

# 乳牛における分娩後早期の排卵誘起処置が 分娩後の卵巣機能回復に及ぼす影響

Amaya Montoya Carlos Santiago

連合獣医学研究科獣医学専攻臨床獣医学講座（博士課程3年）

## 1. 目 的

現在、飼養技術および遺伝的改良の結果、乳牛の高泌乳化が進み、その結果、分娩後の泌乳の増加に伴い栄養状態が低下するため、従来のウシに比べ分娩後の卵巣および生殖機能の回復が遅れる傾向にある。近年、乳牛において、分娩後3週間以内の早期に初回排卵が起こった場合、その後の卵巣機能回復が良好であることを明らかにされた<sup>1)</sup>。正常な卵巣機能の維持のために、視床下部が卵巣由来のステロイドホルモン（プロジェステロン、エストロジェン）などに暴露されることが重要なためであることがこれまでよく知られていることから、分娩後早期の初回排卵に伴うステロイドホルモン分泌の亢進が、卵巣機能回復を促している可能性が考えられる。そこで、本研究では、分娩後早期の人為的な排卵および発情誘起処置が、その後の卵巣機能の回復に及ぼす影響を調べることを目的とした。

## 2. 方 法

### (1) 供試牛

試験には、帯広畜産大学畜産フィールド科学センター繋養のホルスタイン種経産泌乳牛を用いた。正常な分娩を行い、臨床的に周産期疾病に罹患していない個体16頭を選びホルモン処置を行った。また、同時期にホルモン処置を行わなかった32頭を対照群として比較検討を行った。

### (2) ホルモン処置

分娩後21日目に、性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）として酢酸ブセレリン10 $\mu$ g（イトレリン2.5ml，あすか製薬），続いてプロスタグランディンF<sub>2 $\alpha$</sub> （PGF<sub>2 $\alpha$</sub> ）としてクロプロステノール500 $\mu$ g（レジプロンC 2ml，あすか製薬）を7日後に投与した。

### (3) 卵巣の観察

ホルモン処置に対する反応を評価するために、カラードップラー超音波画像診断装置（SSD-1700，アロカ）を用いて卵巣の形態を観察した。卵巣形態の観察は、GnRH投与時および投与後12時間毎に超音波画像診断装置を用いて、GnRH投与による排卵を確認した。さらにPGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与時およびPGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与後24時間毎に卵巣の観察を行い、PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与による排卵を確認した。

### (4) ホルモン測定

GnRH投与時の機能的な既存黄体の有無，新規黄体の機能評価および黄体のPGF<sub>2 $\alpha$</sub> 反応性評価のために、GnRH投与時，PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与直前およびPGF<sub>2 $\alpha$</sub> 投与後48時間後に、尾静脈より採血を行った。

また、ホルモン処置後の卵巣機能回復、すなわち正常周期の回復を確認するために、分娩後約80日まで、週2回の採血を行った。対照群については、分娩後から週2回の採血を実施した。血漿サンプルを用いて、EIA法により血中プロゲステロン（P<sub>4</sub>）濃度を測定した。本研究では、血中P<sub>4</sub>濃度が1 ng/ml 以上の場合、機能的黄体が存在すると評価した。また、PGF<sub>2α</sub>投与直前に機能的黄体を有していた個体において、PGF<sub>2α</sub>投与48時間後に血中P<sub>4</sub>濃度が1 ng/ml 以下に低下した場合、PGF<sub>2α</sub>反応性が認められたと評価した。また、血中P<sub>4</sub>濃度の周期的変化を解析し、分娩後の卵巣機能回復状況を評価した。

### 3. 結 果

ホルモン処置への反応について、GnRH 処置時の黄体の有無により比較した（表1）。GnRH 投与後の排卵は、処置時の黄体の有無に関わらず高率に誘起された。PGF<sub>2α</sub>投与後には、処置時に黄体の無かった個体ではその後排卵する割合が低い傾向が見られた。

表1. ホルモン処置への反応

GnRH 投与時の 既存黄体の有無 <sup>1)</sup>	供試 頭数	GnRH 投与後に 排卵した割合 (%)	PGF <sub>2α</sub> 投与後に 排卵した割合 (%)
無	12	83.3	54.5
有	4	100	100

