

# ICR-JCL系マウスの卵管かん流による採卵数について

田上末四郎・森 照代

たん白質給与レベルの違いによる雌豚の繁殖障害の発生とその原因を追求する目的で、パイロット動物としてのマウスで行った繁殖試験の成績、特に産子数の減少や腔栓が確認されながら分娩に到らなかった現象<sup>1)</sup>の原因については、発情周期と交配との関係を調査した結果ならびに参考までに観察した排卵卵子に形態異常の卵子が出現した<sup>2)</sup>ことなどから、たん白質高レベルあるいは低レベル飼料の摂取によって発情休止期にあったマウスが、雄マウスの同居による異常発情によって排卵された異常卵の着床失敗によるものではないかと考えられた。したがって、このことの原因解明には、たん白質高レベルあるいは低レベル飼料を給与したマウスにおける排卵数や排卵卵子への影響を詳細に調査する必要があるが、またそのためには、基礎となるもっとも有効的な卵子の採卵法や使用マウスの種類による排卵数を知っておく必要があるが、著者らが使用しているICR-JCL系マウスの排卵数についての報告は、田上・秋元が組織学的手法によって得られた成績<sup>3)</sup>以外未だみられない。

一般に、マウスやラットにおける排卵の有無ならびにその数または卵管内の卵子数を検査するには、豊田の観察法<sup>4)</sup>による卵巣排卵点の数、すなわち黄体数による間接的な方法または江藤らの卵管透過法<sup>5)</sup>による卵管内の卵子数計測による直接的な方法などが用いられている。採卵の場合、目的によってその方法は異なるが、排卵された卵子の数のみならず、その形態までを観察しようとする場合には、これらの方法によっては詳細な観察までを期待することはできない。また、従来から行われている卵管細片法<sup>6-7)</sup>や最近Bronson and McLaren<sup>8)</sup>、新村・石田<sup>9)</sup>らがこれまでに用いている卵管かき破り法による採卵法などでは、採卵時に卵管上皮の組織片

が混入したり卵管組織に卵子が付着することによる見逃し、あるいは有柄針を用いてかき破る際における卵子の損傷などのおそれもあり、正確な排卵数を求めたり、卵子の形態までを問題とする必要がある場合には、かならずしも適切な方法とは思われない。一方、マウスの卵管かん流については、ピペット内容液によるかん流法<sup>8)</sup>、<sup>10)</sup>があるが完全ではない。菅原<sup>11)</sup>はラットで注射筒を用いたかん流を子宮角側から行い、高い採卵率(83.2%)が得られたことを報告しているけれども、全卵を採集するまでには到っていない。著者らはマウスについてこの方法を試みたが、かん流の際の抵抗圧が強く適用不可能であった。そこで、Noyes and Dickmann<sup>12)</sup>が用いた卵巣端の卵管采から子宮角に向かってかん流する逆の方法により採卵する方法と卵子に関する研究で最近行われている卵管かき破り法による採卵法とによって得られた計測数を、豊田の観察法による新黄体数をベースに比較した結果、良好な成績が得られたので報告する。

## 材料および方法

供試マウスは、既報<sup>1)</sup>の環境、飼育管理の要領に準じ、育成用の市販の固型飼料で飼育され、2週間の腔垢検査によって順調な発情周期が認められた、ICR-JCL系の未経産雌マウス64頭および雄マウス16頭(生後60~65日齢)である。これらのマウスは、卵管かん流法区(A区)と卵管かき破り法区(B区)の2区に等分して雌32頭ずつに分け、1区当り8ケージを用いて1ケージに4頭の雌と、発情・排卵の有無を腔栓により判定するために1頭の雄を同居させた。雄を同居させた後、毎日の朝夕に腔栓の有無の観察を続け、腔栓が確認されたマウスについて、その翌日の午後、エーテル麻酔後に開

腹して心臓放血によりと殺解剖し、損傷のないよう注意しながら材料(卵巣・卵管・子宮とも)を取り出した。なお、解剖日については、豊田の黄体観察法<sup>4)</sup>の場合の新黄体による排卵点の計測が腔栓確認当日では不適當の

ため、計測値の、より正確さを考慮して腔栓確認日の翌日にしたものである。取り出した材料は、左右別に実体顕微鏡下で卵管かん流法(第1図)と卵管かき破り法によってそれぞれ採卵し、採卵卵子は400倍の顕微鏡下

