

成熟ラットの卵子下降に及ぼす HCG 投与の影響

利部 聰・石橋 功

(千葉大学園芸学部)

性腺刺激ホルモンを投与して、過剰妊娠をひき起こす試みは、成熟ラットでも行われているが、その報告は比較的少なく、かつマウスや未成熟ラットの場合とはその傾向を異にしている¹⁾。一方、性腺刺激ホルモンを投与することによって、卵子下降が促進されるとの報告が牛^{2,3)}、豚⁴⁾、羊⁵⁾、家兎⁶⁻⁸⁾でなされ、また信永⁹⁾はラットの HCG 投与による誘起排卵および estradiol の投与によって卵子下降が促進される傾向を指摘し、YANG & CHANG¹⁰⁾ は交配後のラットに HCG を3日間連続投与した場合に、卵子下降が僅かに早まることを報告している。これらの報告の多くは種々の目的のために PMS の単一投与、あるいは PMS・HCG による過排卵誘起を行った場合におけるものであり、卵子下降そのものについて検討されたものではない。著者らは成熟ラットの過排卵処置後におこる着床困難¹⁾の主なる原因が、卵子下降の異常によるのではないかと考え、種々の量の HCG を投与して、その後の卵子の下降状態を経時的に検討した。

材料および方法

1. 動物

供試したラットは、Wistar-Imamichi strain を基礎として当学部で繁殖したものであり、人工昼夜の条件下(午前1時から午前11時までの10時間を暗くする)で、固型飼料(ラボ MR ブリーダー用、日本農産工業製)を給与して飼育した。正確な4日性周期を2回以上繰返した生後2.5~3.5カ月齢、体重おおむね200~250g (227.1±27.2g)のもの、計670匹である。

2. ホルモン処置および交配

産垢像Ⅲ期の日の午前9時を排卵予定時刻とし、その12時間前(Ⅰ期の日の午後9時)に10~80 i.u. の HCG (ゴナトロピン、帝国臓器製薬製)を内股部筋肉内に処

Effect of HCG treatment on the transport of ova in adult rats.

KAGABU, Satoshi & Isao ISHIBASHI (Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo 271).

Japan. J. Anim. Reprod. 23 (4), 1977.

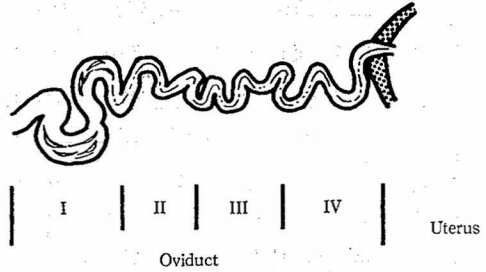


Fig. 1. Segments of the oviduct.

置した。交配はⅢ期の日の午前9時(排卵時)に行い、受精の有無は産垢又は精子の存在および下降状態観察後の卵子の顕微鏡検査によって確認した。

3. 観察

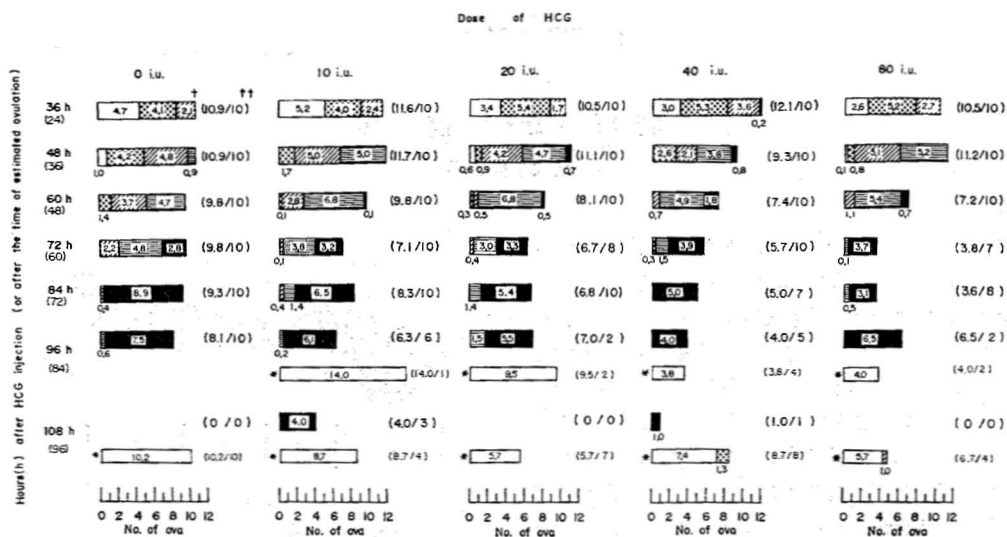
ラットは HCG 投与後 36, 48, 60, 72, 78, 84, 90, 96, 108 時間で屠殺し、HUMPHREY¹¹⁾ がマウスで用いた方法に準拠して観察した。すなわち、卵管を伸ばし、2枚のスライドガラスの間にはさんで軽くおさえ、実体顕微鏡下で卵子の存在部位 (Fig. 1) と数を調べた。子宮内卵子は生理食塩液でかん流して採取した。

