

分娩後の牛の卵胞形成に及ぼす carry-over effect の影響

上村俊一・水嶋幸子・永野理樹・浜名克己

(家畜臨床繁殖学研究室)

平成6年8月10日 受理

Previous Pregnancy Carry-over Effects on the Folliculogenesis in the Postpartum Cows Ovaries

Shunichi KAMIMURA, Yukiko MIZUSHIMA, Masaki NAGANO and Katsumi HAMANA

(Laboratory of Veterinary Reproduction)

緒 言

牛の卵巣では、直径が2 mm～6 mmの卵胞群のうち、1個が dominant follicle (卵胞の直径が10 mm以上の最大卵胞¹²⁾: 以下 DF と略) として選択され、発育し、他の中卵胞の発育を抑制する^{1,12,14)}。正常性周期では、DF が2回～3回にわたり順次発育し、退行あるいは排卵する follicular wave があるが^{3,14)}、分娩後早期の牛の卵巣における報告は少ない^{4,5,8,14)}。正常分娩の乳牛では、通常分娩後3週間以内に初回排卵があり、35日目頃に初回発情が発現する^{4,10,14)}。黒毛和種でも分娩後23日目には直径18 mmの卵胞が見られ⁵⁾、分娩後46日および54日目の卵巣には機能的な黄体が認められたとする報告⁹⁾がある。一方、前回妊娠角と同側の卵巣では分娩後の初回排卵が抑制される carry-over effect (持ち越し効果) があるとされるが^{2,13)}、その影響は見られないとする報告⁶⁾もあり、詳細は不明である。

そこで、分娩後、初回排卵までの DF の動態を超音波断層装置により継続的に観察し、carry-over effect の影響を検討するとともに、分娩時の異常が卵巣機能に及ぼす影響を ovarian map を作製して検討した。

材 料 と 方 法

供試牛は、北海道立根釧農業試験場で飼養中のホルスタイン乳牛64頭(2産～7産)および鹿児島県内の畜産農家で飼養されている黒毛和種10頭(初産～2産)の74頭である。調査は、原則として分娩後

6日目より2回/週の間隔で、同一術者が直腸検査と超音波断層装置により生殖器を観察した。試験を始めるに当たり、まず超音波断層装置による卵巣所見の診断精度を確認するため、正常な牛の生殖器について超音波断層装置による観察を行い、翌日牛を剖検し、摘出した生殖器を肉眼的に観察した。その後、実際の牛について超音波断層装置による観察を行い、主に卵巣における DF の動態について検討した。直腸検査および超音波断層像で卵巣の DF が次回観察時に消失し、その後黄体の形成が見られた場合を排卵とした。超音波断層装置は、Aloka SSD-630およびAloka SSD-210 DX (アロカ、東京) に7.5 MHz あるいは5.0 MHz の探触子を装着して用いた。供試した乳牛64頭および黒毛和種10頭はいずれも正常分娩であり、また分娩後の試験期間中、繁殖障害に対しては原則として治療せず経過を観察した。また、分娩時の異常が卵胞形成に及ぼす影響を検討するため、産褥性起立不能症や消化器病により分娩後早期(分娩後2日～19日)に淘汰された16頭(ホルスタイン乳牛12頭、黒毛和種4頭)について生殖器を収集し、ovarian map を作製した。これは卵巣を10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、2 mmの厚さで卵巣の長軸に沿って連続的に薄切し、各断面における卵胞の数や形状を観察することにより卵巣における卵胞分布を見るものである (Fig. 1)。

得られた結果は、各群毎の平均値について Student's *t*-test および χ^2 検定により推計学的に処理した。

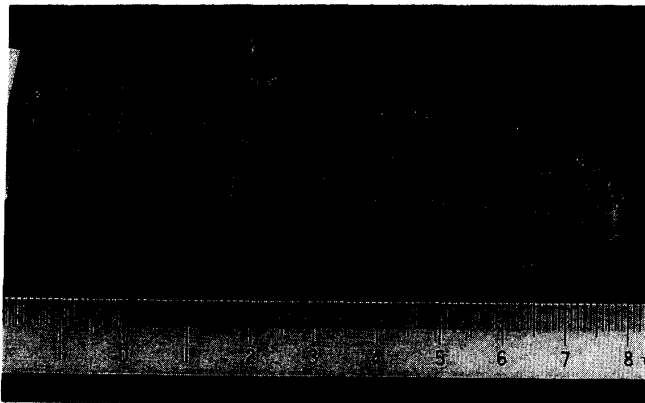


Fig. 1. Ovaries fixed with 10% formaldehyde were dissected serially by the criterion of 2 mm width, and the third dimensional follicular profiles, so called ovarian map, were designed

