

乳牛における分娩後の卵巣機能回復時期と 甲状腺機能との関係

大野真美子¹⁾ 大滝忠利^{1)†} 草刈直仁²⁾ 昆野大次³⁾ 津曲茂久¹⁾

- 1) 日本大学生物資源科学部 (〒252-0880 藤沢市亀井野 1866)
 2) 北海道立総合研究機構農業研究本部畜産試験場 (〒081-0038 上川郡新得町字新得西5線39)
 3) 北海道立総合研究機構農業研究本部根釧農業試験場 (〒086-1135 標津郡中標津町旭ヶ丘7)

(2010年8月23日受付・2010年10月25日受理)

要 約

乳牛46頭を用いて、分娩後の卵巣機能回復時期と分娩前後の甲状腺ホルモン (T_3 および T_4) 濃度との関係を明らかにし、インスリン様成長因子 (IGF-1)、血液生化学性状およびその後の繁殖成績との関連について検討した。卵巣機能回復が分娩後50日以内の早期回復群 ($n = 23$) と51日以降の回復遅延群 ($n = 23$) に区分した。回復遅延群は早期回復群に比べ、分娩前後の T_3 と T_4 濃度が有意に低かった。乾物摂取量は回復遅延群で-2週から1週にかけて有意に低値で推移し、分娩後1週と2週のIGF-1濃度が T_4 濃度と有意な正の相関を示した。空胎日数は、早期回復群に比べ回復遅延群で有意に延長した。以上の結果から、分娩後の卵巣機能回復が早い個体は、分娩前後の採食量および甲状腺ホルモン濃度が高く、その後の繁殖成績も良好であると考えられた。

—キーワード：乳牛、乾物摂取量、繁殖成績、卵巣機能回復、甲状腺ホルモン。

----- 日獣会誌 64, 135~139 (2011)

乳牛の繁殖成績に影響する分娩後の卵巣機能の回復には種々のホルモンが関与しており、甲状腺ホルモンも卵巣機能の回復と関係があることが示唆されている [1, 2]。甲状腺ホルモンは、唯一のヨウ素を含む生理活性物質であり、細胞代謝活性、脂質や炭水化物の代謝などさまざまな面に関与していることが知られている [3]。牛のヨード欠乏による甲状腺機能低下の繁殖障害として、不妊、流死産、繁殖能力低下、虚弱子牛および甲状腺腫子牛の分娩などがあげられる [4]。サイロキシン (T_4) から活性型のトリヨードサイロニン (T_3) への変換は、肝臓および腎臓で行われることから、肝機能の低下は甲状腺ホルモンの活性化を抑制し [5]、繁殖成績にも影響を及ぼすと考えられる。

甲状腺ホルモンは、季節や気温などの環境要因、エネルギー摂取量や泌乳などの生理学的要因によって大きな影響を受け [6]、エネルギーバランスと正の相関関係 [7]、乳量と負の相関関係 [8] が認められている。特

に、乳牛では分娩が近付くにつれて生じる乳腺組織へ大量の T_4 の移動や分娩後の負のエネルギーバランスに対応した生理的現象が、分娩前後の血中甲状腺ホルモン濃度を低値とすることが知られている [6, 9]。

そこで本研究では、分娩後の卵巣機能回復時期と分娩前後の甲状腺ホルモン濃度との関係を明らかにするとともに、インスリン様成長因子 (IGF-1) 濃度、血液生化学性状およびその後の繁殖成績との関連について検討した。

材料および方法

北海道立根釧農業試験場で飼養されているホルスタイン種乳牛46頭 (初産12頭, 2産以上34頭) を供試した。供試牛は分娩予定4週前から分娩後8週までタイストールで飼養した。搾乳は1日2回行った。飼料給与は、分娩前はチモシー主体のグラスサイレージを自由摂取させ、さらに分娩予定3週前からは濃厚飼料を2~4kg/

† 連絡責任者：大滝忠利 (日本大学生物資源科学部獣医学科獣医臨床繁殖学研究室)

〒252-0880 藤沢市亀井野 1866 ☎0466-84-3479 FAX 0466-84-3470 E-mail: ohtakitd@brs.nihon-u.ac.jp