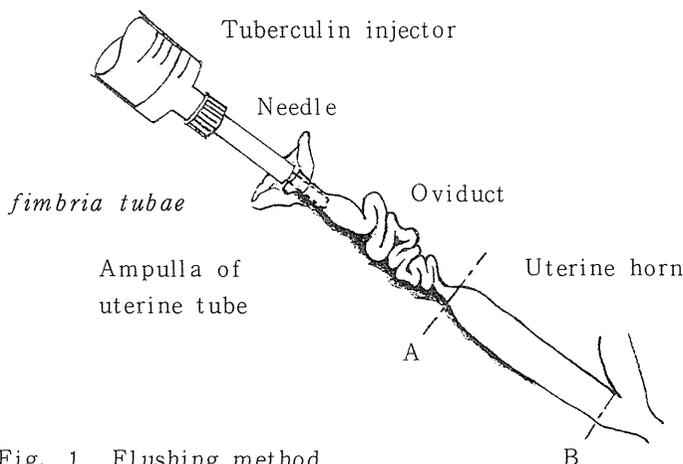


Fig. 1 Flushing method  
 A, B : Portion of amputation.  
 A : Case of flushing only oviduct ;  
 B : Case of flushing oviduct and uterus.

で、また卵巣は実体顕微鏡下でそれぞれ観察計測した。なお、採卵率は、両方法によって得られた採卵数と豊田による新黄体数の測定で得られた排卵点との比によって求めた。また、卵管かん流に当っては、Noyes and Dickmann<sup>12)</sup>が用いた方法によるが、使用器具はツベルクリン注射筒に装着の先端を丸くした鈍端の1/2段針を用い、かん流液は生理食塩水を用いた。

### 結果および考察

卵管かん流法と卵管かき破り法とによって得られた採卵数ならびに豊田の観察法によって得られた新黄体数の計測値を第1表に示した。

卵管かん流によって得られた卵子の数は32頭で左右合計508個となり、1頭当りの平均は15.9個、また新黄体の数は502個で、1頭当りの平均は15.7個であった。したがって、採卵率は101.2%となり、100

%を超えた。このことは、32頭のうちの6頭のマウスの採卵数が、新黄体数よりそれぞれ1個ずつ多かったことによるものである。田上・秋元<sup>3)</sup>は、排卵後の卵巣および卵管の連続切片による組織学的手法によって、本実験に供用したマウスと同種のICR-JCL系のマウスの新黄体数と卵管内の卵子数を調査し、実験材料の29.2%に多卵性卵胞の排卵を認めており、またFekete<sup>13)</sup>もC58系マウスで卵管内の卵子数と卵巣の新黄体数とを調べた試験での成績から、多卵性卵胞の排卵の可能性を示唆している。これらのことから、本試験での101.2%という高い採卵率は、多卵性卵胞の排卵によるものと考えられる。

一方、卵管かき破り法での32頭の採卵卵子数は左右合計で474個、1頭当りの平均は14.8個、また新黄体数は左右の合計で518個、1頭当りの平均は16.2個となり、採卵卵子数との間に44個の差が認められた。

Table 1. Number of oviduct ova and marks after ovulation in the ICR - JCL strain mice

Group <sup>1)</sup>		A	B
No. of mice		32	32
No. of ova	Right	258	228
	Left	250	246
	Total	508	474
Av. no. of ova / mouse (range)		15.9±0.4 <sup>2)</sup> (12-20)	14.8±0.3 (12-18)
No. of marks after ovulation (no. of new corpora lutea)	Right	256	247
	Left	246	271
	Total	502	518
Av. no. of luteum / mouse (range)		15.7±0.4 <sup>2)</sup> (11-20)	16.2±0.4 (12-19)
Rate of collection (%) (no. of ova / no. of luteum × 100)		101.2	91.5
No. of animals from which ova were containted	more than marks	6	0
	less than marks	0	24

1) A; By flushing the oviduct, B; By incising the oviduct.

2) Mean value ± standard error.

したがって、採卵率は9.15%となり、かなり高い採卵率ではあったが卵管かん流法による場合よりも低かった。また、新黄体数と採卵数とが合致したマウスの数は、32頭のうち8頭であって全卵採卵の成功率は25%となった。卵管かん流によって得られた多卵性卵胞の排卵の可能性を考慮すると、この卵管かき破り法における全卵採卵の成功率は、なお低下することが予想される。

以上のことから、マウスにおいて、排卵された卵子の数のみならずその形態までを観察するような場合の採卵法は、卵巣端の卵管采から子宮角に向かってかん流する卵管かん流法が最も有効的な方法であり、またICR-JCL系マウスの1頭当りの平均排卵数は約16個である

