

腔内留置型プロジェステロン製剤が卵巢囊腫牛の卵胞発育 及びホルモンの動態に与える影響について(1)

誌名	鹿児島県肉用牛改良研究所研究報告
ISSN	13419064
著者	轟木, 淳一 金子, 浩之 山口, 浩
巻/号	3号
掲載ページ	p. 17-26
発行年月	1998年3月

腔内留置型プロジェステロン製剤が卵巢嚢腫牛の卵胞発育及びホルモンの動態に与える影響について (第1報)

轟木淳一・金子浩之¹⁾・山口 浩・溝下和則・窪田 力・田原則雄

野口純子¹⁾・菊池和弘¹⁾・田谷一善²⁾・渡辺元²⁾

¹⁾ 農林水産省農業生物資源研究所 ²⁾ 東京農工大

材料及び方法

緒 言

卵巢嚢腫 (以下, COD) は、生産性を阻害する重要な疾病の1つである¹⁾。繁殖障害の発生率は、乳牛では6~30%と報告されており、CODが泌乳に及ぼす経済損失は1万5千円前後になると試算もされている。一方肉用牛での発生率は、それより低いものと思われているが^{2) 3)}、受精卵移植の進展に伴い、過剰排卵処置の反復によるCODの発生が受精卵移植実用化の上で重要な問題点となっている。当研究所でも延べ25% (1995) の発生率である。牛のCODについてはこれまで多くの研究がされてきた^{1) ~ 9)} がその病態については不明な点が多く残されており、本症の原因及び発症機序についても解明されていない。またCODの治療は、主としてヒト絨毛性性腺刺激ホルモンや性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の投与^{10) 11) 12)} または、嚢腫の挫滅等が行われてきたが、必ずしも予後はよくない。

我々は、卵巢嚢腫の新しい治療法確立の一環として、持続的にプロジェステロンを放出する腔内留置型シリコン製剤 (イージーブリード[®], 株式会社オキエー, 以下P剤) を利用し、実験1¹³⁾ では、P剤留置本数別による卵胞の発育動態を観察し、実験2では、卵巢嚢腫のホルモン動態及び卵胞発育に与える影響について検討を加えた。

実験1

- ・ 供試牛：当所飼養の黒毛和種供胚牛6頭
- ・ 診 断：45日間以上無発情で、超音波診断装置で長径が30mm以上の卵胞が存在した牛を卵巢嚢腫と診断した。
- ・ 方 法：卵巢嚢腫6頭にP剤1~3本を、1区2頭ずつ子宮内に留置した (表1)。P剤は各区2頭のうち1頭は14日間留置、もう1頭は、新しいものと交換し、さらに14日間継続留置し、嚢腫サイズの変化及び卵胞の発育状況を1日1回90日間超音波診断装置にて観察した。

表1. P剤本数別挿入期間

P剤本数	頭数	挿入期間 (日)
1	1	14
1	1	28 *
2	1	14
2	1	28 *
3	1	14
3	1	28 *

* 14日目に交換

実験2

1. 供試牛：当所飼養の黒毛和種供胚牛12頭
2. 診断：60日間以上無発情または短く不規則な間隔で発情を繰り返し、超音波診断装置にて囊腫長径が25mm以上の牛を卵巣囊腫とした。
3. 方法：卵巣囊腫12頭をランダムに7頭(試験区)、5頭(対照区)に分類し処置群にはP剤1本、対照群にはシリコンのみを1本14日間留置した。
4. 観察：試験区、対照区とも超音波診断装置(70社製UST-994P-5コンベックス型・5MHz)にて原則的に1日1回、P剤投与前日からP剤除去翌日まで実施した。
5. 採血：試験区、対照区とも末梢血中のプロゲステロン(P₄)、エストラジオール(E₂)、卵胞刺激ホルモン(FSH)及び黄体形成ホルモン(LH)の濃度の推移を調べるため、試験期間を通じて原則的に1日1回頸静脈から採血した。血液はヘパリン加容器に採血後直ちに氷中で冷却し、30分以内に遠心分離して血漿を採取し、-20℃に保存し測定に供した。さらに、LHレベルの状態を調べるため、頸静脈に装着したカニューレから、P剤挿入前日と翌日、P剤挿入後6から8日目、及びP剤除去前日と翌日、15分間隔で8時間採血した。血液は、採血後4℃で一晩放置した後、遠心して分離した血清を-20℃に保存して測定に供した。
6. 血液中のホルモン測定
血液中のP₄・FSH・E₂・LH濃度の測定はいずれもラジオイムノアッセイ法で行った。

結果

実験1. (図1~図6)

P剤留置後6頭中4頭の牛において、30mm以上と確認された囊腫サイズがP剤の留置本数、留置期間に関係なく14日目までに20mm以下、20日目までに10mm以下に縮小した。

2頭の牛においては、囊腫サイズに変化は見られなかった。P剤除去後6頭すべての牛において卵胞の発育波が出現し5日以内に発情が回帰した。(表2)

