HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	家兎雌性生殖活動と腟脂膏との関係 : 第６報　腟粘液判定による性周期と卵胞数との関係
Author(s)	堤, 義雄; 松本, 久喜
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 3(2), 185-199
Issue Date	1959-06-15
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/11687
Type	bulletin (article)
File Information	3(2)_p185-199.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

家兎雌性生殖活動と腟脂膏との関係

第6報　腟粘液の判定による性周期と卵胞数との関係

堤　　義　　雄*
松　本　久　喜*

Microscopical observations of vaginal smear in relation to reproductive activity in the female rabbit

VI. Correlation within the stages of the sexual cycle by judging from the vaginal mucus and the number of follicles in the ovaries

By

Yoshio TUTUMI** and Kyuki MATUMOTO**

I. 緒　　言

大部分の家畜では卵巣濾胞の排卵は自然発生であつて，それに伴う黄体の発生，消失，新成熟卵胞の出現等の結果発情並びに非発情が起りいわゆる発情周期なる現象が認められている。しかし家兎では普通交尾によつてのみ排卵が誘起され正常状態においては環境さえ良好であるならば常に雄兎と交尾するために，不妊性の排卵を起させ黄体を形成せしめそれらの変化に伴う副性殖器の変化をもつて周期性変化として述べている研究も少くない。

Stockard, C.R., and G.N. Papanicolaou (1917)[1] が腟脂膏法によりテンジクネズミの性周期を発見して以来，この方法は家兎にも応用され芝田 (1932)[2] は詳細な研究の結果家兎にも発情周期が存在しやや不鮮明ではあるが腟脂膏法によつて検知し得ること，腟脂膏中発情期の認知標準として役立つのは有核上皮細胞のみでこの上皮細胞の出現は卵巣濾胞の発育とよく相呼応すること等を述べた。この有核上皮細胞の出現の多寡に性周期的変化のあることはその後，内藤 (1946)[3]，佐伯 (1951)[4]，加藤及び堀川 (1952)[5]，渡部 (1954)[6] 等も認めたところである。

またこの細胞の消長と卵巣内卵胞との関係についても一応の観察が行われ，加藤及び堀川 (1952)[5] も腹窓法により直接卵巣の卵胞を観察し，腟脂膏内有核上皮細胞の消長が卵巣内卵胞の発育と密接な関連を有し，多数の卵胞が発達した時には多数の有核上皮細胞が出現することを述べている。しかしまだこの卵巣内卵胞と家兎の性周期に関する実験的なデーターに乏しく，ほとんど数量的取扱は行われていない。著者等 (1955)[7]，(1956)[8][9] は既に腟前庭内遊離細胞，前庭洗滌生理的食塩水の乾燥像及び腟内粘液の水素イオン濃度について観察を行い，それら各々の性周期的変動を認めると共にそれら3者の間の関係についても考察し，性周期をやや多面的に区分し得ることができたが，更にこの3つの方法によつて知り得られる性周期の各時期において屠殺し，その卵巣を肉眼的に観察し家兎の卵巣の状態とこれら腟粘液の判定による性周期とが密接な関係にあることを確認することができた。

II. 実験動物及び実験方法

供試動物：北海道大学附属農場第一畜産部飼育の成熟白色雌性家兎 11 頭を用い，実験は冬期の悪条件下より解放され体も充分に回復し繁殖機能も旺盛と思われる7月及び8月に行つた。それら各動物の屠殺時生体重及び年齢は第1表に示した通りである。

実験方法：各家兎は下記の方法で1週間から約1カ

* 北海道大学農学部畜産教室
** Zootechnical Institute, Faculty of Agriculture, Hokkaido University

Table 1. Materials

Animal	Age (month)	Body Weight (gram)	Date of Death
No. 64	16	3150	26 th July, 1955
No. 48	15	3300	25 th July, 1955
No. 49	15	3500	24 th July, 1955
No. 51	15	3350	23 th July, 1955
No. 52	15	3200	27 th July, 1955
No. 53	16	3000	28 th July, 1955
No. 64	17	3350	13 th August, 1957
No. 65	17	3700	6 th August, 1957
No. 66	22	3390	7 th August, 1957
No. 67	29	2840	20 th August, 1957
No. 70	29	2740	23 th August, 1957

月間連日朝夕の2回腟内の状態を検査して後各時期に頸動脈より放血殺処分して直ちに開復左右両卵巣を肉眼的に検査し卵胞数を数えた。屠殺日は第1表に示した。

（1） 腟前庭内遊離細胞

硝子製のスポイトに生理的食塩水約 0.1 cc を吸引，これを前庭内約 2 cm の深さの部位に注入し陰霄部に溢出したものを採取してスライド上に滴下し，乾燥後メタノール固定，ギムザ染色を施し上皮細胞の多寡を検鏡した。

（2） 腟前庭洗滌液の乾燥像

前述のようにして採取した洗滌液をスライド上に滴下後直ちに吸引して硝子面に薄く採取液を附着せしめ，約 30°C の乾燥器中で乾燥し，10 % 硝酸銀水溶液で固定，ギムザ染色後形成された乾燥像を検鏡した。

（3） 腟内水素イオン濃度

前庭洗滌液採取後，細長い硝子管を外陰部より腟内へ約 7 cm の深さに挿入し，このなかを尖端に東洋濾紙製 pH 試験紙をつけた棒を通して直接腟腔内粘液を附着せしめ取出して直ちに比色その pH 価を測定した。

III. 観察結果

屠殺前における上記3要素の性周期変化の記録の一部は第1図に示したが，各要素の変化に対する観察基準は次の通りである。

（1） 上皮細胞の出現状態

(卅)——細胞数著しく多く標本全面に亘つて細胞が密集して出現しているもの。

(廿)——細胞は全面にやや密に散在し，所々に細胞塊が見られるもの。

(+)——細胞が全面にやや粗に散在しているもの。

(−)——細胞がほとんどないか，あるいは稀に見られるもの。

（2） 乾燥像の区別

羊歯葉状の像，菊花状の像及び天草状の像を示すものを F-型とし，これらと異つた田圃状の区劃をもつた平面的な像を示すものを I-型として表わした。

（3） 腟粘液の pH 価

pH 価は実測値をそのまま表わした。

既に著者等 (1956)[9] はこれら3要素の関係について長期間に亘る観察の結果第2図のような定型的模型図を与えたが，第1図における各個体の屠殺時期をこの定型的模型図に記入したのが第2図である。これによつて周期的変化の一連の順序が得られ屠殺時の時期的関係が明かとなる。

