非繁殖季節に発情誘起および人工授精された雌羊における 腹腔内視鏡による卵巢動態の観察

手塚雅文・小林正之・福井 豊・小野 斉

(帯広畜産大学畜産学部肉畜増殖学研究室)

腹腔内視鏡（以下ラパロスコブ）を使用しためん羊の卵巢観察の手法は ROBERTS¹⁾ によって報告され、黄体数の確認による排卵率の季節的变化²⁾、雄の効果による排卵率の変化³⁾、卵巢の経日的変化の観察と異常性周期の発見⁴⁾などに使用されている。本法は従来の外科的的手法による卵巢観察と比較して、受胎率および雌羊に与える影響が少ないことが報告されている⁵⁾。

本実験では非繁殖季節の雌羊に発情および排卵を誘起した場合の卵巢変化をラパロスコブで交配後 25 日目まで観察し、再発情の有無、ならびに各観察時における血漿プロジェステロン（以下 P₄）濃度と比較検討した。

材料と方法

本実験は 1984 年 6 月 21 日から 7 月 29 日までの非繁殖季節に行った。供試雌羊はサフォーク種、コリデール種、およびその雑種で、経産羊（2 才～4 才）7 頭、未経産羊（2 才）3 頭、合計 10 頭（体重；34.2 kg～68.8 kg）である。各雌羊に合成黄体ホルモン（6-Methyl-17-Acetoxy Progesterone）60 mg を含む腔内スポンジ（オーストラリア、アップジョン社製）を 9 日間挿入し、除去前 48 時間に妊馬血清性腺刺激ホルモン（セトロピン：帝国臓器製薬株式会社製）600 IU を筋注し、発情を誘起した。

発情はマーキングハーネスとエプロンを装着した試情用雄羊を導入して 1 日 4 回、6 時間ごとに観察した。発情雌羊に、VISSE⁶⁾ の方法による錠剤化凍結融解精液を人工授精した。授精は頸管外口部、または KILLEEN & CAFFERY⁷⁾ の方法によって子宮角内へ各 5 頭ずつ行い、頸管外口部へは発情発見後 12 時間目と 24 時間目の計

2 回 0.2 ml ずつ、子宮角内へは発情発見後 18 時間目に両子宮角へ 0.1 ml ずつ計 0.2 ml の凍結融解精液を注入した。その後ラパロスコブによる卵巢の観察は発情日を 0 日とし、5、10、15、20、25 日目の 5 回、およそ 09:00 に行なった。観察前 1 日間各雌羊は絶食状態においた。供試雌羊を頭を下に約 60 度の角度で仰臥姿勢に保定し、正中線から約 4 cm、乳房から約 6 cm の部位を約 5 mm 切開し、ラパロスコブを挿入した。正中線の丁度反対側に開口した穴から挿入した保持鉗子によって卵巢を視野に保定し観察、写真撮影を行った。各卵巢における卵胞および黄体の有無、ならびにその数、色調、大きさ、形について観察した。毎回の写真撮影は出来るだけ同方向から行なった。撮影は光源を最大にして行ない、シャッタースピードは 1/30 秒にセットした。各観察時にヘパリンを含む真空採血管で頸静脈から 8～10 ml 採血した。採血後すぐに血漿を分離し、-20°C で保存した。血漿 P₄ 濃度の測定は、ラジオイムノアッセイ（Radioimmunoassay: RIA）法⁸⁾により行なった。実験期間中雌羊は、再発情の有無を調べるため試情用雄羊と一緒にされた。

スポンジ除去後 12 時間目から 48 時間目にかけて全頭で発情が認められた。各供試雌羊における発情発現までの時間と再発情の有無を表 1 に、各観察時に認められた黄体数と血漿 P₄ 濃度を表 2 に示した。実験期間中黄体が認められなかった No. 70 を除く 9 頭を、発情誘起により形成された黄体のその後の変化によって次の 3 群に分けた。すなわち、

I 群：20 日目までに黄体が退行したもの

II 群：25 日目まで黄体が存在し、妊娠の可能性のあるもの

III 群：20 日目に新生黄体が認められたもの

である。さらに各群からそれぞれ 1 例を選び、5 日目から 25 日目までの卵巢動態を図 1～3 に示した。

I 群：5 日目に卵巢表面から突出した濃赤色の開花期黄体が認められた。黄体の色調は退行とともに変化し、10 日目には朱色を、15 日目には薄い黄色を呈していた。

Observations of ovarian activities using a laparoscope in ewes induced estrus and inseminated artificially during the non-breeding season.

