

大型卵胞除去がウシの過剰排卵処理に与える影響(第1報)

高仁敏光 岡崎尚之 前原 智 白石忠昭

要 約 本試験は、過剰排卵処理48時間前の卵巣から優勢卵胞と思われる大型卵胞を無作為に吸引除去することが、その後の胚採取成績に及ぼす影響について調査した。

供試牛は、場内に繋養する黒毛和種経産牛20頭で、試験区を過剰排卵処理48時間前に8mm以上の大型卵胞を吸引除去する吸引区、過剰排卵処理48時間前に卵巣実質を穿刺する穿刺区、全く処置を行わない無処置区とした。卵巣の観察は、発情時、過剰排卵処理48時間前、処理開始時および胚採取時に超音波診断装置を用いて、左右卵巣の卵胞数を計測した。

超音波診断装置による観察から、供試牛には処理開始48時間前から処理開始時まで、1個から数個の大型卵胞が認められた。吸引区、穿刺区および無処置区の胚採取成績(平均値±標準誤差)は、採取胚数がそれぞれ17.0±2.9個、14.0±2.5個および11.5±1.7個であり、正常胚数は、7.5±1.2個、5.3±1.7個および7.9±1.5個で吸引区の胚採取数が高い傾向にあった。

吸引区において、過剰排卵処理開始時に大型卵胞が認められた牛群(n=7)と認められなかった牛群(n=13)の胚採取数および正常胚数は、それぞれ13.9±5.6個および4.7±1.9個、18.7±3.3個および8.9±1.5個であり、再出現した牛群が低い傾向にあった。

以上のことから、大型卵胞を吸引することにより胚採取時の採胚数を向上させることが示唆された。

Key words:

島根県立畜産試験場報告第33号,10-12, 2000

ウシの発情周期を超音波診断装置を用い経時的に観察すると、1周期中に2から3回の卵胞集団の発育(卵胞波)がみられ、この集団に存在する直径10mm前後の大型卵胞(優勢卵胞)が、他の卵胞の発育に影響を及ぼす^{1,2,5,6,7)}と報告されている。そこで、今回、過剰排卵処理48時間前の卵巣から優勢卵胞と思われる大型卵胞を無作為に吸引除去することが、その後の胚採取成績に及ぼす影響について調査した。

材料および方法

供試牛は、場内に繋養する黒毛和種経産牛20頭で、試験区を過剰排卵処理48時間前に8mm以上の大型卵胞を吸引除去する吸引区、過剰排卵処理48時間前に卵巣実質を穿刺する穿刺区、全く処置を行わない無処置区とした。卵巣の観察は、発情時、過剰排卵処理48時間前、処理開始時および胚採取時に超音波診断装置(アロカ社、SSD500)を用いて行い、左右の卵巣に見られる卵胞を2~4、5~および8mm以上(以下大型卵胞)に区分し、それぞれの卵胞数を計測した。過剰排卵処理のスケジュールは、図1に示すように、発情後9~14日目とし、卵胞刺激ホルモン(FSH)総量20AUを3日間連続漸減投与し、処理開始48時間後にプロスタグランジンF₂類縁体を800μg投与した。発情時に凍結精液を用い、人工授精を行った。人工授精後7日目に

	発情		処理開始											
	0 . . . 9 ~ 14日													
吸引区	us	us	us											
穿刺区	us	fp	us											
		op	us											
無処置区	us	us	us											
			過剰排卵処									胚採取		
			- 48h	1	2	3	4	5	6 12					
a.m.	FSH		5AU	3AU	2AU	AI								
p.m.	FSH		5	3	2	AI								
	PGF2		800μg											

us: 超音波診断装置による観察
fp: 大型卵胞の吸引
op: 卵巣穿刺

図1 卵巣像の観察と過剰排卵処理のスケジュール

非外科的に胚を回収し、それぞれの試験区の卵胞数および胚採取成績は、共分散分析、重回帰分析あるいは検定により統計処理を行った。

結 果

各区の卵胞サイズ別個数の推移を表1に示した。2~4mmの卵胞の推移は、過剰排卵処理48時間前で吸引区16.6±1.5個(平均値±標準誤差)、穿刺区17.4±1.5個、無処置区18.4±3.4個、処理前では吸引区が19.0±1.9個、穿刺17.9±3.3個、無処置区16.2±2.7個で吸引区で卵胞数が増加する傾向であった。