結果および考察

1. 未受精卵子の場合

結果は Fig. 2 に示した。すなわち、HCG 投与後 36 時間(排卵後 24 時間に相当、以下同様)の観察では、HCG 40 i.u. を除く各区とも卵管の部位 I, II, III (40 i.u. は IV にも僅か) に存在した。排卵後 36 時間の無処置では II と III にほぼ等しい数(4.2個と4.8個)の卵子が存在するが、この時間の HCG 投与区では多くの卵子が卵管狭部である III~IV に移行し、HCG 20, 40 i.u. 区では僅か(0.7~0.8 個)ながら子宮からも採取された。

HCG 注射後 60 (48) 時間に至れば、大部分の卵子は部位 IV にあるが、若干の卵子は子宮へ移行する。これに対し、無処置では部位 III, IV に多く、II にも存在した。HCG 注射後 72 (60) 時間では、無処置、HCG 処置とも子宮内卵子の数が増加するが、HCG 処置のものでは卵子数が減少すると共に卵子の存在しない個体もあ



† □ segment I (ampulla), ▨ II (isthmus), ▩ III (isthmus), ▪ IV (isthmus), ■ uterus.
 †† Ten rats were used in each group. The figures in parentheses indicate the number of ova per rat/the number of rats with ova.
 * Number of ova derived from the subsequent ovulation.

Fig. 2. Transport of unfertilized ova in adult rats treated with various doses of HCG.

た。すなわち、10, 20, 40, 80 i.u. 区で、それぞれ 7.1, 6.7, 5.7, 3.8 個であり、HCG 投与量の増加に伴って卵子数が減少すると共に、卵子の存在しない個体 (HCG 20 および 80 i.u. 区で 2 匹および 3 匹) も観察された。

さらに、HCG 投与後 84 (72) 時間では、無処置および HCG 処置の各区とも大部分の卵子は子宮内で観察されるが、40 i.u. および 80 i.u. 区では 3/10 匹、2/10 匹に卵子が存在しなかった。そして HCG 10, 20, 40 および 80 i.u. 区の卵子数は 8.3, 6.8, 5.0, 3.6 個であり、HCG 投与量の増加に伴って減少した。HCG 投与後 96 (84) 時間においては、84 (72) 時間と同様の傾向を示すが、卵子の存在する動物数が少なくなる (10 匹中 2~6 匹) と共に、若干の個体 (10 匹中 1~4 匹) においては、次期排卵卵子が観察された。これに対し、無処置では全例に平均 8.1 個の子宮内卵子が得られた。HCG 注射後 108 (96) 時間に至れば、無処置では卵子は子宮内に存在せず、全例に平均 10.2 個の次期排卵卵子が観察されるが、HCG 10 i.u. および 40 i.u. 区においては、3/10 および 1/10 匹から僅かながら子宮内卵子が採卵され、次期排卵卵子は観察される個体とされない個体があった。すなわち、HCG 10, 20, 40 および 80 i.u. 投与の場合において、それぞれ 10 匹中 4 匹 (8.7 個)、7 匹 (5.7 個)、8 匹 (8.7 個) および 4 匹 (6.7 個) に

