

原 著

家兎の子宮頸管經由による受精卵の移植に関する研究

I 移植後の卵排出について

登 内 徳 一 郎

信州大学農学部家畜育種繁殖学教室 (主任: 吉田重雄教授)

STUDIES ON THE TRANSFER OF FERTILIZED OVA
THROUGH THE CERVIX IN THE RABBIT

I. THE DISCHARGE OF OVA AFTER THE TRANSFER

Tokuichiro TONOUCHI

Department of Animal Breeding, Faculty of Agriculture,
Shinshu University
(Director: Prof. Shigeo YOSHIDA)

Key words: 卵移植 (ova transfer), 受精卵 (fertilized ova), 子宮運動 (uterine movement)

Abstract

In order to clarify the mechanism of expulsion of the fertilized ova after the ova transfer by insertion through cervix in the rabbit, investigations were made on the following 5 items.

1. The frequency of uterine peristalsis which was induced by one side insertion through cervix of the guide tube 48 hours after mating increased remarkably in both uteri, and subsequently it decreased to normal rate about 12 hours later.

2. ^{32}P labeled artificial ova with Ringer's solution were deposited into the uterus by insertion through cervix 48 hours after mating, and many of them were transported into the vagina within 8 hours.

3. ^{32}P labeled artificial ova with Ringer's solution were deposited into the uteri by injection through the uterine walls after the intervals of 2 days, 3 days, 4 days and 5 days after the injection of HCG. The percentage of the remaining ova was found larger recording to the length of the interval.

4. ^{32}P labeled artificial ova with Ringer's solution were deposited into the uterine horns, one by insertion through the cervix and the other by injection through uterine wall after the intervals of 2 days, 3 days, 4 days and 5 days after the injection of HCG. The percentage of the remaining ova was found small in each of the former 2 sessions, and found large in each of the latter 2 sessions, especially in the last.

5. ^{32}P labeled artificial ova with Ringer's solution were deposited into the uterine horns, one by insertion through cervix and the other by injection through uterine wall after the intervals of 2 days, 3 days, 4 days and 5 days after the injection of HCG. The percentage of the remaining ova was found larger in the former than in latter.

Above results give some information about the expulsion of fertilized ova transferred by insertion through the cervix and suggest that, for the ova transfer through the cervix in the rabbit, the best result can be obtained 4 days or 5 days after the ovulatory treatment.

I 緒言

受精卵の移植に関する研究は、Heape¹⁾が家兎を用いて行なったのに始まり、以来家兎における研究がもっとも多い²⁾⁻¹¹⁾、他の哺乳動物についてはマウス¹²⁾、ラット¹³⁾、山羊¹⁴⁾あるいは綿羊¹⁵⁾、豚¹⁶⁾および牛¹⁷⁾⁻²⁰⁾などで行なわれている。しかし、これらの報告の多くは実験的に成功したもので、まだ実用化の段階に至っていない。

受精卵の移植を実用化するには Dracy¹⁸⁾のいうように、(1) 排卵あるいは過剰排卵の誘起、(2) Donor と Recipient の発情期の同期化、(3) 受精卵の採取、(4) 受精卵の保存あるいは培養、(5) 受精卵の移植などの技術を容易にできるように開発しなければならない。このうち、受精卵の移植の技術については、膈から子宮頸管經由による非外科的方法で移植を行なうのが望ましい²⁷⁾。しかし、今まで報告されている多くの成功例は、開腹して卵管または子宮に受精卵を移植する外科的手術の方法によったものである。殊に大動物において、膈から子宮頸管經由による受精卵移植を行なって成功した例はきわめて少ない²⁸⁾²⁷⁾。この成功しない原因としては、移植時の子宮頸管刺戟によって子宮運動が促進され、受精卵が子宮外に排出される傾向があること²⁰⁾²²⁾²⁶⁾、また機能的な黄体の存在は子宮の細菌感染を受けやすく、細菌感染が受精卵の着床を妨げること²⁹⁾などが考えられている¹⁴⁾。しかし、家兎においては動物が小さいので開腹手術を行なって膈壁をとおして子宮頸管經由移植で成功した例がいくつか報告されている⁴⁾⁻⁷⁾。

著者は現在までに家兎の子宮運動に関する一連の研究³⁰⁾⁻³²⁾において腹窓法を用いて家兎の子宮運動を観察してきた。今回は、家兎において子宮頸管經由移植の操作それ自体が子宮運動を促進させるかどうか、また子宮運動を促進させるならばどのような運動になるか、さらにこの子宮運動は卵子を子宮外に排出させる傾向があるかについて実験的研究を行なった。

II: 実験材料および実験方法

A 交尾家兎の子宮頸管經由による導管挿入後の子宮運動の観察

供試動物としては日本白色種の雌で月令10~18ヶ

月、体重2.9~3.5kgの未經産家兎4頭を使用した。

著者の報告³⁰⁾した方法によって腹窓を装着した家兎を保定し、無麻酔で交尾前に一定時間、子宮運動の肉眼的観察ならびに8mmフィルム連続撮影を行なった。その後交尾を1回行なわせ、交尾後7時間、1日後および2日後に同様な観察ならびに撮影を行なった。交尾後48時間に陰門から子宮頸管を經由してポリエチレン製の導管(未熟児用栄養留置カテーテル、アトム医理科・K. K. 製)の先端を腹窓で観察しつつ子宮内に挿入した。受精卵移植の操作と同様にするため0.5mlのリンゲル液を注入した後、導管を抜きとった。以後1時間ごとに15時間までと、20時間目にそれぞれ10分間以上、挿入側と非挿入側の子宮運動の観察ならびに撮影を行なった。撮影された8mmフィルムの観察は前々報³¹⁾と同様に映写機を用いて1駒1駒順を追って観察し、複雑なものについてはトレーシングペーパーにトレースした。それらの像を肉眼観察の結果と対比しつつ、中曾³³⁾の分類、運動の呼称にしたがって子宮の運動の分類、運動の発生頻度、進行方向、進行速度を測定した。なお実験後、排卵の確認を行なったが4例とも排卵していた。