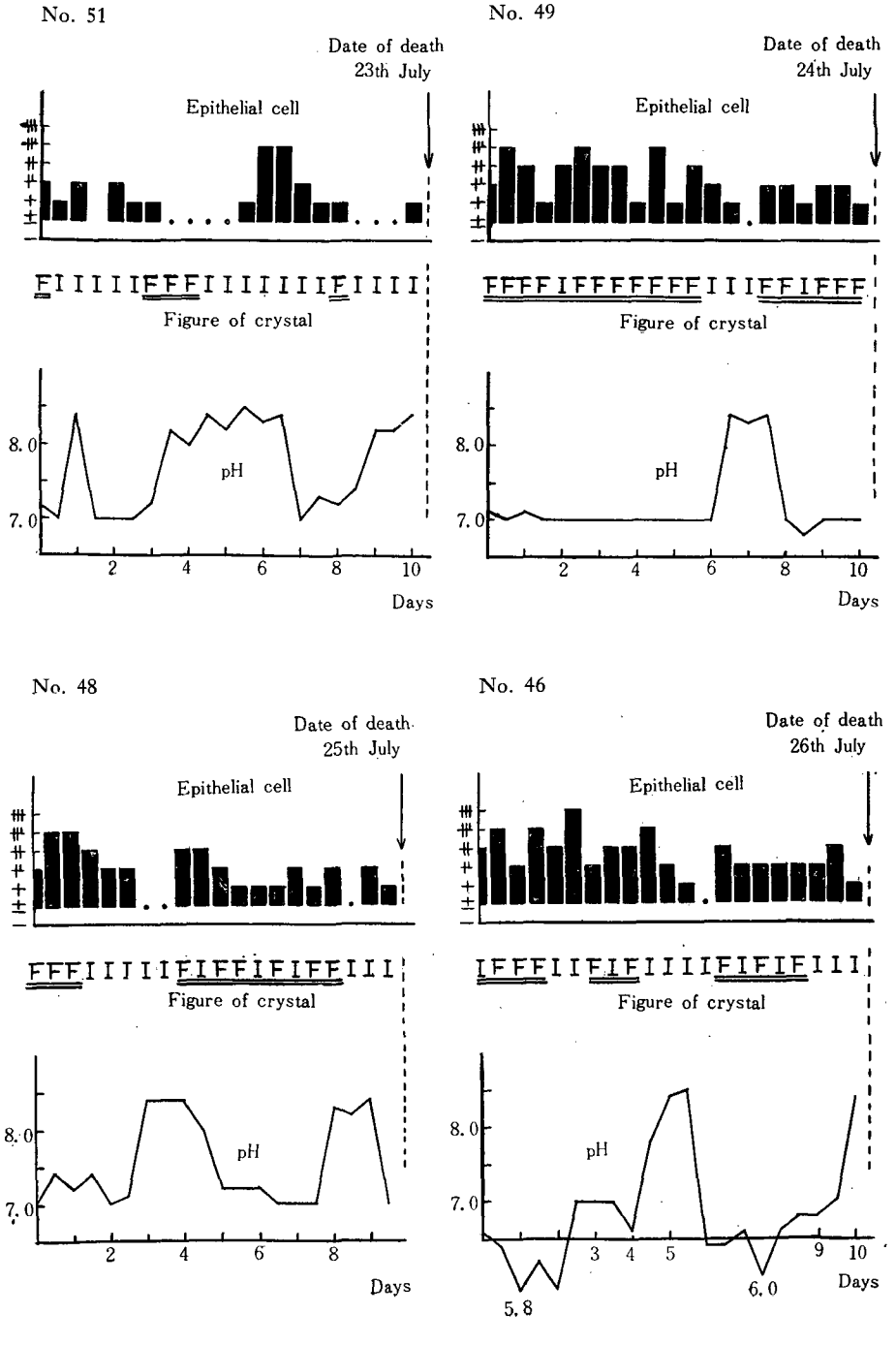
卵巣の観察は肉眼的に行い，卵胞の大きさは外観より認められる直径の長さにより大略 3〜2.5 mm 位のもの（大型卵胞），2 mm 前後のもの（中型卵胞）及び 1.5〜1 mm 位のもの（小型卵胞）の3つに大別してその数を数えた。ほとんどの卵巣においては 1 mm 大以下の卵胞は基質との区別は明瞭を欠き，かつ非常に多数であるため肉眼的に数えることは不可能であつた。また大型卵胞は最大直径約 3 mm 位にまで発育したものが稀に認められ，それ以上の大きさのものは見られなかつた。屠殺時における各家兎の卵巣内卵胞数は第2表に示した通りである。

小型卵胞は各卵巣に常に見られ，表面は平坦で肉眼的にやや半透明の小斑点として認められ大きさは不明瞭で表中の数値は唯概略を示したものである。これに反して中型及び大型卵胞は表面に突隆を示すものあるいは平坦なものもあるが肉眼的にその存在及び輪廓は比較的明らかである。

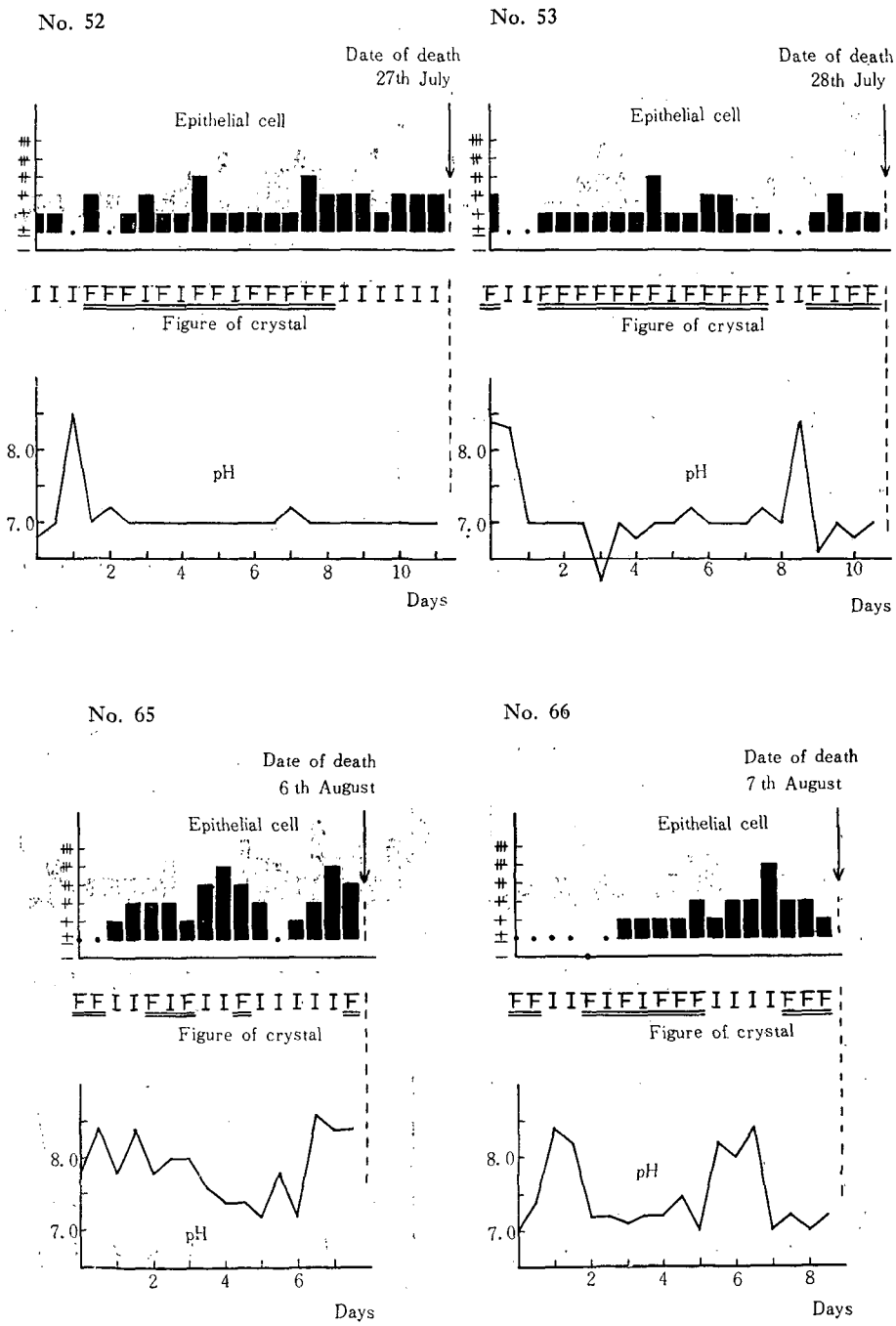
次に第2図で得られた周期的変化の一連の順序に従つて各個体を配列し，各卵巣の卵胞の状態を前述の3つに大別して表わすと第3図の通りとなる。

