多産系ラットの初産次に少数発現する低 litter size 出産母体に 認められた受精卵の着床前 loss および着床後の 胚・胎仔の loss について

若 藤 靖 匡・今 道 友 則*

(動物繁殖研究所 *日本獣医畜産大学)

著者らは Wistar-Imamichi rat のうち litter size の多い母体を選抜継代し、排卵数の増加により litter size を著しく増大させることができたものと考えた^{1,2)}。その理由は、当時高 litter size を分娩した母体の排卵数が低 litter size を分娩した母体のものより多いという成績を得たからである¹⁾。しかし、その後の観察において、litter size は環境条件によって低下する場合があることや^{3,4)}、litter size の少ない母体の妊娠黄体数が必ずしも少くはないことに気付いた。そこで litter size と排卵数の関係、低 litter size 発現の原因および litter size を向上させた育種成果の成因について根本的に検討することを企てた。

マウスにおいては、排卵数の多い系統と少ない系統との間で litter size と排卵数との関係を比較した成績が数多く見られる。INO⁵⁾、BATTEMAN⁶⁾、WAKASUGI⁷⁾らは、litter size の多い系統は排卵数も多く、litter size の少ない系統は排卵数も少ない傾向の成績を得ている。これに対し、近親交配を繰返して得られた数系統のマウスについて、排卵数と litter size および胎仔 loss の関係を調べた FALCONER⁸⁾の成績では、排卵数は同程度であるが litter size に差のある結果を得ている。一方、FEKET⁹⁾、猪¹⁰⁾らは、litter size の多寡と排卵数の多少とは必ずしも平衡関係にないと報告している。

分娩時に得られた litter size は、排卵・着床・一部の胚や胎仔の死亡吸収あるいは流産等を経た結果であり、妊娠時の排卵数を妊娠黄体から推測する以外には、同一母体についてこれらの現象を追求することは不可能

といえる。前述のマウスの報告においても排卵数と litter size は同一個体でしらべられたものでなく、妊娠黄体から排卵数を推測したものである。しかしながら妊娠黄体のみを前周期の黄体と区別して正確に数えることができるか否かについても疑問がある。ところで、豊田¹¹⁻¹³⁾は、ラットについて排卵数の支配機構を詳細にしらべて片側卵巣を剔出して総排卵数に変化がないことを認め、排卵数は年間を通じてほとんど一定であり、エストロジェンが性周期中の排卵時期の決定因子であると述べている。そこで著者らは、一個体の毎性周期の排卵数はほぼ一定であるという前提の下に、litter size とその妊娠黄体数の関係のみならず後分娩排卵数および着床痕数についても検討を加えた。本報においてはその第一段階として初産ラットで調べた成績を報告する。

材料および方法

供試動物は Wistar-Imamichi rat の生後 3 カ月令で繁殖に使用された初産 6,215 匹のうち分娩後の 268 腹と 80~90 日令の処女雌 34 匹が解剖に供された。

コンベンショナル条件下で飼育室の温度を $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ に設定した。妊娠動物の分娩の観察を、毎日午後 5 時に行いその時までには分娩されていたものを当日の分娩例として litter size を記録した。分娩動物を 2 群に分け、1 群 (121 匹) を後分娩排卵数観察のために分娩の翌日の正午に解剖した、他の 1 群 (147 匹) では分娩後の翌日乳仔を分離してその日から腔垢を検査し、4~5 日経過して腔垢像が I 期 (発情前期) から III 期 (発情期) に移行した日の正午に解剖して分娩後正常周期に復帰したときの排卵数を調べた。

剖検に際して卵巣と輸卵管をすみやかに取り出して 2 枚のスライドガラスの間に生理食塩液を含ませて卵管のみを挟み約 30~60 分放置した後、位相差顕微鏡下で排卵数を調べた^{14,15)}。次に着床痕数と妊娠黄体数を調べ、直径 1 mm 以上の大きく成長している黄体のみを妊娠

Pre and post-implantational losses of fertilized ova, embryos and fetuses in the primiparous small litter animal appeared in the fecund rat strain.

WAKAFUJI, Yasumasa and TOMONORI IMAMICHI* (Institute for Animal Reproduction, Dejima-mura, Niihari-gun, Ibaraki 300-01, *Nippon Veterinary and Zootechnical College, Musashino-shi, Tokyo 180)
Japan. J. Anim. Reprod., 28 (1), 1982.

