

先天異常子牛と異性双胎子牛の染色体検査

浜名克己・吉田 均*1・祝迫正樹*2・田浦保穂*3

(家畜臨床繁殖学研究室)

平成3年8月10日 受理

Cytological Examination of Calves with Congenital Defects and Heterosexual Twins

Katsumi HAMANA, Hitoshi YOSHIDA,

Masaki IWAIZAKO and Yasuho TAURA

(Laboratory of Veterinary Reproduction)

緒 言

近年、家畜の染色体に関する研究は急速に進展し^{2,17)}、その異常の多くが生産性の低下に直接関連することが明らかにされてきた。

牛の染色体異常の代表的な例はフリーマーチンである。一般に異性双胎で生まれた雌の約92%は性成熟に達しても発情を示さないが、このような絶対不妊症の雌をフリーマーチンと呼んでいる¹⁴⁾。これは子宮内での雄胎子と雌胎子の胎盤血管が吻合し、両胎子間に血液交流が生じることに由来し、その結果として染色体は雌雄ともキメラ (XX/XY) を示す。フリーマーチンは異性双胎に限らず、異性多胎¹⁴⁾や単胎雌牛^{3,16,20,21,23)}にも認められている。

ついで多いのが染色体転座で、とくに1/29転座は世界各地38品種以上の牛に見い出されている¹⁷⁾。さらに性染色体と常染色体のトリソミー、XY性腺発育不全症 (XY female)、2倍体と倍数体モザイクなどの例が報告されている¹⁷⁾。

一方、染色体異常は先天異常の重要な原因の1つであるが、牛ではその関連がなおよく研究されていない。菱沼ら⁸⁾は北海道大学において、種々な先天異常や疾病を示す牛72例の染色体検査を実施し、脳水

腫1例と生殖器異常14例 (うち11例はフリーマーチン) に染色体異常を認めている。

本研究では南九州に発生した先天異常子牛と異性双胎子牛を対象として染色体検査を実施し、その関連を検索した。

材 料 と 方 法

先天異常子牛は宮崎県から23例を、異性双胎子牛は宮崎県と鹿児島県から10組を収集して材料とした。先天異常子牛については、品種、性、日齢、産次、出生時とその後の状況を記録した。搬入後は体重測定後、臨床および病理学的に観察し、診断は主に器官系統別分類による病名を用いた。異性双胎子牛は外部生殖器の観察と膣長の測定を行い、病理学的検査は実施しなかった。

染色体検査は、ヘパリン加静脈血または胸骨体穿刺による骨髓液を材料とし、菱沼¹¹⁾の方法に従って、白血球培養、標本作成、染色、観察を行った。観察は細胞数100個以上を目標としたが、幼若牛では一般に分裂が悪く、十分な数の中期核板像の得られないことも多かった。

本研究では、先天異常子牛については主に染色体の数を、異性双胎子牛については主に性染色体を観察した。

結 果

先天異常子牛23例の概要と染色体検査の結果をTable 1に示した。品種別では黒毛和種18例、ホルスタイン種5例で、性別では雄10例、雌13例であった。

異常の種類は、複合異常が5例に認められたため計28例となり、その内分けは関節湾曲症が6例と最

*1高知県庁畜産課, 高知市丸ノ内1-2-20
Animal Section, Kochi-kencho, 1-2-20 Marunouchi,
Kochi

*2指宿地区農業共済組合, 鹿児島県指宿市西方1985-3
Ibusuki Agricultural Mutual Aid Association, 1985-3
Nishikata, Ibusuki, Kagoshima

*3山口大学農学部, 山口市吉田1,677-1
Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1,677-1
Yoshida, Yamaguchi

