

研究レポート

気候の異なる条件下で育成されたサラブレッド育成馬の成長、性腺機能および被毛の変化に及ぼす長日処理の効果

鈴木 毅¹⁾・水上寛健²⁾・南保泰雄^{3, 4)}・石丸睦樹²⁾・宮田健二⁵⁾・秋山健太郎²⁾
頃末憲治⁶⁾・内藤裕司²⁾・永岡謙太郎^{4, 7, 8)}・渡辺 元^{4, 7, 8)}・田谷一善^{7, 9)}

要約

本研究では、温暖な気候である宮崎と寒冷な気候である日高で育成された雌雄サラブレッドに対して、1歳の12月20日から2歳の4月10日までの4か月間長日処理を実施し、成長、内分泌機能、性腺機能および被毛の変化について明らかにした。成長については、長日処理は、宮崎で育成された雄馬には、体重、体高、胸囲、管囲のいずれの成長にも影響を与えなかったが、雌馬では、体重と管囲が対照群と比べて長日処理群が有意に増加した。日高で育成された馬では、雄馬の体重と体高及び雌馬の体高が対照群と比べて長日処理群が有意に増加した。内分泌機能については、宮崎で育成された雄馬では、長日処理による影響は明らかではなかったが、雌馬では黄体形成ホルモン(LH)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、プロゲステロン、エストラジオール、日高で育成された雄馬ではLH、テストステロン、エストラジオール、雌馬ではLH、FSH、プロゲステロン、エストラジオールの血中濃度が対照群と比べて早期に上昇した。気候の違いに関わらず、血中プロラクチン濃度は、宮崎および日高で育成された雌雄馬ともに、対照群と比べて長日処理群が早期に上昇した。性腺機能については、雌では宮崎および日高育成馬ともに、対照群では4月以前には排卵が起こらなかったが、長日処理群では2月に最初の排卵が起こった。被毛の変化については、育成された環境の気候や性別の違いに関わらず、長日処理群が対照群と比べて冬毛の脱毛が早期に起こることが判明した。長日処理によって誘発されるこれらの生理的变化には、分泌量が増加するプロラクチンが促進的に作用しているものと推察された。

緒論

競走馬は、一定レベルまでの馬体の成長が望まれる。馬生産現場では、長日処理が繁殖季節を早

め、自然環境下より早く受胎させて出産時期を早めることが可能なことから、繁殖雌馬に用いられている。近年、日本中央競馬会(JRA)日高育成牧場

¹⁾Suzuki Tsuyoshi: 北海道NOSAI

²⁾Mizukami Hirotooshi, Ishimaru Mutsuki, Akiyama Kentaro, Naito Hiroshi: 馬事部

³⁾Nambo Yasuo: 帯広畜産大学臨床獣医学研究部門診断治療学分野

⁴⁾Nambo Yasuo, Nagaoka Kentaro, Watanabe Gen: 岐阜大学大学院連合獣医学研究科

⁵⁾Miyata Kenji: 馬事公苑

⁶⁾Korosue Kenji: 宮崎育成牧場

⁷⁾Nagaoka Kentaro, Watanabe Gen, Taya Kazuyoshi: 東京農工大学農学部共同獣医学科獣医生理学研究室

⁸⁾Nagaoka Kentaro, Watanabe Gen: 東京農工大学大学院農学府共同獣医学専攻

⁹⁾Taya Kazuyoshi: 社台コーポレーション

本論文は、J. Equine Sci. 2015, 26(4): 113-124に掲載されたものを一部改変し、和訳したものである。

で育成期の馬に対して長日処理を実施した結果、性腺機能の早期賦活化や冬毛の脱毛を早め、さらに筋肉量を増加させることが報告がされた[45、50]。日本の馬生産や育成現場では、温暖な気候である南国で育成された馬は、寒冷な気候である北国で育成された馬よりも成長が早いことが一般的に知られていた。Mizukamiら(2015)が宮崎と日高における自然光下でのサラブレッド育成馬の成長を比較した研究では、日高で育成された馬よりも宮崎で育成された馬の成長が早いことが報告されている[45]。加えて、宮崎で育成した馬では、日高で育成した馬に比べて、雄馬では精巣機能の早期賦活化、雌馬では早期排卵が起こると報告された。

本研究では、これまで明らかにされていない宮崎で育成されるサラブレッド育成馬に対する長日処理の効果を観察し、成長促進、性腺機能賦活化および被毛変化について明らかにすることを目的とした。結果は、日高で育成された育成馬と比較し、併せて育成馬に対する長日処理の効果のメカニズムを明らかにする目的で、内分泌学的変化を観察した。

材料および方法

供試馬

成長と性腺機能の評価に関する研究には、北海道と青森県で生まれた48頭のサラブレッド種を用いた。実験に際しては、2群に分けて、24頭(雄12頭、雌12頭)を温暖な気候のJRA宮崎育成牧場(31° 90'N, 139° 42'E)、残りの24頭(雄12頭、雌12頭)を寒冷な気候のJRA日高育成牧場(42° 17'N, 142° 72'E)で1歳の8月下旬から2歳の4月まで飼育した。実験開始時、供試馬は19ヶ月齢～22ヶ月齢であった。

長日処理

馬房(3.6 x 3.6m)の天井に100ワットの白色電球を設置し、明期14.5時間、暗期9.5時間の照明条件を人工的に作出した。照明の強さは、馬の顔の位置で約100ルクスとした。長日処理は、1歳の12月20日から2歳4月10日までの4ヶ月間、宮崎育成牧場の12頭(雄6頭、雌6頭)と日高育成牧場の12

頭(雄6頭、雌6頭)に実施した。残りの宮崎育成牧場の12頭(雄6頭、雌6頭)と日高育成牧場の12頭(雄6頭、雌6頭)は対照群として自然光下で飼育した。

被毛の評価

被毛の評価に関する研究には、宮崎育成牧場(長日処理群の雄12頭、雌49頭と、対照群の雄12頭、雌12頭)と日高育成牧場(長日処理群の雄48頭、雌49頭と、対照群の雄12頭、雌12頭)で飼育された計206頭を用いた。

採血

1歳の11月から2歳の4月まで、9時から12時までの間に月1回頸静脈からヘパリン加採血管を用いて約10mL採血した。血漿は測定まで-20℃で保存した。

成長の指標

成長の指標として、体重(Weight)、体高(Height)、胸囲(Girth)および管囲(Cannon)を1歳の12月から2歳の4月まで1ヶ月に1回測定した。成長を比較する目的で、4種類の指標の増加率(4月の値/12月の値x100)を算出した。

被毛の評価

被毛の評価は2歳の3月に行い、3名の評価者が全ての馬を長日処理の有無を知ることなく無作為に評価した。“良い”を3点、“普通”を2点、“悪い”を1点とする3点法で採点し、平均点を算出して両群を比較した。

ホルモンの測定

プロラクチン、黄体形成ホルモン(LH)および卵胞刺激ホルモン(FSH)は、馬用二抗体法ラジオイムノアッセイによって測定した[17]。プロラクチンの測定には、第一抗体として抗馬プロラクチン血清(AFP-261987)、標識用および標準ホルモンとして精製馬プロラクチン(AFP-8794B)を用いた。LHの測定には、第一抗体として抗馬LH血清(AFP-2405080)、標識用および標準ホルモンとして精製馬LH(AFP-50130A)を用いた。FSHの測定

