研究フロンティア

雌ウマの生殖内分泌学
―排卵時に認められるインヒビンサージの発現機構と生理学的意義―

南保　泰雄[1)]，渡辺　　元[2)]，田谷　一善[2)]

1）日本中央競馬会日高育成牧場生産育成研究室
2）東京農工大学農学部　獣医生理学研究室

はじめに

ウマは，典型的な長日性季節繁殖動物であり，雌ウマは春になると卵巣で卵胞が発育し，約22日周期で排卵を繰り返す．発情周期の長さは，ウシの21～22日，ブタの19～20日と比較して大差はないが，ウマの排卵前の卵胞は直径50mm にまで達し，ウシの12～19mm，ブタの８～12mm と比較して明らかに大きいという特徴を有している．また，ウマの卵巣は，他の哺乳類とは異なる形態的および機能的特徴を有している．本稿では，雌ウマにおける生殖内分泌学的特徴とウマの排卵時に観察されるインヒビンサージについて紹介する．

雌ウマの季節繁殖性と排卵

ウマは，典型的な長日性の季節繁殖動物であり，北半球では４～９月頃にウマの卵巣機能がもっとも発達する．繁殖期には，ウシと同様に，約３週間の発情周期が繰り返されるが，そのうち発情期間が約１週間続く特徴がある．３～４月頃には発情期間が延長し，６～８月には短縮し，秋になるとふたたび延長する［１］．この季節的な変化は，下垂体からの黄体形成ホルモン（LH）分泌が６～８月に最大となり，短期間で排卵を促進するためと考えられる．また，ウマの発情期間には４～９日と個体差があり，交配適期の選択を困難にさせる原因の１つとなっている．

競走馬生産において，交配頭数が増加する３～４月頃は，自然状態では非繁殖期から繁殖期への移行期に相当し，雌では無発情や鈍性発情，あるいは発情周期の延長などがしばしば認められる［２］．このような状況を改善するために，12月後半から100W 電球を馬房内に14.5時間点灯する長日処理法（ライトコントロール法）が有効であり［３］，卵胞発育および排卵を約1.5ヵ月早める有用な技術として定着している．

雌ウマの卵巣に関する繁殖特性

ウマ属の繁殖機構は，他の哺乳類とは異なる多くの繁殖生理学的および解剖学的特徴を有している．ウマの卵巣は，外側に髄質や血管帯が存在し，その周囲が中皮によって覆われており，卵巣皮質と髄質が逆転している［４］．そのため，成熟した卵細胞は排卵窩を通して卵胞液とともに外部に排卵される（図１）．サラブレッド種では，排卵直前には，卵胞が直径50mm まで大きさを増し，体重がウマとほぼ等しいウシのそれと比べても明らかに大きい．３次元によるウマ卵巣の内部解析では，排卵前に排卵窩に向かい扇状に変形した卵胞が観察され，排卵後には卵胞とほぼ同様の大きさの血液で満たされた出血体が形成される［5，6］．

サラブレッド種の２排卵率は，37.2%と非常に高く，排卵後13～16日における早期妊娠診断において16.2%に双胎妊娠が認められている［７］．軽種馬生産では，初回妊娠診断において双胎妊娠が認められた場合，用手破砕により減胎処置を実施する。これにより流産，難産のリスクを低下させる。２排卵の場合，両側の卵巣に１つずつ，あるいは片側卵巣に30～40mm 程度の卵胞が２つ並んで存在することがしばしば認められる．２排卵率は，泌乳馬＜空胎馬＜未経産馬の順で高くなる［４］．このような高率に起こる２排卵現象は，軽種馬生産業における排卵誘発剤の使用も多少関係していると考えられるが，他の動物に比べて長期間に及ぶ卵胞発育機構の違いや，後述する長時間にわたる黄体形成ホルモン（LH）分泌の作用によるものと推察されている．

雌ウマの発情周期中の血中ホルモン濃度変化

一般に哺乳類の雌では，卵巣顆粒層細胞からは，エス

連絡先：南保泰雄，日本中央競馬会日高育成牧場生産育成研究室
〒057-0171　北海道浦河郡浦河町字西舎535-13
TEL：0146-28-1211（代）
FAX：0146-28-2085（代）
E-mail：ynambo@center.equinst.go.jp

