

## ホルスタイン種リピートブリーダー牛に対する黒毛和種精漿注入の効果

板橋知子・片桐成二\*・柳川洋二郎\*\*・及川俊徳

(宮城県畜産試験場・\*酪農学園大学・\*\*北海道大学)

Effect of Infusing Seminal Plasma of Japanese Black Bulls into Vagina of Repeat Breeder Holstein Cows

Tomoko ITAHASHI, Seiji KATAGIRI\*, Yojiro YANAGAWA\*\* and Toshinori OIKAWA

(Miyagi Prefectural Livestock Experiment Station・\*Rakuno Gakuen University・\*\*Hokkaido University)

### 1 はじめに

乳牛では受胎率の低下が問題となっており、その原因の一つとして子宮内膜における上皮成長因子 (EGF) の発現異常が高産乳牛やリピートブリーダーで確認されている。正常牛の子宮内膜 EGF 濃度は、発情 2 ~ 4 日目および 13 ~ 14 日目に上昇し二峰性のピークを示すが、リピートブリーダー牛ではこのピークが低下し、周期的変動が消失することが報告されている<sup>1)</sup>。最近、牛精漿をリピートブリーダー牛の膣内に注入することによって子宮内膜の EGF 発現が正常化し、受胎性が向上したとの報告がある。そこで今回は、場内で繋養している黒毛和種種雄牛の精漿をホルスタイン種リピートブリーダー牛に投与し、その効果について検討した。

### 2 試験方法

(1) 実験 1 「種雄牛精漿の子宮内膜 EGF 濃度増強効果」

#### 1) 精漿の分離

場内で繋養している黒毛和種種雄牛 9 頭の精液を採取し性状検査を実施後、直ちに 2200rpm、15 分間遠心分離を行い上清を回収した。この上清を再度遠心分離を行い、得られた上清 (精漿) を -80℃ で凍結後融解し、1.8ml のクライオチューブに 0.5ml ずつ分注し、使用時まで -80℃ で保存した。

#### 2) 子宮内膜の採取

##### a. 供試牛

ホルスタイン種経産 45 頭 (5 頭 / 1 種雄牛)

##### b. 採材スケジュール

1 回目の発情日 (0 日目) から 3 日目に非黄体側の子宮内膜を採取した。2 回目の発情日に精漿 0.5ml を PBS (-) 9.5ml で希釈したものを子宮頸管開口部を避けて膣内に注入し、3 日目に非黄体側の子宮内膜を採取し、EGF 濃度を測定した。

(2) 実験 2 「ホルスタイン種リピートブリーダー牛への黒毛和種種雄牛精漿の注入効果」

##### 1) 供試牛

場内で繋養中のホルスタイン種リピートブリーダー牛 4 頭

##### 2) スケジュール

発情日 (0 日目) に人工授精 (AI) 後、種雄牛 F の精漿 0.5ml を PBS (-) 9.5ml で希釈したものを子宮頸管開口部を避けて膣内に注入し、3 日目に非黄体側から子宮内膜を採取し、EGF 濃度を測定した。

### 3 試験結果及び考察

#### (1) 実験 1

採取直後の精液の性状検査の結果は、採取量 4.5 ~ 10.5ml、精子数 1.8 ~ 14.1 億精子 / ml で活力は 50 ~ 80 (+++) であった。精漿未注入時の子宮内膜 EGF 濃度を 100% とした場合の精漿注入後の EGF 濃度の比率

を EGF 濃度増強効果として算出した。500%以上を A、350%以上 500%未満を B、100%以上 350%未満を C、100%と未満を D と判定したところ、A 判定 1 頭、B 判定 3 頭、C 判定 4 頭、D 判定 1 頭となり、種雄牛 F が  $536.7 \pm 58.0\%$  と最も高く、種雄牛 H が  $66.0 \pm 14.8\%$  と最も低かった (表 1)。以上の結果から、精漿の子宮内膜 EGF 濃度増強効果は、種雄牛によって大きく異なり、最も高い増強効果を示した種雄牛 F の精漿をホルスタイン種リピーターブリーダー牛へ投与し、その効果について検討することとした (実験 2)。

(2) 実験 2

過去 5 年間の当該におけるホルスタイン種経産牛における年間平均受胎頭数は 33.4 頭、平均 AI 等回数は  $3.14 \pm 0.17$  回であり、全体の 28.1% が 4 回以上の AI 等を要していた。これらの牛は、3 回目の AI 等で不受胎となった後、受胎までにさらに 2.54 回の AI 等を要し、その間の空胎日数は 154.3 日間であった (表 2)。これに対し、今回精漿を注入した試験牛は、精漿注入開始から 1.50 回の AI で受胎し、その間の空胎日数は 69.0 日 (表 2) と、精漿を注入することで追加 AI 回数およびその間の空胎日数が減少した。試験牛の子宮内膜の EGF 濃度は、 $1.78 \sim 13.11\text{ng/g}$  組織重量であった (表 3)。片桐らは、発情後 3 日目の子宮内膜 EGF 濃度について、リピーターブリーダー牛の約 70% が、正常値の下限である  $4.9\text{ng/g}$  組織重量未満であったことを報告している<sup>2)</sup>。この値を基準値とすると、今回の試験牛 4 頭中 3 頭が基準値を上回っており、精漿注入によって子宮内膜の EGF 発現が正常化した可能性が考えられた。

4 まとめ

以上の結果から、黒毛和種精漿の子宮内膜 EGF 発現増強効果は、種雄牛によって異

なることが明らかとなった。また、ホルスタイン種リピーターブリーダー牛への黒毛和種精漿の腔内注入により、子宮内膜の EGF 発現が正常化し受胎性が向上する可能性が示唆された。

表 1 子宮内膜EGF濃度増強効果

種雄牛	EGF濃度増強効果(%)	判定
A	287.7 ± 19.7	C
B	328.3 ± 44.4	C
C	383.7 ± 49.1	B
D	347.7 ± 62.1	C
E	457.7 ± 53.9	B
F	536.7 ± 58.0	A
G	488.0 ± 52.0	B
H	66.0 ± 14.8	D
I	281.7 ± 50.8	C

表 2 リピーターブリーダー牛への精漿注入効果

精漿注入	頭数	3回目のAI等(-)~受胎まで	
		AI等回数(回)	空胎日数(日)
なし	48	2.54	154.3
あり	4	1.5 ※	69.0 ※

※精漿注入開始~受胎まで  
 ※※精漿注入開始直前のAI日~受胎まで

表 3 子宮内膜EGF濃度および受胎成績

牛番号	AI回数		EGF濃度 (ng/g組織重量)	妊否
	精漿注入前	精漿注入~ 受胎まで		
H88	3	1	7.05	+
H67	3	1	1.76	+
H120	3	1	13.11	+
H115	7	3	(未測定)	-
			9.41	-
			11.38	+

引用文献

1) Katagiri,S.,Takahashi,Y. 2004. Changes in EGF concentrations during estrous cycle in bovine endometrium and their alterations in repeat breeder cows. Theriogenology 62 : 103-112.  
 2) Katagiri,S.,Takahashi,Y. 2006. Potential relationship between normalization of endometrial epidermal growth factor profile and restoration of fertility in repeat breeder cows. Animal Reproduction Science 95 : 54-66.