妊娠早期に走運動を負荷したマウスに於ける 胚の発生について

岐阜大学教育学部体育学科保健学研究室

京都大学医学部解剖学教室

寺 田 光 世

(受付 昭和44年3月1日)

EFFECTS OF SEVERE MATERNAL PHYSICAL EXERCISE DURING EARLY PREGNANCY UPON THE DEVELOPMENT OF MOUSE EMBRYOS

Mitsuyo Terada

*(Department of Physical education, Faculty of Education, Gifu University,
Gifu and Department of Anatomy, Faculty of Medicine,
Kyoto University, Kyoto, Japan)*

The effects of maternal physical exercise during early pregnancy upon the embryonic development of mice were studied as follows: A/Jax female mice at 10 to 16 weeks of age were imposed daily compulsory running at the speed of 15 meter/min. using a tread mill for 100 min. for the period from zero to 6th day of gestation (called severe exercise group) and for 50 min. from zero to 13th day of gestation (called mild exercise group) respectively. All mice together with the control group without the exercise were sacrificed at 18th day of gestation and the states of conceptuses as well as external and skeletal development of fetuses were observed. The results may be summarized as follows:

1. Significant pregnancy-blocking effect was found in the severe exercise group and it is presumed that the treatment caused obstruction of implantation or maintenance of early pregnancy after implantation in most cases.
2. No significant differences were observed in litter size, fetal mortality, fetal body weight and frequency of the malformed fetuses between pregnant mothers of each of experimental group and control group.
3. The progress of ossification in the mild exercise group was slightly superior in some part of the skeleton to that of the control group.

緒 言

妊娠成立後一定期間はこれを確定し得ないものであり、従って妊娠初期に於ける母体の身体運動が妊娠の継続や胚の発生に如何なる影響を及ぼすかという問題を見出す事は出来ない。女子スポーツ選手を対象として調査した Erdelyi, G. (1962) の報告によると、妊娠3~4カ月まで運動を続け

たものでも妊娠に対する悪影響は認められなかったとしている。しかしかかる問題に於けるヒトでの調査研究は僅かなものであり、又この場合、対象が特に妊娠初期に急激に運動を開始したのではなく、従ってヒトで正確に調査する事は困難とされる。一方動物実験に於てもこのような問題を取扱ったものはないようである。そこで余はマウスを以て交尾後より受精卵が着床する前後の時期

まで、並びに奇形発現の臨界期と云われる器官形成期に当る時期までそれぞれ母体に身体運動を負荷し、この場合の胚の発生に及ぼす影響を実験的に検索しようとした。又かかる身体運動によって自然的に発現する奇形仔の頻度が変動するか否かを同時に検索するため、比較的高頻度で奇形仔を産すると考えられる系統のマウスを使用する事とした。

実験材料及び方法

材料としては京都大学動物センターより供給された A/Jax 系マウスを使用し、生後 4 週より大凡 20~24°C に調節された動物舎内で 4~5 匹づつをひと箱として飼育した。飼料としてはマウス・ラット用固型飼料 OA-2〔日本配合飼料株式会社(東京)〕の他、水道水を給水瓶で自由に摂らしめた。

生後 10 週に至った雌マウスすべてに小動物用電動式トレッドミルを用いて 2~3 分間試走せしめ、この結果より走運動をほぼ自主的に行ない得るもののみを選択し、以後の実験対象とした。これらの雌マウスの外生殖器の観察により発情期にあると見られるものには同系の健康な雄を終夜(約 16 時間)配し、翌朝陰栓を形成していたものは妊娠 0 日として以後個別的に飼育した。また交尾しなかった雌は元の集団に返す事とし、これを

生後 16 週に至るまで繰返した。

かくて得られた交尾雌マウスを任意に 3 分し、第 1 群には 1 日 100 分間、妊娠 0 日より同 6 日に至るまでの連日(強運動群)、第 2 群には同 50 分間、妊娠 0 日より同 13 日に至るまでの連日(軽運動群)、同トレッドミルによる強制的走運動を分速 15m の速度でそれぞれ負荷した。第 3 群には同機の走路上に設けた網箱内で軽運動群と同時期間、運転による騒音を負荷し、これを対照群とした。一方これら妊娠マウスの体重、餌料及び水摂取量はこれを毎日一定時刻に測定した。

動物はすべて妊娠 18 日に当る日の正午に屠殺開腹して子宮内の受胎産物及び着床痕の有無及びそれらの状態を肉眼的に検索した。その後生仔については体重を測定し、口腔内を含めた外形奇形の有無とその型を観察した。さらにこれらを 99% アルコールで固定し、Dawson, A.B. 法(1927)の変法によりアリザリン赤 S 染色骨透明標本を作成して、化骨の状況を双眼実体顕微鏡下で検索した。

実験成績

得られた成績中、母体に関するものと胚の発生に関するものを表 1 に掲げた。妊娠の継続の判定には着床痕、吸収胚又は浸軟胚或いは胎盤等受胎産物の有無によったが、妊娠の継続された母体の

