

過剰排卵処理前の大型卵胞除去が採胚成績に与える影響

誌名	愛媛県畜産試験場研究報告
ISSN	03892859
巻/号	16
掲載ページ	p. 35-36
発行年月	1998年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



過剰排卵処理前の大型卵胞除去が採胚成績に与える影響

— 発情後5日目の大型卵胞吸引除去がその後の採胚成績におよぼす影響 —
佐伯 拓三、河野良輝^{*}、沖本 宏

Effect of Removed of Large Follicles prior to Superovulatory Treatment
Kohzo SAIKI, Yoshiteru KOHONO, and Hiroshi OKIMOTO

雌牛の卵巣では、1性周期に2~3回の卵胞波が認められ、周期的に主席卵胞である大型卵胞が出現することが観察されている。そして、それら主席卵胞の発育に伴い、インヒビンの血中濃度が上昇することが報告¹⁾されている。インヒビンは、FSHに拮抗するホルモンであり、生体内において主席卵胞以外の卵胞の発育を抑制する働きをしている。一方、過剰排卵処理(SOV)は、人為的にFSH濃度を上昇させることにより一度に多くの卵胞を発育させる技術であることから、SOV時に主席卵胞由来のインヒビンが高濃度に存在することは、SOV反応を阻害させる要因となる。このことに関連して、ウシのSOV開始時に存在する主席卵胞は、SOV成績を低下させること^{2, 3)}、SOV処理開始前に主席卵胞を吸引除去することにより胚の回収成績が向上すること⁴⁾などが報告されている。しかし、主席卵胞の確認のためには、経時的な卵巣の観察が必要である。よって、主席卵胞吸引技術をそのまま野外に応用することは困難である。そこで、確認できる大型卵胞が主席卵胞である確率の高い発情後5日目の大型卵胞の吸引除去が、その後の採胚成績に及ぼす影響について調査し、より効率的なSOVプログラムについて検討した。

なお、本試験は農林水産省畜産局「受精卵移植普及定着化事業(技術高度化型)」により、15府県の共同研究として実施した。

材料および方法

供試牛は、場内繋養の黒毛和種経産牛16頭を用い、延べ22回の試験を行った。試験区は以下の4区を設定し、供試牛をランダムに各試験区に割り振った(但し、同一牛が同一試験区を経験することはないこととした)。

1区は、発情後5日目(発情日=0)に大型卵胞(直径8mm以上)の吸引除去を行い、その後24時間後からSOVを開始した。2区は、発情後5日目に大型卵胞の吸引除去を行い、その後48時間後からSOVを開始した。3区は、発情後5日目に大型卵胞の吸引除去を行い、その後72時間後からSOVを開始した。4区は、発情後5日目に卵巣の観察のみを行い、大型卵胞の除去は行わず、7日目からSOVを開始した。SOVは、各区と

もに合計20AUのFSHを3日間にわたり漸減投与した。FSH投与開始後の発情誘起は、PGF2 α 類縁体750 μ g投与により行った。人工授精は、発情を確認したうえでを行い、胚の回収は授精後7日目に常法により行った。回収した胚は、倒立顕微鏡下で品質を判定した。

卵巣の観察は、発情後5日目、SOV開始時および採胚時に行った。観察方法は、超音波画像診断装置(SD-500)を用い、プローブ(動物用電子リニア探触子:M15)を陰内に挿入しプローブ先端に卵巣を保定後、プローブを徐々にスライドさせ卵巣の全エリアをカバーし観察するとともに、画像をビデオプリンターにより記録した。

大型卵胞の吸引除去は、発情後5日目の卵巣観察時に画像で大型卵胞を確認しながら、経膈採卵用の針を用いて行った。

なお、成績についての統計分析は、SOV開始時に大型卵胞の不在、存在の差により採胚成績を2つにグループ分けを行い、総回収胚数、正常胚数についてt検定を行った。

結 果

発情後5日目に認められた大型卵胞を吸引除去したにもかかわらず、SOV開始時に再び大型卵胞が存在していたものは、1区で0%、2区で37.5%、3区で50.0%であった。また、4区においてSOV開始時の大型卵胞は、全頭に認められた。(表1)

Table.1 Rates of presence of large-size follicles at beginning of superovulatory treatment

	No. of animals	No. of animals Having large-size follicles	Rate of presence (%)
Exp. 1	4	0	0
Exp. 2	8	3	37.5
Exp. 3	6	3	50.0
Exp. 4	4	4	100