黄体として数えた。参考までに性腺系の臓器重量をトーションバランス (100 mg, 2,000 mg) で測定した。処女雌ラットについても性周期中の排卵数を観察した。また

本系統での litter size の分布を知るために大量生産場における初産ラット 6,215 腹について litter size を調査した。

STUDENT の *t* 検定法によって有意差を検定した。

実験成績

1) 初産における litter size の分布

実験期間中における飼育室全体の初産ラット 6,215 腹について litter size の分布を図 1 に示した。

litter size の分布は 1~18 匹であった。各 litter size を示した母動物の割合は、11~12 匹群 (1,984/6,215 例, 31.9%) を頂点とする一峰性の分布を示し、1~2 匹群 (56/6,215 例, 0.9%) および 17~18 匹群 (55/6,215 例, 0.9%) が最も低値を示した。特に、1~2 匹群や 3~4 匹群等の低 litter size を示した動物の割合は 0.9~2.5% と低率であった。

2) 初産ラットの解剖成績

次に、この低 litter size 発現の原因を探るために、各階級の litter size を示した動物を後分娩排卵時ならびに分娩後の正常性周期復帰時にそれぞれを解剖し観察を行った。

表 1 および 2 に後分娩排卵時の解剖成績を示した。表 1 における litter size, 着床痕数, 妊娠黄体数および後分娩排卵数を図 2 に示した。

litter size と着床痕数, 妊娠黄体数および後分娩排卵数の関係: 低 litter size の 1~2 匹群では、5 腹の平均 litter size は 1.8 匹であり、着床痕数, 妊娠黄体数, 後

Fig. 1. Frequency distribution of litter size in the primiparous conventional Wistar-Imamichi rats.

Table 1. Litter size, implantation sites, corpora lutea of pregnancy, ova an postpartum of primiparous Wistar-Imamichi rats

Class of litter size	No. of dames	Average litter size	Pre-implantation loss	Post-implantation loss	No. of implantation sites	No. of corpora lutea	No. of ova of post partum ovulations
1~2	5	1.8 $\pm$ 0.2*	5.8 $\pm$ 1.6	4.2 $\pm$ 1.4	6.0 $\pm$ 1.3	11.8 $\pm$ 1.3	15.3 $\pm$ 0.4
3~4	18	3.4 $\pm$ 0.1	4.2 $\pm$ 0.8	4.8 $\pm$ 0.7	8.2 $\pm$ 0.7	12.4 $\pm$ 0.6	15.3 $\pm$ 0.8
5~6	13	5.5 $\pm$ 0.1	2.4 $\pm$ 0.7	4.2 $\pm$ 0.6	9.7 $\pm$ 0.7	12.1 $\pm$ 0.5	13.5 $\pm$ 0.4
7~8	21	7.5 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.3	3.9 $\pm$ 0.4	11.4 $\pm$ 0.4	12.2 $\pm$ 0.4	14.8 $\pm$ 0.6
9~10	21	9.6 $\pm$ 0.5	0.7 $\pm$ 0.3	2.9 $\pm$ 0.5	12.4 $\pm$ 0.5	13.1 $\pm$ 0.5	13.1 $\pm$ 0.4
11~12	22	11.8 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.2	13.0 $\pm$ 0.2	14.0 $\pm$ 0.3	14.0 $\pm$ 0.3
13~14	11	13.5 $\pm$ 0.4	0.9 $\pm$ 0.3	0.9 $\pm$ 0.2	14.5 $\pm$ 0.2	15.4 $\pm$ 0.3	13.7 $\pm$ 0.9
15~16	10	15.3 $\pm$ 0.2	0.1 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.3	16.0 $\pm$ 0.2	16.1 $\pm$ 0.4**	14.5 $\pm$ 0.1
Total	121	1,062	199	348	1,410	1,609	

Pre-implantation loss: No. of corpora lutea of pregnancy—No. of implantation sites.

Post-implantation loss: No. of implantation sites—litter size.

* Mean $\pm$ SE. ** $P < 0.001$: Difference in litter size between class 1-2 and class 15-16.

Table 2. Body weight and organ weight on postpartum of primiparous Wistar-Imamichi rats

Class of litter size	No. of dames	Body weight (g)	Ovarian weight (mg)	Uterine weight (mg)
1~2	5	244.8±9.6*	81.3±4.3	748.0±88.1
3~4	18	251.7±4.2	84.0±3.1	1087.1±43.9
5~6	13	258.0±10.4	82.7±4.9	1267.8±67.1
7~8	21	240.1±5.0	85.3±2.6	1475.5±45.9
9~10	21	248.1±6.8	87.5±2.7	1514.6±39.9
11~12	22	230.6±3.6	81.1±2.3	1642.3±48.8
13~14	11	256.8±5.0	93.9±2.1	1919.0±71.0
15~16	10	256.0±6.6	100.0±3.5**	1845.1±80.2***

* Mean±SE. ** $P<0.01$. *** $P<0.001$: Difference in litter size between class 1-2 and class 15-16.