また、本実験において子宮頸管を經由して挿入した導管はすべて同一種類のものである。

B 交尾家兎の子宮頸管經由による人工卵の注入

供試家兎は日本白色種で月令7~20ヶ月、体重2.6~3.9kgのもの9頭(うち5頭は未經産、4頭は経産)を使用した。

本報告において用いた人工卵はすべて、放射性同位元素³²Pを磷酸バリウムとして不溶性にし、これを寒天液に含ませ、寒天液を加圧噴霧して冷却し、顕微鏡下で卵子の大きさの直径130 μ 前後の球状となった小粒子を選んだものである。

人工卵の注入は子宮運動の観察の実験と同様に、腹窓家兎を交尾後48時間で保定し、無麻酔で陰門から子宮頸管を經由して子宮内に導管を挿入し、人工卵を浮遊させたリンゲル液を注入した後、導管を抜きとった。家兎はその後6分および1時間から1時間ごとに8時間までの間に屠殺し、生殖器を摘出した。摘出した生殖器は周囲の組織を除き、X線フィルム(富士

フィルム KK, 工業用タイプ 200) に 2 日間露出して Autoradiogram をつくり, 人工卵の存在を検索した。

C HCG 注射家兎の子宮壁からの人工卵の注入

この実験は次項 D の HCG (Human Chorionic Gonadotropin, 帝国臓器 KK 製) 注射家兎への子宮頸管經由による人工卵の注入の実験の対照として行なった。

供試動物には月令 8~18ヶ月, 体重 2.7~3.9kg の日本白色種の雌家兎 17 頭を使用した。そのうち 7 頭は経産, 10 頭は未経産であった。

家兎には交尾を行なわず HCG (Human Chorionic Gonadotropin) の 50 IU を静脈注射して排卵させ, HCG 注射後 2~5 日にネプタール (Abbott 製) の静脈注射で麻酔して開腹し, 排卵を確認した後, 右子宮の頭側および左子宮の尾側の子宮内腔に, それぞれリンゲル液とともに人工卵を太い人用の輸血針を装着した注射器で直接子宮壁を穿刺して注入し, 腹壁を閉じた。その後, 家兎の飼養は普通に行ない, 人工卵注入後 24 時間前後に, 家兎を屠殺して生殖器を摘出し, X 線フィルムに 7 日間露出して Autoradiogram を作った。

人工卵を家兎に注入し, 24 時間前後に生殖器を摘出して Autoradiogram を作製した結果, 人工卵は球状の原形を保たず崩壊したものが多かったので, 直接 Autoradiogram から子宮内での残存卵数の測定は不可能であった。そこで Autoradiogram の ³²P によるフィルムの黒化の強さを, +~卍で次のように表示した。- は黒化のみとめられないもの, あるいは崩壊卵の微粒子によるとみられる散漫性のうすい黒化のあるもの, + は崩壊卵の小片によるとみられる 1~2 個の限局性の小さな濃い黒化のあるもの, 卍は崩壊卵の小片の数個, あるいは崩壊しなかった卵によるとみられる大きな濃い黒化のあるもの, 卍は卍の黒化 2 個以上によるとみられる非常に大きな濃い黒化のあるもの, 卍は人工卵数個によるとみられる著しく広範囲な濃い黒化のあるものとした。子宮内の残存卵数はこの X 線フィルムの黒化の分布を基礎にして, その家兎への注入卵数, ³²P 注入量および飼育箱内の放射能の検出状況を参考にして, 間接的に推定した。

D HCG 注射家兎の子宮頸管經由による人工卵の注入

供試家兎としては日本白色種の雌で月令 10~23 ヶ

月, 体重 2.8~4.2kg の 13 頭 (うち経産 7 頭, 未経産 6 頭) を使用した。

実験方法は上記 C の実験と同様に家兎に HCG 注射を行ない, 注射後 2~5 日にネプタールで麻酔し, 開腹して排卵を確認した後, 1 側の右子宮の頭側に直接人工卵を浮遊させたリンゲル液を注射器で注入し, 他方陰門から子宮頸管を經由して導管を他側の左子宮に挿入して人工卵とリンゲル液を注入した。注入後は導管を抜きとり, 腹壁を閉じた。以後の操作, 方法は実験 C と同様である。

III 実験成績および考察

A 交尾家兎の子宮頸管經由による導管挿入後の子宮運動

交尾後 48 時間の腹窓家兎に子宮頸管經由で, 0.5ml のリンゲル液を注入し, 以後の子宮運動を観察したが, この実験における観察全時間は 920 分 (15 時間 20 分) であった。子宮尾側 1/3 (以下子宮 1/3 と記載) の部位で観察された子宮運動は 3,136 回でそのうちのほとんどを占める 3,094 回が蠕動運動であった。この蠕動運動の変化の状況を 4 例の平均値で図 1 に示す。

