PGF_{2α} 投与による誘起分娩前後のラット卵胞の 发育と卵細胞の成熟分裂について

橋爪一善・菅原七郎・竹内三郎・正木淳二

(東北大学農学部 家畜繁殖学教室)

ラットでは分娩終了後 1~2 日以内に発情・排卵のおこることがよく知られている¹⁻³⁾。

著者らは、ラットの後分娩発情・排卵時における卵胞の发育ならびに卵細胞核の成熟をしらべて性腺刺激ホルモンとの関係を明らかにしてきた⁴⁾。

一方、LABHSETWAR はラット及びハムスターにおいて、プロスタグランジン (PG) が妊娠黄体の退行と発情回帰に有効であることを報告している^{5,6)} が、ラットにおいても PGF_{2α} が分娩の誘起に有効で⁷⁻¹¹⁾、誘起分娩後の排卵は正常分娩後の後分娩排卵と同様な時間的経過をたどることが明らかにされた¹¹⁾。しかし、PG 投与後の誘起分娩時における卵胞发育及び卵胞内卵細胞についての組織学的な検討はほとんどなされていない。

したがって、本研究では PGF_{2α} により誘起した分娩の前後における卵胞发育と卵細胞核の成熟過程について検索した。

材料及び方法

1. 供試動物

当教室で累代繁殖したウイスター系末経産雌ラットを用いた。動物はすべて 6 時点灯・18 時消灯の 12 時間照明、温度 25±1°C の条件下で飼養した。発情前期の夜雄と同居させ、翌朝腔垢中の精子を確認し、この日を妊娠第 1 日目とした。分娩は PG 投与後 30 時間目から毎時 (1 時間間隔で) 観察した。

2. PGF_{2α} 処理

PG 19 日区: PGF_{2α} (1000 µg/ml 50% エタノール・食塩液) を妊娠 19 日の 21:00 hr に皮下注射し、分娩

が妊娠 21 日の 11:00 から 19:00 hr までに終了した個体。

PG 20 日区: PGF_{2α} (1000 µg/ml 50% エタノール・食塩液) を妊娠 20 日の 9:00 hr に皮下注射し、分娩が妊娠 21 日の 20:00 から 22 日の 10:00 hr までに終了した個体。

両区の各時刻 (PG 19 日区では分娩終了後 0 時間から 2 時間間隔で 14 時間まで、PG 20 日区では分娩終了後の 10:00 hr から 2 時間間隔で翌日の 2:00 hr まで) に卵巣を採取し、ブアンで固定後、常法により 10 µ の連続切片標本を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い検鏡した。

3. 卵胞の分類

卵細胞核を有する卵胞の長径と短径を測定し、その平均値を卵胞の大きさとした。300 µ 以上の卵胞について検索し、結果は 300 µ 以上の数と 550 µ 以上の数として示した。

4. 卵胞内卵細胞核の分類

基本的には ODOR の報告¹²⁾ にもとづき germinal vesicle (GV), chromatin mass (CH), transitional stage (Trans), metaphase I (Met I), anaphase I (Ana I), telophase I (Tel), transformation of late telophase I into the second metaphase (FPB), ovulation point (Ov P) の 8 段階に分類し、それぞれ百分率で示した。

結果及び考察

550 µ 以上の卵胞数は、正常妊娠 19 日から 21 日の間では 2~3 であったが、分娩直後には約 12 と性周期の排卵数とほぼ同数に達した (Table 1)。

妊娠 19 日の 21:00 hr に PGF_{2α} を注射すると、550 µ 以上の大きな卵胞の数は 12 時間後に 12 と急増し、排卵期へ推移するにつれてさらに数を増した。また PG 20 日区では、妊娠 22 日目の 10:00 hr で 14 であった。300 µ 以上の卵胞数は、PG 投与の両区において分

Follicular development and oocyte maturation in rats just before and after parturition induced by prostaglandin F_{2α}.