には、第一抗体として抗馬FSH血清(AFP-2062096)、標識用および標準ホルモンとして精製馬FSH(AFP-5022B)を用いた。測定内および測定間変動は、プロラクチンが7.1%と9.8%、LHが12.6%と15.1%、FSHが4.9%と12.2%であった。

インスリン様成長因子1(IGF-1)は、ヒト用二抗体法ラジオイムノアッセイによって測定した[14]。第一抗体には、抗ヒトIGF-1血清(AP4892898)、標識用および標準ホルモンとして精製ヒトIGF-1(Lot#090701)を用いた。測定内および測定間変動は、2.7%と14.8%であった。

プロジェステロン、テストステロンとエストラジオール-17 β は、ヨード125で標識したホルモンを用いた二抗体法ラジオイムノアッセイによって測定した[57]。第一抗体としては、抗プロジェステロン血清(GDN 337)[26]、抗テストステロン血清(GDN 250)[25]、抗エストラジオール-17 β 血清(GDN 244)[41]を用いた。測定内および測定間変動は、プロジェステロンが7.3%と14.3%テストステロンが6.3%と7.2%およびエストラジオール-17 β が6.7%と17.8%であった。

初回排卵日の決定

血中プロジェステロン濃度が初めて1ng/mL以上の値を示した日の1週間前の日を、初回排卵日と判断した[44, 46]。

統計処理

血中ホルモン濃度は、平均値±標準誤差(SEM)で示した。2点間の比較には、F-testの後Student's *t*-testを用いた。分散が均一でない場合にはWelchの*t*-testを用いた。ホルモン濃度の比較には、二元配置の分散分析の後post-hocテスト(Bonferroni post test)を用いた。P < 0.05で統計的に有意と判定した。

結果

宮崎育成牧場で飼育した雄育成馬

4つの成長指標の増加率を、Fig. 1aに示した。体重(Weight)、体高(Height)、胸囲(Girth)および管囲(Cannon)のいずれの増加率も、長日処理群と対照群の間で有意差は認められなかった。長日処理

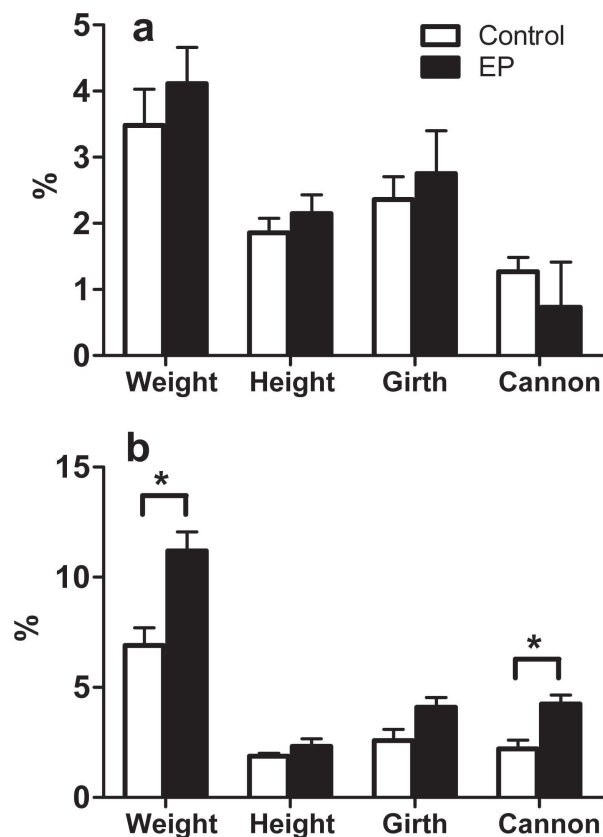


Fig.1 宮崎育成牧場で1歳12月から2歳4月まで育成したサラブレッドの体重(Weight)、体高(Height)、胸囲(Girth)、管囲(Cannon)の増加率。結果は、平均±標準誤差で示した。対照群(Control:□)、長日処理群(EP:■)、a:雄、b:雌、*P<0.05

群と対照群の1歳11月から2歳4月におけるプロラクチン、LH、FSH、IGF-1、テストステロンおよびエストラジオール-17 β の血中濃度の変化を、Fig.2に示した。血中プロラクチン濃度は、長日処理群では12月から上昇を開始し、2月に急上昇した。血中プロラクチン濃度は、12月から4月まで長日処理群が対照群と比較して有意な高値を示した(Fig.2a)。血中LH濃度は、長日処理群では、11月から4月まで基底値(0.16~0.54ng/mL)のままで推移した。対照群では、1月以降上昇したが両群間に有意差は認められなかった(Fig.2b)。血中FSH(Fig.2c)及びテストステロン濃度(Fig.2e)は、4月には長日処理群が対照群と比べて有意な低値を示したが、他の月では両群間に有意差は認められなかった。血中IGF-1濃度は、11月から4月まで、対照群が高い傾向を示したが、両群間に有意差は認められなかった(Fig.2d)。血中エストラジオール-17 β 濃度は、1月から4月まで対照群が高い傾向を示したが、両群間に有意差は認められなかった

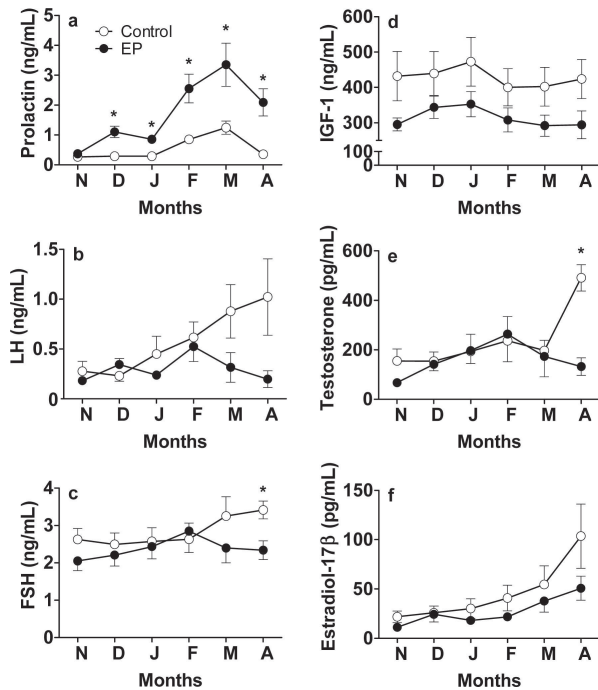


Fig.2

宮崎育成牧場で1歳11月から2歳4月まで育成した雄サラブレッドの血中ホルモン濃度。結果は、平均±標準誤差で示した。月は、月名のイニシャルで示した。対照群(○)、長日処理群(●)、プロラクチン(a)、黄体形成ホルモン(LH;b)、卵胞刺激ホルモン(FSH;c)、インスリン様成長因子1(IGF-1:d)、テストステロン(e)、エストラジオール-17β(f)、*P<0.05。

