

## ③ 誘発排卵妊娠による心身障害発生に関する研究

北里大学畜産学部家畜繁殖学教室

豊 田 裕

### 研究目的

排卵誘発剤によって異常卵子の排卵が招来されるのではないかの疑問は、常に論議的であるとされているが、依然として確証を欠き肯定あるいは否定のいずれの側に立つ確固たる実験的裏付もなく、また理論的根拠も得られていない。

この問題の解決を困難にしている基本的要因は、卵巣内に存在する多数の卵母細胞のうちきわめて少数のみが成熟し排卵するという、いわゆる、生殖細胞の選択の機序が全く不明な点にあるが、胎内における胚の発生が生殖細胞自体の発生成能と胎内環境との複雑な相互作用を経て進行することも問題の分析をきわめて困難にしている。

以上の観点に基づき、本研究においては、誘起排卵卵子それ自体の異常を検出する目的で 1) 受精過程における異常の検出が最も容易な前核期において自然排卵卵子と誘起排卵卵子の受精成績を比較し、2) 受精の遅延が異常受精をもたらす主因の一つであることを考慮して排卵後の時間経過に伴う変化について比較を試み、さらに 3) 体内 (in vivo) における成績を体外 (in vitro) での成績と対比させて卵子自体の異常と受精の場の環境の影響の分析を試みた。

### 研究方法

実験にはすべて ICR-JCL 系成熟マウスを用いた。この系統を選んだ理由は、特殊化された近交系でなく多用途を有する普通的な系統であることと、報告者みずからが、すでに体外受精に関する研究を進めて再現性の高い方法を確立しているので、本研究に適すると判断したためである。

#### (1) 排卵の誘起

i) 自然排卵. 2~4ヶ月令の成熟雌マウスを単飼し、4~6日の比較的規則正しい性周期を示す動物について、膣垢像から排卵日を判定した。

ii) 誘起排卵. 成熟マウスに対し、性周期の時

期に関係なく、妊馬血清性腺刺激ホルモン (PMSG) および絨毛性性腺刺激ホルモン (HCG) のそれぞれ 5 i.u. を 48 時間間隔で腹腔内に注射し、排卵の誘起した。

#### (2) 排卵時期の確認

i) 自然排卵. 排卵予定日の午前 0, 1, 2, 3, 4 および 5 時に剖検し卵管膨大部の排卵卵子を観察した。その結果、排卵陽性動物は時間の経過に伴って 0, 20, 50, 70, 70, 100% と増加し、過半数の動物に排卵を認めた時刻として午前 3 時を排卵時期と定めた。なお、午前 5 時剖検例における平均排卵数は  $13.4 \pm 0.7$  (平均値 ± 標準誤差) であった。

ii) 誘起排卵. HCG 注射後 10, 11, 12, 13 および 14 時間の動物について自然排卵の場合と同様に検査を行った。その結果、排卵陽性動物は各時間区において 0, 0, 10, 95, 93 および 100% であり、大部分の動物に排卵を認めた時間として HCG 注射後 12 時間を排卵時期と定めた。なお、HCG 注射後 14 時間における排卵数は  $31.8 \pm 1.6$  (平均値 ± 標準誤差) であった。

#### (3) 体内 (in vivo) における卵子の受精能の検討

i) 授精. すべて人工授精により定められた時期に授精を行った。対照区としては自然交配させた動物を用いた。人工授精の方法は Dziuk & Runner (1960) の原法を一部修正して用いた。すなわち、成熟雄マウスの精巣上体精子を流動パラフィン下の体外受精用培養液に浮遊させて受精能獲得誘起のために約 60 分間前処理し、この精子を子宮頸管を通して子宮腔へ注入した。注入精子数は  $2 \sim 6 \times 10^6$  / 匹とした。

ii) 授精の時期. 自然排卵、誘起排卵の両者共、排卵後 4, 8, 12, 16 および 20 時間とした。

iii) 卵子の検査. 授精後 6~8 時間に動物を殺し、卵管内の卵子を採取してホルマウント標本

を作成し位相差顕微鏡で検査した。卵子の分類は下記の基準に従った。

1. 透明体の内側に精子を認めた卵子，すなわち精子侵入卵

1.1 卵細胞質内に精子頭を認めた卵子，すなわち，受精途上卵子

1.1.1 正常な受精途上卵子：雌性前核および雄性前核を各一個保有し，形態的に正常なもの

1.1.2 異常な受精途上卵子：外形の不規則化，多精，多卵核，直接卵割，雌性発生，雄性発生，異常分割，退行およびこれらの複合型

1.2 囲卵腔にのみ精子を認めた卵子

2. 精子侵入が起きなかった卵子

(4) 体外 (*in vitro*) における卵子の受精能の検討

豊田，横山，星 (1971) の方法に従い，受精の場の精子濃度を前進運動精子について  $50/\mu b$  に統一して体外受精を試みた。卵子採取時期および卵子の検査は人工授精の場合と同様の方法によった。

