

# 成熟ラットの卵胞発育および卵子の成熟・排卵に及ぼす HCG の影響

石橋 功・利部 聡・黒鳥英俊

(山口大学農学部)

成熟ラットに HCG を投与して排卵を誘起できるが、その反応の程度は HCG の投与量<sup>1,2)</sup>や投与時期<sup>7,8)</sup>に左右されることが報告されている。しかしながら、HCG 投与後の卵胞の動態についての検討は殆どなされていない。著者らは性腺刺激ホルモンの影響に関する一連の研究の一つとして、成熟ラットの性周期の種々な時期に HCG を投与して、その後の卵胞発育及び卵子の成熟・排卵に及ぼす影響を無処置の場合と比較検討した。

## 材料及び方法

### 1. 動物

Wistar-Imamichi strain を基礎として、当教室で繁殖したラットを、人工昼夜 (14L/10D) の条件下 (図 1) で飼育した。供試ラットは正常な 4 日周期を 2 回以上繰り返した、生後 2.5~3.0 カ月、体重 180~250g のもの 360 匹である。

### 2. ホルモン処置

暗黒開始後 8 時間 (人工照明条件 I では午前 9 時, II では午前 3 時) を排卵予定時刻とし、その 78~12 時間前 (-78~-12 時間) に HCG 20 iu (ゴナトロピン, 帝国臓器製薬製) を内股部筋肉内に投与した。

### 3. 観察

1) 排卵数: -78~-24 時間に HCG を投与したラットは、投与後 12~30 時間に、-12 時間に投与したものは 3~12 時間後に殺し、卵管膨大部をさいて採卵し、卵子数を数えて排卵数とした。

2) 組織学的観察: 排卵数の観察に用いたラットのうち、各 8 匹の卵巣は Bouin 氏液で固定、15~20 μ のパラフィン切片とし、Heidenhain iron hematoxylin で染色した。250 μ (長径と短径の平均) 以上の卵胞につい

Effects of HCG treatment on follicular development, maturation and ovulation of oocytes in adult rats.

ISHIBASHI, Isao, Satoshi KAGABU & Hidetoshi KUROTORI (Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Yamaguchi 753)

Japan. J. Anim. Reprod. 25 (1), 1979.

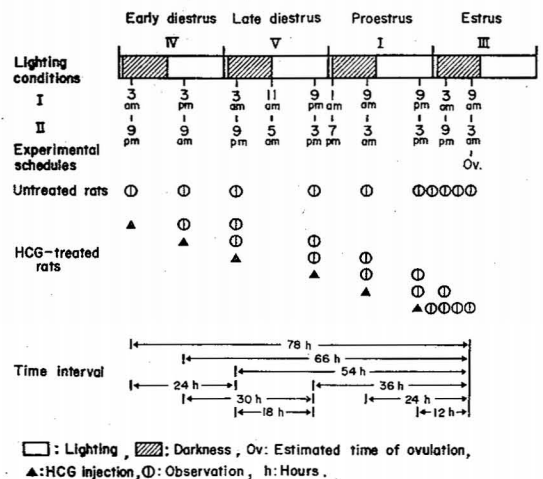


Fig. 1. Experimental schedules.

## 結果ならびに考察

て、50μ 毎に区分し、その数及び卵胞内卵子の状態を観察した。

### 1. 排卵の誘起

排卵予定時刻前種々な時期に HCG 20 iu を投与して、排卵を誘起できるかどうかを検討した結果は、表 1 に示した。すなわち、-78~-66 時間に投与した場合の排卵は極めてまれであり、-54 時間の投与では 18~30 時間後殆どすべての動物に排卵がみられたが、その数は正常排卵数の 50~60% 程度であった。-36~-24 時間の投与では、12 時間後に排卵したラットは少なく、その数は 5~6 個であり、18~24 時間後には 11.6~11.9 個で、正常排卵数に達した。また、-12 時間 (LH 放出時) に投与した場合は、12 時間後すべてのラットに平均 10.5 個の排卵がみられた。

以上の成績は、性周期の種々の時期に HCG を投与して誘起排卵を検討した信永ら<sup>7)</sup>及び中村ら<sup>8,9)</sup>の報告、すなわち、-75~-66 時間 (投与時間を排卵予定時刻に換算) の投与では極めてまれであるが、-59~-51 時間で 6~7 個、-42~-35 時間以降正常排卵数に達するとい

