ラットの人工授精に関する研究 III. 人工晝夜転倒飼育

ラットに於ける膣垢像及び排卵時刻に就いて

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

筆者らはラットの人工授精について実験を行い、満足すべき成績を得たことを第 I 報¹⁾として報告したが、此の方法では注精時刻が夜間に限られるので人工授精の研究進展の手段としてこれを用うるには、なお不便を感じる。因つてこれが改良を試みた。すなわち注精時刻を昼間にもたす為、昼間を暗黒にし夜間に照明を与え、人工的に昼夜を転倒し、排卵時刻の転倒を計つた。

本報では以上の如く人工的に昼夜を転倒した条件において動物の膣垢像のリズムの変化及びその排卵時刻に就いて報告する。

なお実験動物は当研究室で累代繁殖せる Wistar 系の成熟処女ラットで体重 151~210 g, あらかじめ膣垢検査法に依り正確に 4 日の性周期を示すものを選んだ。

I. 実験成績

第 1 表 人工昼夜転倒条件においた後発情期の逆転する迄に要した日数 (膣垢像の昼夜のリズムから判定)

日 数	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	計
動物数	1	3	3	4	3	1	4	6	2	1	2	5	1	36

第 1 図

Studies on the artificial insemination in the rat. III. On the rhythm of vaginal smear and the time of ovulation in the rats kept under the condition of artificially reversed day and night. OGAWA, S. & Y. SUZUKI (Vet. Physiol., Agric., Univer. Tokyo.) *Jap. J. Animal Reprod.* 3 (2).

人工昼夜転倒の方法は、動物を暗室中で飼育し、タイムスイッチ(三菱電機製品)に依り自動的に 7 p.m.~9 a.m. の 14 時間点灯する様に調整した。これに依り 9 a.m.~7 p.m. の昼間時間が暗黒になる。照度は大体 20 ルックス内外である。

1. 膣 垢 像

自然昼夜で正常 4 日の性周期を示すものを 4 周期の間膣垢像を調べ、次いで人工昼夜にもたらしした。毎日 9 a.m. と 7 p.m. に膣垢を採取し変化を追跡した。その成績は第 1 表に示す如くで個体に依り区々で 1 様に第何日目から昼夜の関係が逆になると明言し得ないが此の条件にもたらししてから 1 性周期だけは何れも自然昼夜に於けるものと同様の型を示し、10~23 日経過すると規則正しく、しかも自然昼夜に於けるものと位相が 12 時間ずれた膣垢像のリズム (第 1 図), を示す様になった。すなわち、自然昼夜ラットでは I 期は 9 a.m. 及び 7 p.m. に見られ此の日をもつて第 1 日とすると第 2 日 9 a.m. 及び

7 p.m. は II~III 期, 第 3 日 9 a.m. IV 期, 同日 7 p.m. V 期, 第 4 日 9 a.m. 及び 7 p.m. V 期を示すのに対し, 人工昼夜のものでは I 期は 7 p.m. に始めて見られ此の日を第 1 日とすれば同日 9 a.m. は V 期, 第 2 日 9 a.m. I 期, 同日 7 p.m. II 期, 第 3 日 9 a.m.

Ⅲ期, 同日 7 p.m. Ⅳ期, 第 4 日 9 a.m. 及び 7 p.m. Ⅴ期を示す様になる (即ち位相が 12 時間ずれて自然昼夜との関係が反転することを示す)。従つてかかるリズムを示すものは発情期が昼夜逆転したものと推定される。

2. 排 卵 時 刻

EVERETT²⁾ は 5 a.m. ~ 7 p.m. の 14 時間照明, 7 p.m. ~ 5 a.m. の 10 時間暗黒の条件下のラットでは陰垢像 I 期を示した翌日の 1~3 a.m. の間に排卵の起ることを確めている。われわれの人工昼夜条件では 1~3 a.m. は丁度 3~5 p.m. に相当するので, 発情期の反転と共に排卵時刻の反転も起っているならば 7 p.m. に I 期像を示した翌日の 3~5 p.m. に排卵が起るものと考えられる。従つて此の時刻を中心として 1~5 p.m. の間に排卵の有無を調べた。