Fig. 1. Cyclic changes of the three elements in each rabbit before slaughter

(I)

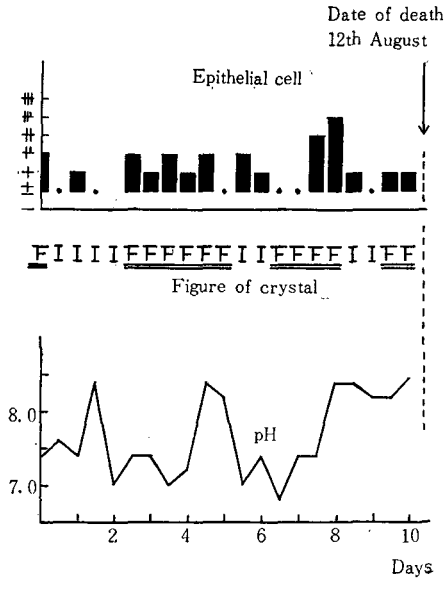


(II)

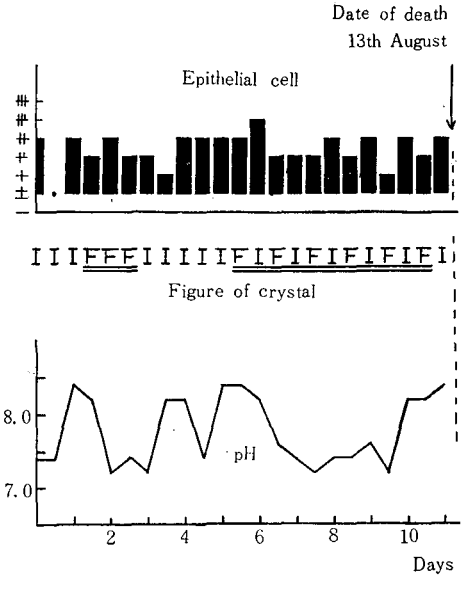

No. 52
Date of death
27th July
Epithelial cell
Figure of crystal
pH
8.0
7.0
2
4
6
8
10
Days
No. 53
Date of death
28th July
Epithelial cell
Figure of crystal
pH
8.0
7.0
2
4
6
8
10
Days
No. 65
Date of death
6 th August
Epithelial cell
Figure of crystal
pH
8.0
7.0
2
4
6
Days
No. 66
Date of death
7 th August
Epithelial cell
Figure of crystal
pH
8.0
7.0
2
4
6
8
Days

(III)

No. 70



No. 64



No. 67

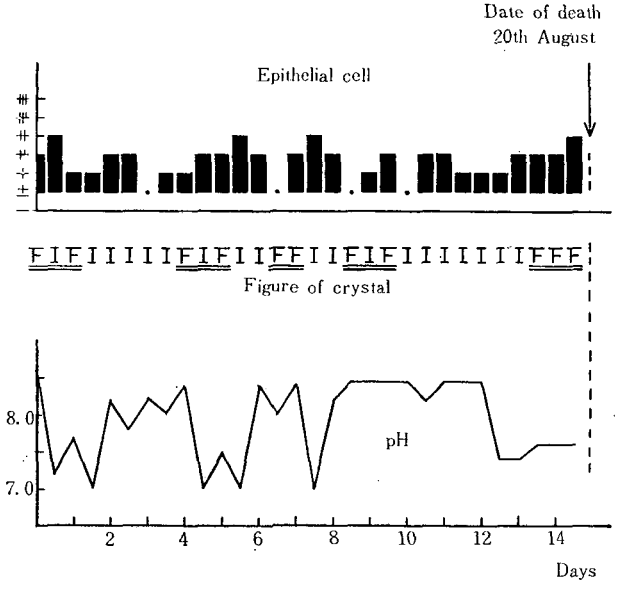


Fig. 2. Positions in the cycle in each rabbit before slaughter

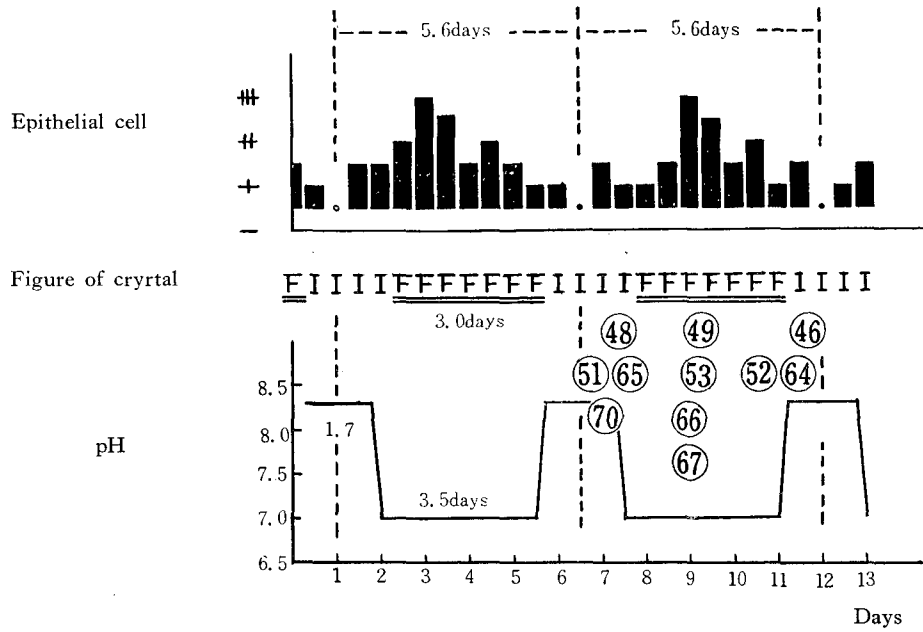
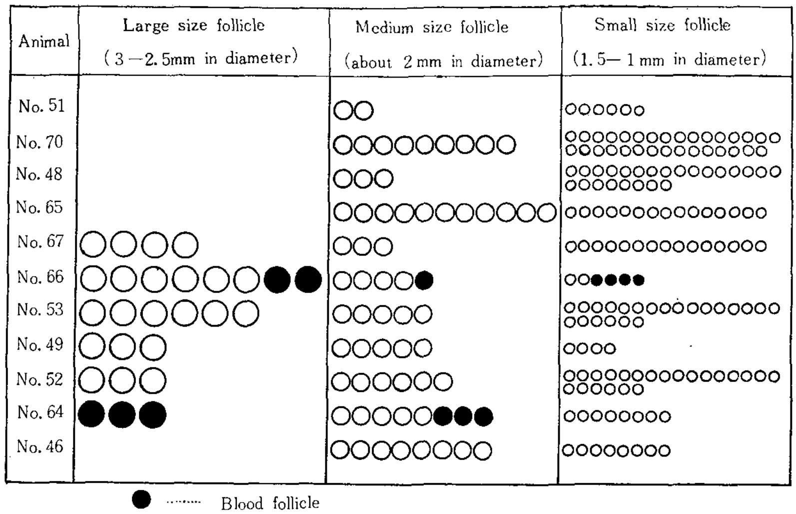


