PGE in the isolated theca (upper panel) and granulosa layers (lower panel) of five preovulatory follicles and three postovulatory follicles. Same abbreviations as in Fig. 1-2.

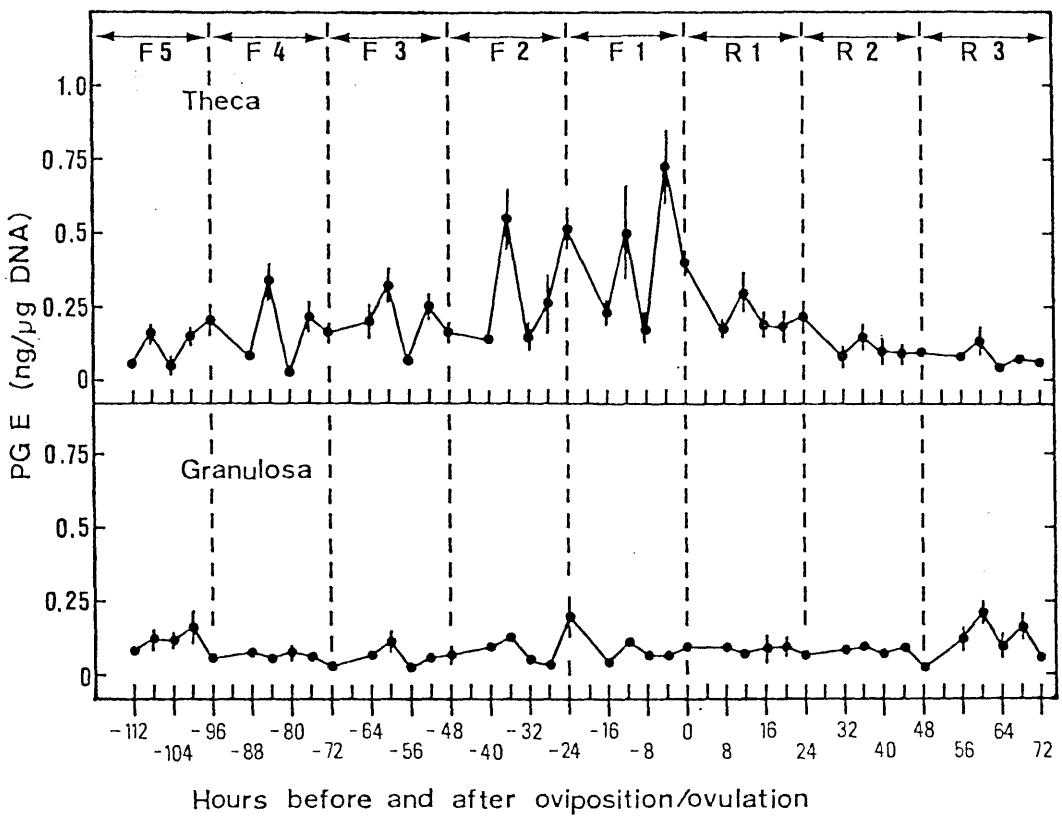

F 5
F 4
F 3
F 2
F 1
R 1
R 2
R 3
Theca
Granulosa
PG E (ng/µg DNA)
1.0
0.75
0.5
0.25
0
-112
-104
-96
-88
-80
-72
-64
-56
-48
-40
-32
-24
-16
-8
0
8
16
24
32
40
48
56
64
72
Hours before and after oviposition/ovulation

Fig. 1-5. Concentrations of PGF and PGE in the myometrium (●) and mucosa (○) during the oviposition cycle.

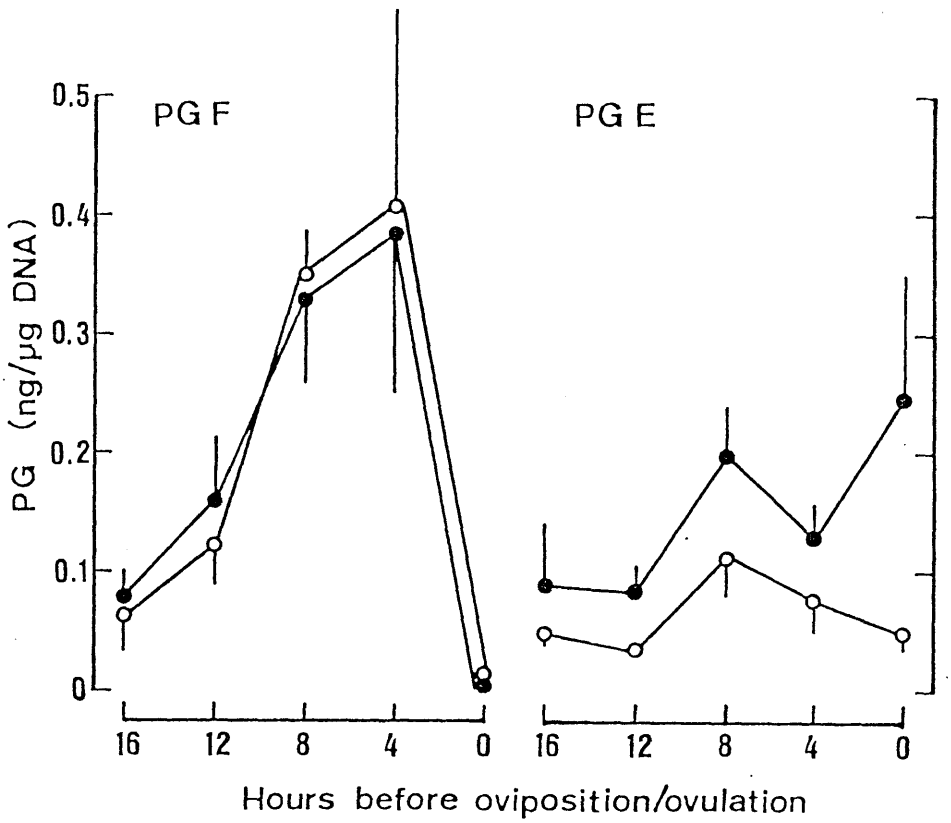
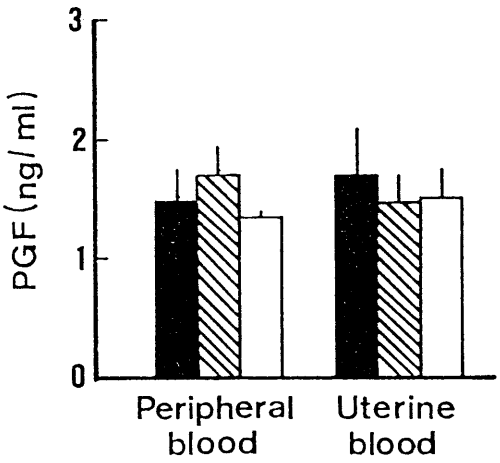