すなわち, 前述のように発情期の逆転した周期を 2~3 回規則正しく示した動物 34 例につき 7 p.m. に陰垢像 I 期を認めた翌日の 1~5 p.m. の種々の時刻にエーテル麻酔で殺し, 卵管を卵巣及び子宮から注意して分離, スライドグラス上にのせ, 生理食塩液を 1 滴滴下する, 次いで他のスライドグラスで被い, 上からわずかに圧しつつ解剖用のルーペで卵の存在を検した。又これと同時に卵巣をブアン液で固定, パラフィン包埋, 10 ミクロンの切片を作り, ヘマトキシリン・エジン染色, 鏡検した。

成績は第 2 表に示す如くで, preovulatory swelling follicle, 排卵の進行しつつあるもの或は卵管中に卵子が認められ, 推定の排卵時刻と完全に一致していることを示している。すなわち 先ず membrana granulosa, tunica albuginea 等が非常に薄くなつた卵胞壁が卵巣表面に突出する典型的な preovulatory swelling follicle が存在し, 時間の経過と共に卵子は卵丘から遊離するものが多くなり (3~4 p.m.), 甚だしいものになると卵胞の卵巣表面側に向つて移動しているものが認められた (3:30~5 p.m.), 卵管内の卵子はすべて ampulla の部分で見られ, 排卵時に伴つてきた卵胞細胞で囲まれて存在し, 外部から圧力をかけて移動させてもこの状態をくずすことが出来なかつた。又此の ampulla の部分は卵子の存在しない場合は厚い層をなし且つあまり拡張していないのであるが, 卵子の存在する場合は前者と対照的に非常に層が薄くなつて拡張しているのが認められた。卵子の卵管に認められたもの及び認められなくても卵管所見から排卵と推察されたもの全例に於いて ruptured follicle の存在が確認された。これは未だ卵の排出面が完全に閉ざされていなく且つ内容の約 2/3 位が gran-

第 2 表 人工的昼夜転倒せるラットの排卵時刻

動物番号	剖検時刻	排卵有無	所 見
G-2-5	1:0 p.m.	—	PSF 存在
G-4-1	3:0 p.m.	—	} PSF 多し
G-4-3	"	—	
G-1-9	"	—	
G-2-2	"	—	} PSF 多し, 卵子の卵丘より遊離せる卵胞を認む
G-2-9	"	—	
G-4-2	"	—	
G-3-5	"	+	卵管内, 卵子 2 個存在
G-1-4	3:15 p.m.	—	PSF 多し
G-1-1	"	—	PSF 卵子の卵丘より遊離せる卵胞を認む
G-1-3	"	—	卵子の卵丘より遊離せる卵胞多し
G-3-3	3:30 p.m.	—	卵子の卵丘より遊離せる卵胞を認む
G-3-7	"	+	卵管の ampulla 拡張, 卵子を認めざるも RF 1 個存在
G-2-7	4:0 p.m.	—	} PSF 多く, 卵子の卵丘より遊離せる卵胞を認む
G-3-4	"	—	
G-1-6	"	—	} 卵子の卵丘より遊離せる卵胞多し
G-2-3	"	—	
G-3-4	"	+	RF 2 個を認む
G-1-10	"	+	卵管内卵子 4 個存在
G-4-5	"	+	卵管内卵子 3 個存在
G-2-4	"	+	卵管内卵子 7 個存在 RF 9 個を認む
G-3-6	4:30 p.m.	—	PSF 多く, 卵子の卵丘より遊離せる卵胞多し
G-1-2	"	+	卵管内卵子 3 個存在
G-3-8	"	+	卵管内卵子 2 個存在
G-3-9	"	+	卵管内卵子 5 個存在
G-3-2	"	+	卵管内卵子 5 個存在, 卵胞破れ卵子の放出しつつあるを認む
G-1-5	"	+	卵管内卵子 9 個存在
G-1-7	"	+	卵管内卵子 13 個存在
G-2-6	5:0 p.m.	+	卵管内卵子 3 個存在, 卵子の卵丘より遊離せる卵胞多し
G-2-10	"	+	卵管内卵子 8 個存在
G-1-8	"	+	卵管内卵子 8 個存在, 卵胞破れ卵子の放出しつつあるを認む
G-2-10	"	+	卵管内卵子 8 個存在
G-4-4	"	+	卵管内卵子 10 個存在
G-2-8	"	+	卵管内卵子 13 個存在

