牛 卵 子 の 成 熟 分 裂*

I. 無処置牛卵子の成熟分裂

石 橋 功

(千葉大学園芸学部)

哺乳動物卵子の成熟過程に関する研究は、発情や HCG 注射との関連において、或いは培養により、ラット¹⁾、マウス²⁾、家兎³⁻⁵⁾、ハムスター⁶⁾、羊⁷⁾及び豚⁸⁾について明らかにされている。

哺乳動物の卵子は胎生期に盛んに分裂増殖を繰返し、遂に出生前後の時期に第 1 卵母細胞となつて休止する。すなわち、prophase I の pachytene stage を経て、dictyotene とよばれる diplotene の遅い stage において休止するのであり、この状態は性成熟までつづく^{2, 6, 9-12)}。

また、犬¹³⁾、狐¹⁴⁾及び馬¹⁵⁾を除く多くの哺乳動物卵子の排卵は、第 1 極体を形成し、metaphase II に達して行なわれる。牛における精子の成熟分裂の詳細¹⁶⁾はすでに明らかにされているが、卵子については、初期発生¹⁷⁾を除いてその様相は明らかでない。

以上のことより、成熟動物における卵子の最終的成熟は、diplotene において開始され、metaphase II に至って完了することを知るが、私は牛卵子についてこの過程を追究した。

材料及び方法

1 日 4 回精管結紮牡牛による許容の有無、直腸及び粘液検査等によって、3 性周期以上の調査を行い、性周期の長さ 20-22 日の Hereford 若雌牛 13 頭を本研究に使用した。供試牛は、発情開始前 1 及び 2 日、発情の初期 (6-8 時間以内)、後期の 4 期にわけてこれを屠殺した。

採卵は生理的食塩水を用いて、濾胞から直接注射器で吸引する方法を試みたが、殆んどの場合卵子を紛失した。そしてその原因が、卵胞細胞群の高い粘稠度にあるらしいことに気付いたので、その後は少量のスプレーゼを加えた食塩水を予め濾胞内に注入した後、注射器で吸

引することによって採卵に成功した。本研究における採卵はすべてこの方法によった。

観察は、卵子をスライド上におさえて、10-20% の acetic alcohol で 10-20 分間固定し、直ちに、或いはさらに 1% lacmoid による 10-20 分の染色をしたのち、位相差顕微鏡下に行なった。

結果及び考察

発情並びに濾胞の大きさとの関連において、34 卵子を観察した結果は Table 1 の通りであった。すなわち、発情開始前 2 日の牛から 4 個 (最大濾胞 9.8 mm)、1 日の牛から 5 個 (最大濾胞 13 mm) の卵子を得、これを観察したが、これらの卵子は核膜を有して休止した状態、すなわち diplotene stage にあった。発情初期 (開始後 6-8 時間以内) の牛 4 頭から計 9 個の卵子を得たが、各牛の最大濾胞 (11 mm 以上) からのものは、核膜を消失して metaphase I の stage にあった。残りの濾胞はすべて 10 mm 以下であり、いずれも prophase I に静止していた。発情後期に 7 頭の牛を屠殺して、12 mm 以上の濾胞から 7 個、8 mm 以下の濾胞から 9 個、計 16 個の卵子を得た。小濾胞からのものは 1 個の退化卵子を除き、すべての卵子は prophase I にあり、大濾胞からのものは、1 個が退化卵子であったほか、metaphase I (1), telophase I (1), 及び metaphase II (4) の種々の stage にあった。

これらの結果を濾胞の大きさと成熟分裂の stage との関係においてみると (Table 2)、発情開始前 1 日の 1 個の卵子を除いて、prophase I は 10 mm 以下の小濾胞内卵子にみられ、metaphase I 及びそれよりすん

Maturation division of bovine oocytes. I. Maturation division of the oocytes in ovulated cattle. ISHIBASHI, I. (Fac. Horticult., Chiba Univ.) *Jap. J. Animal Reprod.* 10 (4), 1965.

* 本研究は Washington State University で、Dr. E. S. E. HAFEZ と共同で行なったものであり、*Proc. 5th Inter. Congr. Animal Reprod. (Italy)* 及び *Cytogenetics*, 3: 167-183, 1964. に発表した。なお、National Institutes of Health から研究費 (Grant no. GM 10282-01) の援助を受けた。

Table 1 Maturation division of bovine oocytes in relation to follicle diameter and onset of estrus.

Follicle diameter (mm)	Estimated stages					Total no. of oocytes
	Proestrus		Early estrus*	Late estrus		
	−2 days	−1 day				
3.1– 6	Prophase I (3)	Prophase I (3)	Prophase I (3)	Prophase I (7) Degenerating (1)	17	
6.1– 8		Prophase I (1)	Prophase I (1)	Prophase I (1)	3	
8.1–10	Prophase I (1)		Prophase I (1)		2	
10.1–12			Metaphase I (1)		1	
12.1–14		Prophase I (1)	Metaphase I (1)	Metaphase I (1) Telophase I (1) Metaphase II (1)	5	
14.1–16			Metaphase I (2)	Metaphase II (1) Degenerating (1)	4	
16.1–18				Metaphase II (2)	2	
Total	4	5	9	16	34	

* Within 6 to 8 hours after onset of estrus

() No. of oocytes observed

Table 2 Maturation division of bovine oocytes in relation to follicle diameter.