1区の採胚成績は、総回収胚数8.5個、正常胚数5.5個であった。2区の採胚成績をSOV開始時に大型卵胞が存在していなかった群(不在群)、存在していた群(存

在群)にグループ分けすると、不在群、存在群それぞれの総回収胚数は、7.8個、2.3個、正常胚数は、3.6個、1.3個であった。同様に3区の採胚成績を不在群、存在群にグループ分けすると、それぞれの総回収胚数は、6.3個、2.7個、正常胚数は両群ともに1.3個であった。4区の採胚成績は、総回収胚数4.3個、正常胚数1.8個であった。(表2)

Table.2 Results of collecting embryo

	Presence of large-size follicles	No. of animals	No. of total embryos	No. of transferable embryos
Exp. 1	Absence	4	8.5	5.5
Exp. 2	Absence	5	7.8	3.6
	Presence	3	2.3	1.3
	Total	8	5.8	2.8
Exp. 3	Absence	3	6.3	1.3
	Presence	3	2.7	1.3
	Total	6	4.5	1.3
Exp. 4	Presence	4	4.3	1.8

次に、今回試験を行った22回の採胚成績について、SOV開始時の大型卵胞の不在、存在の差により不在群、存在群にグループ分けを行い採胚成績を比較した。総回収胚数は、不在群7.7個に対して存在群3.2個であり、不在群の総回収胚数成績が有意($P < 0.01$)に高かった。しかし、正常胚数においては、有意な差は認められなかった。(表3)

Table.3 Effect of large-size follicles to collecting embryo

	No. of animals	No. of total embryos	No. of transferable embryos
Absence	12	7.7 a	3.7
Presence	10	3.2 a	1.5

a - a : $P < 0.01$

考 察

発情後5日目に大型卵胞の吸引除去を実施した1~3区において、その後SOV開始時に再び大型卵胞が認められたものは、1区0%、2区37.5%、3区50.0%であり、大型卵胞吸引後時間の経過とともにその存在率が高くなる傾向が認められた。このことは、大型卵胞を吸引除去することにより、インヒビンの影響が低下し、吸引時8mm以下であった卵胞群から選択された卵胞が大型卵胞に発育したものと考えられた。

宗田ら⁵⁾は、発情後5日目に直径8mm以上の大型卵胞を吸引除去し、その後48時間目よりSOVを開始し

たところ、吸引除去しなかったものに比べ、総回収胚数、正常胚数に有意な差が認められなかったことを報告している。今回の試験でも同様な方法でSOVを開始した2区と吸引除去しなかった4区の成績を比較すると、総回収胚数は2区で5.8個、4区で4.3個、正常胚数は2区で2.8個、4区で1.8個と差は認められなかった。しかし、2区において吸引除去により大型卵胞のコントロールに成功したと考えられるSOV開始時大型卵胞不在群における採胚成績は、総回収胚数7.8個、正常胚数3.6個であり、4区の成績と比べ高い傾向を示した。また、大型卵胞のコントロールに成功したと考えられるSOV開始時大型卵胞不在群12頭の総回収胚数は、SOV開始時大型卵胞存在群10頭の成績に比べ有意に高い成績となった。

以上のことから、SOV開始時に存在する8mm以上の卵胞の存在は、採胚成績に負の影響をおよぼすことが示された。このことから、SOV開始前に大型卵胞を吸引除去することは、採胚成績を向上させるために有効な方法であると認められた。ただし、大型卵胞吸引除去法では、時間の経過とともに存在率が高くなることから、吸引除去後24時間目にSOVを開始することにより成績が安定するものと考えられた。

参考文献

- 1) H. Kaneko, H. Kisi, G. Watanabe, K. Taya, S. Samoto, Y. Hasegawa: Changes in Plasma Concentrations of Immunoreactive Inhibin, Estradiol and FSH Associated with Follicular Waves during the Estrus Cycle of the Cow. *J Reprod Dev*, 41, 311~320, 1995
- 2) F. Grasso, L. A. Guibault, G. L. Roy, J. G. Lussier: Ultrasonographic Determination of Ovarian Follicular Development in Superovulated Heifers Pretreated with FSH-P at the Beginning of the Estrous Cycle. *Theriogenology*, 31, 1209~1220, 1989
- 3) M. Huhtinen, V. Rainio, J. Aalto, P. Bredbacka, A. Maki-Tanila: Increased Ovarian Responses in the Absence of a Dominant Follicle in Superovulated Cows. *Theriogenology*, 37, 457~463, 1992
- 4) B. R. Lindsey, C. R. Looney, D. J. Funk, D. C. Faber, C. S. Gue, A. J. Kramer: The Effect of Apparent Dominant Follicle Removal (DFR) prior to FSH Treatment on Superstimulated Response in Problem Donors. *Theriogenology*, 41, 238, 1994
- 5) 宗田吉広、横田昌巳、今井敬、堂地修: 発情後5日目の大型卵胞の吸引除去がその後のウシ過剰排卵処理成績に及ぼす影響、第89回日本繁殖生物学会講演要旨、112、1996