

ドブネズミとクマネズミ間の受胎：I. ダイコクネズミの人工助精における黄体の機能化と精子懸濁液の性状

平岩，馨邦
九州大学農学部動物学教室

吉田，博一
九州大学農学部動物学教室

<https://doi.org/10.15017/21351>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 15 (1), pp.123-128, 1955-02. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：



ドブネズミとクマネズミ間の受胎

I. ダイコクネズミの人工助精における黄体の機能化と精子懸濁液の性状*

平岩 馨 邦・吉田 博 一

Conception by the cross between *Rattus norvegicus* and *R. rattus*

I. Activation of the corpus luteum and properties of the sperm suspension in the artificial insemination of the albino rat

Yoshi Kuni Hiraiwa and Hiroichi Yoshida

Morgan ('09) はドブネズミ *Rattus norvegicus* とクマネズミ *R. rattus* 間の雑種を自然交配によつてえんと色々試みているが、いずれも失敗している。このような場合、人工助精は雑種形成の有力な一手段と考えられる。

一方ダイコクネズミの人工助精は Blandau 一派によつて試みられ、良好な結果が報告されているが、その方法は精子の採取、発情している雌の選択、精子の注入及び黄体を機能化するための刺激からなると考えられる。これらの方法の中黄体を機能化するための刺激としては、従来子宮頸管に対する機械的及び電気刺激、頭部に対する電気刺激、精管を切除した雄による交尾刺激や、鼻粘膜に対する化学的刺激等が報告されている。また精子懸濁液の性状は受精と直接の関係を持ち、その良否は人工助精に大きな影響をおよぼすと考えられる。

そこで、われわれは 1952 年の 9 月から 12 月までと 1953 年の 4 月から 6, 7, 8 月を除いて 12 月にかけて、まずダイコクネズミで人工助精を行つた。そして黄体を機能化するために数種の刺激を試みてこれらと比較し、あわせて注入した精子懸濁液の性状と妊娠成立との関係を検討した。

材料及び方法

この実験に使用した材料は生後 4 ケ月～1 年半の雌ダイコクネズミ 53 匹で、各雌に I

* 九州大学農学部動物学教室業績、第 214 号。日本動物学会九州支部第 26 回例会（昭和 28 年 4 月 25 日於九大理学部）、同九州支部第 6 回大会（昭和 28 年 5 月 31 日、於熊本）にて一部要旨を講演。

～6回の人工助精を行った。なお対照として、同時期に正常の雄と交尾を行わせた雌32匹を用いた。

精子の採取は副辜丸尾部から行い、尾部1箇につき0.3～0.6 ccのロック液を注加して精子懸濁液をえた。一方雌の発情は、腔脂膏とBlandau, Boling and Young ('41)の方法による交尾反応とで確めた。この雌をエーテルで麻酔し、約15度の傾斜をもつ固定台上に保定した。その後精子懸濁液を、1/2または1/1の局部麻酔針をとりつけたルエチン注射器に吸引し、腔鏡（医科用の耳鏡を使用）と額帯鏡を使用して、子宮頸管から左右の子宮角に注入した。なお1回の人工助精に使用した精子懸濁液は0.1～0.2 ccで、注入時に子宮収縮による漏出を防ぐため軽く加温した。精子の採取から注入までの時間は大体3時間以内であつた。そして黄体を機能化するために4種の頸管刺激を行った。

実験及び考察

1. 黄体の機能化のための刺激

ダイコクネズミでは黄体の機能化は妊娠の前提であり、正常の交尾においては子宮頸管に対する交尾刺激によつて黄体は発達し、内分泌機能をもつようになる。しかし人工助精においては正常の雄との交尾はできないので、これに代るなんらかの刺激が必要である。故にわれわれは人工助精の際に下記の4種の刺激を試みた。これらの刺激と黄体の機能化及び妊娠成立との関係は第1表に示す通りである。

第1表. 各種黄体機能化のための刺激と妊娠成立との関係。

刺 激 法	使用雌 個体数	人工助精 例数(A)	黄体機能化 例数(B)	妊娠例数 (C)	B/A %	C/B %	妊娠率 C/A %
機械的刺激	11	20	1	0	5	—	—
交流電気刺激	18	26	13	3	50	23.1	11.5
感應コイルに よる電気刺激	12	16	5	5	31.3	100	31.3
精管切除雌に よる交尾刺激	29	34	26	18	76.5	69.2	52.9
対 照	32	45 ¹⁾	43	34 ²⁾	95.6	79.1	75.6

