

氏名	よしやま つむぎ 吉 山 紬
本籍（国籍）	東 京 都
学位の種類	博士（獣医学）
学位記番号	獣博第5号
学位授与年月日	令和4年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当 課程博士
研究科及び専攻	獣医学研究科 共同獣医学専攻
学位論文題目	周排卵期の卵胞発育動態が黒毛和種雌牛の受胎性に及ぼす影響に関する研究
学位審査委員	主査 岩手大学教授 木崎 景一郎 副査 岩手大学教授 高橋 透 副査 岩手大学教授 岡田 啓司 副査 東京農工大学教授 田中 知己 副査 東京農工大学教授 永岡 謙太郎

論文の内容の要旨

牛の受胎率は過去30年以上に渡って低下の一途を辿っており、繁殖成績の改善は酪農および肉牛生産における重要な課題の一つとされている。近年、牛の受胎性に影響する要因として周排卵期における卵胞動態が注目されているが、卵胞動態と受胎性の関連については一定の結論が得られていない。

黒毛和種は国内の肉用牛の約70%を占める重要な品種であるが、その繁殖管理技術の構築にあたっては乳用牛の研究から得られた知見が準用される事が多い。しかし、黒毛和種はその遺伝的背景および飼養管理方式が乳用牛とは異なり、乳用牛の研究から得られた繁殖学的知見を単純に外挿し得るか否かは議論の余地が残されている。

本研究においては、黒毛和種の繁殖成績の向上に資する基盤的知見を得ることを目的として、黒毛和種雌牛の周排卵期における卵胞発育動態が受胎性に及ぼす影響について詳細に検討した。

本研究は福島県内で飼養されている黒毛和種雌牛を用いて行った。人工授精を実施した日をDay 1として、Day 0, 1, 3, 5 および 7 に超音波診断装置を用いて卵巣の観察を行い、排卵前卵胞（PF）、第一卵胞波中の卵胞および黄体の長径と短径を計測した。またDay 0, 3, 5 および 7 で頸静脈血を採取し、血漿中エストラジオール（ E_2 ）、プロジェステロン（ P_4 ）、卵胞刺激ホルモン（FSH）濃度を測定した。また、第一卵胞波中の卵胞発育動態を特徴づけるものとして、第一卵胞波主席卵胞（W1DF）と黄体（CL）が同側卵巣内に位置するもの（IG）と反対卵巣内に位置するもの（CG）とに分類し比較を行った。また同期間における卵胞発育動態について、最大卵胞（LF）次席卵胞（SF）の発育に基づき、LFがW1DFとなったもの

(NSW) と SF が発育途中で LF の大きさを超えて W1DF となったもの (SW) に分類した。また、後述したように SF が発育過程の途中で LF の平均直径を超える現象をスイッチと定義した。このスイッチ後に W1DF が反対側卵巣に位置するようになった場合(C)とそうでないもの (NC) と分類した。また C 群と NC 群および SW 群と NSW 群のそれぞれにおいて、Day 7 時点の W1DF と CL の位置関係を確認し、それぞれ C_IG, C_CG, NC_IG, NC_CG および SW_IG, SW_CG, NSW_IG, NSW_CG の 4 群に分類して比較した。

本研究の結果から、PF の平均直径が 1.45 cm を超えると受胎率が低下することが示された。この要因として、過大に発育した卵胞内の卵子は受精後の分裂能や胚の発育能力が劣り、受胎性の低下につながる事が推察された。しかし、発情同期化処置を実施した牛のデータに基づく既報とは異なり、本研究では PF の平均直径が小さい場合でも受胎率に悪影響は認められなかった。本研究の成績は自然発情時の所見であり、発情徴候が認められる場合には卵胞の成熟が十分であるために、PF の平均直径が小さいことは受胎性に悪影響を及ぼさないものと思われた。

第一卵胞波の卵胞発育が受胎性に及ぼす要因の一つとして、W1DF と CL の位置関係が受胎性に影響する事がホルスタイン種で報告されているが、黒毛和種を用いた本研究では、その影響は確認されなかった。ホルスタイン種は高泌乳を維持するために飼料摂取量が多く、肝血流量の増加によって E₂ や P₄ の体内クリアランスが亢進することが知られている。ステロイドホルモンの動態は繁殖機能に大きな影響を与えることから、本研究でホルスタイン種とは異なる結果が得られた要因の一つとして、遺伝的背景や飼養管理方式の違いに基づく品種差があることが窺われた。

次いで、第一卵胞波の卵胞発育過程が受胎性に及ぼす影響を検討した。受胎率は NC 群および SW 群で有意に高い値を示した。また C_IG 群よりも NC_IG 群で受胎率が低い傾向を示し、SW_CG 群よりも NSW_CG 群で有意に低い値を示した。一見、相反する結果が得られた背景には卵胞選抜に関するホルモンの複雑な関与が推察された。即ち、W1DF の選抜には、①FSH の分泌動態、②隣接する CL の状態、という 2 つの要因が関連しており、①に関しては LF の発育に伴う血漿 E₂ 濃度の上昇によって FSH 分泌が抑制されることで SF の発育が抑制され、スイッチが発生することなく LF が主席性を獲得する。一方、②に関しては CL に隣接して発育した LF は CL と血流を共有することによって豊富な血流の影響を受けて発育が促進されて E₂ 分泌が亢進し、高濃度の E₂ が FSH 分泌を低下させて SF の発育が抑制され、スイッチが発生することなく LF が主席性を獲得するという機序である。

