—Research Note—

Loss of Zona Pellucida in Mouse Unfertilized Eggs

Hirotada TSUJII

Laboratory of Animal Breeding and Reproduction Faculty of Agriculture,
University of Shinshu Minamiminowa-mura, Kamiina-gun, 399-45, Japan

(Accepted for publication May 25, 1988)

Summary. Present investigation was carried out to examine whether the loss of zona pellucida occurs in unfertilized eggs of mice during the estrous cycle and pseudopregnancy. A total of 1271 eggs were recovered from the oviducts and uterus by flushing with modified K.R.B. solution between 10:00 h on day 3 and 10:00 h on day 4 of the estrous cycle at 3 h intervals (day 1 = day of estrus). Also 190 eggs were collected between at 5:00 h on the 4th day of pseudopregnancy and at 3:00 h on the following day at 2 h intervals. The percentage of unfertilized eggs without the zona pellucida were 2% (25/1271) in cyclic mice and 0.5% (1/190) in pseudopregnant mice. **KEY WORDS:** LOSE OF ZONA PELLUCIDA, UNFERTILIZED EGG, MOUSE.

Jpn J Anim Reprod 34, 261-263, 1988

マウス未受精卵における透明帯の剝離について

辻井 弘忠

信州大学農学部, 〒399-45 長野県上伊那郡南箕輪村 8304

マウスおよびラットの未受精卵子の多くは退化過程に分割を行って、最終的には発情期の子宮液と共に膈外へ排出される (Blandau, 1943; 石橋, 1962)。その過程に Mann (1924) 及び石橋 (1962) はラットで, Charlton (1917) はマウスで一部の未受精卵子の透明帯剝離したものがあつたことを観察しているが, McLaren and Orsini (1968) はマウスでこれらの事実を否定している。本実験はマウス未受精卵子において透明帯の剝離がおこるか否かを確かめると共にその割合について調べることを目的として行った。

材料と方法: 供試動物は 6~7 週齢の ICR 系未経産マウスを午前 6 時点灯, 12 時間明暗の条件下で市販の固形飼料と水を自由摂取させて飼育した。性周期中の未受精卵子の観察は、陰垢像が発情期を示した日を第 1 日として、第 3 日の午前 10 時から 4 日午前 10 時の間 3 時間毎に 137 頭のマウスから採卵を行った。偽妊娠中の未受精卵子の観察は陰垢像が発情前期を示した夕方、精管結紮した雄マウスと同居させ、翌朝陰栓の有無により偽妊娠

の成立を確認して行った (偽妊娠第 1 日)。偽妊娠第 4 日の午後 1 時から 5 日の午後 3 時までの間 2 時間毎に 19 頭から採卵した。

採卵は修正 Krebs-Ringer-bicarbonate 液を用いて、卵管および子宮の灌流によつた。採卵後加温実体顕微鏡及び倒立位相差顕微鏡下で卵子数とその形態 (未分割等又は不等分割) 及び透明帯の有無について観察した。また、灌流液中に剝離した透明帯や卵子の割球の断片が存在するか否かについても観察した。

結果と考察: 本実験に供したマウスの平均排卵数は 12.0 であつた。経時的に採取した未受精卵の採卵部位及び形態別の成績は Table 1 に示した。観察期間内の未受精卵の形態別内訳は、等分割卵はなく、不等分割卵が 66.8%, 未分割卵が 33.2% であつた。ラット未受精卵子は排卵後、経時的に分割卵の割合が増加することが報告されているが (Charlton, 1917; 石橋, 1961), 本実験においても同様の傾向がみられた。未受精卵子の子宮への到達は性周期第 3 日の 10 時に始まり、それ以後経時的に

Table 1. The recovery and location of unfertilized eggs in mice

Time of observation		No. of Females	Total no. of eggs recovered from			Average no. of eggs recovered	No of eggs	
Day*	Hr		Oviduct	Uterus	Total		1-celled	Fragmented
3	10	14	152	1	153	10.6±4.0	43	110
	13	17	185	13	198	11.6±3.4	79	119
	16	16	139	37	176	10.6±4.5	64	112
	19	15	157	36	193	12.6±3.9	62	131
	22	16	95	79	174	11.3±4.6	63	111
4	01	13	63	73	136	11.5±3.5	41	95
	04	15	32	66	98	6.6±6.0	35	63
	07	13	8	66	74	5.8±5.9	20	54
	10	18	6	63	69	3.8±4.7	15	54
Total		137	837	434	1271	9.2±5.5	422	849

* Day=day of estrous M±S. D.

Table 2. Incidence of loss of zona pellucida in unfertilized mouse eggs

Time killed		No. of females	No. of eggs recovered	No. of eggs without zona pellucida				No. of vacant zona pellucida	
Day*	Hr			1-celled		Fragmented		Oviduct	Uterus
				Oviduct	Uterus	Oviduct	Uterus		
3	10	14	153	0	0	4	0	6	0
	13	17	198	4	0	0	0	2	0
	16	16	176	3	0	0	0	1	0
	19	15	193	5	0	1	0	2	0
	22	16	174	2	2	0	0	6	0
4	01	13	136	1	0	0	0	2	3
	04	15	98	2	0	0	0	0	0
	07	13	74	1	0	0	0	2	0
	10	18	69	0	0	0	0	0	0
Total		137	1271	18	2	5	0	21	3

* Day 1=day of estrous.