PG F
PG E
PG (ng/μg DNA)
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
16
12
8
4
0
16
12
8
4
0
Hours before oviposition/ovulation

Fig. 2-1. Concentrations of PGF and PGE in peripheral and uterine venous plasma of CsOP (■), CtOP (▧) and C1OV (□). Means without a common letter significantly ($P<0.01$) from each other in this figure and subsequent figures in this chapter. N=4-5


PGF (ng/ml)
3
2
1
0
Peripheral blood
Uterine blood

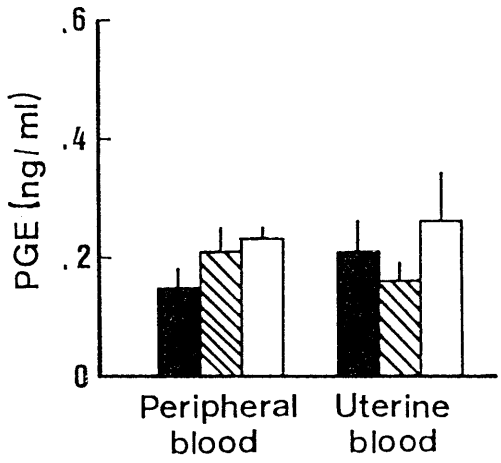

PGE (ng/ml)
.6
.4
.2
0
Peripheral blood
Uterine blood

Fig. 2-2. Concentrations of PGF and PGE in follicular venous plasma of CsOP (■), CtOP (▧) and C10V (□). N=3-5.

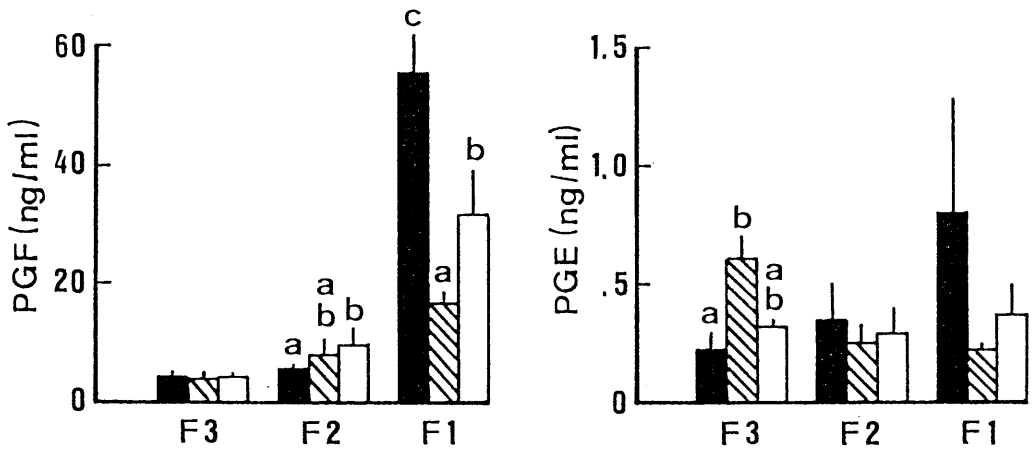

PGF (ng/ml)
60
40
20
0
c
b
a
a
b
b
F3
F2
F1
PGE (ng/ml)
1.5
1.0
.5
0
b
a
a
b
F3
F2
F1

Fig. 2-3. Concentrations of PGF in the theca (upper panel) and granulosa (lower panel) layers of five largest preovulatory follicles and three largest postovulatory folliles of CsOP (■), CtOP (▧) and C1OV (□). N=3-5. F5, the fifth largest preovulatory follicle; F4, the forth largest preovulatory follicle; F3, the third largest preovulatory follicle; F3; the third largest preovulatory follicle; F2, the second largest preovulatory follicle; F1, the largest preovulatory follicle; R1, the largest postovulatory follicle; R2, the second largest postovulatory follicle; R3, the third largest postovulatory follicle.