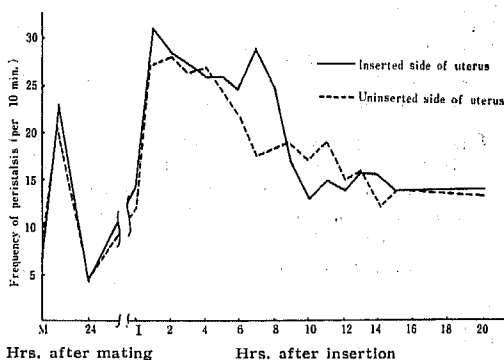


Fig. 1. Frequency of uterine peristalsis induced by one side insertion through cervix of the guide tube. (vaginal side, mean of four rabbits)

M: Mating

I: Insertion 48 hrs. after mating

導管挿入後, 両側の子宮の蠕動運動はともに急激に頻度が増加し, 1 時間で最高値となり, 以後不規則に増減はあるが, 減少して 12 時間前後に導管挿入前の値に近くなった。蠕動運動の進行方向, すなわち上行, 下行の両波の変化の状況を家兎番号 126 について示せば, 子宮 1/3 の部位では図 2, 3 のようであり, 子宮尾

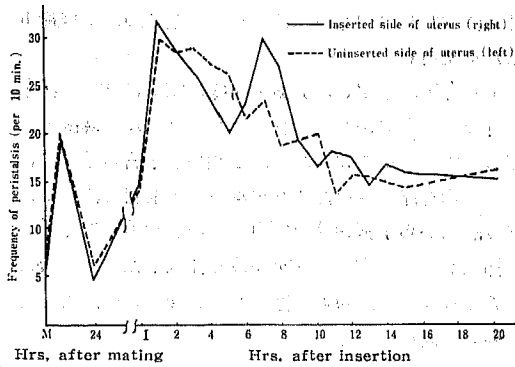


Fig. 2. Frequency of uterine peristalsis induced by right side insertion through cervix of the guide tube. (vaginal side, rabbit no. 126)

M : Mating
I : Insertion 48 hrs. after mating

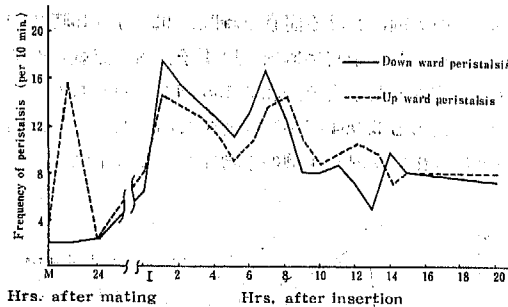


Fig. 3. Frequency of uterine peristalsis induced by right side insertion through cervix of the guide tube. (vaginal side of right uterus, rabbit no. 126)

M : Mating
I : Insertion 48 hrs. after mating

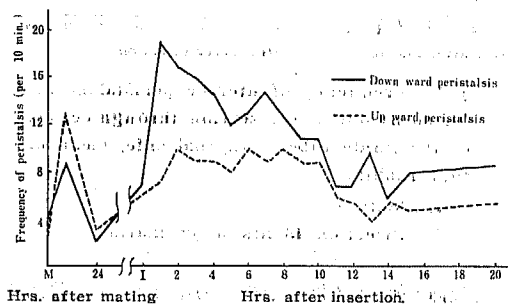


Fig. 4. Frequency of uterine peristalsis induced by right side insertion through cervix of the guide tube. (middle part of right uterus, rabbit no. 126)

M : Mating
I : Insertion 48 hrs. after mating

側(以下子宮 $\frac{1}{2}$ と記載)の部位では図4のようである。

図に示したとおり、子宮 $\frac{1}{2}$ では子宮頸管に導管挿入後の蠕動運動は不規則となり、下行波が上行波より多い時期があった(図3)。これに反して、子宮 $\frac{1}{2}$ においては導管挿入後の蠕動運動の頻度の増加した時期には下行波が上行波よりつねに多かった(図4)。同様な傾向は他の3例にもみられた。

さきに著者は家兔の着床前の子宮運動について、子宮の蠕動運動の頻度は交尾後7時間で最高値となり、交尾後1日には減少して低値となり、交尾後2日には再び増加して第2の高値を示し、そのレベルで交尾後4日となり、以後減少しつつ着床期に至ると報告した²⁾。本実験において観察された導管挿入後の蠕動運動の頻度増加は正常交尾家兔にはみられない異常な増加であって、1側の子宮頸管に導管を挿入し、リンゲル液を子宮に注入したことによって生じたものと思われる。受精卵の子宮頸管經由移植に際しては子宮頸管に挿入した導管を通じて血清、リンゲル液などに浮遊させた受精卵が子宮に注入されるが、本実験の結果からみれば少なくとも、交尾後48時間前後の家兔に受精卵の子宮頸管經由の移植を行なえば子宮の蠕動運動は約12時間は異常に促進されるものと考えられる。さらに子宮頸管に近い子宮 $\frac{1}{2}$ の部位で個体により不規則ではあるが、頻度が増加した蠕動運動の上行波より下行波が多い時期がみられたことは、この時期に子宮内容物の子宮外への排出が行なわれるものと推定される。

B 交尾家兔への子宮頸管經由による人工卵の注入

交尾後48時間の腹窓家兔に子宮頸管經由で1側の子宮に導管を挿入し、リンゲル液0.5mlに浮遊した³²P標識人工卵を注入し、以後8時間までの間に各家兔を屠殺して、人工卵の子宮外への排出の状況を Autoradiogram によってしらべた結果を表1に示す。

すなわち、人工卵注入後6分(0.1時間)で屠殺した例ではそのまま子宮に人工卵が存在したが、注入後1時間から8時間までの例においては0~80%子宮に残存し、注入後数時間で多数の人工卵が子宮外に排出された。この結果は上記子宮運動の観察による推定を裏付けたものであり、したがって家兔において交尾後48時間前後に受精卵の子宮頸管經由の移植を行なえば、子宮運動の異常な促進によって受精卵の子宮外排出があるものと思われる。

Table 1. Remain of the ^{32}P labeled artificial ova deposited by one side through cervix 48 hrs. after mating.