<sup>1)</sup> GnRH 投与時に血中P<sub>4</sub>濃度が1 ng/ml 以上で機能的既存黄体が存在すると評価

ホルモン処置後の卵巣機能を解析するため、排卵および黄体形成の指標として、分娩後3回目までのP<sub>4</sub>値の上昇について調べた（表2）。

表2. ホルモン処置後の排卵の時期

試験区	排卵の有無*			供試 頭数	分娩後のP <sub>4</sub> 上昇（日）		
	分娩後 21日まで	GnRH 投与後	PGF <sub>2α</sub> 投与後		1回目	2回目	3回目
対照区							
CL	+			11	17.9	40.1**	65.5**
noCL	-			21	35.0	55.1	77.2
ホルモン処置区							
CL (+)	+	+	+	4	19.8	38.0**	60.0**
noCL (+)	-	+	+	6	26.0	37.0**	57.2**
noCL (-)	-	+	-	3	25.7	46.3	66.5

CL：分娩後21日までに黄体有り，noCL：分娩後21日までに黄体無し

(+)：PGF<sub>2α</sub>投与後に排卵有り，(-)：PGF<sub>2α</sub>投与後に排卵無し

\*：P<sub>4</sub>上昇を排卵があったとみなす

\*\*：対照区 noCL 群との間に有意差あり (p < 0.05)

対照区、処置区ともに分娩後21日目に黄体の存在した場合、つまり分娩後3週間以内に初回排卵のあった個体では、分娩後1回目のP<sub>4</sub>上昇はそれぞれ分娩後17.9および19.8日だった。一方、対照区で分娩後21日目に黄体の存在しなかった場合、つまり分娩後早期初回排卵の無かった個体では、

分娩後35日目に初回のP<sub>4</sub>上昇がみられた。処置開始時に黄体の存在しなかった個体のうち3分の2において、GnRH投与により排卵が誘起され、約26日目に初回のP<sub>4</sub>上昇が見られた。

分娩後2および3回目のP<sub>4</sub>上昇は、ホルモン処置を行いPGF<sub>2α</sub>投与後に排卵の見られた個体では、分娩後3週間以内の初回排卵のあった対照区と類似していた。また、これらのP<sub>4</sub>上昇は、分娩後早期初回排卵の無かった対照区あるいはPGF<sub>2α</sub>投与後に排卵が起こらなかった処置区に比べ早く起こっていた。

次に、分娩後2回目から3回目のP<sub>4</sub>上昇の間隔について調べた結果、分娩後21日目にホルモン処置を行った場合、多くの個体が正常な長さの卵巢周期を示した(表3)。

表3. ホルモン処置後の発情周期の長さ\*

試験区	排卵の有無			供試頭数	発情周期の長さ 頭数 (%)		
	分娩後21日まで	GnRH投与後	PGF <sub>2α</sub> 投与後		短	正常	長
対照区							
CL	+			11	1 (9.1)	6 (54.5)	4 (36.4)
noCL	-			21	3 (14.3)	9 (42.8)	9 (42.8)
ホルモン処置区							
CL (+)	+	+	+	4	0 (0)	3 (75.0)	1 (25.0)
noCL (+)	-	+	+	5	1 (20.0)	4 (80.0)	0 (0)
noCL (-)	-	+	-	2	0 (0)	2 (100)	0 (0)

CL：分娩後21日までに黄体有り，noCL：分娩後21日までに黄体無し

(+)：PGF<sub>2α</sub>投与後に排卵有り，(-)：PGF<sub>2α</sub>投与後に排卵無し

\*：分娩後2回目のP<sub>4</sub>上昇から3回目のP<sub>4</sub>上昇までの期間

短：18日未満，正常：18から24日，長：25日以上

## 4. 考 察

本研究の結果、分娩後早期にホルモン処置による人為的に排卵を誘起した場合、その後の卵巢機能の回復が促されることが明らかになった。

ウシでは、分娩後10日頃までには直径10mmを超える主席卵胞が発育することが知られている<sup>2)</sup>。この主席卵胞が排卵した場合、あるいは排卵しなかった場合、いずれにおいても分娩後20日頃には、次の卵胞発育波の主席卵胞が発育していると予想され、このことが、本研究における分娩後21日目にGnRH投与により排卵を高率に誘起できた理由と考えられる。