Follicle diameter (mm)	No. of oocytes observed at varying stages						Total no. of oocytes
	Prophase I	Metaphase I	Anaphase I	Telophase I	Metaphase II	Degenerating	
3.1- 6	16					1	17
6.1- 8	3						3
8.1-10	2						2
10.1-12		1					1
12.1-14	1*	2		1	1		5
14.1-16		2			1	1	4
16.1-18					2		2
Total	22	5		1	4	2	34

* One oocyte recovered within one day before estrus.

だ stage の卵子は 10 mm 以上の濾胞内卵子にみられる。

以上のことから、発情開始前すでに濾胞は 12 mm 以上にまで発育するが、核は prophase I に静止して居り、核膜の消失もみられない。

発情を開始してその初期に metaphase I にすすみ、後期に至れば急速に metaphase II へ向って成熟を遂げることがわかる。HENRICSON & RAJAKOSKI¹⁷⁾は牛卵

子の初期発生の段階は、出生時にすでに完了することを明らかにした。すなわち彼等によれば、5—6 カ月令胎児の卵巣にはすでに pachytene stage に達して暫く静止している第 1 卵母細胞を含み、8 カ月令胎児の第 1 卵母細胞は、この stage で静止しているか、或いは若干の卵子は数層の濾胞上皮細胞にかこまれて、dictyotene にまですすむものがあることを明らかにした。さらに出生後 2.5 カ月までの犢の卵巣においては、濾胞の数が増大

し, 12—17 カ月の若雌牛の卵巢における小濾胞内卵子は, pachytene, 又は pachytene から dictyoten への移動期にあり, 大濾胞 (6—10 mm) 内卵子は dictyotene にあることも観察した。このような過程は, 家兎⁹⁾, マウス^{2, 10)} 及び人^{11, 12)} にもみられ, ハムスター⁶⁾ においても発情前の濾胞内卵子はすべて diplotene stage にある。また本研究において, 10 mm 以上の大濾胞内卵子のみが成熟を開始して, 発情初期には metaphase I に, 後期には種々の stage にすすむことを明らかにしたが, このような過程は, ラット¹⁾, マウス²⁾, 家兎³⁾, ハムスター⁶⁾, 羊⁷⁾ 及び豚⁸⁾ 等にもみられる傾向と似ている。

要 約

13 頭の Hereford 若雌牛の卵巢濾胞から, 34 個の卵子を得, 細胞学的に牛卵子の成熟分裂の過程を観察した。

1) 発情開始前, 濾胞は径 13 mm にも達するが, 核はすべて prophase I にあった。

2) 発情初期の 10 mm 以上の濾胞から得た 4 個の卵子はいずれも metaphase I に, 発情後期の 12 mm 以上の濾胞から得た 7 個の卵子は, metaphase I (1), telophase I (1) 及び metaphase II (4) の種々の stage にあったほか, 1 個は退化卵子であった。

3) 10 mm 以下の小濾胞卵子は, 発情開始後も prophase I に静止したままであった。

4) 以上のことから, 発情開始前, 濾胞はほぼ full size に近くまで発育するが, 核は prophase I にある。発情開始と共に 10 mm 以上の濾胞内卵子のみが成熟を

開始して metaphase I にすすみ, 以後の stage は発情の後期において急速にすすむことを知った。

(1964, 8, 20 受付)

文 献

- 1) ODOR, D. L.: *Am. J. Anat.* **97**, 461, 1955. 2) EDWARDS, R. G. & A. H. GATES: *J. Endocrinol.* **18**, 292, 1959. 3) PINCUS, G. & E. V. ENZMANN: *J. Exp. Med.* **62**, 665, 1935. 4) MORICARD, R.: *Bull. Biol. Suppl.*, 28, Masson et Cie, 1940. 5) MORICARD, R. & S. GOTHIE: *Mammalian Germ Cells* p. 180, J. & A. Churchill LTD., London, 1953. 6) HARVEY, E. B. & M. C. CHANG: *J. Cell & Comp. Physiol.* **61**, 133, 1963. 7) BERRY, R. O. & H. P. SAVERY: *J. Reprod. & Fertil. III Symposium* 75, Pergamon Press, N. Y. 1958. 8) SPALDING, J. F., R. O. BERRY & R. G. MOFFIT: *J. Animal Sci.* **14**, 609, 1955. 9) PINCUS, G. & E. V. ENZMANN: *J. Morph.* **61**, 351, 1937. 10) BORUM, K.: *Exp. Cell Res.* **24**, 495, 1961. 11) SLIZNSKI, B. M.: *Nature* London, **189**, 683, 1961. 12) MANOTAYA, T. & E. L. POTTER: *Fertil. & Steril.* **14**, 378, 1963. 13) EVANS, H. M. & H. H. COLE: *Mem. Univ. Calif. Press* **9**, 65, 1931. 14) PEARSON, O. P. & R. K. ENDERS: *Anat. Rec.* **85**, 69, 1943. 15) HAMILTON, W. J. & F. T. DAY: *J. Anat.* **79**, 127, 1945. 16) KNUDSEN, O. & N. BRYNE: *Acta Vet. Scand.* **1**, 140, 1960. 17) HENRICSON, B. & E. RAJAKOSKI: *Cornell Vet.* **49**, 494, 1959.