

# 卵巣摘出マウスにおける外因性エストロゲン による雄マウスの許容性について

市川和明・田上末四郎

蛋白質高レベル飼料（以下高蛋白飼料と略）を給与した雌マウスでは、その給与日数の延長に伴って発情周期（以下周期と略）の延長と発情回数減少が認められるが、この周期は、雄マウスの同居によって短縮して発情する<sup>1)</sup>。この現象は、雄マウスの同居刺激と共に、高蛋白飼料の給与によって estrogen 分泌亢進の可能を示唆した NOBLE and GRAS の報告<sup>2)</sup>や人為的な肝機能障害発生によるマウスによる周期試験での発情期延長を認めた田上の結果<sup>3)</sup>、ならびに去勢雌ラットに estrogen を投与し、その投与量の増加によって被検ラットの Lordosis Quotient (LQ) の増加を認めた estrogen と性行動に関する YAMANOUCHI and ARAI の報告<sup>4)</sup>などから、雌マウスにおける肝機能の障害に基づく体内 estrogen の量的関与に起因するものと推測された。そこで、体内における estrogen の量と発情ならびにその持続性についての基礎的知見を得るために、去勢雌マウスを用い、人為的な外因性 estrogen の投与量と投与後の経日的な雄マウスの同居による交尾行動および陰腔の有無の関係について調査し、雌マウスにおける estrogen の体内量による雄マウスの許容性ならびにそれによる発情強度と持続性を検討した。

## 材料および方法

実験は、生後60～65日齢、体重29～35gのICR—JCL系性成熟未経産マウス120頭を、estrogen投与後の経日的な雄マウスの同居別に40頭ずつ3区（3回）に分けて行った。その試験区分は、A区（投与後1日）B区（投与後2日）およびC区（投与後3日）であるが、各区の実験は、それぞれ別の日に独立して行った。

雌マウスは、常法によって卵巣を摘出し、その1週間

後の8日目（手術部位の治癒期間）に試験に供した。卵巣摘出後の去勢マウスは、無作為に1ケージ当たり5頭ずつ収容し、安静に保ちながら摘出部位をヨードチンキで消毒し、ケージの入れ替えなしに群分けした。各区とも、その試験群は、estrogenの投与量によって1群2ケージの10頭ずつの4群（estrogen:0.024 $\mu$ g投与群、0.24 $\mu$ g投与群、2.4 $\mu$ g投与群および24 $\mu$ g投与群）である。

使用した estrogen は、estradiol benzoate 水性懸濁注射液（帝國臓器製薬 KK, OVAHORMON BENZOAT<sup>®</sup>）（以下EBと略）で、リンゲル液で各群所定の4段階の投与濃度に希釈した。その希釈濃度は、マウスへの皮下注射における陰角質化の最少有効量<sup>5)</sup>を考慮し、最低濃度を0.024 $\mu$ g/0.1mlとして10倍量ずつの0.24 $\mu$ g/0.1ml、2.4 $\mu$ g/0.1mlおよび24 $\mu$ g/0.1mlとした。これらEBの投与は、皮下用二段針装着のツベルクリン注射器を用いて腹腔内に行った。投与量は1頭当たり0.1mlである。また、その投与時間は、試験開始日の午後1～2時とした。なお、卵巣を摘出した去勢雌の場合、EBの投与に当たり、estrogenの量が少ないと陰の角質化は起こるが Lordosis を示さないことから、estrogenの注射に加えてその数時間後に progesterone の注射が必要であることが知られている。<sup>6)</sup> また、この progesterone の注射量は、EB量が1.7 $\mu$ gの場合、0.05mg量で100%の発情率が示されている<sup>7)</sup>。これらのことから、本試験では、各区各群とも、EBの投与量を考慮に入れず、すべてEB投与後の午後6～7時に progesterone を1頭当たり0.05mg/0.1mlを投与した。用いた progesterone（SIGMA社製）は所定の濃度にゴマ油溶液で調整した。またその投与法はEB

