

## 日本ウズラにおける卵殻表面色素の貯留及び放出に関する生理学的研究

宗, 知紀  
Graduate School of Agriculture, Kyushu University

<https://doi.org/10.11501/3088180>

---

出版情報：九州大学, 1991, 博士（農学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：



#### 第4章 卵殻腺部からの色素放出に対する誘起要因

##### 第1節 卵殻腺部からの色素放出に対するプロスタグラン デインの関与

###### 緒 言

ウズラの卵殻腺部に貯留された色素は推定放卵時刻2～3時間前(Woodard and Mather, 1964; Poole, 1965; 田中ら, 1977)に粘膜上皮の apical cell (Tamura *et al.*, 1965; Poole, 1967)から放出され、色素放出の開始後、短時間で卵殻表面に斑紋が形成されることが報告されている(田中ら, 1977)。この色素放出は卵殻のクチクラ層形成に伴うものであり(Tamura *et al.*, 1965)、卵形成の最終段階で行われる。しかし、粘膜上皮からの色素放出を誘起する要因については現在までまったく明らかにされていない。色素が放出され卵殻表面に沈着し、斑紋が形成される時期は、放卵時刻と2～3時間の隔りがある。また、排卵誘起に関連する内分泌的変動(Doi *et al.*, 1980; Gulati *et al.*, 1981)とは比較的近接しているが、次回の排卵を伴わないCtにおいてもCsと同様に卵殻表面の斑紋が形成されることから、排卵に関与する内分泌的要因が色素放出に直接関係しているとは考え難い。一方、Poole (1965)は卵殻のカルシウム沈着が色素沈着時にほぼ完了すること(Woodard and Mather, 1964)から、色素沈着開始とカル

シウム分泌停止は機能的に関連しているという可能性を述べている。

鶏において、卵殻の表層近くは卵殻成分中のリンの比率が高く (Itoh and Hatano, 1964)、卵殻形成の終期に卵殻腺液のリン濃度が上昇することが知られており (Ogasawara *et al.*, 1974; Murakami and Koga, 1991)、リン酸塩溶液を卵殻腺部に注入することによって卵殻形成が阻害される (Ogasawara and Koga, 1977)。これらのことから、リンが卵殻形成終了と大きく関連しているものと推定され、ウズラの卵殻腺部にリン酸塩を投与することによって、卵殻形成終期の現象である色素放出を誘起し得る可能性が考えられる。他方、リン酸塩溶液を鶏の卵殻腺部に投与すると卵殻腺部のプロスタグランディン濃度が上昇し、下垂体神経葉からアルギニン・バソトシンが放出される (Murakami *et al.*, 1991)。プロスタグランディン及びアルギニン・バソトシンは、ともに放卵誘起物質として広く知られている (島田, 1990)。本実験では、ウズラの卵殻腺部からの色素放出を誘起する要因について究明するため、実験1においてリン酸塩溶液、プロスタグランディン、アラキドン酸及びアルギニン・バソトシンの投与による卵殻腺部からの色素放出誘起について検討した。さらに実験1の結果に基づき、実験2においてプロスタグランディン生成阻害剤であるインドメタシンの卵殻腺部内投与が卵殻腺部からの色素放出に及ぼす影響を検討した。

## 材料及び方法

動物：第2章第1節と同様の条件下で飼育し、12～36週齢の連産中のウズラで、放卵間隔が24時間に近い個体を選び実験に供した。

試薬：リン酸塩溶液はOgasawara *et al.* (1975)の方法に準拠して調製した。すなわち、生理食塩水にリン酸一ナトリウムとリン酸二ナトリウムをそれぞれ200mMの溶液とし、両液を混合してpH7.0に調整した。プロスタグランディンF<sub>2α</sub>及びプロスタグランディンE<sub>2</sub> (Sigma Chemical Co.)はそれぞれエタノールに溶解した200μg/mlの原液を生理食塩水で希釈して0.5μg/mlとした。アラキドン酸 (Sigma Chemical Co.)についてはHertelendy (1974)の方法に準じ、プロピレングリコールで希釈した200μg/mlの溶液を投与直前に蒸留水で2倍に希釈した。アルギニン・バソトシン (Sigma Chemical Co.)は生理食塩水を用いて溶解、希釈して1.0μg/mlとした。インドメタシン (Sigma Chemical Co.)はエタノールに溶解した20mg/mlの原液を0.1N-NaHCO<sub>3</sub>で2倍に希釈した後、生理食塩水で5倍に希釈して2mg/mlとした。オキシトシンはオキシトシン注射液 (商品名アトニン-O、1ml中オキシトシン5IU含有、帝国臓器製薬)を用いた。

薬剤の投与及び卵殻腺部における色素放出の観察：

【実験1】推定放卵時刻6時間前にリン酸塩溶液、プロスタグランディンF<sub>2α</sub>、プロスタグランディンE<sub>2</sub>及びアラキドン酸はそれぞれ0.1mlずつ卵殻腺部内に、アルギニン・

バソトシンは0.1mlを尺側皮静脈に投与した。その後放卵の有無を観察し、薬剤投与30分後にウズラをと殺して卵殻腺部を切開し、色素放出の有無を観察した。またこれら5種類の薬剤投与10分前にインドメタシン(0.1ml)を卵殻腺部に注入し、上述の投与方法、投与量と同様に処理した。さらにアラキドン酸については卵殻腺部内投与の効果と比較するため、卵殻腺部内投与の場合と同量を静脈内に投与して色素放出に及ぼす影響を観察した。なお、卵殻腺部内注入法については、注射針(テルモ、静脈用、27G、3/4)をウズラの左腹側部より挿入して、卵殻腺部内の卵殻表面に針先が到達したことを確認した後、溶液を注入する方法を用いた。

【実験2】まず推定放卵時刻1時間前にオキシトシン2.5IUを筋肉内注射して放卵を誘起し、この時期にはすでに形成中の卵に卵殻表面色素が沈着されていることを確認した。数日後、これらのウズラに対し推定放卵時刻3.5、3及び2時間前にインドメタシンをそれぞれ1mgずつ卵殻腺部に注入し、同1時間前にと殺して、卵殻腺部からの色素放出及び卵殻表面の色素沈着の有無を観察した。色素沈着が観察された場合、第2章第1節(2)における斑紋形成過程の肉眼的観察の結果を参考にして沈着中、あるいは沈着終了のいずれかを判定した。

## 結 果

【実験1】推定放卵時刻6時間前に放卵誘起物質を投与した場合及びインドメタシンによる前処理を行った場合の、放卵誘起及び色素放出に対する効果は表4-1に示すとおりであった。リン酸塩溶液、プロスタグランディン $F_{2\alpha}$ 、プロスタグランディン $E_2$ 及びアラキドン酸投与の放卵誘起率は0~50%であったが、色素放出誘起率はすべて100%であった。これに対しアルギニン・バソトシン投与では、供試したすべての個体で放卵及び色素放出が誘起された。またアラキドン酸の静脈内投与では卵殻腺部内投与と異なり、供試個体のいずれにおいても放卵及び色素放出は誘起できなかった。一方、インドメタシンによる前処理を行うと、リン酸塩溶液及びアラキドン酸投与による放卵及び色素放出の誘起はみられず、アルギニン・バソトシン投与では放卵のみが誘起され、色素放出は認められなかった。また、プロスタグランディン $F_{2\alpha}$ 投与の場合は放卵及び色素放出誘起率に前処理の影響はみられず、プロスタグランディン $E_2$ 投与では放卵は誘起しなかったが、色素放出はすべての個体で誘起された。

【実験2】推定放卵時刻3.5時間前からインドメタシンを3回にわたり、卵殻腺部に投与した後の色素沈着状態は表4-2に示した。インドメタシン投与により、供試した10羽中、色素の放出及び沈着が完全に阻止され白色卵であったもの6羽、色素沈着中と判定されたもの2羽、及び正常卵

と同様な斑紋が形成され色素沈着終了と判断されたもの2羽であった。

表4-1 リン酸塩溶液、プロスタグランディン、アラキドン酸及びアルギニン・バソトシンの投与による放卵及び色素放出の誘起

薬剤 <sup>1)</sup>	濃度	投与量	投与方法	供試羽数	放卵羽数 <sup>2)</sup>	色素放出羽数 <sup>3)</sup>
リン酸塩	200mM	0.1ml	IU	6	3(50%)	6(100%)
IND+リン酸塩	200mM	0.1ml	IU	6	0(0%)	0(0%)
PGF <sub>2α</sub>	0.5μg/ml	0.1ml	IU	5	2(40%)	5(100%)
IND+PGF <sub>2α</sub>	0.5μg/ml	0.1ml	IU	5	2(40%)	5(100%)
PGE <sub>2</sub>	0.5μg/ml	0.1ml	IU	4	1(25%)	4(100%)
IND+PGE <sub>2</sub>	0.5μg/ml	0.1ml	IU	3	0(0%)	3(100%)
AA	100μg/ml	0.1ml	IU	7	0(0%)	7(100%)
IND+AA	100μg/ml	0.1ml	IU	5	0(0%)	0(0%)
AA	100μg/ml	0.1ml	IV	5	0(0%)	0(0%)
AVT	1.0μg/ml	0.1ml	IV	5	5(100%)	5(100%)
IND+AVT	1.0μg/ml	0.1ml	IV	5	5(100%)	0(0%)

