

## 高蛋白質飼料の給与マウスにおける発情の持続性と性ホルモンの関係について

誌名	茨城大学農学部学術報告 = Scientific reports of the Faculty of Agriculture Ibaraki University
ISSN	04451694
著者	田上, 末四郎 市川, 和明
巻/号	36号
掲載ページ	p. 39-43
発行年月	1988年10月

# 高蛋白質飼料の給与マウスにおける発情の持続性と性ホルモンの関係について

田上末四郎・市川和明

高蛋白質飼料の給与によって、発情周期（以下周期と略）が延長し、不規則になることは、ISHIDA<sup>1)</sup>やLE-ATHEM<sup>2)</sup>らがラットで認めている。田上は、<sup>3~4)</sup>この周期の延長が、発情期ならびに休止期の延長に起因していることをマウスで認めた。特に発情期の延長について、市川・田上は、<sup>5)</sup>去勢雌マウスに estrogen を投与した場合の雄マウス許容性が、その投与量に依存して高率を示し、許容持続時間が延長することから、高蛋白質飼料の給与マウスにおける発情期の延長現象が、体内 estrogen の量的増加に基づく現象である可能性を示唆した。また田上ら<sup>6)</sup>は、高蛋白質飼料を給与したマウスの肝機能が減退し、肝臓の estrogen 不活性能が低下したことから、高蛋白質飼料の給与マウスにおける発情期の延長は、肝性 estrogen の過剰を一因とする estrogen 量に基づく現象と考えた。一般に、周期の変化は視床下部一下垂体一卵巣系によって支配されており、特に発情現象は、単に estrogen のみによって発現する現象ではなく、estrogen と progesterone が協調的あるいは拮抗的に作用して発現することが知られている<sup>7~8)</sup>。そこで本試験では、卵巣摘出マウス（以下去勢雌マウスと略）を用い、人為的な estrogen の投与量ならびに estrogen と progesterone の投与による腔上皮角質化の持続時間（以下角質化時間と略）への影響を、高蛋白質飼料を給与した場合、人為的に肝機能を低下させた場合ならびに蛋白質標準レベル飼料（以下対照飼料と略）を給与した場合で比較し検討を加えた。

## 材料および方法

本実験は、外因性の estrogen 量ならびに estrogene と progesterone 量による角質化時間を調査する二つ

の実験からなる。各実験とも、供試マウスは、ICR-JCL系の性成熟未経産マウス（生後55～60日齢、体重28～35g）である。実験に先立ち、供試マウスは、すべて卵巣摘出手術<sup>9)</sup>を施し、手術部位の回復期間を7日間置いた。動物飼育室の温度は17～25℃の範囲に調整し、照明は午前6時～午後7時30分まで点灯した。また、飲水は自由に摂取させた。

試験区分は、対照飼料給与区（対照区）、高蛋白質飼料給与区（高蛋白区）および四塩化炭素給与区（四塩化炭素区）の3区とした。供試飼料とその給与の量や方法および期間ならびに四塩化炭素とその投与の量や方法および期間などは田上ら<sup>6)</sup>の通りである。また、周期の観察法ならびに観察結果の数的処理などは既報<sup>3)</sup>にしたがった。なお、性ホルモンの投与に当たり、供試マウスの周期は、継続的な休止期であることを投与前7日間の腔垢検査によって確認した。

実験I：外因性 estrogen による角質化時間の持続性

実験は試験区分ごとに独立して行なった。したがって、実験の開始は各試験区ごとに異なるが、ほぼ7日の間隔である。用いた去勢雌マウスは各区とも40頭ずつで、estrogenの段階的な投与量によって4群に分割した。供試した estrogen は安息香酸エストラジオール（帝國臓器製薬KK, OVAHORMON BENZOAT<sup>®</sup>；安息香酸エストラジオール水性懸濁注射液；以下EBと略）で、試験開始後31日目に投与した。その投与は、皮下注射における腔上皮角質化の最少有効量<sup>10)</sup>を参考に、最低量を0.024 $\mu$ g/0.1mlとし、0.24 $\mu$ g/0.1ml、2.4 $\mu$ g/0.1mlおよび24 $\mu$ g/0.1mlの4段階にリンゲル液で希釈調製した試液として、その注射量0.1ml/mouseを午後1時～2時に腹腔内に1回宛行なった。EB投与後における