(Fig.2f)。

宮崎育成牧場で飼育した雌育成馬

4つの成長指標の増加率を、Fig.1bに示した。体重と管囲の増加率は、長日処理群が対照群よりも有意な高値を示した。結果はFigには示していないが、2月では、4項目(体重、体高、胸囲、管囲)の全てにおいて長日処理群が対照群より有意な高値を示した。長日処理群と対照群の1歳11月から2歳4月におけるプロラクチン、LH、FSH、IGF-1、プロジェステロンおよびエストラジオール-17βの血中濃度の変化を、Fig.3に示した。血中プロラクチン濃度は、1月と2月には長日処理群が対照群と比較して有意に高い値を示したが、4月には対照群の方が有意に高い値を示した(Fig.3a)。血中LH濃度は、対照群では4月まで基底値で推移したが、長日処理群では1月から上昇が認められた。2月以降は長日処理群が高い値を示したが、個体差が大きく両群間に有意差は認められなかった(Fig.3b)。血中FSH濃度は、3月と4月に長日処理群が対照群より有意に高い値を示した(Fig.3c)。血中IGF-1濃度は、

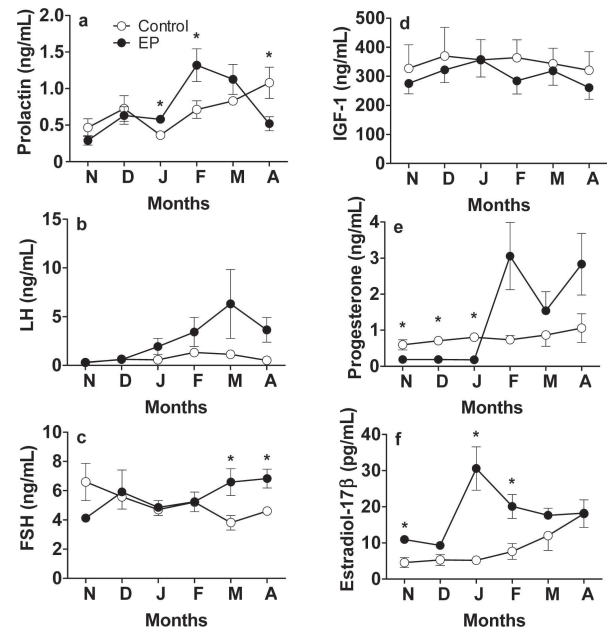


Fig.3

宮崎育成牧場で1歳11月から2歳4月まで育成した雌サラブレッドの血中ホルモン濃度。結果は、平均±標準誤差で示した。月は、月名のイニシャルで示した。対照群(○)、長日処理群(●)、プロラクチン(a)、黄体形成ホルモン(LH;b)、卵胞刺激ホルモン(FSH;c)、インスリン様成長因子1(IGF-1:d)、プロジェステロン(e)、エストラジオール-17β(f)、*P<0.05。

両群間で有意差は認められなかった(Fig.3d)。血中プロジェステロン濃度は、両群とも11月から1月まで基底値を示したが、対照群が長日処理群よりも有意に高い値を示した。2月には、長日処理群の数頭で血中プロジェステロン濃度が上昇し、3月と4月にも高値を示したが、対照群は4月まで基底値のままであった。2月以降、長日処理群の血中プロジェステロン濃度が対照群よりも明らかな高値を示したが、個体差が大きく有意差は認められなかった(Fig.3e、Fig.4ab)。血中エストラジオール-17β濃度は、対照群では2月から上昇を示したが、長日処理群では1月には高値を示し、4月まで高値を維持した。11月、1月と2月には、長日処理群が対照群よりも有意な高値を示した(Fig.3f)。初回排卵の時期については、Fig.4に示した個体ごとの血中プロジェステロン濃度の変化によって推定した。対照群では6頭中2頭(33.3%)のみが4月以前に排卵したが(Fig.4a)、長日処理群では6頭中5頭(83.3%)が排卵した(Fig.4b)。

日高育成牧場で飼育した雄育成馬

4つの成長指標の増加率を、Fig.5aに示した。長日処理群における体重と体高の増加率が、対照群

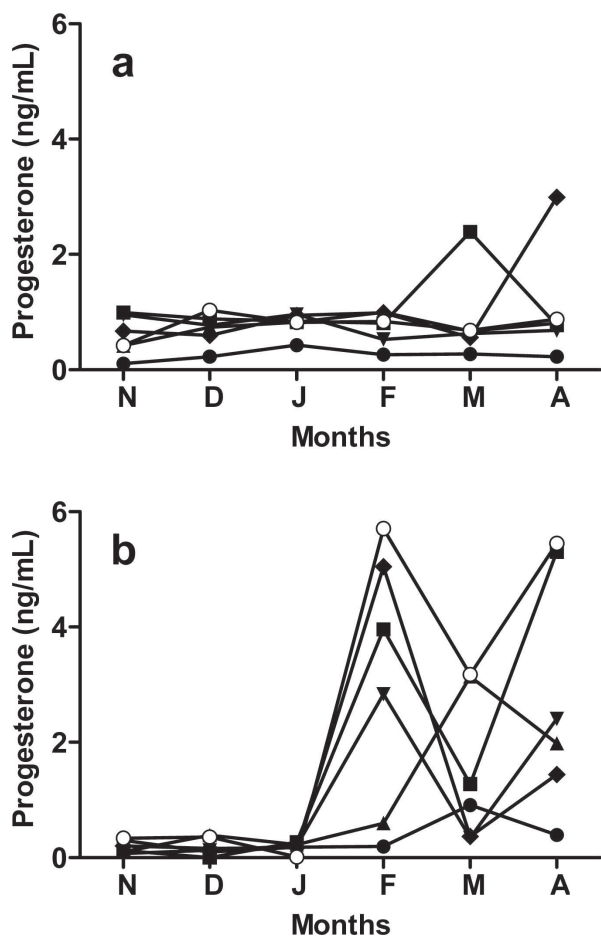


Fig.4 宮崎育成牧場で1歳11月から2歳4月まで育成した雌サラブレッドの血中プロゲステロン濃度。対照群(a)と長日処理群(b)。月は、月名のイニシャルで示した。

よりも有意に高い値を示した(Fig.5a)。

長日処理群と対照群におけるプロラクチン、LH、FSH、IGF-1、テストステロン、エストラジオール-17βの血中濃度の1歳9月から2歳4月までの変化をFig.6に示した。血中プロラクチン濃度は、対照群では2月から4月の間に上昇したが、長日処理群は1月から上昇し始め4月まで高値を示した。1月と2月には長日処理群が対照群と比較して有意な高値を示した(Fig.6a)。血中LH濃度は、対照群では4月まで低値で推移したが、長日処理群では1月から4月にかけて上昇が認められた。しかし、両群間に有意差は認められなかった(Fig.6b)。血中FSHおよびIGF-1濃度は、長日処理群で高い傾向を示したが、両群間で有意差は認められなかった(Fig.6c、6d)。血中テストステロン濃度は、対照群では3月から上昇したが、長日処理群では1月から急激に上昇して4月まで高値を維持した。しかし、個