TETSUKA, Masafumi, Masayuki KOBAYASHI, Yutaka FUKUI & Hitoshi Ono (Department of Meat Animal Reproduction, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro 080, Japan)

Japan. J. Anim. Reprod., 31 (4), 1985.

Table 1. Duration of in estrus from sponge removal and return of estrus

Group	Ewe No.	Duration of in estrus from sponge removal (h)	Average of each group (Mean $\pm$ sd)	Return of estrus
I	54	42	} 30 $\pm$ 8.5	—
	57	30		—
	122	24		—
	164	24		—
II	25	24	} 34 $\pm$ 6.0	—
	131	30		—
	133	18		—
III	51	12	} 27 $\pm$ 21.2	Day 16 12:00
	161	42		—
	70	48		

Table 2. Number of corpora lutea and plasma progesterone concentrations in ewes of each group

Group	Ewe No.	Number of corpora lutea (Plasma progesterone concentrations (ng/ml))				
		Day 5	Day 10	Day 15	Day 20	Day 25
I	54	1	1	1	—	—
		(0.8)	(2.8)	(0.9)	(0.3)	(0.5)
	57	1	1	1	—	—
		(1.5)	(2.5)	(0.6)	(0.7)	(0.5)
	122	1	1	1	—	—
		(0.8)	(2.8)	(1.3)	(0.4)	(0.1)
	164	1	1	1	—	—
		(2.5)	(2.3)	(1.3)	(0.8)	(0.5)
II	25	2	2	2	2	2
		(0.7)	(1.6)	(2.9)	(0.7)	(1.7)
	131	2	2	2	2	1
		(2.5)	(3.4)	(1.0)	(3.1)	(3.5)
	133	6	6	6	4*	4*
		(6.8)	(5.1)	(7.3)	(4.2)	(8.9)
III	51	1	1	1	2**	1
		(1.0)	(1.9)	(1.1)	(0.5)	(1.2)
	161	2	2	2	2**	1
		(3.4)	(1.9)	(0.4)	(0.1)	(0.9)
	70	—	—	—	—	—
		(0.7)	(0.2)	(0.4)	(0.5)	(0.2)

* The whole ovary could not be observed due to adhesions.

** One of two was new born CL.

15 日目までの卵巣に卵胞は認められなかった。20 日目と 25 日目の卵巣には退行黄体のみで新生黄体は認められず数個の卵胞が認められた。黄体の直径は 15 日目まではほとんど変化が見られなかったが、退行にともない黄体の卵巣実質内へのもぐり込みが観察された (図版 1)。

II 群: 5 日目に濃赤色の開花期黄体が認められた。10 日目の黄体はオレンジ色を呈しており黄体表面に血管が認められた。15 日目の黄体は 10 日目のものと大きさ、

色調、形態ともにほとんど変化が認められなかった。20 日目および 25 日目の黄体は薄黄色を呈しており、形態的には 15 日目までの黄体よりも平たくなっていた。25 日目の卵巣には黄体基部周辺と黄体表面に毛細血管の発達が発が認められた (図版 2)。

各雌羊で 5 日目に認められた黄体数は No. 133 で左 4 個、右 2 個、計 6 個、No. 131 ならびに No. 25 では左右 1 個ずつであった。No. 133 では卵巣の癒着により

20 日目と 25 日目に卵巢全体の観察が不可能であったため左 3 個, 右 1 個, 計 4 個の黄体しか確認できなかった。25 日目に No. 131 の右卵巢には黄体が認められなかった。

