

氏 名 (本籍)	はし 橋	づめ 爪	かず 一	よし 善
学位の種類	農	学	博	士
学位記番号	農博第	181	号	
学位授与年月日	昭和51年	3月25日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当			
研究科専攻	東北大学大学院農学研究科 (博士課程) 畜産学専攻			
学位論文題目	ラットにおける後分娩発情・排卵 の機構に関する研究			

論文審査委員 (主査)

教授 正木 淳二 教授 津田 恒之

教授 水間 豊

論文内容要旨

分娩後の性機能回復は動物の生産性を高める上で重要な問題である。

しかし、分娩後の諸性現象を基礎的な面から生理学的、内分泌学および組織学的に検討した研究は少ない。

本研究は分娩後の諸繁殖生理現象の基礎資料を得るため、ラットの後分娩発情・排卵とそれを支配する内分泌機構を検索したものである。

I 正常分娩時における後分娩発情・排卵の検索

分娩終了後、哺乳中にもかかわらず1～2日以内に発情・排卵のおきることは、ラット、マウスにおいて古くから知られていた。

この現象を後分娩発情・排卵と呼び、家畜における分娩後の初回発情・排卵と区別している。この後分娩発情・排卵の生理的意義や内分泌学的背景については、ほとんど知られていない。したがって、本研究ではこの現象を観察し内分泌学および組織学的検討を加えた結果、次の知見を得た。

1. 分娩は妊娠22日と23日におきた。また、各々の日の14時～17時および11時～14時を頂点として供試動物の約75%が昼間に分娩を終了した (Fig. 1)。
2. 後分娩発情の発現時刻は分娩終了時刻と密接に関連し、分娩後6～30時間の間にあった。この時の交尾率は約70%であった。
3. 後分娩排卵もまた分娩終了時刻と深い関連性をもっておきた。すなわち、11時から19時までには分娩を終了した個体では、分娩終了後12時間目に排卵が始まり、16時間目で完了した。一方、20時以降の日の10時までには分娩を終了した個体では、それぞれの分娩終了時刻と深い関係をもつて分娩終了後14～30時間に排卵がおきた。(Table 1)。
4. 発情・排卵を制御している視床下部の興奮をネンブタールを用いて検索した。
ネンブタールによる興奮抑制は分娩終了後0時間でもっとも効果があり、時間が経過するにしたがって、抑制率が減少した。しかし、この中枢系に対する抑制効果は分娩終了時刻が11時から19時の個体にだけ認められた (Table 2)。
5. 発情・排卵をひきおこす下垂体前葉中の排卵ホルモン (ovulating hormone, OH) は、分娩が11時から19時までには終了した個体では分娩終了後2時間目から減少を始めた。

20時から次の日の10時までには分娩を終了したものについては動物が少数であった

め、この時間帯での OH の変化は検討できなかった (Fig. 2)。

6. 下垂体からの OH 放出を反映する血中性腺刺激ホルモン (follicle stimulating hormone, FSH; luteinizing hormone, LH) の変動をラジオイムノアッセイ (radioimmunoassay, RIA) により測定した。その結果、分娩が 11 時から 19 時まででに終了した個体では、FSH と LH の上昇が分娩終了後 2 時間目に始まり、最高値は 4 時間目に認められた。LH は分娩終了後 8 時間目に急減したが、FSH はわずかの減少後、比較的高いレベルを保った。20 時から次の日の 10 時まででに分娩した個体は少数しかなかったが、この時間帯で分娩したものでは分娩終了時刻に関係なく分娩後の 12 時から 14 時の間に血中 LH および FSH の上昇が始まることが示された (Fig. 2)。
7. 分娩前後の卵胞発育を組織学的に検索した。その結果、妊娠 21 日から分娩にかけ、 300μ 以上の卵胞の数が約半数に減少した。一方 550μ 以上の卵胞数は逆に急激に増加し、排卵が始まると減少した。このことは 550μ 以上の卵胞が排卵することを示唆している。
8. 後分娩排卵のための卵胞がいつ決定されるかを片側卵巢摘出後の代償性肥大および排卵を利用して検索した。その結果、後分娩排卵の卵胞は妊娠 21 日の午後から分娩時にかけて決定されることが推察された。
9. OH 放出から排卵までの卵胞内卵子の成熟過程を組織学的に検索した。その結果、卵胞内卵子核は OH に反応して成熟分裂を始めることが明らかとなり、しかも OH 放出からきわめて短時間にその反応の始まることが認められた (Fig. 2)。