1) PGF<sub>2α</sub>: プロスタグランディンF<sub>2α</sub> PGE<sub>2</sub>: プロスタグランディンE<sub>2</sub>  
 AA: アラキドン酸 AVT: アルギニン・バソトシン IND: インドメタシン  
 各薬剤(インドメタシンを除く)を推定放卵時刻6時間前に卵殻腺部内(IU)あるいは静脈内(IV)に投与した。インドメタシンは各薬剤投与10分前に0.2mgを卵殻腺部内に投与した。

2) 各薬剤投与後30分以内に放卵した個体数(%)を示す。

3) 各薬剤投与30分後に卵殻腺部から色素が放出されていた個体数(%)を示す。

表4-2 インドメタシン投与による卵殻表面色素沈着の阻止

処理 <sup>1)</sup>	供試羽数	推定放卵時刻1時間前の色素沈着羽数 <sup>2)</sup>		
		白色卵	沈着中	沈着終了
対照	10	0 (0%)	0 (0%)	10 (100%)
IND	10	6 (60%)	2 (20%)	2 (20%)

- 1) 対照は推定放卵時刻1時間前に放卵を誘起した場合の卵。  
INDは推定放卵時刻3.5、3及び2時間前にインドメタシン(1mg)を卵殻腺部に継続投与した場合の卵。
- 2) 卵殻表面色素の沈着状態を判別した羽数を示す。括弧内の数値は供試羽数に対する割合(%)。第2章図2-1参照。

#### 考 察

正常では卵殻腺部からの色素放出が起こり得ない時期である推定放卵時刻6時間前に、リン酸塩溶液、プロスタグランディン F<sub>2α</sub>、プロスタグランディン E<sub>2</sub> 及びプロスタグランディンの前駆物質であるアラキドン酸を卵殻腺部に、アルギニン・バソトシンを静脈内に投与することによって、すべての個体で卵殻腺部からの色素放出が誘起された。一方、インドメタシンによる前処理を行うと、卵殻腺部に投与した薬剤のうちプロスタグランディン以外は、放卵及び色素放出のいずれをも誘起せず、静脈内に投与したアルギニン・バソトシンは放卵のみを誘起し、色素放出は観察

されなかった。リン酸塩溶液を卵殻腺部に投与すると、卵殻腺部組織のプロスタグランジン濃度及び血中アルギニン・バソトシン濃度が増加することが報告されており (Murakami *et al.*, 1991)、また、アルギニン・バソトシンによって卵殻腺部のプロスタグランジン産生が促進されるという報告もある (Rzasa, 1984; Goto *et al.*, 1985)。一方、インドメタシンはプロスタグランジンの合成阻害剤である (Rzasa, 1978; Shimada and Asai, 1979)。したがって、本実験で観察されたリン酸塩溶液及びアルギニン・バソトシン投与による色素放出の誘起は、卵殻腺部で産生されたプロスタグランジンを介しての効果と考えられた。また、アラキドン酸の静脈内投与は色素放出及び放卵をまったく誘起しなかったことから、卵殻腺部に投与されたアラキドン酸は局所的に卵殻腺部組織でプロスタグランジンに代謝されて、色素放出を誘起したものと推定された。

プロスタグランジンの放卵誘起作用は卵殻腺部の筋収縮によるものとされている (Verma *et al.*, 1976; Olson *et al.*, 1978; Wechsung and Houvenaghel, 1976)。したがってプロスタグランジンを卵殻腺部に投与すると、筋収縮作用に伴って卵殻腺部の粘膜上皮が圧迫され、その物理的な作用により色素が放出される可能性も考えられる。しかし、プロスタグランジンと同様に筋収縮作用を有するアルギニン・バソトシン (Munsick *et al.*, 1960; Rzasa and Ewy, 1970, 1971) を投与した場合は、インドメタシンにより卵殻腺部のプロスタグランジン産生を阻害すると、放卵は誘起したにもかかわらず

ならず色素放出は誘起し得なかった。このことから、単に卵殻腺部の筋組織が収縮し粘膜上皮に物理的圧力が加わるだけでは、貯留色素は放出されないものと推定された。

さらに、推定放卵時刻3.5時間前からの3回にわたるインドメタシンの卵殻腺部内投与により、色素沈着の阻止あるいは遅延が多くの個体で認められたことは、卵殻腺部からの色素放出にプロスタグランディンが関与していることを明確に示すものと考えられた。

現在まで、ウズラの卵殻腺部組織中のプロスタグランディン濃度に関しては、放卵時にプロスタグランディン $F_{2\alpha}$ 濃度が少量増加するという報告(Saito and Shimada, 1988)以外には、放卵周期中の有意な変動は認められていない。卵殻腺部からの色素放出にプロスタグランディンが関与しているとすれば、卵殻表面に色素が沈着される放卵2~3時間前に、卵殻腺部組織のプロスタグランディン濃度に変化があると考えられるが、この点に関しては実験的にはまだ明らかにされていない。

## 第2節 プロスタグランディンの色素放出作用に対する卵殻腺部の反応性

### 緒言

前節で得られた結果から、卵殻腺部からの色素放出は、放卵2～3時間前に卵殻腺部において産生されるプロスタグランジンによって誘起されるものと推定された。しかし、血液中あるいは卵殻腺部組織中のプロスタグランジン濃度を測定したこれまでの報告からは、色素沈着時にプロスタグランジン濃度が増加するという結果は見いだされない。色素放出時は放卵とは時期が異なっているため、卵殻腺部のプロスタグランジン産生量が増加するとしても、その増加量は放卵を誘起し得ない程度に小さいものか、あるいは卵殻腺部粘膜上皮のプロスタグランジンに対する感受性が高まっている可能性が考えられる。一方、卵殻表面への色素沈着開始後、短時間内に斑紋が形成されること(田中ら, 1977)、及び卵殻腺部の貯留色素量は急激に減少すること(Poole, 1965)から、プロスタグランジンによる色素放出の誘起に要する時間はきわめて短いものと考えられる。したがって本節では、実験1において少量のプロスタグランジンおよびアラキドン酸を投与し、色素放出に対する卵殻腺部の反応性を検討し、実験2においてプロスタグランジン投与から色素放出が開始されるまでの時間について検討した。

## 材料及び方法

動物：第2章第1節と同様の条件下で飼育した12～36週齢の連産中のウズラで、放卵間隔が24時間に近い個体を選び実験に供した。

試薬：プロスタグランディン $F_{2\alpha}$ 及びアラキドン酸とも、前節と同様の方法で必要な濃度に調製した。

薬剤の投与及び卵殻腺部からの色素放出の観察：

【実験1】推定放卵時刻6時間前に0.25、0.125及び0.063 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のプロスタグランディン $F_{2\alpha}$ をそれぞれ0.1mlずつ、または50、25及び12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のアラキドン酸をそれぞれ0.1mlずつ卵殻腺部に投与した。薬剤投与30分後にウズラをと殺して、卵殻腺部内の卵への色素沈着の状態及び卵殻腺部粘膜における色素放出の状態を観察した。その際、色素放出の程度を、プロスタグランディン $F_{2\alpha}$  0.05 $\mu\text{g}$ を投与した場合(第1節)を基準にし、++：基準と同程度に多量の色素粒が卵殻表面及び卵殻腺部粘膜上に観察されるもの、+：卵殻表面及び卵殻腺部粘膜上に色素粒は明らかに認められるが、基準と比較して少ないもの、±：卵殻表面の色素沈着あるいは卵殻腺部粘膜上の色素粒が、わずかにしか認められないもの、-：色素放出がまったく認められないもの、の4段階にそれぞれ判定区分した(図4-1)。さらにこの判定の結果に3～0の相対値を与え、各濃度における色素放出の程度を示す平均相対値を求めた。また推定放卵時刻4時間前



に  $12.5\mu\text{g/ml}$  のアラキドン酸  $0.1\text{ml}$  を卵殻腺部に投与し、推定放卵時刻6時間前に投与した場合の色素放出の程度と比較した。

【実験2】推定放卵時刻6時間前に前節同様、プロスタグランディン  $\text{F}_{2\alpha}$   $0.05\mu\text{g}$  を卵殻腺部に投与した。投与1分後、3分後及び5分後にそれぞれウズラをと殺し、速やかに開腹して卵殻腺部の色素放出の状態を観察した。色素放出の状態は実験1と同じ基準を用いて判定し、同様に平均相対値を求めた。

#### 結 果

【実験1】少量のプロスタグランディン  $\text{F}_{2\alpha}$  及びアラキドン酸を卵殻腺部に投与した結果は表4-3に示すとおり、いずれの投与においても色素放出が認められた。すなわち、プロスタグランディン  $\text{F}_{2\alpha}$   $0.025\mu\text{g}$  の投与では、++と判定された個体と+及び±の個体とがそれぞれほぼ同数ずつ観察された。 $0.0125\mu\text{g}$  の投与では±と判定された個体が最も多く、また++及び+の個体も存在した。これに対し、投与量がさらに少ない  $0.0063\mu\text{g}$  の投与では±を示す個体のほかに、色素放出がまったく認められない-の個体も出現した。推定放卵時刻6時間前にアラキドン酸5、2.5及び  $1.25\mu\text{g}$  を投与した場合もプロスタグランディン  $\text{F}_{2\alpha}$  投与の結果とほぼ同様の傾向が認められた。したがって平均相対値は、プロスタグランディン  $\text{F}_{2\alpha}$  及びアラキドン酸の両者とも、その

