

## 大型卵胞除去がウシの過剰排卵処理に与える影響 (第2報)

高仁敏光 岡崎尚之 長谷川清寿 白石忠昭

**要 約** 本試験では、主席卵胞が胚採取成績に及ぼす影響を明らかにするため、主席卵胞が出現しているとされている発情後5日目に卵巣に存在する大型卵胞を吸引除去し、吸引除去後の過剰排卵処理開始時間と次の大型卵胞出現状況ならびに胚採取成績との関連性について調査した。

供試牛は、場内に繋養する黒毛和種経産牛 20 頭で、試験区は発情後 5日目に 8mm以上の大型卵胞を吸引除去し、24 時間後に過剰排卵処理を開始する区を 1区、48 時間後からの処理開始区を 2区、72 時間後からの処理開始区を 3区とし、発情後 9 ~ 13 日目に過剰排卵処理を開始する通常処理区を対照区とした。卵巣の観察は、発情後 5日目、過剰排卵処理開始時および胚採取時に超音波診断装置を用いて行い、左右卵巣の卵胞数を計測した。

胚採取成績(平均値 ± 標準誤差)は、採取胚数が 1区で  $9.8 \pm 2.6$  個、2区  $6.8 \pm 1.3$  個、3区  $7.6 \pm 2.7$  個、対照区  $14.1 \pm 3.1$  個であり、正常胚数(正常胚率)は、1区で  $6.9 \pm 1.4$  個(84.1%)、2区  $3.3 \pm 1.3$  個(46.7%)、3区  $2.9 \pm 1.7$  個(40.8%)、対照区  $4.5 \pm 1.6$  個(42.2%)であった。

試験区での平均大型卵胞数は、発情後 5日目に 1区が  $1.5 \pm 0.4$  個、2区が  $1.6 \pm 0.3$  個、3区が  $1.6 \pm 0.3$  個であったが、吸引除去後の処理開始時に、それぞれ  $0.1 \pm 0.1$  個、 $0.5 \pm 0.2$  個、 $0.5 \pm 0.2$  個で 1区での出現数が最も少なかった。対照区では、 $1.0 \pm 0.2$  個から  $1.3 \pm 0.2$  個へと増加傾向が認められた。

以上のことから、発情後 5日目に大型卵胞を吸引除去後、過剰排卵処理を開始する場合は、吸引除去後 24 時間以内に過剰排卵処理を開始することで胚採取成績を向上させるためには必要と考えられた。

Key words:

島根県立畜産試験場研究報告第 33 号, 13-16, 2000

過剰排卵処理 48 時間前の卵巣から主席卵胞と思われる大型卵胞を無作為に吸引除去することにより、胚採取数の向上が認められることを既に報告した<sup>1)</sup>。しかし、過剰排卵処理時に大型卵胞が再出現した供試牛では、胚採取成績が低い傾向にあった。そこで、今回、主席卵胞が胚採取成績に及ぼす影響を明らかにするため、主席卵胞が出現すると報告されている発情後 5日目<sup>2, 3)</sup>に卵巣に存在する大型卵胞を吸引除去し、吸引除去後の過剰排卵処理開始時間と大型卵胞再出現状況ならびに胚採取成績との関連性について調査した。

### 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、試験区は発情後 5日目に 8 mm以上の大型卵胞を吸引除去し、24 時間後に過剰排卵処理を開始する区を 1区、48 時間後に処理を開始する区を 2区、72 時間後に処理を開始する区を 3区とし、発情後

9 ~ 13 日目に過剰排卵処理を開始する通常処理区<sup>4)</sup>を対照区とした。卵巣の観察は、発情後 5日目、過剰排卵処理開始時および胚採取時に超音波診断装置(アロカ社 SSD1200)を用いて行い、左右の卵巣に認められる卵胞を 2 ~ 4 mm(小卵胞・小)、5 ~ 7 mm(中卵胞・中)および 8 mm以上(大型卵胞・大)に区分し、それぞれの卵胞数を計測した。

大型卵胞吸引除去は、卵胞内卵子採取針を装着した膣プローブを用いて行った。過剰排卵処理は、F S H - R 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 F<sub>2</sub> 類縁体を投与した。発情発現後に人工授精を 2 回行った。発情・人工授精後 7日目に非外科的に胚を回収した。卵胞数および胚採取成績は、Kruskal- Wallis の検定、<sup>2</sup>検定等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 にした。大

表 1 各区の卵胞サイズ別卵胞数の推移

区分		頭数	サイズ	単位：頭、個	
				発情後 5 日目	処理開始時
1 区	1 0		大	1.5±0.4	0.1±0.1
			中	1.5±0.5	1.7±0.7
			小	23.1±2.9	25.1±3.4
2 区	1 0		大	1.6±0.3	0.5±0.2
			中	3.6±1.1	2.5±0.8
			小	18.5±2.7	19.4±3.5
3 区	1 0		大	1.6±0.3	0.5±0.2
			中	5.3±1.4	2.0±0.6
			小	22.0±5.2	28.8±3.5
対照区	1 0		大	1.0±0.2	1.3±0.2
			中	3.4±0.8	2.0±0.7
			小	20.8±5.3	22.4±4.6