Table 1. Calves with congenital defects and chromosome examination

No.	Breed* ¹	Sex	Age days	B.W. kg	Parity	Defects	Chromosome
1	JB	female	21	—	4	Internal hydrocephalus, Arthrogryposis	60XX
2	JB	male	1	30	4	Arthrogryposis	60XY
3	JB	female	15	32	3	Suppurative encephalitis	60XX
4	JB	male	2	15	4	Arthrogryposis	60XY
5	JB	female	59	25	1	Weak calf	60XX
6	Hol	female	10	28	1	Cleft palate	60XX
7	JB	female	1	15	6	Arthrogryposis	60XX
8	Hol	male	1	46	2	Hydranencephaly	60XY
9	JB	male	172	80	3	Weak calf	60XY
10	JB	female	8	34	12	Hydranencephaly	60XX
11	JB	female	1	21	5	Dermoid	60XX
12	JB	female	1	23	3	Hydranencephaly, Cerebellar aplasia	60XX
13	JB	female	5	18	4	Internal hydrocephalus, Cerebellar hypoplasia	60XX
14	Hol	male	54	50	1	Amelia of left hind limb	60XY
15	JB	male	0	20	5	Brachygnathia inferior	case 1* ²
16	JB	female	0	27	7	Cleft palate, Arthrogryposis	60XX
17	JB	female	3	22	3	Arthrogryposis	60XX
18	JB	male	104	51	4	Weak calf	60XY
19	JB	male	28	24	12	Prognathia inferior	case 2* ²
20	JB	female	2	14	2	Internal hydrocephalus	60XX
21	Hol	male	0	24	4	Atresia ani, Tetralogy of Fallot	60XY
22	JB	male	2	28	4	Atresia ani	60XY
23	Hol	female	9	46	4	Single freemartin	case 3* ²

*¹JB: Japanese black beef cattle, Hol: Holstein cattle

*²Chromosome abnormality (they are explained in Table 2)

多く、ついで水無脳症、側脳室拡張、虚弱が各3例、小脳形成不全、口蓋裂、鎖肛が各2例であり、下顎短小、下顎前突、左後肢欠損、化膿性脳炎、フロー4徴、頬皮腫、単胎フリーマーチンが各1例であった。

このうち虚弱子牛は、外見的な異常がないため、農家の看護により長期に飼育され、初診時の日齢は59～172日となり、一方、体重はわずか25～80kgと著明な発育不良を示した。また左後肢欠損奇形は、他に病変がなく長期に生存可能であった。その他の19例は種々な異常のために0～28日齢で早期に淘汰された。

染色体検査では、23例中20例が60XX または60XYを示し、正常であった。染色体異常を示した3例について以下に述べる。

症例1は黒毛和種、雄、20kgで、出生時は起立不能であった。しかし看護によりその日のうちに起立と歩行が可能となった。頭部の側面写真をFig. 1に示したが、下顎が上顎より4cm短く、自力での吸乳は不能であった。左頬部に腫瘤を認め、穿刺により



Fig. 1. Case 1; Brachygnathia inferior.
Lower jaw is 4cm shorter than upper jaw

血様液125mlが採取された。

X線検査により下顎体切歯部の欠損と左下顎枝の骨折が認められた。血液検査ではALP (62.3 KAU) とMg (3.56mg/dl) の上昇があり、他は著変がなかった。

病理解剖検査では、左下顎骨骨折と血腫、下顎間軟骨結合不全、下顎短小、萎縮腎、肺炎が認められ

Table 2. Defective calves with chromosome abnormality

Case 1: Brachygnathism							
No. of chromosomes	≤58	59	60	61	62≤	Total	
No. of cells	6	14	32	1	2	55	
%	10.9	25.5	58.2	1.8	3.6	100	
Case 2: Prognathism							
No. of chromosomes	57	58	59	60	61	4n	Total
No. of cells	2	2	3	5	45	3	60
%	3.3	3.3	5.0	8.4	75.0	5.0	100
Case 3: Single freemartin							
No. of chromosomes	60XY	60XX	69XY	90XXY	Total		
No. of cells	8	29	1	2	40		
%	20.0	72.5	2.5	5.0	100		