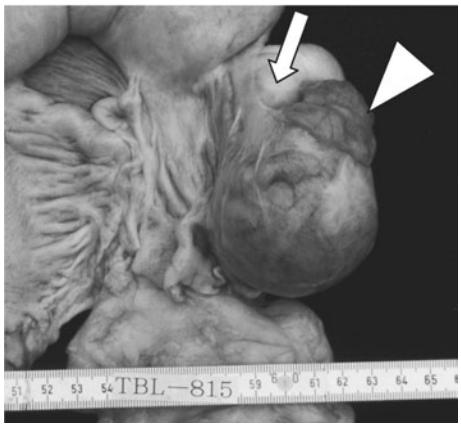

図１　ウマの卵巣80mm×50mm，卵巣には唯一卵胞液が排出される排卵窩（矢印，卵巣間膜で隠れている状態）が存在する．卵管采が裏返しになっている（矢頭）が，仮に排卵窩付近を覆ったとしても，卵巣に比べて明らかに小さい．

トラジオール-17βやインヒビンが分泌され，発情行動や外部生殖器の変化を導くとともに，視床下部や下垂体へ作用して下垂体前葉からの黄体形成ホルモン（LH）および卵胞刺激ホルモン（FSH）の分泌をコントロールしている．ヒトでは，排卵を誘発するために LH の一過性大量放出が起こり（LH サージ），約24～36時間後に排卵する．これに対して，ウマでは約１週間にも及ぶ血中 LH 濃度の緩やかな上昇が認められ，その上昇した血中 LH 濃度も，基底レベルの４～５倍程度しか上昇せず，他の哺乳類の10～50倍と比較して著しい相違がある（図２）．ウマの血中 LH 濃度は，排卵後１日まで上昇し，その後徐々に下降するウマ特有のパターンを示す（８～10）．このような長期間にわたるウマの LH サージの発現メカニズムについては，ほとんど不明のままである．

LH が主として排卵に重要な性腺刺激ホルモンであるのに対して，FSH は基底レベルの LH との相互作用により卵胞の発育を促進させる作用を有している．血中インヒビンとエストラジオール-17β 濃度は発情期に高く，逆に FSH 濃度は黄体期に高くなり，ともに明瞭な逆相関関係を示している（図２）．黄体期の高い FSH レベルは，10～15mm 程度の卵胞の発育を促し，インヒビンとエストラジオールの分泌を徐々に増加させる．インヒビンは，ネガティブフィードバックにより下垂体からの FSH 分泌を特異的に抑制し，低い FSH 濃度では発育が維持できない卵胞が次々と退行に向かい，基本的に１つまたは２つの主席卵胞のみが最終的な成熟過程へ発育する，と考えられている．

プロジェステロンは，排卵後に形成された黄体から分泌される主要な黄体ホルモンである．発情周期中の血中プロジェステロン濃度は，排卵後徐々に上昇し，７～８

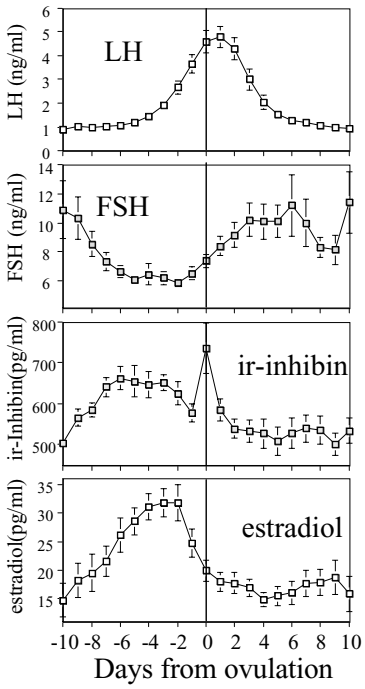

図２　雌ウマの発情周期中における血中 LH，FSH，インヒビンおよびエストラジオール濃度の変化［８］．インヒビンおよびエストラジオール濃度の変化はほぼ一致し，FSH 濃度と逆相関関係を示すが，排卵確認日（０日）に血中インヒビン濃度のみ上昇が認められる．

日で15ng/ml 程度のピークに達する．非妊娠馬では，排卵後約２週間程度で黄体退行とともに血中濃度が１ng/ml 以下に低下する．したがって，限られた繁殖期に効率的に交配を行う必要がある競走馬生産において，１週間に１度，血中プロジェステロン濃度を測定することは，黄体機能を診断し，発情周期を正確に把握する上で有用である［11］．