表2. P剤除去後発情回帰

P剤区	留置期間(日)	除去後発情回帰(日)
1本	14	2
	28	2
2本	14	3
	28	5
3本	14	3
	28	4

その後、全牛について2波の卵胞波が確認され、21~25日のサイクルで、14日間留置牛で3回、28日留置牛で2回発情周期を確認した。

なお、P剤挿入期間中は、すべての供試牛において発情兆候及び発情は確認されなかった。

図1. P剤1本14日間留置

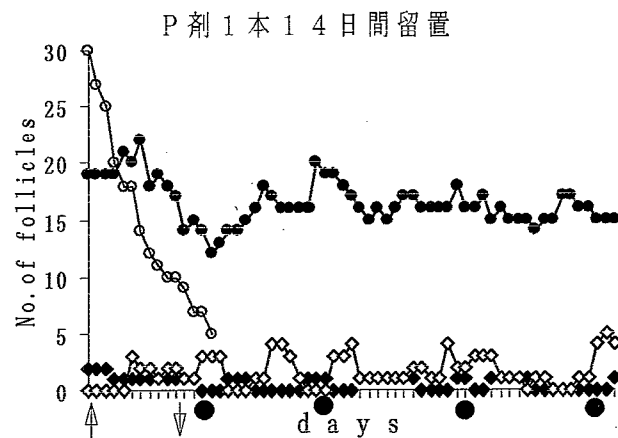


図2. P剤1本28日間留置

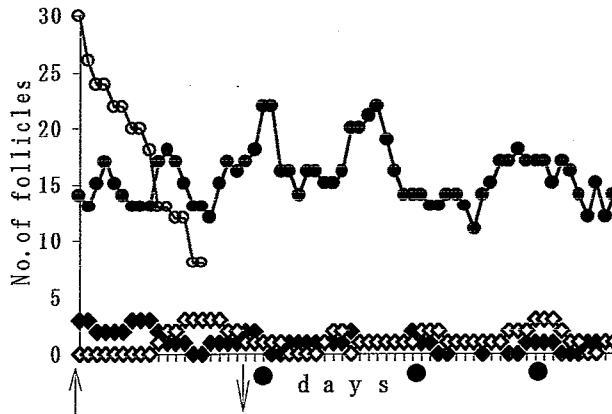


図3. P剤2本14日間留置

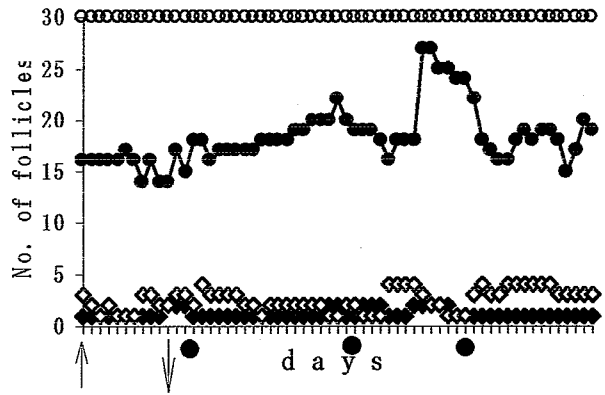


図4. P剤2本28日間留置

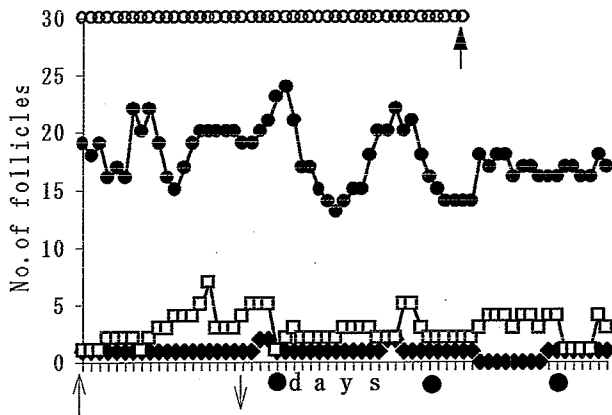


図5. P剤3本14日間留置

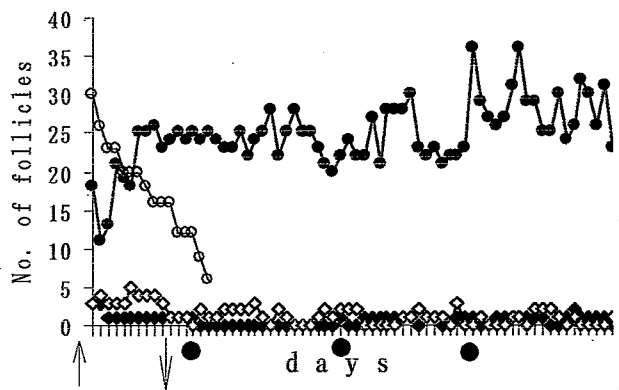
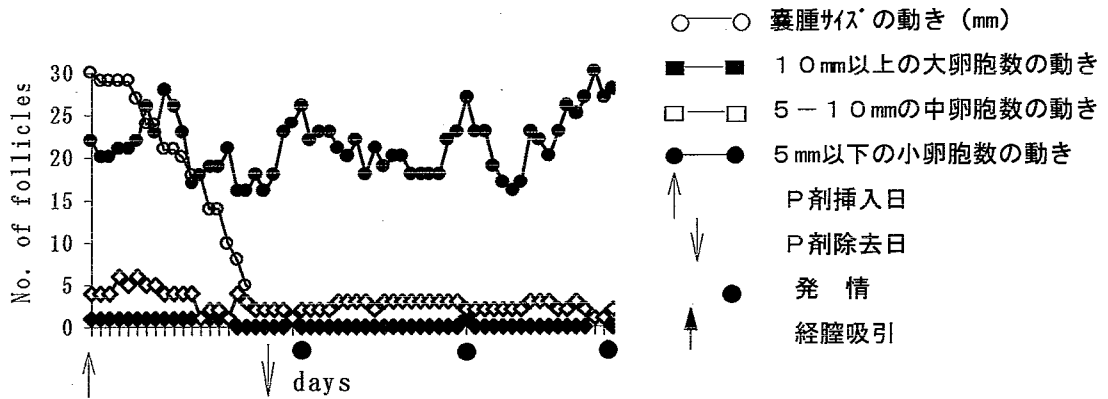