### 研究結果

(1)人工授精，各授精時期における精子侵入卵の割合および精子侵入卵の中に占める正常な受精途上卵の比率は付図1に示される通りである。すなわち，精子侵入卵の割合でみると，自然排卵，誘起排卵のいずれの場合においても排卵後8時間までは対照区と差のない高い値が維持され，排卵後20時間には著しく低下したが，自然排卵においてやゝ早く起る傾向がみられた。同様に，精子侵入卵の中で正常な受精途上卵の占める割合の低下も自然排卵卵子においてやゝ早く始まる傾向がみられた。観察された異常受精の主な様式は，早い時期の受精では外形異常および多精子，排卵後8～12時間では，多卵核，直接卵割，雌性発生，雄性発生などの卵子成熟分裂の異常を伴う例が加わり，16時間以降の卵子においては大部分が異常分割および退行で占められ，これらの傾向は自然排卵と誘起排卵に共通であった。

(2) *in vitro* と *in vivo* の成績の比較.

各授精時期における精子侵入卵および正常受精途上卵の割合を *in vitro* と *in vivo* で比較した結果は付図2に示される通りである。受精の場の環境を一定にした *in vitro* の条件下では排卵後の時間経過に伴う精子侵入率の低下は緩やかで，*in vivo* におけるような急激な低下は示さなかった。自然排卵卵子では正常受精途上卵の割合も *in vitro* においてより高い値が得られたが，誘起排卵卵子では両者の値はほとんど一致した。

### 考 察

本研究における実験条件の範囲内では，誘起排卵が異常卵子の出現頻度を増加させることを示す成績は得られなかった。卵子自体の受精能の直接的検定を目指した体外受精において有意の差は見出せなかったからである。ただし，本研究は受精途上における観察に止まっているので，これらの卵子の発生異常の検討は今後の研究に俟たねばならない。

自然排卵において *in vivo* における受精成績の低下がより速やかに起った理由は明らかでないが，これが老化卵子の受精を防ぐ一種の“異常発生防止機構”の存在を示しているとするれば，誘起排卵処理はこの防止機構に影響を与え異常発生の頻度増加を招来する可能性が示唆される。

### 要 約

性腺刺激ホルモンによる誘起排卵卵子の異常を検討する目的でICR-JCL系成熟マウスを用い排卵後4～20時間にわたり人工受精および体外受精を試み，自然排卵卵子と受精成績を比較した。その結果，誘起排卵卵子における異常頻度の増加を示す成績は得られなかったが，さらに発生異常への影響について研究の必要性が示唆された。