ウマにおける FSH 分泌および卵胞発育調節機構

雌ウマにおける FSH 分泌調節において，卵巣から分泌されるインヒビンとエストラジオール-17βのどちらが FSH 分泌抑制に対して優勢に作用するかについては不明のままであった．ウシにおいて，インヒビンとエストラジオール-17βの抗血清を発情期に投与すると，インヒビン抗血清を投与した際に血中 FSH 濃度の上昇が認められることから，FSH 分泌調節においてインヒビンは重要な役割を担っていることが知られている［12］．同様のインヒビン抗血清を雌ウマの発情前期（PG 投与による黄体退行処置後４日）に投与し，内因性のインヒビンを中和すると，FSH 分泌の亢進が起こり，多数の大型卵胞の発育および過剰排卵が起こる［13］．一方，エストラジオールの抗血清を同時期の雌ウマに投与しても，FSH 分泌，および排卵数に有意な変化は認められ

ない．さらに，卵胞液中の内分泌学的解析から，エストラジオールは主として大型卵胞から分泌されるのに対して，インヒビンは，10〜15mm 程度の小型卵胞からも相当量分泌されていることが判明した［14，15］．これらの結果から，雌ウマの発情周期中では，FSH とインヒビンが相互に刺激と抑制の関係を巧みに調節することにより，種固有の排卵数をコントロールする重要な因子であることが明らかとなった．

雌ウマの排卵時に認められるインヒビンサージおよび発現機構

ウマに特徴的な血中ホルモンの変化として，排卵時期に一致した血中インヒビン濃度の一過性の上昇が挙げられる［8，16–18］．血中インヒビン濃度の上昇は，排卵直後から排卵後12時間まで起こり，その後基底レベルに減じる（図 3）．この現象については，LH サージとほぼ同時期に起こるが，LH サージのように分泌細胞からの一過性放出である可能性は低く，ウマにおける「インヒビンサージ」として，その発現機構の解明を一貫して行ってきた．

生体から採取された排卵前の卵胞液の量は，46.4 ± 10.6ml と報告されており［19］，他の哺乳類の排卵直前の卵胞と比較して明らかに多い．理論上，直径が46mm の卵胞は，排卵時の卵胞液の量が約50ml と算出されるため，ウマの自然排卵時に50ml 程度の卵胞液が卵巣から排出される現象は，当然起こりうるものである．また，直径30mm を超える卵胞の卵胞液中インヒビン（トータルインヒビン；32k bovine inhibin に対するポリクローナル抗体による測定）の濃度は，約20,000ng/ml であり，発情期の血中のそれに比べて20,000倍以上高い［14,15］．さらに，Townson and Ginther［20］は，ウマの排卵時に卵胞液が卵巣内から消失する時間を超音波診断装置により観察し，およそ 2 分でほとんどの卵胞液が消失したことを報告している．このような背景から，ウマの大型卵胞の卵胞液が，排卵時に卵巣と卵管采の間をすり抜けて腹腔に漏出し，速やかに血中に吸収された結果，血中インヒビン濃度の上昇が起こることが仮説として浮かび上がってきた．

上記の仮説を証明する実験の 1 つとして，ウマ卵胞液50ml を黄体期にある雌ウマの腹腔内に投与すると，投与後 1 時間で血中インヒビン濃度の上昇が認められた［16，17］．血中エストラジオール濃度は，ほとんど上昇を示さないことが示され，この 2 つのホルモンの変化は自然排卵時および hCG によって誘発された排卵時における血中動態と類似することが明らかとなった［16,17］．また，同量の卵胞液を黄体期にある雌ウマの子宮内に投与しても，血中インヒビン濃度の上昇は起こらない．ゆえに，ウマでは自然排卵時に，卵胞から腹腔内に卵胞液のほとんどが漏出し，腹腔内で高濃度に存在するインヒビンが速やかに血流中に吸収され，血中インヒビン濃度の一過性上昇が認められることが示唆された．血中インヒビン濃度の上昇は，他の動物の LH サージに類似しているが，排卵直後に起こる現象であるため，排卵予知のマーカーとはならないが，むしろ「排卵時間の特定」として有用である．