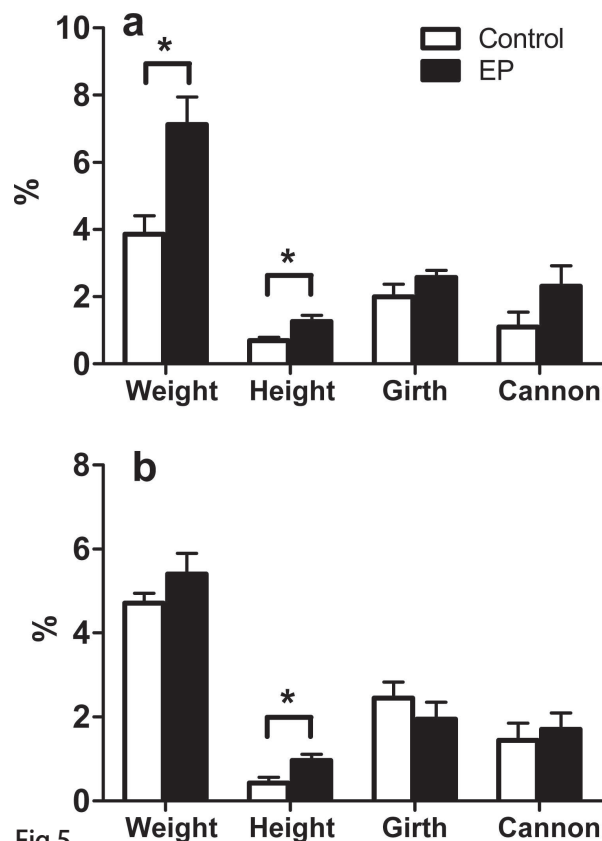


Fig.5 日高育成牧場で1歳12月から2歳4月まで育成したサラブレッドの体重(Weight)、体高(Height)、胸囲(Girth)、管囲(Cannon)の増加率。結果は、平均±標準誤差で示した。対照群(Control:□)、長日処理群(EP:■)、a:雄、b:雌、*P<0.05

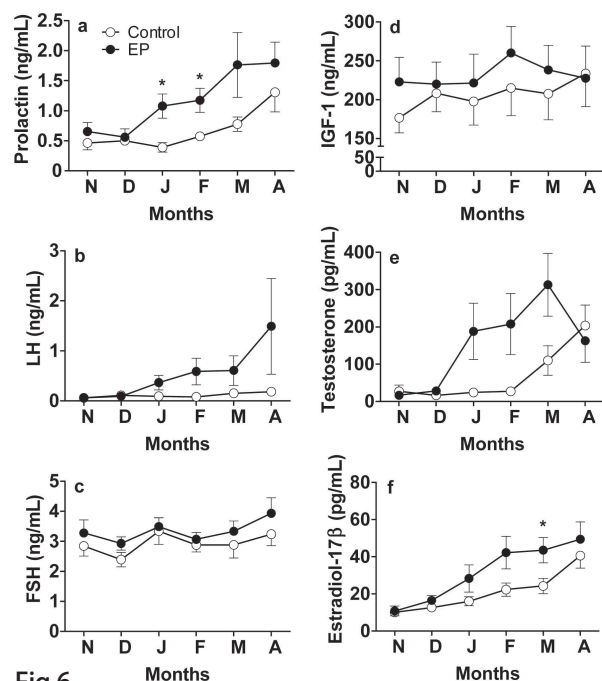


Fig.6 日高育成牧場で1歳11月から2歳4月まで育成した雄サラブレッド血中ホルモン濃度。結果は、平均±標準誤差で示した。月は、月名のイニシャルで示した。対照群(○)、長日処理群(●)、プロラクチン(a)、黄体形成ホルモン(LH;b)、卵胞刺激ホルモン(FSH;c)、インスリン様成長因子1(IGF-1:d)、テストステロン(e)、エストラジオール-17β(f)。*P<0.05。

体差が大きいと、両群間に有意差は認められなかった(Fig.6e)。血中エストラジオール-17 β 濃度は、対照群では2月から4月にかけて緩やかに上昇したが、長日処理群では1月から上昇し始め、3月には対照群と比較して有意な高値を示した(Fig.6f)。

日高育成牧場で飼育した雌育成馬

4つの成長指標の増加率を、Fig.5bに示した。長日処理群では、体高の増加率が対照群よりも有意に高い値を示した(Fig.5b)。長日処理群と対照群のプロラクチン、LH、FSH、IGF-1、プロゲステロン、エストラジオール-17 β の血中濃度の1歳9月から2歳4月までの変化を、Fig.7に示した。血中プロラクチン濃度は、対照群では3月から緩やかに上昇したが、長日処理群では1月から上昇し、4月まで高値を維持した。1月と2月には、対照群と比較して有意な高値を示した(Fig.7a)。血中LH濃度は、対照群では4月から上昇したが、長日処理群では2月から上昇が認められた。長日処理群における個体差が大きいと、両群間に有意差は認められなかった(Fig.7b)。血中FSH濃度は、両群とも12

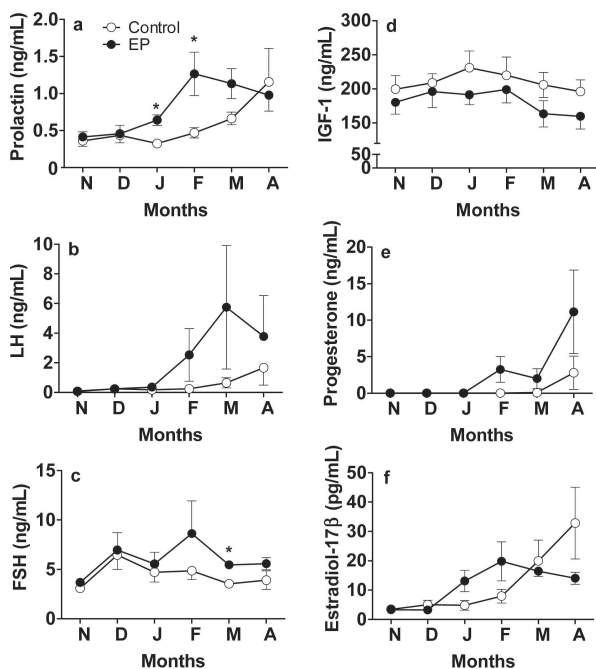


Fig.7

日高育成牧場で1歳11月から2歳4月まで育成した雌サラブレッド血中ホルモン濃度。対照群(○)、長日処理群(●)、プロラクチン(a)、黄体形成ホルモン(LH;b)、卵胞刺激ホルモン(FSH;c)、インスリン様成長因子1(IGF-1:d)、プロゲステロン(e)、エストラジオール-17 β (f)。結果は、平均±標準誤差で示した。月は、月名のイニシャルで表した。*P<0.05。

月からわずかに上昇したが、対照群では4月まで低値を維持した。長日処理群は2月から再び上昇し、3月には対照群と比較して有意な高値を示した(Fig.7c)。血中IGF-1濃度は、両群間で有意差は認められなかった(Fig.7d)。血中プロゲステロン濃度は、対照群では4月から上昇する傾向を示したが、長日処理群では2月から上昇した。しかし、長日処理群における個体差が大きいと、両群間に有意差は認められなかった(Fig.7e)。血中エストラジオール-17 β 濃度は、対照群では3月から上昇したが、長日処理群では1月から上昇し、4月まで高値を維持した。両群間に有意差は認められなかった(Fig.7f)。初回排卵の時期については、Fig.8に示した個体ごとの血中プロゲステロン濃度の変化によって推定した。対照群では6頭中2頭(33.3%)が4月以前に排卵したが、長日処理群では2月から排卵し、6頭全頭(100%)が4月以前に排卵した(Fig.8)。