Rabbit no.	Inserted side of uterus	Hrs. after deposition artificial ova	No. of artificial ova in the uterus		Remain rate (%)
			deposited	remaining	
137	left	0.1	5	5	100
130	left	1.0	5	4	80
140	right	2.0	7	0	0
134	right	3.0	5	2	40
139	left	4.0	5	2	40
136	left	5.0	1	0	0
138	right	6.0	5	4	80
135	left	7.0	6	1	17
112	right	8.0	5	0	0

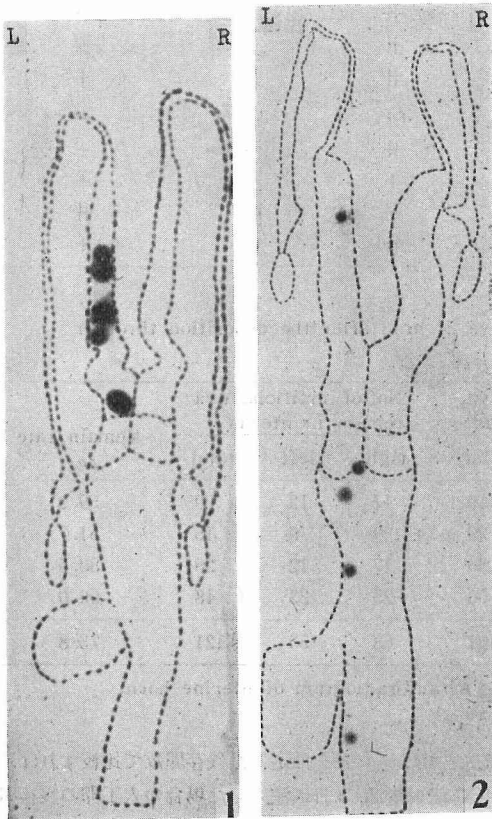


Fig. 5. Autoradiogram of the ^{32}P labeled artificial ova deposited by left side insertion through cervix 48 hrs. after mating. (1) 6 mins. after deposition artificial ova (rabbit no. 137). (2) 7 hrs. after deposition artificial ova (rabbit no. 135).

牛のような大動物において受精卵の子宮頸管經由で移植を試みた報告は多いが³³⁾¹⁷⁾¹⁹⁾²¹⁾²³⁾²⁶⁾²⁷⁾, 成功したものは少ない²³⁾²⁶⁾²⁷⁾。この成功の困難な理由の1つに子宮頸管の刺戟が子宮運動を促進し、受精卵を排出する傾向があると考えられている。すなわち, Harperら²⁰⁾は ^{198}Au で標識したイオン交換樹脂の人工卵を発情後3日の牛に子宮頸管經由で子宮内に挿入し, $1\frac{1}{4}$ ~ $1\frac{1}{2}$ 時間で人工卵が陰腔内に排出されたことを報告し, その原因として, Haysら³⁴⁾のいうオキシトシンの作用によって子宮運動が促進され卵の排出があったものとしている。また大槻ら³⁵⁾も排卵処置後2日の家兎の子宮頸管經由で硝子製のビーズを子宮に挿入し, 子宮外排出のあることをみて, 子宮運動による子宮外排出と考えている。しかし, これらの報告では子宮運動の変化の様相については観察されていない。本実験によって家兎について, 初めて子宮頸管經由の移植時の子宮運動の様相が明らかにされたものと考ええる。

C HCG注射家兎の子宮壁からの人工卵の注入

排卵処置後2~5日の間にリンゲル液に浮遊した人工卵を直接子宮壁から子宮内に注入し, 注入後24時間に人工卵の移動の状況をみたが, 本実験において使用した寒天製の人工卵は, この時までには球状の原形を保たず崩壊したものが多かった。この ^{32}P の追跡の結果を Autoradiogram の ^{32}P の強さで表したものが表2である。また ^{32}P の分布から子宮内に残存する人工卵数を推定して表わしたものが表3である。

表に示すように, HCG注射後2, 3日に人工卵を子

Table 2. Radioactivity in the reproductive tracts 24 hrs. after the deposition of ³²P labeled artificial ova, one by insertion through cervix and the other by injection through uterine wall.

Days after injection of HCG	Rabbit no.	Radioactivity in right uterus		Radioactivity in left uterus		Radioactivity in vagina
		upper part	lower part	upper part	lower part	
2	163	卅	+	卅	+	卅
2	164	卅	卅	+	卅	卅
2	167	+	卅	+	卅	卅
2	171	卅	卅	+	卅	卅
2	172	卅	+	+	卅	卅
3	168	卅	卅	卅	卅	卅
3	173	+	卅	+	卅	卅
3	174	卅	卅	卅	卅	卅
4	169	卅	卅	+	卅	卅
4	170	卅	卅	卅	卅	卅
4	175	卅	+	卅	卅	卅
4	176	卅	卅	卅	卅	+
5	161	卅	卅	卅	卅	-
5	162	卅	卅	卅	卅	+
5	179	卅	卅	+	卅	+
5	180	卅	卅	卅	卅	卅
5	183	卅	卅	卅	卅	+

Table 3. Remain of the ³²P labeled artificial ova 24 hrs. after the deposition through the uterine wall.

