《研究ノート》

鶏の卵管膨大部(卵白分泌部)のプロジェステロン・レセプター結合能の排卵から放卵までの期間における変動

川島 光夫・上吉 道治・田中 克英

岐阜大学農学部, 家禽畜産学科, 岐阜市柳戸, 501-11

鶏の卵管の膨大部(卵白分泌部)にはそのcytosol中にプロジェステロン(P)・レセプターが存在し^{1,2)}, 細胞核にはレセプター・P・複合体が存在する^{3,4)}。最近, 著者ら⁵⁾は産卵鶏と休産鶏とについて卵管膨大部cytosolのP・レセプターの結合親和性並びに結合能を比較したところ, 結合親和性には差異がなく結合能に差異が認められたことから, 卵管膨大部のP・レセプターは生理状態が異なっても質的には変化せず量的に変化するものであらうと推察した。本実験は排卵から放卵までの期間における卵管膨大部のcytosol並びに細胞核画分のP・レセプターの結合量の変化について検討し, 卵管膨大部の卵白分泌とPの作用との関係を見るための一助としようとした。

材料および方法

白色レグホーン種の産卵鶏(午前5時点燈: 14時間照明, 飼料と水は自由摂取)でクラッチを構成する産卵数が4~6個, クラッチと次のクラッチとの間の休産日数が1日である鶏(14カ月齢, 体重1.8~2.2 kg) 68羽を用い, クラッチ第1卵排卵(午前6時)後のいろいろな時間(2, 5, 8, 12, 15, 18, 20および23時間後)に6~10羽ずつ殺して卵管膨大部を採取し, 秤量した後, プールして前報⁶⁾と同様にcytosolおよび細胞核画分を調製した。cytosolについてはLOWRY法⁷⁾によって蛋白質濃度測定後, 前報⁶⁾と同じ方法によって(1, 2, 6, 7-³H)-P(比放射能: 101 Ci/mmol, RADIOCHEMICAL CENTRE, AMERSHAM, 英国)に対する特異的結合量を測定し, 細胞核画分についてはBurton法⁸⁾によってDNA濃度測定後, 前報⁶⁾と同様に特異的[³H]-P結合量を測

定した。これらはいずれも組織重量1g当りの分子量(試料3本または4本の測定値の平均)として表わした。各平均値間の有意差の検定にはTukeyの多重検定法⁹⁾を使用した。また比較のため, 3週間以上換羽休産した鶏(14カ月齢, 体重1.8~2.2 kg) 62羽を産卵鶏の各供試時間に相当する時刻(すなわち, 午前8時, 11時, 午後2時, 6時, 9時, 午前0時, 2時および5時)に6~10羽ずつ殺して卵管膨大部のcytosolのみについて特異的[³H]-P結合量を測定した。

本実験に使用した卵管膨大部組織の重量は, 産卵鶏では20.9~35.2 g (28.1±1.6 (標準誤差) g; n=68)であり, 排卵から放卵までの各時間における重量には統計的有意差は認められなかった。休産鶏の組織重量は3.1~8.4 g (5.5±0.1 g; n=62)あり, 1日のうちの各時間における重量にも統計的有意差は認められなかった。また産卵鶏の卵管膨大部のDNA量は組織重量1g当り1.29~1.79 mg (1.52±0.06 mg)であり, 排卵から放卵までの各時間のDNA量には統計的有意差は認められなかった。

結果および考察

Table 1に示すように, 産卵鶏における排卵から放卵までの期間の卵管膨大部のP・レセプター結合量は, cytosolでは排卵2時間後から5時間後までは減少し, 5時間後から12時間後までは増加し, その後再び減少し, さらに18時間後から再び増加するという変動を示した。これとほぼ同様な変動のパターンが細胞核画分についても認められた。これに対し, 休産鶏のcytosol P・レセプター結合量はいずれの時間においても組織重量1g当り $2.88\sim3.04\times10^{-11}$ molesの範囲内にあり, 1日のうちで顕著な変動を示さなかった。cytosol中の蛋白質量は, 産卵鶏においては排卵2時間後と比べ5時間後では明らかに減少しており, その後順次増加を示したが, 休産鶏においては産卵鶏の場合よりも少なく(44.8~51.7 mg/g 組織), 1日のうちで顕著な変動を示さなかった。

鶏の卵管膨大部の管状腺細胞においてはエストロジェ

昭和57年10月28日受付

Changes in cytoplasmic progesterone receptors and nuclear progesterone binding sites in the hen oviduct magnum (Albumen secreting portion) during the period from ovulation to oviposition, Mitsuo KAWASHIMA Michiharu KAMIYOSHI and Katuhide TANAKA, Department of Poultry and Animal sciences, Gifu University, Gifu 501-11

Table 1. Specific [^3H]-P binding in cytosols and in nuclear fractions of the hen oviduct magnum (Albumen secreting portion) at various times after ovulation of the initial ovum (C_1) of a clutch.