以上の結果から、ラットの後分娩発情・排卵は、現象的にも内分泌的にも分娩終了時刻と密接に関係しておきることが明らかとなった。

また、分娩終了時刻の 19 時～20 時を境としてその支配機構が変化した。これらのことから、後分娩発情・排卵には性周期の発情・排卵と異なる特有の支配制御機構の存在することが推論された。

II 誘起分娩時における発情・排卵の検索

後分娩発情・排卵は分娩終了時刻と深い関連をもっておきことが明らかになったが、これらの関係を一層明確にするためには分娩時刻を人為的に制御し、その後の発情・排卵を検索することが有効であると考えられる。また、正常分娩時には夜間に分娩する動物が少数のため、この時間帯での発情・排卵およびその内分泌支配についての検索が制約された。その他、分娩

制御の方法自体にも検討を要する多くの問題が残されている。

したがって、本研究では分娩制御の有効な方法とその後の発情・排卵について検討し、次の結果を得た。

1. 性ステロイド、性腺刺激ホルモンおよび各種の薬剤について検討した結果、分娩の誘起には $1000\mu\text{g}/\text{rat}$ のプロスタグランジン (prostaglandin $F2\alpha$, $\text{PGF}2\alpha$) と $2.5\text{mg}/\text{rat}$ のクロミフェン (clomiphene) がもっとも有効であった。
2. $\text{PGF}2\alpha$ とクロミフェンを妊娠19日および20日に投与した動物の約80%が投与後48時間内に分娩し、 $\text{PGF}2\alpha$ を19日の21時に投与したものは昼間、20日の9時に投与したものは夜間に分娩がおきた。この結果、正常時にはあまり分娩しない時間帯についても分娩後の性機能検索が可能になった (Fig. 3)。
3. $\text{PGF}2\alpha$ を妊娠19日の21時に投与した個体 (PG19日区) および妊娠20日の9時に投与した個体 (PG20日区) では、正常分娩時の後分娩発情とよく似た時間に発情がおき、その時の交尾率は約70%であった。
4. クロミフェンを妊娠20日の9時に投与した動物 (クロミフェン区) の交尾率は3/10と低くまた分娩終了時刻との関連性もみられなかった。
5. PG19日区の排卵は分娩終了後12時間目に始まった (Table 3)。
またPG20日区では、分娩終了時刻が20時から次の日の10時までの個体が多く、それらの排卵は23時 (分娩時刻20~24時翌日の23時、分娩時刻0~10時当日の23時) から始まった (Table 4)。
一方、クロミフェン区では分娩終了後18時間までに排卵する個体はなく、その後の排卵率および排卵数も正常分娩後の排卵とは異なった。
6. $\text{PGF}2\alpha$ で誘起した分娩前後の下垂体前葉OH含量の変化を調べた。その結果、PG19日区では分娩終了後2時間から減少が始まり、12時間目ではもっとも低くなった。PG20日区では、分娩の後の14時に減少が始まり16時で消失した (Fig. 4, 5)。
7. $\text{PGF}2\alpha$ で誘起した分娩前後の血中LHおよびFSHの動態をRIAにより検索した。その結果、PG19日区では、LH、FSHともに分娩終了後2時間目から上昇を始め、6時間目に最高値に達した。LHは分娩終了後8時間目から急減したが、FSHはわずかな減少の後、比較的高いレベルを分娩後14時間目まで保った。PG20日区では、両ホルモンが分娩後の14時に急上昇を始め、16時に最高値を示した。その後LHは急低下したが、FSHは高いレベルを次の日の2時まで維持した (Fig. 4, 5)。