次期排卵卵子が観察された。

以上のように、無処置ラットでは HCG 注射後 36 時間に相当する排卵後 24 時間では、多くの卵子は卵管の部位 I~II にあり、36 および 48 時間では II~III および III~IV に移動する。排卵後 60 時間に至れば半数 (9.8 個のうち 4.8 個) は部位 IV にあるが、一部 (2.8/9.8 個) は子宮内に見出され、72~84 時間ではほとんどの卵子は子宮内にある。そして 96 時間では子宮から消失すると共に次期排卵卵子が観察される。この結果は、石橋¹²⁾の早いものでは排卵後 62~63 時間で子宮に入り、96 時間 (次期排卵時) で子宮から消失するという成績と完全に一致したものである。また自然排卵後 60 時間では 37% が子宮に移行し、70 時間ではすべての卵子が子宮から回収されるという信永¹³⁾の結果に近い成績でもある。なお、子宮内卵子の消失について、BLANDAU¹⁴⁾ および石橋¹²⁾は、次期排卵時に子宮に蓄積された分泌液と共に腔を経て体外へ排出されると考えているが、本実験の結果も同様のことを示唆するものである。

これに対し、HCG 処置の場合は投与後の時間の経過と共に卵子下降が促進される傾向を示し、72 時間以降一部の個体では卵子の観察されないものがあり、観察卵子数も低下した。そしてこの傾向は、HCG 投与量の増加に伴って顕著のように見受けられる。さらに HCG 注

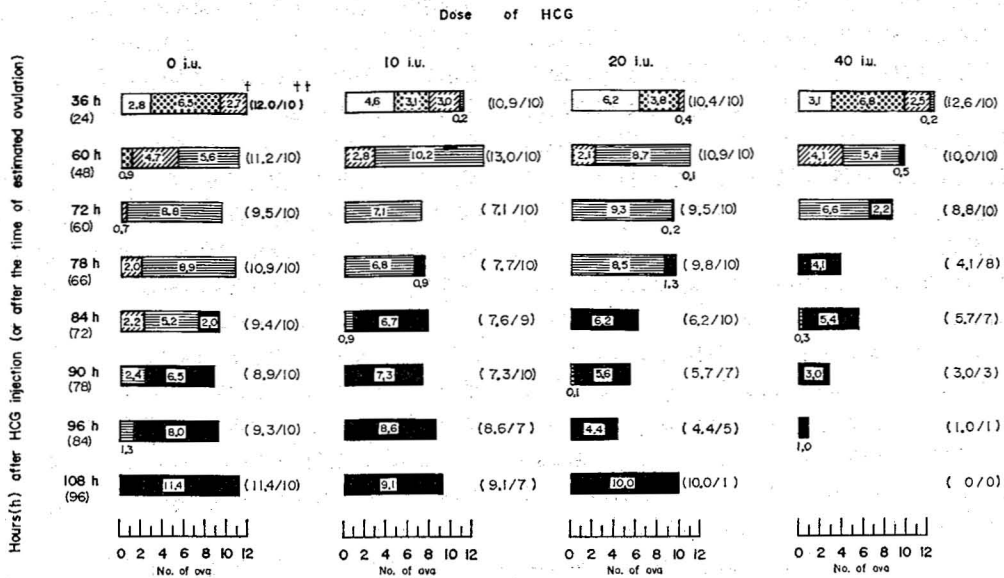


Fig. 3. Transport of fertilized ova in adult rats treated with various doses of HCG.