結 果

1. 卵巣の超音波断層像

卵胞は、エコーレベルの低い黒い円、あるいは楕円形の画像として描出され、2 mm以上の卵胞では数や形態が確認できた (Fig. 2). 黄体は、エコーレベルの高い楕円形の画像として描出され、性周期によりエコーレベルが変動し、内部に液を含んだ中心腔を持つ黄体もあった。

2. 分娩後の卵巣における卵胞形成

前回妊娠における妊娠子宮角は、乳牛で左子宮角 30/64頭 (46.9%)、右子宮角 34/64頭 (53.1%) および黒毛和種で同様に 6/10頭 (60.0%)、4/10頭 (40.0%) と左右の妊娠率についていずれも差は見られなかった (Table 1). 一方、分娩後卵巣における初回 DF の形成を前回妊娠子宮角との関連で見ると、乳牛では前回妊娠角と同側卵巣に 9/64頭



Fig. 2. Ultrasound images of follicles and corpus luteum were correlated with the visual findings in the removed ovary. In ultrasonography, echogenic corpus luteum with 25 mm in diameter and hypogenic DF with 19 mm in diameter were clearly observed.

Left: Removed ovary

Right: Ultrasound image

Arrow indicates corpus luteum.

(14.1%), 反対側卵巣に 55/64頭 (85.9%) と反対側卵巣が有意に多かった ($P < 0.01$). また、これらの DF が発育し、そのまま初回排卵する割合は前回妊娠角と同側卵巣で 2/9頭 (22.2%), 反対側卵巣で 32/55頭 (58.2%) と反対側卵巣が有意に高かった ($P < 0.01$). 黒毛和種では、初回 DF の形成と前回妊娠子宮角との間に特に関連は見られなかったが (同側卵巣: 4/10頭, 反対側卵巣: 6/10頭), 初回 DF の排卵率では同側卵巣 1/4頭 (25.0%) および反対側卵巣 4/6頭 (66.7%) と反対側卵巣で有意に高かった ($P < 0.05$).

品種を超えて牛の産次毎に卵胞形成を検討したところ、初回 DF の形成には産次毎の差は見られなかったが、前回妊娠子宮角の反対側卵巣における初回排卵率は 5産次以降で 1/6頭 (12.5%) と低下し、4産次以前の牛 (初産~4産の合計 38/55頭,

Table 1. Location of the previous gravid uterine horns and first dominant follicles (DF: diameter ≥ 10 mm) in the ovaries, and their succeeding ovulations in postpartum cows

	No. of cows	Location of gravid-horn		Location of first DF in the ovary		Ovulations of first DF in the ovary	
		Left	Right	Post-gravid	Non-gravid	Post-gravid	Non-gravid
Dairy cows	64	30	34	9 ^A	55 ^B	2 ^C	32 ^D
Beef cows	10	6	4	4	6	1 ^a	4 ^b
Total	74	36	38	13	61	3	36

Significant difference of the location of DF and ovulations in the ovaries between the post-gravid and the non-gravid uterine horn (A vs. B, C vs. D: $P < 0.01$, a vs. b: $P < 0.05$).

Table 2. Ovulation rate of dominant follicles (DF) characterized by the criterion of the number of parity in postpartum cows

No. of parity	No. of cows	No. of DF detected in non-gravid ovary (%)	No. of DF ovulated in non-gravid ovary (%)
1	10	7 (70.0)	7 (70.0) ^a
2	26	21 (80.8)	15 (57.7) ^a
3	17	14 (82.4)	9 (52.9) ^a
4	13	13 (100.0)	7 (53.8) ^a
5-7	8	6 (75.0)	1 (12.5) ^b

^{a,b} Significant difference in the number of DF ovulated, assorted by the number of parity ($P < 0.01$).

Table 3. No. of follicles characterized by the diameter in post gravid and non-gravid ovaries in the postpartum reproductive organs collected from abattoir

Ovary	Diameter (mm)							Total no. follicles	Maximum diameter (mm)	
	-2	-4	-6	-8	-10	-12	12<		CL	LF
Post gravid	22.3	7.1	0.6	0.5	0.12	0.06	0.06	22.5	14.6	5.4
Non-gravid	21.5	6.5	1.2	0.2	0.18	0.18	0.06	28.8	—	5.4

The number of organs collected was 16.