Table 1. Effects of maternal physical exercise during early gestational stage upon maintenance of pregnancy and development of alive fetuses

Treatment*	No. of mice and Body weight (): Av. g $\pm$ S. E.	No. of mice with conceptus at term (): %	Average litter size	% dead offspring out of total implants	Alive fetuses		
					Body weight (g $\pm$ S. E.)	Malformed (): %	Its type+, (): no. of respective fetuses
Severe exercise group	20 (22.9 $\pm$ 0.45)	3 (15.0)**	11.3	32.3	0.95 $\pm$ 0.018	2 (8.7)	Cp+Hl (2)
Mild exercise group	18 (23.7 $\pm$ 0.64)	9 (50.0)	9.1	24.4	0.89 $\pm$ 0.013	7 (11.3)	Cp+Hl (2), Eo (5)
Control (without exercise)	15 (22.9 $\pm$ 0.57)	10 (66.7)	10.0	27.0	0.89 $\pm$ 0.010	14 (20.5)	Cp (2), Cp+Hl (8), Eo (4)

* : Daily compulsory running at the speed of 15meter/min. using a tread mill for 100min. for the period from zero to 6th day of gestation (called severe exercise group) and for 50min. from zero to 13th day of gestation (called mild exercise group).

** : Significantly lower as compared with control (P<0.01)

+ : Cp : Cleft palate, Eo : Eyelid open, Hl : Hare lip

頻度について見ると対照群が66.7%であるのに対して強運動群は15.0%で、この群では有意に低い ($p<0.01$)。一方軽運動群のそれは 50.0%であり対照群に比してより劣るとは認められなかった。尚、一腹中すべて死胚や着床痕のみを有する母体は両実験群、対照群を通して皆無であった。

次に妊娠の継続した各群中の母体由来する胚の発生状況について見ると、平均着床数、胚の死亡率並びに生仔の体重に於ては実験2群とも対照群の成績に近似していて著変は認められなかった。また生仔中、外形奇形(口腔内を含む)を有するものの頻度を見ると、対照群の 14 匹 20.5%に比して実験2群のそれぞれはやや低率であるが、この間の有意差は認められなかった。尚その奇形の型としては、口蓋裂、眼瞼開存、兔唇などで、いずれも A/Jax マウスに自然的に発現すると考えられる型のもののみであった。

なお各群中の妊娠継続例についての妊娠中の体重、摂餌量及び摂水量の平均の推移を図1に示した。このうち強運動群では運動期間の終了後すなわち妊娠7日以後の4日間、摂餌量がやや減少する傾向が認められた。しかし妊娠後半期には妊娠の進行に伴って漸次増加し、体重や摂水量とともに対照群と大凡同等の推移を示した。

アリザリン赤S染色骨透明標本の観察の結果を表2に掲げた。骨格の発育度を示すものとして化骨の進行状況を検索することとし、これには上後頭骨の左右化骨核融合の有無、後肢基節骨の化骨核の有無及び尾椎化骨核数を当てた。このうち上後頭骨について見ると、軽運動群の化骨が最も進み、次いで対照群のその順となるが、両群を比較すると前者の化骨核融合の頻度が有意に高い事が認められた ($p<0.05$)。また後肢基節骨や平均尾椎化骨核数に関しても、その化骨の進行状況を

Fig. 1. Average body weight and food and water intake of mothers with maintained pregnancy

Table 2. State of ossification in the alive fetuses at term

Group	No. of fetuses examined	Ossification		
		Fused supraoccipital (): %	Feed with ossified phalanx proximalis (): %	Ossified caudal vertebrae (Av. $\pm$ S. D.)
Severe exercise group	23	4 (17.4)	17 (37.0)	3.04 $\pm$ 0.46
Mild exercise group	62	22 (35.5)*	68 (54.8)	3.34 $\pm$ 0.59**
Control (without exercise)	73	16 (21.9)	69 (47.3)	3.25 $\pm$ 0.75

* : Significantly higher as compared with that in control ($P<0.05$)

** : Significantly higher as compared with that in severe exercise group ($P<0.05$)

示す数値が軽運動群、対照群、強運動群の順となる事は上後頭骨の場合の成績と共通している。

考 察

マウスに於ける着床期は交尾後4～5日と云われ、妊娠6日に於ける発育状態はヒトでの受精後ほぼ2週に、またマウスの妊娠13日での発育状態はヒトのほぼ5週にそれぞれ当ると見なし得る(Otis, E. M. and R. Brent, 1954)。この点よりあえてヒトに当嵌ると、強運動群の運動負荷終了期はヒトでは妊娠の診断し得ない初期に、また軽運動群のそれは妊娠第2カ月の後半期にそれぞれ当ることとなる。

さて上記の実験成績からして、交尾後より着床前後に当る妊娠当初マウスに強い強制的走運動を負荷すると妊娠の継続が高率に阻止される事、またこの1日当りの負荷時間を半減しその期間を2倍に延長させた場合には、その生胎仔の一部の骨格の発育はやや進んだ状態を示す事などの結果を得た。