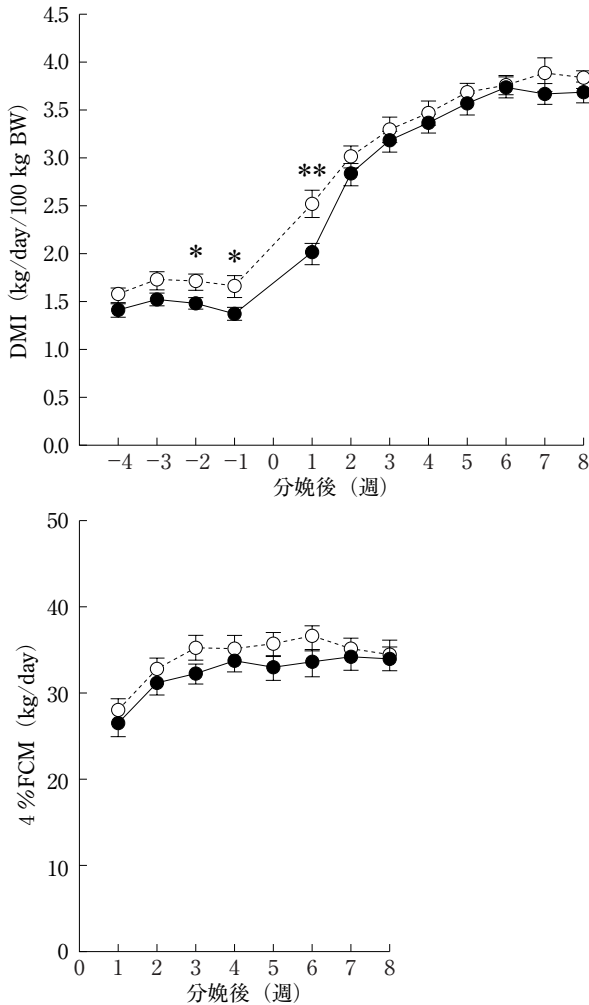


図1 分娩前後のDMIおよび4%補正乳量 (4%FCM) の変動
 平均値±標準誤差
 早期回復群 (n = 23, ○), 回復遅延群 (n = 23, ●)
 両群間での有意差: * P < 0.05, ** P < 0.01