Table 2. Number of follicles in each rabbit

Animal	Right Ovary			Left Ovary		
	Large size follicle	Medium size follicle	Small size follicle	Large size follicle	Medium size follicle	Small size follicle
No. 46	—	2	2	—	6	6
No. 48	—	1	11	—	2	13
No. 49	2	3	—	1	2	4
No. 51	—	2	2	—	—	4
No. 52	3	4	12	—	2	10
No. 53	3	3	13	3	2	9
No. 64	2 (all Blood)	6 (2 Blood)	4	1 (Blood)	2 (1 Blood)	4
No. 65	—	9	3	—	2	12
No. 66	6 (2 Blood)	3	4 (all Blood)	2	2 (1 Blood)	2
No. 67	1	1	10	3	2	5
No. 70	—	1	22	—	8	9
Total	17	35	83	10	30	78
Average	1.5	3.2	7.4	0.9	2.7	7.1

Large size follicle·····Its diameter is about 3～2.5 mm.
Medium size follice·····Its diameter is about 2 mm.
Small size follicle ·····Its diameter is about 1.5～1 mm.
(Blood) ·····Number of blood follicles.

Fig. 3. Arrangement of the rabbits according to their positions in the sexual cycle and the number of follicles in their ovaries



IV. 考　　察

［1］ 卵巣内卵胞の大きさについて

Walton, A., and J. Hammond (1929)[10] は開腹によつて卵巣を観察し，卵胞の成熟度合を正確に把握することは不可能であるが多数の卵胞を注意深く比較すれば一定の変化が見出されると述べ，更に交尾後の卵胞の大きさの変化を図示しているが，Parkes, A.S. (1931)[11] によると成熟卵胞の大きさとしてその直径 1.8 mm をあげている。矢島 (1939)[12] の腹窓法による観察によれば卵巣には小なるは微細顆粒状より大なるは直径 0.2～0.25 cm 大に達する卵胞が認められるとしている。また，原 (1941)[13] も同様な方法によつて成熟家兎の卵巣には直径 0.5 mm 以下の幼若卵胞が多数にみられるが，その中のあるものは可なり急速に発育し 2～3 日後には直径約 1～1.5 mm となり更に増大して直径約 2～2.5 mm となり，その後変性退化して消失することを述べ，山本 (1941)[14] も同様なことを述べている。内藤 (1946)[3] は組織的検査から成熟卵胞は概ね 1.5 mm 以上とし，佐伯 (1951)[4] 及び加藤・堀川 (1952)[5] も腹窓法により卵巣には 0.2 cm の大卵胞が出現することを記載している。

以上の報告からも家兎成熟卵胞は最大直径約 2.5 mm 位まで発育することが知られ，著者等の観察においても大型卵胞として区別したものは直径約 2.5 mm 以上のものであり稀に 3 mm 大にまで発育したものが認められた。また中型卵胞として直径約 2 mm 大のものを区別したが，Smelser, G.K., A. Walton, and E.O. Whethan (1934)[15] が充分に発育した卵胞と中等度の大きさの卵胞とは容易に区別し得ないといつているように，大型卵胞と中型卵胞とはその成熟度については肉眼的にはつきり区別されるわけでないので，唯その大きさによつて区別した。一般にはこの両者の卵胞は矢張り成熟卵胞として認められるものであろうと考えられる。

［2］ 卵巣内の卵胞数について

家兎卵巣内には小型卵胞から大型卵胞えの発達の各段階にある多数の卵胞がみられるが，交尾により排卵する能力を有するものが成熟卵胞であると考えられる。Hammond, J. (1921)[16] は兎の繁殖力に対する馴化の影響として排卵数の増加がみられるとした。即ち野兎では平均 5.7 個であるが馴化した兎ではほとんどその倍の 10.3 個で 1 月から 4 月に至るまでの気温の上昇と共に漸増する。Hammod, J., and F. H. A. Marshall (1925)[17] は左右卵巣の成熟卵胞としての大型卵胞数は平均 5.6 個及び 4.7 個 (計 10.3 個) であるとし，Gregory, P. W. (1932)[18] は家兎でも Polyovular Follicle が形成されることがあるが非常に稀であるとし卵巣の繁殖能力として交尾後の排卵数あるいは新生された黄体数を数えた。即ち各品種及びそれらの雑種を用い品種別による平均体重と排卵平均数（及び一腹の産仔平均数）とは密接な関係があり体重

の増加と共にその数も増加することを認めた。彼の成績によれば平均体重 3505 gr., 3325 gr., 及び 3616gr., のものの排卵数はそれぞれ 8.0, 9.87, 9.17 個であつた。また Smelser, G. K., A. Walton, and E. O. Whethan (1934)[15] は日光の照射の条件により卵巣機能に変化を生ずるや否やを検査するため色々に条件を変化して光を照射あるいは遮光した所に置いた後交尾せしめその破裂卵胞数を求めた結果光処理をした方が暗黒に置いたよりも僅かに排卵数が多いこと，しかしこの差は極めて少く計算上少数の排卵しなかつたものを除けば両者間に有意の差がなくなることを知つた。彼等の観察では排卵しなかつた個体を除いた時の種々の状態における排卵数は 8.94, 7.47, 9.10, 8.15 個であつた。内藤 (1946)[3] によれば平均体重 2918 gr. の家兎の成熟卵胞数として左卵巣 4.7 個，右卵巣は 5.2 個（計 9.9 個）をあげている。

著者等の屠殺家兎の平均体重は 3229 gr. でそれらの卵巣内卵胞中直径約 2 mm 大以上の中型卵胞及び大型卵胞数は平均 8.4 個（σ=3.4 個）であり上述した諸家の報告による数値にやや近い価を得た。従つて前項目において考察した卵胞の大きさと共にこれら直径約 2 mm 以上の大きさの卵胞は交尾に際して恐らく排卵し得るものでないかと思考される。