角質化時間の観察期間は7日間とした。

実験Ⅱ：外因性 estrogen と progesterone による角質化時間の持続性

実験は試験区分ごとに独立して行った。用いた去勢雌マウスは各区とも30頭ずつで、投与 progesterone 量によって3群に分割した。供試 EB の投与量は、各区とも定量の 2.4  $\mu\text{g}/0.1\text{ml}/\text{mouse}$  であり、その投与方法および投与時期は実験Ⅰの通りとした。また、供試 progesterone (SIGMA社製：以下Pと略)は、3段階の投与量(0 mg; ゴマ油溶液のみ, 1 mg/0.1 ml および 2 mg/0.1 ml)にゴマ油溶液(半井化学薬品KK製)で調製し、各群とも 0.1 ml/mouse を EB 注射の6時間後に腹腔内に1回宛投与した。角質化時間の観察期間は7日間である。

実験は、ⅠおよびⅡとも2回ずつ行った。

### 結 果

各実験の結果は、2回の実験とも類似の成績であったことから、まとめて平均値を求め、図1および図2に示した。

EB 単独投与の場合、各区ともその投与量の増加と共に角質化時間は長くなった。特に 2.4  $\mu\text{g}$  EB および 24  $\mu\text{g}$  EB 群では、角質化時間の顕著な延長が認められた。しかし、各投与群とも、各試験区間に有意の差 ( $P < 0.05$ ) は認められなかった。

2.4  $\mu\text{g}$  EB 投与の去勢雌マウスに P を投与した併用の場合、角質化時間は、0 mg P 群では図1に示した 2.4  $\mu\text{g}$  EB 単独投与群の成績に類似し、対照区に比較して高蛋白区ならびに四塩化炭素区でやや短くなる傾向を示したものの有意 ( $P < 0.05$ ) ではなかった。しかし、1 mg P 群および 2 mg P 群の角質化時間は、各区とも 0 mg P 群より有意 ( $P < 0.05$ ) に長く、かつ高蛋白区および四塩化炭素区のそれは対照区より有意 ( $P < 0.05$ ) に長かった。

### 考 察

これまで、マウスに高蛋白飼料を給与した場合に認

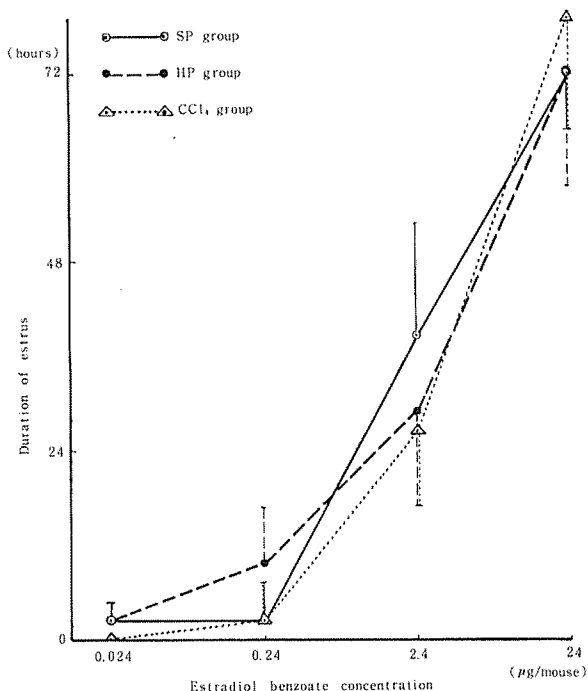


Fig.1 Influence of estradiol benzoate on the estrus period measured by persistency hours of vaginal cornification in 3 groups of experimental mice.

- 1) SP group: fed with standard level of protein.  
HP group: fed with high level of protein.  
CCl<sub>4</sub> group: fed with standard level of protein and injected with CCl<sub>4</sub>.
- 2) Each point and vertical bar represent mean and  $\pm$  SD ( $n = 20$ ).