表4-3 卵殻腺部に対するプロスタグランディンF<sub>2α</sub>及びアラキドン酸の少量投与による色素放出の反応性<sup>1)</sup>

投与量	供試羽数	色素放出の程度(羽数) <sup>2)</sup>				平均 相対値 <sup>3)</sup>	放卵 羽数 <sup>4)</sup>
		-	±	+	++		
プロスタグランディンF <sub>2α</sub>							
0.025 $\mu$ g	10	0	3	3	4	2.1	0
0.0125 $\mu$ g	10	0	6	2	2	1.6	2
0.0063 $\mu$ g	10	3	6	1	0	0.7	2
アラキドン酸							
5.0 $\mu$ g	7	0	2	2	3	2.1	0
2.5 $\mu$ g	5	1	0	4	0	1.6	0
1.25 $\mu$ g	5	0	4	1	0	1.2	0
1.25 $\mu$ g(-4h) <sup>5)</sup>	5	0	2	1	2	2.0	0

- 1) プロスタグランディンF<sub>2α</sub>及びアラキドン酸を推定放卵時刻6時間前に卵殻腺部に投与した。
- 2) 薬剤投与30分後の卵殻腺部粘膜及び卵殻表面を観察して判定した。図4-1参照。
- 3) ++, +, ±, -にそれぞれ3, 2, 1, 0の相対値を与えた場合の平均値を示す。
- 4) 薬剤投与後30分以内に放卵した個体数を示す。
- 5) 推定放卵時刻4時間前に卵殻腺部に投与した。

投与量の低下に伴い小さくなった。なおプロスタグランディンF<sub>2α</sub>投与の場合、放卵が誘起されたにもかかわらず、色素放出の程度は±であった個体もみられた。一方、推定放卵時刻4時間前のアラキドン酸1.25 $\mu$ gの投与では、同6時間前の同量投与にはみられなかった++を示す個体が観察され、相対平均値は2.0となり、6時間前の値に対しかなり大きい

値を示した。

【実験2】プロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  0.05  $\mu\text{g}$  の投与1、3及び5分後に、卵殻腺部からの色素放出を観察した結果は表4-4に示した。と殺から卵殻腺部の状態を確認するまでおよそ2分を要したため、投与から観察までの時間はそれぞれ3、5及び7分となった。投与3分後の観察では卵殻腺部からの色素放出はまったく認められなかったが、同5分後においてはすべての個体でわずかに色素が放出され、±と判定された。さらに同7分後になると明らかに色素放出が認められる+を示す個体が出現し、投与後の時間経過とともに色素放出の過程が進行していることが示された。

表4-4 卵殻腺部に対するプロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  投与から色素放出までの所要時間<sup>1)</sup>

投与から と殺まで の時間 (分)	投与から 観察まで の時間 (分)	供試 羽数	色素放出の程度(羽数) <sup>2)</sup>				平均 相対値
			-	±	+	++	
1	3	5	5	0	0	0	0
3	5	5	0	5	0	0	1.0
5	7	6	0	2	4	0	1.7

1) プロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  (0.05  $\mu\text{g}$ ) を推定放卵時刻6時間前に卵殻腺部に投与した。

2) 図4-1参照。

## 考 察

実験 1 において、プロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  及びアラキドン酸の両者とも、投与量を前節で用いた量の  $1/2 \sim 1/8$  に減少させると、色素放出の程度もそれに応じて低下した。しかし、 $0.0063 \mu\text{g}$  というきわめて少量の投与によっても、卵殻腺部からの色素放出を誘起し得ることが示された。Hertelendy (1974) はプロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  あるいはアラキドン酸の卵殻腺部内投与によって放卵を誘起させたが、その量は放卵 5~9 時間前でプロスタグランディン  $F_{2\alpha}$   $1 \mu\text{g}$ 、アラキドン酸  $10 \mu\text{g}$  であった。本実験ではそれらの  $1/80$  及び  $1/8$  程度の投与量で、明らかに色素放出が観察された。この場合、プロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  投与では少数の個体で同時に放卵も誘起されたが、アラキドン酸投与の場合では放卵はまったく誘起されなかった。このように放卵を誘起し得ない程度の少量投与でも、プロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  及びアラキドン酸は卵殻腺部から貯留色素を放出させ得ることが確認された。さらに、両者とも投与量の増加にしたがって色素放出の程度も大きくなったことから、正常放卵 2~3 時間前の色素が大量に放出される時期は、それに相応する量のプロスタグランディンが卵殻腺部で産生されている可能性が考えられた。一方、推定放卵時刻 4 時間前にアラキドン酸を少量投与した場合、同 6 時間前にこれと同量を投与した場合と比較して、色素放出の程度が大きくなったことから、通常の卵形成の過程において色素沈着の時期が近接するにつれて、

卵殻腺部のプロスタグランディンに対する反応性が強まるということも推定された。

実験2では、プロスタグランディンの卵殻腺部内投与数分後には、色素放出が開始されることが示された。このことは、投与されたプロスタグランディンに対する粘膜上皮の反応は非常に速やかであることを示唆している。卵殻表面色素の沈着を肉眼的に観察した田中ら(1977)は、色素沈着開始を確認した30分後にはほぼ斑紋が完成されていることを報告した。また卵殻腺部の貯留色素量は推定放卵時刻3時間前から同2時間前 사이에激減すること(Poole, 1965)から、卵殻腺部の貯留色素は短時間で大量に放出されるものと推定される。したがって、色素放出時には卵殻腺部粘膜において、プロスタグランディンの産生あるいはプロスタグランディンに対する感受性に関連する生理的変化が急激に生じているものと考えられた。

### 第3節 プロスタグランディン F<sub>2α</sub> の卵殻腺部内投与が卵殻形成に及ぼす影響

#### 緒言

前節までの結果から、卵殻腺部からの色素放出は卵殻腺部で産生されるプロスタグランディンの作用によるものと考えられ、その産生量は放卵を誘起し得るほど多量ではないと推定された。卵殻腺部から色素が放出され卵殻表面に沈着する時にはクチクラ層の形成も行われ、卵殻形成は終期に達する。Poole (1965) は色素沈着開始とカルシウム分泌停止は、機能的に関連しているという可能性を述べている。したがって、プロスタグランディンは卵殻色素の放出を誘起するとともに、卵殻のカルシウム沈着終了にも関連している可能性が考えられる。この点を明らかにするため、本節ではプロスタグランディン F<sub>2α</sub> を卵殻形成中の卵殻腺部内に注入し、卵殻形成に及ぼす影響について検討した。

#### 材料及び方法

動物：第2章第1節と同様の条件下で飼育した12～36週齢の連産中のウズラで、放卵間隔が24時間に近い個体を選び実験に供した。

試薬：プロスタグランディン F<sub>2α</sub> は前節と同様の方法で0.5μg/ml に調製した。

試料の採取：推定放卵時刻8時間前にプロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  を 0.05  $\mu\text{g}$  卵殻腺部に投与した。その後放卵時刻を確認し、放卵された卵の卵殻重及び卵殻厚を測定した。また供試した個体が実験前日に産卵した卵を対照卵として、実験前前日と前日との放卵間隔ならびに卵殻重及び卵殻厚を測定した。

放卵間隔の測定：放卵時刻の記録から放卵間隔を求めた。

卵殻重の測定：卵黄及び卵白を除去した卵殻を水洗後、80℃の乾燥器内に24時間以上放置して乾燥させ、卵殻膜を含む卵殻重を測定した。

卵殻厚の測定：乾燥させた卵殻から卵殻膜を除き、マイクロメーターを用い卵殻の鋭端部、赤道部及び鈍端部の卵殻厚を測定し、それら3部位の平均値を卵殻厚とした。

統計処理：平均値の差の検定には Student の t 検定 (Snedecor and Cochran, 1980) を用いた。

## 結 果

プロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  を推定放卵時刻8時間前に投与した結果、19羽中5羽の個体で投与後ただちに放卵が誘起され、放卵された卵には色素沈着は認められなかった。早期放卵しなかった14羽はすべて推定放卵時刻に近い時間に放卵し、そのうちの7羽は卵の斑紋が明らかに異常(茶色点状)であり、残り7羽の卵は正常な斑紋であった。得られた

卵を外見的な特徴から白色卵、斑紋異常卵及び斑紋正常卵の3種に分類し(図4-2)、それぞれの放卵間隔、卵殻重及び卵殻厚を表4-5に示した。放卵間隔については早期放卵された白色卵を除き、斑紋異常卵及び斑紋正常卵のいずれも対照卵の放卵間隔と有意差はなく、ほぼ24時間前後であった。卵殻重については、白色卵と斑紋異常卵との間には有意な差はなかったが、これらを対照卵と比較すると明らかに低い値であり、斑紋正常卵は対照卵とほぼ同程度の値であ