8. PGF 2α を投与後、排卵に至るまでの卵胞の発育と成熟を組織学的に観察した。その結果、PGF 2α を投与後12時間ですでに大きな卵胞(550 $\mu\leq$)が多数発育していた。

卵胞内卵子核の成熟分裂は、下垂体前葉OHの減少や血中LHおよびFSHの上昇と深い関連性を示し、PG19日区では、分娩終了後2時間目に、PG20日区では分娩の後の14時に始まった(Fig. 4, 5)。

以上の結果から、PGF 2α で誘起した分娩後の発情・排卵とその内分泌支配および卵巢の変化は分娩終了時刻と密接に関連しており、正常分娩時の後分娩発情・排卵と本質的に変わらないことが明らかとなった。また、後分娩発情・排卵の場合には、正常性周期の発情・排卵と異なり、分娩終了時刻と動物のもつ biological clockが複雑に関与した機構の存在することが示唆された。

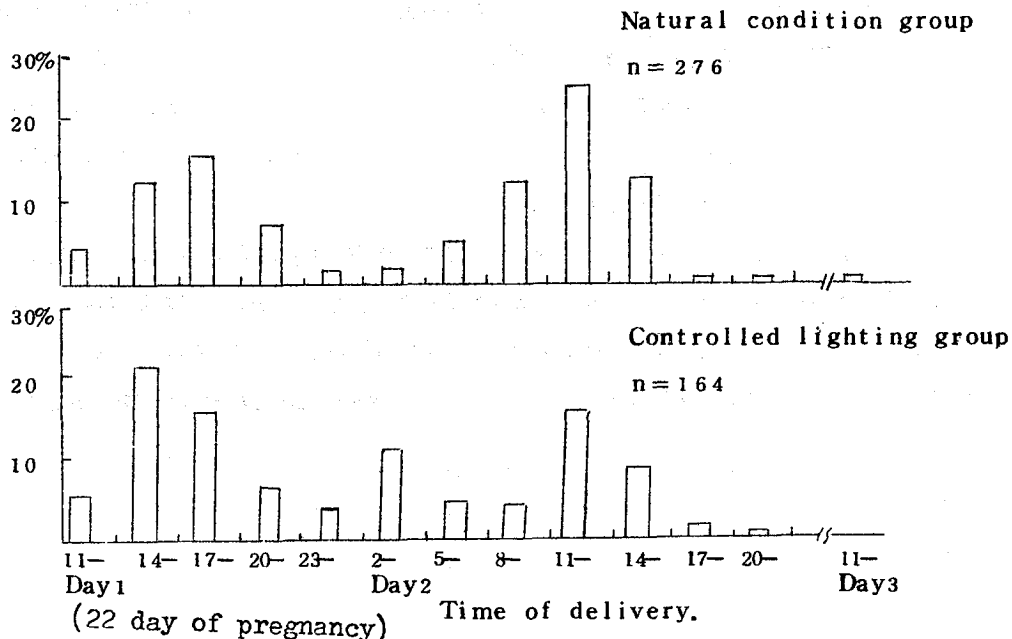


Fig. 1. Distribution of time of delivery.