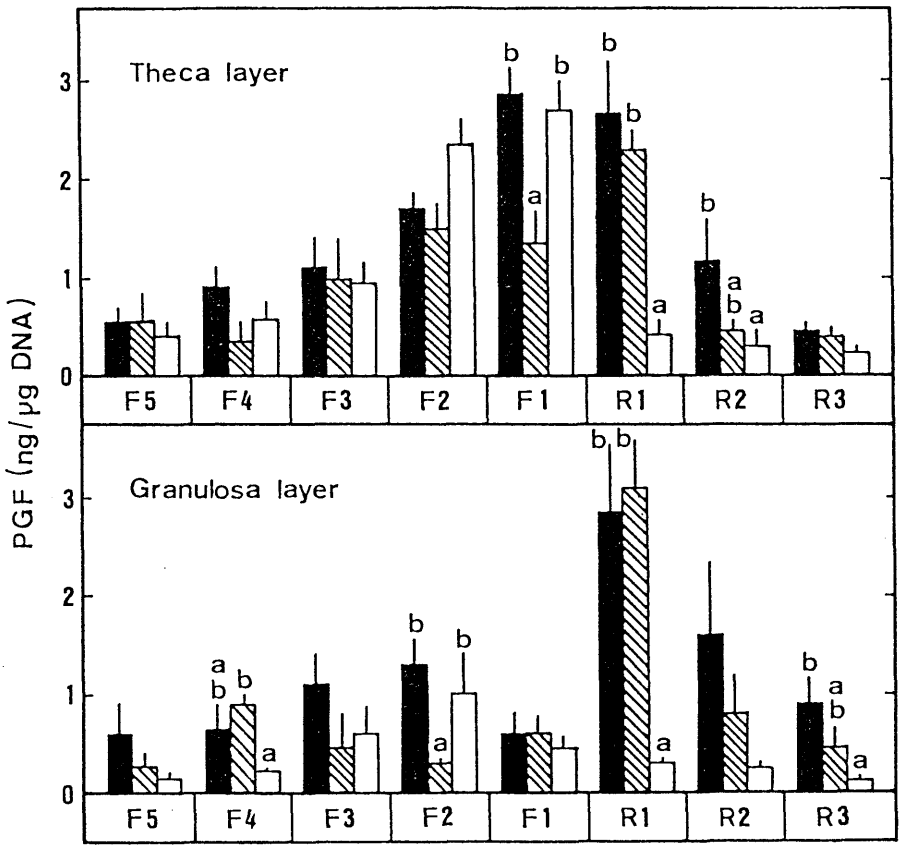

Theca layer
Granulosa layer
PGF (ng/μg DNA)
0
1
2
3
F5
F4
F3
F2
F1
R1
R2
R3

Fig. 2-4. Concentrations of PGE in the theca (upper panel) and granulosa (lower panel) layers of five preovulatory follicles and three postovulatory follicles of CsOP (■), CtOP (▧) and C1OV (□). N=3-5. Same abbreviations as Fig. 2-3.

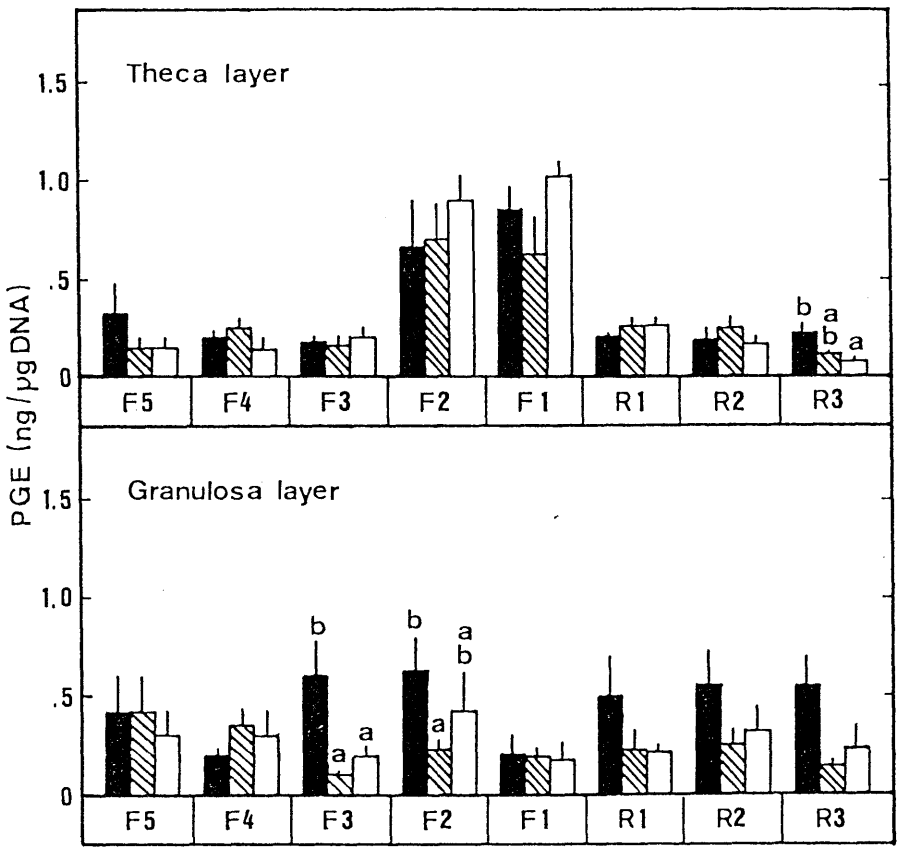

Theca layer
Granulosa layer
PGE (ng/μg DNA)
1.5
1.0
.5
0
F5
F4
F3
F2
F1
R1
R2
R3
b
a
b
a
b
b
a
b
a
a
a

Fig. 2-5. Concentrations of PGF and PGE in the myometrium and mucosa of CsOP (■), CtOP (▧) and C10V (□). N=4-5.