射後 96 (84) 時間で次期排卵卵子, 108 (96) 時間で子宮内卵子が観察される個体があった。これらの原因については明らかではないが, 少なくとも HCG の投与によって, 卵巣機能が乱れ, 性周期にも影響することを示すものであろう。すなわち, 石橋¹⁵⁾は HCG 投与後に性周期が短縮, あるいは V 期の続く場合があること, および 5 日性周期のラットでは, 排卵後 96 時間を経てもなお子宮内から採取されることを報告していることから推測に難くない。

2. 受精卵子の場合

受精卵子の下降状態を図示すれば Fig. 3 の通りであった。すなわち, HCG 投与後 36 (24) 時間の観察では, ほとんどすべての卵子は卵管の部位 I ~ III に存在した。HCG 投与後 60 (48) 時間では, HCG 処置, 無処置ともに多くの卵子は部位 IV (40 i.u. の場合は III と IV) に存在し, HCG 20 i.u. および 40 i.u. 区では僅かながら子宮からも採取された。72 (60) 時間になれば, 処置, 無処置共にほとんどすべての卵子は部位 IV に移行し, HCG 20 i.u. (0.2 個) および 40 i.u. (2.2 個) では子宮からも採取された。HCG 投与後 78 (66) 時間でも同様の傾向を示したが, HCG 40 i.u. 区では 8/10 匹のすべての卵子 (4.1 個) が子宮内に存在した。これに対し, 同時間の無処置においては 9.4 個のうち半数以上 (5.2 個) は部位 IV にあり, 残りは部位 III (2.2 個) と子宮 (2.0

個) に存在した。

HCG 投与後 90 (78) 時間になると, 無処置では約 1/3 の卵子 (2.4/8.9 個) は部位 IV にも存在するが, HCG 投与のものではすべての卵子は子宮に入る。そして HCG 投与量が 10, 20, 40 i.u. と増加するに伴って, 卵子の観察される個体数 (卵子数) は 10 匹 (7.3 個), 7 匹 (5.7 個) および 3 匹 (3.0 個) と減少した。このような傾向は 96 (84) 時間で一層顕著となり, HCG 10, 20 および 40 i.u. 区で, それぞれ 7, 5, 1 匹から平均 8.6, 4.4, 1.0 個の卵子が観察されたに過ぎなかった。HCG 投与後 108 (96) 時間に至れば, 子宮内卵子を有していたラットは, 無処置の 10 匹 (11.4 個) に対して, 10 i.u. 区で 7 匹 (9.1 個), 20 i.u. 区で 1 匹 (10.0 個) であり, 40 i.u. 区では全例に卵子が観察されなかった。

以上のように, 無処置ラットでは排卵後 72 時間で, 一部の卵子 (2.0/9.4 個) は子宮に移動し, 78~84 時間ではほとんどの卵子, 96 時間ですべての卵子が子宮へ入る。この結果は, 排卵後の交配において, 72 時間で 80% の卵子が子宮に入るという石橋¹⁵⁾の成績より遅く, 三宅ら¹⁷⁾の排卵後 74 時間で約 30% の卵子が子宮に移動するという成績, および YANG & CHANG¹⁸⁾, GREENWALD¹⁹⁾, PSYCHOYOS¹⁹⁾ ら諸氏の結果に近いものである。従って無処置のラットでは排卵後約 72 時間で一部の卵子が子宮に入り, 約 84 時間でほとんどの卵子

が子宮へ到達すると考えられる。

これに対し、HCG 処置の場合の卵子下降は促進され、HCG 注射後 60(48) で早いものは子宮に移動し、HCG 40 i.u. 処置では 78(66) 時間、他の処置では 84(72) 時間以後、ほとんどあるいはすべての卵子が子宮内で見出される。そしてこの傾向は HCG 投与量の増加および時間の経過に伴って顕著となり、かつ採卵されるラット数および採卵数が減少した。

YANG & CHANG¹⁰⁾ は HCG 100 i.u. を交配確認日から 3 日間連続投与した場合、ラットでは対照より 12 時間、ハムスターでは 6 時間早く子宮内卵子が観察されることを報告している。HCG 投与時期と投与方法は異なるが、約 6 時間から 12 時間程度の促進がみられた本実験の結果は彼らの成績と同様の傾向を示すものである。しかしながら、YANG & CHANG¹⁰⁾ は 16 日目に相当数の生存胎児を観察しており、本実験および石橋のさきの報告¹⁾ のように、卵子が子宮から消失するようなことはなかった。このことはホルモンの投与時期と投与量が種々な状態に影響を与えることを示すものであろう。また WISLOCKI & SNYDER⁷⁾ および ADAMS⁸⁾ は妊娠又は偽妊娠家兎に排卵を誘起するとき、卵子下降が促進されることを報告している。さらに諸氏の報告は過排卵処置後の牛^{2,3,10)}、豚⁴⁾、羊⁵⁾、家兎⁶⁾ において卵子下降が促進される傾向を指摘しているが、反面大きい影響はない^{10,20)}、あるいは遅延する¹⁹⁾とも報告されている。

