

ウシ子宮内膜組織の採取がその後の発情周期の長さ及び受胎性に及ぼす影響

伊賀浩輔・志水 学・平尾雄二・竹之内直樹

(東北農業研究センター)

Effect of Endometrial Biopsy on Estrous Cycle and Conception in Cows

Kosuke IGA, Manabu SHIMIZU, Yuji HIRAO and Naoki TAKENOUCHI

(National Agricultural Research Center for Tohoku Region)

1 はじめに

現在、全国的に人工授精及び胚移植技術が優良子畜の改良・増産に必須である。その際、安定した繁殖用雌個体の確保と共に、それらの迅速かつ的確な選定が必要である。従来、繁殖用雌個体は、臨床診断及び卵巢機能を反映した血中ホルモン動態を基に評価・選定されている。しかしながら、より効率的な評価・選定のためには個々の生殖器官の客観的かつ直接的な機能評価法の開発が必須と考えられる。そこで本研究では、子宮内膜を含む各種組織の病理診断に用いられているバイオプシーを利用し、直接的かつ高精度な子宮の生殖機能評価法の開発を目的としている。今回、ウシ子宮内膜組織の採取がその後の発情周期の長さ及び受胎性に及ぼす影響を検討すると共に、発情後16-21日に採取した子宮内膜組織のプロスタグランジン(PG)F₂α産生能を比較検討した。

2 試験方法

(1) 子宮内膜組織の採取が発情周期の長さ及び受胎性に及ぼす影響(実験①)

試験牛として、発情を同期化(エストラメイト, 2 ml i.m.)した5-7歳齢の日本短角種を7頭用いた。連続した2-4回の発情周期において、最終発情周期の黄体開花期に子宮内膜組織を採取した。試験区として、1回採取(発情後10日:n=2), 1, 2及び3日間隔3回採取(発情後8-16日:それぞれn=1, 2及び2)の4区に区分した。試験期間を通じて連日、直腸検査により卵巢の変化を追跡すると共に、頸部静脈から採血を行い、卵巢所見及び血中プロゲステロン濃度の推移を比較検討した。採取した子宮内膜組織は固定・染色し、組織の状態を調べた。更に、子宮内

膜組織の1回及び1日間隔3回採取の試験牛について、採取後の発情時に自然交配を行い、交配後約60日に直腸検査により妊娠診断を行った。

(2) 繁殖障害個体から採取した子宮内膜組織のPGF₂α産生能(実験②)

試験牛として、4-7歳齢の日本短角種を延べ8頭用いた。連続した2-4回の発情周期において、発情後16-18及び19-21日(黄体後期及び退行期)にそれぞれ子宮内膜組織を採取した。試験区として、繁殖障害の認められない個体(対照区:n=4), 子宮内膜組織の採取期間に嚢腫様の黄体を有する個体(CCL区:n=2)及びリピーターブリーダー(RB区:n=2)に区分した。採取組織は洗浄・細切後、0.1%ウシ血清アルブミンを含むDMEM/Ham's F-12培養液で3時間前培養した後、10⁻⁷M オキシトシン(OT)を無添加及び添加した同様の培養液で更に6時間培養した。培養後、上清中のPGF₂α濃度を酵素免疫測定法により測定した。

3 試験結果及び考察

(1) 発情周期の長さ及び受胎性に及ぼす影響(実験①)

子宮内膜組織の1回採取、2及び3日間隔3回採取において、発情周期の長さに変化は認められなかった。しかしながら、1日間隔3回採取において、採取終了後2日目(発情後16日目)から血中プロゲステロン濃度は低下し、発情周期の短縮を示す傾向が認められた(表1及び図1)。一方、主席卵胞は、発情周期中に2-4回の消長を示し、採取による大きな影響は受けていないと考えられた(図1)。採取した子宮内膜組織の上皮及び粘膜固有層の機能層において、採取による著しい損傷は認められなかった。子宮内膜組織採取後の発情時に自然交配を行った3頭の試験牛において、2頭の妊娠が確認され、2頭の正常な産

表1 ウシ子宮内膜組織採取前後の発情周期の長さ及び

個体 番号	採取間隔	受胎性 発情周期(日)		交配	妊娠	産子
		採取前	採取後			
N73	1回	22	20	○		
N707	1回	25	24	○	○	○
N709	1日間隔3回	25	20	○	○	○
N807	2日間隔3回	23	21			
N1007	2日間隔3回	20	22			
N1005	3日間隔3回	22	19			
N1015	3日間隔3回	21	23			