図6. P剤3本28日間留置



実験2. (図7~ 図18)

1) 卵巣囊腫の診断

P4濃度から、試験区では4頭が卵胞囊腫(P4値1ng/ml以下)、3頭が黄体囊腫(P4値1ng/ml以上)、対照区では1頭が卵胞囊腫、4頭が黄体囊腫であると判断された。

2) 囊腫サイズ

囊腫サイズはP剤挿入時、試験区で 27.2 ± 6.4 mm、対照区では 28.6 ± 3.1 mmであったが、P剤除去翌日にはそれぞれ 12.7 ± 3.7 mm 及び 16.8 ± 6.4 mmとなった。

3) 各種ホルモンの動向

血中FSH濃度は、観察期間中両区ともに囊腫以外に卵胞発育波が観察され、それにともない50ng/ml以下から100ng/ml以上に変動を示した。

血中E₂濃度は、対照区では、卵胞囊腫と診断した1頭は、観察期間中1.0pg/mlで推移したのに対し、黄体囊腫と診断した4頭は、5pg/ml前後で推移した。一方試験区7頭中6頭が、P剤挿入期間中、卵胞囊腫、黄体囊腫牛ともに、5pg/ml前後で推移した。卵胞囊腫牛1頭は、P剤挿入9日目頃から除去までの間、15pg/mlまで徐々に上昇した。

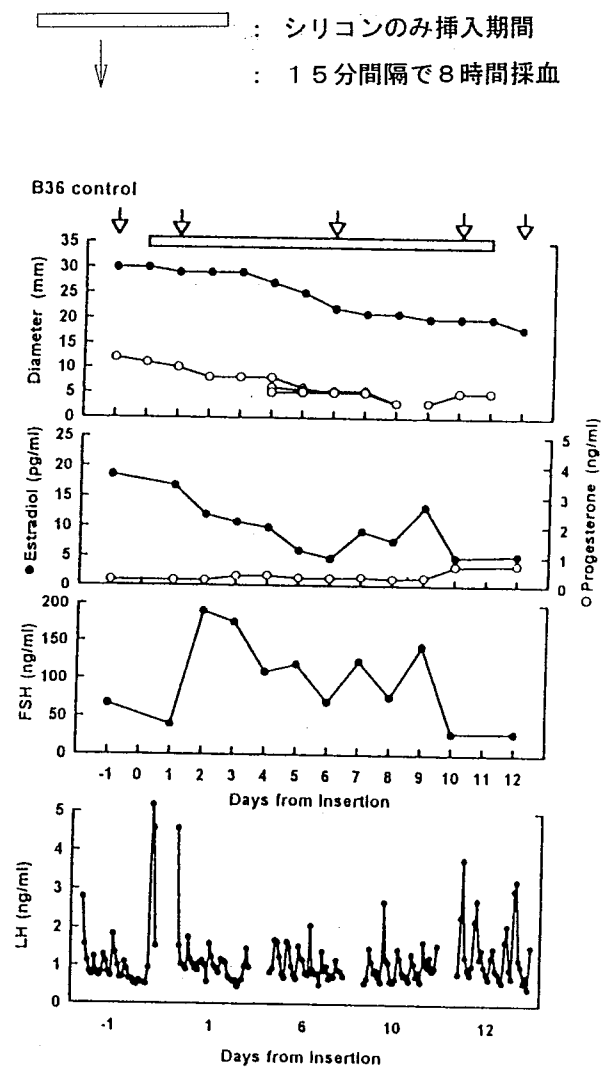
血中P4濃度は、P剤挿入によって、卵胞囊腫牛は、1ng/ml以下から3~6ng/mlへと上昇し、黄体囊腫牛でも3ng/ml以上の上昇幅を示した。P剤挿入後7から10日目より血中P4値は低下傾向を示し、P剤の除去によって1ng/ml以下に低下した。

LHパルスは、対照区では強く、特に卵胞囊腫では1~5ngの間で変動が見られた。一方試験区では、卵胞囊腫牛及び黄体囊腫牛ともに、P剤処置によって抑制され、P剤の除去とともに再び上昇を示した。

4) 発情

対照区では観察期間中2頭に排卵が確認されたが、内1頭はその後黄体囊腫を再発したので、本試験区に編入した。一方試験区では、P剤除去後 3.4 ± 2.0 日で発情が観察され主席卵胞が排卵し、その後一発情周期以上にわたって正常周期が観察された。

