

マウスにおける遊泳ストレス負荷の着床・妊娠・分娩および哺乳におよぼす影響

誌名	日本大学農獣医学部学術研究報告
ISSN	00780839
著者名	金山,喜一 矢部,勝弘 佐久間,勇次
発行元	日本大学農獣医学会
巻/号	39号
掲載ページ	p. 176-180
発行年月	1982年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



マウスにおける遊泳ストレス負荷の着床・妊娠・分娩 および哺乳におよぼす影響*

金山喜一・矢部勝弘・佐久間勇次**

(家畜生理学教室)

昭和56年9月29日受理

緒 言

生体に各種の有害因子 (stressor) が加わると非特異的な一連の全身的な反応が誘発される。これを Selye¹⁻³⁾ は汎適応症候群 (general adaptation syndrome) と総括し、いわゆる stress (歪み) 学説を提唱した。

家畜においてストレスに起因していると考えられる代表的な疾病に、豚の胃潰瘍⁴⁻⁵⁾、牛のケトージス⁶⁻⁷⁾などが挙げられる。これらのストレス病の発現には、家畜の生理生態学的特性に必ずしもそぐわない飼育形態、たとえば牛における舎飼いで濃厚飼料の多給、豚ではコンクリート豚舎での多頭過密飼育、ケージ内飼育など多くの要因がストレッサーとして作用しているものと考えられている。

また、ストレス状態にある生体では、その生殖能力も低下する可能性が示唆されており⁸⁻¹¹⁾、ストレス病の発症とともに家畜・家禽ではその経済的生産性に大きな損失をもたらしている。

著者らは、繁殖能力とストレスとの関連性を明らかにする試みとして、今回、マウスを用い、その妊娠初期あるいは中期に強制遊泳を負荷し、胚の着床、妊娠の維持・継続および産仔に対する哺乳におよぼす影響について検討した。

実験材料および方法

供試動物として、自家繁殖した7~10週令のICR系未経産マウスを用いた。飼育条件は人工照明により午前6時から午後8時までの14時間点灯とし、また固型飼料と水は不断に給与した。

ストレッサーの負荷方法は、強制遊泳法で鈴木ら¹²⁾の方法に準じて行った。すなわち、自動調節装置付恒温水槽を用い水温は37°Cに保ち遊泳範囲は30cm×25cmと

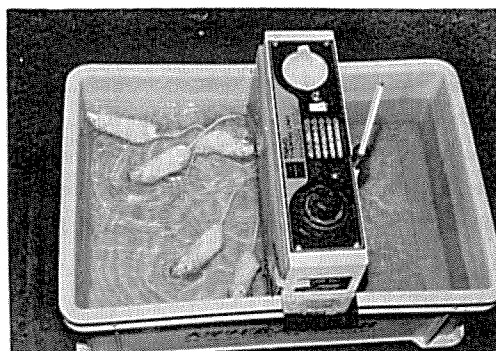


Fig. 1 An apparatus for forced swimming of mice.

し、水深は20cmとした (Fig. 1)。マウスに強制遊泳を負荷する時期は、供試メスマウスをオスと同居させ、翌朝、膣栓を認めたものについて行い、この日を妊娠0日とし、妊娠第4日目 (実験I) あるいは妊娠第12日目 (実験II) の午後とした。遊泳時間は、実験I、IIともに10, 30, 60, 120および180分間とし、同一水槽内で一回に遊泳させるマウスの数は5匹とした。

これらのマウスは強制遊泳後、一匹ずつ個別に飼育し、分娩の有無・産仔数・産仔の食殺の有無および哺乳の状態について観察した。なお、膣栓を確認後、遊泳させず個別に飼育したマウス5匹を対照区とした。

実験成績

妊娠第4日目および第12日目にそれぞれ強制遊泳を負荷したマウスについて、分娩の有無・産仔数をみた成績をTable 1およびTable 2に示した。

妊娠第4日における、10および30分間の強制遊泳負荷では全例が分娩したが、60分間負荷では分娩したマウスは5例中1例、120分間負荷では5例中2例であり、180分間負荷では全例が分娩しなかった。また、妊娠第12日目のマウスに10, 30, 60および120分間の強制遊泳を負

Bull. Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ., No. 39, p. 176~180 (1982).

