

Influences of Body Weight and Population Density on the Number of Ova Shed in the Superovulation-treated Adult Rat

Satosi KAGABU

Laboratory of Veterinary Reproduction, Faculty of Agriculture, Yamaguchi
University, Yamaguchi-shi, Yoshida, 753, Japan.

(Received 15 October 1985/Accepted 14 January 1986)

The effects of body weight and population density on the number of ova shed were examined in the superovulation-treated adult rat in order to clarify the variation of the number of ova shed. Twelve-week-old female rats, weighing 182-277 g, were injected with 40 i. u. of PMSG on metestrus, with sodium pentobarbital on diestrus ("critical period"), and with 40 i. u. of hCG, on estrus. Twenty hours after the injection, the number of ova shed in an ampulla was observed. There was no correlation between body weight and the number of ova shed ($r=0.004$). The rats were kept in at three, six or nine rats per cage (260×380×180mm) from weaning at 30 days old to 12 weeks, with superovulation treatment. There was no significant difference in the number of ova shed among the various population densities.

成熟ラットの過排卵誘起処理後の排卵数に およぼすラットの体重と飼育密度の影響

利部 聡

山口大学農学部家畜臨床繁殖学教室

バイオサイエンス、遺伝子工学、細胞工学、発生工学などが新しい研究分野として開拓され、研究対象も微生物にとどまらず、哺乳動物の卵子にも拡がり、過排卵誘起処理法は新研究分野の実験材料を提供するための重要な手技の一つとなっている。

過排卵誘起処理における問題点として、排卵数を増加させなければならないことおよびその排卵数が安定して得られないことなどがあげられる。すなわち、同じホルモン処理法を用いたにもかかわらず、予想以上に排卵数が少ないため、高度の実験手技を持ちながら肝心の卵子が十分に入手できないおそれがあり[11]、排卵数に安定性を欠くことが問題視されている。本研究では処理段階

に基づく要因として体重および飼育密度の変異を取り上げ、これらの要因が排卵数に及ぼす影響性を調べた。

材料と方法

実験1. 排卵数に及ぼす体重の影響

1) 動物: Wistar 今道系を基礎として当教室で閉鎖方式により繁殖した成熟未経産ラットを用いた。過排卵誘起後にみられる排卵数は成熟後でも週齢によって異なること[4, 6]、および変異の大きい週齢のあることが報告されており[6]、これを避ける意味から実験には処理開始時点で12週齢に達した個体を用いた。これらの動物は

室温を $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、14時間：明/10時間：暗に制御した人工照明室で飼育した。発情周期を調べるための腔垢採取は1日1回とし、飼料、飲水の供給、掃除などの作業も含め同一人物が1日約1.5時間飼育室に入った。これは、実験者の訪問回数によって、FSH投与後の卵巢重量が変化する[1]ので、これを避けるための処置である。

ラットは生後30日で離乳し、1ケージ当り6頭の雌が入るように調整し、過排卵誘起処理まで飼育した。なおケージは縦、横、高さがそれぞれ260mm、380mm、180mmの金網製ラット用(ラットブラケットケージCL-0402-2、日本クレア)である。

飼料、飲水とも自由に摂取できるようにした。

2) 過排卵誘起処理：4日型発情周期を2回以上繰り返したラットの発情後期の09:00時(暗期の中心を00:00時とする、以下同様)に妊馬血清性腺刺激ホルモン(PMSG、セロトロピン、帝国臓器製薬、100i.u./ml.生理食塩液)40i.u.を筋肉内注射し、次いで発情前期の12:00時にペントバルビタール塩(ネプタール、アボット)を4mg/100g体重、腹腔内注射した。発情期の15:00時にヒト絨毛性性腺刺激ホルモン(hCG、ゴナトロピン、帝国臓器製薬、100i.u./ml.生理食塩液)40i.u.を筋肉内注射し、20時間後の発情後期の13:00時に卵管膨大部から卵子を採取し計測して排卵数とみなした。性腺刺激ホルモン、ペントバルビタール塩とも同一ロットを用いた[5]。