Table 1. Induced ovulation in adult rats treated with 20 i. u. of HCG

Time of HCG injection (h)	Time of observation from		No. of rats**	No. of ovulated ova
	Ovulation* (h)	HCG injection (h)		
-78	-66	12	0/20	—
	-54	24	1/20	4.0
-66	-54	12	0/20	—
	-36	30	3/20	2.3 (1~4)
-54	-36	18	19/20	6.9 (3~13)
	-24	30	20/20	5.6 (1~11)
-36	-24	12	3/20	5.8 (2~13)
	-12	24	20/20	11.9 (5~16)
-24	-12	12	9/20	5.4 (3~8)
	-6	18	20/20	11.6 (6~15)
-12	-9	3	0/20	—
	-6	6	0/20	—
	-3	9	0/20	—
	0	12	20/20	10.5 (6~17)

\* The minus symbol indicates the time in hours before an estimated time of ovulation.

The time of ovulation was estimated 8 hours after the beginning of darkness.

\*\* No. of rats with ova/No. of rats used.

Table 2. Follicular development in untreated adult rats

Time of* observation (h)	No. of rats used	No. of ovulated ova and follicles						Ovulated ova	Sum** total	Atretic follicle	Grand total
		Normal follicle of various sizes in average diameter ( $\mu$ )									
		250~399	400~499	500~549	550~599	600~849					
-78	8	46.4	14.6	2.6	1.5	0.7	65.8(4.6)	8.7	74.5		
-66	8	55.1	17.1	3.3	0.8	0.6	76.9(4.7)	14.2	91.1		
-54	8	53.0	16.7	4.0	1.3	0.5	75.5(5.8)	9.6	85.1		
-36	8	44.8	13.4	6.8	3.5	0.8	69.3(11.1)	12.0	81.3		
-24	8	46.2	11.2	7.1	3.3	2.0	69.8(12.4)	16.0	85.8		
-12	8	50.0	14.2	3.5	4.4	3.2	75.3(11.1)	19.2	94.5		
-9	8	54.9	11.5	4.0	2.5	7.7	80.6(14.2)	27.5	108.1		
-6	8	58.2	11.4	1.7	1.8	9.0	82.1(12.5)	18.1	100.2		
-3	8	52.1	7.0	3.0	2.4	7.5	72.0(12.9)	20.1	92.1		
0	8	48.1	10.3	2.7	1.6	1.8	10.0	74.5(16.1)	18.1	92.6	

\* See the footnote of Table 1.

\*\* The number in parentheses indicates the sum total of ovulated ova and follicles over 500  $\mu$  in diameter.

う報告と完全に一致するものであり、PEPPLER & GREENWALD<sup>11)</sup>の成績とも一致した。そしてこれらの結果は、性周期の種々の時期におけるHCGの鋭敏度を検討した中村ら<sup>9)</sup>、信永ら<sup>12)</sup>の報告からも容易に理解し得るところである。すなわち、彼らはHCGを静脈内に投与して50%の排卵陽性率を得るに必要な量は-66時間で7.2 iu、-59時間で3.5 iuであるが、-51時間以降の投与で1.6 iuまたはそれ以下であること、及び皮下や筋肉内の投与では静注の約7倍量を必要とすることを明

らかにしている。また、-36及び-24時間の投与において、12時間よりも18~24時間後に排卵したラット数及び排卵数が増加する本実験の結果は、江藤ら<sup>2)</sup>の腔垢像V期の日の誘起排卵において、排卵数の観察はHCG注射後12時間では不十分で、20時間が適当であるという見解を支持するものである。さらに-12時間における成績は、石橋の以前の報告<sup>12)</sup>及び未成熟のマウスやラットにLHやHCGを投与して排卵を誘起した諸氏の報告<sup>13-18)</sup>と同様の傾向を示すものである。

