

## Effect of Sodium Pentobarbital on the Number of Ova Shed in Superovulation Treated Adult Rats : Relationship between the Number of Ova Shed and Dose of GTHs

Satosi KAGABU

Department of Veterinary Reproduction, Faculty of Agriculture,  
Yamaguchi University, 1677-1 Yoshida, Yamaguchi,  
Yamaguchi Pref. 753, Japan

(Received 18 January 1984 / Accepted 26 June 1984)

A new treatment for inducing superovulation in adult rats was examined. Virgin Wistar-Imamichi rats at 11 weeks of age were pretreated with PMSG on the metestrus day. Then, the animals were anesthetized with sodium pentobarbital on the expected estrus day. The maximum number of ova shed in the animals thus treated was 100 with a combination of 40 I. U. of PMSG and hCG. If the treatment with sodium pentobarbital was omitted, the maximum number remained at 43 with different combinations of PMSG and hCG dosages.

### 成熟ラットにおける過排卵処理後の排卵数におよぼす ペントバルビタール・ソディウムの影響, とくに性腺刺激ホルモン量と排卵数

利部 聰

山口大学農学部家畜臨床繁殖学教室

実験に用いられる卵は多くのばあい過排卵処理によって得られる。現在ひろく行われている処理法は PMSG (FSH)・hCG (LH) の投与によっているが、著者はペントバルビタール・ソディウム (PB) を投与することにより排卵数が飛躍的に増加することを明らかにした [8]。動物を過排卵処理するばあい、できるだけ多くの卵を得ること、そして投与ホルモン量は少量であることが望ましい。本報告は PB を併用した過排卵処理法を確立するために、性腺刺激ホルモン量を種々かえたときの排卵数をしらべたものである。

#### 材料および方法

実験にはウイスター・イマミチ系ラットを使用し、人

工昼夜 (07:00~21:00 照明) 下で飼育した正常な 4 日型発情周期を 2 回以上繰返した 11 週齢のものを用いた。

過排卵処理は従来の方法として、発情後期日の 11:00 時に PMSG (セロトロピン, 帝国臓器) を 10~100 iu, 発情前期予定日の 17:00 時に hCG (ゴナトロピン, 帝国臓器) を同 iu 筋肉内注射した。また、PB 法として PMSG を同様に投与し、発情前期予定日の 14:00 時に PB (ネンブタール, アボットラボラトリー) の 4mg/100g 体重を腹腔内注射、発情期予定日の 17:00 時に hCG を投与する方法を用いた。hCG 投与後 23 時間で屠殺し、卵管内からの採卵数を排卵数とみなした。対照として性腺刺激ホルモン、PB のかわりに生理的食塩液を投与したラットをあてた。

供試頭数は各5頭、実験成績の有意差検定は F-検定によった。

### 成績

実験の成績を Fig. 1 に示した。

PB 法と従来の方法との排卵数は、性腺刺激ホルモンが10~20iu の範囲では両者間に差はないが、30iu 以上では前者が多くなった ( $p < 0.05 \sim 0.01$ )。

PB法による排卵数は、40iu投与において $101.3 \pm 10.7$  (平均値±標準誤差)で最大となったが、投与量の増大により減少した ( $p < 0.05$ )。

一方、従来の方法における排卵数の最高は 50iu 投与の $42.7 \pm 6.1$ であった。

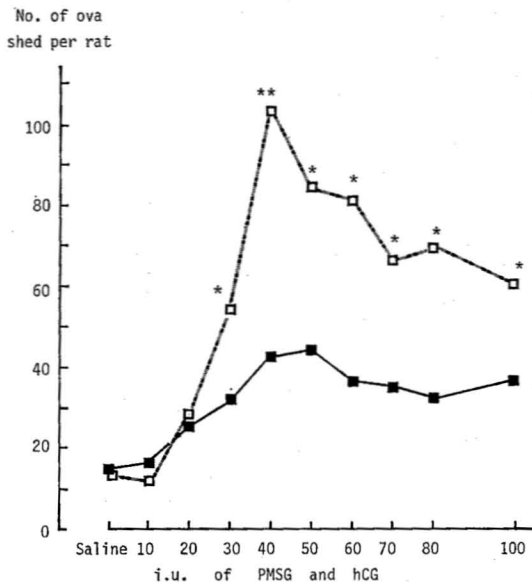


Fig. 1. Effect of pentobarbital sodium on the number of ova shed in superovulation-treated adult rats. ■; PMSG was injected i. m. at 11:00 h on the day of metestrus and hCG was injected i. m. at 17:00 h on the day of proestrus. □; PMSG was injected i. m. at 11:00 h on the day of metestrus, pentobarbital sodium (4 mg/100 g of B. W.) was injected i. p. at 14:00 h on the day of proestrus and hCG was injected i. m. at 17:00 h on the day of estrus. Tubal ova were counted 23 h after hCG injection. Each group consisted of 5 rats. \* and \*\* indicate significant differences at  $p < 0.05$  and  $0.01$ , respectively.

