ラットの人工授精に関する研究

I. 偽妊娠誘起, 採精, 注精術技について

尾川 昭三・鈴木 善祐

(東京大学農学部家畜生理学研究室)

まえがき

小実験動物の人工授精については、マウスに 2~3 の報告^{1,2)}を見るがラットでは BLANDAU et al.³⁾の報告を見るに過ぎない。彼らは感応電流により子宮頸を刺戟した後、“Copulatory response”で授精適期を判定し、これに副睾丸から採取した精液を子宮頸管内に注入して正常交尾に於ける受胎率に近い成績を得たと報じている。

著者の 1 人、鈴木^{4,5)}はラットに 2~3 の特異的射精反応を見出し、特にエーテル射精反応によつて動物を殺すことなく容易に採精出来る様になった。因つてこれを採精法に用い、ラット人工授精を企図し、偽妊娠誘起法注精部位並びに注精適期などに就て吟味し、一応この面の研究を進展せしむる方途を得たので報告する。

実 験

実験動物：当研究室で累代繁殖せる Wistar 系の成熟雄、雌ラットを用いた。雌は体重 145~210 g の処女であらかじめ陰垢検査法により正確に 4 日の性周期を示すものを撰びおき、朝 9 時陰垢像 I 期を示すものに就て当

第 1 図

Studies on the artificial insemination in the rat. I. Induction of pseudopregnancy, collection of semen and technique of insemination. OGAWA, S. & Y. SUZUKI (Veter. Physiol., Agric., Univ. Tokyo, Tokyo) *Jap. J. Animal Reprod.* 1, (2)

日実験に使用した。

偽妊娠誘起法：ラットは交尾しない限り機能黄体の生じない周期を反復するから、人工授精により受胎を望むには機能黄体の存する状態即ち、偽妊娠を先ず誘起せしめねばならぬ。この為に著者らが行つた方法は下記の如くである。即ち、長さ 4 cm, 径 0.05 cm, 先端以外絶縁した刺戟電極を陰部に挿入して先端を子宮頸に達せしめ、他方長さ 10 cm, 径 0.3 cm, 先端径 0.4 cm の球状（球状部以外絶縁）の不感電極を直腸に 5 cm 程挿入し、此の間に所定の弱交流電流を 15 秒間隔で 15 秒間 2 回通電した。

この方法に於ける刺戟電圧、刺戟時刻と偽妊娠誘起率の関係を 276 例について追究した結果は第 1 図に示す如く、7.5 V で 4~10 p. m. の間に刺戟したものが最もよく 80% 内外の誘起率を得た。従つてこの条件を以下の実験に用いた。

授精適期の判定：自然交尾のおこる時期は LONG & EVANS⁶⁾によると陰垢像 I~II 期であるというが、BLANDAU⁷⁾は陰垢像と授精適期とは往々一致しないことがあり“Copulatory response”で判定するのが最もよいと報じた。しかし当研究室の動物群ではこの反応が判然とせず使用出来なかつた。しかし幸なことに EVERETT⁸⁾は規則正しい 4 日周期ラットでは、その排卵時刻が 1~3 a. m. の間に起ることを確認しているから、かかる動物では授精適期も略まとまつた一定時刻を示すものと推定し、正しく 4 日周期を示すものを撰び注精時刻を種々変えて受胎率との関係から注精適期を追究したのである。

注精々液：エーテル射精反応より得た活潑運動精子を速やかに注精に用いた。尚偶発射精⁹⁾によるものも数例用いた。注精量は 1 匹の雌に対し、1 回の採精液全量を用いた。

注精術技：1) 陰内注精；偽妊娠誘起刺戟前後の種々の時刻に陰内注精を行つた。精液は原精液を用い、滅菌ガラス製のスポイトをもつて陰内深く注入した。この実験に於て偽妊娠成立 42 例を得たが、全例ながら受胎しなかつた。

吟味の結果、陰内では注入精子が 15 分以内に完全に

運動性を失うことが判明したので、不受胎の原因は精子が受精部位に達し得ない為と推定される。

2) 開腹子宮角内注精；以上の成績に鑑みて、子宮角内への直接注精を行つた。即ち、 $\frac{1}{2}$ 皮下注射針を附したツベルクリン注射筒に精液を吸入し、針を開腹露呈した子宮壁を通して子宮角腔に達せしめ注精を行つた。精液は原精液及び生理食塩液 0.4cc に浮游した 2 種を用い、各々 6 例ずつ、8.5~10 p. m. の間に注精した。なお偽妊娠誘起刺戟は注精前 2 時間以内に行つた。結果は原精液群では 6 例中 5 例、食塩液浮游群では 6 例中 4 例が受胎し、共に予期以上の成績を得た。しかしこの方法では開腹手術を要する欠点がある。