図4-2 プロスタグランディンF<sub>2α</sub>投与後に放卵された卵

上段にプロスタグランディンF<sub>2α</sub>投与後に放卵された卵を、下段は供試個体が前日に産卵した対照卵を示す。左から斑紋正常卵、斑紋異常卵、白色卵。

表 4-5 プロスタグランディン $F_{2\alpha}$ の卵殻腺部内投与が放卵間隔、卵殻重及び卵殻厚に及ぼす影響<sup>1)</sup>

区分	個体数	放卵間隔(h) <sup>2)</sup>	卵殻重(g) <sup>3)</sup>	卵殻厚( $\mu\text{m}$ ) <sup>3)</sup>
白色卵	5	16.1 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	0.57 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	112 $\pm$ 13 <sup>c</sup>
斑紋異常卵	7	23.4 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	0.64 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	138 $\pm$ 21 <sup>b</sup>
斑紋正常卵	7	24.3 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	0.79 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	171 $\pm$ 19 <sup>a</sup>
対照卵	19	24.0 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	0.82 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	184 $\pm$ 10 <sup>a</sup>

- 1) プロスタグランディン $F_{2\alpha}$ (0.05 $\mu\text{g}$ )を推定排卵時刻8時間前に投与した。
- 2) 実験当日とその前日の間、対照卵は実験の前前日と前日の間の放卵間隔(平均値 $\pm$ 標準偏差)を示す。異符号間に有意差あり( $p < 0.01$ )。
- 3) プロスタグランディン $F_{2\alpha}$ 投与後放卵された卵の、対照卵は実験の前日に放卵された卵の卵殻重及び卵殻厚(平均値 $\pm$ 標準偏差)を示す。異符号間に有意差あり( $p < 0.05$ )。

った。卵殻厚については、白色卵、斑紋異常卵、斑紋正常卵の順に値が大きくなり、お互いの間に有意差が認められたが、斑紋正常卵と対照卵との間には有意な差はなかった。また、斑紋異常卵の卵殻表面上には余剰カルシウムの沈着は観察されなかった(図 4-2 参照)。

#### 考 察

本章第 1 節では、プロスタグランディン $F_{2\alpha}$ を推定放卵時刻 6 時間前に卵殻腺部内に投与すると、卵殻腺部から色素放出が誘起され、一部の個体では放卵が誘起されるという

結果が得られた。本実験でも同様に一部の個体で放卵が誘起され、卵殻形成途中の白色卵が産出される例が観察された。また、推定放卵時刻近くに放卵されたが、斑紋が異常であった斑紋異常卵も観察された。この卵については、投与したプロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  の放卵誘起効果が弱かったため、正常な放卵時刻近くまで卵殻腺部に滞留したものと推定された。しかし、その卵殻重は白色卵と同程度の小さい値であり、卵殻厚も対照卵と比較するとかなり小さい値であったことから、斑紋異常卵の場合は卵殻形成が途中で阻害されたことを示している。卵殻表面のクチクラ層は真の卵殻であるスポンジ層とは成分、構造とも異なる (Romanoff and Romanoff, 1949) ので、このクチクラ層の上にさらに炭酸カルシウムが沈着した場合、それは余剰のカルシウム沈着と見なされる。プロスタグランディンの投与時期は卵殻形成中であるにもかかわらず、斑紋異常卵ではこのようなカルシウムの沈着はみられなかったことから、投与したプロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  の作用により卵殻腺部の生理的機能が変化を起こし、卵殻腺液へのカルシウム分泌が阻害されたという可能性が考えられた。また、斑紋が異常となった理由については、プロスタグランディンを投与した時期は卵殻形成が旺盛な時期であるため、卵殻腺液の液量が豊富で、粘膜上皮表面の微小な色素粒が粗大な色素粒に成長する前に分散して卵殻表面に沈着し、全体的に茶色で斑点状の模様になったものと考えられる。一方、斑紋正常卵の場合、卵殻重及び卵殻厚とも対照卵の値と変わらなかったことか

ら、投与したプロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  は色素放出、卵殻形成のいずれに対してもほとんど影響を及ぼさなかったものと考えられた。

ウズラでは卵殻表面色素の沈着とクチクラ層の形成は同時に行われるので、肉眼的に卵殻形成の終了を明確に判断し得るが、鶏ではウズラで見られるような卵殻表面色素を欠くため、クチクラ層形成の時期は必ずしも明らかではない。鶏において卵殻腺液中のカルシウム量は排卵後卵が卵殻腺部に到達する頃から増加し始め、排卵後15時間前後にピークに達し、その後徐々に減少していくが、同20時間後の卵殻腺液においてもかなりの量のカルシウムが含有されている (Nakada and Koga, 1990)。また卵殻重量は卵殻形成の開始から放卵1~2時間前までほぼ直線的に増加していること (Warren and Conrad, 1942) から、卵殻への炭酸カルシウムの沈着はかなり放卵に近接した時期まで続けられるものと推察される。これに対しウズラの場合は、放卵2~3時間前に色素が沈着し、クチクラ層が形成されることが明らかになっており、それまでに炭酸カルシウムの沈着は終了しているはずである。Woodard and Mather (1964) は炭酸カルシウム沈着率の経時的变化を検討し、カルシウム沈着完了と色素沈着とは同時期であると述べている。本実験では、卵殻形成が旺盛に行われている時期にプロスタグランディンを卵殻腺部に投与することによって、卵殻形成を阻害し得ることが示された。このことから、放卵の2~3時間前に卵殻腺部で産生されるプロスタグランディンは、卵殻腺部から



## 要 約

本章では卵殻腺部の貯留色素の放出を誘起する要因について検討した。

第1節ではまず、推定放卵時刻6時間前にリン酸塩溶液、プロスタグランディン  $F_{2\alpha}$ 、プロスタグランディン  $E_2$  及びアラキドン酸を卵殻腺部に、アルギニン・バソトシンを静脈内に投与することによって、卵殻腺部からの色素放出及び放卵が誘起されることを示した。一方、インドメタシンの卵殻腺部内投与後にこれらの処理を行うと、プロスタグランディン投与の場合だけ色素放出が誘起され、その他の薬剤の投与では誘起されなかった。また卵殻腺部投与の場合と同量のアラキドン酸を静脈内に投与しても色素放出は誘起されなかった。次に推定放卵時刻3.5、3及び2時間前にインドメタシンを卵殻腺部に継続投与し、同1時間前にと殺観察した結果、色素放出は供試個体の60%で阻止され、20%で遅延することが認められた。これらのことから、卵殻腺部で産生されるプロスタグランディンが卵殻腺部の色素放出に関与していると推定された。

第2節では、第1節の投与量の1/2～1/8量のプロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  及びアラキドン酸を、推定放卵時刻6時間前に卵殻腺部に投与しても色素放出を誘起し得ること、及び卵殻腺部からの色素放出の程度は投与量に伴って変化することを示した。また本来の色素放出時間に近接してアラキドン酸を投与すると、色素放出の程度が大きくなった。さ



## 第5章 総合論議

鳥類の卵管は排卵された卵子の卵管通過に伴い、その周囲にカラザ、卵白、卵殻膜及び卵殻を付着させ、放卵させる機能を果たしている。すなわち、カラザ成分は卵管ろ斗部-膨大部移行部で、卵白は膨大部で、卵殻膜は峽部で、さらに卵殻は卵殻腺部で、それぞれ分泌され、形成される。卵形成の最終段階はクチクラ層の形成である。日本ウズラではクチクラ層に多量の色素(ポルフィリン)が存在し、斑紋を形づくる。この色素は卵殻腺部粘膜上皮の apical cell に貯留され (Tamura *et al.*, 1965; Poole, 1967; 第2章)、卵形成の時間的経過に伴って、その貯留量が増加する(第2章)。また、貯留された色素は放卵の2~3時間前に卵殻腺部から放出され、卵殻表面に沈着するが (Woodard and Mather, 1964; Poole, 1965; 田中ら, 1977)、同時にクチクラ層も形成されるので、貯留色素が卵殻腺部から放出される時期は卵殻形成の終了時と一致している。このように卵形成と卵殻腺部における色素の貯留・放出とは密接に関連している。

卵管ないし卵殻腺部の機能に、排卵された卵子の卵管通過刺激あるいは卵殻腺部の滞留刺激が関係していることが示されている。すなわち、卵を構成する成分のうち、カラザ成分、卵白及び卵殻膜は卵子が卵管を通過する際の物理的刺激によって分泌される (Asmundson and Jervis, 1933; Burmester and Card, 1939, 1941; Wentworth, 1960)。卵殻につい

ては、Tanaka (1976) は放卵直前に腔部を結紮して放卵を阻止しても、その後排卵された卵子が卵管に受容されないようにすると、卵殻腺部内に滞留した卵の卵殻厚は対照卵と差がなかったことから、卵殻腺部より上部の卵管刺激が卵殻腺部におけるカルシウム分泌の開始に必要なものであると述べている。さらに、卵殻腺部に卵が存在するという物理的刺激は卵殻腺部のカルシウム分泌量を増加させることも報告されている (Eastin and Spaziani, 1978; Nakada, 1990; Nakada and Koga, 1990)。一方、ウズラの卵殻腺部において、卵殻色素は排卵された卵子が卵管に受容されず卵管の物理的刺激がまったく存在しない場合には、その貯留色素量は正常なウズラに比較し、約 30% 減少する。貯留色素量が減少する原因は卵殻腺部における卵の滞留刺激がないことによるものであり、卵殻腺部に十分な量の色素を貯留させるためには、卵殻腺部に対する物理的刺激が必要であると推定された (第 3 章)。