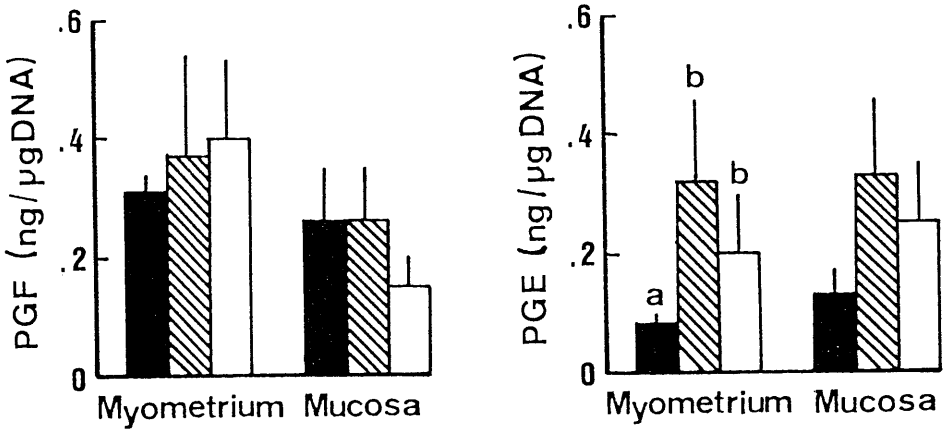

PGF (ng/μgDNA)
.6
.4
.2
0
Myometrium
Mucosa
PGE (ng/μgDNA)
.6
.4
.2
0
a
b
b
Myometrium
Mucosa

Fig. 3-1. Effects of indomethacin (■) and sesame oil (control, □) on uterine contractility (EMG) and plasma concentrations of AVT, PGF and PGE. Indomethacin was injected i.m. 3 hr before the expected time of oviposition. "a" and "b" indicate significantly differences from the control group at P<0 05 and P<0.01, respectively. in this and subsequent figures in this chapter. N=5.

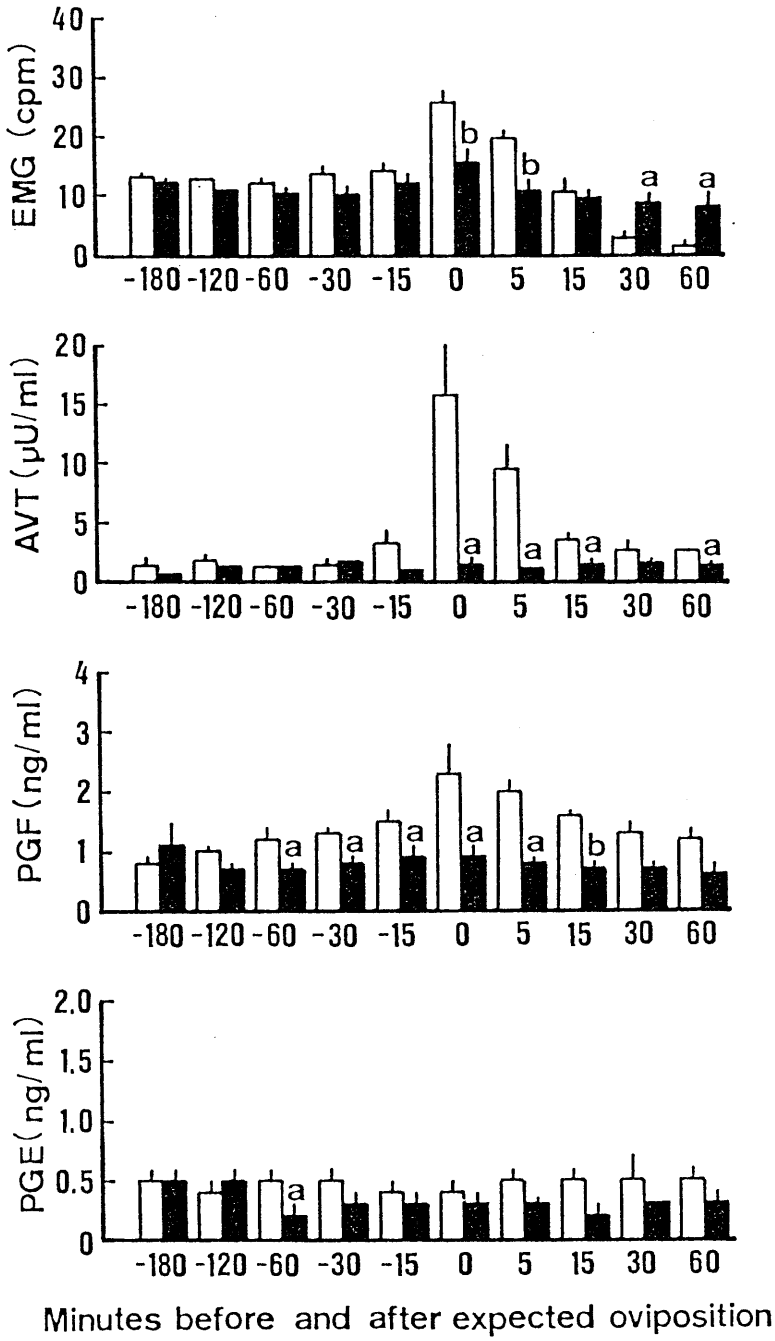

EMG (cpm)
40
30
20
10
0
b
b
a
a
-180 -120 -60 -30 -15 0 5 15 30 60
AVT (μU/ml)
20
15
10
5
0
a
a
a
a
-180 -120 -60 -30 -15 0 5 15 30 60
PGF (ng/ml)
4
3
2
1
0
a
a
a
a
a
b
-180 -120 -60 -30 -15 0 5 15 30 60
PGE (ng/ml)
2.0
1.5
1.0
0.5
0
a
-180 -120 -60 -30 -15 0 5 15 30 60
Minutes before and after expected oviposition

Fig. 3-2. Changes in uterine contractility and plasma concentrations of AVT, PGF and PGE in relation to PGE2-induced oviposition and at the expected time of oviposition, ■. Saline-injected controls, □. PGE2 was injected into the uterus 3 hr before the expected time of oviposition. N=5.

