

# ICR—JCL系マウスの多卵性卵胞について

田上末四郎・秋元宏之

## On the Polyovular Follicles in the ICR-JCL Strain Mice

SUESHIRO TAGAMI and HIROYUKI AKIMOTO

哺乳動物における多卵性卵胞の存在は古くから知られ異常卵胞の一つとして多数の研究が行なわれ、<sup>1)~15)</sup>、牧野<sup>16)</sup>、Kröllingら<sup>17)</sup>およびMossmanら<sup>18)</sup>の成書にも記載されている。

多卵性卵胞の発現については、まれでさほど頻繁に現われなるとする報告<sup>1),3),4),12)</sup>と多数認められたという報告<sup>8),9),13)</sup>など、発現頻度の相反する報告があるが、これらの報告はいずれも系統の異なるマウスによる成績であり、Fekete<sup>13)</sup>によれば、C58系マウスで100%の多卵性卵胞が確認されながらFekete<sup>10)</sup>が行なった未経産のdba系とC57系黒色マウスの比較研究では確認されなかったことから、その発現は遺伝形質が重要な影響を示していると報告され、マウス類の多卵性卵胞の発現頻度が系統によって差のあることを示唆している。

近年、実験動物、家畜のパイロット動物として頻繁に使用され始めたICR—JCL系マウスは、特に多産を目標に選抜された系統<sup>19)</sup>で、実験室内においての安定生産に適しており、<sup>20),21)</sup>今後、多胎動物の繁殖を対象とした試験に使用される系統としてはかりでなく、遺伝学的研究などを対象とした実験動物として需要を増し、重要な系統になると思われる。しかし、このICR—JCL系マウスの多卵性卵胞についての研究は未だ見当たらない。そこで、このICR—JCL系マウスについて、多卵性卵胞の発現頻度とあわせて、排卵に到るまでの卵胞の成熟経過ならびにその成因と消長についての若干の検索を行なった。

### 材料および方法

マウスは、家畜栄養・飼育学研究室が実中研より入手してから市販の育成用固型飼料を給与しながら兄妹交配

を継続し、すでに20世代以上を経過したICR—JCL系のマウスである。試験には、生後60日から65日齢の正常成長<sup>22)</sup>と思われる性成熟未経産で、しかも2週間のスメア検査の結果正常性周期を示した150頭を用いた。そのうち、多卵性卵胞の存否、発現頻度、成熟経過およびその成因観察のために、排卵直前の卵巣内多卵性卵胞の鏡検用として125頭を、また多卵性卵胞の排卵の可否を検討するために、排卵直後の卵巣内排卵点と卵管内卵子数の比較用として25頭を使用した。1頭は連続切片作製時のミスにより除外した。供用マウスは慣行の飼育管理を行ないながら、排卵直前の大グループ多卵性卵胞の存在ならびに排卵直後の排卵点と卵子数を検討するために、毎朝7時~8時までの間に性周期を調査した。その結果、I期像からII期像までの発情前期から発情期を示した個体について、直ちにエーテル麻酔後解剖し、両側の卵巣を卵管と共に摘出してBouin固定またはCarnoy固定を行ない、常法に準じてParaffin包埋後、ミクロトームによって6~7μの厚さの連続切片とし、H&E染色およびPAS染色を実施して鏡検に供した。

### 結果および考察

#### 1. 多卵性卵胞の発現について

多卵性卵胞の認められたマウス数は125頭観察のうち117頭で、その発現率は93.6%と非常に高く、Fekete<sup>13)</sup>のC58系マウスの成績(100%)に近い成績が得られた。117頭中に認められた多卵性卵胞の総数は607個で非常に多く、最高28個の多卵性卵胞を認めた個体もあったが、1頭当たりの平均個数は約5個であった。

多卵性卵胞の大部分は2卵性の卵胞で589個と総数

の約 97.0% をしめ、3 卵性の卵胞は少なくわずかに 18 個で 3.0% であり、4 卵性以上の卵胞は認め得なかった。これは、Engle<sup>3)</sup>、Lane<sup>7)</sup>、牧野<sup>9)</sup> および Nakamura<sup>12)</sup> らの多卵性卵胞のほとんどが 2 卵性卵胞であったという報告と同様であった。多卵性卵胞の一卵胞中の卵子数は、Hartman<sup>2)</sup> の報告によるフクロネズミの 120 卵性卵胞を除けば、成書<sup>17)</sup> にも記されているように多くも 5~6 個で、この数は多くの研究者<sup>6),9),12)</sup> によっても報告されているが、いずれの報告でも卵子数が 3 個以上の多卵性卵胞の発現頻度は低く、一般に多発する多卵性卵胞は 2 卵性卵胞であると思われる。しかし、牧野<sup>16)</sup> は、3 卵性以上の卵胞も材料を沢山観察すれば相当