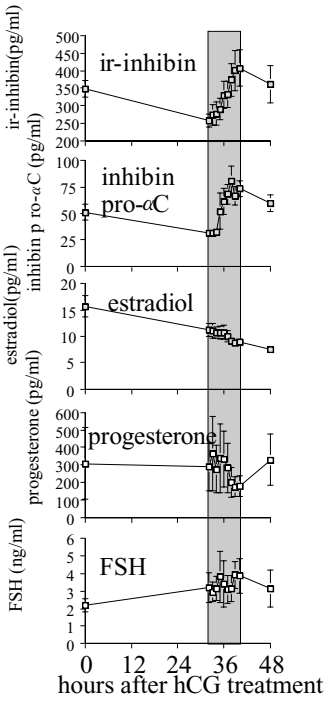

図 3　雌ウマの排卵前後における血中インヒビン，インヒビン pro–αC，エストラジオール，プロジェステロンおよび FSH 濃度の変化［18］．排卵が起こった数時間以内（hCG 投与後36時間付近）に，血中インヒビンおよびインヒビン pro–αC 濃度の上昇が認められる．一方，エストラジオールには明瞭な変化は認められない．

さらに，ウマの排卵時に卵胞液が腹腔に漏出していることを確定させる実験として，hCG により誘発した排卵直後の腹腔液を腹部正中線より採取した（図 4）．これらの腹腔液について，卵胞液中に含まれる各種ホルモン濃度を測定し，正常時の腹腔液の濃度と比較した．その結果，排卵直後の腹腔液中インヒビンおよびインヒビンの前駆物質であるインヒビン pro–αC 濃度が，他の時期と比較してそれぞれ50倍，200倍という予想を超えた高濃度であることが明らかとなった［18］．一方，排卵直後の腹腔液中エストラジオール濃度は，正常値と比較して 4 〜 5 倍の濃度が検出された．本来，大型卵胞液中エストラジオール濃度は，血液中の濃度より200,000倍

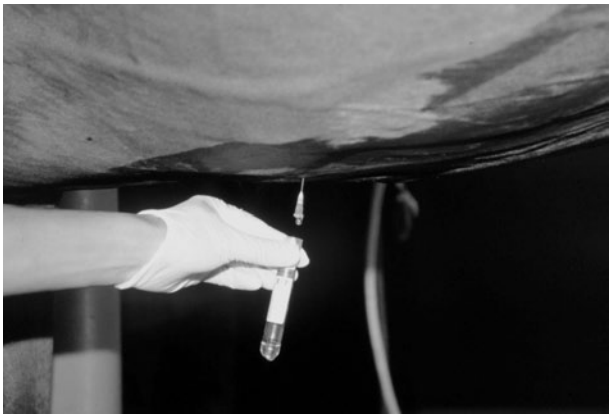

図4　ウマの腹壁正中線より腹腔液を採取している様子

以上高いため［14，15］，インヒビンと同じ濃度割合で腹腔内に検出されるとすると，正常時より500～2,000倍高いと予想される．にもかかわらず，腹腔液中からきわめて低い割合でエストラジオールが検出される結果となった．おそらく，エストラジオールのような脂溶性ホルモンは，腹腔内の脂肪組織に吸着することが関係していると推察できるが，その詳細については不明である．

これらの結果から，ウマでは排卵時に大量の卵胞液が腹腔へ漏出し，水溶性の高いインヒビンが脂肪組織に吸着することなく腹腔液中に高い濃度で検出されること，ついでインヒビンが全身血流へ再吸収されるために，血中濃度の一過性の上昇が認められることが示唆された．

ヒトの血中インヒビンAおよびインヒビンB濃度の変化，ならびに卵胞液量/体重比率

ウマに特徴的な排卵時期に一致した血中インヒビン濃度の一過性の上昇は，他の哺乳動物ではこれまで報告されていない．この現象は，はたしてウマのみに起こる特異的な現象であろうか？　サンドイッチエライザ法により，ヒトの月経周期中におけるインヒビンAおよびインヒビンBを測定したGroomeらの成績［21］を図5に示した．血中インヒビンB濃度は卵胞期に高く，インヒビンA濃度は黄体期に高い．これまでの報告をまとめると，ヒトでは他の動物と異なり，黄体もインヒビンを分泌することが知られており，黄体では主としてインヒビンAが，卵胞では主としてインヒビンBが分泌されると考えられる．血中インヒビンB濃度は，すでにエストラジオールが低下しているLHピークの翌日に高い値を示し，これはインヒビンBのピークと排卵日が重なっていることを示している．したがって，ヒトにおける排卵時期でのインヒビンB濃度の上昇は，卵巣