HASHIZUME, Kazuyoshi, Shichiro SUGAWARA, Saburo TAKEUCHI & Junji MASAKI (Laboratory of Animal Reproduction, Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai 980)

Japan. J. Anim. Reprod. 23 (4), 1977.

Table 1. Follicular development in rats during late pregnancy

Day of pregnancy (No. of rats)	Number of follicles per animal (Mean±S. E.)	
	Follicles over 300 μ	Follicles over 550 μ
19 (5)	54.8± 2.8	2.8±0.6
20 (5)	67.2± 8.9	2.0±0.8
21 (5)	76.8±13.6	3.2±1.0
Delivery (Day 22 or 23)* (5)	43.0± 7.0**	12.6±1.8**

* Ovaries were removed soon after delivery.

** P<0.01, compared with day 21 of pregnancy.

Table 2. Follicular development in rats delivered by PGF_{2 α} injected at 21:00 hr on day 19 of pregnancy

Day of pregnancy (No. of rats)	Number of follicles per animal (Mean±S. E.)		
	Follicles over 300 μ	Follicles over 550 μ	Ovulation points
20 (5)	61.6±1.7	12.4±2.4	
21 (5)	52.2±4.0	12.6±1.1	
Hours after delivery			
0 (5)	64.4±6.4	11.4±0.8	
2 (5)	63.2±1.1	16.0±0.8	
4 (5)	53.0±3.5	16.6±0.2	
6 (5)	44.8±1.9	15.6±1.4	
8 (5)	59.8±7.1	18.0±1.6	
10 (5)	50.4±3.3	18.2±1.0	
12 (5)	68.8±3.3	20.4±2.2	1.4±1.4
14 (5)	66.6±7.2	12.4±2.8	9.3±3.2

Ovaries were removed at 9:00 hr on day 20 or 21 of pregnancy.

Table 3. Follicular development in rats delivered by PGF_{2 α} injected at 9:00 hr on day 20 of pregnancy

Hours in day (No. of rats)	Time after PGF _{2α} injection* (hrs)	Number of follicles per animal (Mean±S. E.)		
		Follicles over 300 μ	Follicles over 550 μ	Ovulation points
10:00 (5)	49	55.2±11.4	14.0±0.5	
12:00 (5)	51	46.8± 3.2	14.8±1.0	
14:00 (5)	53	57.4± 8.8	16.2±1.0	
16:00 (5)	55	63.0±11.8	15.4±1.3	
18:00 (5)	57	54.8± 4.1	14.2±1.3	
20:00 (5)	59	58.2± 4.3	16.8±1.2	
22:00 (5)	61	51.6± 3.6	17.2±0.9	
24:00 (5)	63	60.8± 5.1	9.0±2.9	10.2±2.6
02:00 (5)	65	70.6± 7.7	5.8±2.4	12.2±2.4

* Delivery has occurred by 49 hrs after PGF_{2 α} injection.

娩後の時間に関係なく 45~70 の間にあった (Tables 2 及び 3)。

これらの結果は、PGF_{2α} が妊娠後半において、300 μ 以上の卵胞総数を増加させることはないが、排卵への経過を辿ると予想される 550 μ 以上の卵胞の数を増加させる効果のあることを示している。その効果が PGF_{2α} の卵胞への直接的な作用か、黄体退行にもとづく間接的な作用によるものかは明らかではない。しかし、その効果が PGF_{2α} 投与後、短時間で現れることは興味深い。

また、FUCHS ら¹³⁾は、妊娠ラットで PGF_{2α} 注入後 3 時間目で、すでに血中プロジェステロンが減少することを報告し、本研究の結果と関連のある成績を提出している。

卵胞内卵細胞核の成熟分裂は、PG 19 日区では分娩終了後 2 時間目に始まり、正常後分娩排卵の場合⁴⁾と同様の経過を示した (Table 4)。PG 20 日区では、卵細胞核の第一次成熟分裂が 14:00 hr に始まり、排卵点は 24:00 hr に認められ始めた (Table 5)。この結果は、正常性