の投与法に準じた。

同居に用いた雄マウスは、他の雌マウスを妊娠させた経験のあるマウスで、各区各群とも1ケージ当たり2頭ずつとした。雄マウスの同居は、EBおよびprogest-eroneの投与後に行い、A区では24時間後、B区では48時間後、C区では72時間後とした。同居の次日から4日間の観察期間をもうけ、午前8～9時と午後5～6時の1日2回宛、各個体について交尾・膣栓の有無を観察した。これらの実験は同様は2回行った。

### 結果および考察

雄マウスの同居後における去勢雌マウスには、一般に知られている雌マウスの発情期の行動<sup>8-9)</sup>と同様、発情

状態を示すhopping行動やear wiggling行動などの、雄マウスを勧誘する行動現象が観察された。これら去勢雌マウスの行動現象は、雄マウス同居時期の早い試験区に多く、かつEB投与量の多い試験群特にEB:2.4μg投与群ならびにEB:24μg投与群に顕著に認められた。

膣栓形成の結果は、2回の実験とも類似した。その結果は、まとめて表1に示した。表に示した通り、EBの投与による100%の膣栓形成率は、いずれの投与量の場合にも認め得なかったが、EB投与量の増加と共にその形成率は高まった。

EB投与後の経日的な雄マウスの同居による膣栓形成は、時期的にはその同居の翌日朝が大部分で、A区では

Table 1. Formative rate of vaginal plug in spayed mice after estradiol benzoate administration (%)<sup>1)</sup>

Mating day after injection (days)	Day after mating (days)	EB <sup>2)</sup> concentration (μg)			
		0.024	0.24	2.4	24
1 (A group)	1	15 (3/20) <sup>3)</sup>	25 (5/20)	65 (13/20)	65 (13/20)
	2	15 (3/20)	25 (5/20)	80 (16/20)	90 (18/20)
	3	15 (3/20)	25 (5/20)	80 (16/20)	95 (19/20)
	4	15 (3/20)	25 (5/20)	80 (16/20)	95 (19/20)
2 (B group)	1	0 (0/20)	0 (0/20)	70 (14/20)	95 (19/20)
	2	0 (0/20)	0 (0/20)	80 (16/20)	95 (19/20)
	3	0 (0/20)	0 (0/20)	80 (16/20)	95 (19/20)
	4	0 (0/20)	0 (0/20)	80 (16/20)	95 (19/20)
3 (C group)	1	0 (0/20)	0 (0/20)	0 (0/20)	70 (14/20)
	2	0 (0/20)	0 (0/20)	0 (0/20)	70 (14/20)
	3	0 (0/20)	0 (0/20)	0 (0/20)	70 (14/20)
	4	0 (0/20)	0 (0/20)	0 (0/20)	70 (14/20)

1) %: Rate of accumulation

2) EB: Estradiol benzoate aqueous suspended solution

3) Figures in parentheses are mice number of vaginal plug formation for number of mice examined

すべてのEB投与群で認められたものの、B区ではEB: 2.4  $\mu$ g 以上の投与群に、またC区ではEB: 24  $\mu$ g の投与群にのみ認められ、それら以下の投与群には認められなかった。それらの形成率は、EB: 0.24  $\mu$ g 以下の投与群の場合、A区では25%以下の低率であったのに対し、EB: 2.4  $\mu$ g 投与群の場合、A区およびB区では80%、EB: 24  $\mu$ g の投与群の場合、A区・B区およびC区とも70%以上であった。しかし、100%の形成率には達しなかった。