第 2 図 保 定 台

3) 子宮頸管を通し子宮角内注精；操作の簡易化時間の短縮を計る意味より本法を行つた。

通常保定では子宮頸管長軸と膈長軸が一直線にならず従つて子宮外口を明視し難く注精が困難である。この為著者らは第 2 図の如き特別な保定台を作り、これにより動物を背位に保定し、B 板を下方に適當の角度まで回転し腰仙部において軀幹をそらせば子宮頸管長軸と膈長軸が一直線になり子宮外口は明視可能となる。膈鏡として小児用朝顔形耳鏡を用い、ランプ付き額帶鏡の照明のもとに子宮外口を明視しながら、先端を鈍磨せる $\frac{1}{2}$ 皮下注射針を子宮頸管を通して約 1 cm 程挿入し、これに接続するツベルクリン注射筒により子宮角内へ注精を行つた。精液は総て生理食塩液約 0.4 cc に浮游せしめたものを用い、注精時刻と受胎率の関係を追究した。成績は第 1 表に示す如くで、3~6 p. m. の間の注精例では偽妊娠が可成り成立したにも拘らず 1 例も受胎しなかつた。然るに 8~11 p. m. の間に注精したものでは 25 例中 15 例受胎し 60% の受胎率を示した。就中 10~11 p. m.

の間に注精したものは 7 例中 6 例受胎する好成績を挙げ得た。なお当研究室の常時繁殖の成績 (1952 調) では膈栓の検出されたもの 77 例については 64% の受胎率である。従つて 8~11 p. m. の成績は、ほぼこれに匹敵するものと考えられる。

むすび

ここに得られた成績からすれば、規則正しく 4 日周期を示すラットで、朝 9 時陰垢像 I 期を示すものを選び、当日 8~10 p. m. に弱交流電流 7.5 V の子宮頸刺戟により、偽妊娠誘起を計り、次いでエーテル射精反応により得た精液を 8~11 p. m. に子宮頸管を通して子宮角内

第 1 表

注精時刻	刺戟 電圧	検精 動物数	偽妊娠 誘起数	妊娠成立		
				数	妊娠 偽妊娠	授精
3~4 p. m.	7.5 V	6	2	0	0 %	0 %
5~6	"	5	4	0	0	0
7~8	"	5	3	1	33	20
8~9	"	7	4	2	71	45
	3.0	4	3	3		
9~10	7.5	7	6	4	66	57
10~11	"	7	6	6	100	86

註. 偽妊娠刺戟は注精前 2 時間以内に行つた。

に注精すれば可成り良好な受胎率を得ることが出来る。本法は動物を殺さずに採精している点、更に偽妊娠誘起操作の簡易な点で BLANDAU らの行つた方法より秀れているものと考えられる。なお注精の至適時刻範囲については 11 p. m. 以後の実験を行っていないので現段階では明瞭な結論は下し得ない。又注精時刻が夜間に入る点で将来更に改良を要する。(1955. 5. 23 受付)

文 献

- 1) SNELL, G. D., K. P. HUMMEL & W. H. ABELMANN: *Anat. Rec.* 90, 243, 1944.
- 2) KILE Jr., K. C.: *Anat. Rec.* 109, 109, 1951.
- 3) BLANDAU, R. J. & E. S. JORDAN: *J. Lab. & Clin. Med.* 26, 1361, 1941.
- 4) 鈴木(善): 医学と生物. 17, 156, 1950.
- 5) 鈴木(善): 日獣学誌. 114, 115, 1952.
- 6) LONG, J. A. & H. M. EVANS: The oestrous cycle in the rat. *Memoirs of Calif.* Vol. 1, 1922.
- 7) BLANDAU, R. J., J. L. BOLING & W. C. YOUNG: *Anat. Rec.* 79, 453, 1941.
- 8) EVERETT J. W.: *Ciba Found. Coll. on Endocrinol.* Vol. 4, 167, Blackiston, Co., 1952.