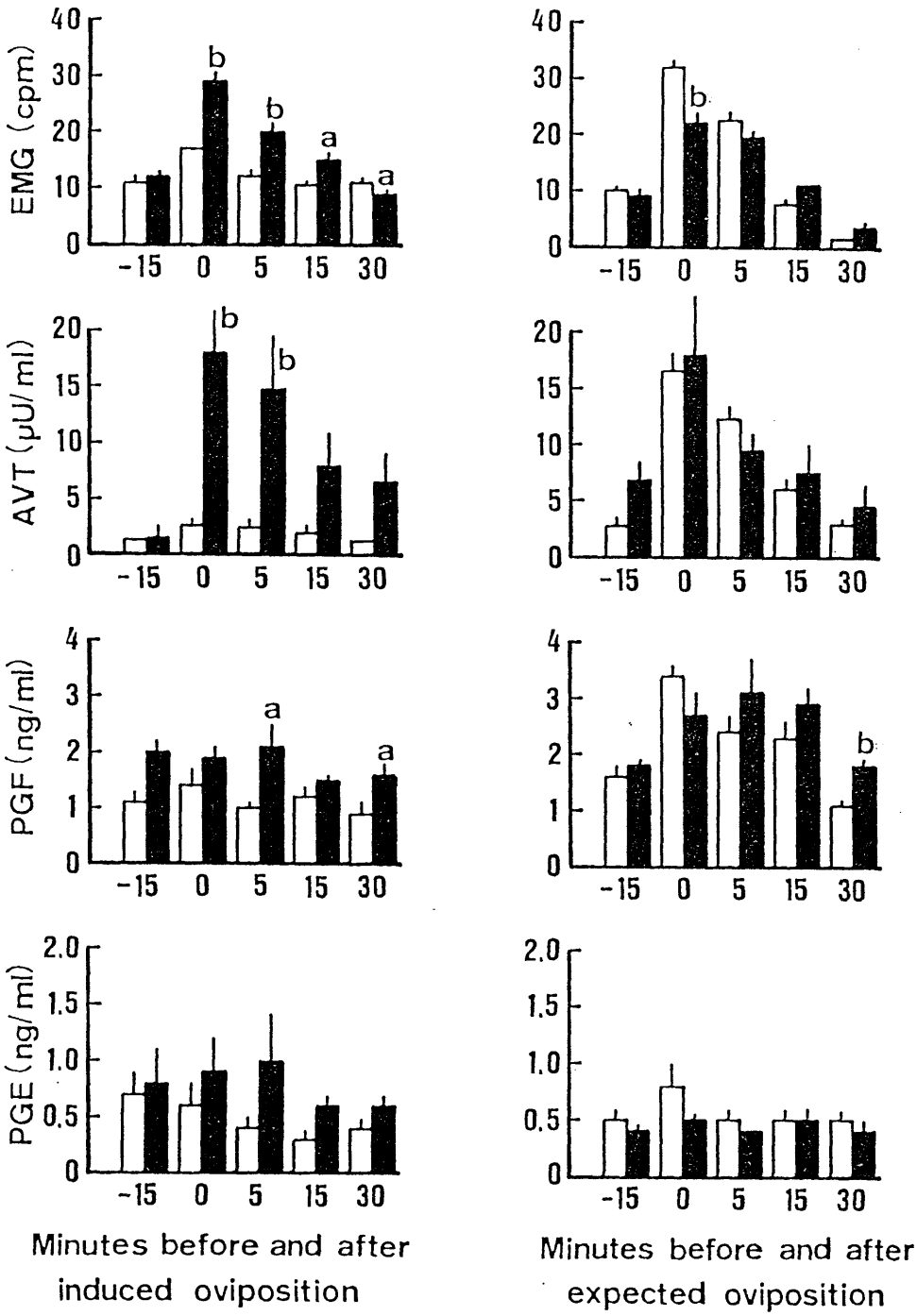

EMG (cpm)
AVT (μU/ml)
PGF (ng/ml)
PGE (ng/ml)
-15 0 5 15 30
Minutes before and after induced oviposition
Minutes before and after expected oviposition

Fig. 3-3. Effects of PGE2 (■) and saline (□) administration on plasma levels of AVT and PGF in indomethacin-treated hens. N=5.

