

学 位 論 文 題 名

乳用牛における分娩後の
卵胞発育動態と卵胞内卵子の受精能に関する研究

学位論文内容の要旨

乳用牛における分娩後の卵巣機能回復の遅れは繁殖効率を低下させる要因の1つである。また、卵巣機能が回復しても卵子の受精能が正常でなければ受胎は成立しない。そこで本研究では、卵巣機能の回復を左右する要因を究明するために分娩後の卵胞発育動態を解析するとともに分娩後早期の卵胞内卵子の受精能について検討した。

第1部では、乳用牛における分娩後の卵胞発育動態を明らかにするために、まず初回排卵に至るまでの卵胞発育ウェーブにおける優勢卵胞の発育と初回排卵後の卵巣周期を超音波診断装置を用いて調べた。供試牛（47頭）は初回排卵に至るまでの卵胞発育ウェーブの数により1回目（49%）、2回目（23%）および3~11回目ウェーブ排卵群（28%）に分類され、各群の平均初回排卵日は、それぞれ分娩後18、31および50日目であった。各群の優勢卵胞の発育を比較解析した結果、3~11回目ウェーブ排卵群の分娩後最初の卵胞発育ウェーブの発現時期は1および2回目ウェーブ排卵群に比べて遅いことが示唆された。また、初回排卵後の卵巣周期を解析した結果、3~11回目ウェーブ排卵群では初回排卵直後の卵巣周期（初回卵巣周期）中の卵胞発育ウェーブが1回だった牛が多く（77%）、初回卵巣周期は他の2群に比べて短くなった。以上の結果から、初回排卵の遅い牛では分娩後に卵胞発育ウェーブが発現しても優勢卵胞は排卵せず、卵胞の発育と退行を繰り返すことと、初回卵巣周期は1回目の卵胞発育ウェーブの優勢卵胞が排卵することによって短くなることが分かった。

次に、分娩後最初の卵胞発育ウェーブの発現時期と分娩前後の卵胞刺激ホルモン（FSH）分泌動態を調べた結果、分娩後3回目以降の卵胞発育ウェーブで初回排卵した牛の分娩後最初の卵胞発育ウェーブの発現時期と血中FSH濃度がピークを示した時

期は、2 回目の卵胞発育ウェーブで初回排卵した牛に比べて数日遅かった。この結果から、初回排卵の遅い牛では分娩後の FSH 分泌機能の回復が遅延するために、卵胞発育ウェーブの発現が遅れていることが示唆された。

第 2 部では、乳用牛の分娩後早期の卵胞内卵子の受精能を明らかにするために、まず牛の超音波誘導経腔採卵 (OPU) 技術の改善を目的として、吸引圧および吸引針の回転と吸引針の違い (シングルおよびダブル・ルーメン吸引針) が卵子回収成績に及ぼす影響について検討した。この結果、卵胞吸引時に吸引針を回転させることにより、卵子に付着する卵丘細胞を剥がすことなく、卵子回収率が向上することが明らかになった。また、それぞれの吸引針の最適な吸引圧での卵子回収率および卵丘細胞の付着状況に差異はみられなかった。さらに、それぞれの吸引針に最適な吸引圧を用いて生体の OPU を行ったが、吸引針の違いによって卵子回収率および卵丘細胞の付着状況に差異は認められなかった。以上の成績から、牛の OPU では卵胞吸引時の吸引針の回転によって卵子回収率が改善され、適切な吸引圧を加えればシングル・ルーメン吸引針を用いてもダブル・ルーメン吸引針と同等の卵子回収成績が得られることが明らかになった。

次に、この OPU 技術を用いて分娩後早期 (分娩後 30~40 日目) の牛と発情周期の回帰した後 (分娩後 80~100 日目) の牛から採取した卵子の受精能を比較した。分娩後 2 回目の卵胞発育ウェーブの出現後 2~4 日目にすべての胞状卵胞を吸引除去した。OPU は卵胞吸引除去後 3~4 日目から、3~4 日間隔で 3~5 回行った。OPU 時には直径 5 mm 以上の胞状卵胞数を記録し、その後吸引した。回収した卵子は、体外成熟および受精に供した。その結果、回収した卵子の正常受精率は分娩後早期と発情周期回帰後との間で差異のないことが明らかになり、分娩後早期の卵胞内卵子が正常な発生能を有することが示唆された。

本研究によって、乳用牛における分娩後の卵胞発育動態、とくに卵胞発育ウェーブの発現と FSH 分泌との関係および初回排卵後の卵巣周期における卵胞発育ウェーブの特徴が明らかになった。また、分娩後の卵巣機能の回復には従来から指摘されている黄体形成ホルモンのパルス状分泌機能の回復の他に、卵胞発育ウェーブを発現させる

ために必要な FSH 分泌機能の回復も関与していることが示唆された。さらに、OPU 技術に改良を加え、それを応用して分娩後早期における発育卵胞内の卵子は正常な発情周期が回帰した後の卵胞内卵子と同等の正常受精能を有することを明らかにした。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 高 橋 芳 幸
副 査 教 授 藤 永 徹
副 査 教 授 葉 原 芳 昭
副 査 助 教 授 片 桐 成 二

学 位 論 文 題 名

乳用牛における分娩後の 卵胞発育動態と卵胞内卵子の受精能に関する研究

申請者は、乳用牛における分娩後の卵巣機能の回復にかかわる要因を究明するために、分娩後の卵胞発育動態を解析するとともに卵胞内卵子の受精能について検討した。

まず、分娩直後の乳用牛の初回排卵時期と卵胞発育ウェーブの関係および初回排卵後の卵巣周期の特徴を調べた。その結果、初回排卵の遅い牛では分娩後の卵胞刺激ホルモン分泌と卵胞発育ウェーブの再開が遅れるとともに、卵胞発育ウェーブが発現しても優勢卵胞は排卵せずに発育と退行を繰り返すことを明らかにした。また、初回排卵の遅い牛では初回排卵直後に出現する卵胞発育ウェーブの優勢卵胞が排卵し、卵巣周期が短縮することも明らかにした。ついで、分娩後早期の乳用牛の卵胞内卵子の受精能を調べるために、超音波誘導経腔採卵技術を検討した。その結果、卵胞吸引時に吸引針を回転させると卵子の成熟に不可欠な卵丘細胞を剥離することなく卵子回収率が向上し、適切な吸引圧を用いれば吸引針の種類にかかわらず安定した卵子回収成績が得られることを示した。また、超音波誘導経腔採卵技術を用いて分娩後早期と発情周期回帰後の牛から回収した卵胞内卵子を体外で成熟・受精させ、両者の受精能に差異のないことを明らかにした。

以上のように申請者は、乳用牛における分娩後の卵胞発育動態の特徴を明らかにした。また、分娩後の卵巣機能の回復には卵胞刺激ホルモン分泌機能の回復が関与していることを示した。さらに、分娩後早期の卵胞内卵子が正常な受精能を有していることも明らかにした。これらの研究成果は、乳用牛の分娩後の繁殖効率の向上に貢献する。よって、審査員一同は、上記博士論

文提出者笹本良彦氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。