

# ウシ黄体における退行因子 (PGF<sub>2α</sub>) への 反応性獲得メカニズムの解明

小 野 守

連合獣医学研究科獣医学専攻臨床獣医学講座 (博士課程1年)

## 1. 目 的

ウシの繁殖生理において、排卵後に卵巣に形成される黄体はプロゲステロン (P<sub>4</sub>) を分泌し、その発情周期にとって重要な役割を果たす。通常、排卵後早期の黄体は、黄体退行因子であるプロスタグランジン F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) に対する感受性が低く、黄体を退行させるためには少なくとも排卵後7日程度経過しないと PGF<sub>2α</sub> に対して反応しないとされている。そのため発情周期中期以降でのみ、ホルモン処置による黄体退行とそれに続く排卵誘起が可能である。ウシの定時授精法であるオブシンク法において、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の投与により排卵が誘起され新たな黄体が形成される。オブシンク法は、GnRH 投与7日後に PGF<sub>2α</sub> を投与することで、この新規に形成された黄体を退行させ、発情および排卵を誘起するプロトコールである。通常、GnRH により誘起される排卵は、投与後24から36時間に見られることが多い。つまり、興味深いことに、オブシンク法ではこの新たな黄体は、形成後6日目に満たない状況下で、PGF<sub>2α</sub> に反応し退行することが知られている。注目すべき点として、一般にオブシンク法は、黄体期の中期から処置を開始することが推奨されている。このことは、新規黄体が、既存の黄体の存在下で形成されることを示している。そこで本研究では黄体形成時における P<sub>4</sub> の影響に注目し、P<sub>4</sub> 存在下で形成された黄体の PGF<sub>2α</sub> に対する反応性について調べ、黄体の PGF<sub>2α</sub> 反応性の獲得機序の解明を試みた。

## 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24頭を用いた。GnRH により誘起された排卵後に新規黄体が形成される期間中の P<sub>4</sub> の存在が、新規黄体の PGF<sub>2α</sub> 反応性獲得に及ぼす影響を調べるために、GnRH 投与時に機能的な黄体を有する個体 (13頭) および有しない個体 (11頭) を試験に供した。

### (2) ホルモン処置

オブシンク法に基づいて、GnRH として酢酸ブセレリン10 μg (イトレリン 2.5ml, あすか製薬)、続いて PGF<sub>2α</sub> としてクロプロステノール5mg (レジプロン C 2ml, あすか製薬) を7日間隔で投与した。

### (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、PGF<sub>2α</sub>投与時およびPGF<sub>2α</sub>投与48時間後に実施した。

#### (4) 黄体機能の評価

機能的な既存の黄体の有無、新規黄体の機能評価および黄体のPGF<sub>2α</sub>反応性評価のために、GnRH投与時、PGF<sub>2α</sub>投与直前およびPGF<sub>2α</sub>投与48時間後に、尾静脈より採血を行った。血漿サンプルを用いて、EIA法により血中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。

### 3. 結 果

GnRH投与時の既存黄体の有無、GnRHにより誘起された排卵の時期および排卵後形成された新規黄体のPGF<sub>2α</sub>投与への反応性について表に示した。GnRH投与時の既存黄体の存在に関係なく、すべての個体において排卵が誘起され、そのほとんどがGnRH投与後24から36時間以内に排卵した。GnRH投与時に機能的な黄体が存在し、血中P<sub>4</sub>濃度が1 ng/ml以上であった個体では、排卵時期に関係なく、すべての個体でPGF<sub>2α</sub>投与に反応して、既存および新規の両黄体とも退行した。一方、GnRH投与時に黄体が存在しなかった場合、GnRH投与24から36時間で排卵の見られた個体10頭のうち3頭において、PGF<sub>2α</sub>投与後も新規黄体は退行することなく存続した。

表. GnRH投与による排卵誘起時における既存黄体が新規形成黄体のPGF<sub>2α</sub>反応性

GnRH投与時の 既存黄体の有無 <sup>1</sup>	GnRHによる排卵時期 (投与後時間)	供試頭数	PGF <sub>2α</sub> 投与に反応して 黄体退行した頭数 <sup>2</sup> (%)
有	24 から 36	10	10 (100)
	36 から 48	2	2 (100)
	60 から 72	1	1 (100)
無	12 から 24	1	1 (100)
	24 から 36	10	7 (70)

