Studies on the Pheromonal Pregnancy Block in the Mice

I. Strain Differences of Mice in Pheromonal Pregnancy Block

Senichi FURUDATE and Takeshi NAKANO

*Department of Laboratory Animal Science, School of Medicine,
Kitasato University 1, Kitasato, Sagamihara-Shi,
Kanagawa-Ken, 228, Japan*

(Received for publication: January 9, 1980)

Strain differences of mice in the "Bruce effect" were examined among five inbred strains; C3H, C57BL/6, BALB/c, CBA and DDY. For mating, 3 virgin adult females were caged together with an adult male at 8~20 weeks of age, and checked daily for copulation for a maximum of 10 days. The females were removed from the male when the vaginal plug was found, and housed with strange or alien males for 8 or 15 days. The "Bruce effect" was evident in C3H, BALB/c, CBA and DDY strains having high percentages of blocked pregnancies on alien males. In contrast, C57BL/6 strain showed no such effect. Based on these findings, it was concluded that "Bruce effect" caused by alien male pheromone showed strain differences among different strains of mice.

雄フェロモンによるマウスの妊娠阻止に関する研究

I. Bruce 効果の系統差について

古 舘 専 一・中 野 健 司

北里大学医学部実験動物学

動物自身が産生し他の同種個体に影響をおよぼす匂い（フェロモン）は動物の社会生活上重要な環境因子の一つである。

特に、雌マウスにおいて、嗅覚刺激は生殖内分泌機能に重要な影響をおよぼすことが報告されている [14]。Van der Lee and Boot [11] は雌マウスをグループ飼育すると偽妊娠が頻繁におこり発情周期が乱れることを報告した (Lee-Boot effect)。Whitten [12,13] は雄の尿中に存在するフェロモンにより発情周期が規則的乃至同期化することを報告した (Whitten effect)。フェロモンは、また、幼若雌の性成熟に促進的に作用することが Vandenberg [9,10] により報告されている。一方、Bruce [1-5] は妊娠初期（交尾後4日以内）に

雌マウスを交尾した相手以外の雄と近接或いは同居させると妊娠阻止がおこることを報告した (Bruce effect)。その後の研究 [6] において、Bruce 効果には系統差が存在することが示唆されたが、未だ不明の点も多い。

本研究では雄近接に対する雌マウスの妊娠阻止反応における系統差および近接雄の系統差によって同一系統マウスの妊娠阻止反応にどのような違いがみられるかを検討し従来の成績と比較したので報告する。

材料および方法

実験に使用した動物は本大学医学部実験動物施設において繁殖・供給している C3H, C57BL/6, BALB/c,

CBA および DDY 系の各近交系マウスである。動物の生産は追いかけて妊娠方式である。即ち、分娩時から哺乳期間中両親と同居飼育し、離乳時に雌雄別々のケージに収容した。実験には 8～20週令の成熟動物を用いた。動物は温度 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50\pm 5\%$ 、明14時間・暗10時間（05：00点燈，19：00消燈），換気回数15回/時間のオールフレッシュエアー方式の飼育室にて，固型飼料（CMF；オリエンタル酵母）と水を常時給与して飼育された。交配雄は雌と同系のものとし，雄1匹当り雌3匹を最長10日間同居させ，毎日午前中に膣栓の存在により交尾を確認した。交尾が確認された雌はその当日に通気可能な仕切り板ごとに水・餌が別々に摂取出来る様にして，剖検時の8日目（膣栓確認日を0日），一部の群については15日目まで実験雄と近接させ雄フェロモンの影響下においた。交配後の雌に対する近接雄群は下記の如くである。交配雄との近接群（対照群：以後交配雄群），交配雄と同系の雄群および異系雄群。実験群の一部は交尾後剖検時まで膣垢をスポイト法により採取した。膣垢像は風乾後ギムザ染色し鏡検して常法により発情休止期，発情前期および発情期に分類した。妊娠の維持および阻止の判定は剖検時の着床の有無により行なった。実験成績は X^2 検定により有意差の検定を行ない，危険率5%を有意水準とした。

成 績

C3H 雌：成績は表1に示した。C3H 雌の交配雄群，C3H 雄群および C57BL/6 雄群に対する 妊娠阻止反応はいずれも低率であった。しかし，BALB/c 雄群に対する妊娠阻止反応は86.7%と高率に認められ，交配雄群，C3H 雄群および C57BL/6 雄群との間に有意差（ $P <$

Table 1. Effects of strange or alien male pheromone on the block of pregnancy in mated C3H females

Partner given after mating stud male	Blocked No.	pregnancies Percent
1 C3H (stud male)	1/12	8.3
2 C3H	1/12	8.3
3 C57BL/6	3/12	25.0
4 BALB/c	13/15	86.7

Respective mated females were autopsied on the 8th or 15th days.
 $P < 0.01$ 1 vs 4, 3 vs 4.