Table 1. Relation between delivery and ovulation(Natural)

Interval from delivery to ovulation (hrs)	Time of delivery													
	Day 1					Day 2								
	11-	14-	17-	20-	23-	2-	5-	8-	11-	14-	17-	20-	23-	26-
0			0/2	0/1			0/2	0/1	0/1	0/1				
6	0/1	0/1	0/3	0/2	0/1			0/1	0/1	0/1				
10								0/1	0/1	0/4				
11		0/1								0/3				
12	1/2	2/5	5/8	0/2				0/6	0/8	1/5				
14		2/2	6/6	0/1				0/3	0/8	8/9	3/3			
16		4/4	4/6	0/2				0/1	3/4	4/4	2/2	1/1	0/1	
18	1/1	3/3	3/3	0/3	0/1	0/1	1/1	3/4	7/7	4/4				
20				0/1					2/2	1/1				
21						0/1	1/1							
22							1/1	1/1						
23						1/1								
24		1/1	2/2	0/1	1/1			2/2	1/1	3/3				

Table 2. Ratio of inhibiting ovulation with nembutal(Controlled)

Time of nembutal injection after delivery (hrs.)	Time of delivery																
	Day 1							Day 2									
	11-	14-	17-	20-	23-	2-	5-	8-	11-	14-	17-	2-	5-	8-	11-	14-	17-
0	1/3	8/11	6/8	(15/22)				1/1	3/6	3/3	0/1	(7/11)	(22/38)				
1	0/2	1/6	2/3	(3/11)				0/1	0/4	1/3		(1/8)	(4/19)				
2	0/1	0/3	0/2	(0/6)					0/1			(0/1)	(0/7)				
3								0/2	0/1	0/2		(0/5)					
4							0/3	0/1				(0/4)					
5																	
6								0/1	0/1			(0/2)					
7								0/1				(0/1)					
8												(0/3)					
9					0/1			0/3	0/1	0/1		(0/3)					
10					1/2			0/2				(1/4)					
11								0/1	0/1	0/1		(0/2)					
12																	
13				0/1								(0/1)					
14				0/1								(0/2)					
15				0/1								(0/2)					
16				0/2								(0/2)					
17				0/1								(0/1)					

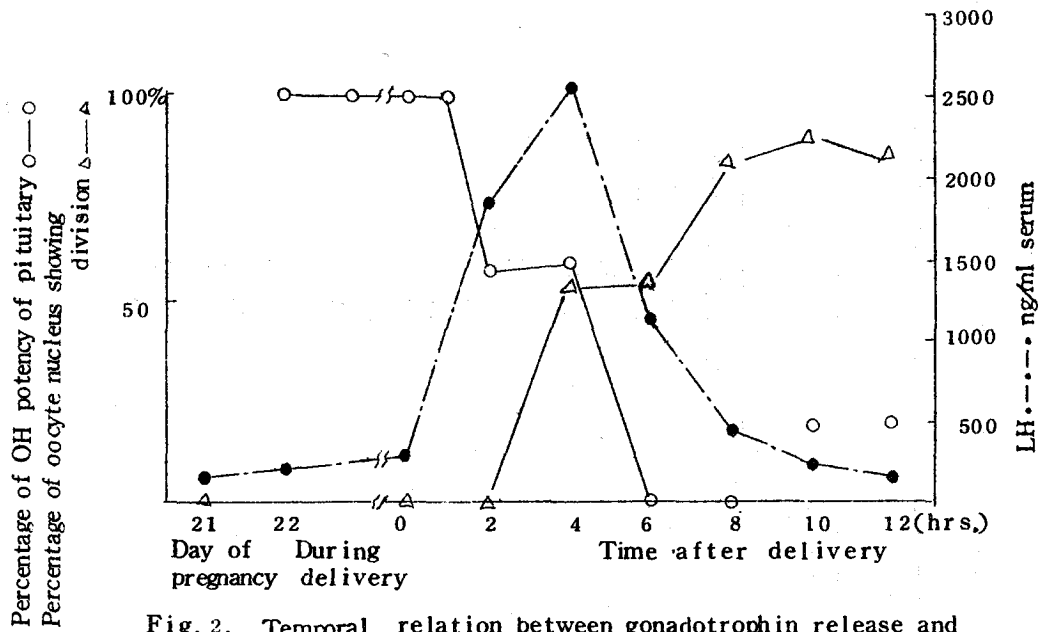


Fig. 2. Temporal relation between gonadotrophin release and oocyte maturation in post-partum rat.