た。

染色体検査の結果は Table 2 に示したが、検査細胞55個のうち、正常核型の60XYが32個(58.2%)と最も多く、ついで染色体数59の細胞が14個(25.5%)あった。このうち2個はX染色体を欠き、12個は常染色体を1本欠いていた。この常染色体が同一のものかどうかは判定できなかった。他に染色体数が58個以下の細胞が6個(10.9%)、61個が1個(1.8%)、62個以上が2個(3.6%)認められた。

また10個(18.2%)の細胞の染色体に構造異常が認められ、その内分けは切断が5個、二次狭窄が4個、両者の併存1個であった。

これら検査の結果、症例1は下顎短小奇形を主とし、染色体では数的異常(60の他に59など)と構造異常が示された。

症例2は黒毛和種、雄、24kgで、生時より起立不能で、看護により7日目に起立したが歩行困難で、その後また起立不能となった。28日齢の所見は、栄養状態が悪く被毛粗剛で、元気がなく横たわり、右飛節外側に褥創を生じていた。

顔面の写真を Fig. 2 に示したが、下顎が上顎より8mmほど前突していた。他に外見上の形態異常はなく、病理解剖検査でも各器官に先天的な形態異常は認められなかった。

染色体検査の結果は Table 2 に示したが、検査細胞60個のうち、61XYが最も多く45個(75%)を占めた。他に染色体数60の細胞が5個(8.4%)、59以下が7個(11.6%)、4nが3個(5%)認められた。

以上の結果、症例2は下顎前突症を示し、染色体の核型は61XYと判定された。

症例3はホルスタイン種、雌、46kgで、出生時から起立不能で、吸乳力は正常であった。上眼瞼部の



Fig. 2. Case 2; Prognathia inferior.
Lower jaw is 8mm longer than upper jaw

骨が左右とも突出気味で、顔面が右方に少しねじれていた。腹囲は膨満し、拍水音が聴取された。

会陰部の写真を Fig. 3 に示したが、陰門がわずか1cmしか開口しておらず、腔内への探子も1cmしか入らなかった。他に外形的な異常は認められなかった。

病理解剖検査では、第1胃が膨満し、その粘膜上皮の剝離脱落があり、小指頭大の黄白色ポリープ様新生物が数ヵ所に密生していた。脾腫も認められた。

膣は陰門より1cmのところまで狭窄していたがわずかに通じており、狭窄部から子宮外口部までの膣は粘稠な透明粘液を多量含み、膨満していた。子宮の形態はほぼ正常であったが、卵巣は小指頭大で小さく、暗赤色脂肪様を示し、組織学的検査では正常な卵巣構造を欠き、らせん動・静脈と神経および間質を認めるのみであった。

染色体検査の結果は Table 2 に示したが、性染色体がキメラを示し、60XYと60XXの細胞がそれぞれ8個と29個認められた。他に多倍数性の細胞が3



Fig. 3. Case 3; Single freemartin.
Vulval opening is only 1cm and vaginal length is about 1cm.

個認められた。以上の結果、症例3は単胎フリーマーチンと判定された。

異性双胎子牛10組の外部生殖器所見、膣長、染色体検査所見、判定をTable 3に示した。品種別では黒毛和種3例、ホルスタイン種7例となり、雄子牛の外部生殖器はすべて正常であった。雌子牛では正常が5例で他の5例には小陰門(2例)、陰核肥大(4例)、長陰毛(3例)が見られた。

膣長は4~12cmに分布し、外陰部が正常な5例では10~12cmが3例、4.5~7cmが2例であった。外陰部の異常な5例では、反対に4~7cmが4例と多く、11cmが1例であった。