PMS の投与によって卵子下降が促進される理由について、DOWLING²²⁾ は排卵に至らない多数の卵胞の存在が影響すると称している。もしそうであるならば、それはおそらく、PMS 投与後に観察される多数の卵胞から分泌される estrogen が何らかの関連を有するかもしれない。HCG 投与後におこる卵子下降促進の機序についてはほとんど報告が見当たらない。石橋²³⁾ は家兎において、HCG による偽妊娠の stage が進むに従って、移植卵子の下降が促進されること、および受精率が低下することを明らかにし、その原因として黄体の存在を示唆し、TSUTSUMI *et al.*²⁴⁾ は家兎の交配後 60~66 時間で卵子を移植するとき、下降が極めて早いことを報告している。POMEROY⁴⁾ は卵子の急速な下降は、黄体から分泌される progesterone によるらしいと述べている。これを裏づけるように、estrogen 投与により過排卵処置後の急速な卵子下降を遅らせたとの報告²⁵⁾がある。しかしながら、反対に estrogen が卵子下降を促進するとの報告^{26~28)}、あるときは下降を抑制し、あるときは tubelocking をひきおこしたりする報告^{29~42)}もある。このよ

うな諸氏の報告の相違は、estrogen が動物の種や投与量、投与方法などによって、その作用も一様でないことを示しているのかもしれない。CHANG & HARPER³²⁾ は、交配前と交配後の処置では結果が異なることを報告し、交配後の処置ではその作用が長引いて卵管にとどめるが、然らざるときは作用が短く卵子下降を促進すると述べている。信永¹³⁾は卵管自体がもつ基本的な卵子の下降機能に対して、estrogen は促進し、progesterone は直接に影響を与えないけれども、estrogen の作用を抑制すると称している。また GREENWALD⁴³⁾ は、progesterone に対する estrogen の比が 400:1 では progesterone 単一投与と同様な結果であり、250:1 では estrogen 単一投与と同じ結果が得られたと報じている。要するに、信永¹³⁾が指摘しているように、estrogen と progesterone の量的関係が卵子下降に大きく影響するのかもしれない。

また本実験における受精卵子の下降は、未受精卵子のそれと比較して約 6~12 時間程度遅れる傾向を示している。信永¹³⁾は妊娠、偽妊娠ラットの卵子下降は、自然排卵の場合よりもやや遅いことを報告し、石島⁹⁾は家兎において受精卵子と未受精卵子が同一個体内に存在する場合、未受精卵子が 10 数時間はやく子宮に到達することを指摘している。その原因として信永¹³⁾は progesterone が減少しないことおよび estrogen が少ないことが考えられるとしている。本実験の結果もこのような考え方あるいは説明できるのかもしれない。

以上 HCG が卵子下降を促進させることを明らかにし、若干の考察を加えたが、その作用機序については現在のところ明らかにし得ない。HCG の直接作用であるのか、あるいは progesterone や estrogen 様の作用を誘起した結果もたらされたものであるのかなどについての説明は、生化学的手段を含む綿密な今後の検討を俟って明らかにできるものと考えられる。

要 約

人工昼夜の条件下に飼育した成熟ラット 670 匹に、種々の量 (10~80 i.u.) の HCG を筋肉内に投与した。注射 (排卵) 後 36(24)~108(96) 時間に屠殺し、卵子の存在部位をしらべて、卵子の下降に及ぼす影響を検討した。

1. 無処置の未受精卵子は、排卵後 24 時間では主として卵管の部位 I~II にあるが、48 時間では III~IV に移動する。排卵後 60 時間では一部の卵子、84 時間ではほとんどの卵子が子宮内で見出される。96 時間で子宮から消失すると共に、次期排卵卵子が観察される。