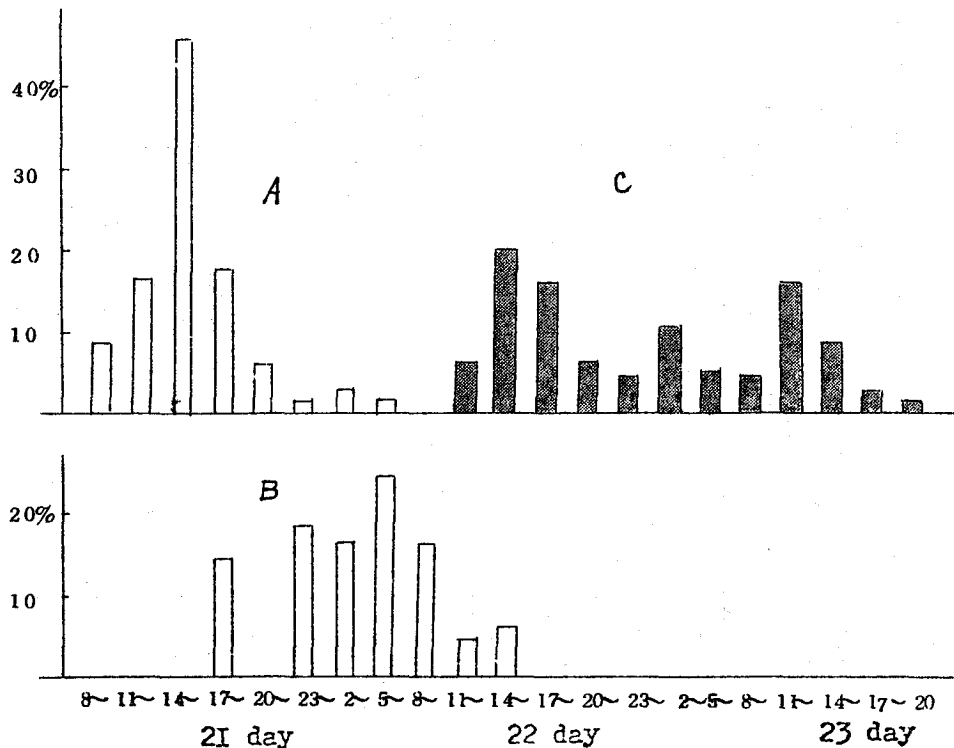


Fig. 3. Distribution of inducing delivery with $PGF_{2\alpha}$. The delivery time was checked hourly, and the histogram are represented by every three hours.
A. $PGF_{2\alpha}$ was subcutaneously injected at 21:00 on 19 day of pregnancy (N=73)
B. $PGF_{2\alpha}$ was subcutaneously injected at 9:00 on 20 day of pregnancy (N=49)
C. Normal delivery (N=164).

Table 3. Premature delivery with PGF 2α and ovulation in post-delivery in rat

Interval from delivery to ovulation (hrs.)	Time of delivery								sum	No. of ova / No. of ovulating rats (M \pm S. D.)
	21 day				22 day					
	8-	11-	14-	17-	20-	23-	2-	5-		
12		0/3	2/7	0/3					2/13	8.5 \pm 2.2
14		2/6	5/10	0/3					8/19	12.3 \pm 4.9
16	1/2	1/1	8/12	2/4	0/2				12/21	13.8 \pm 3.5
18	3/4	1/1	3/5	1/2	0/2	0/1	0/1		8/16	14.8 \pm 2.1
20										
22		1/1					0/1		1/2	14.0

This agent was subcutaneously injected at 21:00 on 19 day of pregnancy.

