卵巢静止の未経産牛における LH-RH 類縁化合物投与後の 卵巢の反応ならびに血中プロジェステロンと エストラジオール-17 β の消長

加茂前秀夫・金田義宏*・百目鬼郁男**・中原達夫**

(農林水産省家畜衛生試験場 *岩手大学農学部 **農林水産省畜産試験場)

卵巢静止は性腺刺激ホルモン (GTH) の分泌不足により起こると考えられており、牛においては、治療には主として各種 GTH 製剤や黄体形成ホルモン放出ホルモン (LH-RH) あるいはその類縁化合物の投与^{1,2)}が試みられている。しかし、これらのホルモン剤を投与した場合の卵巢の反応ならびに血中性ホルモンの消長については詳細な検討がなされていない。

本報告では、卵巢静止の未経産牛に LH-RH 類縁化合物を投与して卵巢の変化と末梢血中プロジェステロンおよびエストロジェンの消長を調べ、それらと処置後の卵巢活動の開始との関連性について考察した。

材料と方法

供試牛は数回の直腸検査により卵巢静止と診断された舍飼いのホルスタイン種未経産牛 5 頭である。これらに LH-RH 類縁化合物 (LH-RH-A) 100~400 μ g を筋肉内注射した。用いた LH-RH-A は [Des-Gly-NH₂¹⁰, Pro-ethylamide⁹]-LH-RH (酢酸フェルチレリン: 武田薬品工業 K. K.) である。処置後卵巢が活動を開始しなかった場合には、21 日あるいはさらに 41 日の間隔をおいて前回投与量以上の LH-RH-A を 1~2 回反復処置した。すなわち、100 μ g を 1 回投与した 3 例 (I 区)、100 μ g を 1 時間間隔で 2 回投与した 3 例 (II 区)、200 μ g 1 回投与の 3 例 (III 区)、400 μ g 1 回投与の 1 例 (IV 区) である (表 1)。各例の月齢および体重の平均は、18.9 $\pm$

1.7 (SD) カ月、328.2 $\pm$ 14.0 kg であった。

処置後は、直腸検査を 1~2 日、必要に応じて 6 時間間隔で行ない、卵巢および子宮の状態を調べた。また、発情の発現状況を腔検査および試情により適宜調べ、他の雌牛の乗駕を許容した場合を発情徴候「強」、乗駕許容は示さないが他の外部発情徴候が明瞭な場合を「弱」、乗駕を許容せず他の外部発情徴候も不明瞭な場合を「無」と判定した。さらに、処置前 5~7 日から試験期間を通じて 1~2 日、必要に応じて 12 時間間隔で頸静脈から採血し、血漿についてプロジェステロン (P) とエストラジオール-17 β (E₂) を百目鬼らの方法^{3,4)}に従ってラジオイムノアッセイ法により測定した。測定に用いた血漿は、血液をヘパリン加容器に採取後直ちに氷水中で冷却し、30 分以内に冷却遠心分離して得られたもので、測定時まで -20°C に保存した。卵巢活動を開始した例には、処置後第 3 回目の排卵前に授精して受胎の成否を調べた。なお、供試牛には試験期間を通じて乾草と配合飼料を DM, DCP, TDN が日本飼養標準のそれぞれ 105, 125, 115% になるように給与した。

結 果

1. 一般臨床繁殖検査成績

1) 処置後の排卵と発情発現の状況ならびに受胎成績
表 1 に示したように、8 例 (80.0%) において平均 37.5 $\pm$ 5.3 時間後に排卵が誘起された。このうち 3 例では、誘起排卵後 8~9 日に第 2 回排卵、その後 19~20 日に第 3 回排卵が起こり、卵巢は正常に活動し始めた。しかし、他の 5 例では卵巢は再び静止状態に移行した。なお、排卵が誘起されなかった I, II 区の各 1 例では、卵巢はその後も静止の状態を続けた。発情徴候は、誘起排卵前には 8 例いずれにおいても「無」であったが、卵巢活動を開始した 3 例の第 2 回排卵前にはいずれも「弱」、第 3 回排卵前には 1 例で「強」、2 例で「弱」であった。また、第 3 回排卵前の授精で 3 例いずれも受胎した。

Ovarian changes and plasma progesterone and estradiol-17 β levels in ovarian quiescent heifers after treatment with LH-RH analogue.

KAMOMAE, Hideo, Yoshihiro KANEDA*, Ikuo DOMEKI** & Tatsuo NAKAHARA** (National Institute of Animal Health, Yatabe, Ibaraki 305, *Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka, Iwate 020, **National Institute of Animal Industry, Kuzizaki, Ibaraki 305)

Japan. J. Anim. Reprod., 31 (2), 1985.