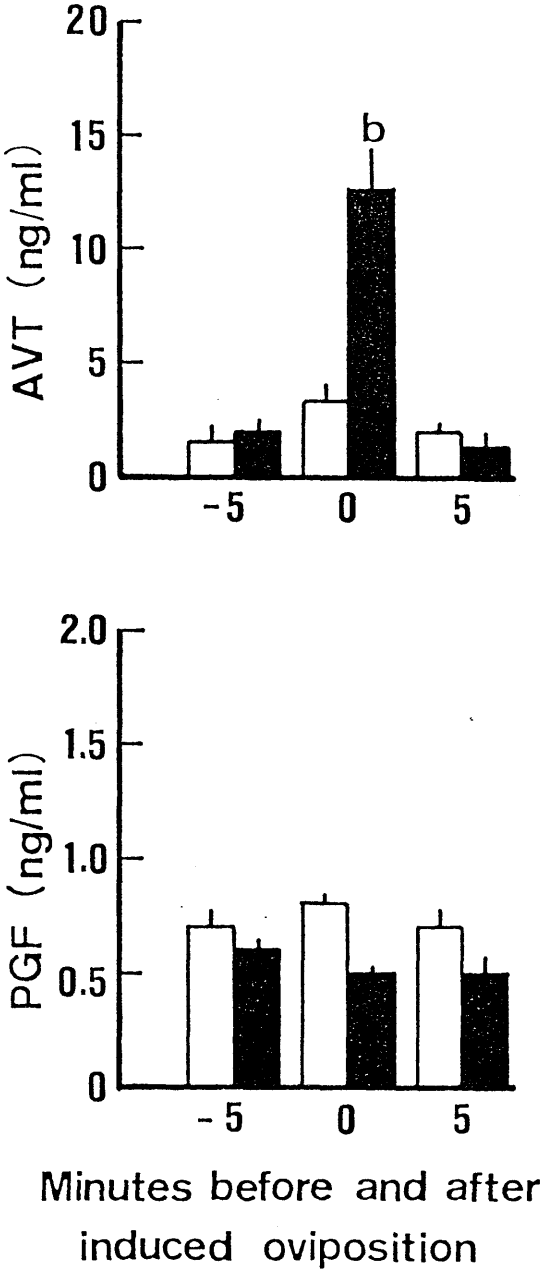
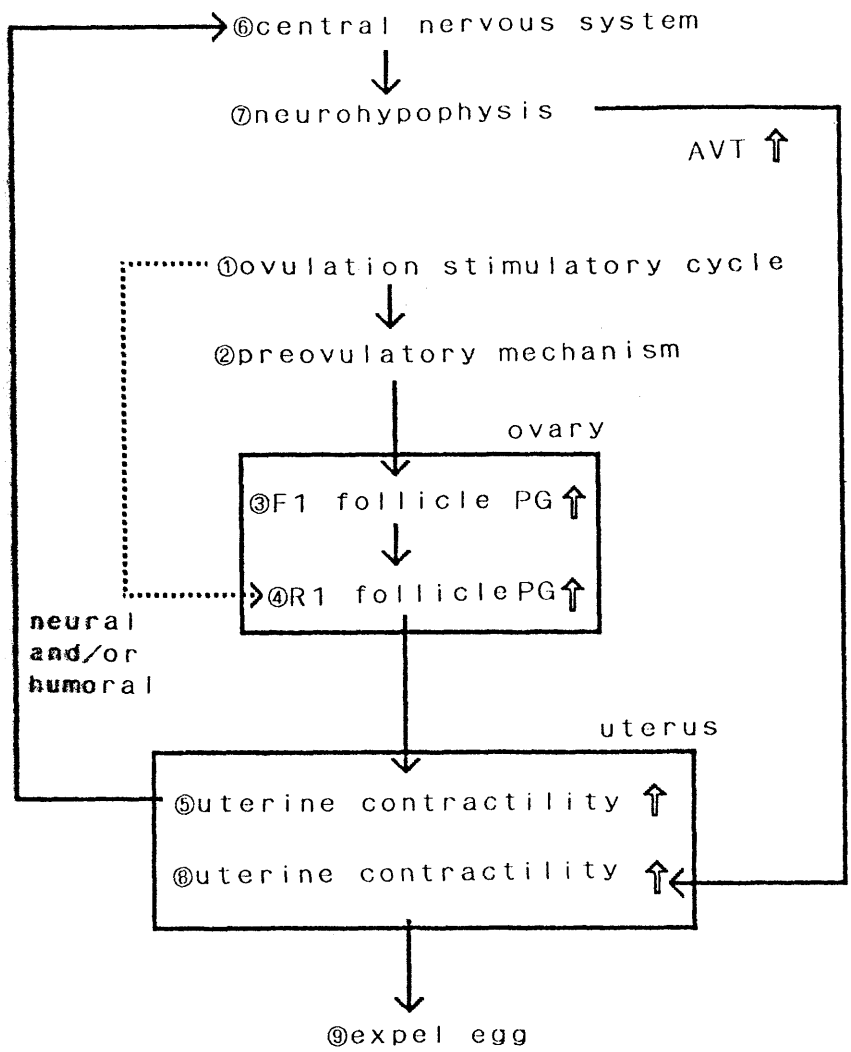

20
15
10
5
0
AVT (ng/ml)
b
-5
0
5
2.0
1.5
1.0
0.5
0
PGF (ng/ml)
-5
0
5
Minutes before and after
induced oviposition

Fig. 4-1. Scheme for the mechanism of oviposition. "⇧" indicates increases in hormone concentration and uterine contractility. The dotted line refers to the terminal oviposition of sequence.


⑥central nervous system
⑦neurohypophysis
AVT
①ovulation stimulatory cycle
②preovulatory mechanism
ovary
③F1 follicle PG
④R1 follicle PG
neural
and/or
humoral
uterus
⑤uterine contractility
⑥uterine contractility
⑨expel egg

文献

Arad Z, Skadhauge E, 1984. Plasma hormone (arginine vasotocin, prolactin, aldosterone and corticosterone) in relation to hydration state. J Expt Zool 232:707-14

Asboth G, Toth M, Hertelendy F, 1983. Conversion of arachidonic acid to prostanoids in the avian uterus. Biochim Biophys Acta 750:481-89

Asboth G,Todd H, Toth M, Hertelendy F, 1985. PGE2 binding synthesis, and distribution in hen oviduct. Am J Physiol 248:E80-88

Bahr JM, Wang S-C, Huang MY, Calvo FO, 1983. Steroid concentrations in isolated theca and granulosa layers of preovulatory follicles during the ovulatory cycle of the domestic hen. Biol Reprod 29:326-34

Bastian JW, Zarrow MX, 1955. A new hypothesis for the asynchronous ovulatory cycle of the domestic hen (Gallus domesticus). Poult Sci 34:776-88

Burton, K., 1956. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem. 62:315-23.