### 考察

PB 法と従来の方法を比較するにあたり、過排卵処理後の排卵数はラットの齢により異なる [7, 9, 14] こと、そして10週齢のように変異の大きい週齢がある [9] ことこの理由により本実験では11週齢のものだけを用いた。

以上の条件下での本実験の成績は、PMSG・hCG が 10, 20iu では、両者間に差はないが、30iu 以上では PB 法による排卵数が多かった。

PBを併用することで排卵数が増加したのは、PMSGによって卵胞発育上の“臨界点” [4] を通過し、排卵に至ると考えられる [4, 10] 卵胞は、従来の方法における hCG 投与時期、すなわち発情前期予定日に最も多くなるのではなく、翌日の発情期予定日に最高となる [8]。しかし、発情期予定日に hCG を投与しても LH 放出後 [11] なので、卵胞の LH 受容体が減少すると推測 [13] でき、このために排卵数は増加しないと考える。

一方、PB で LH 放出を抑制 [11] すると、卵胞上の LH 受容体が減少せずに発情期予定日まで hCG に対する反応性を持続する結果、排卵数が増加したものと考えられることができる。

PMSG・hCG をそれぞれ 40iu 投与し、その中間に PB を投与すると排卵数は約 100 となり、PB は排卵数の増加に対して有効であった。Husain [5] は、エストラジオール $17-\beta$  を 7 日間投与した後 PMSG・hCG を投与することにより 2 倍の排卵数をえている。過排卵処理を行うばあい、方法は簡便であることが望ましいが、この点 PB 法がすぐれている。

受精卵を得るばあい排卵数が多くなると、発生段階のばらつきが大きくなる [10] ので、今後この点を検討しなければならない。また、PB の卵に対する直接的影響、卵の過熟 [1, 2, 3] 等の問題も残されている。これらの点も検討しなければならない。

### 要約

成熟ラットにおけるペントバルビタール・ソディウムを併用した過排卵処理法 (PB 法) を検討するために、PMSG・hCG の投与量を種々かえて排卵数を調べ、従来ひろく行われている PMSG・hCG のみの方法と比較した。PB 法は、PMSG を発情後期日に投与し、発情前期予定日にペントバルビタール・ソディウムを投与、

発情期予定日に hCG を投与することにより行った。一方、従来の方法では PMSG を同様に投与し、発情前期予定日に hCG を投与した。

PB 法による排卵数は PMSG・hCG の投与量に比例して増加し、40iu で最大(約100)となった。一方、従来の方法における排卵数は50iuで最大(約43)となった。

以上の結果から、過排卵処理における PB の併用は排卵数の増加に対し有効であることが判明した。

#### 文 献

- [1] Butcher, R. L., Blue, J. D., Fugo, B. D., and Fugo, N. W. (1969). Overripeness and the mammalian ova III. Fetal development at midgestation and at term. *Fertil. Steril.*, **20**, 223-231.
- [2] Butcher, R. L., and Fugo, N. W. (1967). Overripeness and the mammalian ova II. Delayed ovulation and chromosome anomalies. *Fertil. Steril.*, **18**, 297-302.
- [3] Fugo, N. W., and Butcher, R. L. (1966). Overripeness and the mammalian ova I. Overripeness and early embryonic development. *Fertil. Steril.*, **17**, 804-814.
- [4] Hershfield, A. N., and Midgley A. R. Jr. (1978). Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biol. Reprod.*, **19**, 597-605.
- [5] Husain, S. M. (1969). Facilitation of gonadotrophin-induced ovulation in adult rats by estrogens. *Rev. Can. Biol.*, **18**, 137-138.
- [6] 石橋 功(1967). 過排卵ラット卵子の形態的研究 I. 性腺刺激ホルモン投与後の成熟ラットの排卵数について. *家畜繁殖誌*, **12**, 127-133.
- [7] 石島芳郎・藤本秀典(1977). 成熟ラット (Sprague-Dawley系) の過排卵に及ぼす日齢の影響. *畜産の研究*, **31**, 1126.
- [8] 利部 聰(1983). 成熟ラットにおける PMSG 投与後の大型卵胞の消長ならびに過排卵処理後の排卵数におよぼすペントバルビタールの影響. *家畜繁殖誌*, **29**, 20-23.
- [9] 利部 聰 (1983). ラット卵胞数と過排卵処理後の排卵数との関連性の定量形態学的研究. *日不妊会誌*, **28**, 505-507.
- [10] 利部 聰(1984). 過排卵処理した成熟ラットにおける卵胞発育上の“臨界点”について. *日不妊会誌*, **29**, 126-129.
- [11] 利部 聰・梅津元昭(1984). PMSG 投与成熟ラットにおけるペントバルビタール処理による LH 放出の抑制. *日不妊会誌*, **29**, 7-10.
- [12] Ohnuma, H., Hahn, J., and Foote, R. H. (1970). Factors affecting superovulation, fertilization and recovery of superovulated ova in prepuberal cattle. *J. Reprod. Fertil.*, **21**, 119-126.
- [13] Richards, J. S., Ireland, J. J., Rao, M. C., Bernath, G. A., Midgley A. R. Jr., and Reichert L. E. Jr. (1976). Ovarian follicular development in the rat: Hormone receptor regulation by estradiol, follicle stimulating hormone and luteinizing hormone. *Endocrinology*, **99**, 1562-1570.
- [14] Zarrow, M. X., and Wilson, E. D. (1961). The influence of age on superovulation in the immature rat and mouse. *Endocrinology*, **69**, 851-855.