Days after injection of HCG	No. of rabbits	No. of artificial ova deposited in uterus			No. of artificial ova remain in uterus			Remain rate (%)
		right	left	total	right	left	total	
2	5	25	24	49	17	12	29	59.2
3	3	15	14	29	9	6	15	51.7
4	4	19	17	36	17	12	29	80.6
5	5	25	25	50	25	23	48	96.0
Total	17	84	80	164	68	53	121	73.8

The number of ova was estimated by the analysis of autoradiogram of uterine horn.

宮内に注入したものは、³²Pの子宮内での残存は比較的少なく、膈に多く排出され、また個体によっては体外に排泄されて飼育箱内に放射能が検出されたものもあった。注射後4日に注入した個体は、³²Pを子宮に多く残存するが、中には膈へ多く排出した個体もあった。注射後5日に人工卵を注入した個体は、³²Pの子宮内での残存が最も多く、膈への排出は少なく、中には膈に³²Pの全く認められない個体もあった(表

2)。また、これを推定した残存卵数で比較すれば、HCG注射後2、3日に注入した場合の人工卵の残存率は59.2~51.7%であるが、注射後4日では80.6%となり、注射後5日では96.0%の人工卵が子宮に残存した(表3)。さらに³²Pの子宮での残存の傾向は注入部位に多かった。すなわち、右子宮は頭側に、左子宮は尾側において³²Pが多く残存する傾向にあった。また、すべての個体において卵管には³²Pは認められなかつ

た。

なお、人工卵の排出については、本実験ではリンゲル液とともに寒天製の人工卵などの異物を子宮に注入したこと、さらに注射針で子宮壁を穿刺し、子宮を刺戟したなどの影響も考えられる。著者は家兎の着床前の子宮運動についての研究³¹⁾において、蠕動運動は受精卵の子宮到達、子宮内配分に関与するものと報告した。とくに蠕動運動の下行波は受精卵が子宮に到達する交尾後2~4日には最高の頻度に増加し、蠕動運動の強さを表わす蠕動運動収縮率は交尾後7時間で最高値となり、以後減少して着床期に至った。この間交尾後4日に前日よりやや増加した。したがって、本実験でHCG注射後2, 3日に人工卵を子宮に注入し、3, 4日に屠殺、生殖器を摘出した例では、下行波の頻度が最高の時期であり、蠕動運動収縮率も比較的高い時期であったであろう。そのため子宮外に排出されたものと思われる、HCG注射後5日に人工卵を子宮に注入した例では、子宮の蠕動運動の頻度および収縮率が減少し、人工卵を膣へ排出する下行波が上行波より少なかったことによって人工卵の子宮への残存が最も多く、膣への排出が少なかったものと考えられる。また注射後4日に注入した個体では、この時期の子宮

運動の様相が前2者の間にあるため、人工卵を子宮に多く残存するが、中には膣へも多く排出したものもあったと思われる。したがって、家兎に排卵処置後2~3日までに子宮に受精卵の移植を行なえば、子宮外に排出される受精卵が多くなるものと考えられる。

D HCG注射家兎への子宮頸管經由による人工卵の注入

HCG注射後2~5日の間に、リンゲル液に浮遊させた人工卵を1側の左子宮には子宮頸管經由で、他側の右子宮には直接子宮壁から、子宮に注入し、注入後24時間における人工卵の移動の状況をしらべたが、この実験においても子宮に注入して24時間を経過した寒天製の人工卵は崩壊したものが多かった。

Autoradiogramによる子宮、膣内における³²Pの分布状況を表4に示し、³²Pの分布から子宮内に残存する人工卵数を推定したものを表5に示す。

HCG注射後2, 3日に人工卵を子宮内に注入したものは、両側子宮とも³²Pの残存は少なく、膣にも少なかった。多くの³²Pは体外に排泄され、飼育箱内に放射能が検出された。注射後4, 5日で注入した例、とくに注射後5日の例においては³²Pは両側子宮ともに多く残存し、膣への排出は比較的少なかった(表4)。

Table 4. Radioactivity in the reproductive tracts 24 hrs. after the deposition of ³²P labeled artificial ova, one by insertion through cervix and the other by injection through uterine wall.

Days after injection of HCG	Rabbit no.	Radioactivity in right uterus		Radioactivity in left uterus		Radioactivity in vagina
		upper part	lower part	upper part	lower part	
2	187	+	-	-	-	卅
2	188	-	+	-	-	-
2	189	卅	卅	-	卅	卅
2	190	卅	+	+	卅	卅
3	185	+	卅	卅	卅	+
3	186	卅	卅	卅	卅	卅
4	177	卅	卅	卅	卅	+
4	178	+	卅	卅	+	卅
4	181	卅	卅	卅	卅	+
4	182	卅	卅	卅	卅	卅
5	165	卅	卅	卅	卅	+
5	166	卅	卅	卅	卅	+
5	184	卅	卅	+	卅	卅

Cervical insertion for the left uterine horn and injection for the right one, both at the ovarian end.

Table 5. Remain of the ^{32}P labeled artificial ova 24 hrs. after the deposition, one by insertion through cervix, and the other by injection through uterine wall.

Days after injection of HCG	No. of rabbits	No. of artificial ova deposited in uterus			No. of artificial ova remain in uterus			Remain rate (%)
		right	left	total	right	left	total	
2	4	19	26	45	3	4	7	15.6
3	2	13	16	29	5	6	11	37.9
4	4	20	16	36	15	10	25	69.4
5	3	16	15	31	12	10	22	71.0
Total	13	68	73	141	35	30	65	46.1

The number of ova was estimated by the analysis of autoradiogram of the uterine horn.