染色体検査では、実施した20例中、2例は中期核板像が得られなかった。また細胞数100個の検査が可能であったのは6例のみであった。10組のうち3組は観察細胞のすべてが60XXまたは60XYを示し、それぞれ正常雌、正常雄と判定された。

他の7組は雌雄とも60XXと60XYのキメラを示し、それぞれフリーマーチン、キメラ雄と判定された。染色体検査の不能であった2例も、それぞれ同腹の相手子牛の検査結果から、同様に判定された。

染色体検査における60XXの比率は23~91%に広く分布した。しかしそれぞれの組では、雌雄ともほ

Table 3. Clinical and cytological examination of heterosexual twin calves

Twin No.	Breed	External genital organs	Vaginal length cm	No. of cells		% of 60XX	Diagnosis
				60XX	60XY		
1 female	Hol	normal	10	100	0	100	normal female
1 male		normal		0	100	0	normal male
2 female	Hol	hypertrophic clitoris, long hair	7	58	42	58	freemartin
2 male		normal		40	60	40	chimera male
3 female	Hol	normal	11	10	13	57	freemartin
3 male		normal		nt	nt	—	chimera male
4 female	Hol	normal	4.5	20	6	77	freemartin
4 male		normal		14	4	70	chimera male
5 female	JB	hypertrophic clitoris, long hair	4.5	65	35	65	freemartin
5 male		normal		69	31	69	chimera male
6 female	Hol	hypertrophic clitoris, long hair	5	25	10	71	freemartin
6 male		normal		34	10	77	chimera male
7 female	JB	small vulva	11	100	0	100	normal female
7 male		normal		0	100	0	normal male
8 female	JB	normal	12	100	0	100	normal female
8 male		normal		0	100	0	normal male
9 female	Hol	small vulva, hypertrophic clitoris	4	51	5	91	freemartin
9 male		normal		3	10	23	chimera male
10 female	Hol	normal	7	nt	nt	—	freemartin
10 male		normal		4	12	25	chimera male

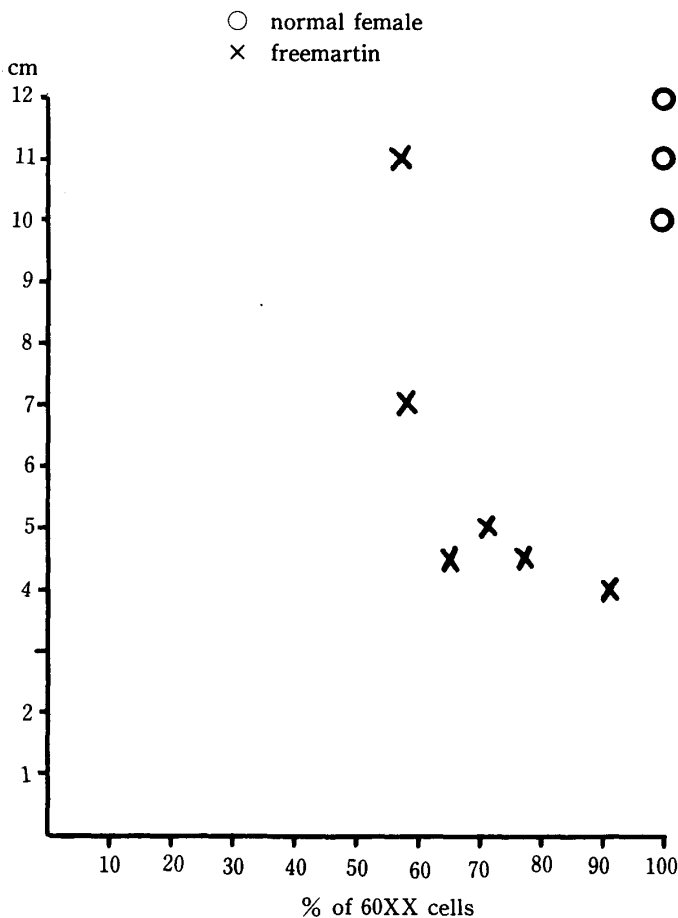


Fig. 4. Vaginal length and 60XX cell ratio in female calves of heterosexual twins.