Table 1. Ovulation following LH-RH-A¹⁾ treatment in ovarian quiescent heifers

Experimental division	LH-RH-A injected (μ g)	Heifers No.	Induced ²⁾ ovulation	2nd ³⁾ ovulation	3rd ³⁾ ovulation
I	100 ^{a)}	525			
		522	48		
		525*	36		
II	100 $\times$ 2 ^{b)}	523			
		522*	36		
		524	30	9	20
III	200 ^{c)}	522**	36		
		525**	42		
		523*	36	8	19
IV	400 ^{d)}	527	36	9	20

¹⁾ [Des-Gly-NH₂¹⁰, Pro-ethylamide⁹]-LH-RH. ²⁾ Time in h after LH-RH-A treatment. ³⁾ Time in days after previous ovulation. ^{a)} Single injection of 100 μ g of LH-RH-A. ^{b)} Double injections of 100 μ g of LH-RH-A at 1 h interval. ^{c)} Single injection of 200 μ g of LH-RH-A. ^{d)} Single injection of 400 μ g of LH-RH-A.

* 2nd treatment 21 days after 1st treatment. ** 3rd treatment 41 days after 2nd treatment.

Fig. 1. Ovarian changes and plasma progesterone and estradiol-17 β levels in heifer No. 527 with quiescent ovaries following LH-RH-A treatment. foll.: follicle. C.L.: corpus luteum. ovul.: ovulation. #: Time in days after ovulation in parentheses. Estrous signs: ■ obvious with standing estrus, ▨ obvious without standing estrus, □ indistinct.

2) 卵巣の変化

処置後の所見が同様であった例をまとめて記述する。

(i) 卵巣活動を開始した例: II, III, IV 区のそれぞれ No. 524, No. 523*, No. 527 の 3 例では, 図 1 に示した 1 例 (No. 527) のように, 誘起排卵した卵胞は処置前

1~7 日から触知され, 処置時に直径 7~16 mm 前後に発育したものであった。誘起排卵後に形成された黄体はいずれも最大長径 14~16 mm 前後と小さく, 排卵後 6~7 日に退行し始めた。黄体の退行に伴い, 排卵当日あるいは排卵後 2 日から触知された卵胞が発育し, 誘起排

卵後 8~9 日に第 2 回排卵した。その後に形成された黄体は最大長径 20 mm 前後で正常な形状を呈し、排卵後 15~17 日に退行し始めた。そして、第 2 回排卵後 10~15 日から触知された卵胞が発育し、19~20 日に第 3 回排卵した。そのあとには長径 20 mm 前後の正常な形状の黄体が形成された。

(ii) 黄体は形成されたが再び卵巣静止に移行した例: I 区の No. 525*, II 区の No. 522*, III 区の No.

522** と No. 525** の 4 例では、図 2~4 に 3 例 (No. 525*, No. 525**, No. 522*) を示したように、処置前 1~4 日から触知され処置時に直径 8~12 mm 前後に発育した卵胞が誘起排卵した。誘起排卵後に形成された黄体はいずれも最大長径 15 mm 前後と小さく、排卵後 5~7 日に退行し始めた。黄体の退行に相前後して、排卵当日ないし排卵後 3 日から触知された卵胞が発育し、排卵後 7~10 日には直径 14~20 mm 前後となったが、い

Fig. 2. Ovarian changes and plasma progesterone and estradiol-17 β levels in heifer No. 525* with quiescent ovaries following LH-RH-A treatment. See the footnotes of Fig. 1 and Table 1.

Fig. 3. Ovarian changes and plasma progesterone and estradiol-17 β levels in heifer No. 525** with quiescent ovaries following LH-RH-A treatment. See the footnotes of Fig. 1 and Table 1.

Fig. 4. Ovarian changes and plasma progesterone and estradiol-17 β levels in heifer No. 522* with quiescent ovaries following LH-RH-A treatment. See the footnotes of Fig. 1 and Table 1.

Fig. 5. Ovarian changes and plasma progesterone and estradiol-17 β levels in heifer No. 525 with quiescent ovaries following LH-RH-A treatment. See the footnote of Fig. 1.