また、推定した人工卵の子宮内での残存率で比較すれば HCG 注射後 2 日が 15.6%, 3 日が 37.9% であり少なく、注射後 4 日が 69.4%, 5 日では 71.0% と多く、注射後の時間の経過とともに人工卵の子宮への残存は多くなる傾向があった(表 5)。さらに ^{32}P の子宮内の残存部位については人工卵の注入された部位、すなわち、導管挿入を行なった左側では子宮尾側に、右側では子宮頭側に多く残存する傾向が認められた。なお、この実験においても卵管には ^{32}P を認めなかった。

また、実験 D における、HCG 注射から人工卵注入までの日数における人工卵の子宮内残存と膈への排出の傾向は、対照として直接子宮に人工卵を注入した実験 C の成績の傾向に類似していた。しかし、子宮に残存した ^{32}P の強さ、および推定した人工卵数は実験 C の方が多く、逆に ^{32}P の子宮からの排出は子宮頸管を経由して人工卵を注入した方が多かった。この事実は、子宮頸管を経由して導管挿入を行なったことによって交尾家兔と同様 HCG 注射家兔にも子宮運動の異常な頻度増加があったことを示すものと考えられる。HCG 注射後 2, 3 日に人工卵を子宮頸管を経由して子宮に注入した例では ^{32}P は子宮内の残存も少なく、膈にも少なく、多くの ^{32}P が排泄された。このことは、交尾後 48 時間前後に子宮頸管への導管挿入を行なった家兔に観察されたと同様に、排卵処置後 2, 3 日は子宮運動の異常な増加があって、多くの ^{32}P が数時間にして子宮外に排出され、その後屠殺までの間に体外に排泄されたものと思われる。したがって、この時期に子宮運動を抑制すると考えられる Progesteron などの投与の実験³⁰⁾も今後検討するべきものと考えられる。

HCG 注射後 4, 5 日、とくに 5 日に ^{32}P は子宮内に多く残存し、膈への排出は比較的少なかった。これ

は、家兔における子宮頸管經由による導管挿入、およびリンゲル液の子宮内注入を行なうことによる子宮運動の異常な頻度増加は排卵処置後 2 日前後に最も激しく、その後は前に報告³¹⁾した家兔の子宮運動が交尾後 2 日以後減少しつつ着床期に至ると同様、導管挿入などの刺激に対する子宮の感受性が減じて子宮運動の異常な増加の程度が減少しつつ着床期に至るものと思われる。したがって、受精卵の子宮頸管經由の移植はこの時期以後に行なうべきであると思われる。子宮頸管經由で受精卵移植を行なって良好な成績をえた報告の中で、Shah⁵⁾は交尾後 6 日の卵を使用しており、また Fafez⁶⁾は時期の明記はないが Donor の子宮から Mórula stage の卵を採取し、Donor と同期化された Recipient に移植しているし、Dauzier⁷⁾は Blastocyst を Recipient に移植しているので、やはりこの時期に相当すると思われる。

子宮頸管經由の受精卵移植が困難とされた牛について、最近杉江²⁴⁾²⁵⁾が子宮頸管を経由せず膈壁をとおして直接子宮内に移植する方法を考えて成功したことは注目される。この場合杉江は CO_2 を子宮内に注入することにより非外科的な移植を行なった。Rowson ら²⁶⁾はこの CO_2 の子宮内注入に着目して子宮頸管經由の移植に CO_2 を用いて 8 例中 3 例の Recipient に妊娠させることに成功したと報告した。 CO_2 の妊娠継続を助ける機能について Rowson らは、移植した卵を子宮外に排出する子宮筋をおそらく弛緩あるいは麻酔させるものであろうと推論した。家兔においても、 CO_2 を注入した場合子宮の運動がどのような変化を示すかについては今後検討するべき問題であると考えられる。

なお本実験において、使用した寒天製の人工卵は子宮に注入して 24 時間を経過すれば原形を保たず崩壊し

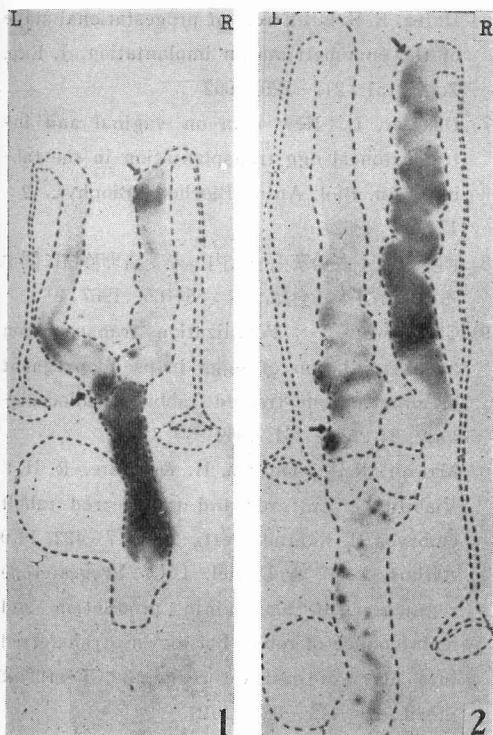


Fig. 6. Autoradiogram of the ^{32}P labeled artificial ova 24 hrs. after the deposition through the uterine walls, right side at the ovarian end and left side at the cervical end. (1) Artificial ova deposited 2 days after injection of HCG (rabbit no. 172). (2) Artificial ova deposited 4 days after injection of HCG (rabbit no. 169).