Fig. 2. Litter size, implantation sites, No of corpora lutea of pregnancy and ova in the primiparous Wistar-Imamichi rats on day of post partum ovulation.

分娩排卵数の平均は、それぞれ 6.0 ± 1.3 個、 11.8 ± 0.8 個、 15.3 ± 0.4 個であった。litter size の増加と共に着床痕数、妊娠黄体数は増加する傾向がみられたが、後分娩排卵数では著しい変化は認められなかった。例えば級中値の 7~8 匹群および高 litter size の 15~16 匹群で比べると、それぞれ、平均 litter size が 7.5 匹、15.3

Fig. 3. Pre-implantation loss of fertilized ova (corpora lutea of pregnancy — implantation sites) and post-implantation loss of Embryo and Fetus (implantation sites — litter size) in conventional primiparous Wistar-Imamichi rats.

匹、着床痕数 11.4 ± 0.4 個、 16.0 ± 0.2 個、妊娠黄体数が 12.2 ± 0.4 個、 16.1 ± 0.4 個、後分娩排卵数が 14.8 ± 0.6 個、 14.5 ± 0.1 個であった。

着床前 loss (妊娠黄体数 — 着床痕数) および着床後の loss (着床痕数 — litter size): 図 3 に示されるように、低 litter size 1~2 匹群では着床前 loss は 5.8 ± 1.6 個であり着床後 loss は 4.2 ± 1.4 個であった。着床前 loss は、litter size の増加と共に減少する傾向が見られ、高 litter size の 15~16 匹群ではほとんど認められなかった。これに対し着床後 loss は、7~8 匹群まではほぼ一定値 (約 4 個) を示したが、以後減少傾向を示した、高 litter size 13~14 匹群、15~16 匹群ではそれぞれ、 0.9 ± 0.2 個、 0.7 ± 0.3 個とほぼ一定値であった。

性腺系臓器の重量: 表 2 に示されるように卵巣重量は、litter size の増加とほとんど関係ないが、litter si-

Table 3. Litter size, number of implantation sites, ova and organ weights post partum second estrus on the primiparous Wistar-Imamichi rats

Class of litter size	No. of dames	Body weight (g)	Average litter size	No. of implantation sites	No. of ova	Ovarian weight (mg)	Uterine weight (mg)
1~2	7	262.9±12.9*	1.9±0.1	6.7±2.1	12.7±1.2	85.8±1.0	462.9±18.8
3~4	20	255.2±7.0	3.5±0.1	8.2±1.0	14.4±0.6	91.4±2.8	509.3±29.2
5~6	22	243.1±5.2	5.5±0.1	11.1±0.4	13.9±0.4	85.5±2.7	506.5±17.9
7~8	21	247.1±5.6	7.4±0.1	12.0±0.5	13.4±0.4	88.7±2.9	540.4±15.7
9~10	20	236.8±6.2	9.4±0.1	12.6±0.4	14.0±0.5	86.6±2.0	525.0±16.3
11~12	20	248.0±4.7	11.5±0.1	13.4±0.3	12.7±0.5	91.8±2.4	537.4±19.6
13~14	22	254.7±6.6	13.5±0.1	14.6±0.3	13.2±0.5	92.2±2.3	515.0±21.0
15~16	15	258.9±7.3	15.2±0.1	16.3±0.3	14.2±0.6	99.0±2.4	635.0±32.2
Primiparous	147				13.6±0.2	90.1±1.0	538.9±8.4
Virgin	34	246.5±4.4			13.5±0.1	92.5±2.9	428.4±14.7

* Mean±SE.

Fig. 4. Litter size, implantation sites and ova in the primiparous Wistar-Imamichi rats on day of post-partum second estrus.

ze が甚しく多くなると幾分重くなるようであった。子宮重量は、litter size の増加とともに著しく重くなり、低 litter size 1~2 匹群で 748.0±88.1 mg, 高 litter size 15~16 匹群で 1845.1±80.2 mg であった。

次に表 3 に分娩後正常性周期復帰後の解剖成績を示し

た。

表 3 における litter size, 着床痕数, 排卵数を図 4 に示した。

litter size と着床痕数の関係: 低 litter size の 1~2 匹群では 7 腹の平均 litter size は 1.9 匹であり, 着床痕数, 排卵数はそれぞれ 6.7±2.1 個, 12.7±1.2 個であった。litter size の増加と共に着床痕数は増加する傾向が見られたが, 排卵数では著しい変化は認められなかった。級中値の 7~8 匹群および高 litter size の 15~16 匹群ではそれぞれ, 平均 litter size が 7.4 匹, 15.2 匹, 平均着床痕数が 12.0±0.5 個, 16.3±0.3 個, 平均排卵数 13.4±0.4 個, 14.2±0.6 個であり, 後分娩排卵時の解剖成績と同様な傾向を示した。