一般に、Lordosis は哺乳類特げっ歯類の雌特有の行動で、雄のMount 刺激による反射行動とされ、雄のMountは雌のpheromone によるとされている。MORALI and BEYER<sup>7)</sup>によれば、去勢雌ラットの場合、EBの投与によって発情率が高くなるとLQ値も高くなるが、発情率が100%の場合であってもLQ値はこの発情率より低値を示している。これらのことは、雄マウスのMountやEBを投与された去勢雌マウスのLordosisを前現象とする交尾行動が、発情に相まって発現するものの、交尾行動の結果として認められる膣腔の形成率も発情率よりやや低値になることを示していると考えられる。したがって、本実験ではLQ値の測定は実施していないものの、去勢雌マウスにおける発情率は膣腔形成率よりも高く、EBの投与量の増加によって発情の強度は増し、持続されたものと判断される。また膣腔形成率について、本実験では各群間でEBの投与量が異なるにもかかわらず、progesteroneの投与量は一定であり、EB濃度の高い試験群にあっては、EB対progesteroneの濃度値が上昇しているといえる。一般に、estrogenとprogesteroneの間には相互作用の関係があり、協力効果の発現には両者間に適比のあることが知られている。このことから、progesteroneの投与量が膣腔形成率に関与していた可能性も推測できる。

以上の結果、去勢雌マウスにおける雄マウスの許容性は、estrogenの体内量に依存して高くなり持続することが、また雄マウスの交尾行動は、去勢雌マウスの体内estrogen量に影響されることが判明した。またこれらの結果から、高蛋白飼料の給与による発情期の延長や

休止期の雌マウスに雄マウスを同居させた時の短時間の交尾現象は、体内estrogenの量的増加によって雌マウスの発情強度が増加し、その持続時間が延最した結果に基づく現象である可能性が示唆された。

## 要 約

卵巣を摘出した去勢雌マウスに4段階の濃度のEBを投与し、投与後1～3日間の経過別に雄マウスを同居させ、以後の4日間の観察によって膣腔形成率を求め、去勢雌マウスにおけるEB投与量による雄マウスの許容性を調査すると共に、去勢雌マウスの発情強度とその持続性を検討した。

その結果、去勢雌マウスの雄許容性は、estrogenの体内量に依存して高くなり持続時間が延長することが、また雄マウスの交尾行動は、去勢雌マウスの体内estrogen量に影響されることが判明した。

## 文 献

- 1) 田上末四郎：日畜会報，**51**，561(1980)
- 2) Noble, M. H. and G. Gras: J. Nutr., **103**，944(1973)
- 3) 田上末四郎：茨大農学術報告，**31**，49(1983)
- 4) Yamanouchi, K. and Y. Arai: Brain Res., **127**，296(1977)
- 5) 鈴木善祐：新家畜繁殖学I(加藤浩・星修三ら編) 13版，p. 116(1984)朝倉書店
- 6) Slater, P. J. B.: 性ホルモンと行動(菊山栄・神谷美江訳)初版，p. 36(1980)朝倉書店
- 7) Morali, G. and C. Beyer: In Comprehensive Endocrinology-Endocrine Control of Sexual Behavior(C. Beyer ed.) pp. 33~75(1979) Raven Press, New York
- 8) 新井康允：ホルモンと生殖I・性と性リズム(日本比較内分泌学会編)初版，p. 147(1978)学会出版センター
- 9) 山内兄人：ラボラトリーアニマル，**1**，11(1984)

## **Inductivity for Male Mice by Spayed Mice Administered with Exogenous Estrogen**

KAZUAKI ICHIKAWA and SUESHIRO TAGAMI

The strength of inductivity for male mice, caused by adult spayed mice administered with the varying doses of estradiol benzoate (EB), was investigated after mating.

Four levels of EB were administered intraperitoneally to the spayed mice (8 days after ovariectomy) of the ICR-JCL strain, approximately 65 days of age, weighing 29~35g. The spayed mice were mated with male one, two or three days after administration of EB. The formation of vaginal plug was observed four days after mating.

The inductivity for male mice by spayed mice was increased in proportion to the concentration of EB. The copulative behaviour of male mice was induced by the estradiol administration.

(Sci. Rep. Fac. Agr. Ibaraki Univ., No.35, 27 ~ 30, 1987)