数現われることは期待出来るとしており、この ICR-JCL 系マウスも多産系でもあるので、実験材料を増加することによって多少の期待は出来ると思われるが、その発現頻度は非常に低いことが予想される。

2. 多卵性卵胞の成熟経過について

多卵性卵胞の成熟経過ならびにその消長をみるために、卵胞の発育度を原始卵胞、1 次卵胞 (2~4 列の顆粒層)、2 次卵胞 (数列以上の顆粒層~腔形成前)、小グラフ卵胞および大グラフ卵胞 (排卵直前) の 5 段階に分け、それぞれの発育過程ごとに検索し、その数を計測した。その結果は第 1 表のとおりである。

Table 1. Number of finding of polyovular follicles, and number of animals from which poly-follicles were found

Investigative stage of follicle	No. of animals from which poly-follicles were found	Rate of animals of finding for material (%)	No. of polyovular follicles from which poly-ova were contained			
			Biovular	F. Triovular	F. Total no. of follicles (%)	Rate for total
Primordial F.	73	58.4 (26.9)	176	4	180	29.7
Primary F. (2~4 rows of granulosa cells)	95	76.0 (34.9)	246	8	254	41.8
Secondary F. (several rows of granulosa cells)	52	41.6 (19.1)	89	4	93	15.3
Small Graafian F.	43	34.4 (15.8)	71	0	71	11.7
Large Graafian F. (just before ovulation)	9	7.2 (3.3)	7	2	9	1.5
Total			589	18	607	100.0

Figures in parentheses are the indexes

供用マウスのそれぞれの個体には、発育度を異にした種々の段階の多卵性卵胞が認められたが、同一個体のマウスが原始卵胞期から大グラフ卵胞期までの成熟経過にそったすべての段階の卵胞を保有しているとは限らず、原始期の多卵性卵胞のみの個体もあれば、原始期の卵胞が認められずに 2 次やグラフ期の多卵性卵胞のみの認められる個体もあった。従って、多卵性卵胞の発育度別の保有マウス数を多卵性卵胞検出総頭数の比率でみると、総検出頭数 117 頭中、原始卵胞は 73 頭 (58.4%)、1 次卵胞は 95 頭 (76.0%)、2 次卵胞は 52 頭 (41.6%)、小グラフ卵胞は 43 頭 (34.4%)、大グラフ卵胞は 9 頭 (7.2%) で、1 次多卵性卵胞を保有

したマウスが最も多かった。

多卵性卵胞の発育別出現率は、原始卵胞で 29.7% (180 個)、1 次卵胞で 41.8% (254 個)、2 次卵胞で 15.3% (93 個)、小グラフ卵胞で 11.7% (71 個)、大グラフ卵胞で 1.5% (9 個) と検出卵胞の約 72% が原始卵胞期および 1 次卵胞期の発育初期に集中して高く、卵胞の発育度が増すに従ってその数は減じた。特に排卵直前の大グラフ多卵性卵胞まで発育する数は非常に少なかった。

多卵性卵胞内の卵子には、しばしば異常卵が認められた。その検出結果を第 2 表に示した。

Table 2. Number of polyovular follicles from which abnormal ova were contained

Investigative stage of follicle	No. of poly-follicles containing abnormal ova				Rate for poly-follicles at stage(%)
	one ovum	two ova	three ova	Total	
Primordial F.	2	0	0	2	1.1 ( 0.7 )
Primary F.(2~4 rows of granulosa cells)	19	13	0	32	12.6 ( 7.9 )
Secondary F. (several rows of granulosa cells)	10	35	0	45	48.4 ( 30.2 )
Small Graafian F.	12	18	0	30	42.3 ( 26.5 )
Large Graafian F. (just before ovulation)	2	3	0	5	55.5 ( 34.7 )
Total	45	69	0	114	

Figures in parentheses are the indexes

表に見られるように、多卵性卵胞中の異常卵の検出は1卵子のみの場合と2卵子の場合とがあり、発育初期には1卵子の異常卵胞が多く、卵胞の発育に従って2卵子異常の卵胞が多くなった。これら異常卵含有の多卵性卵胞は、総多卵性卵胞の約19%に認められたが、卵胞の発育別にみると、原始卵胞ではその1%と非常に少なく、1次卵胞では12.6%とやや増加し、2次卵胞では4.8