1) 正常の雄との交尾を行わせた例数。

2) 2例は妊娠後期に胎仔が墮死し、娩出不能であつた。

機械的刺激：子宮頸管を精子懸濁液注入の前後に注射針または鋼線で刺激したのであるが、人工助精例20例の中偽妊娠をおこしたものはわずかに1例（5%）にすぎず、妊娠はみられなかつた。Long and Evans ('22)は発情前期または発情期のダイコクネズミに牛の前立腺分泌物、リンゲル液による牛の前立腺の抽出液あるいはリンゲル液を子宮頸管から子宮内に注入して、偽妊娠をおこさせている。また単に注射器、細いガラス棒あるいは真鍮の棒を子宮頸管に挿入することによつても同様の結果を報告している。その他

Slonaker ('29), Meyer, Leonard and Hisaw ('29), Haterius ('33) 等も機械的刺激を試みているが、偽妊娠の誘発率は相当低率から 70% 前後であつたことを報告している。また Meyer, Leonard and Hisaw ('29) は機械的刺激を行う時、麻酔したものではないものより偽妊娠の誘発率が低下し、エーテル麻酔では 10% であつたといっている。われわれの実験における 5% という低率も、麻酔の影響が考えられる。一般に機械的刺激は電気刺激や交尾刺激にくらべて劣り、実験においても最も効果が不良で、人工助精に使用することは不適である。

交流電気刺激：ニクロム線 5 本を直連結して 100V の交流を通し、これから 15~30V の交流を誘導して子宮頸管を精子懸濁液注入の前後に刺激した。通電は家畜の精液採取用の電気刺激器の場合と同様に、5~10 秒づつ 30~60 秒の間隔で 3 回位行つた。なお一部には精囊と前立腺の分泌物を脱脂綿につけて作つた人工腔栓を併用した。この方法では人工助精例 26 例中 13 例 (50%) において黄体の機能化がみられ、その中 3 例が妊娠した。Ershoff and Deuel ('43) はダイコクネズミの脱落膜腫形成の際に、60V の交流で子宮頸管を 1~2 秒刺激しているが、その効果は不明である。実験における黄体の機能化の誘発率は比較的高かつたが、黄体の機能化したものに対する妊娠の割合は 23.1% の低率であつた。この事は後述のように注入精子の影響によるとは考えられず、むしろこの刺激がネズミ自体の生理または受精になんらかの障害を与えるものと思われる。またこの刺激との関係は明らかでないが、施術後数日で死亡したり、腹腔内に膿腫を生じて死亡したもの等がみられたことから、これが良好な刺激であるとは考えられない。

感応コイルによる電気刺激：Greep and Hisaw ('38) の方法にしたがつて、精子懸濁液注入の前に、5~10 秒間連続して子宮頸管を刺激した。そして一部に前述の人工腔栓を併用した。その結果、人工助精例 16 例中 5 例 (31.3%) に黄体の機能化がみられ、全部妊娠した。Greep and Hisaw ('38) は発情前期の後半または発情期にこの刺激を与えて、87% の偽妊娠誘発率を報告している。その他 Shelesnyak ('31) は 82%, Haterius ('33) は 92% の偽妊娠誘発率を報告している。また Blandau and Jordan ('41) は人工助精にこの方法を用いて、正常の交尾の場合と同様な高率の妊娠率をえたといっている。しかし実験では黄体の機能化が低率であつて、この原因としては電流の強さ、個体の感受性や麻酔の影響等が考えられる。この刺激は好結果をえることができなかったが、妊娠成立のためには交流電気刺激で考えられる障害は認められず、良好な結果の報告もあるので、更に検討を要する。

精管を切除した雄による交尾刺激：供試雌が発情している夜中、精管を切除した雄を同居させて交尾を行わせた。その結果、人工助精例 34 例中 26 例 (76.5%) において黄体の機能化がみられ、その中 18 例が妊娠した。この方法は最も自然的で、Long and Evans ('22) は精管を切除した雄が全く正常に交尾を行い、それによつて雌は偽妊娠をおこすことを明らかにし、Slonaker ('29) は 100% の結果を報告している。Haterius ('33) は機械的刺激、電気刺激とともにこの方法を行い、三者の中で最も良い結果をえている。竹脇 ('47) もこの方法が偽妊娠誘導のための最良の方法であるといっている。われわれの実験においても之が最良の結果を示している。しかし対照にくらべてなお低率であるのは、