Table 4. Premature delivery with PGF 2α and ovulation in post-delivery in rat

Interval from delivery to ovulation (hrs.)	Time of delivery										sum	No. of ova / No. of ovulating rats (M \pm S. D.)
	21 day					22 day						
	11-	14-	17-	20-	23-	2-	5-	8-	11-	14-		
12									0/2	2/3	2/5	1.0
14						0/1	0/3				0/4	-
16						0/2	3/4				3/6	9.6 \pm 6.6
18			0/2			0/2	2/5	1/1			3/10	10.3 \pm 6.5
20						1/2	3/3				4/5	13.0 \pm 4.3
22			0/1	1/3	2/3	1/1					4/8	9.5 \pm 6.4
24			0/3	5/5	1/1						6/9	12.0 \pm 3.8
26					1/1						1/1	1.0
28												
30			0/1								0/1	-

This agent was subcutaneously injected at 9:00 on 20 day of pregnancy.

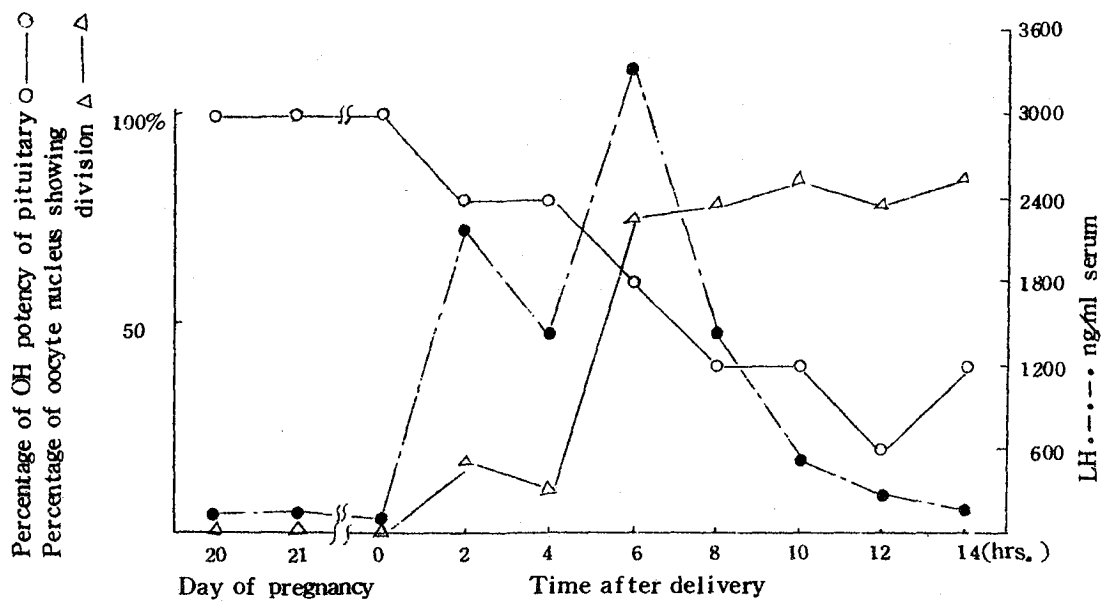


Fig. 4. Temporal relation between gonadotrophin release and oocyte maturation in the rat induced delivering with PGF 2α that was injected at 21:00 hours on day 19 of pregnancy.