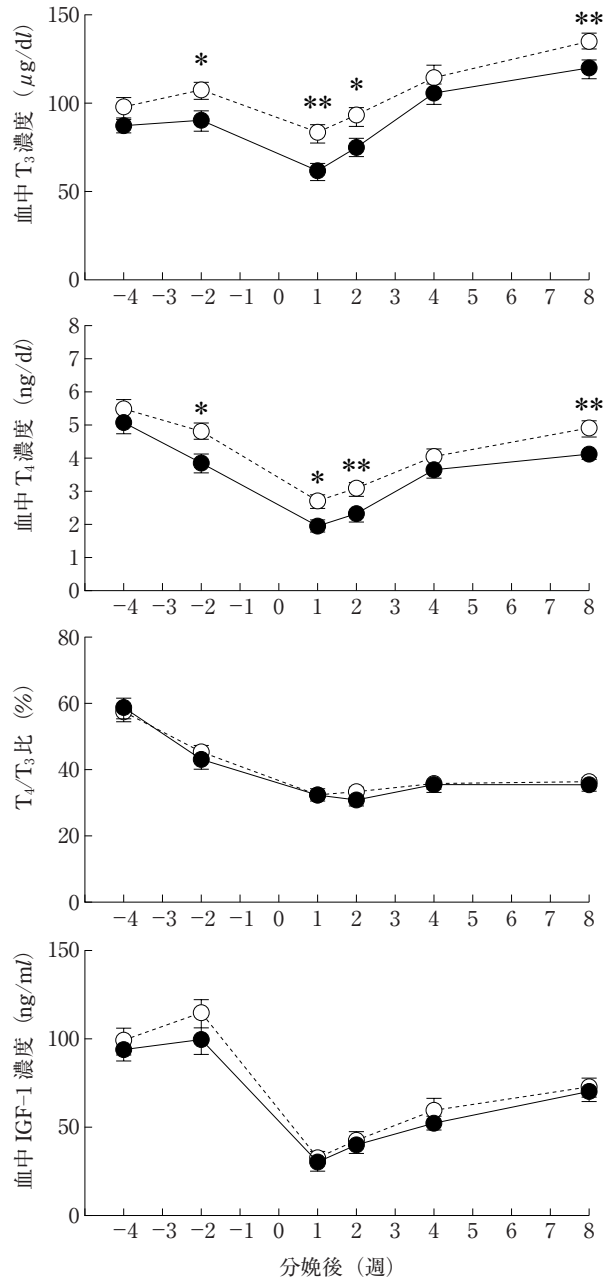


図2 分娩前後の血中甲状腺ホルモンおよびIGF-1濃度の変動
 平均値±標準誤差
 早期回復群 (n = 23, ○), 回復遅延群 (n = 23, ●)
 両群間での有意差: * P < 0.05, ** P < 0.01

日給与した。分娩後は完全混合飼料を自由摂取させた。また、乾物摂取量 (DMI) を測定した。

血液は分娩前4週, 2週および分娩後は週2回, 搾乳および給餌前の午前8時から9時の間に尾静脈より採取した。採血後, 4℃, 1,700 × gで15分間遠心分離し, 血清および血漿を測定まで-20℃で保存した。乳量は, 分娩直後から8週まで毎日記録した。

血漿中T₃濃度は¹²⁵Iを用いたRIA法 (TOTAL T₃ Antibody Coated Tube-¹²⁵I RIA kit, MP Biomedicals, U.S.A.) を, 血漿中T₄濃度は¹²⁵Iを用いたRIA法 (TOTAL T₄ Antibody Coated Tube-¹²⁵I RIA kit, MP Biomedicals, U.S.A.) により測定した。血漿中プロジェステロン (P₄) 濃度は, Zuluら [10] の方法を改良した2抗体酵素免疫測定法によって測定した。すなわち, 第1抗体を100,000倍希釈, HRP標識P₄を20,000倍希釈で使用した。血漿中IGF-1濃度はELISA法

(IGF-1 Human ELISA kit Quantikine, R & D Systems Inc., U.S.A.) により測定した。血液生化学性状は, 生化学自動分析装置 (TBA-20R, 株東芝, 東京) により測定した。BCSの測定は採血時にFergusonらのUV法に従い測定した。

初回排卵日数は週2回の血漿中P₄濃度の測定と週1回の超音波断層法による卵巣所見から判定した。すなわち, 分娩後の血漿中P₄濃度が1ng/ml以上に増加し, それが2点以上続いた日の3日前を排卵日とした。血漿中

表1 各群の血液生化学性状の比較

試験群	分娩後(週)						
	-4	-2	1	2	4	8	
BUN (mg/dl)	早期回復群	10.8±0.7	9.0±0.5	9.7±0.7	9.8±0.6	10.7±0.8	12.4±0.7
	回復遅延群	10.9±1.0	8.5±0.6	9.9±0.6	8.7±0.3	10.4±0.5	11.6±0.7
AST (U/l)	早期回復群	56.0±3.0	51.0±2.3	75.5±3.6	71.2±3.2	69.7±2.5	75.6±2.8
	回復遅延群	60.3±4.8	50.2±1.7	77.0±3.0	71.0±2.2	63.5±3.1	73.3±3.8
γ-GTP (U/l)	早期回復群	14.4±0.9	15.1±0.7	16.3±1.2	15.8±0.8	16.8±0.9	18.6±1.1
	回復遅延群	15.0±0.7	15.1±0.7	17.7±1.2	16.4±0.6	17.0±0.6	19.0±0.9
NEFA (μEq/l)	早期回復群	255.8±18.5	232.3±19.6	366.3±41.0 ^a	287.2±36.8	282.1±40.0	188.0±13.1
	回復遅延群	317.5±27.2	298.1±28.6	485.9±44.2 ^b	310.0±23.9	264.3±14.2	219.0±28.9
T-Chol (mg/dl)	早期回復群	103.3±4.3	90.4±4.0	80.0±4.0	108.9±6.1	147.6±7.8	189.3±9.0
	回復遅延群	107.7±4.9	91.2±2.9	73.4±3.4	98.6±5.1	137.7±6.0	186.0±9.0
Alb (g/dl)	早期回復群	3.6±0.1	3.5±0.1	3.3±0.1 ^a	3.5±0.1 ^a	3.6±0.1	3.7±0.1
	回復遅延群	3.7±0.1	3.5±0.1	3.1±0.1 ^b	3.2±0.1 ^b	3.5±0.1	3.6±0.1