CL: corpus luteum of previous pregnancy, LF: largest follicle

69.1%) との間に有意差が見られた (Table 2, $P < 0.01$).

3. Ovarian map による卵胞分布

分娩時に異常があり、廃用処分された牛の卵巣における卵胞数を卵胞の直径により 2 mm 毎に区切って検討した。その結果、直径 4 mm 以下の卵胞数は多かったが、10 mm 以上の DF は前回妊娠角と同側卵巣で平均 0.24 個、反対側卵巣で 0.42 個と正常分娩の乳牛や黒毛和種に比べ少なかった (Table 3)。また、卵巣における卵胞直径毎の卵胞数や最大卵胞の直径には、前回妊娠角と非妊娠角の卵巣間に差は見られなかった。

考 察

卵巣は通常、左右両方で 1 つの器管として働き、左右差はないとされる。しかし、卵巣における DF は正常性周期では機能的黄体と共存する例が多く、逆に妊娠初期では妊娠黄体の反対側卵巣に発現する傾向にある^{1,11)}。今回、分娩後早期の卵巣における卵胞形成を超音波断層装置により継続的に観察したところ、初回 DF の形成は前回妊娠角の反対側卵巣に高率に発現する傾向にあった。また、それらの初回 DF が発育し、そのまま初回排卵する割合も反対

側卵巣が同側卵巣より有意に高かった。これらは前回妊娠子宮角、あるいは妊娠黄体の存在が分娩後の同側卵巣における卵胞形成および初回排卵に抑制的に影響する持ち越し効果 carry-over effect が存在することを示唆している。今回の結果は、産褥期の卵巣においては、前回妊娠角が非妊娠角より胞状卵胞の成長が遅く、排卵頻度も低いとする従来の報告^{2,13)}と一致した。産次と初回排卵の関係では、5 産次以降の高産次になると 4 産次以前より分娩後の初回 DF の排卵率が低下する傾向にあり、高産次の牛では分娩の卵巣機能回復の遅延が示唆された。

Carry-over effect は、分娩後およそ 50 日間は卵胞形成に抑制的に影響するが、いったん DF が排卵し、黄体が形成されるとその影響は無くなる⁶⁾とされる。今回、分娩時に異常があり、産褥性起立不能症や消化器病等によりストレスが負荷された状態では卵胞発育そのものが抑制され、DF の形成も少なく、carry-over effect の影響も見られなかった。分娩後の卵巣機能の回復には、難産や産褥性起立不能症などのストレスによる視床下部や下垂体などへの影響が報告されており⁷⁾、今回の異常牛でも同様の原因が推察される。また、これらの牛の生殖器では分娩後の子宮修復の遅延や子宮壁の損傷が見られ、元来分娩後の子宮修復と卵巣機能には強い関連のあ

ることから^{4,9,10)}、卵巣機能の回復が遅延したものとされた。

今回の結果より、牛群の生産性向上対策として近年各地で実施されている分娩後の定期繁殖検診の際、前回妊娠子宮角の反対側卵巣にDFの形成や黄体が存在すれば該牛の卵巣機能の回復は早い、同側卵巣ではDFは排卵せず退行し、初回排卵までの期間が延長する傾向にあるなどの判断指標が得られた。

要 約

分娩後、牛の卵胞形成に及ぼす前回妊娠子宮角の影響 (carry-over effect) について超音波断層装置により継続的に観察した。供試牛としてホルスタイン経産牛64頭 (3.1±1.4産)、黒毛和種経産牛10頭 (1.2±0.4産) ならびに分娩後早期に淘汰された産褥期の生殖器16例 (分娩後6.8±5.5日) を用いた。牛は原則として分娩後6日目より初回排卵まで2回/週直腸検査と超音波断層装置による観察を行った。生殖器についてはホルマリン固定後、厚さ2mmで薄切し、卵胞分布 (ovarian map) を作製した。左右子宮角の妊娠率では、74頭中左子宮角が36例、右子宮角が38例と差がなく、牛の品種毎にも差がなかった。一方、卵胞の直径が10mm以上の dominant follicle (DF) の形成は前回妊娠角と同側卵巣に13頭、反対側卵巣に61頭と反対側卵巣で有意に多く、また初回排卵率も同側卵巣3/13頭、反対側卵巣36/61頭と反対側卵巣が多かった。産次と初回排卵の関係では、5産次以上になると4産次以前より前回DFの排卵率が低下する傾向にあった。また、分娩後の異常で廃用とされた牛では、DFの形成が少なく、左右卵巣における卵胞分布に前回妊娠子宮角との関連は見られなかった。牛の妊娠率には左右子宮角で差は見られないが、分娩後の卵胞形成や初回排卵は前回妊娠角と同側卵巣において有意に抑制され、carry-over effect の存在が示唆された。