PGF<sub>2α</sub>投与後に排卵の見られなかった個体では、投与後48時間目の血中P<sub>4</sub>濃度は、1 ng/ml以上であり、機能的黄体が存在していた。このことは、PGF<sub>2α</sub>投与に反応せず、黄体退行が起こらなかったことを示している。

本研究では、ホルモン処置開始時に、黄体の存在しなかった個体において、PGF<sub>2α</sub>投与後に排卵の見られなかった場合が認められた。これまで、分娩後3週間以内に排卵の認められなかった個体は、排卵のあった個体に比べ、分娩後の栄養状態の低下がより深刻であることが報告されている<sup>3)</sup>。このことから、本研究で、ホルモン処置開始時に、黄体の存在しなかった個体には、栄養状態の低下が深刻な個体が含まれ、それらではGnRH投与後に形成された黄体がPGF<sub>2α</sub>投与に反応せず、黄体退行が起こらなかったと予想される。今後、代謝プロファイルテストなどを利用した、ウシの栄養状態評価とホルモン処置への反応性について、検討する必要があると考えられる。

本研究の結果から、ホルモン処置開始時に黄体の存在しなかった個体、つまり早期初回排卵が起こらなかった個体についても、分娩後21日目にホルモン処置により排卵を誘起することで、その半分以上の個体において、早期排卵のあった個体と同様の卵巢機能回復が起こることが示された。

近年、分娩後20日頃まで無発情を示すジャージー種に10日間のP<sub>4</sub>製剤（CIDR）処置を行った場合、下垂体より分泌され、卵胞および黄体の発育や機能を制御する黄体形成ホルモン（LH）のパルス状分泌の頻度が2倍以上に上昇することが報告されている<sup>4)</sup>。このことは、分娩後早期に初回排卵の起こったウシでは、排卵後形成された黄体から分泌されるP<sub>4</sub>が下垂体からのLH分泌を亢進する事で、その後の卵巢機能回復を促している可能性を示している。本研究で、分娩後早期に排卵の見られない個体でも、ホルモン処置により、分娩後早期に排卵した個体と同様の良好な卵巢機能回復が得られたことは、排卵誘起過程における卵巢からのステロイドホルモンの分泌が視床下部—下垂体—卵巢に作用して、卵巢機能回復を促した結果と考えられる。

本研究から、分娩後21日目に黄体の触知できない個体に対し、GnRHとPGF<sub>2α</sub>を用いたホルモン処置により排卵を誘起することで、その半分以上の個体で卵巢機能回復を促すことが可能であり、その後の受胎性向上につながると考えられた。

最後に、本研究の実施にあたり、帯広畜産大学後援会より研究助成をいただきましたことを感謝申し上げます。

## 5. 参考文献

- 1) Kawashima C, Kaneko E, Amaya Montoya C, Matsui M, Yamagishi N, Matsunaga N, Ishii M, Kida K, Miyake Y, Miyamoto A. Relationship between the first ovulation within three weeks postpartum and subsequent ovarian cycles and fertility in high producing dairy cows. *J Reprod Dev* 2006 ; 52 : 479-486.
- 2) Beam SW, Butler WR. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol Reprod* 1997 ; 56 : 133-142.
- 3) Kawashima C, Sakaguchi M, Suzuki T, Sasamoto Y, Takahashi Y, Matsui M, Miyamoto A. Metabolic Profiles in Ovulatory and Anovulatory Primiparous Dairy Cows during the First Follicular Wave Postpartum. *J Reprod Dev* 2007 (in press)
- 4) Rhodes FM, Burke CR, Clark BA, Day ML, Macmillan KL. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. *Anim Reprod Sci* 2002 ; 69 : 139-150.

キーワード：乳牛，分娩後，排卵誘起，卵巢機能回復