4%、小グラフ卵胞では42.3%、大グラフ卵胞では55.5%と2次卵胞以降の発育後期に急激に増加してほぼその半数に認められ、卵胞が大きくなるに従って多くなる傾向を示した。

排卵点と排卵された卵管内の卵子数を調査した結果は第3表のとおりである。

Table 3. Number of marks after ovulation in the ovaries and number of ova recovered from the oviducts of twenty four mice by histological technique

	No. of ova and marks from which animals were ovulated				Difference of marks and ova	No. of animals from which ova were contained more than marks
	ova	normal ova	abnormal ova	ova marks		
Average	15.3±1.9	14.7±1.9	0.7±1.6	15.0±2.0	—	—
Maximum/mouse	18	18	3	18	3	—
Minimum/mouse	11	11	0	11	0	—
Total no. from twenty four mice oviducts and ovaries	368	352	16	359	9	7

調査頭数24頭の総排卵点数は359個であり、総排卵数は368個で排卵点との間に9個の差が認められた。排卵数が排卵点より多かったマウス数は7頭(29.2%)で、そのうちの1頭は排卵点より3個多い排卵数が認められた。したがって、多卵性卵胞は極く少ない数ではあるが排卵されることが確認された。Lane<sup>7)</sup>は、未成熟ラットによる研究で、多卵性卵胞はグラフ卵胞の確立以前に退化する運命にあるという見解を示し、Ishida<sup>23)</sup>もラットで多卵性卵胞は卵胞腔形成なしに退化の過程に

ある考えを提示した。またNakamura<sup>12)</sup>も大多数の多卵性卵胞は腔の形成なく小さな卵胞で退化過程をとると報告している。しかし、Fekete<sup>13)</sup>はC58系マウスで形態学上正常な発育卵を認めてはいるが卵胞腔は血液で満たされ異常であったとしながらも、卵管内卵数と排卵後の新黄体数から多卵性卵胞の排卵可能性を指示した。Leach<sup>15)</sup>もシマスカンクを用いて同様の新黄体数と卵管内卵子数の不一致を認めている。ICR-JCL系マウスでは、非常に多くの多卵性卵胞が認められ、大多数

の卵胞は明らかにその發育過程中に異常を来し閉鎖卵胞になったが、排卵前の大グループ卵胞まで發育している事実ならびに排卵された卵子数と排卵点の差から、少数ながらグループ卵胞まで發育した多卵性卵胞はその大部分が排卵されるものと判断され、多卵性卵胞についての運命の相違は、動物の種類や系統によるものと思われる。

發育過程で異常となった多卵性卵胞は多数認められているにもかかわらず、その後の消長について記された報告はない。ICR-JCL系マウスでは、多くの報告と同様に多数の閉鎖多卵性卵胞が認められたが、ほぼその最終的とみなされる第15図や第16図に示すような変性した2個の卵子の遺残物を含有する卵胞はほとんど認められず、この実験に使用した150頭のマウスでただ1頭のみ認められたにすぎない。このことは、第7図から第10図に示すように、多卵性卵胞内の1卵子が何らかの原因によって發育を停止し、やがて停止した卵子は退化過程を経て消滅し、残った1卵子のみの卵胞が通常の単卵卵胞と見分けのつかない卵胞として發育するか、または一般に多数認められる単卵の閉鎖卵胞の遺残物と見分けのつかない閉鎖卵胞になるのではないかと思われる。

### 3. 多卵性卵胞の成因について

多卵性卵胞の起原に関しては定説がなく、Hartman<sup>2)</sup>、Engle<sup>4)</sup>、牧野<sup>16)</sup>、Nakamura<sup>12)</sup>およびLeachら<sup>15)</sup>のいくつかの説、すなわち、1)多核卵子が分割して生ずるとする説、2)相隣る2個の卵胞が合体結合して生ずるとする説、3)卵細胞の分離または有糸分裂による分割によって生ずるとする説などがある。

この観察の第1表に示す成績から判断すれば、多卵性卵胞は第1図から第5図に示すように、すでに原始卵胞期に出現しており、しかも多核性卵子が認められず、發育中の多卵性卵胞の発現頻度が原始卵胞の発現頻度を上回る成績と、第13図および第14図に示すような1次卵胞から2次卵胞期にかけて卵胞内に突出した結合組織の存在する2卵性卵胞が認められる事実から、相隣る2個の卵胞が何らかの原因によつて合体結合しつつあることを物語っているものと思われ、Nakamuraの卵胞の癒着によって生ずるとする説や、Leachらの初期性索組織時に2個以上の卵母細胞の結合によって生ずるとする説