本研究の結果から、スイッチの発生には様々な要因が関与しており、スイッチの発生に関わる第一卵胞波中の血漿 E₂ 濃度の変化が受胎性に影響する事が示唆された。

E₂ は子宮重量や子宮内腔に分泌されるタンパク質量を増加させ、受胎性向上に寄与している事が知られている。また、E₂ は子宮内膜のプロスタグランジン E₂ の産生を介して子宮血管床の拡大を促進し、卵管においては E₂ がインスリン様成長

因子の産生を介して胚盤胞の形成を促進することが確認されている。これらのことから、第一卵胞波の時期に E_2 分泌が適切に維持される事によって子宮や卵管内の環境が改善され、受胎成績の向上に寄与したものと推察された。

本研究を通じて、発情から第一卵胞波の期間における、卵胞や黄体の発育動態やその位置関係が受胎性に及ぼす影響が解明され、黒毛和種雌牛の繁殖成績の向上に資する基盤的知見が得られた。

論文審査の結果の要旨

学位申請者は、黒毛和種の繁殖管理技術の高度化に資する事を目的として、周排卵期における卵胞発育動態が受胎性に及ぼす影響を検討し、得られた知見を4章構成の学位論文に取りまとめた。

第2章では、福島県内の農家で飼養されている黒毛和種繁殖牛158頭を供試して、授精日の排卵卵胞直径や授精後に発育してくる第一卵胞波の主席卵胞の発育過程が受胎性に及ぼす影響を検討した。その結果、授精日の排卵卵胞直径は不受胎群で有意に大きく、卵胞直径が1.45 cmを超えると受胎率は有意に低下することが明らかになった。また、第一卵胞波の発育過程において、直径が最も大きい卵胞が反対側卵巣に存在する卵胞に追い越される現象をスイッチあり(SW)、スイッチが起きずに最大の卵胞がそのまま主席卵胞に発育する事象をスイッチなし(NSW)と定義して受胎性に及ぼす影響を検討したところ、SW群ではNSW群よりも受胎率が有意に低くなった。ここまでの成績から、授精時の卵胞直径や第一卵胞波の発育過程が、黒毛和種の受胎性に影響を及ぼすことが明らかになった。

次いで、上記と同じ牛群を用いて、第一卵胞波主席卵胞と黄体の位置関係が受胎性に及ぼす影響について検討した。ホルスタイン種乳牛を用いた先行研究によれば、第一卵胞波主席卵胞が黄体と同側に発育した場合(IG)には、黄体と反対側に発育した場合(CG)に比べて受胎率が有意に低下するとされている。黒毛和種を用いた本研究の結果、IG群の受胎率はCG群よりも僅かに劣るもののその差は有意ではなく、授精日の排卵卵胞直径や排卵後の第一卵胞波主席卵胞や黄体の直径、ドップラー超音波検査による黄体血流面積をIG群とCG群で比較したところ、いずれの項目においても群間の差が認められなかった。よって黒毛和種の場合にはホルスタイン種とは異なり、IG群でも受胎率は低下しないことが明らかになった。

第2章の研究で第一卵胞波の発育過程におけるスイッチが受胎性に影響を及ぼす事が示されたが、スイッチの発生は卵胞と黄体の位置関係を逆転させる場合もあり、スイッチの発生そのものが受胎性に与える影響については明らかではなかった。第3章では試験1として、福島県内の農家で飼養されている67頭の黒毛和種繁殖牛を供試して以下の検討を行った。即ち、スイッチの有無(SWとNSW)と第一卵胞波主席卵胞と黄体との位置関係(位置変化あり:Cと位置変化なし:NC)を組み合わせて受胎性に及ぼす影響を検討した。その結果、C群で受胎率が有意に低下することが明らかになった。次いで試験2として福島県内の農家で飼養されている59頭の黒毛和種繁殖牛を供試して以下の検討を行った。即ち、第一卵胞

波の発育過程で左右両卵巢のそれぞれ最大と二番目の直径の合計 4 個の卵胞を超音波検査で確認し、スイッチが同側卵巢内で起きた場合、スイッチが反対側卵巢に起きた場合、スイッチが起きなかった場合、の 3 群に分け、更に黄体との位置関係を組み合わせて受胎性への影響を検討した。その結果、スイッチが起きて主席卵胞が黄体の反対側になった場合には、主席卵胞がスイッチしないで黄体の反対側に発育した場合よりも受胎率が有意に高かった。

第 3 章のロジスティック回帰分析の成績から、スイッチの発生よりもスイッチによる主席卵胞と黄体の位置変化が受胎性に対してより大きな影響を及ぼしていることが示唆された。また、NC 群と SW 群では第一卵胞波の時期の血中エストロジオール濃度が対照群よりも高く推移しており、この時期のエストロジオール産生が適切に維持されることが受胎性向上に関連していることが窺われた。

本研究は周排卵期の卵胞発育動態が受胎性に与える影響を詳細に解明したものであり、その成果は黒毛和種の繁殖管理技術の改善に役立ち、ひいては黒毛和種の増産に資することが期待される。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岩手大学大学院獣医学研究科共同獣医学専攻の学位論文として十分価値があると認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

- 1) 著 者 名 Yoshiyama, T., Kanazawa, T. and Takahashi, T.
発 行 年 2021 年
題 目 Follicular dynamics during the pre-ovulatory and subsequent first follicular wave stages affect the pregnancy outcome in Japanese Black cows
学術雑誌名 Journal of Reproduction and Development
(巻・号・頁) 67・6・345-351