謝辞 本文の校閲を賜った本学農学部清水亮佑教授に深甚なる謝意を表す。本研究の一部は平成6年度文部省科学研究費 No. 06660404による助成を受けた。

引用文献

- 1) Driancourt, M. A.: Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology* **35**, 55-79 (1991)
- 2) Dufour, J. J. and Roy, G. L.: Distribution of ovarian follicular populations in the dairy cow within 35 days after parturition. *J. Reprod. Fertil.*, **73**, 229-235 (1985)
- 3) Ginther, O. J., Kastelic, J. P. and Knopf, L.: Intraovarian relationships among dominant and subordinate follicles and the corpus luteum in heifers. *Theriogenology* **32**, 787-795 (1989)
- 4) Kamimura, S., Ohgi, T., Takahashi, M. and Tsukamoto, T.: Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in Holstein cows. *J. Vet. Med. Sci.*, **55**, 643-647 (1993)
- 5) Kamimura, S., Sameshima, H., Enomoto, S. and Hamana, K.: Turnover of ovulatory dominant follicles and non-ovulatory dominant follicles in postpartum Japanese black cows. *J. Reprod. Dev.*, in press
- 6) Lewis, G. S., Thatcher, W. W., Bliss, E. L., Drost, M. and Collier, R. J.: Effects of heat stress during pregnancy on postpartum reproductive changes in Holstein cows. *J. Anim. Sci.*, **58**, 174-186 (1984)
- 7) Lucy, M. C., Stales, C. R., Michel, F. M. and Thatcher, W. W.: Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **74**, 473-482 (1991)
- 8) Murphy, M. G., Boland, M. P. and Roche, J. F.: Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in postpartum beef suckler cows. *J. Reprod. Fertil.*, **90**, 523-533 (1990)
- 9) 岡野 彰, 福原利一, 塩谷康生, 小畑太郎: 黒毛和種における分娩後の子宮形態の復古. 中国農業試験場報告 (B), **25**, 1-10 (1981)
- 10) Peter, A. T. and Bosu, W. T. K.: Relationship of uterine infections and folliculogenesis in dairy cows during early puerperium. *Theriogenology* **30**, 1045-1051 (1988)
- 11) Pierson, R. A. and Ginther, O. J.: Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology* **29**, 21-37 (1988)
- 12) Roche, J. F. and Boland, M. P.: Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states. *Theriogenology* **35**, 81-90 (1991)
- 13) Saiduddin, S., Riesen, J. W., Tyler, W. J. and Casida, L. E.: Some carry-over effects of pregnancy on postpartum ovarian function in the cows. *J. Dairy Sci.*, **50**, 1846-1847 (1967)
- 14) Savio, J. D., Keenan, L., Boland, M. P. and Roche, J. F.: Pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.*, **83**, 663-671 (1988)

Summary

64 Holstein cows and 10 Japanese black cows were subjected for examining the carry-over effects of previous pregnancy on to the postpartum folliculogenesis. A series of monitoring by ultrasonography, beginning on the 6th and ending at the first ovulation were carried out twice a week, and the following results were obtained. Concerning the locations of gravid horn (left and right uterine horns, respectively) at the previous

pregnancy, no considerable difference was noted between the two, namely, in the individuals of 36 cows the location was noted at the left uterine horns and in those of 38 cows, at the right uterine horns, respectively. On the other hand, as to the emergence of first dominant follicle ($DF \geq 10$ mm in diameter) and ovulations, significant observations of both of which were made in the non-gravid ovaries rather than in the post-gravid ones (DF detection ratios: 61/74 versus 13/74, ovulation: 36/61 versus 3/13, both in $P < 0.01$ level). As to the relationship between the number of calvings and ovulation of the first DF, ovulation rate was apt to be decreasing in cows which had undergone more than 5 times of calvings, compared with those less than 4 times of calvings. Follicular profiles determined in the ovarian map designed by serial ovarian dissections indicated that folliculogenesis was apt to be suppressed in cows with abnormal pregnancy. Suppressive carry-over effects of the previous pregnancy upon the postpartum folliculogenesis and ovulation were obviously observed in the post-gravid ovaries.