次に左右卵巣別の卵胞数についてみるに，Hammond, J., and F.H.A. Marshall (1925)[17] 及び Gregory, P.W. (1932)[18] は共に左右卵巣がほとんど等しい生殖能力を有することを述べているが著者等の観察における直径 2 mm 大以上の卵胞数及び大型卵胞数のみの比較では第 3 表のように共に差は認められなかつた。

Table 3. *Comparison with the number of follicles in the right and left ovaries*

	Right ovary	Left ovary	Difference	t	p
Large and medium size follicle	4.7	3.6	1.1	0.93	>0.3
Large size follicle	1.5	0.9	0.6	0.89	>0.3

［3］ 卵胞数と乾燥像との関係

各個体の屠殺直前に調べた洗滌液の乾燥像と卵胞数との関係を求めると第 4 表のようになる。

Table 4. Relation between the crystal figures and the number of follicles

Animal	Figure of Crystal					
	I-type			F-type		
	Large size follicle	Medium size follicle	Total	Large size follicle	Medium size follicle	Total
No. 51	—	2	2			
No. 70				—	9	9
No. 48	—	3	3			
No. 65				—	11	11
No. 67				4	3	7
No. 66				8	5	13
No. 53				6	5	11
No. 49				3	5	8
No. 52	3	6	9			
No. 64	3	8	11			
No. 46	—	8	8			
Total	6	27	33	21	38	59
Average	1.2	5.4	6.6	3.5	6.3	9.8

	I-type	F-type	Difference	t	p
Large and medium size follicle	6.6	9.8	3.2	1.72	>0.1
Large size follicle	1.2	3.5	2.3	1.44	>0.1

既に述べたように大型及び中型卵胞は排卵機能を有しているように考えられる。性殖洞内の周期性変化の出現にはこれら卵胞の影響は大と思考され，また小型卵胞はいつでも卵巣内に認められるので大型及び中型の卵胞についてのみの数値を取扱つた。その結果統計的には I-型及び F-型の区別による卵胞数には有意の差が認められなかつた。しかし大型及び中型卵胞数の平均では I-型の場合は 6.6 個，F-型の場合は 9.8 個で F-型の出現した場合が平均 3.2 個多く，また大型卵胞数のみの比較でも I-型 1.2 個，F-型 3.5 個で F-型の出現した場合が平均 2.3 個多い。この観察では例数の少いために有意差は得られなかつたがもつと例数を多くすれば有意差が得られることが考えられる。しかしこの少数例からも F-型グループの場合の方が I-型グループの場合より成熟卵胞数がやや多いこと，換言すれば卵巣機能がやや発達している傾向のあることが知られる。著者等は前報告において，F-型の乾燥像は腟脂膏内上皮細胞の非現期間隔の中間に多く見出されることを述べたが，卵胞との関係においても同様な傾向にあることがいえる。

［4］ 卵胞数と腟内 pH との関係

前報告において腟内水素イオン濃度は pH 7.0 を中心とした中性の群と pH 8.3 を中心としたアルカリの群との 2 群に分けられ，連続的観察においてこの 2 群が交互に出現することを報告した。屠殺直前における腟内 pH をアルカリ側及び中性側に分け卵胞数との関係を求めると第 5 表の通りである。

表より知られるように直径約 2 mm 大以上の卵胞数の比較ではアルカリの群と中性の群との間には全く差が見出されなかつたが，大型卵胞のみの比較では有意の差が認められ大型卵胞は腟内粘液の中性を示した時に多いことが明かである。Smelser, G. K., A. Walton, and E.O. Whethan (1934)[15] は発情家兎の卵胞について，成熟卵胞は長期に亘つて存命するのでなくその生命はむしろ短く，卵巣には常に卵胞の群が出現し，消失しており，それらの系列が重なり合うためにいつでも同数の成熟卵胞が卵巣表面に表われておりそのため発情が持続するのであると述べている。著者等の観察でも前項目の乾燥像による性周期の区分及び腟内 pH のアルカリ及び中性グループによる性周期の区分においても共に成熟卵胞と思われる直径約 2 mm 以上の大きさの卵胞数には明らかな差異は認められず，このことは多くの研究者が卵巣内卵胞の観察において周期性変化を求め得なかつた所以であろうと想

Table 5. Relation between pH value of vaginal mucus and the number of follicles

Animal	Alkali group			Neutral group		
	Large size follicle	Medium size follicle	Total	Large size follicle	Medium size follicle	Total
No. 51	—	2	2			
No. 70	—	9	9			
No. 48				—	3	3
No. 65	—	11	11			
No. 67				4	3	7
No. 66				8	5	13
No. 53				6	5	11
No. 49				3	5	8
No. 52				3	6	9
No. 64	3	8	11			
No. 46	—	8	8			
Total	3	38	41	24	27	51
Average	0.6	7.6	8.2	4.0	4.5	8.5

	Alkali group	Neutral group	Difference	t	p
Large and medium size follicle	8.2	8.5	0.3	0.13	>0.8
Large size follicle	0.6	4.0	3.4	2.50	>0.05

像される。しかしここで重要なことは卵胞の排卵能力ばかりでなく更にその極限にまで発育充実したと思われる直径約 2.5～3 mm 大の卵胞の存在で，この大型卵胞が中性グループに多く出現していることである。従つて従来述べられて来た腟脂膏内細胞の周期性変化，著者等の乾燥像並びに腟内 pH の周期性変化が一般にいわれているように卵巣機能の周期変化に起源を有しているとするならば形態的にはこの大型卵胞の出現に原因すると考えざるを得ない。

［5］ 出血卵胞について

Asami, G. (1920)[19] は卵巣内卵胞は種々の大きさ，種々の時期に閉鎖することを認めているが，このことは多くの研究者によつても認められていることである。Heape, W. (1905)[20] は発情時に交尾が行なわれなければその時に存在した成熟卵胞は破裂せずにその周囲の充血した血管が破れ血液が卵胞中に流入しいわゆる出血卵胞を形成することを述べたが，Hammond, J., and F.H.A. Marshall (1925)[17] は閉鎖卵胞には吸収型と出血型の 2 型がみられ，出血型は卵胞退化の過程としては特殊な場合に属し大部分は非出血性の吸収型閉鎖卵胞を示すといい，このことは Hill, M., and W. E. White (1934)[21]，原 (1941)[13] 等も認めているところである。

この出血卵胞の形成機転はいまだ不明のままのようであるが，卵胞退行に起るこのような出血は恐らく極めて軽微な刺戟あるいはその時の状態によつて機能的に稀に起るものと想像されるので，本観察において認めた出血卵胞を上記卵胞数中に算入し，種々の関係を求めた。従つてこの出血卵胞を正常卵胞数より除いたならば前述した結果はあるいは一層明瞭になつたかもしれない。