ずれも排卵することなく閉鎖退行した。その後も卵胞は直径 10~14 mm 前後に発育するが閉鎖退行を繰り返し、卵巣は静止の状態を続けた。

(iii) 黄体形成が認められなかった例: I 区の No. 522 の 1 例では、処置前 7 日頃から触知された卵胞が処置時に直径 7 mm 前後となり誘起排卵したが、排卵後に黄体の形成はみられず、卵巣は静止の状態を続けた。

(iv) 排卵が誘起されなかった例: 2 例のうち、I 区の No. 525 では、図 5 に示したように、処置前 6 日から触知された卵胞が処置時には直径 14 mm 前後になっていたが、排卵することなく閉鎖退行した。その後も、卵

胞は直径 12 mm 前後に発育するが閉鎖退行を繰り返し、卵巣は静止の状態を続けた。他の II 区の No. 523 では、処置前 3 日から触知され処置時に直径 10 mm 前後になった卵胞が、処置後も発育を続け、6 日には直径 18 mm 前後となった。この卵胞は処置後 7 日の触診中に破裂したが、黄体形成はみられず、その後も卵胞が直径 10~15 mm 前後に発育しては閉鎖退行し、卵巣は静止の状態を続けた。

2. 血中プロジェステロンの消長

(i) 卵巣活動を開始した例: これら 3 例の P 値は、図 1 に示した 1 例 (No. 527) のように、誘起排卵前にはいずれも 0.2~1.1 ng/ml の低値であったが、排卵後増加して誘起排卵後 4~5 日に 1.2~2.8 ng/ml の低いが明らかなピークを示し、排卵後 6~8 日に 0.4~0.5 ng/ml の低値に減少した。第 2 回排卵後は急激に増加し、排卵後 11~14 日に 4.5~4.7 ng/ml のピークを示して 18 日に低値となった。第 3 回排卵後も急増して 7~8 日に 3.0~4.4 ng/ml となった。

(ii) 黄体は形成されたが再び卵巣静止に移行した例: これら 4 例のうち、1 例 (No. 525*) の P 値は、図 2 に示したように、誘起排卵後増加して 6 日に 2.5 ng/ml の小ピークを示し、10 日後には低値となった。しかし、その後は増加することなく低値で推移した。他の 3 例の P 値は、図 3, 4 に 2 例 (No. 525**, No. 522*) を示したように、誘起排卵後も明らかな増減を示すことなく 0.4~2.0 ng/ml の低値で推移した。

(iii) 黄体形成が認められなかった例: この 1 例の P 値は、処置前、処置後、誘起排卵後を通じ、0.3~1.5

ng/ml の低値で推移した。

(iv) 排卵が誘起されなかった例：これら 2 例の P 値は、図 5 に示した 1 例 (No. 525) のように、試験期間を通じて 0.2~1.9 ng/ml の低値で明らかな増減を示すことなく推移した。

3. 血中エストラジオール-17 β の消長

(i) 卵巣活動を開始した例：これら 3 例の E₂ 値は、図 1 に示した 1 例 (No. 527) のように、処置時にはそれぞれ 5.9, 6.2, 3.8 pg/ml と低値であったが、処置後、2 例 (No. 524, No. 527) では 12~24 時間に 6.4~6.9 pg/ml の小ピークを示し、30~36 時間に低値となった。他の 1 例 (No. 523*) では、低値で推移した後、誘起排卵後増加して 1 日前後に 8.4 pg/ml となり、2 日には低値に復した。これら 3 例ではいずれも、E₂ 値は誘起排卵後 5~6 日から急激に増加して 5~7 日すなわち第 2 回排卵前 2~3 日にそれぞれ 8.7, 8.7, 19.5 pg/ml の明瞭なピークを示し、誘起排卵後 7~9 日に低値となった。第 2 回排卵後は比較的低値 (1.8~8.7 pg/ml) で 16 日まで推移し、その後急激に増加して排卵後 17~18 日すなわち第 3 回排卵前 2~3 日にそれぞれ 9.9, 17.8, 18.4 pg/ml の明瞭なピークを示し、排卵後 19~20 日には低値に減少した。第 3 回排卵後も比較的低値で 7~9 日まで推移した。

(ii) 黄体は形成されたが再び卵巣静止に移行した例：これら 4 例中 3 例の E₂ 値は、図 2, 4 に 2 例 (No. 525*, No. 522*) を示したように、処置時にはいずれも 3.3~4.8 pg/ml と低値で、1 例では処置後も増加することなく誘起排卵まで低値で推移したが、2 例では処置後 12~24 時間にわずかに増加 (4.3~5.8 pg/ml) した後、24~36 時間に低値となった。誘起排卵後は、いずれも明瞭な増加を示すことなく、それぞれ 1.5~7.2, 3.3~6.0, 2.9~9.8 pg/ml の範囲で推移した。また、他の 1 例 (No. 525**) の E₂ 値は、図 3 に示したように、処置後 24 時間に若干の増加 (6.9 pg/ml) を示した後、誘起排卵後 5 日から急増して 7~9 日に 10 pg/ml 前後の明瞭なピークを示し、11 日に低値に復した。その後は低値で推移した。