一方、卵殻腺部の機能に排卵が関係していることも報告されている。すなわち、鶏において排卵が行われないう産日に模擬卵黄を卵管内に挿入すると、卵殻膜までは形成されるが、卵殻腺液はわずかししか分泌されず卵殻も形成されないこと、及び卵管内に卵が存在しなくても排卵が行われていればカルシウム分泌量は増加すること (Eastin and Spaziani, 1978; Nakada and Koga, 1990) から、排卵と卵殻腺部のカルシウム分泌能とは関連があるものと推定される。また、ウズラの卵殻腺部における色素貯留は休産日ではほと

んど行われぬが、排卵が予定されている最大卵胞を排卵直前に切除した場合、貯留色素量は基底値より明らかに増加することが認められた。したがって、卵殻腺部の色素貯留に関しては、排卵を誘起する要因の関与が必要な条件であると推定される。

排卵を誘起する要因は排卵周期中における下垂体からのLHサージ及びそれとほぼ同時に起こる血中プロジェステロン濃度の増加である (Johnson and van Tienhoven, 1980; Johnson, 1986)。LHはその生理的作用から卵殻腺部の色素貯留に直接影響を与えるとは考えにくい。一方、プロジェステロンは卵殻腺部にそのレセプターの存在が確認されていること (川島ら, 1982; Agemori and Ishikawa, 1984; Yoshimura and Tamura, 1986; Yoshimura and Bahr, 1991) から、卵殻腺部の機能に直接影響を及ぼすことが考えられる。さらに、下垂体からのLHサージを抑制する薬剤 (フェノバルビタール) を投与して排卵を抑制した場合、推定排卵時刻後における卵殻腺部の貯留色素量は正常なウズラの場合と比較して大きく減少した (第3章) が、LHサージを抑制したままプロジェステロンを投与すると貯留色素量が回復したこと (第3章) から、色素貯留に関与している排卵誘起要因は、LHではなく、プロジェステロンであると推定された。血中プロジェステロン濃度の増加は卵巣の最大卵胞が主に担っている (Shahabi *et al.*, 1975; Bahr *et al.*, 1983; Mori *et al.*, 1984; Mori and Kantou, 1987)。この最大卵胞を、血中プロジェステロン濃度が増加する以前の推定排卵時刻20時間前に切除す

ると、その卵胞の排卵が予定されていた時刻後の卵殻腺部の貯留色素量は、正常なウズラの場合と比較して大きく減少した(第3章)。しかし、この減少は卵胞切除後のプロジェステロン投与によって阻止し得たことから、最大卵胞で産生されるプロジェステロンが卵殻腺部の色素貯留に大きく関与しているものと推定された。さらに、ステロイドホルモンの生合成阻害剤であるAGをLHサージの前に投与した場合、その後の血中プロジェステロン濃度は増加せず、排卵は阻止され、排卵予定時刻後の貯留色素量はわずかにしか増加しなかった。しかし、AG投与後、本来のLHサージが起こる時期にプロジェステロンを投与すると、排卵誘起の有無に拘らず、卵殻腺部の貯留色素量は明らかに増加した(第3章)。したがって、排卵前の血中プロジェステロン濃度の増加が、排卵後の卵殻腺部における色素貯留に関与しているものと認められた。

排卵の誘起要因が排卵以外の現象に影響を及ぼすという点については、いくつかの報告がある。すなわち、排卵前の血漿プロジェステロン濃度の増加は、卵殻腺部のカルシウム分泌を抑制することで前卵の卵殻形成の終了をもたらすという可能性が提唱されている(Yoshimura and Bahr, 1991)。また、プロジェステロンが放卵時における卵殻腺液分泌率の低下及び同液中のリン濃度の増加に関与していること(Murakami and Koga, 1991)、及び排卵前の血中性腺刺激ホルモン濃度及びステロイドホルモン濃度の急激な増加は、最大卵胞のプロスタグランディン $F_{2\alpha}$ 産生に関連していること

(Etches *et al.*, 1990) が示されている。これらのことから、排卵機構は排卵のみならず排卵周期中の他の現象とも密接に関連し、排卵、卵殻形成、色素貯留及び放卵という一連の事象に重要な役割を担っていることが考えられる。

卵殻腺部に貯留された色素は放卵2～3時間前 (Woodard and Mather, 1964; Poole, 1965; 田中ら, 1977) に卵殻腺部粘膜上皮より放出され色素粒を形成して卵殻表面に付着し、また同時に apical cell 内の PAS 陽性物質も放出され、卵殻のクチクラ層を形成する (Tamura *et al.*, 1965; Tamura and Fujii, 1966, 1967; Tamura, 1971; 第2章)。クチクラ層は構造、構成成分とも卵殻と異なること (Romanoff and Romanoff, 1949) から、この層の形成時には炭酸カルシウムの沈着は終了していると考えられる。鶏の場合、クチクラ層の形成時期については卵殻の完成と放卵の間と考えられている (Romanoff and Romanoff, 1949) が、鶏の卵殻が完成される時期は必ずしも明確ではない。他方、卵殻腺部におけるカルシウムの分泌量は排卵15～16時間後のピークを過ぎると徐々に減少するが、20時間後でもかなり分泌されていること (Nakada and Koga, 1990)、卵殻形成開始後の卵殻沈着率は放卵の1～2時間前までほぼ直線的に増加していること (Warren and Conrad, 1942) などから、炭酸カルシウムの沈着は放卵に近接した時期まで続けられているものと推察される。したがって、クチクラ層の形成は放卵時あるいは放卵に極めて近い時期であると考えられる。

鶏において放卵時ないし放卵直前には卵殻腺液の分泌率

が減少し、卵殻腺液中のリン濃度が上昇すること (Ogasawara *et al.*, 1974; Murakami and Koga, 1991) から、卵殻腺液中のリン濃度の上昇が卵殻形成の終了あるいは放卵に関連していることが示されている。一方、推定放卵時刻6時間前にウズラの卵殻腺部にリン酸塩溶液を投与すると、卵殻腺部からの貯留色素の放出及び放卵が誘起された(第4章)。また、プロスタグランジン F<sub>2α</sub>、プロスタグランジン E<sub>2</sub>、アラキドン酸、及びアルギニン・バソトシンの投与によっても卵殻腺部の貯留色素の放出が誘起された(第4章)。しかし、インドメタシンで前処理してこれらの薬剤を投与すると、プロスタグランジン以外の投与では色素放出が誘起されなかった(第4章)。リン酸溶液及びアルギニン・バソトシンは卵殻腺部のプロスタグランジン産生を刺激することが報告されている (Rzasa, 1984; Goto *et al.*, 1985; Murakami *et al.*, 1991) ので、この結果はインドメタシンによって卵殻腺部のプロスタグランジン産生が阻害されたことによるものと考えられる。また、プロスタグランジンの前駆物質であるアラキドン酸を卵殻腺部に投与すると色素放出は誘起されるが、これと同量を静脈内に投与しても色素は放出されなかった(第4章)ので、卵殻腺部に投与したアラキドン酸は卵殻腺部でプロスタグランジンに代謝されて局所的に作用するものと推定される。さらに、推定放卵時刻3.5時間前からのインドメタシンの継続的投与によって色素放出の阻止あるいは遅延が観察された。これらのことから、貯留色素放出には卵殻腺部で産生されるプロ

スタグランディンが関与していることが示された(第4章)。しかし、卵殻腺部組織中のプロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  濃度は放卵時にわずかに増加する程度であり、またプロスタグランディン  $E_2$  濃度も放卵周期中に大きな変化はみられないことが報告されている(Saito and Shimada, 1988)。卵殻腺部からの色素放出にプロスタグランディンが関与しているとすれば、卵殻表面に色素が沈着される放卵2~3時間前に、卵殻腺部組織中のプロスタグランディン濃度になんらかの変化があるものと考えられる。しかし、この時期のプロスタグランディン濃度に変化があることはまだ確認されていない。

他方、プロスタグランディンは鶏の放卵機構に重要な役割を担っており、卵殻腺部の筋収縮を誘起する(島田, 1990)。したがって、プロスタグランディンを投与すると筋収縮が起こり、卵殻腺部の粘膜上皮を圧迫することによって apical cell に貯留されている色素が放出されることも考えられる。しかし、インドメタシンで前処理してアルギニン・バソトシンを投与した場合、放卵のみが誘起され、色素放出は誘起されなかったこと(第4章)から、apical cell における貯留色素は粘膜上皮に対する単なる物理的圧迫によって放出されるのではないと推定された。

卵殻腺部の貯留色素量は色素沈着時に急激に減少し(Poole, 1965)、卵殻表面の斑紋の模様は30分程度でおおよそ完成すること(田中ら, 1977)から、色素沈着時には短時間で大量の色素が卵殻腺部から放出されることは明らかであ

る。推定放卵時刻6時間前に放卵を誘起し得ない程度の少量のアラキドン酸を卵殻腺部に投与した場合においても色素放出は誘起され、さらに同量を推定放卵時刻4時間前に投与した場合は色素放出の程度は大きくなった(第4章)。また、プロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  及びアラキドン酸の投与量の増加に応じて色素放出の程度が大きくなり、プロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  投与の数分後には色素が放出された(第4章)。これらのことから正常なウズラにおいて、色素放出の予定時刻が近接すると、卵殻腺部のプロスタグランディン産生量が放卵を誘起し得ない程度の範囲で増加するか、あるいはプロスタグランディンに対する粘膜上皮の感受性が上昇するものと考えられる。

