エストロゲン投与雛の血清ビテリン産生能 における感受性の性的差異について

山 本 興三郎・片 山 進

新潟大学農学部 新潟市

鶏の血清ビテリンが産卵鶏血清に特有のものであり雄鶏血清には存在しない事は細田¹⁾をはじめとして従来より多くの報告があり、又その生産臓器が肝臓であることも細田²⁾, VANSTONE *et al.*³⁾ によって明かにされている。細田らは血清ビテリンの産生に関する研究を進めるに当っては血清ビテリンが免疫性を有するところから免疫学的手法を盛に利用して来た。又一方それとは別に血清ビテリンが単一物質ではなく Low-Density-Lipoprotein (L.D.L.) および Phospho-Lipoprotein (P.L.P.) 等の複合物質であることも、紙電氣泳動法或は超遠心分離等の方法によって TANABE *et al.*⁴⁾ によって報告された。従って血清ビテリン反応とは L.D.L. および P.L.P. の複合反応であることになるが、これらの問題に関する研究には SUGANO⁵⁾, MECHAM AND OLCOTT⁶⁾ 等の報告をはじめ幾つかの研究報告がみられる。

一方雛においてもエストロゲン投与を行った場合雌雄とも血液中に血清ビテリンが出現する事が細田⁷⁾ により観察された。その報告に基づき田名部⁸⁾ はエストロゲン投与を開始してより血清ビテリン反応が出現するまでの日数において 60 日齢以降の雛では明かに雌雄差のみられる事を報じた。

筆者は以上の点に着目し、60 日齢の白色レグホーン雛に日量 0.4 mg のエストロゲン (オイベスチン、武田製薬) を連続 10 日間投与し、血清ビテリン産生能における雛の感受性を回帰式として表現する方法を考案し、前報⁹⁾ において発表した。回帰式 $Y = bX + k$ (ただし Y : 反応陽性希釈度, X : 処理日数, b : 回帰係数, k : 恒数) として表現した場合と従来の如く反応出現日数として表現した場合との関係を検討してみた結果¹⁰⁾ を示すと、雌雛 7 群 (358 羽), 雄雛 5 群 (166 羽) について各群間の変動を取除き、反応出現日数と回帰係数 b との間の平均の相関では雌 -0.089, 雄 -0.145 となつていずれも有意性を示さなかった。それに対して反応出現日数と恒数との間の平均の相関を同様にして算出してみると雌 -0.488 (0.1% 水準で有意) 雄 -0.350 (0.1% 水準

で有意) となり、反応出現日数の早いものにおいては概して恒数の値は大きくなる傾向が認められた。それに続いて更に実験に使用した出所の異なる雛の各群ごとの回帰式を算出してみると雌雄ともに回帰係数 b について群間の差が認められた。そして又恒数 k については共分散分析法により雌雄がそれぞれ共通の回帰係数を基礎とするように修正した修正平均値間になお有意差が認められた。この場合の有意差は雌雄間に反応出現の早晚に差がある事を示すものであって雌は雄よりも早く反応が出現する事を示している。

一方反応回帰係数 b を横軸に恒数 k を縦軸にとった座標上においてそれぞれの個体の回帰式の b および k から各個体の示す点を座標上にプロットし、各群の分布状態を検討してみた。その結果雌雄ともに回帰係数 b と恒数 k の値の間に負の相関又は回帰の存在する事が認められた。すなわち、注射前の血中ビテリン濃度の理論値 (k) が大きいほど血中ビテリン濃度の上昇度 (b) は低いことになる。この関係を筆者は特に $b-k$ 回帰と名づけ、反応回帰式 $Y = bX + k$ とは別に $Y' = b'X' + k'$ (Y' : 反応回帰式における k , X' : 反応回帰式における b , b' : $b-k$ 回帰係数, k' : $b-k$ 回帰式における恒数) として表現した。これを取材した出所の異なる各群についてみると雌では各群の $b-k$ 回帰係数間 (b' 間) に極めて高い有意差がみられるに対し、雄では如何なる出所の異なる雛を取材しても各群の b' の値は比較的近づいており有意差が認められなかった。そこで以上の様な性的差異が如何なる原因によるものかを知る一段階として性腺除去を行った場合、正常鶏、去勢鶏の雌および雄の各群の反応回帰直線、 $b-k$ 回帰係数がどの様な変化を示すかを検討する目的で本実験を行った。

材料および方法

供試した雛は新潟県養鶏試験場よりの 1 群、大沼種鶏場 (新発田市) よりの 2 群、計 3 群の雛でそれぞれ出所の異なる白色レグホーン種を用いた。雌雄ともに同一出所の同一交配より得られた雛を無作為に 2 等分し、一方は