(iii) 黄体形成が認められなかった例：この 1 例の E₂ 値は、処置時には 4.5 pg/ml であったが、処置後 12 時間に 6.2 pg/ml とわずかに増加し、36 時間に低値となった。その後は明らかな増減を示さず 2.7~6.2 pg/ml の低値で推移した。

(iv) 排卵が誘起されなかった例：これら 2 例の E₂ 値は、図 5 に 1 例 (No. 525) を示したように、処置時に

は 2.0, 5.3 pg/ml であったが、処置後 12~24 時間にわずかに増加 (4.0, 6.8 pg/ml) し、24~48 時間に低値となった。そして、処置後 4~5 日から再び増加して 8~10 日あるいは 10~14 日に 7.8~10.9 pg/ml あるいは 8.4~8.9 pg/ml の高い値を示し、処置後 12 日あるいは 16 日に低値に復した。その後は増減なく低値で推移した。

4. 各例における卵巣反応および血中プロジェステロンならびにエストラジオール-17 β の消長

各例の成績をまとめて表 2 に示した。すなわち、排卵が誘起され、誘起排卵後の黄体形成に一致して血中 P 値の小ピーク形成がみられ、黄体退行に伴う卵胞の発育に一致して血中 E₂ 値の明瞭なピーク形成がみられた 3 例において、処置後第 2 回の排卵が起こり、その後卵巣は正常に活動し始めた。

考 察

LH-RH-A 100~400 μ g 投与により 10 例中 8 例において、処置後 30~48 時間に排卵が誘起された。誘起排卵した卵胞はいずれも処置前から触知され、その後漸次大きさを増し、処置時には直径 7~16 mm 前後になったことから、処置時に発育途上にあると判断されたものであった。放牧されている卵巣静止の未経産牛に LH-RH-A 200~400 μ g を投与すると、65.4% のもので排卵が誘起され、その大部分は処置後 2 日に排卵することが報告されている¹⁾。また、分娩後の生理的卵巣静止期にある乳牛に LH-RH 1,500 μ g⁵⁾ あるいは LH-RH-A 200 μ g⁶⁾ を筋肉内注射または LH-RH 100 μ g を皮下埋没すると処置後 24~48 時間に排卵が誘起されることが示されている。本試験成績はこれらの報告によく合致する。分娩後の生理的卵巣静止期にある牛に LH-RH を投与した場合、処置前 1~4 日に直径 10 mm 以上の卵胞が触知された例や処置時に E₂ 値が高い例において誘起排卵やその後の黄体形成が認められるものが多いことから、排卵が誘起されるためにはある程度の卵胞の発育と E₂ 分泌が重要であることが示されている^{8~10)}。本試験の成績はこれらの報告と必ずしも一致しないが、これは病的卵巣静止と生理的卵巣静止との内分泌状態の違いによるのかも知れない。ただ、処置後卵巣活動を開始した 3 例中 2 例の処置時において、誘起排卵した卵胞の直径は 8 mm 前後であったが、E₂ 値が 5.9, 6.2 pg/ml と最も高かったことはこれらの報告と符号する。

誘起排卵後に形成された黄体は、いずれも発育不十分で小さく、排卵後 5~7 日の早期に退行し始めた。また、

Table 2. Changes in ovaries and plasma progesterone and estradiol-17 β levels in ovarian quiescent heifers following LH-RH-A¹⁾ treatment.

Experimental division and heifer No.	Induced ovulation	C.L. ²⁾ formation after induced ovulation	Foll. ³⁾ growth with degeneration of induced C.L. ⁴⁾	P ⁵⁾ rise with formation of induced C.L.	E ₂ ⁶⁾ rise with foll. growth ⁷⁾	2nd ovulation and start of normal ovarian function
I-525	—	—	—	—	—	—
II-523	—	—	—	—	—	—
I-522	+	—	—	—	—	—
II-522*	+	+	+	—	—	—
III-522**	+	+	+	—	—	—
III-525**	+	+	+	—	+	—
I-525*	+	+	+	+	—	—
II-524	+	+	+	+	+	+
III-523*	+	+	+	+	+	+
IV-527	+	+	+	+	+	+

For symbols ¹⁾, * & ** see the footnote of Table 1. ²⁾ Corpus luteum. ³⁾ Follicle. ⁴⁾ Induced C.L. is the C. L. formed after induced ovulation. ⁵⁾ Progesterone. ⁶⁾ Estradiol-17 β . ⁷⁾ Follicle growth coinciding with degeneration of induced C.L. —: Negative. +: Positive.