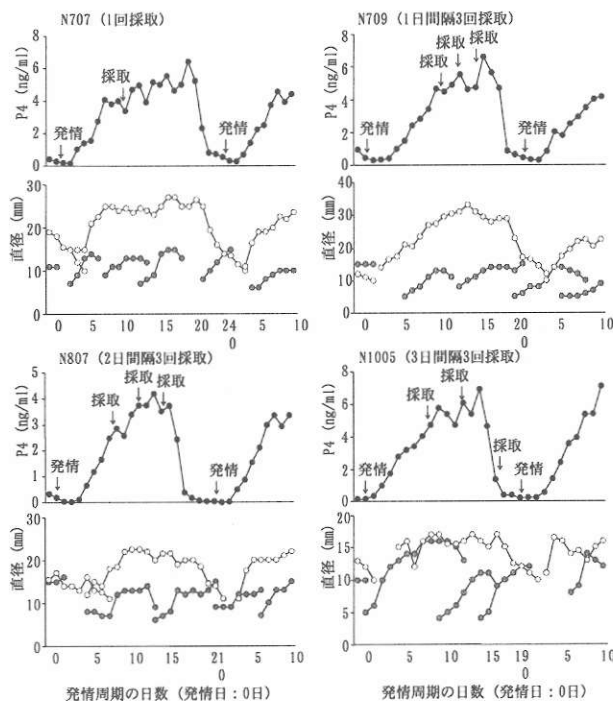


図1 ウシ子宮内膜組織の採取期間における血中プロジェステロン濃度(●)の推移、主席卵胞(⊗)及び黄体(○)の消長

子が得られた(表1)。

採取時期は異なっているが、MannとLammingの報告¹⁾と同様に、子宮内膜組織の採取が発情周期の長さ及び卵巣機能に及ぼす影響は少ないと考えられる。また、受胎性にも影響が少ないことから、生体における子宮内膜組織の機能解析に有効な手法であると考えられる。

(2) 採取した子宮内膜組織のPGF₂α産生能(実験②)

採取時期及び繁殖障害の有無に関わらずOTの添加によ

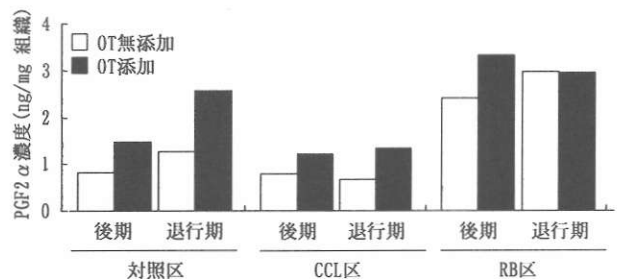


図2 発情後の異なる時期に採取した子宮内膜組織のプロスタグランジン(PG)F₂α産生能及びオキシトシン(OT: 10⁻⁶M)に対する感受性

後期: 黄体後期(発情後16-18日), 退行期: 黄体退行期(発情後19-21日), CCL区: 囊腫様黄体区, RB区: リピートブリーダー区

り、PGF₂α産生の増加する傾向を示し、特に、RB区において、他の区と比較して高い傾向を示した。黄体退行に伴い、対照区及びRB区のPGF₂α産生は増加する傾向を示し、特に、対照区において、OTの感受性が高くなる傾向を示した。(図2)。

今回、CCL及びRB区において、例数が少ないため統計的な差は明らかにできなかったが、今後、実験を追加すると共に、RB区におけるPGF₂α産生機構の詳細を明らかにする予定である。

4 ま と め

以上の結果から、子宮内膜組織の採取は、発情周期日数を短縮させる可能性があるものの、3回までの反復採取においても、その後の受胎性には影響を及ぼさない可能性が示唆された。また、例数は少ないものの、繁殖障害を有する個体においてもOTの感受性を有しており、特に、リピートブリーダーのPGF₂α産生能は正常な発情周期を有する個体と比較して、基底値は高い傾向が認められた。なお、本研究は、文部科学省の科研費(15658099)の助成を得て行った。

引 用 文 献

- 1) Mann, G. E. and Lamming, G. E. 1994. Use of repeated biopsies to monitor endometrial oxytocin receptors in the cow. Vet. Rec., 135: 403-405.