などが支持される成因ではないかと考えられる。また、多卵性卵胞は、1次卵胞や2次卵胞のような發育中の卵胞でも形成されることが考えられるが、この2卵胞合体結合の原因については、卵巢中の正常な結合組織像から判断して、牧野<sup>16)</sup>によつて紹介されているLoeb(1917)の結合組織が比較的生活力のなくなった場合に合体するという卵胞合体説とは多少異なるように思われ、これらの現象もFekete<sup>13)</sup>の示唆した遺伝的な成因の一つかも知れない。

## 要 約

ICR-JCL系の性成熟未經産マウス150頭を用いて、多卵性卵胞の発現頻度、排卵までの成熟経過と消長およびその成因などについて、連続切片により検索した。

多卵性卵胞は総観察マウスの93.6%に認められた。保有マウス1頭当たりの平均個数は約5個であったが、最高で1頭当たり28個の多卵性卵胞を保有しているマウスもあった。多卵性卵胞の97%は2卵性卵胞で、3卵性卵胞は非常に少なく3.0%であり、4卵性卵胞以上の多卵性卵胞は認め得なかった。

多卵性卵胞の發育段階別発現頻度は、原始卵胞が29.7%、1次卵胞が41.8%、2次卵胞が15.3%、小グループ卵胞が11.7%、大グループ卵胞が1.5%で、發育初期に集中してもっとも高く、卵胞の發育度が増すに従つて減少した。

排卵直後の卵管内卵子数は卵巢の排卵点より多く(実験材料の約30%)、多卵性卵胞の排卵が確認された。排卵された多卵性卵胞を2卵性卵胞と仮定すると、排卵された多卵性卵胞は2.5%となり、排卵直前の大グループ卵胞の発現頻度1.5%より幾分多い傾向となるが、大グループ卵胞には3卵性卵胞も認められていることから、3卵性卵胞の排卵も考慮に入ると、大グループ卵胞の大部分は排卵されるものと判断された。

多卵性卵胞の卵子の大半は卵胞の發育経過中に異常を起して閉鎖卵となる。この現象は、1卵子のみの場合と2卵子の場合とがある。しかし、第15図や第16図に示すような変性した2個の卵子の遺残物を包含する閉鎖卵胞は極くまれにしか認められず、發育過程中に異常となった閉鎖卵の大部分は1卵子を残し退化過程を経て消滅し(第7図)、残った1卵子が単卵卵胞として發育

するか、または単卵の閉鎖卵胞の遺残物と見分けのつかない閉鎖卵胞になるものと考えられる。

多卵性卵胞の発生は、すでに原始卵胞期に始まっているが、発育初期の相隣る単卵卵胞でも合体して多卵性卵胞になると判断され、その成因については、初期性索組織時の結合によるものと考えられ、Fekete<sup>13)</sup>の示唆した遺伝的な体質から来る現象と思われる。

本実験に当たり、有益な文献のご教示とご指導をいただいた茨城大学農学部の柏原孝夫先生および東北大学農学部の菅原七郎先生に心から感謝いたします。なおご校閲をいただいた石崎三郎教授に厚くお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Chappelier, A. : Compt.Ren.Soc.Biol., **66**, 543 (1909)
- 2) Hartman, C.G. : Am.J.Anat., **37**, 1 (1926)
- 3) Engle, E.T. : Am.J.Anat., **39**, 187 (1927)
- 4) Engle, E.T. : Anat.Rec., **35**, 341 (1927)
- 5) Dederer, P.H. : Anat.Rec., **60**, 393 (1934)
- 6) 竹脇 潔 : 動雑, **49**, 231 (1937)
- 7) Lane, C.W. : Anat.Rec., **71**, 243 (1938)
- 8) 重黎永善 : 医と生, **5**, 448 (1942)
- 9) 牧野佐二郎, 重黎永善 : 生物, 増刊, **1**, 63 (1946)
- 10) Fekete, E. : Cancer.Rec., **6**, 263 (1946)
- 11) Sigemoro, E. : J.Fac.Sci.Hokkaido Univ. Ser. V1 (9), 233 (1947)
- 12) Nakamura, T. : J.Fac.Fish.Anim.Husb. Hiroshima Univ., **3**, 375 (1961)
- 13) Fekete, E. : Anat.Rec., **108**, 699 (1950)
- 14) Bodemer, C.W. and S.Warnick : Fert.Steril., **12**, 159 (1961)
- 15) Leach, B.J. and C.H.Conaway : J.Mammalogy, **44**, 67 (1963)
- 16) 牧野佐二郎 : 哺乳動物の卵子, 初版, p.40 北方出版社
- 17) Krölling, O.u.H.Grau : Lehrbuch der Histologie und Vergleichenden Mikroskopischen Anatomie der Haustiere, p.354 (1960) Paul Parey in Berlin und Hamburg
- 18) Mossman, H.W. and K.L.Duke : Comparative morphology of the Mammalian Ovary, p.242 (1973) The University of Wisconsin Press Ltd.
- 19) 田嶋嘉雄編 : 実験動物学, 各論, 初版, p.48 (1972) 朝倉書店
- 20) Central laboratories for experimental animals : Reports on ICR—JCL mice, Tokyo (1964)
- 21) 田嶋嘉雄 : 実験動物, **12**, 145 (1963)
- 22) 茨木第介, 野村晋一 : 実験動物, **16**, 1 (1967)
- 23) Ishida, K. : Tohoku J.Agric.Rec., **IV**(1), 29 (1953)