この黄体の形成に一致して血中P値が小ピークを示したものは7例中4例で、他の3例ではP値の増加は認められなかった。金田ら¹⁾は、卵巢静止の未経産牛にLH-RH-Aを投与した場合、誘起排卵後に形成された黄体はいずれも発育不十分で小さく、早期に退行することを報告している。本成績は、それに加え、黄体は形成されても必ずしも血中P値の増加を伴わないものがあることを示している。分娩後の生理的卵巢静止期にLH-RHあるいはLH-RH-Aを投与した場合、乳牛では、誘起排卵後に形成される黄体の約半数は発育不十分で小さく早期に退行し、それらではP値の増加もわずかで、期間も6～8日と短いこと⁹⁾、肉牛では、処置後のP値の増加期間はいずれも6～12日と短いこと^{9,11-13)}が示されている。また、分娩後の生理的な卵巢活動開始過程においても約半数あるいは大部分の牛で初回排卵後の性周期が6～16日と短いこと^{6,14,15)}や正常性周期の再帰に先立ちP値が2～7日間増加すること^{16,17)}が報告されている。さらに、性成熟に伴う正常性周期の開始に先立ちP値の増加が2～7日間みられ^{17,18)}、それは黄体組織に由来すること¹⁹⁾が牛で示されている。このように、黄体の発育が悪く早期に退行する現象は、LH-RHあるいはその類似化合物処置後だけでなく、生理的な卵巢活動開始過程においても多発することが指摘されているが、その成因は現在不明である。本成績において、処置後卵巢活動を開始した3例における第2回および第3回排卵前の卵胞直径とE₂ピーク値の総平均は、それぞれ15.5±1.0mmと

13.8±5.2pg/mlで、誘起排卵後に黄体形成がみられた7例における誘起排卵前のそれらの値(11.6±3.2mm, 5.7±0.8pg/ml)に比べて有意に大きく($P<0.05$)、高かった($P<0.01$)。このことは、誘起排卵後に形成された黄体が発育不十分で早期に退行することには、排卵した卵胞の成熟度が深く関与していることを示唆している。

誘起排卵後に形成された黄体の退行に相前後して卵胞が発育したが、第2回排卵したのは3例で、それらではE₂値が卵胞の成熟に伴って増加し、明瞭なピークを示した。しかし、卵胞が閉鎖退行した4例では、1例を除き、E₂値は明らかな増加を示さなかった。このように卵胞がE₂を活発に分泌しつつ成熟、排卵する場合とE₂を分泌することなく閉鎖退行する場合があることにはいかなる機序が関与しているのか興味を持たれる。胞状卵胞への発育にはFSHが重要で、グラフ卵胞への成熟とそれに伴うエストロジェンの旺盛な分泌には律動的に放出されるLHが必要であることが示されている^{20,21)}。その観点から、卵胞は発育したがE₂を活発に分泌することなく閉鎖退行した例では、LHの律動的放出が乏しかったため卵胞が成熟できなかったものと推察される。

誘起排卵後の黄体形成に伴ってP値が小ピークを示した4例中3例において、その後卵巢は正常な活動を開始した。このことから、P値の小ピーク形成が卵巢活動の開始を促進しているように見受けられる。分娩後48～

50 日以上経過した卵巢静止の乳牛に P を 10~14 日間腔内投与すると処置後数日以内に 90~100% のもので卵巢が活動し始めること^{16,22)}や分娩後の生理的卵巢静止期にある肉牛にプロジェステンを 8 日間皮下埋没した後 LH-RH を投与すると大部分の例で処置後の黄体相が 14 日以上となること¹³⁾が示されている。また、性成熟前の牛では、P を 3 日間腔内投与すると 30% のもので処置後 4 日以内に発情が発現すること²³⁾、P を 7 日間注射すると 74% のもので性成熟が招来されること²⁴⁾、さらに、P 筋肉内注射後 2 日に E₂ を注射すると正常な黄体が形成され、19~21 日後に発情が回帰したこと²⁵⁾が報告されている。本試験成績はこれらの報告とも符号し、P 値のピーク形成は視床下部一下垂体一性腺軸に対して卵巢活動の開始を促すと共に、性周期が円滑に営まれるように作用している可能性を示唆している。