ほ同じ比率を示す傾向があった。

膣長と60XXの比率をFig. 4に図示した。正常雌3例の膣長は10~12cmであったが、フリーマーチン6例では、11cmの1例を除いて4~7cmと短かった。しかし膣長と60XXの比率に相関関係は認められなかった。

考 察

牛の染色体異常に関する報告はフリーマーチンと転座を除いてはきわめて少ない。それには先天異常子牛の新鮮材料の入手が困難であることや、染色体検査手技の繁雑性と熟練度によるところが大きい。

本研究では種々な先天異常子牛23例について染色体検査を実施したが、うち20例の核型は正常であった。しかし細部の転座や欠失などの構造異常について分染法などの検査を実施しなかったため、完全に正常であるとはいえない。

菱沼ら⁸⁾は本研究と同様な目的で、4年間に72例の牛に染色体検査を実施したが、うち11例はフリー

マーチンと判定されたので、他の61例中4例に異常を認めた。その内分けでは脳水腫子牛に61XXXを、無発情牛2例にキメラ(60XX/60XY)を、精液異常雄牛にモザイク(60XY/61XY)を認めた。このうちキメラ2例は、出生時に単胎であったか双胎であったか不明である。

本研究で染色体異常の認められた3例のうち、症例1は極端な下顎短小であった。染色体数は60が最多(58.2%)であったが、59を示す細胞もかなり多く(25.5%)見られ、一応、染色体モザイクと判定される。しかし菱沼ら⁸⁾は正常なホルスタイン種雄牛29例の1,204個の中期核板像の分析から、正常な2倍性(2n=60)を示す細胞は66.5%にすぎず、低2倍性が26.7%、高2倍性が4.7%、その他2.1%であったと報告し、異数性の程度は標本と手技によってかなり異なることを示した。本研究では、同一人が同一手技で検査を実施し、本例のみが他よりはるかに多い異数性を示したので、モザイクの可能性が高い。

下顎短小と染色体異常についてはいくつか報告があり、Herzogら⁵⁾は極端な下顎短小と先天性腹水症を伴う子牛に61, XX, +A(18)の核型を認め、過剰染色体は常染色体18のトリソミーであるとした。Herzogら^{6,7)}はその後も症例を重ね、分染法の応用によりトリソミーは常染色体17であるとも報告している。

Mori¹⁹⁾も下顎短小、脊柱湾曲、潜在精巢を示す子牛にトリソミーを認めた。Dunnら¹⁾は極端な下顎短小に伴う61, XY, +A(?)の核型を示し、本例は口蓋裂、小眼球症、心室中隔欠損、左腎のう腫などの多発性複合異常を併発していた。

本研究の症例1は、下顎短小以外に著変は見られなかったこと、および染色体数がトリソミーではなく、2nとモノソミーのモザイクであったことから、これら一連の報告とは異なるものである。

症例2は常染色体のトリソミーが示された。本例は下顎が上顎よりわずかに前突していたが、他に著変は見られなかった。本例の母牛は正常子を11産したあと、15歳12産目に尾位難産の結果、本例が娩出された。

Tsujiら²²⁾は、流産徴候のない35歳以上の妊娠婦人から得た人工流産胎児の染色体検査で、35~39歳で2.2%、40~44歳で6.5%、閉経前にあたる45~49歳で25%に染色体異常を認め、それらはすべて常染色体のトリソミーであった。

Tsujiら²²⁾はその原因として、高齢妊娠の場合、染色体不分離の誘発因子に触れる機会も多くなるためとも考えられるが、生殖能が減衰する閉経前の比較的短期間に染色体異常が急増する点を考えると、卵巣自身の老化により、卵母細胞の染色体不分離がおこるためではないかとしている。