2. これに対し、HCG 処置の場合は注射（排卵）後 48(36) 時間以後、卵子下降が促進される傾向を示し、48~60(36~48) 時間で一部の卵子、72~84(60~72) 時間では、半数又は大部分の卵子が子宮内にあった。そして、同時刻以降卵子の観察されない個体があり、観察卵子数も減少した。なお、HCG 注射後 96(84) 時間で次期排卵卵子の観察される若干の個体があった。

3. 無処置の受精卵子は、排卵後 60~66 時間でほとんどの卵子は卵管の部位IVへ移動し、72 時間では一部、78~84 時間では多くの卵子、96 時間ではすべての卵子が子宮内にあった。

4. これに対し、HCG 処置の受精卵子の場合は、卵子下降が促進される傾向を示し、HCG 注射後 84(72) 時間以降、卵子の観察されない個体があり、観察卵子数も減少した。特に HCG 20~40 i.u. 処置の 96~108 時間では、ほとんどまたはすべてのラットに卵子が観察されなかった。

5. 以上のように、HCG の投与によって卵子下降は促進されるが、その程度は未受精卵子で概略 12~24 時間、受精卵子では約 6~12 時間と見積られ、この傾向は HCG 投与量の増加および時間の経過に伴って増大した。

本研究の概要は、昭和 51 年 10 月家畜繁殖研究会秋季大会において講演した。 (1977.3.9 受付)

文 献

- 1) 石橋(功): 本誌 18, 87, 1972.
- 2) 杉江(信): 本誌 12, 73, 1966.
- 3) WILLIAM, G. R. M.: *Endocrinology* 50, 456, 1952.
- 4) POMEROY, R. W.: *J. Agric. Sci.* 45, 327, 1955.
- 5) ROBINSON, T. J.: *J. Agric. Sci.* 40, 6, 1950.
- 6) 石島(芳)・伊藤(雅)・平林(忠)・佐久間(勇): 本誌 14, 71, 1967.
- 7) WISLOCKI, G. B. & F. F. SNYDER: *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 52, 379, 1933.
- 8) ADAMS, C. E.: *J. Endocrinol.* 40, 101, 1968.
- 9) 信永(利)・中村(勝)・新谷(参): 本誌 13, 90, 1967.
- 10) YANG, W. H. & M. C. CHANG: *Endocrinology* 83, 217, 1968.
- 11) HUMPHREY, K. W.: In Schering Symp. on Mechanism Involved in Conception, Berlin, 133, Pergamon Press, 1969.
- 12) 石橋(功): 日畜会報 32, 339, 1962.
- 13) 信永(利): 本誌 14, 77, 1968.
- 14) BLANDAUI, R. J.: *Anat. Rec.* 87, 17, 1943.
- 15) 石橋(功): 未発表, 1977.
- 16) 石橋(功): 千葉大学園芸学報 (9), 1, 1961.
- 17) 三宅(金)・内海(恭)・湯原(正): 岡山大学農学報 (46), 46, 1975.
- 18) GREENWALD, G. S.: *Anat. Rec.* 157, 163, 1967.
- 19) PSYCHOYOS, A.: *Advanced in Reproductive Physiology*, Vol. 2, 257, (edited by McLAREN, A.), Academic Press, New York, 1967.
- 20) 鈴木(幾)・石島(芳): 畜産の研究 30, 785, 1976.
- 21) AUSTIN, C. R.: *J. Endocrinol.* 6, 293, 1950.
- 22) DOWLING, D. F.: *J. Agric. Sci.* 39, 437, 1949.
- 23) 石橋(功): 本誌 11, 73, 1965.
- 24) TSUTSUMI, Y., N. OGURI & E. S. E. HAFEZ: *J. Reprod. Med.* 14, 62, 1975.
- 25) ROWSON, L. E.: *J. Endocrinol.* 7, 260, 1951.
- 26) WHITNEY, R. & H. O. BURDICK: *Endocrinology* 22, 639, 1938.
- 27) GREENWALD, G. S.: *Endocrinology* 69, 1086, 1961.
- 28) GREENWALD, G. S.: *Fert. Ster.* 14, 666, 1963.
- 29) BANIK, U. K. & G. PINCUS: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 116, 1032, 1964.
- 30) HARRINGTON, F. E.: *Endocrinology* 75, 461, 1964.
- 31) CHANG, M. C. & R. YANAGIMACHI: *Fert. & Ster.* 16, 281, 1965.
- 32) CHANG, M. C. & M. J. K. HARPER: *Endocrinology* 78, 860, 1966.
- 33) CHANG, M. C.: 2nd Inter. Congr., Hormonal Steroids, Abstr. Int. Congr. Ser. Excerpta Med. Fdn. No. 111, 199, Milan, 1966.
- 34) GREENWALD, G. S.: *Anat. Rec.* 157, 163, 1967.
- 35) BURDICK, H. O. & G. PINCUS: *Amer. J. Physiol.* 111, 201, 1936.
- 36) WHITNEY, R. & H. O. BURDICK: *Endocrinology* 20, 643, 1936.
- 37) VELARDO, J. T., N. M. RANEY, B. G. SMITH & S. H. STURGIS: *Fert. & Ster.* 7, 301, 1956.
- 38) DREISBACH, R. H.: *J. Endocrinol.* 18, 271, 1959.
- 39) CHANG, M. C. & J. M. BEDFORD: *Proc. IVth Inter. Congr. Anim. Reprod.* 367, 1961.
- 40) EDGREN, R. A. & G. C. SHIPLEY: *Fert. & Ster.* 12, 178, 1961.
- 41) LANG, D. R.: *Proc. 3rd Asia and Oceania Congr. Endocrinol.*, Manila, Pt. II, 340, 1967.
- 42) HUMPHREY, K. W.: *Aust. J. Biol. Sci.* 21, 1239, 1968.
- 43) GREENWALD, G. S.: *Fert. & Ster.* 12, 80, 1961.