いっぽう、黄体の退行に伴って卵胞が E₂ を活発に分泌しつつ発育、成熟した 4 例中 3 例で第 2 回排卵が起こり、卵巢は活動を開始した。先述のように LH の律動的放出頻度の増加がエストロジェンの旺盛な分泌を伴って卵胞を成熟させ^{20,21)}、エストロジェンの増加が LH サージを引き起こし²⁵⁻²⁸⁾、この LH サージにより排卵が起こること^{20,29)}が示されている。これらの報告は上述の 3 例の成績を裏付ける。第 2 回排卵が起こらなかった 1 例では、黄体形成に伴う P 値の小ピークがみられず、さらに、E₂ 値のピーク形成時に P 値は 1.2~1.5 ng/ml を示し、第 2 回排卵が起こった 3 例のそれら (0.4~0.8 ng/ml) より高かった。エストロジェンの増加は LH サージを引き起こすが、血中 P 濃度が黄体期レベルあるいは 1.0 ng/ml 以上の場合には、エストロジェンによる LH サージ誘発は抑制されることが示されている^{26,27)}。このことから、本例では P 値が高かったために排卵性 LH サージが起こらなかったと推察されるが、この他に、先述したように、P の先行的小ピーク形成がなかったことも関係している可能性がある。

処置後の卵巢の反応ならびに血中 P と E₂ の消長は一樣ではなく、卵巢が活動を開始したものは 10 例中 3 例 (30.0%) であった。金田ら¹⁾は、放出されている卵巢静止の未経産牛に LH-RH-A 200~400 µg を投与した場合、卵巢の反応は生体条件により様々で、処置後卵巢活動を開始したものは 30.8% であったことを報告している。本試験成績はその成績とよく一致する。また、分娩後の卵巢静止期にある肉牛に LH-RH を投与した場合、生体条件が劣悪な例においては卵巢活動を開始させるのが困難なことが示唆されている¹²⁾。さらに、重度な卵巢

静止牛では、LH-RH を間欠的に投与するとそれに応答して LH は律動的に放出されるが、排卵性 LH サージが誘起されるまでには至らないことから、卵胞が律動的に放出される LH に感応する段階にまで発育できないホルモン環境となっていることが推察されている²¹⁾。このように、牛の生体条件によってホルモン処置に対する反応に差異が生じることは異論のない事実であるが、それに関与している内分泌要因、さらにはその背景となる栄養、飼育環境等の素因については今後検討されるべきであろう。

要 約

卵巢静止のホルスタイン種未経産牛 5 頭 (1~2 回反復使用)、延べ 10 例を 4 区に区分し、I 区 3 例には LH-RH 類縁化合物 (酢酸フェルチレリン) (LH-RH-A) 100 µg を 1 回、II 区 3 例には 100 µg を 1 時間間隔で 2 回、III 区 3 例には 200 µg を 1 回、IV 区 1 例には 400 µg を 1 回それぞれ筋肉内注射し、処置後の卵巢の変化ならびに末梢血中プロジェステロン (P) と エストラジオール-17β (E₂) の消長を調べた。

その結果、次の成績を得た。

1. LH-RH-A 処置後平均 37.5±5.3 (SD) 時間に I 区 2 例、II 区 2 例、III 区 3 例および IV 区 1 例の計 8 例 (80.0%) において排卵が誘起された。これらの内、II, III, IV 区の各 1 例の計 3 例では、誘起排卵後 8~9 日に第 2 回排卵が起こり、その後卵巢は正常な活動を開始した。他の 5 例では、卵巢は再び静止の状態に移行した。排卵が誘起されなかった I, II 区の各 1 例は、その後も卵巢静止の状態を続けた。

2. 誘起排卵後、7 例において黄体が形成されたが、それらはいずれも発育不十分で小さく、排卵後 5~7 日の早期に退行し始めた。また、この黄体形成に一致して血中 P 値が小ピーク (1.2~2.8 ng/ml) を示したものは 4 例であった。

3. 誘起排卵後に形成された黄体の退行に相前後して全例で卵胞が発育したが、第 2 回排卵したのは 3 例で、他の 4 例では卵胞は閉鎖退行した。また、この卵胞の発育、成熟に一致して E₂ 値が明瞭なピーク (8.7~19.5 pg/ml) を示したものは 4 例であった。

4. 誘起排卵後、黄体形成に一致して P 値の小ピークがみられ、かつ、黄体退行に伴う卵胞の発育、成熟に一致して E₂ 値の明瞭なピークが認められた 3 例において、第 2 回排卵が起こり、卵巢はその後正常な活動を開始した。