症例2も15歳という高齢であることから、Tsujiらと同様な考えで、トリソミーが生じたものと推測される。

症例3は性染色体のキメラを示し、単胎フリーマーチンと判定された。本症については他に多くの報告^{3,16,20,21,23)}があり、いずれも双胎妊娠で血管吻合が生じたのち、同腹の雄または雌胎子が死亡し、吸収や流産されたためであるとしており、本例もそう考えられる。

一般にフリーマーチンでは、外陰部が発育不全で小さく、陰核は肥大し、陰門下部に長毛が房状に生えていることが多い。Kästliら¹²⁾は3～6週齢のシンメンタル牛の膣長は、フリーマーチンで7.4±2.5cm、正常雌で14.8±2.8cmであったと報告しており、臨床検査の中では膣長の測定が最も信頼性が高いとされている^{12,18)}。

本研究でフリーマーチンとされた7例では、外陰部異常を示す4例は膣長が4～7cmと短かった。外陰部が正常な3例のうち2例は膣長が4.5cmと7cmで短かったが、他の1例は膣長が11cmあり、正常雌子牛3例の10～12cmと変わらないため、臨床的な判定は不可能である。そこで染色体検査による確実な判定が必要となる。

Miyakeら¹⁵⁾は異性双胎子牛の外部生殖器、膣長、染色体を検査し、フリーマーチンの中には外部生殖器と膣長が正常であっても、染色体キメラを示す例のあることを述べており、本研究と同様の所見を得ている。

本研究でフリーマーチンと判定された組の同腹の雄もすべてキメラを示し、過去の報告と一致した。またフリーマーチンと同腹のキメラ雄のXX細胞とXY細胞の比率は1例を除いてほぼ等しい傾向を示した。Kanagawaら^{10,11)}やMarcumら¹³⁾も同様な結果を得ており、多数の細胞を検査すればほぼ同率になるとしている。XX細胞とXY細胞の比率は1%～99%と広く分布し、その程度には関係なく、すべてフリーマーチンとされる^{4,14)}。

本研究の結果、先天異常子牛23例中3例に染色体異常が認められ、異性双胎子牛10組中7組にフリー

マーチンとキメラ雄が認められた。今後は、染色体検査に多大の操作と時間を要することから、対象例のスクリーニング法を確立すること、先天異常子牛のみでなく習慣性流産やリピードブリーダーのような繁殖障害牛にも応用すること、種々な分染法を用いて染色体番号の同定と微細構造異常の判定をすることなどが必要である。

要 約

先天異常子牛23例、異性双胎子牛10組について染色体検査を実施した。

先天異常の内分けは関節湾曲症、水無脳症、側脳室拡張、小脳形成不全、口蓋裂、頬皮腫、鎖肛、ファロー4徴、左後肢欠損、虚弱などであったが、これら20例の核型は60XXまたは60XYを示し、正常であった。3例に染色体異常が認められた。

症例1は黒毛和種、雄で、極端な下顎短小を示し、他の器官に著変はなかった。染色体検査では60XYが58.2%、59が25.5%を示し、染色体モザイクと判定された。それは他の報告に多いトリソミーとは異なっていた。

症例2は起立不能の黒毛和種、雄で、下顎が上顎より8mm前突していたが、他に著変はなかった。染色体の核型は61XYが75%を占め、常染色体トリソミーと判定された。本例は15歳12産という高齢出産による、卵母細胞分裂時の染色体不分離が原因と考えられる。

症例3はホルスタイン種、雌で、陰門が1cmと小さく、膣内探子も1cmしか入らず、病理学的検査で膣狭窄と膣嚢腫、卵巣形成不全が認められた。染色体は60XXと60XYのキメラを示し、単胎フリーマーチンと判定された。