40 日齢時において性腺除去を行った。雄の睾丸除去は比較的容易に行なう事が出来るが、雌の場合は卵巣除去を多羽数同時に行なう事は仲々容易ではないので出血多量による死亡を防止する為に、手術前あらかじめ止血剤としてトロムボゲン（藤沢薬品製）0.5 ml を注射しておき、電気メスによって一部づつ焼却切除しながら取除いた。一週間後再び切開して卵巣摘出不完全とみられるものは再度切除を行い、その後雛が 60 日齢に達した時より従来の方法と全く同様に日量 0.4 mg のエストロゲン投与を開始し、10 日間の採血期間における血清ビテリン反応の消長を観察した。使用した抗血清は細田¹⁾によって紹介された場合と同様抗産卵鶏血清免疫家兎血清を雄鶏血清で吸収飽和し種属特異性抗体を完全に除去した後、抗原価 32 倍抗体価 4 倍に調製したものをを用い、血清ビテリン反応の観察に供した。血清ビテリン産生能における感受性の表現方法は筆者の前報の場合と全く同様であるが、この場合反応陽性を示した稀釈度を評価するに当り、稀釈倍数が原液 (1) より、2, 4, 8, 16……と順次倍加されるが、個体の反応回帰式を算出する為の計算を簡略化する意味でそれぞれ 1, 2, 3, 4……と附点し稀釈度を表示した。以上の様にして各個体における連日の反応記録により個体の評価を反応回帰式として表現したが、その算出方法としては縦軸 (Y) に稀釈度、横軸 (X) に処理日数 (10 日間) の日数をとった座標上に各個体の示した経日的な稀釈度の変動をプロットし、処理日数に対する稀釈度の回帰を算出した。

次に各個体の示した稀釈度の変化を一括し、出所別に正常鶏および去勢鶏の雌雄各群の反応回帰式を算出し、各群間の差異を検討した。

そして更に各個体の示した回帰式から回帰係数 b および恒数 k を分離し、回帰係数 b を横軸に、恒数 k を縦軸にとり、供試した各群の鶏雛が如何なる分布状態を示すかを観察し、正常鶏、去勢鶏間および雌雄間等にどのような差異がみられるかについて検討してみた。

なお採血最終日の翌日 (72 日齢) において屠殺し、卵巣又は睾丸の再生が肉眼的に認められる個体又摘出不完全とみられる個体については結果の処理に当り計算から除外した。

結 果

まず反応回帰直線についてみると、第 1 表および第 2 表 (1) に示す如く、雌雄とも正常区、去勢区を通じて各群の反応回帰係数間に有意差が認められた。又同一交配群から得られた正常雛、去勢雛間にも群によって有意差が認められた。更に正常区の各群の反応回帰係数についてみると雌雄ともに各群間に有意差が認められたが、去

勢区では雌雄ともに差が認められなかった。

又恒数 k については第 2 表 (2) に示すように雌雄とも正常去勢両者間に平均値 (回帰に基づく変動を除去した修正平均値) において有意差が認められ、正常雌雄間、去勢雌雄間にも有意差が認められた。

これを図示すると正常区では第 1 図の如くで各群の反応回帰係数間に有意差が認められ、群によってそれぞれ血中ビテリン濃度の上昇度に差異のあることが認められる。それに対して去勢区では第 2 図の如くであって雌雄

第 1 表 正常雛、去勢雛の各群の反応回帰係数 (b)

	群		供試羽数	$b \pm S. E$
雌	1	正 常	48	0.607 ± 0.027
		去 勢	26	0.569 ± 0.042
	2	正 常	42	0.530 ± 0.021
		去 勢	25	0.514 ± 0.023
	3	正 常	30	0.697 ± 0.027
		去 勢	27	0.530 ± 0.043
雄	1	正 常	33	0.390 ± 0.028
		去 勢	40	0.530 ± 0.024
	2	正 常	44	0.549 ± 0.021
		去 勢	45	0.653 ± 0.025
	3	正 常	33	0.653 ± 0.029
		去 勢	31	0.549 ± 0.039

第 2 表 正常雛、去勢雛の各群の反応回帰式における差

(1) 回帰係数 (b) の差

	群	正常去勢 各群を通じての全 区間の差	正常去 勢間	正常各 群間	去勢各 群間	去勢雌 雄間
雌	1		有意差 なし			
	2	***	〃	***	有意差 なし	
	3	***	***			有意差 なし
雄	1		有意差 なし			
	2	***	***	***	有意差 なし	
	3		*			