以上の成績から、卵巢静止の未経産牛に LH-RH-A を投与した場合の卵巢の反応は、用量 200 μg 以上の場合が用量 100 μg に比べて幾分優っているものと認められた。また、処置後卵巢が活動を開始するためには、排卵が誘起され、その後に血中 P 値のピーク形成をもたらすのに足りる機能を備えた黄体が形成され、さらに、黄体の退行に伴って卵胞が E_2 を旺盛に分泌しながら発育、成熟することが必要であることが明らかとなった。

最後に、LH-RH 類縁化合物を御提供下さいました武田薬品工業株式会社ならびにホルモン測定に御配慮下さいました帝国臓器製薬株式会社に感謝いたします。また、プロジェステロン測定に御協力下さいました伊漢武氏、御校閲下さいました家畜衛生試験場研究第 3 部保健衛生研究室長（現：日本獣医畜産大学教授）小笠原博士に深謝いたします。（1985. 2. 7 受付）

文 献

- 1) 金田(義)・加茂前(秀)・百目鬼(郁)・中原(達): 本誌, **23**, 19, 1979.
- 2) PETERS AR & GE LAMMING: *Br. vet. J.*, **140**, 269, 1984.
- 3) 百目鬼(郁)・中原(達)・山内(亮)・牧野(拓): 本誌, **20**, 95, 1974.
- 4) 百目鬼(郁)・中原(達): 本誌, **23**, 29, 1977.
- 5) SCHAMS D, F HÖFER, B HOFFMANN, M-L ENDER & H KARG: *Acta endocr.* (Kbh.), Suppl., **177**, 296, 1973.
- 6) 加茂前(秀)・金田(義)・百目鬼(郁)・中原(達): 本誌, **30**, 68, 1984.
- 7) BRITT JH, RJ KITTOCK & DS HARRISON: *J. Anim. Sci.*, **39**, 915, 1974.
- 8) KESLER DJ, HA GARVERICK, RS YOUNGQUIST, RG ELMORE & CJ BIRSCHWAL: *Theriogenology*, **9**, 363, 1978.
- 9) LISHMAN AW, SMJ ALLISON, RL FOGWELL, RL BUTCHER & EK INSKEEP: *J. Anim. Sci.*, **48**, 867, 1979.
- 10) ZAIED AA, HA GARVERICK, CJ BIRSCHWAL, RG ELMORE, RS YOUNGQUIST & AJ SHARP: *J. Anim. Sci.*, **50**, 508, 1980.
- 11) WEBB R, GE LAMMING, NB HAYNES, HD HAFS & JG MANNS: *J. Reprod. Fert.*, **50**, 203, 1977.
- 12) FONSECA FA, JH BRITT, M KOSUGIYAMA, HD RITCHIE & EU DILLARD: *Theriogenology*, **13**, 171, 1980.
- 13) TROXEL TR & DJ KESLER: *Theriogenology*, **21**, 699, 1984.
- 14) SCHAMS D, E SCHALLENBERGER, CH MENZER, J STANGL, K ZOTTMEIER, B HOFFMANN & H KARG: *Theriogenology*, **10**, 453, 1978.
- 15) 高橋(政)・菊池(武)・滝沢(静)・久馬(忠): 東北農試研報, **60**, 63, 1979.
- 16) LAMMING GE & DC BULMAN: *Br. vet. J.*, **132**, 507, 1976.
- 17) SHOTTON SM, JHB ROY & GS POPE: *Anim. Prod.*, **27**, 89, 1978.
- 18) GONZALEZ-PADILLA E, JN WILTBANK & GD NISWENDER: *J. Anim. Sci.*, **40**, 1091, 1975.
- 19) BERARDINELLI JG, RA DAILEY, RL BUTCHER & EK INSKEEP: *J. Anim. Sci.*, **49**, 1276, 1979.
- 20) 鈴木(善): ホルモンと生殖Ⅱ, その相関と機構(日本比較内分泌学会編), 65, 学会出版センター, 東京, 1979.
- 21) HARESIGN W, GR FOXCROFT & GE LAMMING: *J. Reprod. Fert.*, **69**, 383, 1983.
- 22) BULMAN DC, PE MCKIBBIN, WT APPELYARD & GE LAMMING: *J. Reprod. Fert.*, **53**, 289, 1978.
- 23) SHEFFIELD LG & AR ELLICOTT: *Theriogenology*, **18**, 177, 1982.
- 24) BERARDINELLI JG: M. S. Thesis. West Virginia Univ., Morgantown. 1976, Cited by BERARDINELLI, JG, RA DAILEY, RL BUTCHER & EK INSKEEP: *J. Anim. Sci.*, **49**, 1276, 1979.
- 25) GONZALEZ-PADILLA E, GD NISWENDER & JN WILTBANK: *J. Anim. Sci.*, **40**, 1105, 1975.
- 26) ZAIED AA, HA GARVERICK, DJ KESLER, CJ BIRSCHWAL, RG ELMORE & RS YOUNGQUIST: *Theriogenology*, **16**, 349, 1981.
- 27) KESNER JS, V PADMANABHAN & EM CONVEY: *Biol. Reprod.*, **26**, 571, 1982.
- 28) SCHILLO KK, DJ DIERSCHKE & ER HAUSER: *Theriogenology*, **19**, 727, 1983.
- 29) 笹本(修): 家畜繁殖学最近の歩み(山内亮編), 255, 文永堂, 東京, 1978.