表 2 過剰排卵処理開始時の大型卵胞出現率

区分	出現率
1 区	10.0% ( 1/10頭 ) <sup>a</sup>
2 区	50.0% ( 5/10頭 ) <sup>c</sup>
3 区	50.0% ( 5/10頭 ) <sup>c</sup>
対照区	100.0% ( 10/10頭 ) <sup>b, d</sup>

異符号間に有意差有り

a, b p<0.01 c, d p<0.05

型卵胞の平均値は、発情後 5 日目に 1 区 1.5±0.4 個、2 区 1.6±0.3 個、3 区 1.6±0.3 個であったが、吸引除去後の処理開始時には、それぞれ 0.1±0.1 個、0.5±0.2 個、0.5±0.2 個であり、1 区での出現数が最も少なかった。対照区の大型卵胞数は、発情 5 日目には 1.0±0.2 個であったが、処理開始時には 1.3±0.2 個へと増加する傾向を認めた。

表 3 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
1 区	1 0		9.8±2.6	6.9±1.4	84.1 <sup>a</sup>
2 区	1 0		6.8±1.3	3.3±1.3	46.7 <sup>b</sup>
3 区	1 0		7.6±2.7	2.9±1.7	40.8 <sup>b</sup>
対照区	1 0		14.1±3.1	4.5±1.6	42.2 <sup>b</sup>

( 平均値 ± 標準誤差 )

異符号間に有意差、a, b p<0.05

表 4 処理時における大型卵胞の有無による胚採取成績

区分		頭数	単位：頭、個、%		
			採取胚数	正常胚数	正常胚率
有	1 1		7.0±1.5	2.9±1.2	41.7±13.7
無	1 9		8.7±1.8	5.2±1.1	67.7±8.4
対照区	1 0		14.1±3.1	4.5±1.6	42.2±12.5

( 平均値 ± 標準誤差 )

中卵胞数の推移は、1 区では、発情 5 日目に 1.5±0.5 個から処理開始時には 1.7±0.7 個へとわずかに増加したが、他の区では減少した。

小卵胞数は、発情後 5 日目に 1 区 23.1±2.9 個、2 区 18.5±2.7 個、3 区 22.0±5.2 個であったが、吸引除去後の処理開始時には、それぞれ 25.1±3.4 個、19.4±3.5 個、28.8±3.5 個であり、3 区での出現数が最も多くかった。対照区の小卵胞数は、発情後 5 日目には 20.8±5.3 個であったが、処理開始時には 22.4±4.6 個へと増加する傾向を認めた。

発情 5 日目に大型卵胞を吸引除去したにもかかわらず、処理開始時に大型卵胞が認められた供試牛の割合は、表 2 に示すとおり 1 区で 10% ( 1/10 頭 )、2 および 3 区では、いずれも 50% ( 5/10 頭 ) と 48 時間以降増加する傾向であった。吸引除去を行わない対照区では、大型卵胞が処理開始時に全頭 ( 10/10 頭 ) で認められた。<sup>2</sup> 検定により 1 区と対照区および 2, 3 区と対照区の間それぞれ 1%, 5% の水準で有意差を認めた。

各区の胚採取成績は、表 3 に示した。採取胚数は、1 区 9.8±2.6 個、2 区 6.8±1.3 個、3 区 7.6±2.7 個、対照区 14.1±3.1 個、正常胚数は、1 区 6.9±1.4 個、2 区 3.3±1.3 個、3 区 2.9±1.7 個、対照区 4.5±1.6 個であり、各区の値には有意な差は認められなかった。しかし、1 区では採取胚数、正常胚数が高い傾向であった。また、正常胚率は、1 区 84.1%、2 区 46.7%、3 区 40.8% および対照区 42.2% であり、1 区の正常胚率が他の区の値と比べ最も高く、Kruskal- Wallis の検定で他区との間に有意差 ( P<0.05 ) が認められた。

処理開始時における大型卵胞の有無による胚採取成績は、表 4 に示した。処理開始時に大型卵胞の認められた 11 頭では、胚採取数 7.0±1.5 個、正常胚数 2.9±1.2 個、正常胚率 41.7±13.7% であった。一方、大型卵胞の認められなかった 19 頭では、それぞれ、8.7±1.8 個、5.2±1.1 個、67.7±8.4% であり、大型卵胞の存在しない供試牛が、胚採取成績は良好である傾向であった。

同一供試牛を2つの試験区に配置し、胚採取を行ったサイズ別卵胞数の推移は、表5に示した。1区と2区の処理で胚採取を行った3頭は、大型卵胞が1区では、発情後5日目1.0個から処理開始時0.3±0.4個、2区では、1.7±0.8個から0.3±0.4個へと減少した。1区と3区で胚採取を行った3頭では、1区では大型卵胞数が発情後5日目1.7±0.8個認められたが、処理開始時には認められなかった。しかし、3区では、発情後5日目に1.3±0.4個認められたが、処理開始時には0.3±0.4個へと減少した。