* Effect of Forced Swimming on Implantation of Ova, Gestation, Parturition and Nursing in Mice.

** Kiichi KANAYAMA, Katsuhiko YABE and Yuzi SAKUMA, Lab. Veterinary Physiology, Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ

Table 1 Effect of forced swimming given on the 4th day of pregnancy on parturition rate and litter size

Swimming hours (minutes)	No. of mother mice examined	No. of mice which delivered	Rate of parturition (%)	Litter size ($\bar{x} \pm S.D.$)
Control	5	5	100	10.4 \pm 1.1
10	4	4	100	9.3 \pm 2.2
30	5	5	100	9.4 \pm 1.5
60	5	1	20	10.0 \pm 4.5
120	5	2	40	7.0 \pm 3.8
180	5	0	0	0

Table 2 Effect of forced swimming given on the 12th day of pregnancy on parturition rate and litter size

Swimming hours (minutes)	No. of mother mice examined	No. of mice which delivered	Rate of parturition (%)	Litter size ($\bar{x} \pm S.D.$)
Control	5	5	100	10.4 \pm 1.1
10	5	5	100	9.0 \pm 2.7
30	3	3	100	10.3 \pm 5.8
60	5	5	100	9.5 \pm 5.2
120	5	5	100	8.2 \pm 1.3
180	3	2	67	8.0 \pm 4.6

荷した場合には全例が分娩したが、180分間の負荷では3例のうち2例に分娩が認められた。

このように妊娠第4日目と12日目とでは、その後の妊娠の維持・継続に対する強制遊泳負荷の感受性が異なることが示唆された。すなわち、妊娠第12日目の個体に、その後の妊娠の継続に影響をおよぼさない60分間および120分間の強制遊泳負荷も、妊娠第4日目のマウスには胚の着床、妊娠の維持・継続に著しい障害をおよぼした。

分娩したマウスの平均産仔数は強制遊泳負荷のいずれの試験区においても対照区よりやや少なかったが、統計学的有意差は認められなかった。

分娩して産仔を得たマウスにおいても産仔の食殺および哺乳の停止という母性本能の発現に異常を示した個体が多く、Table 3およびTable 4にその成績を示した。

実験Ⅰ（妊娠第4日目に負荷）では30分間負荷区で2例に、120分間負荷区では分娩した2例とも食殺が認められた。また、60分間負荷区では分娩したのは5例中1例であったが、この例では哺乳期間中に産仔に対する哺乳を放棄し、そのため仔マウスは死亡している。

実験Ⅱ（妊娠第12日目に負荷）においても母マウスの産仔に対する異常行動がみられ、60分間負荷区で3例、120分間負荷区で3例、また180分間負荷区では分娩した2例とも産仔の食殺が認められた。このうち、120分間

Table 3 Effect of forced swimming given on the 4th day of pregnancy on maternal behaviours

Swimming hours (minutes)	No. of mother mice examined	No. of mice which delivered	No. of mice showing abnormal maternal behaviours	
			Killing	Stop of nursing
Control	5	5	0	0
10	4	4	0	0
30	5	5	2	0
60	5	1	0	1
120	5	2	2	0
180	5	0	0	0

Table 4 Effect of forced swimming given on the 12th day of pregnancy on maternal behaviours

Swimming hours (minutes)	No. of mother mice examined	No. of mice which delivered	No. of mice showing abnormal maternal behaviours	
			Killing	Stop of nursing
Control	5	5	0	0
10	5	5	0	0
30	3	3	0	0
60	5	5	3	0
120	5	5	3	0
180	3	2	2	0

負荷区の2例および180分間負荷区の2例の母マウスは産仔のすべてを食殺した。

このように、妊娠初期および中期のマウスにストレスを負荷すると、胚の着床、妊娠の維持・継続および分娩後の産仔に対する母性行動の発現に明らかに異常な状態が認められることを知った。

考 察

マウスにおける胚の発生分化の過程は、詳細に調べられており¹³⁻¹⁵⁾、妊娠第4日目のマウスの胚は卵管から子宮角に下降し、胚盤胞 (blastocyst) の形態を示し始める時期であるが着床はまだ起こらず子宮腔内に胚として浮遊している時期である。また、妊娠第12日目の胚は13体節となり、発生・分化の最も旺盛な時期である。