0.01)があった。なお，妊娠阻止群の膣垢像は発情前期，発情期を示し，発情周期が回帰した。

C57BL/6 雌：C57BL/6 雌は交配雄群，C57BL/6 雄群，C3H 雄群および BALB/c 雄群と近接させた。表2に示した如く，いずれの雄近接群においても妊娠阻止は全く認められないか或いはわずか1例を認めるにすぎなかった。なお，膣垢像は発情休止期のみを示して経過した。

Table 2. Effects of strange or alien male pheromone on the block of pregnancy in mated C57BL/6 females

Partner given after mating stud male	Blocked No.	pregnancies Percent
1 C57BL/6(stud male)	1/12	8.3
2 C57BL/6	1/11	9.1
3 BALB/c	0/12	0
4 C3H	1/12	8.3

Respective mated females were autopsied on the 8th or 15th days.

BALB/c 雌：BALB/c 雌は交配雄群，BALB/c 雄群，C3H 雄群および C57BL/6 雄群と近接させた。成績は表3に示した。交配雄群の妊娠阻止率は低かった。しかし，BALB/c 雄群，C3H 雄群および C57BL/6 雄群の妊娠阻止率はいずれも50%を示した。

Table 3. Effects of strange or alien male pheromone on the block of pregnancy in mated BALB/c females

Partner given after mating stud male	Blocked No.	pregnancies Percent
1 BALB/c (stud male)	1/11	9.1
2 BALB/c	6/12	50.0
3 C3H	7/14	50.0
4 C57BL/6	7/14	50.0

Respective mated females were autopsied on the 8th or 15th days.
 $0.1 < P < 0.05$ 1 vs 2, 3 and 4.

CBA 雌：CBA 雌は交配雄群，CBA 雄群，C57BL/6 雄群および BALB/c 雄群と近接させた。成績は表4に示した。交配雄群 および CBA 雄群 に対する妊娠阻止反応は低率であった。しかし， C57BL/6 雄群および

BALB/c 雄群の近接に対する妊娠阻止率は非常に高く、交配雄群および CBA 雄群との間に夫々 $P < 0.01$, $P < 0.05$ の有意差が認められた。

Table 4. Effects of strange or alien male pheromone on the block of pregnancy in mated CBA females

Partner given after mating stud male	Blocked No.	pregnancies Percent
1 CBA (stud male)	1/12	8.3
2 CBA	3/12	25.0
3 C57BL/6	12/12	100
4 BALB/c	10/12	83.3

Respective mated females were autopsied on the 8th days.
 $P < 0.01$ 1 vs 3, 1 vs 4, 2 vs 3.
 $0.01 < P < 0.05$ 2 vs 4.

DDY 雌 (表 5): DDY 雌は交配雄群, DDY 雄群, C57BL/6 雄群および BALB/c 雄群と近接させた。成績は表 5 に示した。交配雄群と DDY 雄群に対する妊娠阻止反応は低率であった。しかし, C57BL/6 雄群および BALB/c 雄群に対する妊娠阻止反応は高率で, 交配雄群および DDY 雄群との間に有意差が認められた。

Table 5. Effects of strange or alien male pheromone on the block of pregnancy in mated DDY females

Partner given after mating stud male	Blocked No.	pregnancies Percent
1 DDY (stud male)	2/12	16.7
2 DDY	1/12	8.3
3 C57BL/6	9/12	75.0
4 BALB/c	12/12	100

Respective mated females were autopsied on the 8th days.
 $P < 0.01$ 1 vs 4, 2 vs 4.
 $0.01 < P < 0.05$ 1 vs 3.

考 察

交尾後の雌は交尾した相手以外の雄フェロモンにより妊娠阻止を起こすが (Bruce effect), その反応性には顕著な系統差が存在することが本実験成績から明らかになった。

C57BL/6 雌は異系統雄をも含めていずれの雄に対し

ても妊娠阻止が認められず “妊娠阻止非感受性系統” であることが示された。この C57BL/6 の成績は Chapman and Whitten [6] が C57BL/10 について報告した成績とよく一致した。

BALB/c 雌では, 交尾した BALB/c 雄をも含めていずれの雄系統の近接に対しても半数のものに妊娠阻止が認められた。Chapman and Whitten [6] は BALB/c 雌を “妊娠阻止感受性系統” であると指摘したが, 本実験の成績はそれを裏付けている。

C3H 雌では, 異系統の C57BL/6 雄に対して妊娠阻止反応が低率であったが, BALB/c 雄に対して有意 ($P < 0.01$) に高い反応性を示した。このことは雌マウスの妊娠阻止反応に対して近接させる雄側の系統差も関与していることを示すもので, BALB/c 雄は妊娠阻止誘起性が高く, C57BL/6 雄は低いという Chapman and Whitten [6] の成績とよく符合した。この雄側の妊娠阻止誘起性の系統差は血中アンドロジェン依存性であることが, Hoppe [8] により示唆されている。