卵殻腺部粘膜上皮の apical cell から放出された色素顆粒は集合して色素粒を形成する。この時、apical cell 中の PAS 陽性物質(主として粘液多糖類)も放出されるが、この物質は色素粒の形成及び卵殻表面への付着のための接着剤としての役割を果たしていると推定された(第2章)。また、PAS 陽性物質は色素放出後も引き続き放出され、斑紋が形成された後に卵殻表面をコーティングしてクチクラ層を形成する(Tamura and Fujii, 1966, 1967; Tamura, 1971; 第2章)。第4章では卵殻形成が盛んに行われている放卵8時間前にプロスタグランディン  $F_{2\alpha}$  を卵殻腺部に投与すると、その後の卵殻形成が阻害されることが示された。このことからウズラの場合、放卵2~3時間前に卵殻腺部で産生されるプロスタグランディンによって卵殻腺部のカルシウム分泌機能

が変化し、同時に卵殻腺部から色素及びクチクラ成分の放出が誘起される。その結果、卵殻表面上に短時間で多量の色素が沈着してクチクラ層が形成され始め、卵殻形成は終期に至るものと考えられる。

卵殻表面に付着した色素粒(第2章)は卵殻腺部の運動によって押し広げられて斑紋を形成するが、斑紋形成直後の色素はかなり強い粘性を持つこと(田中, 1977)が示されている。一方、放卵の6あるいは8時間前にプロスタグランディンの卵殻腺部内投与によって色素放出を誘起した場合、正常な斑紋は形成されず、色素は点状に付着し、またその一部は腔部へ流出した(第4章)。この原因としては、この時期はまだ活発に卵殻形成が行われており、卵殻腺液の分泌が旺盛であるため、卵殻腺部内腔は粗大な色素粒の形成に不都合な状態であるという理由が考えられる。斑紋が形成されるためには、卵殻腺部の粘膜から放出された色素顆粒が集合して色素粒を形成することが必要であり、この色素粒の大小によって斑紋の大きさが変化するものと考えられる(第2章)。したがって、斑紋が個体によって特有であるということは、大小の色素粒が形成される部位がそれぞれ個体で特有であるということの意味している。卵殻腺部における貯留色素量の分布の状態は個体によって異なっており、一様でないことが不均一な色素粒形成の原因と考えられるが、この卵殻腺部の貯留色素量の多少は卵殻の沈着色素量の分布に明確に反映されてはいなかった(第2章)。この理由として卵殻腺部に貯留された色素がすべて

卵殻表面に沈着するとは限らず、また卵殻腺部から放出された色素顆粒が粗大な色素粒に成長し、卵殻表面へ沈着するまでの過程で生ずる位置的なずれも斑紋形成に影響を及ぼしていることが考えられた。

以上要するに、本研究の結果から、ウズラにおいて排卵後に卵殻腺部の粘膜上皮に色素が貯留される現象は、その色素が沈着すべき卵の排卵誘起要因である血中プロジェステロン濃度の上昇によって制御されており、一方、貯留色素の放出は卵殻腺部で産生されたプロスタグランディンによって誘起され、粘膜上皮から放出された色素顆粒は集合して色素粒を形成し、卵殻表面に付着して個体特有の斑紋となることが明らかとなった。

卵殻表面に沈着するとは限らず、また卵殻腺部から放出された色素顆粒が粗大な色素粒に成長し、卵殻表面へ沈着するまでの過程で生ずる位置的なずれも斑紋形成に影響を及ぼしていることが考えられた。

以上要するに、本研究の結果から、ウズラにおいて排卵後に卵殻腺部の粘膜上皮に色素が貯留される現象は、その色素が沈着すべき卵の排卵誘起要因である血中プロジェステロン濃度の上昇によって制御されており、一方、貯留色素の放出は卵殻腺部で産生されたプロスタグランディンによって誘起され、粘膜上皮から放出された色素顆粒は集合して色素粒を形成し、卵殻表面に付着して個体特有の斑紋となることが明らかとなった。

## 総括

日本ウズラの卵殻表面に沈着する色素はポルフィリンであることが明らかにされている。この色素は卵形成中に卵殻腺部の粘膜上皮に貯留され、放卵の2～3時間前に卵殻腺部から放出されて卵殻表面に沈着する。本研究は卵形成に同調して行われる卵殻腺部の色素貯留及び放出に關与する生理的要因について追究したものである。

まず、排卵周期中の卵殻腺部における貯留色素量の経時的変動を検討した結果、貯留色素量は排卵後徐々に増加し、排卵18～20時間後に最大値を示し、その後は急激に減少した。つぎに、卵殻腺部における色素の貯留及び放出の過程を肉眼及び光顕的に観察した。粘膜上皮のapical cell内腔側に観察される色素顆粒は排卵後の時間経過に伴って増加し、色素沈着時には減少した。また、色素沈着中期の卵殻腺部粘膜ヒダ表面及び卵殻表面には、色素顆粒が集合して形成された大小の色素粒が多数観察された。apical cellの内腔側及び核上部に観察されたPAS陽性物質も色素顆粒の放出と同時に放出され、色素粒の形成に關係していることが認められた。つぎに、卵殻腺部における貯留色素の分布と卵殻表面の斑紋との關連性について検討した結果、卵殻腺部及び卵殻とも色素密度の分布は部位によって変動があることが認められた。また、卵殻腺部とそれに対応する卵殻との間の色素量の相関係数は、4分割した各分割片については比較的低い値しか得られなかったが、分割片を合計し対象

面積を拡大するとその値は高くなった。一方、色素沈着割合の平均値は約66%で、貯留色素のすべてが卵殻に付着してはいないことが示された。

次に、卵管結紮によって排卵された卵子の卵管通過を阻止し、卵管に物理的刺激を与えない場合、卵殻腺部における貯留色素量の増加は正常な個体で得られる値の約70%であった。また、排卵直前の最大卵胞を切除した場合、貯留色素量は物理的刺激を与えなかった場合と同程度であった。これに対し、休産日の貯留色素量は排卵周期中の最低値とほぼ同じ値を示した。これらのことから、卵殻腺部の色素貯留に関与する要因は主に排卵誘起要因であろうと推定された。したがって、つぎに色素貯留に及ぼす排卵誘起要因の影響について検討するため、フェノバルビタールの投与を行った。その結果、排卵は阻止され、その後の卵殻腺部の貯留色素量は正常個体と比較して大きく減少した。しかし、フェノバルビタール投与後プロジェステロンを投与すると、排卵は誘起されなかったにも拘らず、貯留色素量の増加が認められた。また、推定排卵時刻20時間前に最大卵胞を切除すると、排卵直前に切除した場合と比較して、前卵放卵後の貯留色素量は大きく減少したが、卵胞切除直後に持続性プロジェステロンを、さらに推定排卵時刻4時間前にプロジェステロンを投与した場合は貯留色素量は減少しなかった。これらのことから、卵殻腺部の色素貯留に関与する排卵誘起要因は、LHではなく最大卵胞が産生するプロジェステロンであることが考えられた。さらに、AG投与によって排

卵が阻止された場合、排卵前の血漿プロジェステロン濃度及び前卵排卵後の血漿エストラジオール濃度が減少し、卵殻腺部の貯留色素量も有意に低下した。一方、AG投与後、プロジェステロンを投与した場合、卵殻腺部の貯留色素量は排卵誘起の有無に拘らず、AG投与だけの対照に対し有意に高い値となったが、エストラジオールあるいはテストステロン投与の場合は排卵は誘起されず、貯留色素量の増加も認められなかった。またプロジェステロンとエストラジオールの組み合わせ投与も、プロジェステロン単独投与の場合と同程度の貯留色素量であった。これらのことから、排卵前の血中プロジェステロン濃度の増加が、排卵後の卵殻腺部における色素貯留に関与しているものと推定された。

最後に、卵殻腺部の貯留色素の放出を誘起する要因について検討した。まず、推定排卵時刻6時間前にリン酸塩溶液、プロスタグランディンF<sub>2α</sub>、プロスタグランディンE<sub>2</sub>及びアラキドン酸を卵殻腺部に、アルギニン・バソトシンを静脈内に投与することによって、卵殻腺部からの色素放出及び排卵が誘起された。しかし、インドメタシンの卵殻腺部内投与後にこれらの処理を行うと、プロスタグランディン投与の場合を除いて色素放出は誘起されなかった。また卵殻腺部投与の場合と同量のアラキドン酸を静脈内に投与しても色素放出は誘起されなかった。さらに、推定排卵時刻3.5時間前からインドメタシンを卵殻腺部内に継続投与した結果、色素放出は供試個体の60%において阻止され、また20%において遅延することが認められた。これらのことか

ら、卵殻腺部で産生されるプロスタグランディンが卵殻腺部の色素放出に関与していると推定された。つぎに、上記の実験で用いた投与量の1/2～1/8に相当する少量のプロスタグランディンF<sub>2α</sub>またはアラキドン酸を卵殻腺部に投与しても色素放出を誘起し得ること、卵殻腺部からの色素放出の程度は投与量及び投与時期に伴って変化すること、及びプロスタグランディンF<sub>2α</sub>投与5分後には色素の放出が開始されていることが示された。これらのことから、色素放出時には卵殻腺部のプロスタグランディン産生量あるいはプロスタグランディンに対する感受性が急激に変化する可能性が示唆された。また、プロスタグランディンF<sub>2α</sub>を卵殻腺部に投与することによって卵殻形成が阻害されることから、卵殻腺部で産生されるプロスタグランディンは色素放出の誘起だけでなく、卵殻形成の終了にも関与しているものと推定された。