2区と3区の処理で胚採取した4頭では、大型卵胞が2区では発情後5日目に1.0個認められたが、処理開始時には0.5±0.3個に減少した。また、3区においても同様に2.0±0.7個から0.8±0.3個へと減少した。

各区での同一牛の胚採取成績は、表6に示した。1区と2区で供試した3頭では、1区での胚採取成績は採取胚数8.3±4.3個、正常胚数7.7±3.6個、正常胚率95.2±5.8%であり、2区では、採取胚数7.3±3.2個、正常胚数6.7±3.9個、正常胚率77.8±27.2%であり、いずれも1区の値が高い傾向を認めた。1区と3区で供試した3頭は、3区での採取胚数、正常胚数が1区のそれぞれの成績の値と比べ高い傾向が認められられた。また、正常胚率においても同様に、1区88.0±8.9%、3区75.6±4.7%であり、1区が3区と比べ高率であった。2区と3区で供試した4頭では、2区での胚採取成績の値は、採取胚数6.0±2.7個、正常胚数1.8±1.4個、正常胚率41.7±28.9%であり、3区では、採取胚数6.0±3.6個、正常胚数1.0±0.8個、正常胚率25.0±20.4%であり、いずれも2区の値と比べ3区の値が低い傾向が認められた。

表5 同一牛でのサイズ別卵胞数の推移

(1区と2区：供試頭数 3頭) 単位：個

区分	サイズ	発情後5日目	処理開始時
1区	大	1.0	0.3±0.4
	中	1.3±1.1	0.7±0.8
	小	19.7±6.3	20.7±5.9
2区	大	1.7±0.8	0.3±0.4
	中	2.0±1.2	3.0±1.9
	小	15.7±7.1	19.3±9.9

(1区と3区：供試頭数 3頭)

区分	サイズ	発情後5日目	処理開始時
1区	大	1.7±0.8	0.0
	中	1.3±1.1	1.3±1.6
	小	22.7±5.7	24.7±5.4
3区	大	1.3±0.4	0.3±0.4
	中	5.3±2.3	3.7±0.4
	小	19.0±13.6	25.3±12.2

(2区と3区：供試頭数 4頭)

区分	サイズ	発情後5日目	処理開始時
2区	大	1.0	0.5±0.3
	中	2.0±1.2	1.0±0.7
	小	15.0±3.4	13.0±4.2
3区	大	2.0±0.7	0.8±0.3
	中	3.5±1.4	1.0±1.2
	小	21.0±10.2	23.0±10.8

(平均値±標準誤差)

表6 各区での同一牛の胚採取成績

単位：個、%

区分	頭数	採取胚数	正常胚数	正常胚率
1区	3	8.3±4.3	7.7±3.6	95.2±5.8
2区		7.3±3.2	6.7±3.9	77.8±27.2
1区	3	7.3±2.0	6.7±2.3	88.0±8.9
3区		9.7±4.8	8.3±4.7	75.6±4.7
2区	4	6.0±2.7	1.8±1.4	41.7±28.9
3区		6.0±3.6	1.0±0.8	25.0±20.4

(平均値±標準誤差)

考 察

試験区における胚採取成績は、胚採取数、正常胚数および正常胚率とも1区が、高い傾向であった。このことは、発情後5日目の大型卵胞がFSH分泌の特異的な抑制因子として作用するインヒピンを分泌する機能的な主席卵胞<sup>5,6)</sup>であった可能性を示唆するものと思われる。

処理開始時における大型卵胞の再出現率は、1区が2区および3区に比べ有意に低かった。このことは、小林ら<sup>7)</sup>、川俣<sup>8)</sup>が指摘しているとおり、主席卵胞の吸引除去からの経過時間が長くなるに従い、新たな卵胞が主席卵胞へと成長し、この主席卵胞に

より他の卵胞の発育が抑制され、過剰排卵処理に影響を及ぼしたものと考えられた。過剰排卵処理開始時の大型卵胞の有無と胚採取成績との関連性は、前回の報告<sup>1)</sup>と同様処理開始時に大型卵胞の無い供胚牛が良好な成績であり、大型卵胞の存在の有無が胚採取成績に及ぼす大きな要因と考えられた。従って、発情後5日目に大型卵胞を吸引除去後、過剰排卵処理を開始する場合は、機能的な主席卵胞が再度出現する可能性が低い、吸引除去後24時間以内に過剰排卵処理を開始することにより、胚採取成績を向上することができると考えられた。

#### 引用文献

- 1)高仁敏光ら 平成9年度島根県畜産関係機関業績発表会集録:119-122 (1998)
- 2)Huhtinen M.,et al.,Theriogenology 37:475-456 (1992)
- 3)上村俊一 臨床獣医 Vol.15 6:19-24 (1997)
- 4)家畜人工授精講習会テキスト(家畜受精卵移植編), 家畜人工授精師協会 (1996)
- 5)笹本修司 日獣会誌 40:71-82 (1987)
- 6)田谷一善 Hormone Frontier in Gynecology1:67-77 (1994)
- 7)小林修一ら 日畜会報 64(1):45-53 (1997)
- 8)川俣昌和 日本胚移植学雑誌 18(1):1-4 (1996)