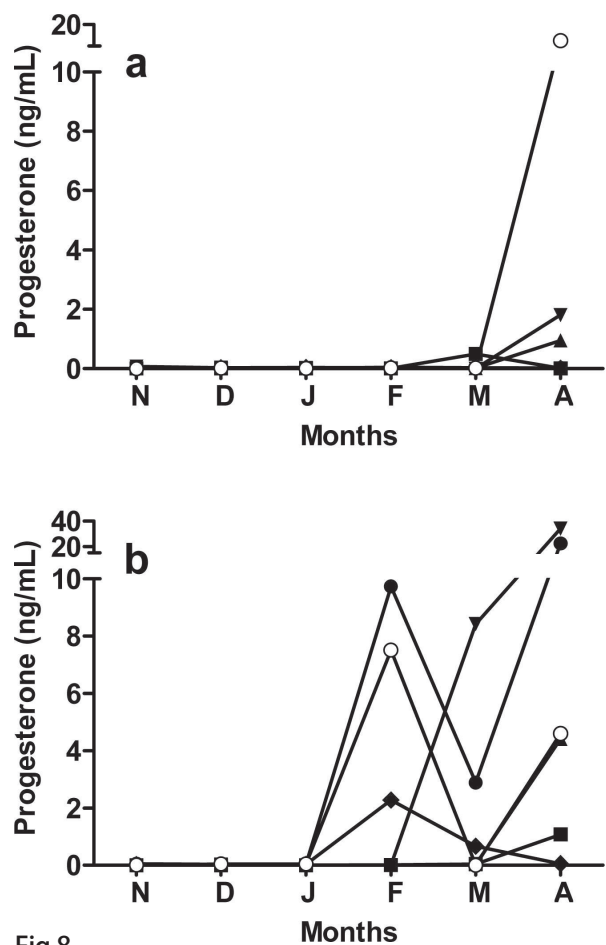


Fig.8

日高育成牧場で1歳11月から2歳4月まで育成した雌サラブレッドの血中プロゲステロン濃度。対照群(a)と長日処理群(b)。月は、月名のイニシャルで示した。

被毛の変化

2歳の3月(長日処理法実施後3ヶ月)に撮影した両群の代表的な写真をFig.9に示した。

また、各群の被毛の評価点の平均値を、Fig.10に示した。宮崎(雄Fig.9A;雌Fig.9C)と日高(雄Fig.9E;雌Fig.9G)における対照群では、冬毛が残っていたが、長日処理群の雄(宮崎Fig.9B;日高Fig.9F)と雌(宮崎Fig.9D;日高Fig.9H)では冬毛の脱毛が進んでいた。被毛の評価点は、日高の雄(Fig.10A)と雌(Fig.10B)、宮崎の雄(Fig.10C)と雌(Fig.10D)において、長日処理群が対照群と比較して有意な高値を示した。



Fig.9 宮崎育成牧場と日高育成牧場で育成したサラブレッド種の2歳3月時点における代表例の被毛状態。宮崎育成牧場で育成した雄馬の対照群(A)と長日処理群(B)および雌馬の対照群(C)と長日処理群(D)。日高育成牧場で育成した雄の対照群(E)と長日処理群(F)および雌の対照群(G)と長日処理群(H)。

考察

本研究では、宮崎で育成したサラブレッド育成馬に初めて長日処理を実施し、成長、内分泌機能、性腺機能および被毛の変化を日高で育成した馬と

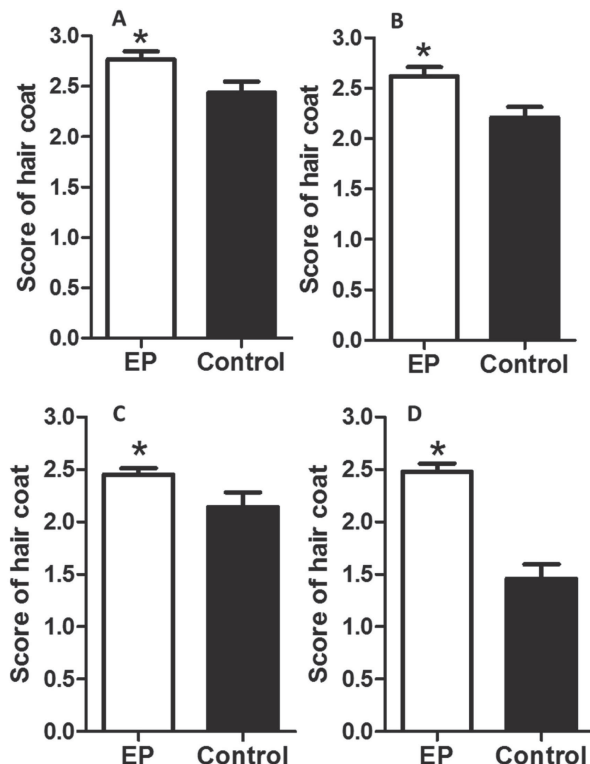


Fig.10 サラブレッド雌雄育成馬における長日処理群(EP;□)と対照群(Control;■)の被毛評価点の比較。宮崎育成馬(雄:A、雌B)および日高育成馬(雄:C、雌:D)。結果は、平均土標準誤差で示した。*P<0.05。

比較した。本研究の結果から、日本の南に位置する温暖な気候の宮崎と、北に位置する寒冷な気候の日高で育成した馬に対する長日処理の効果の違いが明らかとなった。長日処理による成長促進と性腺機能の促進効果は、日高で育成した馬では、雌雄馬共に認められた。しかし、宮崎で育成した馬では、雌では長日処理による成長促進と性腺機能の促進効果が認められたが、雄には長日処理の明らかな効果は認められなかった。

成長促進効果については、日高においては、長日処理群が自然光下で育成した対照群よりも、雄では体重と体高、雌では体高が増加した。宮崎においては、雌では体重と管囲が対照群と比べて長日処理群で増加した。さらに、宮崎で育成した雌の2月における増加率は、4項目(体重、体高、胸囲、管囲)全てにおいて、対照群と比べて長日処理群で増加した。しかし、雄馬では、いずれの成長項目でも長日処理の効果は認められなかった。

性腺機能促進効果については、長日処理は日高で育成した雌雄馬および宮崎で育成した雌馬の性腺機能を促進することが明らかとなった。雄馬で

は精巣からのホルモン分泌量の増加が認められ、雌馬では初回排卵の早期化が起こった。本研究の結果から、長日処理は繁殖雌馬と同様に育成馬に対しても性腺機能の促進効果を持つことが明らかとなった[7, 23, 53]。しかし、宮崎で育成した雄馬では、成長および性腺機能に対する長日処理の効果は認められなかった。その理由は、現時点では明らかではない。

日高と宮崎において、自然光下で育成した雌雄サラブレッドの成長を比較した我々の過去の研究から、雌雄ともに宮崎で育成した馬が日高で育成した馬より成長が促進される事実が明らかになった[45]。動物の成長速度には限界があるため、宮崎で育成した雄馬は自然光下で、既に限界に近いスピードで成長を遂げていることから、長日処理を実施しても体重、体高、胸囲、管囲のさらなる成長促進は認められなかった可能性が示唆された。宮崎で育成した雄馬における長日処理の効果については、さらなる研究が必要である。しかし、プロラクチン分泌量は、宮崎で育成した雄馬でも明らかに増加した。この事実は、宮崎と日高で育成した馬に対して、増加したプロラクチンが何らかの生理学的作用を有していることを示す結果である。本研究において被毛の変化を観察した結果から、日高で育成した雌雄馬と同様に、宮崎で育成した雌雄馬でも長日処理により冬毛の脱毛が進んでいることが明らかとなった。