以上のように、ウズラにおいて排卵後卵殻腺部の粘膜上皮に色素が貯留される現象は、その色素が沈着すべき卵の排卵誘起要因である血中プロジェステロン濃度の上昇によって制御されており、一方、貯留色素の放出は卵殻腺部で産生されたプロスタグランディンによって誘起され、粘膜上皮から放出された色素顆粒は集合して色素粒を形成し、卵殻表面に付着して斑紋となることが明らかとなった。

謝 辞

本研究を遂行し、まとめるに際して、終始御懇篤なる御指導と、御鞭撻を賜った九州大学農学部畜産学第一講座 古賀 脩教授に深甚の謝意を表します。

また、本論文をまとめるにあたり、適切な御助言と御校閲を賜った九州大学農学部畜産学第二講座 高原 齊教授及び九州大学農学部畜産学第一講座 田中 耕作助教授に厚く御礼を申し上げます。

さらに、種々有益な御助言並びに力強い激励を賜った九州大学農学部動物生理学研究室 藤原 昇助教授に心から御礼申し上げます。また、実験用ウズラの維持、管理について多大なる御協力を戴いた九州大学農学部畜産学第一講座 技官 吉廣 登氏に心から感謝致します。

文 献

- Agemori, M. and K. Ishikawa (1984) Binding of progesterone with the oviduct cytosol fraction of estrogen-primed quail (*Coturnix coturnix japonica*). Gen. Comp. Endocrinol., 53: 17-27.
- Asmundson, V. S. and J. G. Jervis (1933) The effect of resection of different parts of the oviduct on the formation of the hen's egg. J. Exp. Zool., 65: 395-420.
- Bahr, J. M., S. C. Wang, M. Y. Huang and F. O. Calvo (1983) Steroid concentrations in isolated theca and granulosa layers of preovulatory follicles during the ovulatory cycle of the domestic hen. Biol. Reprod., 29: 326-334.
- Baird, T., S. E. Solomon and D. R. Tedstone (1975) Localisation and characterisation of egg shell porphyrin in several avian species. Br. Poult. Sci., 16: 201-208.
- Burmester, B. R. and L. E. Card (1939) The effect of resecting the so-called "chalaziferous region" of the hen's oviduct on the formation of subsequent eggs. Poultry Sci., 18: 138-145.
- Burmester, B. R. and L. E. Card (1941) Experiments on the physiology of egg white secretion. Poultry Sci., 20: 224-226.
- Cooke, A. S. and D. A. Balch (1970) Studies of membrane, mamillary cores and cuticle of the hen egg shell. Br. Poult. Sci., 11: 345-352.

Doi, O., T. Takai, T. Nakamura and Y. Tanabe (1980) Changes in the pituitary and plasma LH, plasma and follicular progesterone and estradiol, and plasma testosterone and estrone concentrations during the ovulatory cycle of the quail (*Coturnix coturnix japonica*). Gen. Comp. Endocrinol., 41: 156-163.

Dresel, E. I. B. and J. E. Falk (1954) Studies on the biosynthesis of blood pigments. Biochem. J., 56: 156-163.

Eastin, W. C. Jr. and E. Spaziani (1978) On the control of calcium secretion in the avian shell gland (uterus). Biol. Reprod., 19: 493-504.

El Jack, M. H. and P. E. Lake (1967) The content of the principal inorganic ions and carbon dioxide in uterine fluids of the domestic hen. J. Reprod. Fert., 13: 127-132.

Etches, R. J., J. D. Kelly, C. E. Anderson-Langmuir and D. M. Olson (1990) Prostaglandin production by the largest preovulatory follicles in the domestic hen (*Gallus domesticus*). Biol. Reprod., 43: 378-384.

Fraps, R. M. and J. F. Case (1953) Premature ovulation in the domestic fowl following administration of certain barbiturates. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 82: 167-171.

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

Granick, S. and S. Sassa (1971)  $\delta$ -Aminolevulinic acid synthetase and the control of heme and chlorophyll synthesis. In "Metabolic Pathways", 3rd ed. Vol. 5, H. J. Gogel Ed. Academic Press, New York, pp. 77-141.

Gulati, D. P., T. Nakamura and Y. Tanabe (1981) Diurnal variations in plasma LH, progesterone, testosterone, estradiol, and estrone in the Japanese quail. Poultry Sci., 60: 668-673.

Hardiman, J. W., W. M. Collins and W. E. Urban, Jr. (1975) Red egg-shell color: A dominant mutation in Japanese quail. J. Hered., 66: 141-143.

Hertelendy, F. (1974) Effects of prostaglandins, cyclic AMP, seminal plasma, indomethacin and other factors on oviposition in the Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. J. Reprod. Fert., 40: 87-93.

Hudson, M. F. and K. M. Smith (1975) Bile pigments. Chem. Soc. Rev., 4:363-399.

Itoh, H. and T. Hatano (1964) Variation of magnesium and phosphorus deposition rates during egg shell formation. Poultry Sci., 43: 77-80.

Ito, S. I., M. Kimura and I. Isogai (1988) Celadon, an eggshell color mutation in Japanese quail. Proceedings XVIII World's Poultry Congress, 570-571

Johnson, A. L. (1986) Reproduction in the female. In "Avian Physiology", 4th ed. P. D. Sturkie Ed., Springer-Verlag New York, Inc. New York, pp. 403-431.

Johnson, A. L. and A. van Tienhoven (1980) Plasma concentrations of six steroids and LH during the ovulatory cycle of the hen, *Gallus domesticus*. Biol. Reprod., 23: 386-393.

Johnson, A. L. and A. van Tienhoven (1984) Effects of aminoglutethimide on luteinizing hormone and steroid secretion, and ovulation in the hen, *Gallus domesticus*. Endocrinology, 114: 2276-2283.

Johnson, P. A., A. L. Johnson and A. van Tienhoven (1985) Evidence for a positive feedback interaction between progesterone and luteinizing hormone in the induction of ovulation in the hen, *Gallus domesticus*. Gen. Comp. Endocrinol., 58: 478-485.

Jones, J. M., M. A. Maloney and J. C. Glbreath (1964) Size, shape and color pattern as criteria for identifying coturnix eggs. Poultry Sci., 43: 1292-1294.

川島 光夫, 上吉 道治, 田中 克英 (1982) 鶏の卵管子宮部(卵殻腺部)のプロジェステロン・レセプター:細胞質可溶性画分(cytosol)および細胞核画分における存在. 日畜会報, 53: 170-178.

Kennedy, G. Y. and H. G. Vevers (1973) Eggshell pigments of the Araucano fowl. Comp. Biochem. Physiol., 44B: 11-25.

Kennedy, G. Y. and H. G. Vevers (1975) A survey of avian eggshell pigments. Comp. Biochem. Physiol., 55B: 117-123.

Klingensmith, P. M. and P. Y. Hester (1983) The relationship of dietary levels of phosphorus to the production of soft-shelled and shell-less eggs. Poultry Sci., 62: 1860-1868.

Lang, M. R. and J. W. Wells (1987) A review of eggshell pigmentation. *World's Poultry Sci. J.*, 43: 238-246.

Lang, G. F., R. J. Etches and J. S. Walton (1984a) Effects of luteinizing hormone, progesterone, testosterone, estradiol and corticosterone on ovulation and luteinizing hormone release in hens treated with aminoglutethimide. *Biol. Reprod.*, 30: 278-288.

Lang, G. F., J. S. Walton and R. J. Etches (1984b) The effect of aminoglutethimide on steroid secretion, ovulation, and luteinizing hormone release in the hen. *Poultry Sci.*, 63: 1861-1871.

Lemberg, R. (1934) Bile pigments. IV Biliverdin, uteroverdin and oocyan. *Biochem. J.*, 28: 978-987.

Lucotte, G. (1975) Polychromatisme de la coquille de l'œuf chez la Caille domestique (*Coturnix coturnix japonica*). III. Variabilité et mode de transmission des phénotypes à l'intérieur de la forme dominante. *Comp. Rend. Soc. Biol.*, 169: 30-33.

Lucotte, G., M. Choussy and M. Barbier (1975) Polychromatisme de la coquille de l'œuf chez la Caille domestique (*Coturnix coturnix japonica*). IV. Biosynthèse des Porphyrines par des utréus de phénotypes appartenant à la forme dominante. *Comp. Rend. Soc. Biol.*, 169: 34-38.

Miller, L. M. and A. Kappas (1974) The effect of progesterone on activities of  $\delta$ -aminolevulinic acid synthetase and  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase in estrogen-primed avian oviduct. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 22: 238-244.

Mori, M. and T. Kantou (1987) Changes in progesterone production in granulosa cells during the ovulatory cycle of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). Gen. Comp. Endocrinol., 68: 57-63.

Mori, M., K. Kohmoto and Y. Shoda (1984) Role of granulosa and theca cells on *in vitro* progesterone production in preovulatory follicles of the Japanese quail. Jpn. Poult. Sci., 21: 206-214.