Table 3. Follicular development in adult rats treated with 20 i. u. of HCG

Time of* HCG injection (h)	Time of observation from		No. of rats used	No. of ovulated ova and follicles					Ovulated ova	Sum** total	Atretic follicle	Grand total
	Ovulation* (h)	HCG injection (h)		Normal follicle of various sizes in average diameter ( $\mu$ )								
				250 ~399	400 ~499	500 ~549	550 ~599	600 ~849				
-78	-66	12	8	84.6	25.8	4.6	1.6	0.9		117.5 (7.1)	23.8	141.3
	-54	24	8	48.8	15.8	8.0	2.3	1.7		76.6 (12.0)	25.1	101.7
-66	-54	12	8	63.1	24.3	5.3	1.1	0.1		93.9 (6.5)	24.9	118.8
	-36	30	8	60.5	18.6	8.1	5.3	3.6		96.1 (17.0)	34.1	130.2
-54	-36	18	8	37.4	14.7	6.8	2.3	2.8	5.8	69.8 (17.7)	35.1	104.9
	-24	30	8	38.3	14.2	3.9	4.4	5.2	6.1	72.1 (19.6)	22.8	94.9
-36	-24	12	8	53.0	14.5	5.7	1.9	4.9	0.4	80.4 (12.9)	29.4	109.8
	-12	24	8	49.7	24.5	3.9	1.9	3.3	10.4	93.7 (19.5)	34.5	128.2
-24	-12	12	8	49.3	16.8	3.2	2.8	5.3	3.6	81.0 (14.9)	33.8	114.8
	-6	18	8	55.4	12.7	2.5	1.8	2.2	11.4	86.0 (17.9)	34.1	120.1
-12	-9	3	8	48.1	7.7	3.5	4.4	8.2		71.9 (16.1)	23.7	95.6
	-6	6	8	40.5	8.0	3.1	2.1	12.0		65.7 (17.2)	20.7	86.4
	-3	9	8	42.5	8.0	1.8	1.5	11.6		67.9 (14.9)	18.0	83.4
	0	12	8	50.9	13.3	2.0	2.4	3.2	10.5	82.3 (18.1)	31.5	113.8

\* See footnote of Table 1.

\*\* See the footnote of Table 2.

なお、無処置ラットの排卵は発情開始後 9~10 時間<sup>17,18)</sup>、暗黒開始後 6~8 時間<sup>19~21)</sup>又は 9~10 時間で完了<sup>22~24)</sup>するといわれているので、-12 時間における HCG 投与の成績は、これらの無処置の場合と同様か、又は大差ないものであるといえよう。

## 2. 卵胞発育

無処置及び HCG 処置ラットにおける種々の大きさの卵胞数は、表 2, 3 及び図 2, 3 に示した。またそれらの割合は図 4 に示した。

250  $\mu$  以上の卵胞の総数 (排卵した場合はその数を含む) は、無処置では 74.5~110.6 (正常卵胞 65.8~82.1) 個、HCG 処置では 83.4~141.3 (正常卵胞 65.7~117.5) 個であり、HCG 処置においてやや多い傾向がみられた。しかしながら、個体差が大きく、投与時期や観察時間の相違による特定の傾向はみられなかった。無処置における 250~300  $\mu$  の小型正常卵胞数は 44.8~58.2 個 (全平均 50.9 個, 50.8~62.3%) であるが、HCG 処置にあつては 37.4~84.6 個 (全平均 51.6 個, 35.7~59.9%) であつて、数の差はないが、ややばらつきが大きかった。PEPLER & GREENWALD<sup>10)</sup> は 350  $\mu$  以上、橋爪ら<sup>25)</sup> は 300  $\mu$  以上の卵胞数は、性周期に関係なくほぼ一定であることを明らかにしているが、本実験の無処置の場合においても 250~399  $\mu$  の卵胞数はほぼ一定であるといえる。

無処置における 500  $\mu$  以上の大型正常卵胞数は、-54 時間に至るまでは 5 個前後であるが、-36 間時以降 11 個以上であり、正常排卵数 (11 個前後) 又はそれを僅

かに上廻る数となっている。この結果は PEPLER & GREENWALD<sup>10)</sup> が day 1, 2, 3, 4 における 518  $\mu$  以上の卵胞数は、卵巣当たり 2.5, 5.0, 5.0, 7.0 であると報告し、MANDL & ZUCKERMAN<sup>10)</sup> が 550  $\mu$  以上の卵胞は休止期後半、BOLING *et al.*<sup>23)</sup> が排卵に関与する卵胞は休止期後半から発情初期に増加すると述べているのと同様の傾向であるが、PEDERSEN<sup>25)</sup> が largest follicle は性周期の間中増大すると述べているのとは若干趣を異にしている。これに対し、HCG 処置ラットにおいてはやや増加する傾向が認められた。すなわち、-78 及び -66 時間処置の 12 時間後には 6.5~7.1 個 (5.0~5.5%) であるが、-54 時間以降の投与においては、15~19 個 (13~20%) であつた。また、投与後の時間の経過に伴って大型卵胞は増加し、小型卵胞は増加後減少する傾向が認められた (図 2)。橋爪ら<sup>25)</sup> は休止期後半の 14 時 (排卵予定時刻を暗黒開始後 8 時間とすると -36 時間に相当) に HCG 20 iu を注射するとき、成熟分裂のみられる 550  $\mu$  以上の卵胞数は、注射時の 1.6 個から時間の経過に伴って増加すると報じているが、本実験の場合においても無処置の 550  $\mu$  以上の卵胞数はほぼ似た傾向を示している。しかしながら、後述するように、卵子の成熟分裂は 500  $\mu$  以上の卵胞内においてみられ、その数はすでに無処置の -36 時間で正常排卵数と同じ数に達しており、この点からみれば橋爪ら<sup>25)</sup> の結果とやや趣を異にするといえよう。