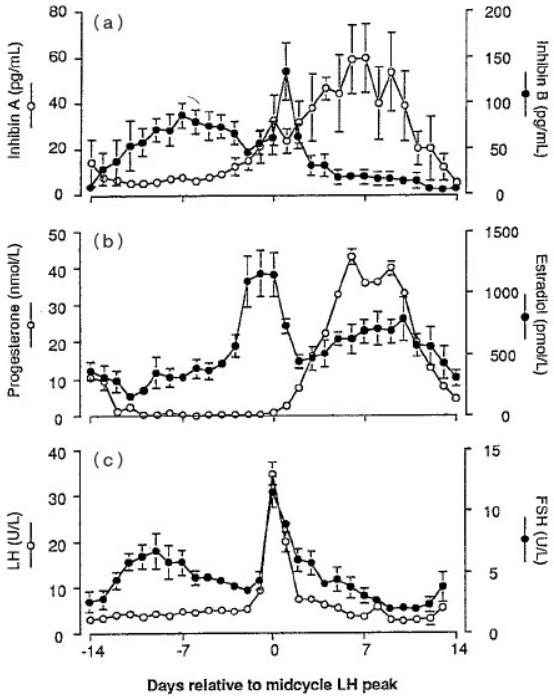

図5　ヒトの月経周期におけるインヒビンA，インヒビンB，プロジェステロン，エストラジオール，LHおよびFSH濃度の変化［21］より引用．血中インヒビンB濃度がLHサージの翌日にもっとも高く，エストラジオールと異なる変化を示している点が興味深い．

顆粒膜細胞からの分泌亢進を示すとは考えにくく，むしろ排卵によって腹腔に漏出あるいは卵管采内に排出された卵胞液が血中に再吸収された結果であると推察することができる．

次に，哺乳動物の卵胞液量/体重比率をウマを1として示した（表1）．ウマの排卵前の卵胞は，40～50mmに達し，家畜のなかでは大型である．排卵数が多いブタやイヌにおいても排卵数×卵胞液量を体重で割った値はウマより小さく，単排卵動物のウシにおける卵胞液量/体重比率においては，ウマの20分の1ときわめて少ない．一方，ヒトにおける排卵前の卵胞直径は20mmに達し，体重に比してかなり大きい．排卵前の卵胞直径は，500 kgのウシにおける12～19mmより大きく，ウマを上回る卵胞液量/体重比率（1.05）が算出される．

以上より，ヒトの排卵時においても，卵胞液中インヒビンの腹腔内から末梢血中への再吸収が起こる可能性が推察される．その他，サイの卵胞は，120mmにも達することが報告されており，体重2トンを見積もったとしても，卵胞液量/体重比率はウマの4倍と算出される．ヒトを含め，大型卵胞を有する動物種に固有の現象と考えられる排卵時の卵胞液の漏出は興味深い生殖生理現象であり，その生理学的役割の解明が必要と考えられる．

表１　哺乳動物の卵胞液量/体重比率（ウマを１とする）

	体重(Kg)	排卵卵胞直径(mm)	排卵数	総卵胞液量*/体重比率
ウマ(サラブレッド)	600	45	1	1
ウシ	500	16	1	0.05
ブタ	120	10	10	0.55
イヌ	10	3	8	0.17
ヒト	50	20	1	1.05

*総卵胞液量 $4\pi r^3/3$ ×排卵数（r＝半径）

おわりに

本稿では，雌ウマの生殖内分泌学的特徴と排卵時に起こる卵胞液の腹腔内への漏出現象について，内分泌学的に検索した成績を紹介した．大型の卵胞を有するウマにおいては，排卵時に卵胞液が腹腔に漏出し，腹腔を経由したインヒビンによるFSH分泌調節機構が存在すると考えられる．このような腹腔を経由するホルモンのフィードバック調節機構は，これまでの内分泌学では全く知られていない現象であり，ウマ以外の動物にも起こっている可能性がある．今後，大型の卵胞を有する動物についてさらに研究することにより，内分泌学のフィードバック調節機構に新たな概念が加わるものと考えられる．