Summary

The transport of ova was studied in adult rats following treatment with varying doses (10 to 80 i.u.) of human chorionic gonadotrophin (HCG). A total of 670 rats were killed 36 to 108 hours after HCG injection (or 24 to 96 hours after ovulation). The location of ova was examined in the four segments, I to IV, of the oviduct and in the uterus, as shown in figure 1.

The result obtained was as follows.

1. In untreated cycling rats, the relationship between the location of unfertilized ova and the time after ovulation was as follows: segments I and II at 24 hours; mostly in segments III and IV at 48 hours; some entering the uterus at 60 hours; mostly in the uterus at 84 hours; no ova present in the uterus at 96 hours. New ova derived from the subsequent ovulation were observed in the oviduct at 96 hours.

2. In HCG-treated rats, some ova were found in the uterus 48 to 60 hours after HCG injection (or 36 to 48 hours after ovulation) and about a half of the ova or most ova at 72 to 84 (or 60 to 72) hours. New ova originated from the subsequent ovulation were observed in the uterus of some rats 96 hours after HCG injection (or 84 hours after the preceding ovulation).

3. In untreated mated rats, fertilized ova were found in the following location at various time after ovulation: about a half of the ova in segment II at 24 hours; segments III and IV at 48 hours; most ova in segment IV at 60 to 66 hours; some ova in the uterus at 72 hours; most ova in the uterus at 78 to 84 hours; all the ova in the uterus at 96 hours.

4. When rats were treated with various doses of HCG and then mated with fertile males, most fertilized ova were found in segment IV of the oviduct and some ova in the uterus 60 to 72 hours after HCG injection (or 48 to 60 hours after ovulation). At 78 to 84 (66 to 72) hours, most ova were observed in the uterus. The percentage of rats with ova and the number of ova recovered from the uterus were reduced with the increase in the dose of HCG and with the lapse of time after HCG treatment.

5. From these findings, it seems that the ova are transported more rapidly in rats treated with various doses of HCG than in untreated rats. It is estimated that unfertilized and fertilized ova are transported 12 to 24 hours and 6 to 12 hours faster in treated rats than in untreated rats, respectively.