内分泌の変化に関しては、長日処理でプロラクチン分泌の時期が早まり、分泌量も増加することが宮崎と日高のいずれの地域で育成した雌雄馬共に誘導される事実が明らかとなった。日高で育成した馬における長日処理の効果は、過去の研究と同様であった[42, 50]。プロラクチン分泌は、多くの動物で日照時間に比例して増加し、様々な生理作用を発揮する事実が報告されている[5, 6, 12, 16, 17, 24, 27]。プロラクチンの生理作用としては、冬毛の換毛と営巣行動の促進が報告されている[18-20, 58, 59]。プロラクチンのレセプターは、骨端の成長板に発現しており、プロラクチンは授乳中のラットの脛骨を伸長させることが報告されている[54]。また、プロラクチンは腸からのカルシウム吸収を促進させることが報告されている

[9, 10, 55]。さらに、プロラクチンは、副腎からの糖質コルチコイドの分泌を促進し[32-36]、免疫機能を増強させて胃潰瘍を予防する[2]などの作用があることから、近年ではアンチストレスホルモンとして注目を浴びている[56]。

プロラクチンの性腺機能に関しては、プロラクチンは、馬の卵巢機能に対して全身的および局所的な作用で卵巢機能に重要な生理学的役割を果たしていることが報告されている[37, 38, 51]。また、プロラクチンとドーパミンのレセプターが、馬の卵巢組織に存在することが報告されている[37-39]。さらに、プロラクチンは、プロラクチン自身のレセプター数を増加させ、ミンクの黄体細胞のLHレセプター数を増加させる作用が報告されている[21]。プロラクチンは、雄の生殖にも重要なホルモンであり、多くの動物において、ステロイドホルモンの生合成、生殖細胞形成、性行動などにおける作用が報告されている[3]。雄馬および去勢馬で、長日処理に血中プロラクチン濃度が上昇することが報告されている[16]。ヒト、クマおよびシカの精巣や副生殖腺でプロラクチンレセプターの発現が報告されている[28-31]。クマやゴールデンハムスターでは、繁殖期に精巣のプロラクチンレセプター数が増加することが報告されている[4, 30, 40]。これらの事実は、プロラクチンが動物の生殖腺や副生殖腺に重要な生理作用を有している事を示していると解釈されている。

IGF-1は、成長ホルモンにより分泌が促進され、身体の成長を促すホルモンである。主に肝臓から分泌される[15]。IGF-1は、体内での半減期が長く日内変動がないので、成長に関する内分泌状態を調べる良い指標である[8]。馬の精巣にIGF-1とIGF-1レセプの局在が認められることが報告されているが[60]、本研究では、長日処理によって、宮崎と日高のいずれで育成された馬においてもIGF-1の血中濃度に有意な変化は認められなかった。

本研究において、長日処理は、日高で育成した雌雄馬および宮崎で育成した雌馬で、下垂体からの2つの性腺刺激ホルモン(LHとFSH)の分泌を促進させることが明らかとなった。その結果として、日高で育成した雄馬では、長日処理によって精巣か

らのテストステロンとエストラジオール-17 β の分泌量が増加した。また、日高と宮崎で育成した雌馬では、卵巣からのエストラジオール-17 β とプロジェステロン分泌が増加した。

雌馬では、エストラジオール-17 β は成熟卵胞から分泌され、プロジェステロンは黄体から分泌される[44,46]。本研究では、長日処理によって雌馬の下垂体からLHとFSH分泌が促進され、このLHとFSHによって卵巣では卵胞の成熟が促進して、その結果として排卵時期が早まったと解釈された。また、雄馬では、分泌が増加したLHとFSHによって精巣のライディッヒ細胞とセルトリ細胞からテストステロンとエストラジオール-17 β の分泌が刺激され、結果として精子形成が促進されたと解釈された。本研究におけるホルモン測定の結果に基づくと、下垂体からの性腺刺激ホルモンの分泌は、雌雄ともに長日処理開始後約1ヶ月の1月後半から増加した。この結果から、視床下部-下垂体軸に対する長日処理の効果が発揮されるまでに約1ヶ月が必要であることが明らかとなった。自然光下で育成されている多くの雌馬では、発情と排卵は2歳の4月以降に起こる。したがって、本研究において、1歳の12月から行った長日処理は、繁殖雌馬と同様に育成馬においても、約2ヶ月早く排卵を誘発することが明らかとなった。

雄馬においては、精巣のライディッヒ細胞がテストステロンだけでなく大量のエストラジオール-17 β を分泌することが報告されている[47-49]。テストステロンは、雄馬の副生殖腺の成長を促し、精子形成を刺激する。また、テストステロンは、脂肪異化を促しトリグリセリドの蓄積を阻害する。結果的に、体脂肪の蓄積を減少させる[1]。テストステロンは、蛋白質同化作用を持っており、筋肉量を増加させる[22]。さらに、骨に直接作用してエストラジオール-17 β へと変換され、骨形成を促す[11,44,52]。エストラジオール-17 β は、雌馬の成熟卵胞の顆粒層細胞から分泌される[44,46]。エストラジオール-17 β は、発情を誘起し、子宮内膜の成長、子宮腺の発達、および子宮と膣の粘液分泌を促すことで受精・着床の準備を行うホルモンである。また、エストラジオール-17 β の骨への作用は、骨成熟を促し骨密度の増加を促進することが知ら

れている。エストラジオール-17 β は、脂肪代謝を高め、体脂肪蓄積を減少させる[13]。

本研究の結果を要約すると、日本で自然光の下で飼育されたサラブレッド1歳馬の成長は、寒冷的な気候の日高と比べて温暖な気候の宮崎で育成する方が優れていることが明らかとなった[45]。しかし、日高においても長日処理を実施して日照時間を延長した環境で育成することにより、成長、性成熟や冬毛の脱毛を促進することが可能である。また、宮崎においても長日処理を実施することにより、雌馬では、成長、性成熟や冬毛の脱毛を促進することが可能であることが明らかになった。長日処理を行った育成馬における、筋肉や脂肪、および心肺機能への影響については、今後さらなる研究が必要である。

謝辞

馬プロラクチン、LH、FSH、IGF-1測定用キットを提供して頂いたThe National Hormone and Pituitary Program, NIDDK, NIH, (Torrance, CA, USA)とDr. A. F. Parlow、プロジェステロン(GDN 337)、テストステロン(GDN 250)およびエストラジオール-17 β (GDN 244)の抗体を提供して頂いたDr. G. D. Niswender, Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory, Colorado State University (Fort Collins, CO, U.S.A.)に謝意を表す。また、論文作成に際してご協力を頂いた東京農工大学農学部獣医生理学研究室の藤井一希氏に謝意を表す。

参考文献

1. Arslanian, S., and Suprasongsin, C. 1997. Testosterone treatment in adolescents with delayed puberty: changes in body composition, protein, fat, and glucose metabolism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82: 3213-3220.
2. Asai, S., Ohta, R., Fujikawa, T., Sakai, R.R., Shirota, M., Ogata, M., Watanabe, G., and Taya, K. 2006. Gastric ulceration and expression of prolactin receptor in the brain in Hatano high- and low-avoidance rats.