なお、ここで言う体重とはPMSG投与時の体重である。例数は40頭である。また繁殖に関する諸事項は季節によって影響されるので[10]、過排卵誘起処理は10日間で終了した。

実験2. 排卵数におよぼす飼育密度の影響

1) 動物：生後30日の離乳時からラットを同一仕様のケージ(実験1参照)に3、6、9頭ずつ同居させ飼育密度を変えた。過排卵誘起処理時まで飼育し、飼料、入室回数等は実験1と同様である。

2) 過排卵誘起処理：実験1と同様に行った。実験は3回の繰返しで行い、F-検定により有意差検定を行った。

成 績

実験1の結果をFig. 1に示した。本実験で用いたラットの体重は182~277gの範囲にあり、平均は234.2gであった。体重と排卵数との相関係数は $r=0.004$ であった。

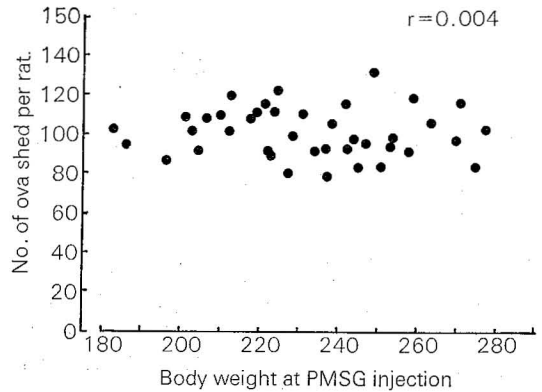


Fig. 1. Effect of body weight on number of ova shed in superovulation treated adult rat.

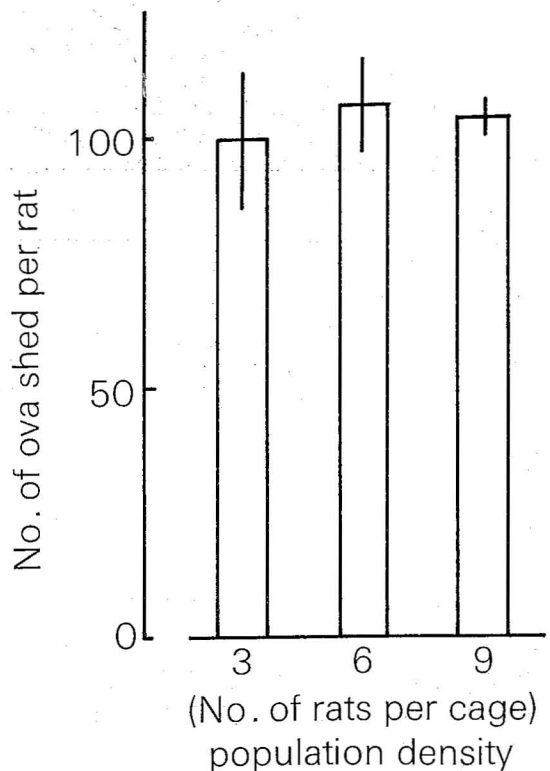


Fig. 2. Effect of population density on number of ova shed in superovulation adult rat.

実験2の結果をFig. 2に示した。低飼育密度(3頭/ケージ)の排卵数は99.8、中密度(6頭/ケージ)、109.1、高密度(9頭/ケージ)106.3であり、飼育密度の間に有

意な差は認められなかった。

考 察

過排卵誘起処理後の排卵数は個体変異が大きく、処理法を確立するうえで未解決の問題点として残されている。系統、週齢、体重を齊一にしても排卵数に大きな変異が認められ、時として卵子が得られないこともある[12]。

卵巣の諸機能に対しては、光、温度、湿度、におい、交配、栄養、標高、社会的刺激などの動物をとりまくものすべてが影響している[7, 8]。また、ラットのケージへの入れ替え回数、実験者の訪問回数も卵巣の卵胞刺激ホルモンに対する反応性に变化をもたらす[1]、実験に伴う作業そのものも影響をおよぼしていると考えられる。