［6］ 性周期と卵巣内卵胞との関係

自然排卵のない家兎に性周期があるとしても他の大部分の哺乳動物に比較して不明瞭かつ不規則的であろうことは当然考えられることであり，芝田 (1932)[2] も家兎卵巣に濾胞群の各列が順次発達する以上は濾胞の成熟した時期が発情期であつて，それらの変性退行した時期が非発情である。即ち如何に発情の徴候が不鮮明であろうとも発情周期は依然存在すべき筈であると述べている。Hill, M., and W. E. White (1934)[21] は開腹して卵巣をスケッチして交尾しない家兎では成熟卵胞の生産と退行が絶えず行われており成熟卵胞は長く持続して存するわけでなくその状態を保つのは 7～10 日間位であるとし，Smelser, G.K., A. Walton, and E. O. Whethan (1934)[15] も成熟卵胞の生命は短く卵胞群が出現し消失してそのため卵胞発育の各系列が重なり合い発情が持続すると述べた。矢島(1939)[12] は腹窓法によつて卵巣には 2～3 個乃至数個の卵胞がほぼ時を同じうして相継いで肥大しあるいは萎縮し，一定期間特殊なる卵胞形成期あるいは成熟期を形成するとは認め難しと雖も，唯その間に顕著なる肥大卵胞を多数認むる場合と然らざる場合とがあることが長期の観察によつて区別し得ると報告した。原 (1941)[14] 及び山本 (1941)[14] も同様な事実を観察し，佐伯 (1951)[4] も肥大卵胞の一群の退行に引続いて小卵胞が逐次肥大することを認めた。

以上の諸観察より知られるように，家兎卵巣には常に数個の卵胞の発育及び退行が行われているため常に発情状態にあると主張するものと卵胞群の発育に波があるとする 2 つの観察が行われている。しかし腟内の性状に周期的変動が認められている以上卵巣の状態にも周期的変化があつて然るべきと考える。従つて卵胞群としての発育退行を観察するに当つて漠然とした観察に留まらず，より明確な数的取扱によつてその状態をはつきりさせる必要がある。本観察においてほとんどの時期においても卵胞数の多寡による変動が比較的少いことを知つた。このことは多数の観察者が卵巣内卵胞の変動に周期的変化を認め得なかつたことに対する主要な原因であつたと想像される。しかし加藤及び堀川 (1952)[5] は腹窓法により卵胞の消長を観察し，腟脂膏中に有核上皮細胞が多発する時期は発情時特有の外部徴候を現わし，卵巣には大卵胞が存し，この細胞の減少につれて卵胞も退化してゆくことを述べている。また Hamilton, C.E. (1951)[22] は血中エストロゲン含量に腟脂膏の変化に伴つた変化がみられることを報告しており，矢張り卵巣内卵胞の総合機能に周期的変化が起つていることは確実といわざるを得ない。著者等は卵胞の肉眼的観察により卵胞の最大直径は約 3 mm 位にまで達するもののあることを認めた。また多くの研究者の観察からも，卵胞は直径約 2.5 mm 位まで発育することが知られている。本観察では一般に成熟卵胞と認められる直径約 2 mm 大の卵胞と完熟の域に達し以後退化に移りかける段階にあると思われる直径 2.5～3 mm 大の大型卵胞とに区別して卵胞数を数えた。その結果，この大型卵胞は腟粘液の pH の中性グループに属している時期に多く見出されていることを知つた。この腟粘液の中性側の場合においては粘液量多く，乾燥像では F-型のものが多く見出され，

上皮細胞非出現期間隔の中間に相当することは既に報告した通りであるが，第2図と第3図との比較によつて明かであるように，図の上皮細胞非出現期間隔による周期の中間に存在している No. 67, No. 66, No. 53, No. 49 及び No. 52 の5頭には明かにこの大型卵胞が発育している。

No. 64 は大型の出血卵胞がみられ，このものは既に正常卵胞としての機能は消失したものと考えられ，この個体のみは Alkali 側に認められ，当然除外して考えることが出来る。

腟脂膏の観察によつて家兎性周期が6日前後であることが芝田 (1932)[2] により報告されて以来，その後の研究者によつてもそれにやや近い価が得られ，著者等の観察でも平均日数 5.6 日を得た。Hill, M., and W.E. White (1934)[21] は成熟卵胞の生命は比較的短く 7～10 日間持続するとし，Smelser, G.K., A. Walton, and E.O. Whethan (1934)[15] は成熟卵胞は 3～6 日間のうちに消滅するといい，矢島 (1939)[11] は 2～6 日間，原 (1941)[13] 及び山本 (1941)[14] は 1～2 週間同様の状態を維持して後退化するといつている。卵胞の持続期間は観察者によりやや区々であるが，Asami, G. (1920)[19] の述べたように卵胞は種々の時期に閉鎖退行をはじめるために卵胞の生存期間自体が区々であることによると考えられるが，概略的に一週間前後の平均日数を有するものと推定される。従つて腟脂膏による周期とやや同一の期間を有して卵巣内卵胞の更新が行われていると思考される。

退化卵胞は萎縮し遂には消滅することが観察されており，それらの経過についても多くの研究者が報告しているが，著者等の肉眼的な観察では各卵胞の発育状況更に退化程度等は詳細に見極めることは全く困難であつたので，僅かに大型及び中型卵胞別の数的な取扱に留つたが，しかしこの観察によつて大型卵胞の発育が重要な役割を果し，卵巣にも腟内の周期的変動と全く一致した卵胞群発育の波があることが知られる。以上の観察及び考察結果より家兎性周期を漠然とではあるが次のように区分することが出来る。

（1） 卵胞成熟期：繁殖可能な正常家兎では常に成熟卵胞が存在する。卵胞はある程度の大きさに発育すれば既に排卵可能と考えられるが，これら卵胞は更に直径約 2.5～3 mm 大にまでも肥大するので，まだこのような大型卵胞までに発達しない時期の卵胞群が存在している時期（即ち各卵胞中の少数のものはまだ成熟し続けていると考えられる）を卵胞成熟期としたい。この時期は腟脂膏内上皮細胞の非出現期から始まり，乾燥塗では I-型グループの出現から F-型グループへの移行の頃，腟内 pH のアルカリ側から中性側への移行の頃の漠然とした期間に相当する。

（2） 卵胞完熟期：直径約 2.5～3 mm 大の大型卵胞の存在する期間である。卵胞はこれ以上の大きさには発達せず以後退化し消滅するので，恐らく卵胞の最高機能を有する時期と思考され，上皮細胞非出現期間隔の中間期，F-型乾燥像の多発時及び腟内 pH の中性側の時である。

（3） 卵胞退化期：前時期を過ぎた卵胞は退行する。卵胞機能も減弱されているものと考えられ，前時期に引続き次の上皮細胞非出現期までの期間を退行期としたい。即ち乾燥像は F-型グループより I-型グループに移行し，腟内の pH は中性側よりアルカリ側に移行する。

V. 結　　論

正常家兎の膣前庭腟内遊離上皮細胞，腟前庭洗滌液の乾燥像及び腟内の pH 価の周期性変動を求めて各時期に屠殺し，卵巣内卵胞を肉眼的に観察して次のような結論を得た。

（1） 卵巣内卵胞の大きさは直径約 2.5～3 mm 大位まで発育するものがある。本観察においてはこのようなものを大型卵胞とし，直径約 2 mm 大の卵胞を中型卵胞としてその数を数えた。なおそれ以下の小型卵胞は常に多数認められ，かつ輪廓も不明瞭なものが多いので観察対象から除いた。