なお、無処置の閉鎖卵胞数は 8.7~27.5 (全平均 16.4) 個、HCG 処置の閉鎖卵胞数は 14.5~35.1 (全平均 27.8)

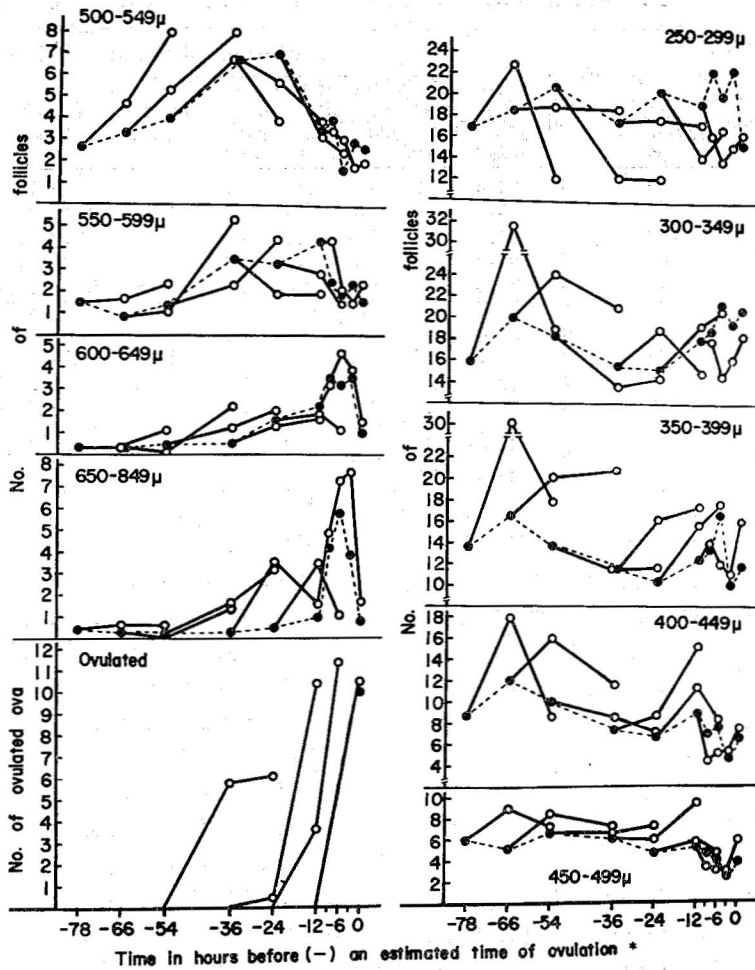


Fig. 2. No. of ovulated ova and normal follicles of each sizes from untreated (●-●) and HCG-treated (○-○) rats at various times before on estimated time of ovulation.

\* See the footnote of Table 1.

個であり、HCG 処置ラットにおいて増加した。と同時に、時間の経過に伴って増加する傾向も認められたが(図3)、投与時期、卵胞の大きさ別にその様相を若干異にした。

以上のように、HCG が卵胞発育に若干の影響を与えると共に、卵胞の閉鎖を促進する本実験の結果は、HCG が PMS ほどではないにしても、弱い FSH 作用を有することを示すものであろう。そして、それは次の段階に発育するに要する時間を異にする<sup>28,29)</sup>各 size の卵胞に対して、種々の程度に作用したために、卵胞の発育あるいは閉鎖の促進という結果をもたらしたものであろう。

### 3. 卵子の成熟

次期排卵に関与する卵胞の大きさについて、550 μ 以

上<sup>25)</sup>あるいは 450 μ 以上<sup>10,29)</sup>とされているが、本実験においては、いずれも 500 μ 以上の卵胞内卵子に成熟分裂像が観察された。小型卵胞内においても若干の M-I (metaphase I) 像を示す卵子が認められたが、それらはいずれも閉鎖卵胞内においてであった。これらの事実から、次期排卵に関与する卵胞は概ね 500 μ 以上と考えられる。