Day SL, Nalbandov AV, 1977. Presence of prostaglandin F (PGF) in hen follicles and its physiological role in ovulation and oviposition. Biol Reprod 16:486-94

Dayanithi G, Cazalis M, Nordmann JJ, 1987. Relaxin affects

the release of oxytocin and vasopressin from the neurohypophysis. 1987, Nature 325:813-16

Debackere M, Peeters G, Tuyttens N, 1961. Reflex release of an oxytocic hormone by stimulation of genital organs in male and female sheep studied by across-circulation technique. J Endocrinol 22:321-34

Espey LL, 1980. Ovulation as an inflammatory reaction - a hypothesis. Biol Reprod 22:73-106

Etches RJ, Croze F, Duke CE, 1981. Plasma concentrations of luteinizing hormone, progesterone, testosterone and estradiol in follicular and peripheral venous plasma during the ovulation cycle of the hen. In: Pethes G, Peczely P, Rudas P (eds.), Advances in Physiological Sciences, vol. 32. Recent Advances of Avian Endocrinology. Budapest: Akademiai Kiado, pp. 89-98.

Evans CA, Kennedy TG, Patrick JE, Challis JRG, 1981. Uterine prostaglandin concentrations in sheep during late pregnancy and adrenocorticotropin-induced labor. Endocrinology 109:1533-38.

Fraps RM, 1961. Ovulation in the domestic fowl. In: Villee CA, (ed.), Control of ovulation, London: Pergamon Press, pp. 133-62.

Goto K, Nakanishi Y, Ogawa K, 1985. The effect of arginine vasotocin and prostaglandin on ovulation in the domestic fowl (Gallus domesticus). Japan Poult Sci 22:55-63

Hammond RW, Keolkerbeck KW, Scanes CG, Biellier HV, Hertelendy F, 1981. Plasma prostaglandin, LH, and progesterone levels during the ovulation cycle of the turkey (Meleagaris gallopavo). Gen comp Endocrinol 44: 400-03

Hammond RW, Olson DM, Frenkel RB, Biellier HV, Hertelendy F, 1980. Prostaglandins and steroid hormones in plasma and ovarian follicles during the ovulation cycle of the domestic hen (Gallus domesticus). Gen Comp Endocrinol 42:195-202

Hertelendy F, 1972. Prostaglandin-induced premature oviposition in the coturnix quail. Prostaglandins 2:269-79

Hertelendy F, 1973. Block of oxytocin-induced parturition and ovipositin by prostaglandin inhibitors. Life Sci 13:1581-89

Hertelendy F, Biellier HV, 1978. Prostaglandin levels in avian blood and reproductive organs. Biol Reprod 18:204-11

Hertelendy F, Biellier HV, Todd H, 1975. Effects of the egg cycle and route of administration on prostaglandin-induced oviposition of hens and Japanese quail. J Reprod Fert 44:579-82

Hertelendy F, Hammond RW, 1980. Prostaglandins do not affect steroidogenesis and are not being produced in

response to oLH in chicken granulosa cells. Biol Reprod 23:918-23

Hertelendy F, Yen M, Biellier HV, 1974. Induction of oviposition in the domestic hen by prostaglandins. Gen Comp Endocrinol 22:529-31

Huang ES-E, Nalbandov AV, 1979. Steroidogenesis of chicken granulosa and theca cells: in vitro incubation system. Biol Reprod 20:442-53

Liggins GC, Fairclough RJ, Grieves SA, Kendall JZ, Knox BS, 1973. The mechanism of initiation of parturition in the ewe. Recent Prog Hormone Res 29:111-49.

Molnar M, Asem EK, Hertelendy F, 1987. Differential effects of prostaglandin F2α and of prostaglandin E1 and E2 on cyclic3,5-monophosphate production and intracellular calcium mobilization in avian uterine smooth muscle cells. Biol Reprod 36:381-91

Munsick RA, Sawyer WH, van Dyke HB, 1960. Avian neurohypophysial hormones: pharmacological properties and tentative identification. Endocrinology 66:860-71

Niezgoda F, Yen M, Biellier HV, 1973. Changes in blood vassotocin activity during oviposition in the hen. J Reprod Fert 35:505-9

Nouwen EJ, Decuypere E, Kuhn ER. Michels H, Hall T, Chadwick A, 1984. Effect of dehydration, haemorrage and oviposition on serum concentrations of vasotocin,

mesotocin and prolactin in the chicken. J Endocrinol 102:345-51

Olson DM, Biellier HV, Hertelendy F, 1978. Shell gland responsiveness to prostaglandins F2α and E1 and to arginine vasotocin during the laying cycle of the domestic hen (Gallus domesticus). Gen Comp Endocrinol 36:559-65

Olson DM, Hertelendy F, 1981. Plasma levels of 13, 14-dihydro-15-keto prostaglandin F2α in relation to oviposition in the domestic hen (Gallus domesticus). Biol Reprod 24:496-504

Olson DM, Lye SJ, Skinner K, Challis JRG, 1984. Early changes in prostaglandin concentrations in ovine maternal and fetal plasma, amniotic fluid and from dispersed cells of intrauterine tissues before the onset of ACTH-induced pre-term labour. J Reprod Fert 71:45-55

Olson DM, Shimada K, Etches RJ, 1986. Peripheral, ovarian and uterine prostaglandin levels in relation to midsequence oviposition/ovulation and the terminal oviposistion of a sequence in the hen. Biol. Reprod. 35: 1140-46

Opel H, 1964. Premature oviposition following operative interference with the brain of the chicken. Endocrinology 74:193-200

Opel H, 1965. Oviposition in chicken after removal of the

posterior lobe of the pituitary by an improved method. Endocrinology 76:673-77

Ralph CL, 1960. Polydipsia in the hen following lesions in the supraoptic hypothalamus. Amer J Physiol 98:528-30