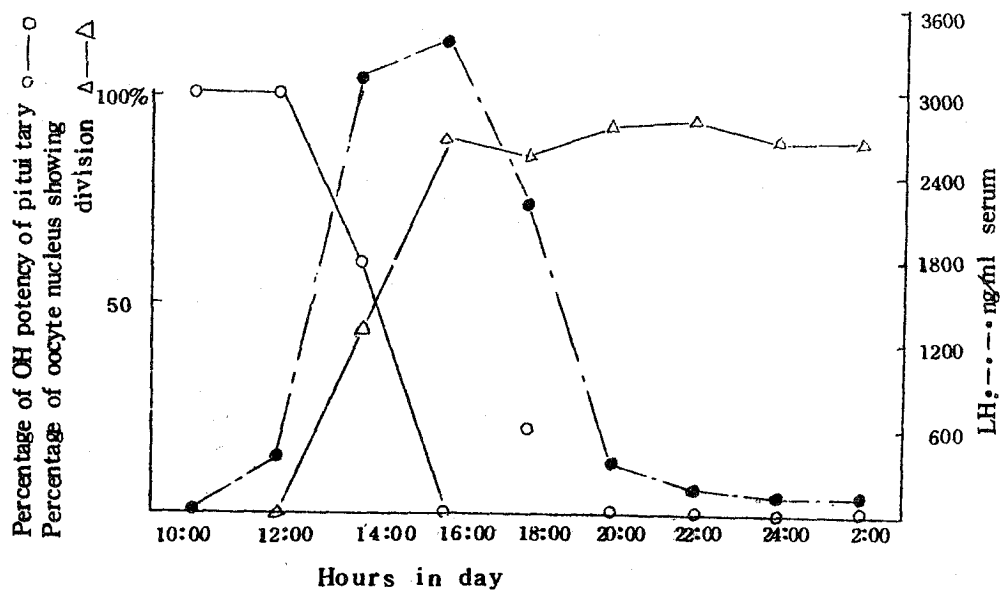


Fig. 5. Temporal relation between gonadotrophin release and oocyte maturation in the rat induced delivering with PGF 2α that was injected at 9:00 hours on day 20 of pregnancy.

審査結果の要旨

ラットやマウスには、後分娩発情・排卵と呼ばれる特異な現象があり、この場合の発情・排卵は分娩後1～2日以内に起きることが知られている。本研究は、ラットの後分娩発情・排卵について繁殖生理学的な検討を加え、分娩後における性機能回復の機序を知ろうとしたものである。本研究の特色は、正常分娩時および誘起分娩時における観察を対比させながら、分娩、発情、排卵の時間的關係を克明に追跡した点であり、用いた実験手法の中には、下垂体中の排卵ホルモンのバイオアッセイ、血中性腺刺激ホルモンのラジオイムノアッセイ、卵胞内卵子の組織学的検査、ネプタールを用いた視床下部機能の検査、プロスタグランジンを用いた分娩誘起試験等が含まれている。

これらの結果、1) ラットの分娩は妊娠22日または23日におき、分娩終了時刻は昼間のものが全体の約75%をしめる、2) 後分娩発情・排卵は分娩終了時刻と密接に関連して発現する、3) 昼間分娩の個体では、分娩終了後12時間から16時間に至るまでに排卵が起きるが、分娩終了後2時間目から下垂体の排卵ホルモンが減少し、逆に血中性腺刺激ホルモン(FSHおよびLH)の力価は上昇し始める、4) 夜間分娩の個体では、分娩終了後14～30時間に排卵が起きるが、この場合も分娩終了時刻と深い関係がみられる、5) 後分娩排卵に関与する卵胞は、妊娠21日の午後から分娩に至るまでに、すでに決定されている、6) プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ を妊娠19日の21時および20日の9時に投与すると、48時間以内にそれぞれ昼間分娩および夜間分娩が誘起されるが、誘起分娩後に起きる発情・排卵は正常分娩時における後分娩発情・排卵と内分泌学的にも組織学的にも全く同じ経過をたどる、ことが明らかにされた。

本論文は以上の研究成果をまとめたものでラットにおける後分娩発情・排卵が分娩終了時刻と密接に関係することを明示するとともに、昼間分娩のものと夜間分娩のものとは、分娩から発情・排卵が出現するまでの所要時間が異なることや、プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ の投与により、頻度の少ない夜間分娩も誘起することができる等、繁殖生理学に多くの新知見を加えたものとして、審査員一同は農学博士の学位を授与するに値すると判定した。