められた発情期の延長現象は<sup>3-4)</sup>、対照飼料を給与した去勢雌マウスの場合に、EBの投与量に依存して雄許容性が増加し延長した<sup>5)</sup>こと、高蛋白飼料の給与の場合に、肝機能の障害に伴いEB不活性化能が低下した<sup>6)</sup>ことなどから、肝性estrogenの過剰を一因とするその量に起因した現象と考えられた。

本実験の結果、去勢雌マウスにEBを単独投与した場

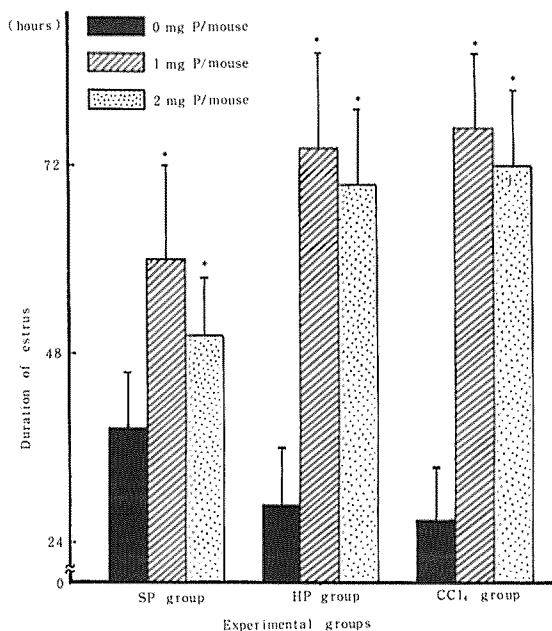


Fig. 2 Influence of progesterone (P) on the estrus period (measured by persistency hours of vaginal cornification) of three group of mice treated with 2.4  $\mu$ g estradiol benzoate.

- 1) Administration of progesterone; 6 hours after injection of 2.4  $\mu$ g estradiol benzoate.
- 2) Each rectangle and bar represent mean and  $\pm$  SD (n=20).
- 3) \* means significantly difference at 5% of probability by t-test comparing with non progesterone treatment in SP group.

合の角質化時間は、各区ともその投与量の増加と共に延長した。このことは、非去勢雌マウスの場合の発情期の延長現象が、内因性の estrogen 量に影響されて発現することを示している。しかし、高蛋白質飼料を給与した去勢雌マウスの場合の角質化時間は、人為的に肝機能を低下させたマウスの場合のそれと同様であったものの、対照飼料を給与した場合の角質化時間とも類似の傾向に

あり、その差は認められなかった。この結果から、高蛋白質飼料を給与した非去勢雌マウスの場合に発現する発情期の延長現象は、単に肝機能の障害に伴う estrogen 不活性化能の低下に由来する肝性 estrogen 量のみ起因した現象とは考えにくい。一方、EB および P の両ホルモン投与の場合、対照飼料を給与した去勢雌マウスの角質化時間は、EB 単独投与の場合より有意 ( $P < 0.05$ ) に延長した。また、高蛋白質飼料の給与ならびに四塩化炭素の場合の角質化時間は、ともに類似の傾向にあり、EB 単独投与の場合より有意 ( $P < 0.05$ ) に延長し、かつ対照飼料の給与マウスのそれより延長した。これらのことは、角質化時間の延長に対し、EB の作用に P が協調的に働いたことを示していると共に、肝機能の低下が相乗的に関与したことを示していると思われる。したがって、非去勢時における高蛋白質飼料の給与によって認められた発情期の延長現象は、肝機能の障害に伴う estrogen の量的増加と共に卵巣由来の progesterone の量的存在に影響されて発現したものと考えられる。

以上のことから、高蛋白質飼料の給与マウスにおける発情期の延長は、単に estrogen の代謝にかかわる肝機能の低下のみならず、estrogen や progesterone の分泌にかかわる卵巣系が影響して発現したものと判断される。

## 要 約

高蛋白質飼料の給与マウスに発現する発情期の延長現象の要因の一端を検討するために、去勢雌マウスを用い、estrogen の単独投与ならびに estrogen および progesterone の両ホルモン投与による発情の持続時間を、対照飼料を給与した場合、高蛋白質飼料を給与した場合ならびに四塩化炭素を投与して人為的に肝機能を低下させた場合で調査し比較した。