Table 4. The maturation division at various time in rats delivered with PGF_{2α} injected at 21:00 hr on day 19 of pregnancy

Hours after delivery	Number of follicles over 550 μ (No. of rats)	Percentage of maturation division in each stage								
		GV	CH	Trans	Met I	Ana I	Tel I	FPB	OvP*	
(Day 20 of pregnancy**)	62 (5)	100								
(Day 21 of pregnancy)	63 (5)	100								
0	57 (5)	100								
2	80 (5)	82.5	17.5							
4	83 (5)	89.2	10.8							
6	78 (5)	24.3	18.0	57.7						
8	90 (5)	21.1	1.1	25.6	52.2					
10	91 (5)	15.7		10.0	73.3	1.0				
12	109 (5)	22.0		1.8	36.7	0.9	23.9	8.3	6.4	
14	107 (5)	14.9			6.5		5.6	30.9	42.1	

* Abbreviation was shown in the text.

** Ovaries were removed at 9:00 hr on day 20 or 21 of pregnancy.

Table 5. The maturation division at various time in rats delivered with PGF_{2α} injected at 9:00 hr on day 20 of pregnancy

Hours in day	Time after PGF _{2α} injection* (hrs)	Number of follicles over 550 μ (No. of rats)	Percentage of maturation division in each stage							
			GV	CH	Trans	Met I	Ana I	Tel I	FPB	OvP**
10:00	49	70 (5)	100							
12:00	51	74 (5)	100							
14:00	53	81 (5)	55.6	30.9	12.4	1.2				
16:00	55	77 (5)	10.4	2.6	87.0					
18:00	57	71 (5)	15.5	9.8	26.8	47.9				
20:00	59	84 (5)	7.1		11.9	76.2	4.8			
22:00	61	86 (5)	5.8		4.7	33.7	2.3	29.1	24.4	
24:00	63	96 (5)	12.5			2.1	1.1	10.4	20.8	53.1
02:00	65	90 (5)	13.3			1.1		1.1	16.7	67.8

* Delivery has occurred by 49 hrs after PGF_{2α} injection.

** Abbreviation was shown in the text.

周期の排卵⁴⁾に比べ、成熟分裂の始まりが 2~3 時間早いことを示している。

これらの結果と、血中 LH 量¹⁴⁾及び下垂体排卵ホルモン含量¹¹⁾の変化を考え合せると、分娩終了時刻が 20:00 hr から次の日の 10:00 hr までの動物では、分娩と排卵との時間的な関連は、分娩終了からの時間ではなく、むしろ 1 日の時刻にもとづいていることが示唆される。

先の報告⁴⁾や LINDNER らの総説¹⁵⁾から、LH の放出と卵細胞核の成熟過程には密接な関係のあることが明らかである。また、本研究における卵胞内卵細胞核の成熟分裂の経過は、これまでの報告^{4,12,16)}とよく一致している。

卵細胞の成熟分裂は、PGF_{2α} 投与からの時間に関係なく、分娩がいつ終了したかに関連して生じる。このことから、PGF_{2α} により誘起した分娩後の排卵では、外因性の PGF_{2α} が直接卵細胞に作用しその成熟を促すとはほとんど考えられない。卵胞内卵細胞核の成熟分裂の開始機序やそれらを支配する要因と PGF_{2α} の作用機構との関連については、今後の検索にまたなければならぬ。

要 約

PGF_{2α} により早期に分娩を誘起した時の卵胞の発育と卵細胞核の成熟分裂について検索し、次の結果を得た。

1. 妊娠後半の PGF_{2α} 投与後、大卵胞 (550 μ 以上) の数は急増したが、300 μ 以上の卵胞の総数が増加することはなかった。

2. PGF_{2α} により誘起した分娩に続く排卵とその時の卵胞内卵細胞核の成熟分裂の経過は、正常後分娩排卵時のものと差がなく、PGF_{2α} 処理からの時間よりは分娩終了時刻と関連していた。

以上のことから、PGF_{2α} により分娩を誘起した後の排卵は、PGF_{2α} の直接的な作用により引き起こされる

のではないと考えられた。

本研究を行うに当たり、PGF_{2α} を御提供下さった小野薬品工業(株)開発部に心から御礼申し上げます。

(1977.2.17 受付)