性腺系臓器の重量: 卵巣, 子宮重量共に後分娩排卵時に見られた様な litter size の増加に伴う変化は認められなかった。

3) 処女雌の解剖成績

表 3 に示されるように自然排卵数は 13.5±0.1 個であり, 後分娩排卵時および分娩後正常周期復帰後の排卵数との間に有意な差はなかった。平均卵巣重量は 92.5±2.9 mg であり, 前述の分娩後の動物と大差なかった。平均子宮重量は 428.4±14.7 mg であった。

考 察

litter size の多少は第一に交配時の排卵数に支配されるが, 受精卵数, 着床卵数, 着床後の胚および胎仔の生在率等の要因によっても左右される。この交配時の排卵数については, 一般に妊娠黄体数がこれに最も近い値を

示しているといわれている。著者らは、妊娠黄体数を分娩時の解剖に際して数え、卵巣中にみられる大小多数の黄体の中で明瞭に際立って大きな黄体として容易に識別し得る、1 mm 以上のものを選んで妊娠黄体とした。即ち、著者は妊娠の初期 7~8 日に動物をエーテル麻酔し外科的手術により胚胞を 2~3 個残して他をすべて刺殺した後、妊娠の末期にあたる 20 日目に解剖して、1 mm 以上の黄体を数えた結果、その値は手術前の着床数とほぼ等しいことを認めている（未発表）。一方、ラットでは同一個体の排卵数は前述した如く常時はほぼ一定であるといわれている¹¹⁾。したがって、著者らがしらべた妊娠黄体数、後分娩排卵数および分娩後正常周期に復帰した時の排卵数の三者は交配時の排卵数を推測する重要な鍵であり、三者はほぼ等しい筈である。

本実験において、後分娩排卵数と分娩後正常周期に復帰した時の排卵数は litter size の多少にかかわらず正常周期の排卵数と同等であり、また、高 litter size 群の妊娠黄体数も後分娩排卵数と同等であった。しかるに、低 litter size 群の母体の妊娠黄体数は高 litter size 群の母体のそれに比べて幾分少ない傾向がみられた。したがって低 litter size 群の母体の交配時における排卵数はたまたま正常値よりも若干低かったものと考えられる。しかし分娩後正常性周期復帰後の排卵数では、低 litter size 群と高 litter size 群との間に差異が認められないことより、低 litter size の主要因が体質的に排卵数が少ないためのものでないことは明らかである。すなわち、低 litter size の主要因として排卵後から着床前までの卵の loss（着床前 loss）および着床から分娩前までの胚、胎仔の loss（着床後 loss）と考えられる。FALCONER¹⁶⁾ は 20 家系のマウスを基礎として家系を個体選抜し、litter size の大小 2 系の分離を図った。その結果、多産系 9.2 匹、寡産系 6.0 匹、対照 7.6 匹に分離した。排卵数について見ると 13.7 個、10.3 個、8.9 個と多産系の排卵数は寡産系のそれより 3.4 個と多いが、寡産系の排卵数は対照系よりやや多く、したがって多産系の選抜には排卵数の関与が大きい、寡産系の選抜では排卵数よりも着床前 loss や死胚の増加が大きく関与していると報告している。さらに、litter size の減少する原因の 40% は母側にあって、その多くは着床前 loss や死胚の増加であること、残り 60% は胎仔の生存率の低下であること等を報告している。一方著者らの Wistar-Imamichi rat の後分娩排卵時の着床前 loss（妊娠黄体 - 着床痕数）および着床後 loss（着床痕数 - litter size）は低 litter size 1~2 匹群ではそれぞれ $5.8 \pm$