- Endocrine 30: 161–166.
3. Bartke, A. 2004. Prolactin in the male: 25 years later. *J. Androl.* 25: 661–666.
 4. Bartke, A., Klemcke, H.G., Amador, A., and Van Sickle, M. 1982. Photoperiod and regulation of gonadotropin receptors. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 383: 122–134.
 5. Ben-Jonathan, N., LaPensee, C.R., and LaPensee, E.W. 2008. What can we learn from rodents about prolactin in humans? *Endocr. Rev.* 29: 1–41.
 6. Bernichtein, S., Touraine, P., and Goffin, V. 2010. New concepts in prolactin biology. *J. Endocrinol.* 206: 1–11.
 7. Burkhardt, J. 1947. Transition from anestrus in the mare and effects of artificial lighting. *J. Agric. Sci.* 37: 64–68.
 8. Champion, Z.J., Breier, B.H., Ewen, W.E., Tobin, T.T., and Casey, P.J. 2002. Blood plasma concentrations of insulinlike growth factor-I (IGF-I) in resting standardbred horses. *Vet. J.* 163: 45–50.
 9. Charoenphandhu, N., Nakkrasae, L.I., Kraidith, K., Teerapornpuntakit, J., Thongchote, K., Thongon, N., and Krishnamra, N. 2009. Two-step stimulation of intestinal Ca^{2+} absorption during lactation by long-term prolactin exposure and suckling-induced prolactin surge. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 297: E609–E619.
 10. Charoenphandhu, N., Wongdee, K., and Krishnamra, N. 2010. Is prolactin the cardinal calciotropic maternal hormone? *Trends Endocrinol. Metab.* 21: 395–401.
 11. Clarke, B.L., and Khosla, S. 2009. Androgens and bone. *Steroids* 74: 296–305.
 12. Curlewis, J.D. 1992. Seasonal prolactin secretion and its role in seasonal reproduction: a review. *Reprod. Fertil. Dev.* 4: 1–23.
 13. D'Eon, T.M., Sharoff, C., Chipkin, S.R., Grow, D., Ruby, B.C., and Braun, B. 2002. Regulation of exercise carbohydrate metabolism by estrogen and progesterone in women. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 283: E1046–E1055.
 14. Derar, R., Haramaki, S., Hoque, S., Hashizume, T., Osawa, T., Taya, K., Watanabe, G., and Miyake, Y. 2006. Immunoreactive Insulin-like growth factor in plasma during pre- and post-partum periods of thoroughbred mares from which the newborn were removed: its pattern, physiological function and relation to other hormones. *J. Equine Sci.* 17: 75–79.
 15. Le Roith, D., Bondy, C., Yakar, S., Liu, J.L., and Butler, A. 2001. The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr. Rev.* 22: 53–74.
 16. Dhakal, P., Tsunoda, N., Nakai, R., Kitaura, T., Harada, T., Ito, M., Nagaoka, K., Toishi, Y., Taniyama, H., Watanabe, G., and Taya, K. 2011. Annual changes in day-length, temperature, and circulating reproductive hormones in Thoroughbred stallions and geldings. *J. Equine Sci.* 22: 29–36.
 17. Dhakal, P., Hirama, A., Nambo, Y., Harada, T., Sato, F., Nagaoka, K., Watanabe, G., and Taya, K. 2012. Circulating pituitary and gonadal hormones in spring-born Thoroughbred fillies and colts from birth to puberty. *J. Reprod. Dev.* 58: 522–530.
 18. Donadeu, F.X., and Thompson, D.L. Jr. 2002. Administration of sulpiride to anovulatory mares in winter: effects on prolactin and gonadotropin concentrations, ovarian activity, ovulation and hair shedding. *Theriogenology* 57: 963–976.
 19. Thompson, D.L. Jr., and DePew, C.L. 1997. Prolactin, gonadotropin, and hair shedding responses to daily sulpiride administration in geldings in winter. *J. Anim. Sci.* 75: 1087–1091.
 20. Thompson, D.L. Jr., Hoffman, R., and DePew, C.L. 1997. Prolactin administration to seasonally anestrous mares: reproductive, metabolic, and hair-shedding responses. *J. Anim. Sci.* 75: 1092–1099.
 21. Douglas, D.A., Houde, A., Song, J.H., Farookhi,

- R., Concannon, P.W., and Murphy, B.D. 1998. Luteotropic hormone receptors in the ovary of the mink (*Mustela vison*) during delayed implantation and early-postimplantation gestation. *Biol. Reprod.* 59: 571–578.
22. Evans, N.A. 2004. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am. J. Sports Med.* 32: 534–542.
23. Freedman, L.J., Garcia, M.C., and Ginther, O.J. 1979. Influence of photoperiod and ovaries on seasonal reproductive activity in mares. *Biol. Reprod.* 20: 567–574.
24. Freeman, M.E., Kanyicska, B., Lerant, A., and Nagy, G. 2000. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol. Rev.* 80: 1523–1631.
25. Gay, V.L., and Kerlan, J.T. 1978. Serum LH and FSH following passive immunization against circulating testosterone in the intact male rat and in orchidectomized rats bearing subcutaneous silastic implants of testosterone. *Arch. Androl.* 1: 257–266.
26. Gibori, G., Antczak, E., and Rothchild, I. 1977. The role of estrogen in the regulation of luteal progesterone secretion in the rat after day 12 of pregnancy. *Endocrinology* 100: 123 1483–1495.
27. Goffin, V., Binart, N., Touraine, P., and Kelly, P.A. 2002. Prolactin: the new biology of an old hormone. *Annu. Rev. Physiol.* 64: 47–67.
28. Goffin, V., Hoang, D.T., Bogorad, R.L., and Nevalainen, M.T. 2011. Prolactin regulation of the prostate gland: a female player in a male game. *Nat. Rev. Urol.* 8: 597–607.
29. Hair, W.M., Gubbay, O., Jabbour, H.N., and Lincoln, G.A. 2002. Prolactin receptor expression in human testis and accessory tissues: localization and function. *Mol. Hum. Reprod.* 8: 606–611.
30. Howell-Skalla, L.A., Bunick, D., Nelson, R.A., and Bahr, J.M. 2000. Testicular recrudescence in the male black bear (*Ursus americanus*): changes in testicular luteinizing hormone-, follicle-stimulating hormone-, and prolactinreceptor ribonucleic acid abundance and dependency on prolactin. *Biol. Reprod.* 63: 440–447.
31. Jabbour, H.N., Clarke, L.A., McNeilly, A.S., Edery, M., and Kelly, P.A. 1998. Is prolactin a gonadotrophic hormone in red deer (*Cervus elaphus*)? Pattern of expression of the prolactin receptor gene in the testis and epididymis. *J. Mol. Endocrinol.* 20: 175–182.
32. Jaroenporn, S., Furuta, C., Nagaoka, K., Watanabe, G., and Taya, K. 2008. Comparative effects of prolactin versus ACTH, estradiol, progesterone, testosterone, and dihydrotestosterone on cortisol release and proliferation of the adrenocortical carcinoma cell line H295R. *Endocrine* 33: 205–209.
33. Jaroenporn, S., Nagaoka, K., Kasahara, C., Ohta, R., Watanabe, G., and Taya, K. 2007. Physiological roles of prolactin in the adrenocortical response to acute restraint stress. *Endocr. J.* 54: 703–711.
34. Jaroenporn, S., Nagaoka, K., Ohta, R., Watanabe, G., and Taya, K. 2007. Direct effects of prolactin on adrenal steroid release in male Hatano high-avoidance (HAA) rats may be mediated through Janus kinase 2 (Jak2) activity. *J. Reprod. Dev.* 53: 887–893.
35. Jaroenporn, S., Nagaoka, K., Ohta, R., Shirota, M., Watanabe, G., and Taya, K. 2009. Differences in adrenocortical secretory and gene expression responses to stimulation in vitro by ACTH or prolactin between high- and low-avoidance Hatano rats. *Stress* 12: 22–29.
36. Jaroenporn, S., Nagaoka, K., Ohta, R., Watanabe, G., and Taya, K. 2009. Prolactin induces phosphorylation of the STAT5 in adrenal glands of Hatano rats during stress. *Life Sci.* 85: 172–177.
37. King, S.S., Dille, E.A., Marlo, T., Roser, J.F., and Jones, K.L. 2010. Ovarian prolactin activity:

- evidence of local action and production. *Anim. Reprod. Sci.* 1215: S51–S53.
38. King, S.S., Oberhaus, C.M., Welsh, D.T., Heath, K.L., and Jones, K.L. 2014. Evidence for local neuroendocrine signaling in ovarian prolactin regulation. *J. Equine Vet. Sci.* 34: 107–108.
39. King, S.S., Roser, J.F., and Jones, K.L. 2008. Follicular fluid prolactin and the periovulatory prolactin surge in the mare. *J. Equine Vet. Sci.* 28: 468–472.
40. Klemcke, H.G., Bartke, A., and Borer, K.T. 1984. Regulation of testicular prolactin and luteinizing hormone receptors in golden hamsters. *Endocrinology* 114: 594–603.
41. Korenman, S.G., Stevens, R.H., Carpenter, L.A., Robb, M., Niswender, G.D., and Sherman, B.M. 1974. Estradiol radioimmunoassay without chromatography: procedure, validation and normal values. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38: 718–720.
42. Kunii, H., Nambo, Y., Okano, A., Matsui, A., Ishimaru, M., Asai, Y., Sato, F., Fujii, K., Nagaoka, K., Watanabe, G., and Taya, K. 2015. Effects of an extended photoperiod on gonadal function and condition of hair coats in Thoroughbred colts and fillies. *J. Equine Sci.* 26: 57–66.
43. Lemazurier, E., Toquet, M.P., Fortier, G., and S eralini, G.E.R. 2002. Sex steroids in serum of prepubertal male and female horses and correlation with bone characteristics. *Steroids* 67: 361–369.
44. Medan, M.S., Nambo, Y., Nagamine, N., Shinbo, H., Watanabe, G., Groome, N., and Taya, K. 2004. Plasma concentrations of ir-inhibin, inhibin A, inhibin pro- α C, FSH, and estradiol-17 β during estrous cycle in mares and their relationship with follicular growth. *Endocrine* 25: 7–14.
45. Mizukami, H., Suzuki, T., Nambo, Y., Ishimaru, M., Naito, H., Korosue, K., Akiyama, K., Miyata, K., Yamanobe, A., Nagaoka, K., Watanabe, G., and Taya, K. 2015. Comparison of growth and endocrine changes in Thoroughbred colts and fillies reared under different climate conditions. *J. Equine Sci.* 26: 49–56.
46. Nagamine, N., Nambo, Y., Nagata, S., Nagaoka, K., Tsunoda, N., Taniyama, H., Tanaka, Y., Tohei, A., Watanabe, G., and Taya, K. 1998. Inhibin secretion in the mare: localization of inhibin α , betaA, and betaB subunits in the ovary. *Biol. Reprod.* 59: 1392–1398.
47. Nagata, S., Miyake, Y.I., Nambo, Y., Nagamine, N., Watanabe, G., Tsunoda, N., Taniyama, H., Hondo, E., Yamada, J., and Taya, K. 1998. Inhibin secretion in the stallion. *Equine Vet. J.* 30: 98–103.
48. Nagata, S., Tsunoda, N., Nagamine, N., Tanaka, Y., Taniyama, H., Nambo, Y., Watanabe, G., and Taya, K. 1998. Testicular inhibin in the stallion: cellular source and seasonal changes in its secretion. *Biol. Reprod.* 59: 62–68.
49. Nagy, P., Guillaume, D., and Daels, P. 2000. Seasonality in mares. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61: 245–262.
50. Nambo, Y., Okano, A., Kunii, H., Harada, T., Dhakal, P., Matsui, A., Korosue, K., Yamanobe, A., Nagata, S., Wata124 T. SUZUKI, H. MIZUKAMI, Y. NAMBO ET AL. nabe, G., and Taya, K. 2010. Effect of extended photoperiod on reproductive endocrinology and body composition in Thoroughbred yearlings and weanlings. *Anim. Reprod. Sci.* 1215: 535–537.
51. Nequin, L.G., King, S.S., Jonson, A.L., Gow, G.M., and Ferreira-Dias, G.M. 1993. Prolactin may play a role in stimulating the equine ovary during the spring reproductive transition. *J. Equine Vet. Sci.* 13: 631–635.
52. Nicks, K.M., Fowler, T.W., and Gaddy, D. 2010. Reproductive hormones and bone. *Curr. Osteoporos. Rep.* 8: 60–67.
53. Nishikawa, Y. 1959. Studies on Reproduction in Horses. Singularity and Artificial Control in Reproductive Phenomena. Japanese Racing

- Association, Tokyo.
54. Suntornsaratoon, P., Wongdee, K., Krishnamra, N., and Charoenphandhu, N. 2010. Possible chondroregulatory role of prolactin on the tibial growth plate of lactating rats. *Histochem. Cell Biol.* 134: 483–491.
55. Suntornsaratoon, P., Wongdee, K., Goswami, S., Krishnamra, N., and Charoenphandhu, N. 2010. Bone modeling in bromocriptine-treated pregnant and lactating rats: possible osteoregulatory role of prolactin in lactation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 299: E426–E436.
56. Taya, K. 2011. Stress and prolactin. *Horm. Front. Gynecol.* 18: 275–283.
57. Taya, K., Watanabe, G., and Sasamoto, S. 1985. Radioimmunoassay for progesterone, testosterone and estradiol- 17β 125I-iodohistamine radioligands. *Jpn. J. Anim. Reprod.* 31: 186–197.
58. Thompson, D.L. Jr., and DePew, C.L. 1997. Prolactin, gonadotropin, and hair shedding responses to daily sulpiride administration in geldings in winter. *J. Anim. Sci.* 75: 1087–1091.
59. Thompson, D.L. Jr., Hoffman, R., and DePew, C.L. 1997. Prolactin administration to seasonally anestrous mares: reproductive, metabolic, and hair-shedding responses. *J. Anim. Sci.* 75: 1092–1099.
60. Yoon, M.J., Berger, T., and Roser, J.F. 2011. Localization of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-I receptor (IGF-IR) in equine testes. *Reprod. Domest. Anim.* 46: 221–228.