無処置ラットにおける卵子の成熟・排卵の成績は表4に示した。すなわち、-12 時間までは成熟分裂を開始する卵子は殆どみられず、-9 時間(暗黒開始前1時間)では6個が Tr (transitional stage, chromatin mass を含む)と M-I、-6 時間(暗黒開始後2時間)では殆どの卵子が M-I に、-3 時間(暗黒開始後5時間)で

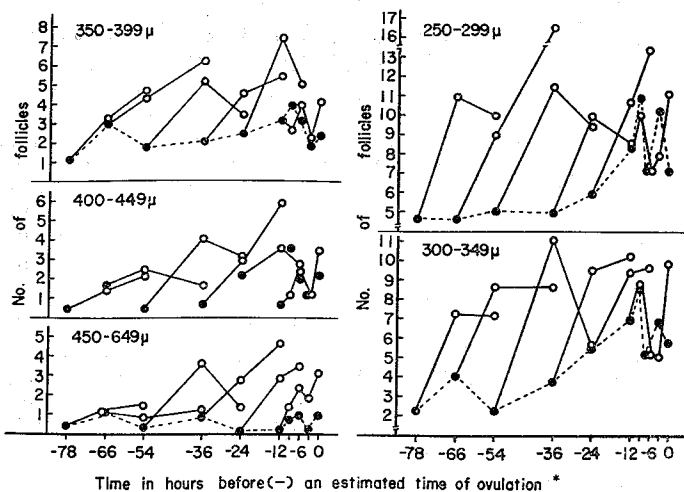


Fig. 3. No. of atretic follicles of each sizes from untreated (●—●) and HCG-treated (○—○) rats at various times before on estimated ovulation.

\* See the footnote of Table 1.

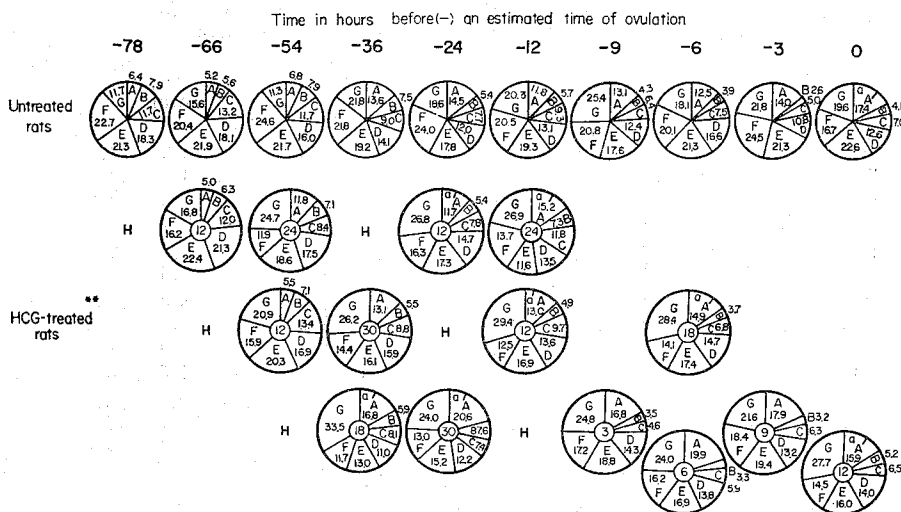


Fig. 4. Percentage of ovulated ova and follicles of various sizes\* in adult rats.

\* Size expressed as average diameter.

A: 500~849  $\mu$  and ovulated ova (a), B: 450~499  $\mu$ , C: 400~449  $\mu$ , D: 350~399  $\mu$ , E: 300~349  $\mu$ , F: 250~299  $\mu$ , G: atretic follicle.

\*\* The number in the central circle indicates time in hours after HCG injection. H: time of HCG injection.

は多くの卵子は M-II (metaphase II) に達する。さらに 0 時間 (暗黒開始後 8 時間) の観察では大部分が排卵し、わずかの卵子が M-II にあった。ODOR<sup>19)</sup> は発情開始と共に卵子は成熟分裂を開始し、3~4 時間では Pm-I

(prometaphase I) と M-I, 3~7 時間では M-II の stage にあり、排卵は 9~10 時間で行われると称している。また MANDL<sup>24)</sup> は 12 時間明暗の条件下で、暗黒開始後 1~6 時間では Pm-I と M-I, 6~9 時間では A-I