文　献

1．Ginther OJ (1974) Occurrence of anoestrus, estrus, diestrus, and ovulation over a 12 month period in mares. Am J Vet Res 35, 1173-1179.
2．南保泰雄 (2002) 雌ウマの発情周期とその特性　臨床獣医「新しい家畜繁殖学」20, 133-140.
3．Nambo Y, Asai Y, Ito K, Okada S, Hashikura S, Gojo R, Iwata K (2006) Establishing a Methods of Using Light Control to Induce Ovulation during Early Transitional Period in Mare of Hokkaido. J Equine Sci 17, 94.
4．Ginther OJ (1992) Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied aspect, 2nd ed. Equiservices, Cross Plains, Wisconsin.
5．Kimura J, Yokota H, Tsukise A, Nambo Y, Higuchi T (2001) The application of three-dimentional internal structure microscopy in the observation of mare ovary. Anat Histol Embryol 30, 1-4.
6．Kimura J, Hirano Y, Takemoto S, Nambo Y, Ishinazaka T, Himeno R, Mishima T, Tsumagari S, Yokota H (2005) Three-dimensional reconstruction of the equine ovary. Anat Histol Embryol 34, 48-51.
7．Newcombe JR (1995) Incidence of multiple ovulation and multiple pregnancy in mares. Vet Rec 137, 121-123.
8．Nagamine N, Nambo Y, Nagata S, Nagaoka K, Tsunoda N, Taniyama H, Tanaka Y, Tohei A, Watanabe G, Taya K (1998) Inhibin secretion in the mare: localization of inhibin α, βA and βB subunits in the ovary. Biol Reprod 59, 1392-1398.
9．Miller KF, Berg SL, Sharp DC, Ginther OJ (1980) Concentrations of circulating gonadotropins during various reproductive states in mares. Biol Reprod 22, 744-750.
10．Whitmore HL, Wentworth BC, Ginther OJ (1973) Circulating concentrations of luteinizing hormone during estrous cycle of mares as determined by radioimmunoassay. Am J Vet Res 34, 631-636.
11．舘江弘明，南保泰雄，田中秀俊 (2006)，定期的なプロジェステロン濃度測定による効率的な繁殖牝馬の管理　日本産業動物獣医学会　北海道地区３学会　講演要旨.
12．Kaneko H, Nakanishi Y, Akagi S, Arai K, Taya K, Watanabe G, Sasamoto S, Hasegawa Y (1995) Immunoneutralization of inhibin and estradiol during the follicular phase of the estrous cycle in cows. Biol Reprod 53, 931-939.
13．Nambo Y, Kaneko H, Nagata S, Oikawa M, Yoshihara T, Nagamine N, Watanabe G, Taya K (1998) Effect of passive immunization against inhibin on FSH secretion, folliculogenesis and ovulation rate during the follicular phase of the estrous cycle in mares. Theriogenology 50, 545-557.
14．Nambo Y, Oikawa M, Yoshihara T, Kaneko H, Nagata S, Nagamine N, Tanaka Y, Watanabe G, Taya K (1997) Inhibin in the regulation of FSH secretion and folliculogenesis in mares. Proceeding of the 13th International Congress of Comparative Endocrinology pp. 503-508.
15．Tanaka Y, Nagamine N, Nambo Y, Nagata S, Nagaoka K, Tsunoda N, Taniyama H, Yoshihara T, Oikawa M, Watanabe G, Taya K (2000) Ovarian secretion of inhibin in maes. J Reprod Fert Suppl 56, 239-245.
16．Nagaoka K, Nambo Y, Nagamine N, Nagata S, Tanaka Y, Shimbo H, Tsunoda N, Taniyama H, Watanabe G, Groome NP, Taya K (1999) A selective increase in circulating inhibin and inhibin pro-αC at the time of ovulation in the mare. Am J Physiol 277, E870-875.
17．Nambo Y, Nagaoka K, Tanaka Y, Nagamine N, Shinbo H, Nagata S, Yoshihara T, Watanabe G, Groome NP, Taya T (2002) Mecahnisms responsible for increase in circulating inhibin levels at the time of ovulation in mares. Theriogenology 57, 1707-1717.
18．Nambo Y, Hasegawa T, Sato F, Oki H, Kusunose R, Nakai R, Nagata S, Watanabe G, Taya K (2002) The release of follicular fluid into the peritoneal cavity during ovulation in mares. Theriogenology 58, 545-548.
19．Hinrichs K, Rand WM, Palmer E (1991) Effect of aspiration of the preovulatory follicles on luteinization, corpus luteum function, and peripheral plasma gonadotropin concentrations in the mare. Biol Reprod 44, 292-298.
20．Townson DH, Ginther OJ (1989) Ultrasonic characterization of follicular evacuation during ovulation and fate of the discharged follicular fluid in mares. Anim Reprod Sci 20, 131-141.
21．Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien PR, Rodger FE, Mather JP, McNeilly AS (1996) Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. J Clin Endcrionol Metab 81, 1401-1405.