註. PSF : preovulatory swelling follicle

RF : ruptured follicle

ulosa cell で充たされているもの或は殆んど破裂面が認められなくても表面の毛細管が拡張して居り、内容の若干の空間を残して granulosa cell で充たされ、lutein 細胞が殆んど認められないことから、明らかに他の黄体や卵胞から区別し得た。又卵胞が破れ卵の放出しつつあるものも組織像でとらえることが出来た。これは破裂孔間に卵子が存在し卵胞液の破裂孔から periovarian space に流動する状態を示すかの様に卵胞内の細胞が数条の索状をなして破裂孔に向つて位置していることから判定された。なお全例に於いて hemorrhagic follicle は認められなかつた。

以上の所見において排卵が起りつつあると考えられるものは早いものでは 3 p. m. 最も遅いものでは 5:0 p. m. で、4~5 p. m. に多く認められた。又大部分排卵したと思われるもの（8 個以上排卵）は特に 4:30~5 p. m. に多く見られ、就中 5 p. m. では殆んどの例に於いて多数の放出卵の存在を確認した。

II. 論 議

ラットを人工的に昼夜転倒した条件におくと発情期が反転することは既に確められ^{3,4)}、HEMMINGSSEN 等⁵⁾はこれに最も早くて 10 日位を要すると報じている。筆者らが得た陰垢像のリズムの変化から推定しても矢張り最短 10 日を要するものと見られる。又此の条件下に於けるラットの排卵時刻に関しては筆者らの寡聞によるものか、明らかにされていない様である。マウスでは SNELL 等⁵⁾により人工転倒昼夜の暗時、すなわち 0~3 p. m. の間に殆んど排卵の起ることが報ぜられている。

尚性周期に対する温度の影響も考えられ、BROWMAN⁶⁾

は暗室飼育ラットに於いて昼夜の温度関係を自然のままにしておく通常と性周期を持続するが、昼夜と逆の関係にもたらすと性周期の陰垢像のリズムが逆になると報じている。筆者らの実験は冬季間に行つた関係上、人工暗時（自然昼間）は暖房装置に依り大体 20°C 以上、人工昼間は大体 10°C 以下に保持されているが前述の如く排卵時刻は推定時刻と一致しこの場合温度の影響は殆んど現れず、光線による支配が優位であることを示した。尚陰垢像のリズムに現れた影響から見れば人工昼夜転倒条件下にもたらした初期に於ける動物各個体の陰垢像の変化が非常に区々であり、従つて個体の光線に対する感受性には相当に差があるものと考えられる。

む す び

ラットの人工的昼夜転倒条件下に於ける性周期、排卵時刻に就いて報告した。

すなわち人工的に昼夜転倒、9 a. m. ~7 p. m. 暗黒、7 p. m. ~9 a. m. に点灯した条件の動物では陰垢像のリズムは位相が 12 時間ずれ昼夜の関係が全く逆になる。

排卵は人工的暗時の 3~5 p. m. 特に 4:30~5:0 p. m. に起ることが確められた。（1957. 9. 3. 受付）

文 献

- 1) 尾川(昭)・鈴木(善): 本誌 1, 67, 1955.
- 2) EVERETT, J. W.: *Endocrinol.* 43, 389, 1948.
- 3) BROWMAN, L. G.: *Anat. Rec.* 67, (abstr.) 107, 1937.
- 4) HEMMINGSSEN, A. M. & N. B. KRARUP, (1937): [EVERETT, J. W.: *Endocrinol.* 44, 234, 1949 より引用]
- 5) SNELL, G. D., E. FEKTE, K. P. HUMMEL & L. W. LAW: *Anat. Rec.* 76, 39, 1940.
- 6) BROWMAN, L. G.: *J. Exp. Zool.* 94, 477, 1943.