図7. 対照区：卵胞囊腫牛の各種ホルモンの動態



▬ : シリコンのみ挿入期間

▽ : 15分間隔8時間採血

図8. 対照区: 黄体囊腫牛の各種卵胞の動態
G84 control

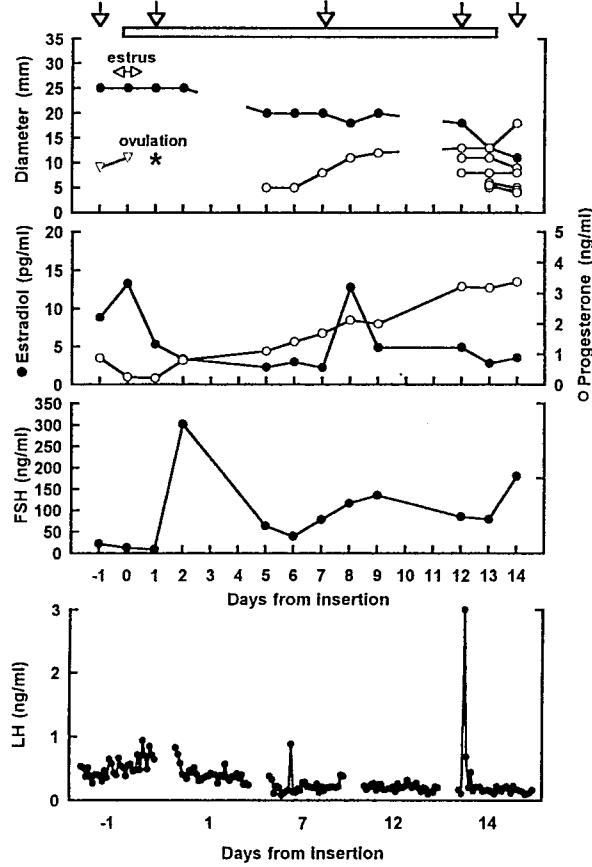


図9. 対照区: 黄体囊腫牛の各種卵胞の動態
G99 control

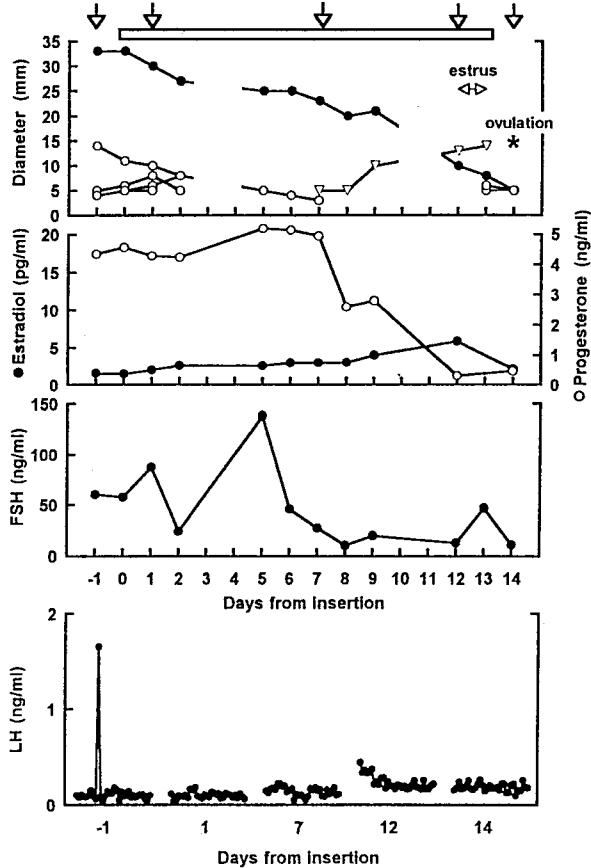


図10. 対照区: 黄体囊腫牛の各種卵胞の動態
G87 control

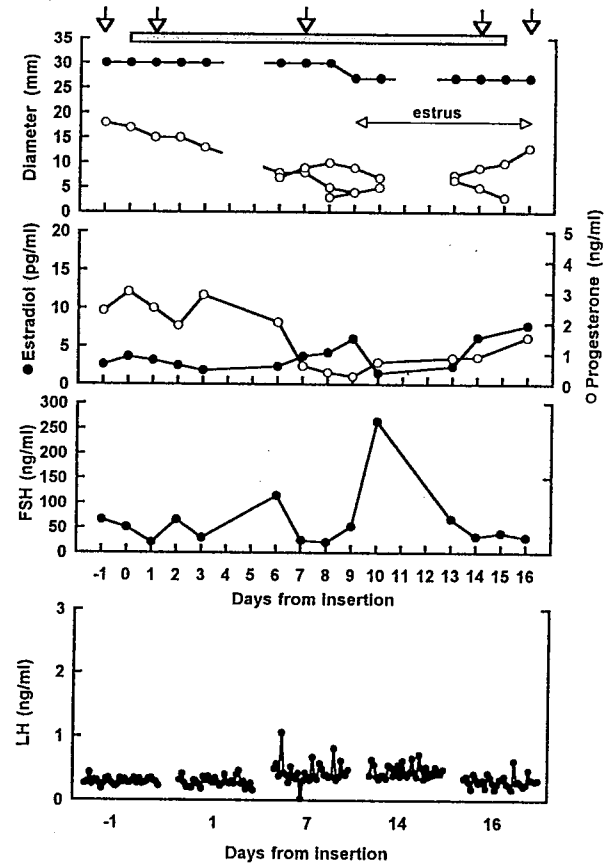
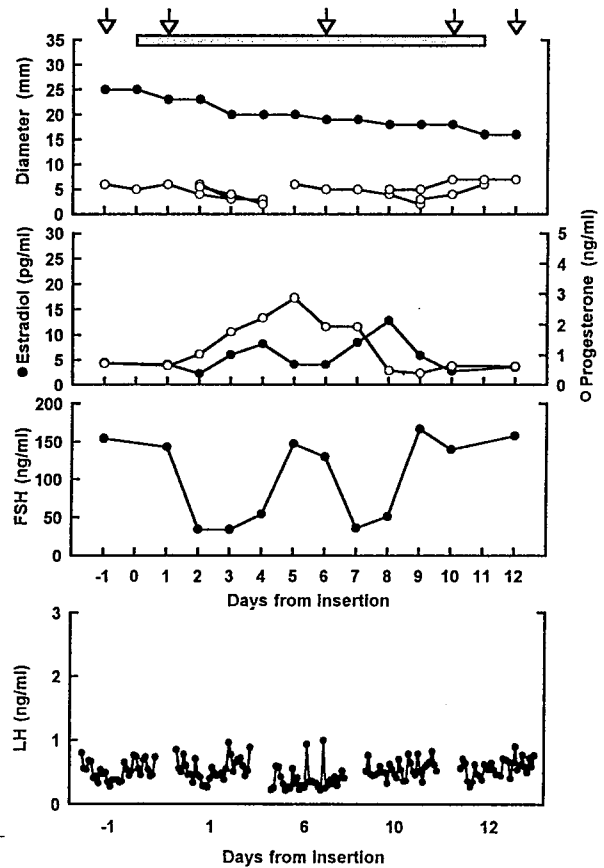


