

# 性腺刺激ホルモンによる誘発排卵の受精に及ぼす影響

北里大学畜産学部家畜繁殖学教室

豊田 裕

## 研究目的

性腺刺激ホルモン投与による過排卵 (super-ovulation) 誘発処理を受けた未成熟および成熟マウスでは、自然排卵動物に比較して、出生前の胚の損失が明らかに高いことが知られている。胚の死滅が最も多くみられる時期は、卵割期、着床の前後、妊娠中期および分娩の前後で、妊娠中期の死滅は発育遅延を伴っているといわれている (Beaumont & Smith, 1975)。

過排卵処理に伴う胚の死滅の増加は、胚相互の競合および母体の栄養的または内分泌的条件の変化などの胎内環境因子に帰せられ、卵自身の遺伝的欠陥に基づくものではないと一般に考えられている。その根拠の一つとして、過排卵由来の2-細胞期マウス胚が①体外培養による胚盤胞への発生率に関しても、また②胚盤胞期において偽妊娠雌の子宮へ移植後の胎児への発生率に関しても、自然排卵由来胚とほぼ同じ値を示すことが挙げられている (Gates, 1971)。

しかし、一方では、過排卵由来胚における染色体数の異常の増加が見出され、とくに2卵核受精由来 (Takagi & Sasaki, 1976) および2精子受精由来 (Maudlin & Fraser, 1977) の3倍体マウス胚の出現頻度の増加が報じられている。誘発排卵卵子において異常受精の出現頻度の増加が起こり得るとすれば、それに由来する胚の一部は死滅を免かれ、先天異常を伴う新生児として誕生する可能性は否定できないように思われる。

以上の観点から、本研究では成熟マウスを用い PMSG と HCG の用量および投与間隔を種々に変えて排卵を誘発し、得られた誘発排卵卵子を一

定の環境条件下に体外で受精させ異常受精出現に及ぼす性腺刺激ホルモンの投与量および投与間隔の影響について検討した。

## 研究方法

実験には JCL:ICR 系成熟マウス (2~5ヶ月令) を用いた。

(1) 排卵の誘起 毎日の膣垢検査により規則正しい性周期を認めた動物について、膣垢像が発情前期像を示す日に PMSG (ビーメクス, 三共ゾーキ) を腹腔内に注射し、その36, 48または60時間後に HCG (ブペラーゲン, 三共ゾーキ) を同じく腹腔内注射した。用量は表1に示す如く、2.5, 5, 10, 15または20 i.u. PMSG と5 i.u. HCGの組み合わせを3つの投与間隔で設定し、さらに5 i.u. PMSG と2, 5, 10, 20, 50または100 i.u. HCGとの組み合わせを48時間間隔で設定した。供試ホルモンは所定量が0.1 mlに含まれるように生理食塩水で溶解して用いた。

(2) 排卵の検査 HCG投与後14~14 $\frac{1}{2}$ 時間に動物を頸椎脱臼法で殺し、卵管を摘出して培養用ペトリ皿内の流動パラフィン中に投じ、卵管膨大部の壁を解剖針で裂き卵上丘細胞層に包まれた卵子を採取した。次いで、この排卵卵子を卵丘に包まれたままの状態流動パラフィン下の培地内へ導き、体外受精に供した。排卵卵子数の検査は、体外受精の結果の観察の際に行なった。

(3) 体外受精 豊田, 横山, 星 (1971) の方法によった。ただし、精子の受精能獲得のための前培養は2時間とし、受精の場の精子濃度は

PMSGの用量を変化させた実験区では25/ $\mu$ l, HCGの用量を変化させた区では100/ $\mu$ lとした。

精子添加後4時間に卵子をスライドグラス上に移し、カバーグラスで軽く圧して扁平にした後に、位相差顕微鏡下で検査した。卵子の分類は前報(1975)と同じ基準によった。

## 研究結果

(1) 排卵数 各実験区における排卵陽性動物の割合および排卵数の平均値を表1に示す。36時間間隔区ではPMSG投与量の増加に伴って排卵陽性率は急激に低下し、20 i.u.区では全く排卵がみられなかったが、他の投与間隔区ではPMSGおよびHCGの投与量に関係なく、ほぼ全例に排卵を認めた。排卵陽性動物一匹当たりの平均排卵数は36時間区は5 i.u. PMSG区において、また、48時間区では10 i.u. PMSG区において最高値を示し、過剰量のPMSG投与は排卵数の低下をもたらした。60時間区では5 i.u. から20 i.u. にわたり安定した反応を示したが、15 i.u. で最も高い値が得られた。一方、HCG投与量は2 i.u. から100 i.u. の間では排卵数に対し影響を与えなかった。

(2) 受精成績 前核期における体外受精卵の観察結果を表2に示す。誘発排卵由来の体外受精卵1,284個のうち、1,137個(88.6%)は形態的に正常と判定された。残り147個の内訳は以下の如くである。1)多精子受精107例(8.3%, うち2精子が100例, 3精子6例, 4精子1例), 雄性発生2例, 雌性発生7例, 前核を1個のみ有する卵子で雄性発生とも雌性発生とも決め難いもの15例, 多卵核受精4例, 前核様の小さな構造物(accessory nucleus)を有する卵子4例および退行8例。

異常受精の出現頻度と過排卵誘起処理との関連をみると、多精子受精は48時間, 15 i.u. 区で自然排卵卵子に比較して明らかに高い頻度で出現した(9.4 VS 2.0%)。多精子受精以外の異常受精の頻度は36, 48および60時間区でそれぞれ10 i.u., 15 i.u. および20 i.u. PMSGにおいて最も高い値を示した。この結果