(2) 恒数 (k) 修正平均値の差

	正常去勢間	去勢雌雄間	正常雌雄間
雌	* * *		
雄	*	* * *	* * *

* 5% 水準で有意

*** 0.1% " "

第1図 正常雌における各群の反応回帰直線

第2図 去勢雌における各群の反応回帰直線

ともに各群の反応の反応回帰係数間に差が認められなかった。又正常区では反応回帰直線の位置が雌雄間で明かに異っており、雌は雄よりも恒数の平均値が大きい。去勢区においても第2表(2)に示す如く恒数平均値は雌の方が雄よりも有意に大きい。が反応回帰直線の位置は概して近接する傾向が認められた。すなわちこれを正常雌、去勢雌、正常雄、去勢雄の各群に区分してそれぞれの反応回帰直線を書いてみると、第3図の如くであって、正常雌、去勢雌、去勢雄、正常雄の順に反応回帰直線の位置的差異が認められる。要するに性腺を除去することによって雌雄ともに反応回帰直線は正常雌、正常雄の中間

型となる傾向がみられた。然しながら、なおかつ去勢雌、去勢雄の恒数平均値間に有意差のみられた事は反応出現の早晚においては性腺の存在にかかわりなく雌雄間に明かに差のある事を示している。

一方 b-k 回帰に基づく分布を検討してみると、第3表、第4表(1),(2)に示す如く b-k 回帰係数(b')は雌雄とも同一出所より得られた正常雌去勢雌間には差が認められなかった。又正常雌の各群相互の間にも差は認められなかった。去勢雌各群相互間では雌の場合各群間に有意差が認められるに対し、雄では有意差が認められなかった。この場合、正常雌は各群間に有意差が認められ

第3図 正常雌、去勢雌の反応回帰直線

第3表 正常雌、去勢雌の各群の b-k 回帰係数(b')

	群		供試羽数	b' ± S.E
雌	1	正 常	48	-1.940* ± 0.774
		去 勢	26	-0.104 ± 1.246
	2	正 常	42	-2.966*** ± 0.424
		去 勢	25	-4.430*** ± 0.837
	3	正 常	30	-1.621 ± 0.679
		去 勢	27	-0.699 ± 0.365
雄	1	正 常	33	-1.521 ± 0.431
		去 勢	40	-1.873 ± 0.482
	2	正 常	44	-2.401 ± 0.218
		去 勢	45	-2.016 ± 0.806
	3	正 常	33	-1.300 ± 0.443
		去 勢	31	-1.352 ± 0.406

* 5% 水準で有意

*** 1% " "

第4表 正常雛、去勢雛の各群のb-k 回帰式 $Y' = b'X' + k'$ における差

(1) b-k 回帰係数 (b) の差

	群	正常去勢 各群を通じての全 区間の差	正常去 勢間	正常各 群間	去勢各 群間	雌雄間
雌	1		有意差 なし			
	2	* * *	〃	有意差 なし	* *	
	3		〃			
雄	1		有意差 なし			* *
	2	有意差 なし	〃	有意差 なし	有意差 なし	
	3		〃			

(2) 恒数 (k') 修正平均値の差

	正常去勢間	去勢雌雄間	正常雌雄間
雌	* *		
雄	有意差なし	* *	* * *

* * 1% 水準で有意

*** 0.1% 〃

第4図 正常雛における各群のb-k 回帰直線

なかったとは云え、第4図、第5図からも判る様に、各群間の変動は雄に比して大きい事が認められる。そこで、同一出所同性の正常雛去勢雛相互間に有意差がみられない事から(第3表、第4表(1))同一出所の正常雛去勢雛両区を一括して平均回帰を算出すると、第4表および第6図にみられる様に、雌ではb-k 回帰係数(b')の有意差がみられるに対し雄では差が認められなかった。

第5図 去勢雛における各群のb-k 回帰直線

第6図 雌雄各群におけるb-k 回帰直線

考 察

まず反応回帰直線について云うならば、前述の結果の如く、回帰係数bについては正常区の各群間に雌雄とも有意差がみられるに対し、去勢区では雌雄ともに差が認められなかった。又第2表(1)にみられる様に去勢雌雄間においても有意差が認められなかった。更に反応回帰直線の位置は去勢雛においては正常雛、正常雄の中間に位するのが認められる。すなわち血中ビテリン濃度の上昇度は雌雄ともに性腺の存在によって大きな影響を受けるが性腺を除去する事によってその差は縮小され雌去勢および雄去勢とも近接したビテリン産生能を示す様になるものとみられる。

然しながらb-k 回帰について検討してみた場合、性腺除去を行ってもなおかつ雌では各群間にb-k 回帰係数(b')の有意差がみられ、雄では有意差がみられない。

この事実は筆者が前報において正常雌，正常雄について報告した結果⁹⁾とよく一致する。

又ビテリン生産臓器が肝臓である事を考え併せると，たとえ性腺除去を行った場合であっても雄と雌とは肝臓機能に本質的な差異があるのであろうと推察される。

要 約

60 日齢白色レグホーン鶏雛に日量 0.4 mg のエストロジェンを連続 10 日間投与し，投与開始の翌日より 10 日間連続採血を行って血清ビテリン反応を観察した。そして各個体の反応出現の状態を 10 日間の採血期間に対する反応陽性最高稀釈値の回帰式として表現した（すなわち， $Y=bX+k$ ， Y ：反応陽性稀釈度， X 処理日数， b ：回帰係数， k ：恒数）。更にこれを実験に使用した出所の異なる各群ごとに集計して群としての反応回帰直線を表示した。