実験Iにおける妊娠第4日目のマウスでは60分以上の強制遊泳負荷で分娩しなかったマウスを開腹して子宮腔内を肉眼的に検査したが、いずれの個体にも着床点は認められなかった。これは、強制遊泳というストレスにより子宮に着床の阻害が起こったためか、あるいは着床しても比較的早期に胚の発育が中止し、さらに胚が吸収されてしまったものと推察される。

また、実験IIにおける妊娠第12日目のマウスは120分までの全例が分娩し、分娩しなかった個体は180分間負荷区の1例にすぎなかった。このように、妊娠中期以降になると妊娠の維持に強制遊泳負荷は大きな悪影響をおよぼさなかった。着床前で胚が子宮腔内を浮遊している時期の妊娠第4日目のマウスは妊娠第12日目の個体より、その妊娠の維持においてストレスに対する感受性、影響力が高く着床阻害、着床後の胚の死亡・吸収が起こりやすいものと思われる。このことは、家畜においても同様であろうと著者らは考えている。

ラットを用いた実験により、産仔に対する哺乳という母性行動の発現に關与する内分泌系は3つのホルモン、すなわち estrogen, progesterone および prolactin が複雑に關与している¹⁶⁾とされている。また、ストレス状態

においては下垂体前葉からの ACTH 以外のホルモン分泌は抑制されていると考えられており¹⁷⁻¹⁹⁾、prolactin および gonadotropin の分泌にも障害がおよぶとされている。したがって本実験で観察された産仔に対する哺乳の停止および産仔の食殺は、強制遊泳というストレス負荷によってもたらされた内分泌系の失調および母性行動に關与する内分泌系の上位中枢である神経機構の異常に起因するものと考えられる。

産仔の食殺という母マウスの異常行動が強制遊泳負荷区に多数みられたことはストレス負荷が母性行動というメスマウスの本能的な精神活動に大きな障害をもたらすことを意味している。妊娠第4日目に強制遊泳を負荷しても分娩したマウスに産仔の食殺がみられたことは、ストレス負荷が、負荷後長時間を経過しても母マウスの母性行動に何らかの悪影響をおよぼしているものと考えられる。

強制遊泳負荷区で分娩したマウスの産仔数は、対照区のそれと有意差は認められず、妊娠第1日目・3日目および5日目において120分間の強制遊泳を負荷した鈴木ら¹⁹⁾の成績とほぼ一致した。しかし著者らの実験では、いずれの強制遊泳負荷区においても対照区より平均産仔数は少なかった。これについて今後、供試例数を増やし、より明確に産仔数の減少傾向の有無について検討してゆきたい。また、妊娠動物でストレス負荷により分娩しなかった個体について内分泌系・自律神経系からの検討および子宮の病理組織学的検索、さらに分娩後の母性本能に異常が認められた個体についてもその異常行動の発現機構について解明する必要がある。

なお、ストレス状態にある生体ではリンパ系組織の萎縮・副腎皮質の腫脹・性腺の萎縮・好酸球数の変動・消化器系の潰瘍などの異常が起こることが知られている¹⁻⁹⁾。本実験では、これらの症候について特に検索を行わなかったが、強制遊泳負荷マウスにおいてこれらの症候が発現していたことは十分に予想される。

以上は、実験動物としてのマウスにおける成績である

が、第二次大戦中、婦人において認められた戦時無月経¹⁹⁾と同様に家畜においても、環境からの有害因子や各種疾病などのストレスは妊娠の維持・継続および分娩後の泌乳などの家畜の生産性を障害する大きな誘因となることが示唆されたものといえよう。

要 約

妊娠第 4 日目および第 12 日目のマウスに強制遊泳によるストレスを負荷し、妊娠の維持・継続・分娩後の産仔に対する哺乳状態について検討し、次のような結果を得た。