CBA 雌は異系統雄に対して有意 ($P < 0.01$) に高い妊娠阻止反応性を示した。しかし, C3H 雌に認められたような異系統雄の間で顕著な反応の差異は認められなかった。CBA 雌については, Bruce [5] が類似の成績を報告している。

更に, DDY 雌では, CBA 雌と同様に異系統雄群に対してのみ有意 ($P < 0.05$) に高い妊娠阻止反応が認められた。この DDY 系の成績については他に比較すべき報告はみられない。

ところで, Bruce 効果における妊娠阻止の直接の原因は妊娠黄体の機能停止であることを示唆した報告がある [7]。妊娠阻止雌にみられた膈垢の発情期像の出現はそれを裏付けているように思われる。フェロモンは発情周期に対して促進的に作用することが知られている (Whitten 効果) ので, このような状況から推測すれば, フェロモンにより先ず FSH, LH の分泌が促進され, その結果発情が誘発されて不妊に至るのかもしれない。しかし, 本効果の機序については, 今後の詳細な追究が必要である。

要 約

雄フェロモンに反応して妊娠阻止を生ずる Bruce 効果について, C3H, C57BL/6, BALB/c, CBA および DDY 系の 5 近交系マウスを用いて比較・検討した。

各近交系マウスは 同系雄と 交配し 交尾確認後, 交配

雄, 非交配の同系雄, 異系雄との近接を行ない妊娠阻止反応を調べた。

交配雄および同系雄に対する妊娠阻止反応は BALB/c 系の場合を除いて, いずれも低率であった。C3H, BALB/c, CBA および DDD 系では, 異系雄に対して妊娠阻止がおこり Bruce 効果が認められた。その効果は CBA および DDD 系において顕著であった。C3H 系では異系の BALB/c 雄の近接に対して著明な妊娠阻止反応を示した。しかし, C57BL/6 系では交配雄および異系雄の近接共に, Bruce 効果は認められなかった。

以上の結果, Bruce 効果には雌系統間で顕著な差異が存在することが明らかになった。

稿を終えるにあたり, 動物の繁殖・供給に御協力戴きました本大学医学部技術員・吉田修氏に深く感謝する。

本論文の一部は第11回日本実験動物研究発表会において報告した。

文 献

- [1] Bruce, H. M. (1959). An exceroceptive block to pregnancy in the mouse. *Nature*, **184**, 105.
- [2] Bruce, H. M. (1960). A block to pregnancy in the mouse caused by proximity of strange males. *J. Reprod. Fert.*, **1**, 96-103.
- [3] Bruce, H. M. (1960). Further observation on pregnancy block in mice caused by proximity of strange males. *J. Reprod. Fert.*, **1**, 311-312.
- [4] Bruce, H. M., and Parkes, A. S. (1960). Hormonal factors in exceroceptive block to pregnancy in mice. *J. Endocrinol.*, **20**, 29-30.
- [5] Bruce, H. M. (1961). Time relations in the pregnancy-block induced in mice by strange males. *J. Reprod. Fert.*, **2**, 138-142.
- [6] Chapman, V. M., and Whitten, W. K. (1969). The occurrence and inheritance of pregnancy block in inbred mice. (Abstract), *Genetics*, **61**, S 9.
- [7] Dominic, C. J. (1966). Observation on the reproductive pheromones of mice. II Neuro-endocrine mechanisms involved in the olfactory block to pregnancy. *J. Reprod. Fert.*, **11**, 415-421.
- [8] Hoppe, P. C. (1975). Genetic and endocrine studies of the pregnancy-blocking pheromone of mice. *J. Reprod. Fert.*, **45**, 109-115.
- [9] Vandenbergh, J. G. (1967). Effect of presence of a male on sexual maturation of female mice. *Endocrinology*, **81**, 345-359.
- [10] Vandenbergh, J. G. (1969). Male odor accelerates female sexual maturation in mice. *Endocrinology*, **84**, 658-660.
- [11] Van der Lee, S., and Boot, L. M. (1956). Spontaneous pseudopregnancy in mice. *Acta Physiol. Pharmacol. Neerl.*, **4**, 442-444.
- [12] Whitten, W. K. (1956). Modification of the oestrous cycle of the mouse by external stimuli associated with male. *J. Endocrinol.*, **13**, 339-404.
- [13] Whitten, W. K. (1958). Modification of the mouse by external stimuli associated with the male, changes in the oestrous cycle determined by vaginal smears. *J. Endocrinol.*, **17**, 307-313.
- [14] Whitten, W. K. and Champlin, A. K. (1973). The role of olfaction in mammalian reproduction. *Handbook of Physiology, Endocrinology II, Part I*, Ed., Greep, R. O., American Physiology Society, Washington, D. C., 109-123.