精管を切除した1匹の雄に対し2匹以上の雌を配したことが多かったので、十分に交尾が行われない場合があつたことによるのではないかと考えられる。この点を考慮すれば、更に満足な結果がえられるものと思われる。

2. 注入精子懸濁液の性状と妊娠の成立

精子懸濁液の性状が受精に重要な関係をもつことはいふまでもなく、特に精子数と生存率及び活力は大切であるので、主としてこれらについて述べ、あわせてその他の性状についても若干言及したい。但し前述のように交流電気刺激は有害ではないかと考えられるので、感応コイルによる電気刺激と精管を切除した雄による交尾刺激を行つたものの中、黄体の機能化したもののみについて、精子懸濁液の性状と妊娠成立との関係をみることにする。なお生存率及び活力は顕微鏡下で、精子数はトーマ血球計算器でしらべた。

副辜丸尾部からえた精子は一般に活力が弱く、10~55% 平均約30% の非運動性の精子を含んでいた。その程度を表わす指標として、生存率と活力から西川('51)の生存指数を算出すると16.25~52.5 平均35.2で、家畜の人工助精に使用される精子の場合と比較して低い。しかし生存指数と妊娠成立との関係は第2表に示すように、生存指数が相当に低くければ、受精に支障があると考えられるけれども、使用した範囲ではほとんど影響はみられなかつた。

第2表. 生存指数と妊娠成立との関係.

生存指数	~20	20~25	25~30	30~35	35~40	45~	計
黄体機能化例数	1	1	4	9	7	9	31
妊 娠 例 数	0	1	3	7	6	6	23

また1回の助精につき1,000万~2,600万の精子を子宮内に注入したが、精子数と妊娠成立との関係は第3表のように、受精に対する悪影響はみられなかつた。更に片側の子宮角にのみ、500万以下の注入を行つて妊娠をおこさせた場合もあつたので、もつと精子数は少くてもよいと思われる。

第3表. 精子数と妊娠成立との関係.

精 子 数 (単位: 万)	~1250	1250 ~1500	1500 ~1750	1750 ~2000	2000 ~2250	2250~	計
黄体機能化例数	7	3	5	8	6	2	31
妊 娠 例 数	5	3	4	5	4	2	23

Snell, Hummel and Abelmann ('44) はハツカネズミの人工助精の際に、精管からえた精子が一般に50% 以上非運動性であつたことを指摘している。しかしこの事はほとんど受精に影響しなかつたようで、われわれの実験においても同様なことがみられた。一方Leonard and Periman ('49) はダイコクネズミで死滅精子が卵管子宮口部を通過できないことを指摘しており、精子懸濁液中の非運動性精子とも関連して、この生存指数と精子

のもつ受精力との関係は更に検討を要する問題であろう。また Blandau and Odor ('48) は交尾後の雌ダイコクネズミの生殖道内における精子の分布をしらべ、子宮内の精子数に対し、受精の場所と考えられる卵管膨大部では、その数が非常に少いことを明らかにしている。この事からも注入精子数はある一定数以上が必要であると考えられるが、その限界は明らかでない。

pH は濾紙法（東洋濾紙の BTB を使用）で測定し、副睾丸尾部の粘稠な精子液は 6.8～7.6 を示し、ロツク液の添加で若干アルカリ性をましたが、7.8 をこえることはなかった。また畸形精子は極めて少いようで、まだ十分の検討は行っていないが、尾部彎曲精子をわずかにみた程度であつた。牛におけるこれらの性状と受胎率との間にはほとんど相関がないといわれるが、ダイコクネズミにおいても、これらが受精に大きな影響をおよぼすとは考えられない。

産仔数は人工助精例 21 例平均 3.85 ± 0.45 で、対照の 30 例平均 6.80 ± 0.36 にくらべ相当に低い。Soderwall and Blandau ('41) は排卵前 5～8 時間に人工助精を行つたもので平均 6.3、排卵の 10 時間以前のものでは産仔数が減少することを報告している。しかしわれわれの産仔数が少ないのは、精子懸濁液の性状または雌生殖道内で精子が経過した時間の長さによるものとは考えられず、むしろ精子注入の際に誤つて片側の子宮角のみに注入した場合が含まれていたものと思われる。