異性双胎10組の検査では、雄子牛の外部生殖器はすべて正常であったが、雌子牛では正常5例、異常(小陰門、陰核肥大、長陰毛)5例となった。膣長は4～12cmに分布し、外部生殖器の形態とは必ずしも一致しなかった。

染色体検査では3組が正常核型を示し、それぞれ正常雌、正常雄と判定された。他の7組は雌雄ともキメラを示し、それぞれフリーマーチン、キメラ雄と判定された。検査細胞中に占める60XXの比率は23～91%で、同腹の雌雄はほぼ同じ比率を示した。膣長と60XXの比率には相関関係はなかった。

謝辞 材料の収集に御協力いただいた宮崎県と鹿

児島県の農業共済組合および開業の臨床獣医師各位に深謝する。

文 献

- 1) Dunn, H. O. and Johnson, R. H. Jr.: A 61, XY cell line in a calf with extreme brachygnathia. *J. Dairy Sci.*, 55 (4), 524-526 (1972)
- 2) Eldridge, F. E.: Cytogenetics of livestock. pp. 1-298, AVI Pub. Co., Westport (1985)
- 3) Fechheimer, N. S.: A cytogenetic survey of young bulls in the U. S. A. *Vet. Rec.*, 93 (13), 535 (1973)
- 4) Greene, W. A., Dunn, H. O. and Foote, R. H.: Sex-chromosome ratio in cattle and their relationship to reproductive development in freemartins. *Cytogenet. Cell Genet.*, 18, 97-105 (1977)
- 5) Herzog, A. and Hohn, H.: Autosomale Trisomie beim einem Kalb mit Brachygnathia inferior und Ascites congenitus. *Dtsch. tierarztl. Wochenschr.*, 75, 604-606 (1968)
- 6) Herzog, A. and Hohn, H.: Chromosomendefekte bei der erblichen Parakeratose des schwarzbunten Kalbes. *Giessener Beitr. Erbpath. Zuchthyg.*, 3 (3), 1 (1971)
- 7) Herzog, A., Hohn, H. and Rieck, G. W.: Survey of recent situation of chromosome pathology in different breeds of German cattle. *Ann. Genet. Sel. Anim.*, 9, 471-491 (1977)
- 8) 菱沼 貢・三宅陽一・高橋芳幸・金川弘司: 当講座における最近4年間の牛の染色体検査結果. 北獣会誌, 31 (5), 95-99 (1987)
- 9) 菱沼 貢: 牛の染色体検査のための手引き. 北獣会誌, 31 (9), 195-201 (1987)
- 10) Kanagawa, H., Muramoto, J., Kawata, K. and Ishikawa, T.: Chromosome studies on heterosexual twins in cattle. I. Sex-chromosome chimerism (XX/XY). *Jpn. J. Vet. Res.*, 13 (2), 33-41 (1965)
- 11) Kanagawa, H., Muramoto, J., Kawata, K. and Ishikawa, T.: Chromosome studies on heterosexual twins in cattle. II. Significance of sex chromosome chimerism (XX/XY) in early diagnosis of freemartin. *Jpn. J. Vet. Res.*, 13 (2), 47-49 (1965)
- 12) Kästli, F. and Hall, J. G.: Cattle twins and freemartin diagnosis. *Vet. Rec.*, 102 (4), 80-83 (1978)
- 13) Marcum, J. B., Lasley, J. F. and Day, B. N.: Variability of sex-chromosome chimerism in cattle from heterosexual multiple births. *Cytogenetics*, 11, 388-399 (1972)
- 14) Marcum, J. B.: The freemartin syndrome. *Anim. Breed. Abst.*, 42 (6), 227-242 (1974)
- 15) Miyake, Y., Ishikawa, T. and Kawata, K.: The relationship between sex chromosomal chimerism and vaginal length in bovine heterosexual twin females. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, 26 (2), 69-73 (1980)
- 16) Miyake, Y., Kaneda, Y. and Kanagawa, H.: A new type of freemartinism born co-twin with acardius amorphus. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, 33 (1), 41-43 (1987)
- 17) 三宅陽一: 家畜の染色体異常. 獣医学 (1990), 148-167 (1990)
- 18) 三好憲一・児玉政則・府川幸雄・上原修二・鈴木 進・前塚 武・三宅陽一・河田啓一郎・石川 恒: 乳牛のフリーマーチンの臨床的早期診断法と染色体検査法の比較. 家畜診療, 162, 13-15 (1976)
- 19) Mori, M., Sasaki, M., Makino, S., Ishikawa, T. and Kawata, K.: Autosomal trisomy in a malformed newborn calf. *Proc. Jpn. Acad.*, 45 955-959 (1969)
- 20) Murakami, R., Miyake, Y. and Kaneda, Y.: Cases of XY female, single-birth freemartin and trisomy (61, XX, +20) observed in cytogenetical studies on 18 sterile heifers. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 51 (5), 941-945 (1989)
- 21) Swartz, H. A. and Vogt, D. W.: Chromosome abnormalities as a cause of reproductive inefficiency in heifers. *J. Hered.*, 74, 320-324 (1983)
- 22) Tsuji, K. and Nakano, R.: Chromosome studies of embryos from induced abortions in pregnant women age 35 and over. *Am. Coll. Obstet. Gynec.*, 52 (5), 542-544 (1978)
- 23) Wijeratne, W. V. S., Munro, J. B. and Wilkes, P. R.: Heifer sterility associated with single-birth freemartinism. *Vet. Rec.*, 100 (16), 333-336 (1977)