## Summary

The consistent existence of polyovular follicles and their destiny to ovulation were observed together with the histological morphology of their formation in serial sections derived from 150 virgin mice (60~65 days after birth), which were highly inbred and called "ICR—JCL" strain. The results obtained were as follows;

As shown in Table 1, polyovular follicles were found in 93.6 per cent of the ovaries examined; the 97.0 per cent of them were biovular, 3.0 per cent triovular, and no follicle with more than four ovules were observed.

Polyovular follicles were commonly found in all the phase of follicular development and their frequencies were decreased in proportion to the development of follicles, while they were exceptionally high in the primary follicular phase.

Each of the twenty-four mice were examined in order to compare the ovulation rate in the oviducts with the number of the marks, which were newly formed as corpora lutea, soon after ovulation. As shown in Table 3, in seven of them ( about 30 per cent ) the one to one correspondence between the number of tubal ova and the number of newly mark ( corpora lutea ) after ovulation was not observed; in detail, only 102 corpora lutea were identified among 111 tubal ova examined.

The ova of polyovular follicles were in the process of atretic degeneration. This phenomenon were observed in one ova or two ova in the follicles, although the two relic of atretic ova were not found in almost of all ovary ( Figs. 15 or 16 ).

Concerning with the origin of polyovular follicles, they occurred more commonly in primordial follicles than in growing ones. Some growing polyovular follicles were seemed to be formed from two adjacent mono-ovular follicles. The consistent existence of polyovular follicles in this highly inbred ICR—JCL strain may suggest the important role of heredity on ovulation.