図11. 対照区: 黄体囊腫牛の各種卵胞の動態
G138 control



▭ : P剤挿入期間 ↓ : 15分間隔8時間採血

図12. 試験区: 卵胞囊腫の各種ホルモンの動態

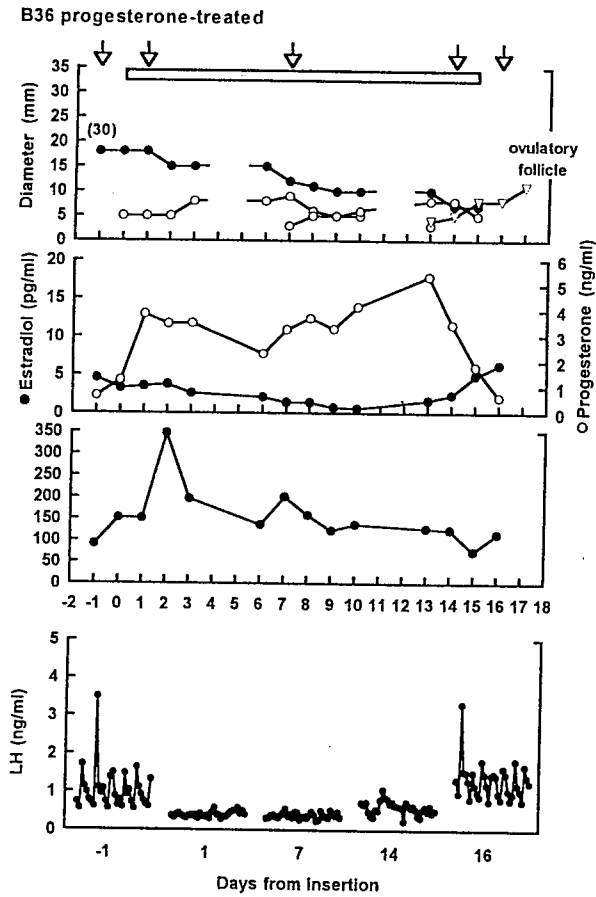


図14. 試験区: 卵胞囊腫の各種ホルモンの動態

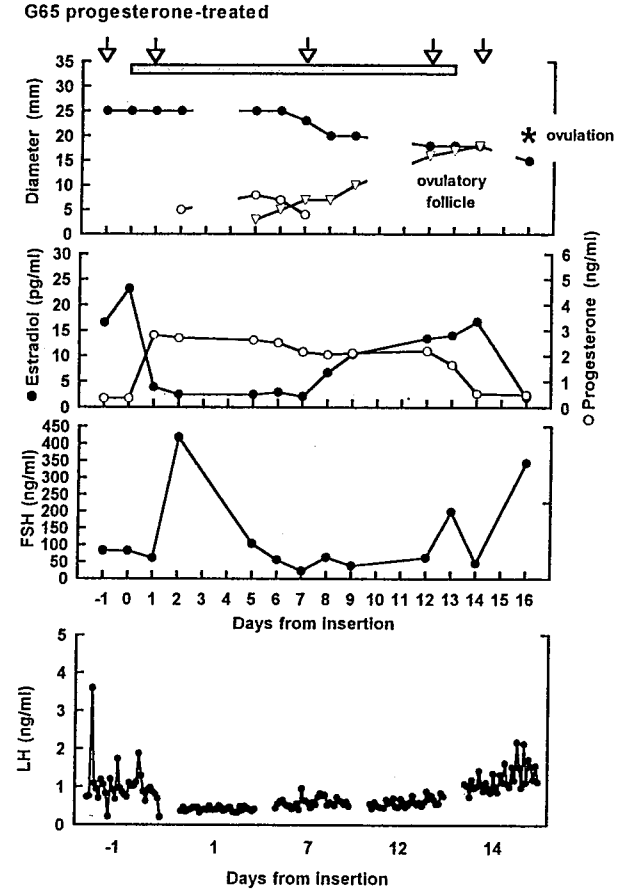


図13. 試験区: 卵胞囊腫の各種ホルモンの動態

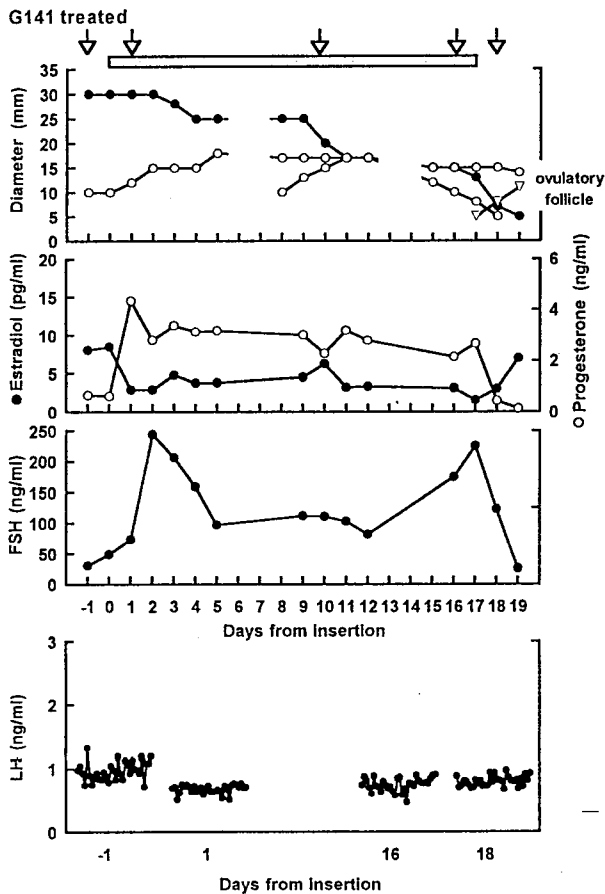
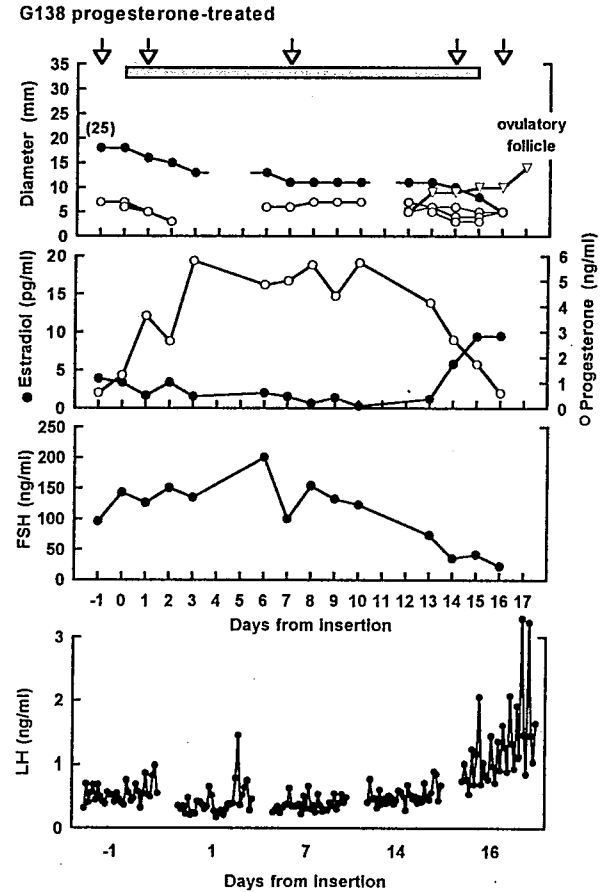