### 発 表 文 献

本研究の概要は日本不妊学会雑誌に発表予定である。

### 付図2の説明

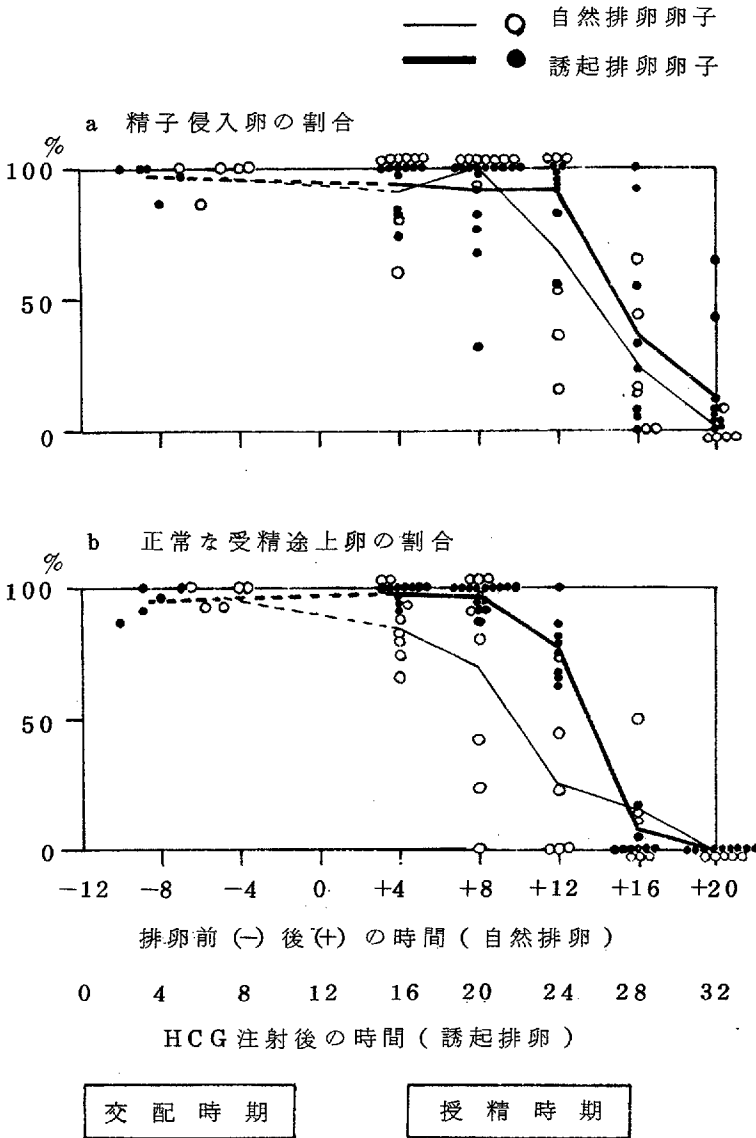
*In vivo* と *In vitro* における受精成績の比較。

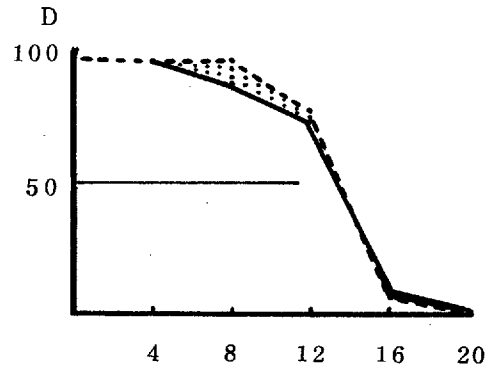
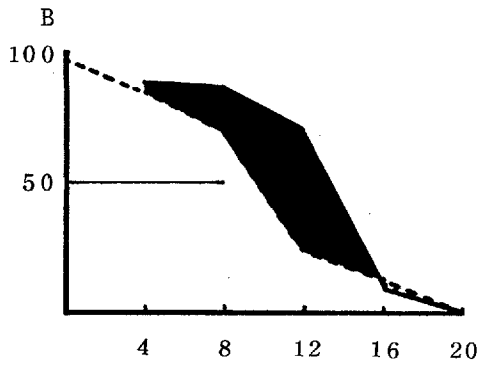
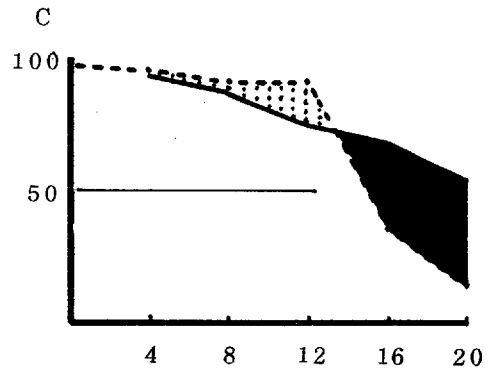
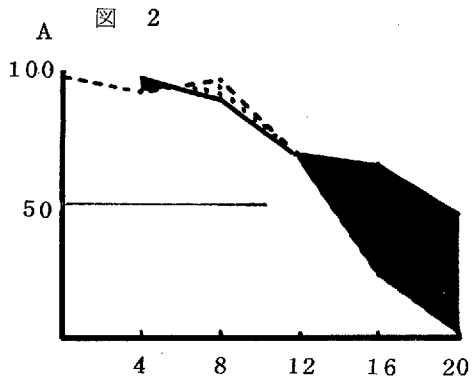
- A: 精子侵入卵の割合 (自然排卵卵子)
- B: 正常な受精途上卵の割合 (同上)
- C: 精子侵入卵の割合 (誘起排卵卵子)
- D: 正常な受精途上卵の割合 (同上)

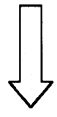
実線は体外受精 (in vitro), 破線は人工受精 (in vivo) の成績を示す。  
 縦軸: 百分率 (%)  
 横軸: 授精時期 (排卵後の経過時間)

図 1

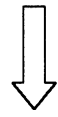
自然排卵卵子と誘起排卵卵子の受精途上における成績の比較 (in vivo)







**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

排卵誘発剤によって異常卵子の排卵が招来されるのではないかと疑問は、常に論議的とされているが、依然として確証を欠き肯定あるいは否定のいずれの側に立つ確固たる実験的裏付もなく、また理論的根拠も得られていない。