又一方各個体ごとに求めた反応回帰式 $Y=bX+k$ の b と k の間に回帰が認められる。これを $b-k$ 回帰と名づけ， $Y'=b'X'+k'$ (Y' ：反応回帰式における k ， X' ：反応回帰式における b ， b' ： $b-k$ 回帰係数， k' ： $b-k$ 回帰式における恒数)として表現した。そこで各群ごとに $b-k$ 回帰係数 (b') を比較すると，雌においては各群の b' 間に有意差がみられるに対し，雄では b' の値が比較的近接する傾向があり有意差は認められなかった。

40 日齢で性腺除去を行い，60 日齢からエストロジェン処理を行った鶏の反応回帰直線においては雌雄とも正常区の各群間には回帰係数 (b) および恒数 (k) におい

て有意差がみられるが，去勢区では回帰係数間には差がみられず恒数間に差がみられるのみであった。すなわち性腺を除去することにより反応回帰線は正常雌，正常雄の中間型となり一定化する傾向がみられた。

$b-k$ 回帰については前回の結果と同様，性腺除去を行っても雌では出所の異なる各群の $b-k$ 回帰係数間に有意差がみられたが，雄では差がみられなかった。すなわち性腺除去を行っても雌雄とも $b-k$ 回帰には影響がみられない。 $b-k$ 回帰の雌雄差の要因には性腺以外の要因があるものと思われた。

引用文献

- 1) 細田達雄，金子忠恒，茂木一重：日畜会報 **21**, 115, 1950
- 2) 細田達雄：医学と生物学 **22**, 9, 1952
- 3) VANSTONE, W. E., D. G. DALE, W. F. OLIVER and R. H. COMMON: Canad. J. Biochem. Physiol. **35**, 659, 1957
- 4) TANABE, Y., T. ABE, T. KANEKO AND T. HOSODA: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **106**, 506, 1961
- 5) SUGANO, H.: J. Biochem. **44**, 205, 1957
- 6) MECHAM, D. K. AND H. S. OLCOTT: Amer. J. Chem. Soc. **71**, 3670, 1949
- 7) 細田達雄：医学と生物学，**24**, 3, 1952
- 8) 田名部雄一，中山亮，佐々木清綱，細田達雄：日畜会報，**25**, 137, 1954
- 9) 山本興三郎，中川忠雄：日畜会報，**36**, 358, 1965
- 10) 山本興三郎：“エストロジェン投与鶏雛の血清ビテリン産生能における感受性に関する研究”学位論文 1966

Sexual Difference in the Sensitivity of Chicks to Synthetic Estrogen for Vitellin Production

KOZABURO YAMAMOTO AND SUSUMU KATAYAMA

Faculty of Agriculture, Niigata University, Niigata-shi

When 0.4 mg estrogen (diethylstilbestrol) is administered to White Leghorn chicks daily for 10 consecutive days from 60 days of age, different degrees of increase in the immunological response of serum to vitellin are observed among individual birds. The degree of sensitivity for the serum vitellin production is expressed as the dilution rate of serum for a positive vitellin response. This is shown by the following equation as described by Yamamoto and Nakagawa (1965)⁹:

$$Y = bX + k, (1),$$

where Y is the dilution rate of serum, X is the number of days injected with estrogen, b is a regression coefficient and k is a constant.

The regression equations were obtained from 7 groups of White Leghorn male and female chicks of different origins. In these equations, the correlation between b and k become apparent. When k was plotted against b , the mode of distribution of k was different among the groups of the females but not among those of the males.

Based on the correlation between b and k in the equation (1), another equation was obtained:

$$Y' = b'X' + k', (2),$$

where Y' is k of the equation (1), X' is b of the equation (1), b' is a regression coefficient and k' is a constant. Comparing the equation (2) among the above seven groups of White Leghorn males and females, it became evident that b' (designated as $b-k$ regression) differed significantly among the groups of females but the differences among the male groups were not significant.

The effect of gonadoectomy on b and k of the equation (1) and on b' of the equation (2) was examined using 6 groups of males and females. Ovaries and testes were removed on 40 days of age. Among these groups of gonadoectomized chicks, the difference in k was evident while the difference in b was not statistically significant. Gonadoectomy did not affect b' ($b-k$ regression) in both males and females. This suggests that the difference in b' between the normal males and females may be due to other factor(s) than the presence of gonad. (Japan Poultry Sci., 4, 56, 1967)