図15. 試験区: 卵胞囊腫の各種ホルモンの動態



▬ : P剤挿入期間 ↓ : 15分間隔8時間採血

図16. 試験区: 黄体囊腫の各種ホルモンの動態

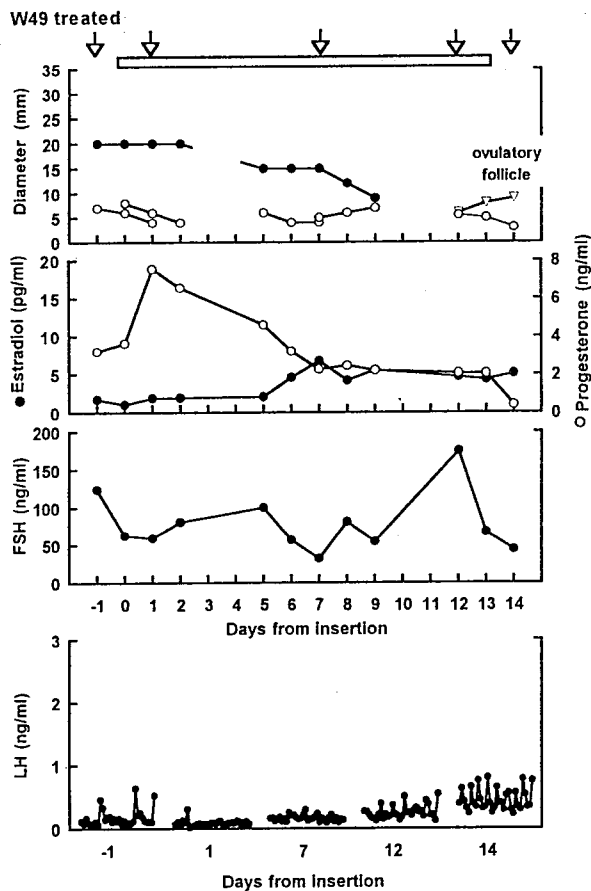


図17. 試験区: 黄体囊腫の各種ホルモンの動態

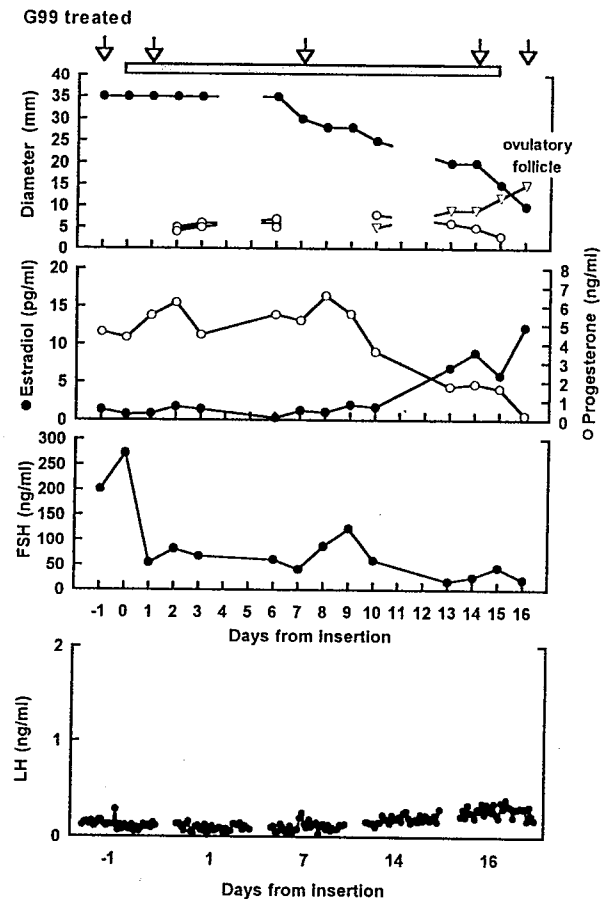
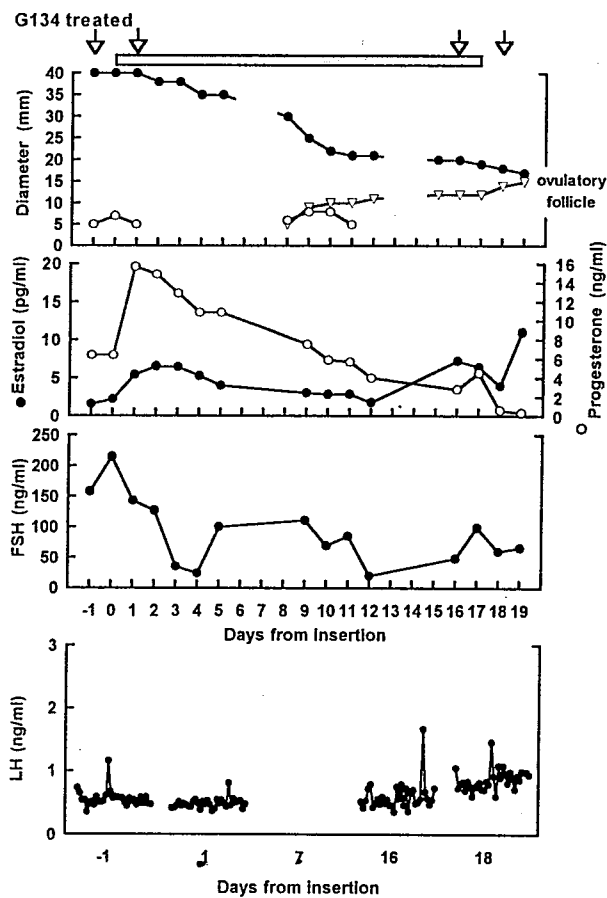


図18. 試験区: 黄体囊腫の各種ホルモンの動態



考 察

受精卵移植技術の現場への定着に伴い、採卵予定の供胚牛観察や移植適否判断のための受胚牛検査（発情から7日目前後）から肉用牛における卵巣嚢腫の発見機会が多くなった。卵巣嚢腫を象徴する嚢腫の数や大きさ、そしてタイプ（卵胞嚢腫又は黄体嚢腫）またはその存続期間は様々である^{14) 15)}。ある症状では、片側あるいは両側の卵巣に嚢腫が複数生じ、それが長期にわたり存続する。対照区の卵胞嚢腫のように観察期間後に卵胞嚢腫が黄体嚢腫に移行する場合もある。繁殖学的に正常な牛では卵胞発育、排卵、黄体形成と関連して、卵胞刺激ホルモン、エストロゲン、黄体形成ホルモンおよびプロゲステロンの濃度は周期的に規則正しく変化する⁶⁾。今回の試験でも、血中FSH濃度の変化に伴い卵胞に動きがあったことからFSHは卵胞発育のコントロールに重要な役割を果たしていると思われる¹⁷⁾。一方卵胞嚢腫牛では一般にこれらホルモンの周期的な変化は見られない。