5~7mmの卵胞の推移は、吸引区、穿刺区とも過剰排卵処理48時間前から処理時にかけて1個程度の増加が認められ、無処置区でも0.6個程度の増加を認めた。

8mm以上の卵胞数は、穿刺区および無処置区で、発情時から処理時までほぼ1個程度で推移した。しかし、吸引区では、過剰排卵処理48時間前1.3±0.2個から0.4±0.1個へと減少した。

次に各区の胚採取成績を表2に示した。吸引区で採取胚数17.0±2.9個、正常胚数7.5±1.2個。穿刺区で採取胚数14.0±2.5個、正常胚数5.3±1.7個、無処置区は、それぞれ11.5±1.7個、7.9±1.5個と吸引区の胚採取数が高い傾向であった。

処理開始時の各卵胞数とその後の胚採取成績との関係を重回帰分析により解析した結果は図2に示した。採取胚数(Y)と過剰排卵処理前の各サイズ卵胞(x1:直径8mm以上の卵胞数、x2:直径5-7mmの卵胞数、x3:直径2-4mmの卵胞数)の重回帰式は、 $Y = 0.368883 - 2.332883x1 + 1.060583x2 + 0.808042x3$ (R = 0.717594)**、** : p < 0.01)、過剰排卵処理前の2~4mmの卵胞数が過剰排卵後の採取胚数に影響を及ぼしていることが示唆された。

次に、吸引区20頭において、処理開始48時間前に大型卵胞を吸引したのにもかかわらず処理開始時に新たに大型卵胞の出現を認めた供試牛の状況を表3に示した。大型卵胞の出現は、顔で認められた。これら顔の大型卵胞を吸引時と比較すると、卵胞数は、吸引時1.3±0.2個であったが処理時には、1.0±0.0個認められ

表1 各区の卵胞サイズ別個数の推移

区 分	サイズ	単位：mm、個		
		発情期	処理48h前	処理時
吸引区 (n=20)	2-4	18.0±1.9	16.6±1.8	19.0±1.9
	5-7	1.2±0.2	1.1±0.3	2.1±0.3
	8	1.2±0.1	1.3±0.2	0.4±0.1
穿刺区 (n=10)	2-4	17.7±3.1	17.4±1.5	17.9±3.3
	5-7	1.0±0.4	0.6±0.2	1.6±0.4
	8	1.1±0.1	0.9±0.2	1.0±0.2
無処置区 (n=10)	2-4	17.5±2.0	18.4±3.4	16.2±2.7
	5-7	2.2±1.3	0.6±0.2	1.4±0.3
	8	1.0±	0.8±0.1	0.9±0.1

値は平均値±標準誤差、()内は供試頭数

表2 各区の胚採取成績

区 分	頭数	単位：頭、個、%		
		採取胚数	正常胚数	正常胚率(%)
吸引区	20	17.0±2.9	7.5±1.2	52.2±8.3
穿刺区	10	14.0±2.5	5.3±1.7	45.3±12.8
無処置区	19	11.5±1.7	7.9±1.5	64.9±6.3

値は平均値±標準誤差

$$Y = 0.368883 - 2.332883x1 + 1.060583x2 + 0.808042x3$$

(R = 0.717594 **)

Y : 採取胚数
 x1 : 直径8mm以上の卵胞数
 x2 : 直径5-7mmの卵胞数
 x3 : 直径2-4mmの卵胞数

(** : p < 0.01)

図2 処理開始時の各卵胞数とその後の胚採取成績との関係

表3 吸引区での処理開始時の大型卵胞出現状況

区 分	吸引時	処理時
頭 数(頭)	20	7
卵胞数(個)	1.3±0.2	1.0±
大きさ(mm)	11.1±0.6	11.1±1.0

た。大卵胞の大きさは、吸引時11.1 ± 0.6mm、処理時11.1 ± 1.0mmであり、差は認められなかった。

次に、吸引区での過剰排卵処理前の大型卵胞の有無と胚採取成績を表4に示した。大型卵胞のあった7頭では、採取胚数13.9 ± 5.6個、正常胚数4.7 ± 1.9個であったが、大型卵胞の認められなかった13頭では、胚採取数18.7 ± 3.3個、正常胚数8.9 ± 1.5個であり、大型卵胞の無い供試牛が胚採取成績および正常胚数は、高い傾向にあった。