<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

<sup>2</sup>PGF<sub>2α</sub>投与48時間後に血中P<sub>4</sub>濃度が1 ng/ml以下の場合、PGF<sub>2α</sub>による黄体退行と評価

### 4. 考 察

本研究の結果から、GnRH投与による排卵誘起後に形成された黄体は、既存黄体の存在下で発育した場合、PGF<sub>2α</sub>投与に反応して退行するのに対し、既存黄体が存在しない場合には、約3割の新規黄体が、PGF<sub>2α</sub>投与に反応しないことが示された。

ウシにおいて、排卵後に形成された黄体が、黄体退行因子であるPGF<sub>2α</sub>により退行する反応性を示すのは、排卵後8日目以降とされ、特に、排卵後5日目までの形成期にある黄体はPGF<sub>2α</sub>に反応できないことが知られている(1, 2)。本研究では、GnRH投与時に既存の黄体がなかった個体の

うち、GnRH 投与後24から36時間に排卵した個体、つまり PGF<sub>2α</sub> 投与時の新規黄体が排卵後 5 日半から 6 日目の形成期にあたる個体では、3 割の個体で黄体退行が認められなかった。これは、既報に示された PGF<sub>2α</sub> 投与に対する形成期黄体の反応性の欠如を裏付けるものである。興味深いことに、GnRH 投与時に既存黄体が存在した個体では、新規黄体が形成期であるにも関わらず、すべての個体で PGF<sub>2α</sub> 投与に反応し退行が促されていた。特に、排卵後 5 日あるいは 4 日目の形成期黄体も PGF<sub>2α</sub> 投与に反応しており、これまでの報告と一致しない結果であった。本研究の結果は、GnRH 投与時の機能的な既存黄体の有無、つまり形成期間中における新規黄体の P<sub>4</sub> への暴露の有無が、PGF<sub>2α</sub> 投与に対する反応性の違いに関連することを示していると考えられる。これまで、排卵直後に、腔内留置型黄体ホルモン製剤を処置することで、通常21日の発情周期が、8から18日間という短い周期になることが示されている (3)。また、P<sub>4</sub> は形成期黄体からの PGF<sub>2α</sub> 産生を促すこと (4)、さらに形成期黄体における PGF<sub>2α</sub> の上昇により発情周期が短縮することが報告されている (5)。これらの報告から、本研究で示された、機能的な既存黄体の存在下で形成された新規黄体が PGF<sub>2α</sub> 投与に対して反応性を獲得したのは、形成期黄体の P<sub>4</sub> への暴露によるものと推察される。

本研究から、黄体の P<sub>4</sub> への暴露が、黄体の PGF<sub>2α</sub> 反応性の獲得機序の一つである可能性が示された。今後、様々な発育段階の黄体について、P<sub>4</sub> への暴露が黄体内部の退行メカニズムの確立に及ぼす影響を調べる必要がある。

## 5. 参考文献

1. Rowson LE, Tervit R, Brand A. The use of prostaglandins for synchronization of oestrus in cattle. *J Reprod Fertil* 1972 ; 29 : 145.
2. Braun NS, Heath E, Chenault JR, Shanks RD, Hixon JE. Effects of prostaglandin F<sub>2α</sub> on degranulation of bovine luteal cells on Days 4 and 12 of the estrous cycle. *Am J Vet Res* 1988 ; 49 : 516-519.
3. Burke CR, Mihm M, Macmillan KL, Roche JF. Some effects of prematurely elevated concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the oestrous cycle in heifers. *Anim Reprod Sci* 1994 ; 35 : 27-39.
4. Pate JL. Regulation of prostaglandins synthesis by progesterone in the bovine corpus luteum. *Prostaglandins* 1988 ; 36 : 303-315.
5. Zollers WG Jr, Garverick HA, Youngquist RS, Ottobre JS, Silcox RW, Copelin JP, Smith MF. In vitro secretion of prostaglandins from endometrium of postpartum beef cows expected to have short or normal luteal phases. *Biol Reprod* 1991 ; 44 : 522-526.