子宮内卵子の割合が増加した。この下降速度は受精卵子の場合(辻井, 伊藤, 1986)より速く, ラット(利部, 石橋, 1977; Villalou *et al.*, 1982)も同様の傾向であった。

形態別にみた透明帯の剥離した未受精卵子の割合は Table 2 に示した。性周期第3日の10時から4日の7時までの間に透明帯の剥離した卵子は25個(2%), 剥離した透明帯は24個であった。また, 透明帯の剥離した卵子及び剥離した透明帯の殆ど(23/25および21/24)は卵管内で観察された。さらに, 透明帯が剥離したことによって分割卵の割球が灌流液中に散在しているものは, 性周期第3日の10時に4例, 19時に1例観察され, 剥離した透明帯には亀裂がみられた。

McLaren and Orsini (1968) は, マウス未受精卵にお

いて透明帯の剥離した卵子が観察されなかったことから, Charlton (1917)の結果は固定による剥離であり, 仮に未受精卵において透明帯の剥離があるとすればバラバラになった割球が観察されるはずであると述べている。本実験は無固定で剥離した透明帯とバラバラになった割球を観察しているので, 低い割合ではあるが未受精卵に透明帯剥離が起りうることは明らである。同様のことはラット未受精卵の透明帯剥離に関しても (Blandau, 1943; 石橋, 1962) 報告されている。

偽妊娠マウスにおける透明帯の剥離した卵子の割合は Table 3 に示した。採卵した未受精卵は等分割卵がなく, 不等分割卵が42.6%, 未分割卵が57.4%存在した。偽妊娠4日目の13時に透明帯剥離した未受精卵と透明帯が各1個観察された。また, 性周期の第4日4, 7, 10

Table 3. The recovery and location of unfertilized eggs in pseudopregnant mice

Time of observation		No. of Females	Total no. of eggs recovered from			Average no. of eggs recovered	No. of eggs	
Day*	Hr		Oviduct	Uterus	Total		1-celled	Fragmented
4	17	2	0	19	19	9.5	6	13
	19	2	0	20	20	10.0	3	17
	21	7	2	77	79	11.3	57	22
	23	2	0	21	21	10.5	14	7
5	01	3	0	23	23	7.6	7	16
	03	3	2	26	28	9.3	22	6
Total		19	4	186	190	10.1±2.5	109	81

* Day 1=day which vaginal plug was found. M±S.D.

時の各採卵数が6.6, 5.8, 3.8と低いのに対し, 偽妊娠の第4日17時から5日3時までの採卵数の平均は10.1と有意に高かった (Student's *t* test, $P>0.05$)。このことは, 偽妊娠によって未受精卵が子宮内に長く保持されることを示すが, 同様の結果は偽妊娠マウス (Blandau, 1943; McLaren and Orsini, 1968) 及び5日性周期のラット (石橋, 1962) で報告されている。なお, 偽妊娠マウスの子宮から採取された未受精卵において, 透明帯の部分で卵子同士が接着しているのが観察された。この接着は偽妊娠第4日の21時から認められ, 時間の経過に伴って増加する傾向がみられた。このことについて Blandau (1943) は, 脱落膜反応によって子宮腔内の pH が変化し, 透明帯の粘着性が増すためであろうと述べている。

以上の結果から未受精卵の退化過程に低い割合であるが透明帯の剝離するものがあることを知った。しかしながら, その機序については明らかでなく, 今後の検討を要する。

References

- Blandau RJ (1943) The fate of the unfertilized ova in the albino rat. *Anat Rec* 87: 17-27.
- Charlton HH (1917) The fate of the unfertilized egg in the white mouse. *Biol Bull* 33: 321-331.
- Ishibashi I (1961) Cytological observations on the cleavage of the unfertilized ovum of rat. *Jpn J Zotech Sci* 31: 291-300 (in Japanese).
- Ishibashi I (1962) Final fate of the unfertilized ovum of the rat. *Jpn J Zotech Sci* 32: 339-343 (in Japanese).
- Kagabu S, Ishibashi I (1977) Effect of HCG treatment on the transport of ova in adult rats. *Jpn J Anim Reprod* 23: 153-158 (in Japanese).
- Mann MC (1924) Cytological changes in unfertilized tubal eggs of the rat. *Biol Bull* 46: 316-327.
- McLaren A, Orsini MW (1968) The fate of unfertilized eggs in mice. *J Reprod Fer* 15: 181-183.
- Tsujii H, Itoh S (1986) Relationship between delayed implantation and loss of the zona pellucida in the mouse blastocyst. *J Mamm Ova Res* 3: 122-127 (in Japanese).
- Villalón M, Oritiz ME, Aguayo C, Munóz J, Croxatto HB (1982) Differential transport of fertilized and unfertilized ova in the rat. *Biol Reprod* 26: 337-341.

要 約

ICR 系マウスを用いて, 未受精卵の透明帯が, 剝離するか否かについて調べた。その結果, 性周期中の 137 頭のマウスから経時的に採取した 1271 個の未受精卵では, 透明帯の剝離した卵子は 25 個 (2%) であり, 偽妊娠マウスでは 190 個のうち 1 個であった。このことから, 低い割合ではあるが未受精卵に透明帯の剝離が起こることが明らかとなった。