次に、吸引区で吸引後、大型卵胞の認められなかった13頭の胚採取成績とその13頭の無処置区での胚採取成績の比較を表5に示した。無処置区では胚採取数11.3 ± 1.8個、正常胚数7.7 ± 1.3個であったのに対し、吸引区では、胚採取数18.7 ± 3.3個、正常胚数8.9 ± 1.5個と吸引区が高い傾向であった。

考 察

超音波診断装置による観察から、供試牛には処理開始48時間前から処理開始時まで、1個から数個の大型卵胞が認められた。小林⁵⁾らは、ウシにおいては1発情周期中に2~3の卵胞波を示すことを報告しているが、今回認められた大型卵胞はこの卵胞波中に出現した卵胞と考えられた。

吸引区、穿刺区および無処置区の胚採取成績は、採取胚数で吸引区が高い傾向にあったが、Bungartz⁷⁾らは、卵巣中の卵胞の大きさを定期的に観察し、確認された大型卵胞を吸引除去することにより胚採取成績が向上したと報告しており、本試験においても同様の傾向が認められ、過剰排卵処理48時間前に大型卵胞を吸引除去することは、胚採取時の採取胚数を向上させることが示唆された。

吸引区20頭では、処理開始48時間前に吸引したにもかかわらず処理開始時には、新たに7頭で大型卵胞が各1個認められた。これらの大型卵胞の認められた供試牛の胚採取数および正常胚数は、大型卵胞が認められなかった供試牛の成績と比べ低い傾向にあった。吸引後に大型卵胞が出現した要因は、吸引対象となった大型卵胞が退行期にありかつ、成長期の卵胞が8mm以下の吸引対象外で存在していたためと考えられる。過剰排卵処理開始時に出現した大型卵胞は、優勢卵胞としての作用^{5,8)}すなわち卵胞の顆粒層細胞から分泌

表4 吸引区での過剰排卵処理前の大型卵胞の有無と胚採取成績

単位：頭、個、%				
大型卵胞	頭数	採取胚数	正常胚数	正常胚率(%)
有	7	13.9 ± 5.6	4.7 ± 1.9	36.7 ± 15.1
無	13	18.7 ± 3.3	8.9 ± 1.5	60.6 ± 9.5

値は平均 ± 標準誤差

表5 吸引後大型卵胞の非出現牛とその牛の無処置区での胚採取成績の比較

単位：個、%			
区 分	採取胚数	正常胚数	正常胚率(%)
吸引区	18.7 ± 3.3	8.9 ± 1.5	60.6 ± 9.5
無処置区	11.3 ± 1.8	7.7 ± 1.3	66.9 ± 8.0

供試牛 13頭

されるインヒピンがFSH分泌の特異的抑制因子としての作用を有しており、このことが胚採取数に影響を及ぼしていると考えられた。超音波診断装置での観察で卵胞を形態的主席卵胞または、機能的な主席卵胞⁹⁾かを判断することは難しく、Henderson³⁾らは、直径5mm程度の卵胞であればすでにインヒピン分泌を獲得していることを報告しており、吸引対象とする卵胞の大きさを検討する必要性が示唆された。

吸引区で処理開始時に大型卵胞の無かった供試牛の胚採取成績と同牛の無処置区での胚採取成績を比較すると、大型卵胞を吸引することにより胚採取時の採取胚数を向上させることが示唆された。しかし、胚採取数に比べ正常胚数が少なく今後の解決すべき問題点として指摘された。

引 用 文 献

- 1) Ginther O.J., et al., J.Reprod.Fert., 87:223-230
- 2) Guilbault L.a. et al., J.Reprod.Fert., 91:81-89
- 3) Henderson K.M., et al., J.Reprod. Fert., 72:1-8. 1984
- 4) Huhtinen M., et al., Theriogenology. 37:475-456, 1992
- 5) 小林修一ら、日畜会報、64(1):45-53, 1997
- 6) 小林直彦ら、日本胚移植学雑誌、18(3):200-204, 1996
- 7) L. Bungartz and H. Niemann, J. Reprod. Fert. 101, 583591, 1994
- 8) 森 純一、獣医界、140:1-49, 1997
- 9) 上村俊一、臨床獣医、Vol.15No6.19-24.1997