たものが多く、Autoradiogram に記された ^{32}P の強さによって子宮内に残存する人工卵数を推定した。最近、人工卵を用いた実験にはイオン交換樹脂²⁰⁾³⁶⁾³⁷⁾³⁸⁾あるいは硝子製ビーズ³⁵⁾などによるものもあるが、これらの人工卵も比重、硬度などに問題があるように思われる。例えばイオン交換樹脂に ^{131}I を標識して卵管内の通過速度をみた中村ら³⁸⁾³⁹⁾の実験において、人工卵の通過速度は自然卵³⁹⁾よりいくぶん早いことを認めている。卵子の移動は卵管、子宮などの蠕動運動あるいは纖毛運動によって行なわれるとする考えからみれば、卵子と異なる比重、硬度は人工卵の移動速度を変化させ、子宮、卵管などの運動を誘発する結果となるものと思われる。また、受精卵を放射性同位元素で標識した報告⁴⁰⁾もあるが、今後さらに適当な人工卵作製の検討が必要と考えられる。

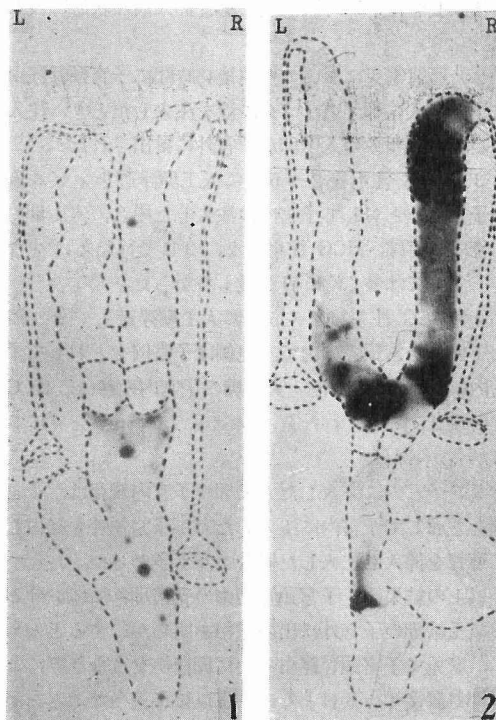


Fig. 7. Autoradiogram of the ^{32}P labeled artificial ova 24 hrs. after the deposition in uteri, left side by penetration through cervix and right side by injection through uterine wall. (1) Artificial ova deposited 2 days after injection of HCG (rabbit no. 187). (2) Artificial ova deposited 2 days after injection of HCG (rabbit no. 184).

IV 摘 要

家兎受精卵の子宮頸管經由移植の際の受精卵排出の問題について検討を行なうため、家兎に交尾あるいは HCG 50 IU を静脈注射により排卵を誘起させてその後 2~5 日にリンゲル液 0.5ml、あるいは ^{32}P で標識した人工卵を浮遊させたリンゲル液 0.5ml を子宮頸管經由あるいは子宮壁から直接子宮に注入した。注入後に起る子宮運動の変化を腹窓法で観察し、また人工卵の移動の状況を Autoradiography を用いてしらべた。結果の概要は次のとおりである。

1) 腹窓を装着した家兎において交尾後 48 時間に 1 側の子宮頸管經由で子宮に導管を挿入し、リンゲル液を注入した時、両側の子宮の運動、とくに蠕動運動は注入後 1 時間内に急激に頻度が増加し、その後不規則

に増減しつつ、12時間前後で導管挿入前の状態に復した。

2) 腹窓家兎において交尾後48時間に子宮頸管經由で子宮に人工卵浮遊リングル液を注入したとき、注入後数時間で多数の人工卵が子宮外に排出された。

3) HCG 注射後2~5日に人工卵浮遊リングル液を子宮壁をとおして子宮内に注入した場合、人工卵の子宮内残存は、HCG 注射後2, 3日で行なえば少なく、4日では多く、5日が最も多かった。

4) HCG 注射後2~5日に人工卵浮遊リングル液を1側は子宮頸管經由で、他側は子宮壁をとおして子宮内に注入した場合、人工卵の子宮内残存は、HCG 注射後2, 3日で行なえば少なく、4, 5日とくに5日が多かった。

5) 子宮内に注入した人工卵の子宮内残存は、子宮壁をとおして子宮内に注入した方が子宮頸管を經由して導管を挿入し注入した場合よりも多かった。

以上の結果は、子宮頸管經由の受精卵移植における移植受精卵の子宮外排出の様相を明らかにするとともに、家兎で子宮頸管經由の受精卵移植を行なう際には排卵処置後4, 5日とくに5日以後が適当なことを示しているものと思われる。