Plate 1

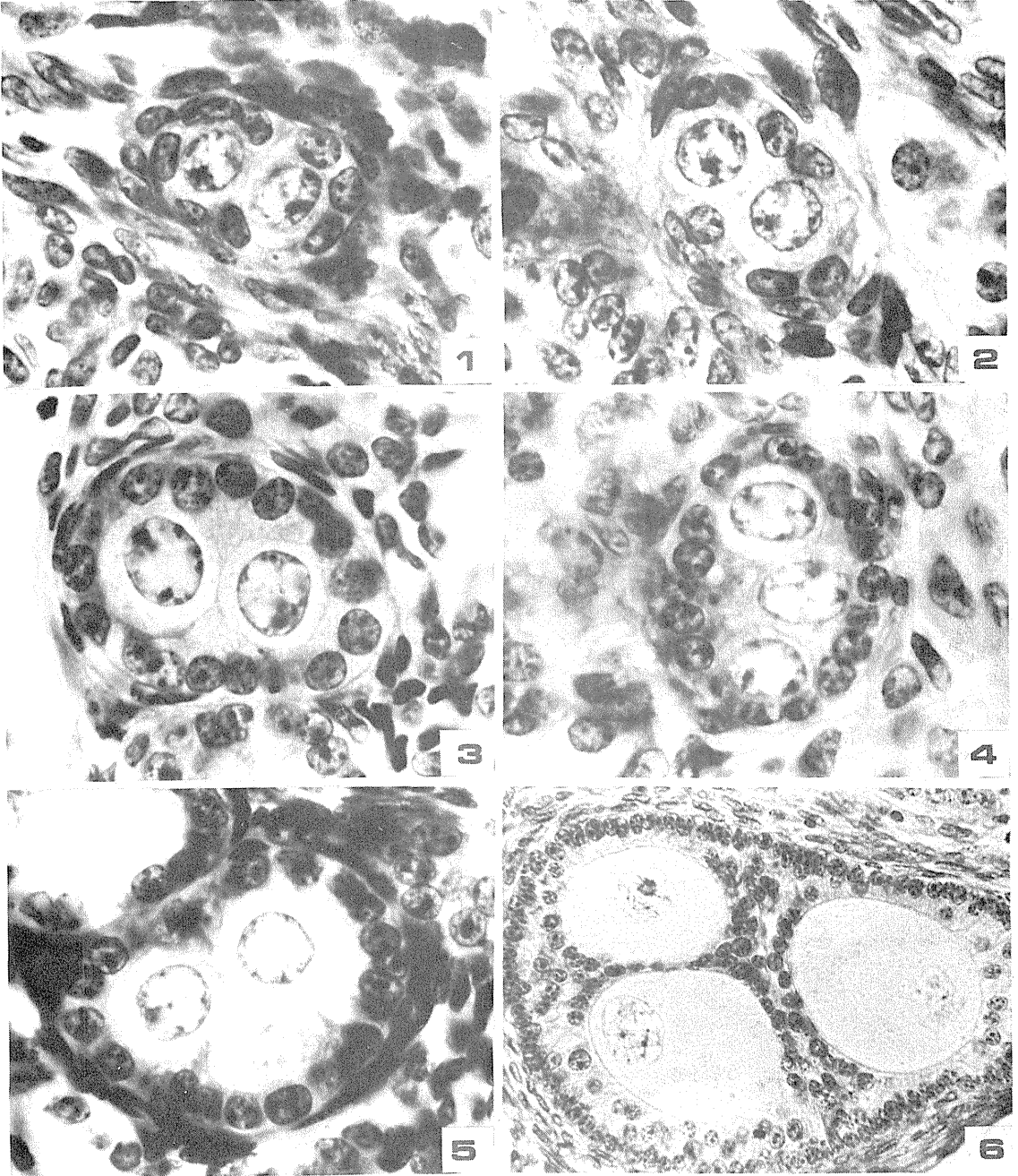


Plate 2

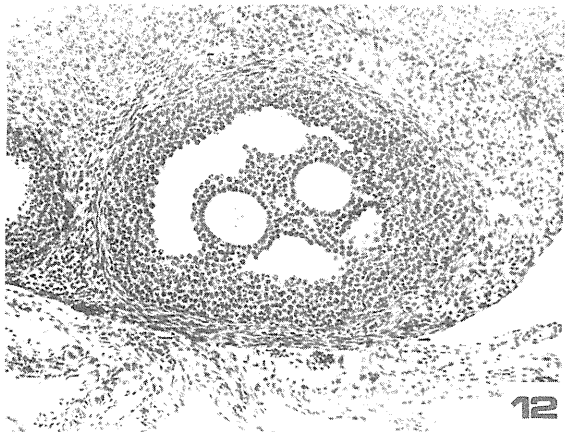
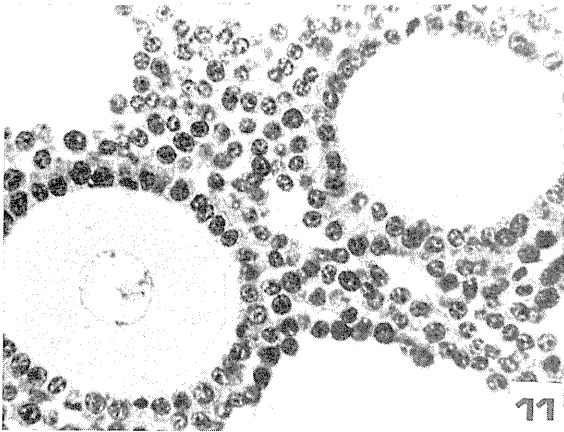
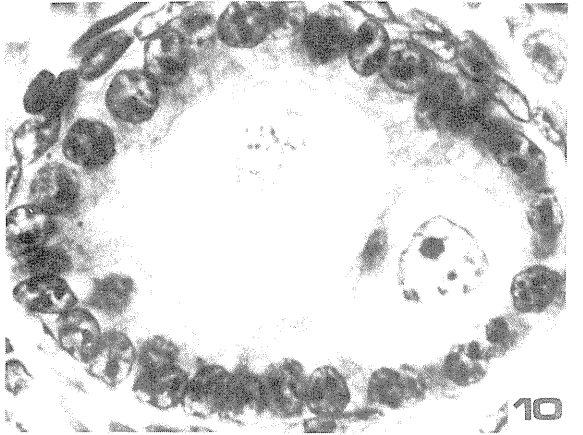
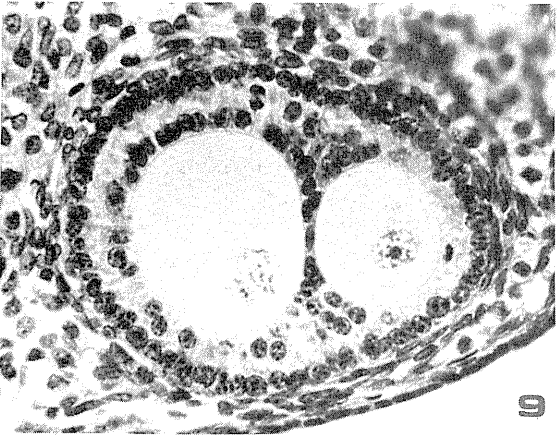
