高たん白食のマウス性周期に及ぼす影響

藤 井 尊

(茨城大学農学部 現所属: 徳島大学医学部)

食餌中のたん白質が内分泌機能, とくに, 生殖機能に重要な影響を及ぼすことは, よく知られている^{1,2)}。雌においては, たん白質の量および質が, 性成熟や排卵, 着床に影響を及ぼす³⁻⁷⁾。また, 成長期の雌ラットでは, 食餌たん白質の量によって性成熟の時期は変化し^{1,6,7)}, 低たん白食の投与は, 性周期の延長をきたす^{1,7)}。一方, 高たん白食では, 性周期が不変^{6,7)}, または延長するという報告^{8,9)}もあり, 結論を得ていない。

性周期の観察は, 生殖機能, とくに, 卵巣機能を間接的に知る上で, きわめて有用な指標となる。そこで, 高たん白食投与による雌の性腺系に及ぼす影響を追究する研究の一環として, 本実験を計画した。

材料と方法

1. 実験動物

規則正しい性周期を繰り返す, 生後 60 日齢, 体重 28 g 前後の ICR-JCL 系未経産マウスを 270 匹使用した。

2. 実験飼料

表 1 に示すように, ウシの Milk Casein を主なたん白源に, 総熱量がほぼ等しくなるように, 高たん白食およびコントロール食を調整した。

3. 飼育方法

アルミ製金属ケージ (300×170×110) を用い, 1 ケージあたり 5 匹の集団飼育で行った。マウスは, 集団飼育した場合, 腔垢検査法で確かめた性周期は, 雄マウスが存在すると正しく反復することから^{10,11)}, 同系同日齢の雄¹²⁾のケージを隣接させて飼育した。飼料摂取は pair-feeding として, 午後 5 時から翌朝 9 時まで行い, 自由飲水とした。室温は 20~25°C で, 照明は 14 時間

Effects of the dietary protein on the estrus cycle in mice.

FUJII, Takeru (Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Ibaraki, Ami-machi, Inashiki-gun, Ibaraki 300-03, Present address: Department of Nutrition, School of medicine, University of Tokushima, Kuramoto-cho, Tokushima 770)

Japan. J. Anim. Reprod., 29 (3), 1983.

行った。

実験は, 270 匹のマウスを 3 回に分け, 1 回の実験に 90 匹用い, 各々高たん白食投与群 (70% Casein; 以下 H 群と略す) と標準たん白食投与群 (24% Casein; 以下 C 群と略す) の 2 群 (各 45 匹) に分け, 28 日間飼育した。

4. 腔垢検査

毎朝 9 時に腔垢を採取し, スライドに塗抹した後, ギムザ染色 (Merck, Co. Ltd.) を行い検鏡した。各ステージの判定は, 江藤ら¹³⁾および信永・今道¹⁴⁾の方法に準じて, I 期 (Pro-estrus), II 期 (Estrus), IV 期 (Di-estrus 1) および V 期 (Di-estrus 2) の 4 段階標示とした。

結果と考察

一般に, マウスの性周期は 4~5 日間隔で連続するが図 1 に示すように, 両群ともに 1 周期あたり平均 6 日前後であり, 延長する。しかし, 両群間に有意差は認めな

Table 1. Composition of experimental diet (%)

	Control	High-protein
Casein	24.0	70.0
Sucrose	10.0	10.0
Corn starch	53.0	3.5
Corn oil	6.0	6.0
Salt mixture ¹⁾	4.0	4.0
Vitamin mixture ²⁾	1.0	1.0
Cellulose (powdered)	2.0	2.0
Choline chloride	0.2	0.2
Crude protein (%)	20.3	59.8
Energy (kcal/g)	3.61	3.62

1) Salt mixture composition (%):

CaHPO ₄ ·2H ₂ O	MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.8
CaCO ₃	MnSO ₄ ·5H ₂ O	0.05
NaCl	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.05
KCl	KI	0.002
FeSO ₄ ·7H ₂ O	Ca-Stearate	0.008

2) Panvitan (Takeda)

Fig. 1. Duration of estrus cycle in mice fed on experimental diet. P=pro-estrus, E=estrus, D₁ and D₂=day 1 and day 2 of di-estrus. Values are the mean±SD.

かった。このような周期の延長も、投与日数の増加とともに減少した。NAKAGAWA & MASANA⁹⁾は、ラットを用い、10, 27 および 36% Casein 食を長期間投与し、その影響を観察した。発育期には、性周期の発現も遅延し、不整期間も比較的長く続くが、発育完了期には、群間に差がなかった。HAWRYLEWICZ ら⁷⁾もまた同様に、腔開口は低たん白食投与のものほど遅延するが、性周期は変わらないことを報告した。一方、ISHIDA⁸⁾は、成熟ラットに 40% Casein 食を 30 日間投与したところ、性周期が不規則になることを示した。しかしながら、投与方法が自由摂取であったことから、たん白質によるものか、熱量の差によるものかは明らかではない。また、成熟マウスに、35% たん白食を投与した場合、性周期が延長し、発情期と発情休止期によるという報告⁹⁾もある。今回の実験では、これらの報告よりもかなり含量の多いたん白質を投与したにもかかわらず、性周期の延長を認めなかった。これは、ラットを用いて行った NAKAGAWA & MASANA⁹⁾および HAWRYLEWICZ ら⁷⁾の報告と一致する。

次に、性周期の各時期に要した日数について、比較検討した。C 群では各ステージ間に投与日数との関係を確認できなかったが、H 群では、投与日数の増加とともに、I 期 (Pro-estrus) が延長し、V 期 (Di-estrus 2) が短縮する傾向を示した。I 期と V 期の間には有意 ($P < 0.01$) な負の相関 ($r = -0.974$) を認めた。従って、高たん白食投与は、性周期の期間そのものは変えないが、発情前期が延長し、それだけ発情休止期が短縮する傾向にあると