Table 4. Maturation and ovulation of oocytes in untreated adult rats

Time of* observation (h)	No. of rats used	No. of oocytes in follicles over 500 $\mu$ in average diameter** observed at various stages								Ovulated ova	Grand total
		P-I	Mature oocytes						Total		
			Tr	M-I	A-I	T-I	M-II	Unknown			
-78	8	4.5	0.3						0.3		4.8
-66	8	4.6					0.1		0.1		4.7
-54	8	5.8							0		5.8
-36	8	11.1							0		11.1
-24	8	12.4							0		12.4
-12	8	11.1							0		11.1
-9	8	8.1	2.7	3.3					0.1	6.1	14.2
-6	8	1.8		9.7	0.9				0.1	10.7	12.5
-3	8	1.6		0.3	0.3	2.0	8.5		0.2	11.3	12.9
0	8	4.2				0.1	1.5	0.3	1.9	10.0	16.1

\* See the footnote of Table 1.

\*\* P-I: prophase I, Tr: transitional stage (including chromatin mass), M-I: metaphase I, A-I: anaphase I, T-I: telophase I, M-II: metaphase II.

Table 5. Maturation and ovulation of oocytes in adult rats treated with 20 i. u. of HCG

Time* of HCG in- jection (h)	Time of obser- vation from		No. of rats used	No. of oocytes in follicles over 500 $\mu$ in average** diameter observed at various stages								Ovulated ova	Grand total	
	Ovula- tion (h)	HCG in- jection (h)		P-I (a)	Mature oocytes						Sum total (a+b)			
					Tr	M-I	A-I	T-I	M-II	Un- known				Total (b)
-78	-66	12	8	6.6	0.1					0.4		0.5	7.1	7.1
	-54	24	8	12.0								0	12.0	12.0
-66	-54	12	8	6.2		0.1				0.2		0.3	6.5	6.5
	-36	30	8	16.9						0.1		0.1	17.0	17.0
-54	-36	18	8	7.9		0.4		0.4	3.2			4.0	11.9	5.8
	-24	30	8	11.0					2.5			2.5	13.5	6.1
-36	-24	12	8	4.5		0.9		2.9	3.9	0.3		8.0	12.5	0.4
	-12	24	8	4.9		0.5		0.6	2.9	0.2		4.2	9.1	10.4
-24	-12	12	8	4.1		0.1		1.4	5.4	0.3		7.2	11.3	3.6
	-6	18	8	2.0		0.7		0.3	3.1	0.4		4.5	6.5	11.4
-12	-9	3	8	9.9	3.8	2.3					0.1	6.2	16.1	16.1
	-6	6	8	2.5	0.1	13.9	0.1				0.6	14.7	17.2	17.2
-12	-3	9	8	1.8		0.7	0.3	4.0	7.4	0.7		13.1	14.9	14.9
	0	12	8	5.7				0.2	1.6	0.1		1.9	7.6	10.5

\* See the footnote of Table 1. \*\* See the footnote of Table 4.

(anaphase I) と T-I (telophase I), 7~9 時間では M-II にあり, 9~10 時間で排卵すると述べている。上記の本実験の結果は, 発情開始を -10 時間 (LH 放出後約 2 時間) と仮定するとき, Odor<sup>13)</sup> の成熟分裂の過程とはほぼ一致するが, MANDL<sup>24)</sup> の成績とは 1~2 時間のずれがみられる。しかしながら, 成熟分裂に要する時間は約 9 時間であるという両者の見解とはほぼ一致しているので, これらの若干の相違は, LH 放出や発情開始時期のずれ, 照明条件の違いなどによるものと推測される。

HCG を投与した場合の成績は表 5 に示した。すなわち, -78~-66 時間の投与では殆ど排卵がみられず, -54 時間投与の場合において 6 個前後の排卵と 3 個前後の成熟途上卵が観察された。また -36~-24 時間後に成熟途上卵が減少すると共に, 排卵数が増加した。さらに -12 時間の投与では, 3 時間後 6.1 個が Tr と M-I に, 6 時間後には 13.9 個が M-I に達し, 9 時間後には殆どの卵子が T-I と M-II の stage にあって, 排卵は HCG 注射後 12 時間でみられた。なお, 500  $\mu$  以上