その結果、対照飼料の給与、高蛋白質飼料の給与ならびに四塩化炭素の投与の各マウスとも、estrogen 単独投与の場合、その投与量が多くなるにしたがって発情持続時間は延長したものの、これらのマウス間にその差は認められなかった。しかし、estrogen および pro-

gesterone の両ホルモン投与の場合、高蛋白質飼料の給与マウスにおける発情持続時間は、四塩化炭素投与のそれに類似し、かつ対照飼料を給与したマウスの場合より明らかに延長することが認められた。

以上のことから、高蛋白質飼料の給与マウスにおける発情期の延長は、肝機能の低下に起因する estrogen の関与ならびに estrogen および progesterone の分泌にかかわる卵巣系の影響による相乗作用で発現するものと判断される。

### 文 献

- 1) ISHIDA, K. : Tohoku Jour. Agr. Res., 8, 17 (1957)
- 2) LEATHEN, J.H. : J. Anim. Sci., 25, (suppl.), 68 (1966)
- 3) 田上末四郎 : 日畜会報, 51, 561 (1980)
- 4) 田上末四郎 : 茨大農学術報告, 31, 49 (1983)
- 5) 市川和明・田上末四郎 : 茨大農学術報告, 35, 27 (1987)
- 6) 田上末四郎・田村泰彦・阪川千裕 : 日畜会報, 59, 483 (1988)
- 7) 新井康允 : ホルモンと生殖 I ・性と生殖リズム (日本比較内分泌学会編) 初版, p.147 (1978) 学会出版センター
- 8) 市川茂孝 : 家畜繁殖学全書 (望月公子編) 初版, p.56 (1984) 朝倉書店
- 9) 須藤カツ子 : 動物実験手技 I - マウス・ラット - 鈴木潔編) 3 版, p.182 (1984) 講談社
- 10) 鈴木善祐 : 新家畜繁殖講座 I - 基礎編 - (加藤浩・星修三・西川義正編) 13 版, p.116 (1981) 朝倉書店

## Relationship between Estrus Period and Sexual Hormone in Mice fed with High Protein Diet

SUESHIRO TAGAMI and KAZUAKI ICHIKAWA

In order to analyse the cause of the elongation of estrus duration, which was frequently observed in the mice fed with high protein diet, the ovariectomized mice fed with experimental diets were investigated in their estrus period when applied at the various dosage of sexual hormone (estradiol and progesterone).

The spayed mice were divided into such three groups as follows :

- 1) SP group (control), which was fed with standard diet,
- 2) HP group, which was fed with high protein diet, and
- 3) CCl<sub>4</sub> group, whose liver function was depressed with CCl<sub>4</sub>.

Each of those were fed respectively with corresponding kind of diets during 30 days. The mice in CCl<sub>4</sub> group were injected daily with CCl<sub>4</sub> (0.05 ml/mouse/day) during 30 days.

This study was consisted of two experiments :

1) Experiment I : At the end of experimental diet feeding, estradiol (estradiol benzoate (EB)) diluted in the Ringer solution was injected intraperitoneally at such 4 of levels of dose as 0.024, 0.24, 2.4 and 24  $\mu$ g/0.1 ml.

2) Experiment II: The progesterone (P) diluted in the sesame oil was injected 6 hours later after the injection of EB (2.4  $\mu$ g) at such 3 levels of dose as 0, 1 and 2 mg/0.1 ml.

For 7 days after the injection of sexual hormone, all experimental mouse was investigated the duration of vaginal cornification response by the stamp smear method.

The results obtained were as follows :

1) The estrus duration of the spayed mice in HP group was elongated responding proportionally to the dose of EB as well as in SP and CCl<sub>4</sub> groups.

2) In case of treatment of both EB and P, the estrus duration of the mice in HP and CCl<sub>4</sub> groups were clearly longer than that in SP group.

From these results, it seems reasonable to draw the conclusion that the elongation of estrus duration observed in HP group is resulted from the surplus estradiol caused through the depression of liver function and sexual hormone secretion from the ovary.

(Sci. Rep. Fac. Agr. Ibaraki Univ., No.36, 39~43, 1988)