摘 要

ダイコクネズミで人工助精を行い、黄体を機能化するための刺激として、機械的刺激、交流電気刺激、感應コイルによる電気刺激及び精管を切除した雄による交尾刺激の 4 種の方法を比較検討した。これらの刺激の中で、精管を切除した雄による交尾刺激が最も良好な結果を示した。注入精子の活力は一般に弱く、且つ非運動性精子を平均約 30% 含んでいた。また精子数は 1 回の人工助精に 1,000 万～2,600 万を注入した。これらの性状は受精にほとんど支障を来さないようであつた。その他 pH や畸形精子の存在も受精に影響があつたとは考えられない。産仔数の少かつたことも注入した精子懸濁液の性状によるものと考えられず、むしろ注入技術の未熟によるものと思われる。

文 献

- Blandau, R. J., Boling, J. L. and W. C. Young 1941 The length of heat in the albino rat as determined by the copulatory response. *Anat. Rec.*, 79: 453—463.
- Blandau, R. J. and E. S. Jordan 1941 A technique for the artificial insemination of the white rat. *J. Lab. and Clin. Med.*, 26: 1361—1363 (quoted from Snell, Hummel and Abelman, '44).
- Blandau, R. J. and D. L. Odor 1948 The number of spermatozoa reaching various segments of the oviduct of the rat, 12, 24 and 36 hours after mating. *Anat. Rec.*, 100: 733.
- Ershoff, B. H. and H. J. Deuel 1943 Prolongation of pseudopregnancy by induction of deciduomata in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 54: 167—168.

- Greep, P. O. and F. L. Hisaw 1938 Pseudopregnancies from electrical stimulation of the cervix in the diestrus. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 39 : 359—360.
- Haterius, H. O. 1933 Partial sympathectomy and induction of pseudopregnancy. *Am. J. Physiol.*, 103 : 97—103.
- Leonard, S. L. and P. L. Perlman 1949 Conditions effecting the passage of spermatozoa through the utero-tubal junction of the rat. *Anat. Rec.*, 104 : 89—102.
- Long, J. A. and H. M. Evans 1922 The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena. Univ. of California.
- Morgan, T. H. 1909 Breeding experiments with rats. *Am. Nat.*, 43 : 182—185.
- Meyer, R. K., Leonard, S. L. and F. L. Hisaw 1929 Effect of anesthesia on artificial production of pseudopregnancy in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 27 : 340—342.
- 西川義正 1951 家畜人工授精法. 養賢堂, 東京.
- Shelesnyak, M. C. 1931 The induction of pseudopregnancy in the rat by means of electrical stimulation. *Anat. Rec.*, 49 : 179—183.
- Slonaker, J. R. 1929 Pseudopregnancy in the albino rat. *Am. J. Physiol.*, 89 : 406—416.
- Snell, G. D., Hummel, K. P. and W. H. Abelman 1944 A technique for the artificial insemination of mice. *Anat. Rec.*, 90 : 243—253.
- Soderwall, A. L. and R. J. Blandau 1941 The duration of the fertilizing capacity of spermatozoa in the female genital tract of the rat. *J. Exp. Zool.*, 88 : 55—64.
- 竹脇 深 1947 性現象のホルモン学. 河田書房, 東京.

Résumé

Artificial inseminations were tried in the albino rat; various cervical stimulations to activate the corpus luteum were tested and relations between the properties of the sperm suspension and the occurrence of the pregnancy were examined.

The cervical stimulations used were the mechanical stimulation, the electrical stimulations by the alternative current and by the faradic current taken from an induction coil, and that of the copulation with a vasectomized male. Of these the last was the best.

The percentage of motile sperms in the sperm suspension obtained from the cauda epididymis was average 70 %, but its activity was feeble. The numbers of sperms per insemination were from 10 to 26 millions. It was supposed that these properties of the sperm suspension did not affect the fertilizing power except in a few cases. The size of the litter born by artificial insemination was usually lower than that of normal mating, but it was not due to the properties of the sperm suspension, being caused by the unskilfulness in the technique of insemination.

Zoological Laboratory, Faculty of Agriculture,
Kyushu University