Riddle O, 1921. A simple method of obtained premature eggs from birds. Science 54:664-66

Rothchild I, Fraps RM, 1944. On the function of the ruptured ovarian follicle of the domestic fowl. Proc Soc Exp Biol Med 56:79-82

Rzasa J, 1984. The effect of arginine vasotocin on prostaglandin production of the hen uterus. Gen Comp Endocrinol 53:260-63

Scanes CG, Mozelic H, Kavanah E, Merrill G, Rabii J, 1982. Distribution of blood flow in the ovary of domestic fowl (Gallus domesticus) and changes after prostaglandin F-2α treatment. J Reprod Fert 64: 227-31

Shimada K, 1978. Electrical activity of the oviduct of the laying hen during egg transport. J Reprod Fert 53:223-30

Shimada K, Asai I, 1978. Uterine contraction during the ovulatory cycle of the hen. Biol Reprod 19:1057-62

Shimada K, Asai I, 1979. Effects of prostaglandin F2α and indomethacin on uterine contraction in hens. Biol Reprod 21:523-27

Shimada K, Etches RJ, 1986. Uterine contractile activites of chicken, quail and turkey during laying cycle. Japan

Poult Sci 23:125-30

Shimada K, Neldon HL, Koike TI, 1986a. Arginine vasotocin (AVT) release in relation to uterine contractility. Gen Comp Endocrinol 64:362-67

Shimada K, Olson DM, Etches RJ, 1984. Follicular and uterine prostaglandin levels in relation to uterine contraction and the first ovulation of a sequence in the hen. Biol Reprod 31:76-82

Shimada K, Olson DM, Etches RJ, 1986b. The effect of indomethacin on ovarian prostaglandin release in hens. Biol Reprod 35:1147-53

Shodono M, Nakamura T, Tanabe Y, Wakabayashi K, 1975. Simultaneous determination of estradiol-17-beta, progesterone, and luteinizing hormone in the plasma during the ovulatory cycle of the hen. Acta Endocrinol 78:565-73

Skowsky WR, Rosembloom AA, Fisher DA, 1974. Radioimmunoassay meassurement of arginine vasotocin in serum: development and application. J Clin Endocrinol 38:278-87

Sturkie PD, Lin Y, 1966. Release of vasotocin and oviposition in the hen. J Endocrinol 35:325-26

Sykes AH, 1953. Some observations on oviposition in the fowl. Quart J Exp Physiol 38:61-68

Sykes AH, 1955. Further observation on reflex bearing-down

in the fowl. J Physiol 128:249-57

Tanaka K, Goto K, Yoshioka T, Terao T, Koga O, 1984. Changes in the plasma concentration of immunoreactive arginine vasotocin during oviposition in the domestic fowl. Br Poult Sci 25:589-95

Tanaka K, Nakada T, 1974. Participation of the ovarian follicle in control of time of oviposition in the domestic fowl. Poult Sci 53:2120-25

Tanaka K, Nakajo S, 1962. Participation of neurohypophysial hormone in oviposition in the hen. Endocrinology 70:453-58

Thaler-Dao H, Ramonatxo M, Chaintreuil J, Crastes de Paulet A, 1982. Effect of oestradiol 17β on prostaglandin biosynthesis by the uterus of ovariectomized rat and guinea pig. Prostaglandins 24:149-63

Toth M, Asboth G, Hertelendy F, 1983. Turnover of lipid-bound arachidonate and biosynthesis of prostanoids in the endometrium and myometrium of the laying hen. Arch Biochem Biophys 226:27-36

Toth M, Olson DM, Hertelendy F, 1979. Binding of prostaglandin F2α to membranes of shell gland muscle of laying hens: correlations with contractile activity. Biol Reprod 20:390-98

Warren DC, Scott HM, 1935. The time factor in egg production. Poult Sci 14:195-207

Wechsung E, Claeys M, Herman AG, Houvenaghel A, 1980. Biotransformation of arachidonic acid by the oviduct of the hen. Arch Int Pharmacodyn 244:348-50

Wechsung L, Korteweg M, Verdonk G, Houvenaghel A, 1978. Plasma levels of prostaglandin F related to oviposition in the domestic hen. Arch Int Pharmacodyn 236:331-33

Wilson SC, Sharp PJ, 1976. The effects of progesterone on oviposition and ovulation in the domestic fowl (Gallus domesticus). Br Poult Sci 17:163-73

Wood-Gush DGM, Gilbert AB, 1964. The control of the nesting behaviour of the domestic hen. II. The role of the ovary. Anim Behav 12:451-53

Yoshimura Y, Tanaka K, Koga O, 1983. Studies on the contractility of follicular wall with special reference to the mechanism of ovulation in hens. Br Poult Sci 24:213-18

報文目録

1) Saito, N., Sato, K. and Shimada, K.
Prostaglandin levels in peripheral and follicular plasma, the isolated theca and granulosa layers of pre- and postovulatory follicles, and the myometrium and mucosa of the shell gland (uterus) during a midsequence-oviposition cycle of the hen (Gallus domesticus).
Biology of Reproduction 36,89-96. (1987)

2) Saito, N., Shimada, K. and Koike, T. I.
Interrelationship between arginine vasotocin, prostaglandin and uterine contractility in the control of oviposition in the hen (Gallus domesticus).
General and Comparative Endocrinology Accepted. (1987)

3) Saito, N. and Shimada, K.
Comparison among ovarian prostaglandin levels of the midsequence-oviposition, the terminal oviposition and the first ovulation of the sequence in the hen and PMSG-treated hen
(in preparation).