終りに、御校閲を賜った医学部岩井正二教授、農学部兼松満造教授ならびに農学部吉田重雄教授に深謝する。

文 献

- 1) Heape, W. : Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster-mother, Proc. Roy. Soc. London, 48 : 457-458, 1890
- 2) Willett, E. L. : Egg transfer and superovulation in farm animals, Iowa State Col. J. Sci., 28 : 83-100, 1953
- 3) Dowling, D. F. : Problems of the transplantation of fertilized ova, J. Agric. Sci., 39 : 374-396, 1949
- 4) Adams, C. E. : A study of fertilization in the rabbit, J. Endocrin., 13 : 296-308, 1956
- 5) Shah, M. K. : Reciprocal egg transplantations to study the embryo-uterine relationship in heatinduced failure of pregnancy in rabbits, Nature, 177 : 1134-1135, 1956
- 6) Hafez, E. S. E. : Effect of progestational stage of the endometrium on implantation, J. Exp. Zool., 151 : 217-226, 1962
- 7) Dazier, L. : New data on vaginal and intraperitoneal egg transplantation in the rabbit, Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys., 2 : 17-23, 1962
- 8) 西平守之 : 去勢家兎子宮内への受精卵移植に関する研究, 日不妊会誌, 12 : 55-66, 1967
- 9) Chang, M. C. : Fertilization transportation and degradation of eggs in pseudopregnant or progesterone-treated rabbits, Endocrinology, 84 : 356-361, 1969
- 10) Maurer, R. R., Onuma, H. & Foote, R. H. : Viability of cultured and transferred rabbit embryos, J. Reprod. Fert., 21 : 417-422, 1970
- 11) Arthur, A. T. & Daniel, J. C. : Progesterone regulation of blastokinin production and maintenance of rabbit blastocysts transferred into uteri of castrate recipients, Fertil. & Steril., 23 : 115-122, 1972
- 12) Humphrey, K. & Martin, L. : The effect of oestrogen and antioestrogens on ovum transport in mice, J. Reprod. Fert., 15 : 191-197, 1968
- 13) Dickmann, Z. & Noyes, R. W. : The fate of ova transferred into the uterus of the rat, J. Reprod. Fert., 1 : 197-212, 1960
- 14) 大槻清彦, 相馬 正 : ヤギの子宮頸管經由による受精卵の移植, 畜試研報, 6 : 27-32, 1964
- 15) Rowson, L. E. A. & Moor, R. M. : Embryo transfer in the sheep, J. Reprod. Fert., 11 : 207-212, 1966
- 16) Webel, S. A., Peters, J. B. & Anderson, L. L. : Synchronous and asynchronous transfer of embryos in the pig, J. Anim. Sci., 30 : 565-574, 1970
- 17) Umbaugh, R. E. : Superovulation and ovum transfer in cattle, Amer. J. Vet. Res., 10 : 295-305, 1949
- 18) Dracy, A. E. : The future of ova transfer, Iowa State Col. J. Sci., 28 : 101-106, 1953
- 19) Dziuk, P. J. & Petersen, W. E. : Attempts at non-surgical transfer of bovine ova, J.

家兔の子宮頸管經由による受精卵の移植に関する研究 (I)

- Anim. Sci., 13 : 1019-1024, 1954
- 20) Harper, M. J. K., Bennett, J. P. & Rowson, L. E. A. : A possible explanation for the failure of non-surgical ovum transfers in the cow, *Nature*, 190 : 789-790, 1961
- 21) Avery, T. L., Fahning, M. L., Pursel, V. G. & Graham, E. F. : Investigations associated with the transplantation of bovine ova, *J. Reprod. Fert.*, 3 : 229-238, 1962
- 22) Rowson, L. E. A., Bennett, J. P. & Harper, M. J. K. : The problem of non-surgical egg transfer to the cow uterus, *Vet. Rec.*, 76 : 21-23, 1964
- 23) Mutter, L. R., Graden, A. P. & Olds, D. : Successful non-surgical bovine embryo transfer, *A. I. Digest*, 12 : 3, 1964
- 24) 杉江 信, 相馬 正, 大沼秀男 : 牛の受精卵移植に関する研究, *家畜繁殖誌*, 10 : 124-127, 1965
- 25) Sugie, T. : Successful transfer of a fertilized bovine egg by non-surgical techniques, *J. Reprod. Fert.*, 10 : 197-201, 1965
- 26) Rowson, L. E. A. & Moor, R. M. : Non-surgical transfer of cow eggs, *J. Reprod. Fert.*, 11 : 311-312, 1966
- 27) Willett, E. L., Buckner, P. J. & Larson, G. L. : Three successful transplantation of fertilized bovine eggs, *J. Dairy Sci.*, 36 : 520-523, 1953
- 28) Rowson, L. E. A., Lawson, R. A. S., Moor, R. M. & Baker, A. A. : Egg transfer in the cow, *J. Reprod. Fert.*, 28 : 427-431, 1972
- 29) Brock, H. & Rowson, L. E. A. : The production of viable bovine ova, *J. Agric. Sci.*, 42 : 479-482, 1952
- 30) 登内徳一郎 : 家兔の子宮運動に関する研究 I, *信大農学報*, 8 : 49-64, 1963
- 31) 登内徳一郎 : 家兔の子宮運動に関する研究 II, *信大農学報*, 9 : 83-91, 1965
- 32) 登内徳一郎 : 家兔の子宮運動に関する研究 III, *信大農紀要*, 5 : 115-122, 1968
- 33) 中曾栄吾 : 腹窓法による家兔子宮運動の研究, *日産婦誌*, 4 : 313-327, 1952
- 34) Hays, R. L. & VanDemark, N. L. : Effects of oxytocin and epinephrine on uterine motility in the bovine, *Amer. J. Physiol.*, 172 : 557-560, 1953
- 35) 大槻清彦, 相馬 正 : 家畜の人工妊娠に関する研究, *日畜会報*, 34(別) : 18-19, 1963
- 36) Harper, M. J. K., Bennett, J. P., Bournsnel, J. C. & Rowson, L. E. A. : An autoradiographic method for the study of egg transport in the rabbit fallopian tube, *J. Reprod. Fert.*, 1 : 249-267, 1960
- 37) Greenwald, G. S. : A study of the transport of ova through the rabbit oviduct, *Fertil. & Steril.*, 12 : 80-95, 1961
- 38) 中村義孝, 宮井哲郎 : 家兔卵管における放射性人工卵の移動について, *日不妊会誌*, 12 : 167-170, 1967
- 39) 宮井哲郎 : IUD装着家兔ならびにラットにおける卵の卵管内通過性について, *日不妊会誌*, 13 : 299-304, 1968
- 40) Wilson, I. B. & Smith, M. S. R. : Isotopic labelling of the mouse blastocyst, *J. Reprod. Fert.*, 16 : 305-307, 1968

(1973. 2. 6 受稿)