排卵数の成績と比較すると、排卵数が最高値に達する用量よりも一段階高いPMSG用量において異常受精が多く出現するという傾向がうかがわれた。

一方、HCG投与量を変えた区では、表2Bに示されるように異常受精はほとんどが多精子受精で、その出現頻度は投与量に関係なくほぼ一定していた。

## 考察

本研究の結果から、異常受精の出現頻度はPMSGとHCGとの投与間隔の影響を受けることが知られた。排卵数が最高値を示すPMSG用量よりも高い用量において異常受精の頻度の増加がみられたことは過剰量のPMSGが受精成立に悪影響を及ぼすことを示唆する。この結果は前報(昭和51年度)の成績と符合する。ただし、本研究の結果が直ちに誘発排卵卵子自体における異常を証明するものではない。排卵誘起処理に伴う排卵時期の変異および排卵後採卵までの間にさらされる卵管内環境の変化も考慮されねばならない。一方、本研究で用いた系統で経験的に見出されていた最適な過排卵誘起法、すなわち5 i.u. PMSGと5 i.u. HCGを48時間間隔で投与する区では異常受精の出現が低いことも注目される。すなわち、誘起処理が適切であれば誘発排卵それ自体は異常受精の出現をもたらす要因とはならない。

本研究で得られた異常受精卵の発生運命は追求されなかったが、異常の程度から考え、胚の死滅の一因となるべき性格のものであると思われる。異常児の出産を導くような軽度の異常受精卵の検出にはより精密な細胞遺伝学的観察が必要と思われる。

## 要約

排卵誘発の受精に及ぼす影響を知る目的でJCL:ICR系成熟雌マウスに種々の量のPMSGを投与し、36, 48または60時間後にHCGを投与して排卵を誘起した。次いで、誘発排卵卵子を一定条件下で体外受精に供し、前核期における異常受精の有無について検討した。

排卵数は36, 48および60時間区でそれぞれ

れ5 i.u., 10 i.u. および15 i.u. PMSG 区で最高値に達し, 一方, 異常受精の出現頻度はそれぞれの時間区で10 i.u., 15 i.u. および20 i.u. 区において最も, 高い値を示した。この結果から過剰量のPMSGは誘発排卵卵子の受精能に悪影響を与えることが推察された。

文 献

- 1) 豊田 裕: 誘発排卵妊娠による心身障害発生に関する研究 厚生省(昭50)
- 2) 豊田 裕: 同上 体外培養による胚の発生能の検討 厚生省(昭51)

TABLE 1. INDUCED OVULATION BY PMSG AND HCG.

INTERVAL BETWEEN PMSG AND HCG INJECTION (HR)	DOSE OF PMSG (I.U.)	DOSE OF HCG (I.U.)	NO. OF FEMALES EXAMINED	NO. OF FEMALES WITH TUBAL EGGS (%)	AVERAGE NUMBER OF TUBAL EGGS / FEMALES WITH TUBAL EGGS ( $\bar{x} \pm S.E.$ )	AVERAGE NUMBER OF TUBAL EGGS / FEMALES EXAMINED ( $\bar{x} \pm S.E.$ )
36	2.5	5.0	7	7 (100)	5.9 $\pm$ 0.91	19.8 $\pm$ 4.45
	5.0		11	10 (91)	21.8 $\pm$ 4.41	
	10.0		14	10 (71)	12.7 $\pm$ 4.07	
	15.0		15	5 (33)	10.4 $\pm$ 4.20	
20.0		8	0 (0)		3.5 $\pm$ 1.84	
48	2.5	5.0	13	12 (92)	8.3 $\pm$ 0.76	7.7 $\pm$ 0.95
	5.0		12	11 (92)	23.2 $\pm$ 4.06	
	10.0		16	15 (94)	30.4 $\pm$ 3.82	
	15.0		12	12 (100)	19.4 $\pm$ 3.03	
20.0		13	12 (92)	11.3 $\pm$ 2.87	10.5 $\pm$ 2.78	
60	2.5	5.0	6	6 (100)	6.8 $\pm$ 1.13	
	5.0		7	7 (100)	20.4 $\pm$ 4.71	
	10.0		6	6 (100)	23.7 $\pm$ 4.48	
	15.0		6	6 (100)	26.2 $\pm$ 4.36	
20.0		6	6 (100)	20.8 $\pm$ 4.42		
48	5.0	2.0	5	5 (100)	20.2 $\pm$ 4.04	
		5.0	3	3 (100)	21.0 $\pm$ 3.46	
		10.0	4	4 (100)	23.5 $\pm$ 1.95	
		20.0	5	5 (100)	23.8 $\pm$ 5.63	
		50.0	5	5 (100)	17.2 $\pm$ 3.06	
100.0		5	5 (100)	21.4 $\pm$ 4.37		



↓  
**検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用  
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります  
↓

#### 研究目的

性腺刺激ホルモン投与による過排卵(super-ovulation)誘発処理を受けた未成熟および成熟マウスでは、自然排卵動物に比較して、出生前の胚の損失が明らかに高いことが知られている。胚の死滅が最も多くみられる時期は、卵割期、着床の前後、妊娠中期および分娩の前後で、妊娠中期の死滅は発育遅延を伴っているといわれている(Beaumont & Smith, 1975)。