ことが確認された。

## 要 約

排卵された卵子の数や卵子の詳細な形態までを観察する場合の有効的なマウスの採卵法ならびにICR-JCL系マウスにおける排卵数を把握するために、市販の固型飼料で育成され、2週間の発情周期検査で順調な周期の認められた未経産マウス64頭(60~65日齢)を用いて実験を行った。供試マウスを32頭ずつに分け、卵管かん流法と卵管かき破り法とで採卵し、その採卵数を、それぞれの卵巢中の新黄体数をベースにして比較した。採卵は両方法とも排卵後2日目の卵管から生理食塩水を

用いて行った。その場合、かん流は卵管采側から鈍端の  
 1/2注射針で、また卵管かき破りは有柄針によった。卵子  
 数は400倍の顕微鏡下で、また新黄体数は豊田の方法<sup>4)</sup>  
 を用い、2枚のスライドグラスにはさんだ卵巣を透過  
 光による顕微鏡下で計測した。

得られた結果は次の通りである。

1) マウスにおける卵管からの有効的な採卵法は卵管  
 采側からのかん流がすぐれ、採卵成績は101.2%とな  
 った。

2) ICR-JCL系マウスの1頭当りの平均排卵数は  
 約16個であった。

3) 排卵数が排卵点より多かった個体が6頭あり、高  
 い採卵率を示したが、これは田上・秋元の報告<sup>3)</sup>から、  
 多卵性卵胞の排卵によるものと思われた。

文 献

- 1) 田上末四郎・川淵嘉久・工藤義民・久池井忠男, 日  
 畜会報, **49**, 779 (1978)
- 2) 田上末四郎, 日畜会報, **51**, 561 (1980)
- 3) 田上末四郎・秋元宏之, 茨大農学術報告, **24**, 59  
 (1976)
- 4) 豊田裕, 家畜繁殖誌, **7**, 111 (1961)
- 5) 江藤禎一・今道友則・星冬四郎, 家畜繁殖誌, **1**,  
 11 (1955)
- 6) BRIONES, H. and R. A. BEATTY, J.,  
 exp. Zool., **152**, 99 (1954)
- 7) 吉田博一, 九大農学芸雑誌, **16**, 171 (1957)
- 8) BRONSON, R. A. and A. Mc LAREN,  
 J. Reprod. Fertil., **22**, 129 (1970)
- 9) 新村末雄・石田一夫, 家畜繁殖誌, **25**, 176  
 (1979)
- 10) MATSUZAWA, A. and T. YAMAMOTO,  
 Jap. J. exp. Med., **44**, 473 (1974)
- 11) 菅原七郎, 家畜繁殖誌, **9**, 105 (1964)
- 12) NOYES, R. W. and Z. DICKMANN, J.  
 Reprod. Fertil., **1**, 186 (1960)
- 13) FEKETE, E., Anat. Rec., **108**, 699  
 (1950)

## On the Number of Ova Collected by Means of Flushing Oviduct in the ICR - JCL Strain Mice

SUESHIRO TAGAMI and TERUYO MORI

This study was executed to establish the effective method for collecting tubal ova and to estimate the number of natural ova ovulated from an ICR - JCL strain mouse.

The adult virgin mice, which were 60~65 days old and exhibiting the regular estrous cycle during 2 weeks before the observation, were investigated in this study. Sixty four female mice in total were divided at random into 2 groups of 32 mice respectively, and they were fed with commercial pellet feedstuff during the experiment.

The number of ova were counted by means of both flushing and incising the oviduct in each group. The number of ova both ovulated and collected were compared based on the number of marks newly formed after ovulation, that is, new corpora lutea in the ovary. The tubal ova were pushed out from the oviduct with physiological sodium solution on the 2nd day after copulation. In case of flushing the collection of ova was carried out with a blunted  $\frac{1}{8}$  needle, while in case of incising it was with holder needle.

The number of ova collected in this way were counted under  $400\times$  microscope, and on the other hand the number of corpora lutea newly formed were observed in the whole fresh ovary set on between two slide glasses under the microscope with translucent light, using TOYODA'S method<sup>4)</sup>. The results obtained were summarized as follows :

- 1) The effective method collecting the tubal ova were proved to flush from the side of the *fimbria tubae*.
- 2) Averagely speaking, the number of the ova, ovulated from the ICR - JCL strain mice, were counted about 16 ova a mouse.
- 3) As shown in Table 1, six mice among the observed contained more ova in their number than marks newly formed after ovulation. Judging from the results mentioned above, it seemed that it owed to the ovulation of the polyovulal follicles according to a previous paper<sup>3)</sup>.