（2） 卵巣には成熟卵胞と考えられる直径約 2 mm 以上の卵胞（中型及び大型卵胞）は常に存在し，その平均数は 8.4 個であつた。また左右卵巣別による比較では卵胞数に差はなかつた。

（3） 直径約 2 mm 大以上の卵胞は腟内の周期性変動による各区分において，その数はやや一定し，直径 2.5～3 mm 大の大卵胞のみの観察では明かに腟内 pH 価のアルカリ側では少く，中性側では多いことが認められた。

（4） 従つてこの大型卵胞の発育は腟内の周期性変動と密接な関係を有し，腟脂膏内上皮細胞の非出現期による間隔の中間期，乾燥像では F-型のグループ，腟内粘液の pH では中性グループの時期に大型卵胞が発育している。従つてこの時期を卵胞完熟期，その前期を卵胞成熟期，後期を卵胞退行期と呼ぶことが出来る。

文　献

1) Stockard, C.R., and G.N. Papanicolaou: The existence of a typical cycle in the guinea-pig—with a study of its histological and physiological changes. Amer. J. Anat. Vol. 22, (1917)

2) 芝田：家兎の発情周期及び排卵，日畜会報 5巻2号 (1932)

3) 内藤：硫酸銅の家兎排卵生起作用の本態に関する研究，(1) 脳下垂体前葉の細胞組織学的研究，日畜会報 17巻 1, 2号 14頁 (1946)

4) 佐伯：哺乳類及び鳥類の生殖腺機能に及ぼす要因に関する研究，II 家兎の交尾欲及び腟垢よりみたる発情間隔並に生殖器の組織学的観察，農技研報告 (G) 畜産 第1号 (1951)

5) 加藤・堀川：家兎の排卵機構と発情に関する研究，日本獣医畜産大学紀要 第1号 (1952)

6) 渡部：家兎腟脂膏細胞の発情に対する意義，日本産科婦人科学会雑誌 6巻2号，臨時増刊 236頁 (1954)

7) 堤・松本：家兎腟前庭洗滌生理的食塩水の乾燥結晶形に関する観察 第2報 生殖活動に伴う変化について，北海道大学農学部邦文紀要 2巻3号 128-136頁 (1955)

8) 堤・松本：家兎腟前庭洗滌生理的食塩水の乾燥結晶形に関する観察 第3報 乾燥結晶形の分類について，北海道大学農学部邦文紀要 2巻4号 178-180頁 (1956)

9) 堤・松本：家兎雌性生殖活動と腟脂膏との関係 第3報 正常家兎腟内水素イオン濃度について，北海道大学農学部邦文紀要 2巻4号 181-194頁 (1956)

10) Walton, A., and J. Hammond: Observation on ovulation in the rabbit. British Journ. of Exp. Biol., Vol. 6, No. 2, pp. 190-204, (1929)

11) Parkes, A. S.: The reproductive processes of certain mammals. II. The size of the Graafian Follicle at ovulation. Proc. Roy. Soc. London, S. B, Vol. 109, No. B 761, pp. 185-196 (1931)

12) 矢島：腹窓法による子宮運動の研究 (第2報) 成熟前期並に成熟家兎の卵巣殊に卵胞の消長と子宮運動との関係，朝鮮医学会雑誌 29巻9号 1709-1755頁 (1939)

13) 原：腹窓法による家兎性器の研究 第1編 家兎における排卵の状況並びにその前後の卵巣所見，日本生理学雑誌 6巻 599頁 (1941)

14) 山本：妊婦尿注射時の家兎卵巣の観察，日本生理学雑誌 6巻 621頁 (1941)

15) Smelser, G.K., A. Walton, and E. O. Whethan: The effect of light on ovarian activity in the rabbit. Journ. of Exp. Biol., Vol. 11, No. 4, pp. 352-363, (1934)

16) Hammond, J.: Further observations on the facts controlling fertility and foetal atrophy. Journ. of Agric. Sci., XI, Part IV, pp. 337-366, (1921)

17) Hammond, J., and F.H.A. Marshall: Reproduction in the rabbit. Oliver & Boyd, Edinburgh, (1925)

18) Gregory, P. W.: The potential and actual fecundity of some breeds of rabbit. Journ. of Exp. Zoöl., Vol. 62, No. 2, pp. 271-285, (1932)

19) Asami, G.: Observations on the follicular atresia in the rabbit ovary. Anat. Rec., Vol. 18, No. 4, pp. 322-343, (1920)

20) Heape, W.: Ovulation and degeneration of ova in the rabbit. Proc. Roy. Soc. London B. Vol. 76, p. 260, (1905)

21) Hill, M., and W. E. White: The growth and regression of follicles in the oestrous rabbit. Journ. Physiol., Vol. 80, p. 174, (1934)

22) Hamilton, C. E.: Evidence of cyclic reproductive phenomena in the rabbit. Anat. Rec., Vol. 110, No. 4, (1951)

Résumé

Stockard and Papanicolaou (1917) demonstrated by the vaginal smear method that the guinea-pig has a definite sexual cycle. This method was applied to study the sexual cycle in rabbit by Wood (1925), Shibata (1932), Honda (1938), Naito (1946), Saeki (1951), Hamilton (1951), Kato and Horikawa (1952), Watanabe (1954), etc. Shibata (1932) demonstrated that the oestrous cycle exists in the rabbit and it can be observed by the vaginal smear, using the nucleated epithelial cells as a criterion for the heat stage. In the writer's previous papers the morphology of crystals found in the

vaginal rinse with normal saline and the fluctuation of pH value in the vagina were reported with special regard to the feature of epithelial cells in the vaginal smear during the sexual cycle. From these observations the typical changes of the above three elements according to the sexual cycle may be expressed as in Figure 2. In this figure, the sexual cycle was recognized by the discrimination of appearance and absence of the epithelial cells in the vaginal smear, by the judging by means of the crystal figures with the vaginal rinse whether I-type or F-type and by the determination of pH value in the vagina whether alkali or neutral.

The present paper deals with observation on the number of follicles in the ovaries according to the vaginal cycle. Eleven mature females were used in this study; their body weights and ages were tabulated in Table 1. Their sexual cycles were observed by means of the next described method. They were slaughtered in each stage of the cycles at the dates shown in Table 1.

The rinsing fluid obtained from the lumen of vestibulum vaginae was dropped on two slide glasses. One of them was left untreated while in another slide the fluid was removed with a pipette in order to make a thin film of solution on the glass. Then the two were dried, fixed with methanol and 10 % silver nitrate solution respectively, and stained with Giemsa's solution. The former was used for the observation of the epithelial cells and the latter for the crystal figures. The pH value of vaginal fluid was determined using the pH test paper by the following method. A narrow glass tube was inserted into the vaginal orifice through the vestibule a distance of 7 cm and a slender spatula holding on its top a piece of the test paper was taken along by this tube.

The cyclic changes of the above three elements in each rabbit before slaughter are shown in Figure 1. The criteria of the fluctuations in the threee elements are as follows:

1) Appearance of the epithelial cells in the vaginal rinse.