過排卵誘起処理を行うに当たり、一般に動物の系統、週齢、ホルモンのロット番号、ホルモンの投与方法を齊一にするとともに、栄養の摂取不足は卵胞数を減少させる[3]ので、つねに飼料箱には餌があるように補給する。しかし、これらの諸条件を均一にしてもケージ内の動物の頭数を常に一定にしたり、体重をそろえるのは容易でない。そこで本研究は、排卵数の変異解明のために、飼育密度および体重が過排卵誘起処理後の排卵数に対してどのように影響するかを調べた。

その結果、体重と排卵数の相関係数は0.004で、両者間に有意な相関関係は存在しないことが明らかとなった。排卵数の多少はPMSGに反応する卵胞の数によってほぼ規定されるものと予測される。過排卵誘起処理でのPMSG投与時期における卵胞数と体重との相関係数は0.01(利部, 未発表)で、本実験の成績は、この卵胞数と体重との関係を反映しているものと考えられる。

飼育密度と排卵数の間に、一定の関係は認められなかった。9~12週齢のラットの1頭当たりの必要面積は150cm²である[2]。本実験の条件についてみると、1ケージに6頭同居させた場合165cm²/ラットで、必要面積にはほぼ近い条件となっている。また、標準の1.5倍のラットを同居させた9頭/ケージ区、標準の0.5倍の3頭/ケージ区、標準に近い6頭/ケージ区のいずれの排卵数にも有意差は認められなかった。

飼料が無制限にあっても、面積当たりの頭数がふえると個体間に激しい闘争が生じ、卵巣機能に係る妊娠率、出生率が減少することも知られている[9]。このことは、高密度のケージに個体間に激しい闘争があり栄養

摂取量が不足していたことも考えられ、さらに検討を必要としよう。

以上により、本実験の条件下では、体重、飼育密度両要因ともに過排卵誘起処理後の排卵数に直接影響しないことが明らかとなった。

要 約

過排卵誘起処理後のラットの排卵数の変異は大きく、未解決の問題点として残されている。本実験は、排卵数の変異の解析を目的として、ラットの体重および飼育密度の排卵数におよぼす影響について調べた。その結果、これらのつの要因はいずれも排卵数に対して直接影響しないことが明らかとなった。

文 献

- [1] Chance, M. R. A. (1956). Environmental factors influencing gonadotrophin assay in the rat. *Nature*, **177**, 228-229.
- [2] 江崎孝三郎 (1978). 実験動物, マウス・ラット・ハムスター・モルモット・ウサギ. 畜産大事典, 1305, 内藤元男監修, 養賢堂, 東京.
- [3] Huseby, R. A., and Ball, Z. B. (1945). A study of the genesis of histological changes produced by caloric restriction in portions of the endocrine and reproductive systems of strain a female mice. *Anat. Rec.*, **92**, 135-155.
- [4] 石島芳郎・藤本秀典 (1977). 成熟ラット (Sprague-Dowley 系) の過排卵に及ぼす日齢の影響. 畜産の研究, **31**, 1126.
- [5] 利部聡 (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**, 20-33.
- [6] 利部聡 (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. 日本妊会誌, **28**, 505-507.
- [7] Lethem, J. H. (1961). Nutrition effects on endocrine secretions. In *Sex and Internal Secretions* Young, pp. 666-704, W. C. (edit.), 3rd ed., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland.
- [8] Moustgard, J. (1969). Nutritional influences upon reproduction. In *Reproduction in Domestic Animals* pp. 489-516, Cole, H. H. and Cupps, P. T., (edit.), 2nd ed., Academic Press, New York.
- [9] Southwick, C. H. (1955). The population dynamics of confined house and mouse supplied with unlimited food. *Ecology*, **36**, 212-225.
- [10] 竹内三郎・清水寛一・佐久間勇次・佐藤匡美 (1960). 妊馬血清処理によるウサギの過排卵に及ぼす黄体ホルモン前処理の効果について. 家畜繁殖誌, **6**, 4-6.
- [11] 豊田裕 (1981). 実験小動物における性周期と排卵, 「哺乳動物の初期発生」, 123-136, 理工学社, 東京.
- [12] Welschen, R. (1973). Amounts of gonadotrophins required for normal follicular growth in hypophysectomized adult rats. *Acta endocrinol.*, **72**, 137-155.