血中P4濃度は低く（P4値1ng/ml以下）、LHパルスは強い（1~5ng/ml間で変動）。今回の実験1での2頭のような、排卵しない卵胞は、種々の異なった閉鎖様式で退行するとMarionら¹⁸⁾は報告している。つまり、顆粒層細胞全体の急速な変性、卵胞膜内膜の肥厚と内分泌細胞の消失が特徴である。我々は、縮小の見られなかった1頭の嚢腫を経膈採取した結果、茶褐色の粘着性の液を8cc位採取した。

CODの原因となる生理的メカニズムについては、完全に解明されていない。排卵が正常に起こることは、視床下部-下垂体-生殖腺軸の一連の相互作用が関与している。そのため、内分泌-受容体の機能障害がCODの原因と考えられている¹⁵⁾が障害部位は個々の牛で異なっている。今回供試した卵胞嚢腫牛のように、長期間にわたりLHサージが起きないなどの理由で、卵胞嚢腫が生じる^{19)~24)}。Brownらは²⁵⁾CODの原因として卵胞壁のLHやFSH受容体の減少を証明している。

現在、現場でのCODの治療は、直腸検査のみで嚢腫のタイプを診断し、卵胞嚢腫の治療にはGnRHの投与^{2) 10)}、黄体嚢腫の治療にはプロスタグランジン投与^{10) 26)}が行われているが、直腸検査での嚢腫タイプの判別は間違いも多い²⁷⁾。Nandらは¹⁰⁾牛のCODに対する最良の方法は、治療効果を持続させるためにプロゲステロン50~100mgを約14日間連日投与することであると報告している。

今回の試験で、P剤留置が卵胞嚢腫及び黄体嚢腫の治療にきわめて有効であることが示され、プロゲステロンの連日投与のような面倒さもなく現場へも定着され易いものと思われる。