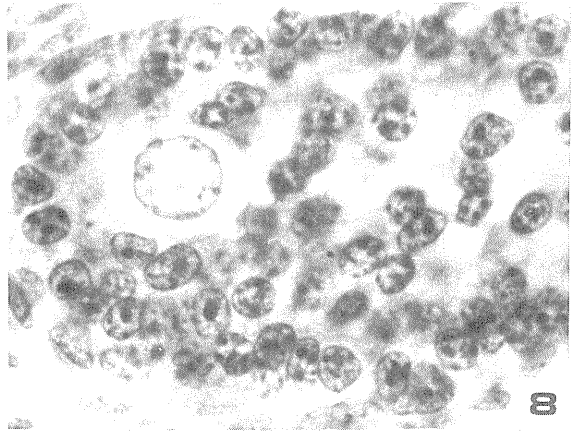
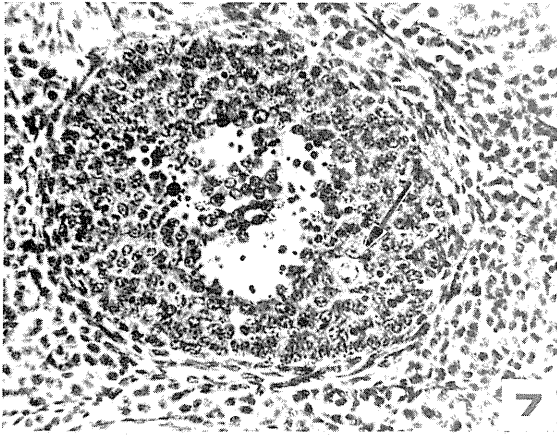
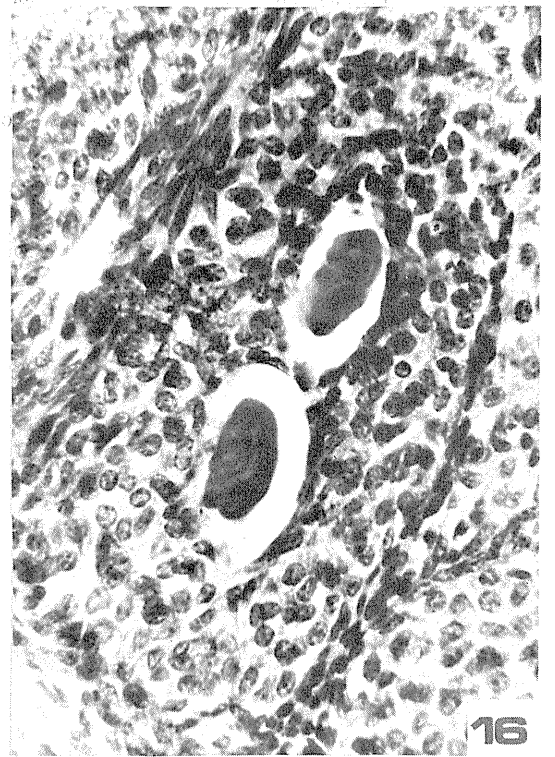
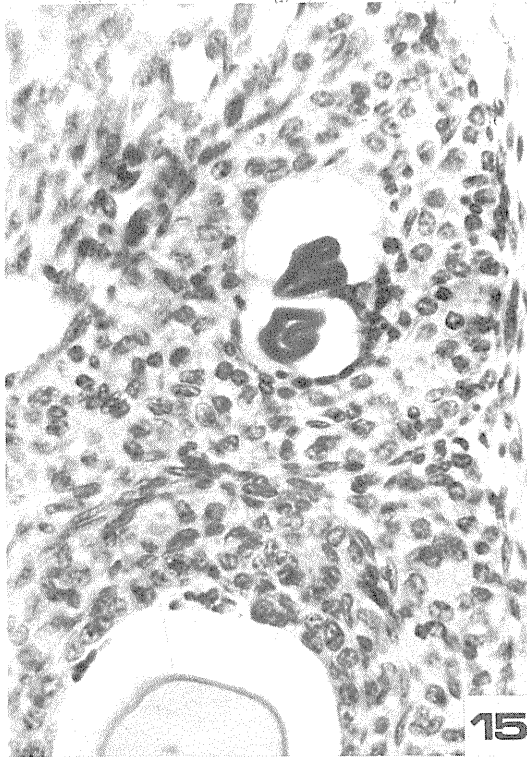
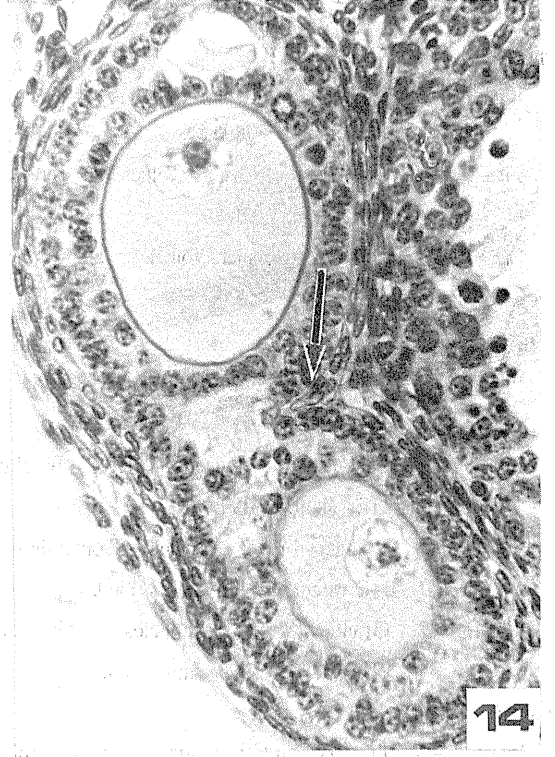
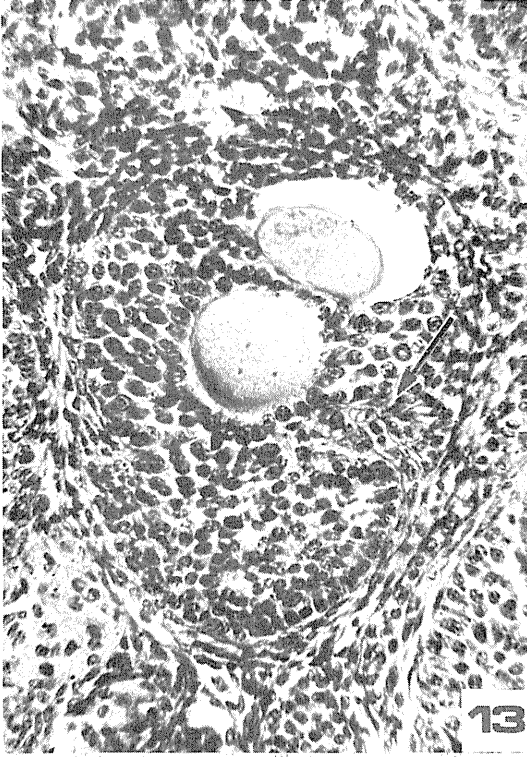