III 群: 5 日目の黄体は濃赤色を呈していた。10 日目および 15 日目の黄体は黄色を呈し, 卵巢実質との境界が不明瞭であった。20 日目に新生黄体が認められた。性周期から推測して排卵後 1 日から 3 日経過したと思われるこの黄体は, 前周期の 5 日目に観察された黄体と大きさ, 色調, 形態ともにほぼ同じであった。20 日目には前周期の黄体は退行したために確認できなかった。25 日目に新生黄体は朱色を呈し, 卵巢表面から大きく突出した開花期の相を呈していた (図版 3)。

5 日目に No. 161 で左右の卵巢に 1 個ずつ, No. 51 で右卵巢に 1 個黄体が認められた。No. 161 の左卵巢に認められた黄体が, その後 25 日目までに完全に退行した。No. 51 の左卵巢で 15 日目に卵胞が認められ, 20 日目に赤色黄体化したのが観察された。右卵巢の黄体は 25 日目までに退行した。No. 51 で 16 日目の 12:00 に再発情が確認された。が, No. 161 では再発情の有無は確認できなかった。

考 察

黄体の退行, あるいは妊娠黄体への移行にともなう黄体の大きさの変化は特に認められなかった。黄体の色調変化は RESTALL⁹⁾ や DEANE ら¹⁰⁾ によって報告された繁殖季節中の雌羊における黄体の色調変化とほぼ一致していた。これに対し, 黄体の形態的变化は各黄体により異なった。

図版 1 および 2 で示された黄体は卵巢実質との境界が明瞭であった。一方図版 3 で示された黄体は 10 日目および 15 日目の観察では卵巢実質との境界が不明瞭であった。図版 3 の 25 日目に観察されたような卵巢表面から大きく突出した開花期の黄体が他に数例 10 日目の観察で認められた。一方同様な開花期の黄体であっても図版 1 および 2 の 10 日目に観察されたものは卵巢表面によく付着していた。これらの形態的差違は OLDHAM と LINDSAY⁴⁾ によって報告されている黄体の卵巢実質内での位置の違いによるものであろう。以上のことから黄体機能の指標としては, 黄体の形態あるいは大きさによるものよりも色調によるものの方が良いと思われる。

I 群の 4 頭で 20 日目を以降に黄体は認められず, P_4 濃度も低値であった。これは今回のホルモン処置が一回の性周期の発現を誘起しただけで, 不受胎雌羊は再び発情

休止, 無排卵状態に移行したためと思われる。

II 群: II 群の 3 頭で 25 日目まで妊娠黄体と思われる黄体が卵巢に存在したことから受胎が示唆された。このうち No. 131 と No. 133 の 2 頭は子宮角内へ, No. 25 は頸管外口部へ授精されたものである。No. 25 と No. 131 の 2 頭は人工授精後 80 日目の超音波ドップラー法による妊娠診断により妊娠が確認され, その後 2 頭とも単子を分娩した。No. 133 では 80 日目の妊娠診断では妊娠の継続が認められなかった。5 日目から 25 日目までの観察で同一の黄体が存続し, またその間の P_4 濃度も高値であったことと, 80 日目に行ったラパロスコープによる卵巢観察で同側卵巢に白体が 1 個認められたことから, No. 133 は受胎した後, 80 日目までに流産したものである。

III 群: 20 日目に赤色黄体が確認されたにもかかわらず P_4 濃度が低いのは排卵後推定 1~3 日目であるため P_4 濃度がまだ上昇していなかったからであろう。25 日目に新生黄体によって P_4 濃度が再び上昇した。また 20 日目に No. 51 で右卵巢に, No. 161 で左卵巢に, 5 日目に観察されたものと同一と思われる黄体がわずかに認められた。25 日目の P_4 濃度が両者で低値であったことからこれらの黄体はすでに退行しているものと思われる。No. 161 で 20 日目に新生黄体が認められたにもかかわらず発情回帰が認められなかった。これは無発情排卵, あるいは雄の見のがしによるものだと思われる。

要 約

非繁殖季節に発情誘起し, 人工授精された 10 頭の雌羊において, 発情後 5 日目から 25 日目まで 5 日毎に計 5 回ラパロスコープを用いて卵巢観察を行ない, 再発情の有無, および各観察時の P_4 濃度と比較検討した。