の卵胞数及び排卵数の合計は -78 及び -66 時間投与の 12 時間後の場合を除き、いずれも排卵数を上回る数 (15~19 個) であった。-12 時間における投与の成績は、石橋の HCG 処置<sup>12)</sup> 及び石橋らの無処置<sup>21)</sup> の傾向と一致したものであり、ODOR<sup>18)</sup>、MANDL<sup>24)</sup> の報告とも似た結果であった。-12 時間より早い時期における本実験の成績は、橋爪ら<sup>25)</sup> の休止期後半に HCG を投与した報告、すなわち、10 時間まで M-I の卵子が増加し、12 時間における排卵は 1~3 個、14 時間で 14 個であるという成績とおおまかにみて似た傾向である。なお、500 $\mu$  以上の卵胞数はいずれも正常排卵数を上回っており、これらの卵胞内卵子がいかなる運命を辿るかについては明らかにしえないが、一部は次回の排卵に関与し、一部は閉鎖の過程を辿るかもしれない。このことは P-I にとどまっている卵子及び成熟過程の遅れている卵子が、いずれの時期においても存在することから推測されるところである。

以上の本実験の結果から、HCG は、卵胞の発育、特に比較的大きな卵胞の発育に対して若干の影響を与えるが、基本的には大型卵胞内卵子の成熟・排卵を促すホルモンであるといえよう。換言すれば、ごく弱い FSH 作用を有するとしても、PMS とは異なり、その種特有の排卵数を越えて卵子を成熟・排卵させることはないものと考えられる。

### 要 約

人工昼夜の条件下で飼育した成熟ラットの排卵子定時刻前 78~12 (-78~-12) 時間に HCG 20 iu を投与し、3~30 時間後に屠殺した。排卵数を調べると共に、卵巣は組織学的方法によって、卵胞発育及び卵子の成熟・排卵に及ぼす影響を無処置の場合と比較検討した。

1. -78~-66 時間で HCG を投与するとき、排卵は殆どみられないが、-54 時間の投与では正常排卵数の 50~60% に相当する数の排卵がみられた。-36~-24 時間の投与では、投与後 18~24 時間の観察で正常排卵数に達した。また -12 時間に投与した場合、投与後 3~9 時間では排卵がなく、12 時間後に正常排卵数に達した。

2. 無処置ラットの -78~-54 時間における 500 $\mu$  以上の正常卵胞数は、5 個前後であるが、-36 時間以降 11~14 個に達した。

3. HCG 処置ラットにおける 500 $\mu$  以上の大型正常卵胞数は、-78~-66 時間投与の 12 時間後観察において少ない (6.5~7.1 個) が、その他の場合は正常排卵数をやや上回る数 (12.9~19.6 個、排卵された場合はそ

の数を含む) であった。なお、卵胞の閉鎖を促進する傾向も認められた。

4. 無処置ラットの卵子の成熟は、-9 時間 (暗黒開始前 1 時間) では、正常排卵数の約 1/2 に当たる卵子が Tr と M-I に、-6 時間では殆どの卵子が M-I に、-3 時間では多くの卵子が M-II の stage にあって、排卵は 0 時間 (暗黒開始後 8 時間) に認められた。

5. HCG 処置後のラット卵巣内には、誘起排卵の結果 (表 1) を説明しうる P-I 及び種々の成熟途上卵が認められた。なお、HCG 処置ラットにおける卵子の成熟・排卵は、無処置の場合とほぼ同様の過程を経て行われると考えられる。

6. 以上の結果から、HCG は卵胞の発育に若干の影響を与えるとしても、基本的には卵胞内卵子の成熟・排卵を促すホルモン、すなわち LH 作用が主であると考えられる。

本研究は千葉大学園芸学部で行ったものであり、その概要は日本畜産学会第 66 回 (1977 年) および第 68 回 (1978 年) 大会において発表した。

(1978, 8, 4 受付)

### 文 献

- 1) EVERETT, J. W.: *Endocr.* 43, 389, 1948.
- 2) 江藤 (禎)・今道 (友)・星 (冬): 本誌 1, 11, 1955.
- 3) 今道 (友)・江藤 (禎): 本誌 7, 103, 1961.
- 4) 今道 (友)・信永 (利)・三浦 (豊)・塩田 (尚): 日獣畜大紀要 (10), 31, 1961.
- 5) 豊田 (裕): 本誌 8, 52, 1962.
- 6) 信永 (利)・中村 (勝)・今道 (友): 本誌 10, 102, 1964.
- 7) 信永 (利)・中村 (勝)・新谷 (参): 本誌 13, 90, 1967.
- 8) 中村 (勝)・小島 (操)・信永 (利): 本誌 14, 47, 1968.
- 9) 中村 (勝)・小島 (操)・新谷 (参)・信永 (利): 本誌 14, 129, 1969.
- 10) PEPPLER, R.D. & G.S. GREENWALD: *Amer. J. Anat.* 127, 9, 1974.
- 11) 信永 (利)・岡本 (道)・高橋 (和): 日不妊誌 18, 209, 1973.
- 12) 石橋 (功): 本誌 13, 109, 1967.
- 13) ROWLAND, I.W.: *J. Endocr.* 3, 384, 1944.
- 14) RUNNER, M. N. & J. PALM: *J. Exp. Zool.* 124, 303, 1953.
- 15) GATES, A. H. & R.A. BEATTY: *Nature* 174, 356, 1954.
- 16) EVERETT, J.W.: *J. Endocr.* 59, 580, 1956.
- 17) BLANDAU, R.J.: *Anat. Rec.* 92, 449, 1945.
- 18) ODOR, D.L.: *Amer. J. Anat.* 97, 461, 1955.