1.6 個および 4.2 ± 1.4 個であった。着床前 loss は、litter size の増加と共に減少する傾向が見られ、高 litter size の 15~16 匹群ではほとんど認められなかった。これに對し着床後 loss は、7~8 匹群まではほぼ一定値（約 4）を示したが、以後減少傾向を示し、高 litter size 13~14 匹群、15~16 匹群ではそれぞれ 0.9 ± 0.2 個、 0.7 ± 0.3 個のはほぼ一定値であった。着床前後の loss を比較すると、1~2 匹群において着床前 loss が高値を示したが、3~4 匹群以降は着床後 loss が高値を示した。特に 5~6 匹群から 9~10 匹群にかけて着床後 loss が着床前 loss の約 2 倍またはそれ以上の値を示した。また、litter size 多少にかかわらず総ての loss を 100（着床前 loss + 着床後 loss）とした場合着床前 loss 36%（199 個）、着床後 loss 64%（348 個）であった（表 1）。以上の成績は上述した FALCONER のマウスの報告と類似する。今道らは、Wistar-Imamichi rat の育種の過程で、litter size の多いものを選抜することを繰返し、平均 litter size 9.8 から出発し平均 12.0 という高い litter size にまで向上させることができた。この間の極めて初期には排卵数の向上もみられたので排卵数の多い個体の選抜が行われたであろうと推測される。これは今回の成績で得られたように排卵数が、litter size に関係なく平均 13.6 ± 0.2 個（表 3）という一定の高い数値を示していることによっても裏付けられる。同時に高 litter size の子孫を選抜する育種法は、着床 loss および死胚数を減らす方向に作用したと考えられる。しかしながらすでに排卵数が安定して多いように改良された今日では、本ラットにおいて極めて低頻度ではあるが認められる低 litter size の場合には排卵数よりは着床 loss および死胚、死胎仔の増加が主要因であることが判明した。

要 約

コンベンショナル飼育条件下の 3 カ月令の初産 Wistar-Imamichi rat 6,215 匹を用い、litter size と後分娩時の排卵数と litter size と分娩後正常性周期復帰後の排卵数について検討した結果、次の成績が得られた。

1) litter size は 6,215 腹の平均 11.0 ± 0.04 匹であり、最小 1 より最大 18 匹にわたって分布し、低 litter size の出現頻度は極めて少なかった。

2) 後分娩排卵および正常性周期復帰後の排卵数では、各 litter size 群間でほとんど差異が見られず、低 litter size 群においても自然排卵数の正常範囲にあった。

3) 着床前の受精卵の loss (妊娠黄体数 - 着床痕数) は低 litter size 群で顕著で高 litter size 群ではほとんど認められなくなった。

4) 着床後の胚・胎仔の loss (着床痕数 - litter size) は litter size 7~8 匹群までは、同等に多かったが、litter size の上昇と共に急激に減少した。

5) 子宮重量は、後分娩排卵時の解剖において litter size の増加に伴い重くなる傾向が見られたが、次の排卵 (分娩日離乳後 5 日目) 時には非妊娠時の値近くまで回復しており litter size の多少によるこのような差異は認められなくなった。

以上の成績から、本ラットにおいて極めて低頻度で認められる低 litter size 分娩発現の主要因は、排卵後の受精卵の着床 loss, 胚と胎仔の着床後の loss であることが判明した。

(1981. 8. 25 受付)

文 献

- 1) 今道(友): 日本臨床, **19**, 99, 1960.
- 2) 今道(友)・本田(紀): 日本畜産学会誌, **36**, 別号, 46, 1965.
- 3) 若藤(靖)・天尾(弘)・外尾(亮)・筏井(洋)・重盛(正)・今道(友): 本誌, **23**, 66, 要旨, 1977.
- 4) 桑水(郁)・田村(弘)・田嶋(嘉)・前島(一)・石原(智)・今道(友): 日本実験動物研究会, 第 12 回口頭発表, 12, 1977.
- 5) Ino, T.: *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, **6**, 178, 1966.
- 6) Batteman, N.: *Genet. Res. camb.*, **8**, 229, 1966.
- 7) Wakasugi, N., T. Tomita, K. Kondo.: *J. Reprod. Fert.*, **13**, 41, 1966.
- 8) Falconer, D. S. & R. C. Robeats.: *Genet. Res., camb.*, **1**, 422, 1960.
- 9) Fekete, E.: *Anat. Rec.*, **98**, 409, 1947.
- 10) 猪(貴)・吉川(早)・保谷(毅)・佐久間(勇): *Exp. Animal*, **18** (2), 47, 1968.
- 11) 豊田(裕): 本誌, **8**, 1, 1962.
- 12) 豊田(裕): 本誌, **8**, 4, 1962.
- 13) 豊田(裕): 本誌, **8**, 55, 1962.
- 14) 若藤(靖)・重盛(正)・藤田(博)・川西(広)・上松(嘉)・信永(利): 日本獣医学雑誌, **32**, 202 (要旨), 1970.
- 15) Hasizume, K, S. Sugawara, S. Takeuchi.: *Tohoku J. Agr. Res.*, **24**, 117, 1973.
- 16) Falconer, D. S.: *J. cell. comp. Physiol.*, **1**, 56, 153, 1960.