1. 妊娠第 4 日目において 60 分間以上の強制遊泳負荷で分娩しないものが多くなり、180 分間負荷区では 5 例全例が分娩しなかった。しかし妊娠第 12 日目の負荷では、分娩しなかったのは 180 分間負荷区の 1 例だけであった。
2. 産仔数は、強制遊泳負荷群では対照区よりやや少ない傾向がみられたが、有意差は認められなかった。
3. 強制遊泳負荷群においては、産仔に対する母性行動の異常がみられ、哺乳の停止および産仔の食殺が多く認められた。

文 献

- 1) Selye, H.: (1936) A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*, **138**, 32.
- 2) Selye, H.: (1937) Studies on adaptation. *Endocrinology*, **21**, 169~188.
- 3) Selye, H.: (1946) The general adaptation syndrome and the disease of adaptation. *Journal of Clinical Endocrinology*, **6**, 117~230.
- 4) 山口真俊: (1973) 豚の胃潰瘍 (日本獣医師会, 東京), 1~50.
- 5) 山口真俊: (1975) 豚の胃潰瘍, その原因と対策, 畜産の研究, **29**, 193~200.
- 6) 津田恒之: (1954) 適応症としてみた反芻動物のケトシス, 畜産の研究, **9**, 7~10.
- 7) Shaw, J.C.: (1956) Ketosis in dairy cattle. A review. *Journal of Dairy Science*, **39**, 402~434.
- 8) Selye, H. and T. McKeown: (1935) Studies on

the physiology of the rat. *Proceeding of Royal Society of London. Series B*, **119**, 1~31.

- 9) 倉智敬一: (1966) 侵襲による卵巣機能障害, その病態に関する実験的考察, 最新医学, **21**, 2690~2695.
- 10) Hagino, N.: (1968) Ovulation and mating behaviour in female rats under various environmental stress or androgen treatment. *The Japanese Journal of Physiology*, **18**, 350~355.
- 11) Siegel, H.S.: (1959) Egg production characteristics and adrenal function in White Leghorns confined at different floor space levels. *Poultry Science*, **38**, 893~898.
- 12) 鈴木和威, 磯崎幸子, 池森弘子, 鈴木妙子, 志良堂梨枝子, 上戸コトエ, 大友一夫: (1976) マウスの繁殖におよぼす強制遊泳 (ストレス) の影響—I. 交配後 1 日, 3 日および 5 日目, 上戸学園女子短期大学紀要, **6**, 27~29.
- 13) 久米又三編: (1969) 脊椎動物発生学 (培風館, 東京), 249~279.
- 14) Rugh, R.: (1965) The Mouse, its reproduction and development (Burgess Publishing Co., Minneapolis), 430.
- 15) Snell, G.D.: (1961) Biology of the Laboratory Mouse, the first ed. (Dover Publications Inc., New York), 55~88.
- 16) Moltz, H., M. Lubin, M. Leon and M. Numan: (1970) Hormonal induction of maternal behaviour in the ovariectomized nulliparous rat. *Physiology and Behaviour*, **5**, 1373~1377.
- 17) Greenblatt, R.B., W.E. Berfield and C.P. Lampros: (1956) Cortisone in treatment of infertility. *Fertility and Sterility*, **7**, 203~213.
- 18) Charters, A.C., W.D. Odell and J.C. Thompson: (1969) Anterior pituitary function during surgical stress convalescence. Radioimmunoassay measurement of blood TSH, LH, FSH and Growth hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **29**, 63~71.
- 19) 田多井吉之介: (1974) ストレスとはなにか (講談社, 東京), 54~57.

Effect of Forced Swimming on Implantation of Ova,
Gestation, Parturition and Nursing in Mice

Kiichi KANAYAMA, Katsuhiko YABE and Yuji SAKUMA

Lab. Veterinary Physiology, Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ.

(Received September 29, 1981)

An effect from 10 to 180 minutes of the forced swimming as a stressor on implantation of embryos, pregnancy, parturition and nursing was studied in mice. The results obtained were as follows.

1. The blockade of implantation and pregnancy occurred in most mice in which the forced swimming was loaded more than 60 minutes on the 4th day of pregnancy. On the other hand, mice in which the

forced swimming was loaded on the 12th day of pregnancy, delivered litters mostly through any loading time.

2. There was no statistical difference in the litter size between groups of forced swimming and control.

3. Abnormal maternal behaviours were observed in mice when they delivered in the forced swimming group.