Hour after C_1 ovulation ¹	Cytosol protein (mg/g tissue)	Specific [^3H]-P bound	
		Cytosol (mol $\times 10^{-11}$ /g tissue)	Nuclear fraction (mol $\times 10^{-13}$ /g tissue)
2	128.8 $\pm$ 5.5# (3)###	4.84 $\pm$ 0.11 (4) ^c	5.06 $\pm$ 0.33 (3) ^{cd}
5	70.4 $\pm$ 4.7 (3) ^a	2.04 $\pm$ 0.01 (4) ^a	1.10 $\pm$ 0.03 (3) ^a
8	90.0 $\pm$ 2.8 (3) ^{ab}	2.31 $\pm$ 0.08 (4) ^{ab}	3.27 $\pm$ 0.31 (3) ^b
12	100.8 $\pm$ 2.7 (3) ^{bc}	4.67 $\pm$ 0.08 (4) ^c	3.74 $\pm$ 0.16 (3) ^{bc}
15	106.7 $\pm$ 2.3 (3) ^{bc}	2.66 $\pm$ 0.09 (4) ^b	5.63 $\pm$ 0.13 (3) ^d
18	120.2 $\pm$ 8.2 (3) ^{cd}	2.18 $\pm$ 0.07 (4) ^a	3.55 $\pm$ 0.23 (3) ^b
20	151.1 $\pm$ 6.6 (3) ^e	2.42 $\pm$ 0.03 (4) ^{ab}	3.24 $\pm$ 0.27 (3) ^b
23	149.4 $\pm$ 3.5 (3) ^{de}	4.62 $\pm$ 0.11 (4) ^c	3.69 $\pm$ 0.25 (3) ^{bc}

1 Occurred at about 6:00 a.m.

Mean $\pm$ SE

No. of determinations.

Means followed by different letter are significantly different at 1% level in TUKEY's test.

ンの作用によって卵白の主要な蛋白質であるオボアルブミンが合成され^{10,11)}、杯細胞においてはエストロジェンの感作の後にプロジェステロンの作用によって卵白の成分であるアビジン(ビオチン結合蛋白質)が合成される^{12,13)}ことが知られている。一般にステロイドホルモンが標的細胞に作用するときは、細胞質内のレセプターと結合した後、細胞核へ移行すると考えられている¹⁴⁾。従って、細胞核のレセプター・ステロイド複合体量の増加はホルモン作用の増加を反映するものと考えられる。それ故、本実験結果において細胞核画分の特異的 [^3H]-P 結合量が排卵 5 時間後から 15 時間後までの期間に増加を示したこと、また排卵 20 時間後から再び増加を示したことは、これらの時期に P の作用が強く発揮されていることを示唆するものと考えられる。しかし、このような作用の変動が果してアビジンの合成に関与した変動であるのかどうかはさらに追究が必要であろう。

引用文献

- SHERMAN, M. R., P. L. CORVOL and B. W. O'MALLEY (1970). Progesterone-binding components of chick oviduct. I Preliminary characterization of cytoplasmic components: J. Biol. Chem., **245**: 6085-6096.
- KAWASHIMA, M., M. KAMIYOSHI and K. TANAKA (1978). A cytoplasmic progesterone receptor in hen pituitary and hypothalamic tissues: Endocrinology, **102**: 1207-1213.
- O'MALLEY, B. W., D. O. TOFT and M. R. SHERMAN (1971). Progesterone-binding components of chick oviduct. II Nuclear components: J. Biol. Chem., **246**: 1117-1122.
- KAWASHIMA, M., M. KAMIYOSHI and K. TANAKA (1979). Nuclear progesterone receptor in the hen pituitary and hypothalamus: Endocrinol. Japon, **26**: 501-506.
- 川島光夫・上吉道治・田中克英 (1982). 産卵鶏と休産鶏における卵管膨大部(卵白分泌部)の細胞質可溶性画分(cytosol)のプロジェステロン・レセプター: 家禽会誌, **19**, 245-246.
- KAWASHIMA, M., M. KAMIYOSHI and K. TANAKA (1980). Relationship between the changes in cytoplasmic progesterone receptor concentration and in nuclear progesterone binding sites in the hen hypothalamus and pituitary during the ovulatory cycle: Endocrinol. Japon, **27**: 667-670.
- LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR and R. J. RANDALL (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent: J. Biol. Chem., **193**: 265-275.
- BURTON, K. (1956). A study of the condition and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid: Biochem. J., **62**: 315-323.
- SNEDECOR, G. W. (1956). Statistical Methods: 5th ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- KOHLER, P. O., P. M. GRIMLEY and B. W. O'MALLEY (1968). Protein synthesis: Differential stimulation of cell-specific proteins in epithelial cells of chick oviduct: Science, **160**: 86-87.
- OKA, T. and R. T. SCHIMKE (1969). Progesterone antagonism of estrogen-induced cyto-

- differentiation in the chick oviduct: Science, **163**: 83-85.
- 12) KORENMAN, S.G. and B.W. O'MALLEY (1968). Progesterone action: Regulation of avidin biosynthesis by hen oviduct *in vivo* and *in vitro*: Endocrinology, **83**: 11-17.
- 13) O'MALLEY, B.W., W.L. MCGUIRE, P.O. KOHLER and S.G. KORENMAN (1969). Studies on the mechanism of steroid hormone regulation of synthesis of specific proteins: Recent Prog. Horm. Res., **25**: 105-160.
- 14) O'MALLEY, B.W. and A.R. MEANS (1974). Female steroid hormones and target cell nuclei: Science, **183**: 610-620.