- 19) 尾川(昭)・鈴木(善): 本誌 3, 75, 1957.  
 20) 石橋(功): 日畜会報 30, 212, 1959.  
 21) 石橋(功)・青木(ひ): 本誌 21, 130, 1976.  
 22) AUSTIN, C.R. & A.W.H. BRADEN: *Aust. J. Biol. Sci.* 7, 179, 1954.  
 23) CARLYLE, A. & S. B. CARTER: *J. Physiol.* 157, 44, 1961.  
 24) MANDL, A. M.: *Proc. Roy. Soc. B* 158, 105, 1963.  
 25) 橋爪(一)・菅原(七)・竹内(三): 本誌 21, 28, 1975.  
 26) PEDERSEN, T.: *J. Reprod. Fert.* 21, 28, 1970.  
 27) MANDL, A. M. & S. ZUCKERMAN: *J. Endocr.* 8, 341, 1952.  
 28) BOLING, J.L., R.J. BLANDAU, A.L. SODERWALL & W.C. YONG: *Anat. Rec.* 79, 313, 1941.  
 29) PEDERSEN, T.: Oogenesis (BIGGERS & SCHUE-TZ ed.), 361, Butterworths, London, 1972.

### Summary

Follicular development, maturation and ovulation of oocytes were studied in adult female rats treated with human chorionic gonadotrophin (HCG). A total 360 rats of Wistar-Imamichi strain were kept under artificial lighting conditions (14 L/10 D) and treated with 20 i. u. of HCG 12 to 78 hours before an estimated time of ovulation (-12 to -78 h). The time of ovulation was estimated to be 8 h after the beginning of darkness on the day of estrus.

All the rats were killed 12 to 30 h after HCG treatment, except those treated at -12 h after the treatment. At autopsy, the number of ovulated ova was counted, and the ovaries were fixed in Bouin's solution and stained with Heidenhain iron hematoxylin. Follicles over 250  $\mu$  in average diameter (length plus width/2) were classified into groups at intervals of 50  $\mu$  in average diameter. At the same time, oocytes were examined for the stage of maturation division. The results obtained are as follows.

1. When rats were treated with 20 i. u. of HCG at -66 to -78 h, no induced ovulation was observed. When the treatment was done at -54 h, ova were obtained from 50 to 60% of the number of normal ovulation. After treatment at -24 to -36 h or -12 h, the normal number of ova was found 18 to 24 h or 12 h, respectively, after the treatment.

2. In untreated rats, the average number of follicles over 250  $\mu$  in average diameter was 74.5 to 108.1 (normal: 65.8 to 82.1; atretic: 8.7 to 27.5). The number of follicles over 500  $\mu$  in average diameter per head was about 5 at -54 to -78 h and increased to 11 to 14 at -36 or later.

3. As compared with untreated rats, HCG-treated rats had 83.4 to 141.3 (normal: 67.9 to 117.5; atretic: 18.0 to 35.1) follicles. The number of follicles over 500  $\mu$  in average diameter per head was 12.9 to 19.6 after the treatment, except in those females 12 h after the treatment at -66 to -78 h (6.5 to 7.1).

4. Maturation division of oocytes took place in follicles over 500  $\mu$  in average diameter in untreated rats in the following manner: About half of the oocytes in the transitional stage and metaphase I at -9 h; almost all the oocytes in metaphase I at -6 h; most of the oocytes in late telophase I and metaphase II at -3 h; ovulation at -0 h (an estimated time of ovulation).

5. In rats treated with 20 i. u. of HCG at -54 h or later, the various number and stages of oocytes were observed in follicles over 500  $\mu$  in average diameter. The results explain the process of induced ovulation, as shown in Table 1.

6. From these results, it is suggested that HCG may stimulate maturation division of the oocytes in the large follicle. HCG had a little effect on follicular development, while it accelerated follicular atresia.