Summary

Cytological examinations were executed on the 23 calves with congenital defects as well as on the 10 pairs of the heterosexual twin calves.

The above mentioned congenital defects were sorted out as in the following: arthrogryposis, hydranencephaly, internal hydrocephalus, cerebellar hypoplasia, cleft palate, dermoid, atresia ani, Fallot-tetralogy, left hind limb-amelia, weak ones and so on. The karyotypes of these 20 calves with congenital defects showed either 60XX or 6XY cells, being normal cytologically. As shown in the

following, chromosome abnormalities were detected in 3 calves.

Case 1 was occasioned in a male Japanese black beef breed calf showing severe brachygnathism, in other organs no defects were detected morphologically. Cytologically this was fixed to be a chromosome mosaic of 60XY/59XY, which was somewhat different from trisomy reported in several brachygnathia calves.

Case 2 was occasioned in a male Japanese black beef calf showing slight prognathism, in other organs no defects were detected morphologically. Cytologically this was fixed to be a sort of autosomal trisomy. This calf was delivered by a dam of 15 years old at her 12th parturition. Accordingly, the cause of this trisomy was reasonably assumed to have been induced by a chromosomal dysseparation of oocytes brought forth by ovarian senescence.

Case 3 was occasioned in a female Holstein calf with small vulva as well as with quite shortened prove-insertion, counting only 1 cm, respectively. By the pathological examinations vaginal stricture, vaginal cyst and ovarian hypoplasia were detected too. And this was fixed to be a single freemartin.

Through the examinations of 10 pairs of the heterosexual twin calves, the external genital organs were recognized to be quite normal in all the male calves. In case of the female ones, five were fixed to be normal; either small vulva, hypertrophic clitoris or long vulval hair were observed in case of the other five calves. Distribution-range of vaginal-length was fixed to be within 4~12 cm and in its shape it was not always correlated with the external organs.

Cytologically, 3 pairs were fixed to be of the normal karyotype, being quite normal both as females and as males, respectively. The other 7 pairs showed chromosomal chimerism in the female and the male calves, and were fixed to be freemartins and chimera males, respectively. The distribution of the ratio of 60XX cells was ranged from 23% to 91%, the respective pairs showing almost the same ratio. No correlation was noted between the vaginal-length and the ratio of 60XX cells.