(卌): Large number of epithelial cells appear forming a mass on the specimen.

(卄): Epithelial cells scatter densely and small masses of the cells are seen sporadically.

(+): Epithelial cells scatter sparsely.

(−): Few epithelial cells are recognized.

2) Discrimination of the crystal figures.

The Fern-, Chrysanthemum- and Gelidium amansii-like types are represented as F-type and the Polygonal type as I-type.

3) The pH value is traced continuously.

By these methods the vaginal cycle was clear and the stage of the cycle in each rabbit examined in this study was determined. The positions in the cycle in each rabbit before slaughter are shown in Figure 2. Then the materials were arranged as in Figure 3 according to their positions in the sexual cycle.

Macroscopical observations of the ovarian follicles in each slaughtered rabbit after the examination by the three above methods were performed by laparotomy. The follicles were classified in four groups by their sizes, large size follicles (3-2.5 mm in diameter), medium size (about 2 mm in diameter), small size (1.5 -1 mm in diameter), and the follicles those with diameter less than 1 mm.

The numbers of large and medium size follicles are treated in relation to the vaginal sexual cycle in this study because many follicles of diameter less than 1.5 mm always existed in each ovary and their shapes and sizes were obscure macroscopically. The number of follicles in each rabbit is shown in Table 2. Figure 3 shows the correlation between the numbers of follicles in each rabbit and the arrangement of the rabbits according to the vaginal cycle.

Many investigators observed the ovarian follicles macroscopically and stated that the follicles grow up to about 2.5 mm in diameter. But a few follicles show about 3 mm diameter as the largest size. Gregory (1932) studied the potential fecundity (based on number of ruptured follicles) and actual fecundity (based on litter size) in the many races of rabbit. He recognized a close correlation between racial body size and the numbers of young produced per litter. As body size increases, litter size also increases at nearly the same rate. The number of ruptured follicles in adult females that showed 3505 grams, 3325 grams, and 3616 grams body weight were 8.0, 9.87, and 9.17, respectively. Smelser, Walton, and Whethan (1934) experimented on the effect of light on ovarian activity in the rabbit and concluded that the number of ovulations was slightly higher in the rabbits subjected to ligtht. This is perhaps sufficient to indicate that ovarian activity is not altogether insensitive to light but when a small number of does which failed

to ovulate were omitted from the data the difference was considerably reduced and ceased to be statistically significant. In their observations, the numbers of ruptured follicles in the rabbits which were omitted because they failed to ovulate were 8.94, 7.47, 9.10, and 8.17 under the various conditions of experiments. The average body weight in the present study was 3229 grams and the number of large and medium size follicles was 8.4(σ=3.4). This number is considered to be nearly like the numbers of ruptured follicles reported by above authors. Then, it is considered that the number of follicles in this study means the number of follicles which ripen or have the ability to ovulate.

Hammond and Marshall (1925), and Gregory (1932) reported observations which indicate that right and left ovaries are about equal in reproductive capacity. Our observations support this view. The comparison of the two ovaries is shown in Table 2 and 3.

The relation between the crystal figures and the number of follicles is shown in Table 4. It is clear from these data that the difference of the number of follicles between that in I-type periods and in F-type periods is not significant. But the number of follicles in I-type periods is 6.6 and in F-type periods is 9.8 in average. There is a slight tendency for the number of follicles in F-type period to be larger than in I-type period.

Table 5 shows the relation between pH value of vaginal mucus and the numbers of follicles before slaughter. In the number of large and medium size follicles there is no difference between that in the stage of alkali group and in the stage of neutral group. In the comparison of the number of large size follicles, however, the difference is significant at 5% level.

Smelser, Walton, and Whethan (1934) said that the mature graafian follicle does not persist indifinitely in the oestrous rabbit but is rather short-lived, so that during oestrus the number of follicles fluctuated, the series overlapping so that at any one time there were approximately same number of mature follicles on the surface of the ovary; heat and potential fertility were continuous. The differences of the numbers of large and medium size follicles in each stage as ascertained by discrimination of the crystal figures and by classification of the two groups of pH is not clear from the present study. It is supposed that this may be reason why many investigators did not discover the cyclic fluctuation in ovarian follicles. It is, however, a natural consideration that there are cyclic fluctuations in the functions of the groups of ovarian follicles inasmuch as vaginal cyclic changes exist. A few investigators mentioned the relation between the vaginal cycle and ovarian fluctuation. Hamilton (1951) has found that a variation in blood estrogen level occurs in correlation with the change of the vaginal smear. Kato and Horikawa (1952) reported that the nucleated epithelial cells in vaginal smear regularly appear following growth and regression of the follicles.

In the writer's observations the follicles which are considered to be mature were classified into two groups of the large size follicles (2.5-3 mm in diameter) or medium size follicles (about 2 mm in diameter). Counting the number of these follicles it is found that the number of large size follicles in the stage of neutral group in vaginal mucus is larger than in the stage of alkali group. It is definite from the previous papers that in the period represented by the alkali group the epithelial cells as seen in the vaginal smear are few in number, the amount of mucus is small, the I-type crystals are predominant, and that in the period characterized by the neutral group the F-type crystals are abundant, the epithelial cells are many and the amount of mucus is much. From these observations, it can be said that there is a tendency that in the former period the large size follicles exist in the ovaies and in the latter period they do not exist. This is an important item of evidence that the groups of follicles in the ovaries have cyclic fluctuations of growth and regression according to the vaginal cycle.

Asami (1920) said that follicles of medium and large size undergo atresia at all stages of the sexual cycle; likewise that well preserved follicles of various sizes may be seen at all stages of the sexual cycle. Heape (1905), Hammond and Marshall (1925), Hill and White (1934), Smelser, Walton, and Whethan (1934), Yajima (1939), Hara (1941), Yamamoto (1941) and other investigators have recognized the fact that the follicles which ripen do not ovulate spontaneously and disappear in the degenerating process. In this macroscopical observations the writer found it hard to distinguish the cyclic process in detail whether growth or regression of follicles, and

classification was based only on size whether large or medium size follicles. It is, however, known from the existence of large size follicles that the cyclic fluctuation in the function of ovaries occurs in accordance with the vaginal cycle.

From above mentioned data and the discussion, the sexual cycle in ovary is roughly divided into three stages as follows:

1) The stage in which the follicles are ripening. —Follicles which ripen always exist in the ovary of the normal adult females. The medium size follicles in the present study are considered to have the ability of ovulation. Some of these medium size follicles are in the process of growing into large size follicles. This stage begins from the period when the epithelial cells in vaginal smear are free. During this period the crystal figure changes from I-type to F-type and the pH of vaginal mucus changes from alkali to neutral.

2) The stage in which the follicles ripen at their maximum. —The large size follicles exist during this stage which represents the middle period in the cycle in respect to the absence of epithelial cells in vaginal smear. F-type crystal figure is predominant and the pH value is in neutral group.

3) The stage in which the follicles are regressing. —The follicles in this stage are degenerating. This stage is connected with the preceding stage and continues until the period of the next absence of epithelial cells in vaginal smear. During this stage, the crystal figure changes from F-type to I-type and the pH value changes from neutral to alkali.