1 頭で黄体が認められなかった。またこれを除く 9 頭中 3 頭が非繁殖季節における 1 回のホルモン処置によって受胎した。

黄体が観察された 9 頭を卵巢変化によって 3 群にわけた。すなわち, I 群 (4 頭): 20 日目までに黄体は消失した, II 群 (3 頭): 25 日目まで黄体が存在し, 受胎した, III 群 (2 頭): 20 日目に新生黄体が認められたものである。黄体の色調変化は繁殖季節において報告されているものとほぼ一致した。黄体機能の変化の指標とした黄体の大きさや形態よりも色調によるものの方がよいことが示唆された。

(1985. 4. 30 受付)

文 献

- 1) ROBERTS EM: Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., **7**, 192, 1968.
- 2) GHERARDI PB & DR LINDSAY: *J. Reprod. Fert.*, **60**, 425, 1980.
- 3) KNIGHT TW & PR LYNCH: *Anim. Reprod. Sci.*, **3**, 331, 1980.
- 4) OLDHAM CM & DR LINDSAY: *Anim. Reprod. Sci.*, **3**, 113, 1980.
- 5) OLDHAM CM, TW KNIGHT & DR LINDSAY: *Aust. J. Exp. Agr. Anim. Husb.*, **16**, 24, 1976.
- 6) VISSER D: *S. Afr. J. Anim. Sci.*, **4**, 157, 1974.
- 7) KILLEEN ID & GJ CAFFERY: *Aust. Vet. J.*, **59**, 95, 1982.
- 8) 牧野拓雄: 日本内分泌学会雑誌, **49**, 629, 1973.
- 9) RESTALL BJ: *Aust. J. Exp. Agr. Anim. Husb.*, **4**, 274, 1964.
- 10) DEANE HW, MF HAY, RM MOOR, LEA ROWSON & RV SHORT: *Acta. Endoc.*, **51**, 245, 1966.

Summary

Estrus was induced in ten ewes and they were artificially inseminated during the non-breeding season. Their ovarian activities were examined by laparoscopy every five days from day 5 to day 25 of the induced estrus. Concentrations of plasma progesterone (P_4) were measured by the radioimmunoassay at the day of laparoscopy. Return of estrus was also examined.

Ovulation was not detected in one ewe and three ewes conceived by single hormonal treatment during the non-breeding season.

The ewes were classified into 3 groups based on their ovarian activities:

Group I ($n=4$): Corpora lutea (CL) regressed by day 20.

Group II ($n=3$): CL were maintained by day 25.

Group III ($n=2$): New CL were detected at day 20.

Color changes in CL with the secretory activities were in agreement with those observed during the breeding season. The results of present experiments indicate that the color of CL is a better index of CL function than the size and shape of CL.

PLATE 1

PLATE 2

PLATE 3

Explanation of Plates

Plate 1. Ewe: 164. Ovary: right.

Fig. 1. A newly formed corpora lutea (CL) is seen. (Day 5)

Fig. 2. CL at day 10.

Fig. 3. CL has been regressing. (Day 15)

Fig. 4. CL has completely regressed and some follicles are visual. (Day 20)

Fig. 5. Only a few follicles are visual. (Day 25) *Fat tissue.

Plate 2. Ewe: 131. Ovary: left.

Fig. 1. A newly formed corpora lutea (CL) is seen. (Day 5)

Fig. 2. CL has developed. (Day 10)

Fig. 3. CL has maintained. (Day 15)

Fig. 4. & Fig. 5. CL has still maintained. (Day 20 & 25) (At right part of the ovary, respectively.)

Plate 3. Ewe: 161. Ovary: right.

Fig. 1. A newly formed corpora lutea (CL) is seen. (Day 5)

Fig. 2. CL has been regressing. (Day 10)

Fig. 3. CL has almost regressed. (Day 15)

Fig. 4. The another CL has formed. (Day 20)

Fig. 5. The CL has been developing. (Day 25)