P剤は、視床下部に作用してLH分泌を抑制し嚢腫を退行させるとともに、視床下部に一定期間作用することで周期性を回復させるものと推察されるが、黄体嚢腫への治療効果のメカニズムなどについて、さらに臨床試験を行って検討する必要がある。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、各種ホルモンの測定及び採血時期、時間等を御指導いただいた、農林水産省農業生物資源研究所 金子浩之先生と、ご協力いただいた東京農工大学 田谷一善先生をはじめ関係各位に感謝いたします。

この研究は、実験1を1997年第92回日本畜産学会、実験2を1997年第90回日本繁殖生物学会、実験1実験2まとめを1998年世界受精卵移植学会で発表してあります。

参考文献

- 1) 農林水産省 畜産局(1987): 牛の繁殖に関する検査成績, 家畜衛生週報, No. 1973: 323-333
- 2) Youngquist, R. S., Little, T. W. A.; Anestrus and infertility in the cow. Fertility and Infertility in Veterinary Practice, 4th Ed. (J. A. Laing et al., eds.), Bailliere Tindall, London:91-112 (1988)

- 3) Roberts, S. J.; Hormonal disturbances resulting in infertility. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases: Theriogenology*, 3rd Ed. (S. J. Roberts, ed.) S. J. Roberts, Woodstock, Vt.: 478-514 (1986)
- 4) Day, N.; The diagnosis, differentiation, and pathogenesis of cystic ovarian disease. *Vet. Med.* 86 (7): 753-760 (1991)
- 5) Day, N.; The treatment and prevention of cystic ovarian disease. *Vet. Med.* 86 (7): 761-766 (1991)
- 6) Ijaz, A. et al.; The treatment and control of cystic ovarian disease in dairy cattle: A Review. *Br. Vet. J.* 143: 226-237 (1987)
- 7) Lopez-Diaz, M. C., Bosu, T. K.; A review and an update of cystic ovarian degeneration in ruminants. *Theriogenology* 37: 1163-1183 (1992)
- 8) Eystone, W. H. and Ax, R. L. A review of ovarian follicular cysts, with comparisons to the condition in women, rats and rabbits. *Theriogenology* 22: 109-125. (1984)
- 9) Cook, D. L., Smith, C. A., Parfet, J. R., Youngquist, R. D., Brown, E. M. and Garverick, H. A.: Fate and turnover rate of ovarian follicular cysts in dairy cattle. *J. Reprod. Fertil.* 90: 37-46
- 10) Nanda, A. S. et al.; Treatment of cystic ovarian disease in cattle: An Update. *Vet. Bull.* 59: 537-556 (1989)
- 11) White, M. E., Erb, H. N.; Treatment of ovarian cysts in dairy cattle. A decision analysis. *Cornell Vet.* 70: 247-257 (1980)
- 12) A. Y. Ribadu, H. Dobson and W. R. Ward; GnRhで治療した牛の卵巣嚢腫における超音波診断とプロゲステロン測定によるモニタリング. *Br. Vet. J.* 150: 489-497 (1994)
- 13) 轟木淳一, 金子浩之, 山口浩, 溝下和則, 窪田力, 猪八重悟; 腔内留置型プロゲステロン製剤が卵巣嚢腫に及ぼす影響について. 日本畜産学会講演要旨. P171
- 14) Carroll, D. J. et al.; Ovarian structures and plasma progesterone profiles in dairy cows with ovarian cysts. *Theriogenology* 34: 349-370 (1990)
- 15) Thomas R. Kasari, et al. Bovine cystic ovarian disease and the role norgestomet can play in its treatment. *Vet. Med. 臨床獣医*, (5) 43-51 (1997)
- 16) Wagner, W. C.; Principles of hormone therapy. *Current Therapy in Theriogenology* (D. A. Morrow, ed.), W. B. Saunders, Philadelphia, Pa.: 3-19 (1980)
- 17) Adams, G. P. et al.; Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 94: 177-188 (1992)
- 18) Marion, G. B. et al.; Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. *J. Anim. Sci.* 27: 451-465 (1968)
- 19) Nanda, A. S. et al.; Lack of LH response to oestradiol treatment in cows with cystic ovarian disease and effect of progesterone treatment or manual rupture. *Res. Vet. Sci.* 51: 180-184
- 20) Rebsal, K. R. et al.; Basal and setradiol-induced release of gonadotropins in dairy cows with naturally occurring ovarian cysts. *Theriogenology* 30: 679-693 (1988)
- 21) Kesler, D. J. et al.; Reproductive hormones associated with normal and abnormal change in ovarian follicles in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 62: 1290-1296 (1979)
- 22) Dobson, H., Alam, M. G. S.; Preliminary investigations into the endocrine systems of subfertile cattle: location of a common lesion (rate-limiting step). *J. Endocrinol.* 113: 167-171 (1987)
- 23) Zaied, A. A. et al.; Luteinizing hormone response to estradiol benzoate in cows post-partum and cows with ovarian cysts. *Theriogenology* 16: 349-358 (1981)
- 24) Nadaraja, R.; Hormonal changes associated with experimentally produced cystic ovaries in the cow. *J. Reprod. Fertil.* 47: 203-208 (1976)
- 25) Brown, J. L. et al.; Effect of FSH treatment on LH and FSH receptors in chronic cystic-ovarian-diseased dairy cows. *J. Anim. Sci.* 62: 1063-1071 (1986)

- 2 6) Chavatte, P. M. , L. F. Archbald, C. Risco, T. Tran
and D. Sumrall. Theriogenology 40 : 745-755 (1990)
- 2 7) Sprecher, D. J. et al. ; Predictive value of palpation
per rectum versus milk and serum progesterone
levels for diagnosis of bovine follicular and
luteal cysts. Theriogenology 30 : 701-710 (1988)