Plate 3



## Explanation of plates 1 ~ 3

### Plate 1.

- Figs. 1~3. Primordial biovular follicles. The ova are normal.  
HE stain.  $\times 1000$ .
- Figs. 4~5. Primordial triovular follicles. The ova are normal.  
HE stain.  $\times 1000$ .
- Fig. 6. Primary triovular follicles. The ova are normal.  
HE stain.  $\times 400$ .

### Plate 2.

- Fig. 7. Small Graafian biovular follicles. It showing the irregular disappearing ovum (arrow).  
HE stain.  $\times 280$ .
- Fig. 8. Secondary biovular follicles. It showing the disappearing ovum.  
HE stain.  $\times 1000$ .
- Figs. 9~10. Primary biovular follicles containing one ovum advancing towards the failure.  
HE stain.  $\times 400$  and  $\times 1000$ .
- Figs. 11~12. Graafian biovular follicles. The ova are normal.  
HE stain.  $\times 400$  and  $\times 100$ .

### Plate 3.

- Figs. 13~14. Primary and secondary biovular follicles. Formation of biovular follicles by disappearance of the theca folliculi or connective tissue (arrow).  
PAS stain.  $\times 280$  and  $\times 400$ .
- Figs. 15~16. Atretic biovular follicles from the ovary of the ICR-JCL strain mice.  
PAS stain.  $\times 400$ .