考えられた。

マウスに、ウシの Milk Casein を主なたん白源にした高たん白食を投与すると、肝および血中コレステロール濃度を低下させる¹⁵⁾。血中コレステロール濃度の減少とステロイドホルモン生成について、CHRISTIE ら¹⁶⁾は、ラットに過排卵処理をした後、APP 剤 (4-aminopyrazolo [3, 4-d] pyrimidine, SCHIFF *et al.*)¹⁷⁾を投与し、人為的に血中コレステロール濃度を減少させると、血中プロジェステロンと卵巣中のコレステロール・エステルおよび黄体プロジェステチン濃度の減少を招いたことから、血中コレステロールは、卵巣でのステロイド生産やコレステロール・エステル蓄積の主要原因となっていることを示した。本実験における発情前期と発情休止期の関係について、高たん白食投与による血中コレステロール濃度の慢性的な低下が、黄体でのプロジェステロン産生を減少させ、プロジェステロン量の不足をきたし、排卵が遅れ、発情前期の延長といった傾向を招くのかも知れない。また、高たん白食投与によって性周期の期間が影響されなかったことに関して、副腎がプロジェステロンを分泌すること^{18,19)}、さらに、高たん白食投与により副腎の重量が増大する¹⁵⁾ことと合わせて、卵巣でのプロジェステロン産生能低下に対して、副腎が代償的に作用しているのではないだろうか²⁰⁾と考えられた。

これらのことから、適切なたん白食を一定期間投与すれば、排卵リズムをコントロールするという可能性を示唆するもので、その質および量の面から、今後、さらに検討する必要があると考えられる。

要 約

ICR-JCL 系未経産マウスを 270 匹用い、高たん白食投与による性周期におよぼす影響を検討した。ウシの Milk Casein を主なたん白源に、70% Casein からなる高たん白食 (3.62 kcal/g) および 24% Casein からなる標準たん白食 (3.61 kcal/g) を、pair-feeding で、28 日間投与した。

- 1) 高たん白食投与は、性周期を延長しなかった。
- 2) 高たん白食投与により、発情前期と発情休止期の間に、有意 ($P < 0.01$) な負の相関 ($r = -0.974$) を認めた。すなわち、高たん白食投与は、投与日数の増加とともに、発情前期が延長し、それだけ発情休止期が短縮する傾向があることを認めた。

御校聞いただきました、徳島大学医学部実践栄養学教室岸野泰雄教授に深謝します。

(1983. 5. 18 受付)

文 献

- 1) LEATHMAN, J. H.: *J. Animal Sci.* (suppl.), **25**, 68, 1966.
- 2) LEATHMAN, J. H.: Nutritional effects on endocrine secretions. In *Sex and International Secretions* (YOUNG, W. C. ed.) 3rd ed., Vol. 1, p. 666, Williams Wilkins, Baltimore, 1961.
- 3) FONTAN, J. R., E. W. PASCHKIS & A. CANTAROW.. *Endocrinology*, **51**, 100, 1952.
- 4) EL-SHEIK, A. S., C. V. HULET, A. L. POPE & A. CASIDA: *J. Animal Sci.*, **14**, 919, 1955.
- 5) ADAMS, C. R., D. E. BECKER, S. W. TERRILL, H. W. NORTON & A. H. JANSEN: *J. Animal Sci.* (abstr.), **19**, 1245, 1960.
- 6) NAKAGAWA, I. & Y. MASANA: *J. Nutr.*, **101**, 613, 1971.
- 7) HAWRYLEWICZ, E. J., H. H. HUANG, J. Q. KISSANE & E. A. DRAB: *Nutr. Reports Int.*, **26**, 793, 1982.
- 8) ISHIDA, K.: *Tohoku J. Agri. Res.*, **8**, 17, 1957.
- 9) 田上 (末): 日畜会報, **51**, 561, 1980.
- 10) WHITTEN, W. K.: *J. Endocr.*, **17**, 307, 1958.
- 11) 信永 (利)・中村 (勝)・吉田 (幸): 本誌, **11**, 7, 1965.
- 12) BLUCE, H. M.: *J. Animal Sci.* (suppl.), **25**, 83, 1966.
- 13) 江藤 (禎)・松本 (武)・星 (冬): 本誌, **4**, 121, 1958.
- 14) 信永 (利)・今道 (友): 本誌, **9**, 25, 1963.
- 15) 藤井 (尊)・外館 (嗣)・高橋 (文)・田上 (末): 日畜, 関西支部会報, **86**, 29, 1980.
- 16) CHRISTIE, M. H., J. F. STRAUSS, III & G. L. FLICKINGER: *Endocrinology*, **105**, 92, 1979.
- 17) SHIFF, T. S., P. S. ROHEIM & H. A. EDER: *J. Lipid Res.*, **12**, 596, 1971.
- 18) FEDER, H. H., K. BROWN-GRANT & C. S. CORKER: *J. Endocr.*, **50**, 29, 1971.
- 19) NEQUIN, L. G. & N. B. SCHWARTS: *Endocrinology*, **88**, 325, 1971.
- 20) A private letter from DR. MAJORIE, H. C., 1980.

Summary

Effects of high protein diet on the estrus cycle were investigated in 270 ICR-JCL mice. Animals were pair-fed for 28 days, using bovine milk casein as the base with high protein (70% casein; 3.62 kcal/g) and control diets (24% casein; 3.61 kcal/g).

There was a significant correlation -0.974 between the lengths of pro-estrus and of di-estrus 2.

It was suggested that, with the prolongation of the days of pro-estrus, there was a shortening of di-estrus 2 phase.