母体の身体運動と妊娠・出産或いは胎児の発育との関係を調査した報告は多くの場合女子スポーツ選手を対象としたものであり、これらによると選手生活が妊娠や出産に特に悪影響を持つとは考えられないとしている(Franz, R. 1937, Knoll, W. 1939, Walde, J. 1962)。また Erdelyi, G. (1962) の報告では妊娠3～4カ月まで運動を続けた女子選手でも特に妊娠に対する阻害作用は見られなかったという。また犬竹(1958)によると、本邦の女子スポーツ選手についての同様な調査の結果、妊娠・産褥等の期間に於ける健康度、分娩時間、新生児の体重等では優れていると認めた、と述べている。しかしこれらの調査はその対象が特に妊娠初期だけに激しい運動をしたものではない。本成績中の走運動負荷による妊娠継続への阻害作用について見ると、それは着床を阻害された場合と着床後の早期妊娠の継続を阻害された場合とが考えられる。これらの作用機序の一つには身体運動に伴って子宮への血流量が減少することが推測される。この点について見ると、Morris, N. ら(1956)は妊娠末期のヒトに床上でベダル運動を負荷し、この時の血流の状態を検索した結果、骨格筋への血流量が増加するのに対し子宮へのそ

れは減少することを認めた。かかる現象がマウスの場合に於ても考えられるが、このことが初期胚の生命維持に重大な阻害作用を持ったものと推測される。また一方妊娠マウスの絶食が胚を死亡せしめる機序として脳下垂体前葉の機能低下があげられている(McCluer, T.J. 1961)が、本実験の場合の100分間の走運動による熱源消耗がその体重の推移から見て絶食の場合に匹敵するか否かは疑わしい。

マウスの妊娠13日胚の骨格発育について見ると、軟骨形成が進み一部に化骨中心が出現する直前の段階と見ることが出来る。軽運動群の成績中その胚の骨格の発育は対照群のそれを凌駕する結果となったが、かかる所見が何に由来するのかは不明である。又奇形仔の自然発生率について見ると、両実験群とも有意差は認められなかったが対照群のそれよりやや低い傾向にある。かかる傾向からして妊娠中の母体の身体運動が奇形発現に関与するか否かはさらに多数例を以って検討せねばならぬ点である。

総 括

初期の妊婦の激しい運動と妊娠の継続や胚発生との関係についての参考資料を得るためA/Jax雌マウスを用い妊娠0～6日の間毎日100分間(強運動群20例)、又は同0～13日の間毎日50分間(軽運動群18例)電動式トレッドミルを以って分速15mの走運動を負荷し、之等とこの負荷を与えず他は同様な環境下においた対照群(15例)と共にその妊娠の進行や胚発生の状態を検索した結果、大要次記の所見を得た。

1. 妊娠末期の子宮に於て着床痕又は受胎産物の認められた母体の数について見ると、強運動群は対照群より有意に少なく、全胚がその着床を阻害されるか或いは着床後早期に吸収される母体が多かったものと考えられる。しかし軽運動群ではかかる所見は認められなかった。

2. 妊娠のあとが認められた母体のうち各群の腹仔数、胚死亡率、生仔体重及び奇形仔頻度については群間に差異が認められなかった。

3. 生仔の化骨の進行について見ると、軽運動群は対照群のそれと同等又は一部の骨に於てはこれを凌ぐ傾向が認められたが、強運動群では対照

群との間に差は認められなかった。

稿を終えるに臨み、研究の便宜並びに助言を与えられた京都大学医学部解剖学教室西村秀雄教授外講座員御一同に謝意を表する。

引用文献

- 1) Dawson, A.B. (1927). : A note of the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain Tech.*, 1 : 123-124.
- 2) Erdelyi, G. (1962). : Gynecological survey of female athletes. *J. Sports Med. Physical Fitness*, 2 : 174-179.
- 3) Franz, R. (1937). : Frau und Leibesübungen. *Wien. Klin. Wochschr.*, 50 : 1117-1122.
- 4) 犬竹正雄 (1958). : 元オリンピック女子選手の産科的動向. *体力科学*, 9 : 437.
- 5) Knoll, W. (1939). : Haben Sportlerinnen Schwere Geburten? *Med. Klin.*, 35 : 845-846.
- 6) McClure, T.J. (1961). : Pathogenesis of early embryonic mortality caused by fasting pregnant rats and mice for short periods. *J. Reprod. Fertil.*, 2 : 381-386.
- 7) Morris, N. (1956). : Effective uterine blood-flow during exercise in normal and pre-eclamptic pregnancy. *Lancet*, 2 : 481-484.
- 8) Otis, E.M. and Brent, R. (1954). : Equivalent ages in mouse and human embryos. *Anat. Rec.*, 120 : 33-56.
- 9) Walde, J. (1962). : Obstetrical and gynecological back and pelvic pain, especially those contracted during pregnancy. *Acta Obst. Gynec. Scand.*, 41 : 11-53.