Summary

Ovarian quiescence was diagnosed in 5 Holstein heifers by repeated rectal palpations. The heifers were injected intramuscularly with 100-400 μg of LH-RH analogue (LH-RH-A) i.e. [Des-Gly-NH₂¹⁰, Pro-ethylamid⁹]-LH-RH. When the treatment failed to induce the ovarian cyclic activity, a second or third treatment was conducted with the same or larger dosage of the hormone 21 or 41 days after the preceding treatment. A total of 10 cases were treated using 5 heifers. They were divided into divisions I to IV. Division I consisted of 3 cases each received a single injection of 100 μg of

LH-RH-A. Division II consisted of 3 cases each received double injections of $100\text{ }\mu\text{g}$ at 1 h interval. Division III consisted of 3 cases each received a single $200\text{ }\mu\text{g}$ injection. Division IV was 1 case which received a single $400\text{ }\mu\text{g}$ injection. At the time of treatments heifers were 18.9 ± 1.7 (Mean $\pm$ SD) months in age and 328.2 ± 14.0 kg in weight. Ovarian changes were traced by rectal palpation at intervals of 6 h to 2 days. Plasma progesterone (P) and estradiol- 17β (E_2) concentrations were determined by radioimmunoassay using samples collected at 12-48 h intervals during the experimental period.

Results: 1. Ovulations were induced 37.5 ± 5.3 (in a range of 30-48) h after LH-RH-A treatment in 8 cases (80.0%) in all, or 2, 2, 3 and 1 cases of divisions I, II, III and IV, respectively. Second ovulation occurred spontaneously 8-9 days after the induced ovulation in 3 out of 8 cases (or 1 case each of divisions II, III and IV). The normal ovarian function began in these 3 cases after the 2nd ovulation. Ovarian quiescence occurred again in the other 5 cases. In the remaining 2 cases of divisions I and II, no ovulation was induced and the ovaries remained quiescent. 2. Development of corpus luteum (CL) was observed in 7 of the 8 cases after the induced ovulation, although this induced CL was always subnormal in size and began to degenerate as early as 5-7 days after the ovulation. Plasma P concentration increased in 4 cases of these 7 showing small peaks ($1.2\text{--}2.8\text{ ng/ml}$) after the induced ovulation. This increase coincided with the development of the induced CL. In the other 3 cases, no P increase was seen after the ovulation. Neither development of CL nor increase of P was observed in the remaining case after the induced ovulation. 3. Follicles developed in each of the 7 cases before and during the period when the induced CL degenerated, and the follicles ovulated 8-9 days after the induced ovulation in 3 cases. In the other 4 cases they became atrophic and degenerated. Plasma E_2 concentration increased in 4 cases of these 7 to reach obvious peaks ($8.7\text{--}19.5\text{ pg/ml}$). This increase coincided with development and maturation of the follicles. In the other 3 cases no increase of E_2 was noted during the period of follicular development. 4. In all 3 cases in which following events were observed after the induced ovulation, second ovulation occurred and normal ovarian cyclic activity started subsequently; plasma P concentration reached small peak with development of the induced CL, plasma E_2 concentration reached obvious peak with development and maturation of the follicle during the period of degeneration of the induced CL.

These results indicate that good ovarian responses to LH-RH-A treatment required at least $200\text{ }\mu\text{g}$. It is also indicated that induced CL must be functional enough to form a small P peak in plasma, and follicle must reach maturity and secrete E_2 activity in coincidence with the degeneration of the induced CL for LH-RH-A treatment to induce ovarian cyclic activity in ovarian quiescent heifer.