文 献

- 1) BLANDAU, R. J. & A. L. SODERWALL: *Anat. Rec.* **81**, 419, 1941.
- 2) HOFFMAN, J. C. & N. B. SHWARTZ: *Endocrinology* **76**, 620, 1965.
- 3) HASHIZUME, K., S. SUGAWARA & S. TAKEUCHI: *Tohoku J. agr. Res.* **24**, 117, 1973.
- 4) 橋爪(一)・菅原(七)・竹内(三): 本誌 **21**, 28, 1975.
- 5) LABHSETWAR, A. P.: *J. Endocr.* **53**, 201, 1972.
- 6) LABHSETWAR, A. P.: *Biol. Reprod.* **8**, 103, 1973.
- 7) FUCHS, A. R. & E. MOK: *Fert. & Ster.* **24**, 275, 1973.
- 8) DUKES, M., R. CHESTER & P. ATKINSON: *J. Reprod. Fert.* **38**, 325, 1974.
- 9) BUCKLE, J. W. & P. W. NATHNIELSZ: *J. Endocr.* **64**, 257, 1975.
- 10) STRAUSS, III, J. F., J. SOKOLOSKI, P. CAPLOE, P. DUFFY, G. MINTZ & R. L. STAMBAUGH: *Endocrinology* **96**, 1040, 1975.
- 11) HASHIZUME, K., S. SUGAWARA, S. TAKEUCHI & J. MASAKI: *J. Reprod. Fert.* (in press).
- 12) ODOR, D. L.: *Am. J. Anat.* **97**, 461, 1955.
- 13) FUCHS, A. R., E. MOK & K. SUNDARAM: *Acta endocrinol.* **76**, 583, 1974.
- 14) HASHIZUME, K., S. SUGAWARA, M. UMEZU, S. TAKEUCHI & J. MASAKI: *J. Reprod. Fert.* (in press).
- 15) LINDNER, H. R., A. TSAFRIRI, M. E. LIEBERMAN, U. ZOR, Y. KOCH, S. BAUMINGER & A. BARNEA: *Recent prog. Horm. Res.* **30**, 79, 1974.
- 16) VERMEIDEN, J. P. W. & G. H. ZEILMAKER: *Endocrinology* **95**, 341, 1974.

Summary

Histological examinations of the follicular development and oocyte maturation division in ovaries were conducted in Wistar rats after administration of $\text{PGF}_{2\alpha}$ at the late stage of pregnancy.

Animals were kept under 12 hrs light/day (light on 06:00) in a 25°C room. In proestrus, female rats were caged with fertile males overnight and mating was checked by the presence of spermatozoa in the vaginal smear the following morning. This day was designated as day 1 of pregnancy.

$\text{PGF}_{2\alpha}$, 1000 $\mu\text{g}/\text{rat}$, was injected s. c. in 50% ethanol saline at 21:00 hr on day 19 of pregnancy (PG19 group) or at 09:00 hr on day 20 of pregnancy (PG20 group).

In the PG19 group, the number of follicles over 550 μ in diameter increased to around 14 by 09:00 hr on day 20, with a striking contrast to a small number of these follicles in control pregnant animals. The total number of follicles over 300 μ and 550 μ in diameter at 10:00 hr on day 22 of pregnancy in the PG20 group was 55 and 14, respectively. The number of follicles over 300 μ did not change from the time of $\text{PGF}_{2\alpha}$ injection to the time of ovulation. The process of oocyte nucleus maturation division corresponded with that of the normal post-partum⁴⁾ and proestrous rats^{4,12)}. Also, it was found that the timing of the beginning of maturation division depended on the time of delivery rather than the time of $\text{PGF}_{2\alpha}$ injection.

These results may demonstrate that oocyte maturation division and ovulation during post-partum are closely related to the time of delivery.