Munsick, R. A., W. H. Sawyer and H. B. van Dyle (1960) Avian neurohypophysial hormones: Pharmacological properties and tentative identification. Endocrinology, 66: 860-871.

Murakami, Y., N. Fujihara and O. Koga (1991) Arginine vasotocin level in plasma and prostaglandin concentrations in the uterine tissue before and after premature oviposition induced by orthophosphate solution in the hen. Jpn. Poult. Sci., 28: 11-19.

Murakami, Y. and O. Koga (1991) Changes in inorganic phosphorus levels in shell gland fluid during the oviposition cycle and at progesterone- and acetylcholine-induced oviposition in the hen. Jpn. Poult. Sci., 28: 220-227.

Nakada, T. (1990) Presence of egg in the oviduct uterus stimulates shell gland calcium secretion in the hen. Jpn. Poult. Sci., 27: 162-163.

Nakada, T. and O. Koga (1990) Stimulation of secretion of shell gland fluid and calcium by the presence of ovum or ovum-like mass containing artificial yolk in the oviduct uterus of the hen. Jpn. Poult. Sci., 27: 21-28.

Nakada, T., Z. Koja and S. Tokashiki (1976) Influence of ovulation and gonadal hormones on shell formation in the domestic fowl. Jpn. Poult. Sci., 13: 169-175.

Nakada, T., K. Tanaka and O. Koga (1980) Relationship between production of yolkless dwarf eggs and ovulation. Jpn. Poult. Sci., 17: 199-203.

Ogasawara, T. and O. Koga (1977) Surface structures of the soft-shelled eggs prematurely oviposited by a uterine irritant or phosphate injection into the uterine lumen in the hen; observations with a scanning electron microscope. Jpn. J. Zootech. Sci., 48: 34-37.

Ogasawara, T., O. Koga and H. Nishiyama (1974) Effect of a shell gland irritant on the secretion rate, calcium and inorganic phosphorus levels of the shell gland fluid in the laying hen. Jpn. J. Zootech. Sci., 45: 668-673.

Ogasawara, T., O. Koga and H. Nishiyama (1975) Premature oviposition induced by intrauterine injection of phosphate solution in the laying hen. Jpn. J. Zootech. Sci., 46: 185-191.

Olson, D. M., H. V. Biellier and F. Hertelendy (1978) Shell gland responsiveness to prostaglandin  $F_{2\alpha}$  in relation to oviposition in the domestic hen (*Gallus domesticus*). Biol. Reprod., 24: 496-504.

Polin, D. (1957) Formation of porphyrin from delta-aminolevulinic acid by uterine and liver tissue from laying hens. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 94: 276-279.

Poole, H. K. (1964) Egg shell pigmentation in Japanese quail: Genetic control of the white egg trait. *J. Hered.*, 55: 136-138.

Poole, H. K. (1965) Spectrophotometric identification of eggshell pigments and timing of superficial pigment deposition in Japanese quail. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 119: 547-551.

Poole, H. K. (1966) Relative porphyrin content and porphyrin forming capacity of wild-type and white-egg Japanese quail uterine tissue. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 122: 596-598.

Poole, H. K. (1967) A microscopic study of uterine eggshell pigment in Japanese quail. *J. Hered.*, 58: 200-203.

Romanoff, A. L. and A. J. Romanoff (1949) *The Avian Egg*. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Rzasa, J. (1978) Effect of arginine vasotocin and prostaglandin E<sub>1</sub> on the hen uterus. *Prostaglandins*, 16: 357-372.

Rzasa, J. (1984) The effect of arginine vasotocin on prostaglandin production of the hen uterus. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 53: 260-263.

Rzasa, J. and Z. Ewy (1970) Effect of vasotocin and oxytocin on oviposition in the hen. *J. Reprod. Fert.*, 21: 549-550.

Rzasa, J. and Z. Ewy (1971) Effect of vasotocin and oxytocin on intrauterine pressure in the hen. *J. Reprod. Fert.*, 25: 115-116.

Saito, N. and K. Shimada (1988) Prostaglandin levels in plasma and follicular and uterine tissues of the quail in relation to midsequence oviposition. *Jpn. Poult. Sci.*, 25: 261-267.

Schwartz, S., B. D. Stephenson, D. H. Sarkar and M. A. Bracho (1975) Red, white and blue eggs as models of porphyrin and heme metabolism. *Ann. New York Acad. Sci.*, 244: 570-588.

Sekiguchi, S. and K. Imai (1988) Ovulation and plasma progesterone, testosterone and estradiol-17 $\beta$  levels in laying hens after the administration of aminoglutethimide. *Jpn. J. Zotech. Sci.*, 59: 414-422.

Shahabi, N. A., H. W. Norton and A. V. Nalbandov (1975) Steroid levels in follicles and the plasma of hens during the ovulatory cycle. *Endocrinology*, 96: 962-968.

島田 清司 (1990) 鶏の放卵機構. *家禽会誌*, 27: 257-265.

Shimada, K. and I. Asai (1979) Effects of prostaglandin F $_{2\alpha}$  and indomethacin on uterine contraction in hens. *Biol. Reprod.*, 21: 523-527.

Snedecor, G. W. and W. G. Cochran (1980) *Statistical Methods*, 7th ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.

Stevens, E. V., L. K. Miller, S. Weinstein and A. Kappas (1974) Biosynthesis of  $\delta$ -aminolevulinic acid and porphobilinogen in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 47B: 779-786.

Sturkie, P. D. (1965) Avian Physiology, 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, New York.

Tamura, T. (1971) Histological studies on formation of egg-covering in quail oviduct. J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ., 10: 129-137.

Tamura, T. and S. Fujii (1966) Histological observations on the quail oviduct; on the secretions in the mucous epithelium of the uterus. J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ., 6: 357-371.

Tamura, T. and S. Fujii (1967) Comparative observations on the distribution of fluorescent pigments (porphyrins) in the egg-coverings of chickens and quail. J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ., 7: 35-41.

Tamura, T., S. Fujii, H. Kunisaki and M. Yamane (1965) Histological observations on the quail oviduct; with reference to pigment (porphyrin) in the uterus. J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ., 6: 37-57.

Tanabe, Y., T. Nakamura, K. Fujioka and O. Doi (1979) Production and secretion of sex steroid hormones by the testes, the ovary, and the adrenal glands of embryonic and young chickens (*Gallus domesticus*). Gen. Comp. Endocrinol., 39: 26-33.

田中 克英 (1972) 鶏の排卵. 家禽会誌, 9: 1-10.

Tanaka, K. (1976) A physiological study of egg shell formation in the domestic fowl with special reference to the initiation of secreting egg shell material. Jpn. J. Zootech. Sci., 47: 385-392.

田中 耕作, 今井 達夫, 古賀 脩 (1977) 日本うずらの卵殻表面における色素沈着過程について. 家禽会誌, 14: 229-231.

Tanaka, K., M. Kamiyoshi and J. H. Wolford (1970) A possible role of LH released soon after ovulation for succeeding ovulation in the hen. Poultry Sci., 49: 1692-1697.

Thompson, E. A. Jr. and P. K. Siiteri (1974) The involvement of human placental microsomal cytochrome P-450 in aromatization. J. Biol. Chem., 219: 5373-5378.

Tsushima, N. and M. Yamada (1988) Comparison of sex hormone dependent induction of  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase in chick liver and oviduct. Comp. Biochem. Physiol., 90B: 187-192.

Uzgiris, I. V., C. A. Whipple and H. A. Salhanick (1977) Stereoselective inhibition of cholesterol side chain cleavage by enantiomers of aminoglutethimide. Endocrinology, 101: 89-92.

Verma, O. P., B. K. Prasad and J. Slaughter (1976) Avian oviduct motility induced by prostaglandin E<sub>1</sub>. Prostaglandins, 12: 217-227.

Warren, D. C. and R. M. Conrad (1942) Time of pigment deposition in brown shelled eggs and in turkey eggs. Poultry Sci., 21: 515-520.

Wechsung, E. and A. Houvenaghel (1976) A possible role of prostaglandins in the regulation of ovum transport and oviposition in the domestic hen. Prostaglandins, 12: 599-608.

Wedral, E. M., D. V. Vadehra and R. C. Baker (1974) Chemical composition of the cuticle and inner and outer membranes from egg of *Gallus gallus*. *Comp. Biochem. Biophys.*, 47B: 631-640.

Wentworth, B. C. (1960) Fistulation of the hen's oviduct. *Poultry Sci.*, 39: 782-784.

With, T. K. (1973) Porphyrins in egg shells. *Biochem. J.*, 137: 1427-1432.

Woodard, A. E. and F. B. Mather (1964) The timing of ovulation, movement of the ovum through the oviduct, pigmentation and shell deposition in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Poultry Sci.*, 43: 1427-1432.

Yamada, M. (1972)  $\delta$ -Aminolevulinic acid dehydratases from shell gland and liver of Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Biochim. Biophys. Acta*, 279: 535-543.

Yoshimura, Y. and J. M. Bahr (1991) Localization of progesterone receptors on the shell gland of laying and nonlaying chickens. *Poultry Sci.*, 70: 1246-1251.

Yoshimura, Y. and T. Tamura. (1986) Histochemical demonstration of estrogen and progesterone binding sites in the shell gland of immature, laying and non-laying hens. *Jpn. Poult. Sci.* 23: 265-268.

及こが出に關する生理学的研究