平均値±標準誤差。異符号間で有意差あり (a, b: $P < 0.05$)

BUN: 尿素窒素 AST: アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ γ-GTP: γ-グルタミルトランスフェラーゼ

NEFA: 遊離脂肪酸 T-Chol: 総コレステロール Alb: アルブミン

P_4 濃度が1ng/ml以上の値が7日以上続いた場合を正常な発情周期とし、4日以下または22日以上の場合を異常とした。卵巣機能回復日は、正常な発情周期を2回以上繰り返し、正常な発情周期の最初の P_4 濃度の上昇が認められた時点とした。また、繁殖成績として、初回授精日数、空胎日数、難産発生率、胎盤停滞発生率について調査した。

得られたデータから、分娩後50日以内に卵巣機能回復を示したものを早期回復群 (n = 23, 31 ± 10日, 3.4 ± 1.9産)、51日以降のものを回復遅延群 (n = 23, 72 ± 14, 2.8 ± 1.8産)として区分した。2群の有意差の解析には統計解析ソフト (StatView 5.0, SASインスティテュートジャパン(株), 東京)を用いてMann-WhitneyのU検定を行った。有意水準5%以下で有意差を判定した。また、初産と2産以上の牛群間の差は、全項目について一元配置分散分析法を行った。

成 績

全項目において、初産牛と2産以上の牛群間に有意差は認められなかった。

DMIは、分娩前に回復遅延群が早期回復群より低い傾向にあり、分娩前2週 ($P < 0.05$)、分娩前1週 ($P < 0.05$)、分娩後1週 ($P < 0.01$)に回復遅延群が早期回復群より有意に低かった (図1)。4%脂肪補正乳量 (FCM)は、回復遅延群で全期間を通して低い傾向にあった (図1)。

T_3 および T_4 濃度は回復遅延群が早期回復群に比べ、分娩前2週、分娩後1, 2, 8週に有意に低かった (図2)。 T_4/T_3 比には両群間に有意な差は認められなかった (図2)。IGF-1濃度は、分娩前2週において早期回復群

表2 各群の繁殖成績の比較

	早期回復群 (n = 23)	回復遅延群 (n = 23)	有意水準
初回発情日数 (日)	67 ± 9	77 ± 6	N.S
初回授精日数 (日)	81 ± 8	91 ± 7	N.S
初回授精受胎率 (%)	50	22	N.S
空胎日数 (日)	115 ± 15	162 ± 13	$P < 0.01$
難産発生率 (%)	4	26	N.S
胎盤停滞発生率 (%)	12	30	N.S

日数は平均値±標準誤差 N.S: 有意差なし

が回復遅延群より高い傾向にあり (図2)、 T_4 濃度と分娩後1週 ($r = 0.60, P < 0.01$) および分娩後2週 ($r = 0.51, P < 0.01$) に有意な正の相関を示した。

血中遊離脂肪酸 (NEFA) は、回復遅延群が早期回復群に比べ、分娩前に高い傾向にあり、分娩後1週に有意に高かった ($P < 0.05$, 表1)。また、分娩後1週において、NEFAと T_3 ($r = -0.52, P < 0.01$) および T_4 濃度 ($r = -0.42, P < 0.01$) に負の相関が認められた。アルブミン (Alb) は分娩後1週および2週に回復遅延群が早期回復群に比べ有意に低かった ($P < 0.01$, 表1)。その他の血液生化学性状については両群間に差が認められなかった (表1)。

初回発情日数、初回授精日数は回復遅延群が早期回復群より長い傾向にあり、初回授精受胎率は早期回復群が回復遅延群より高い傾向にあった (表2)。空胎日数は、回復遅延群が早期回復群より有意に延長した ($P < 0.05$)。難産発生率、胎盤停滞発生率は回復遅延群が早期回復群より高い傾向にあった (表2)。

考 察

分娩前後の T_3 および T_4 濃度が早期回復群に比べ回復遅延群で有意に低い結果となり、両群の T_4/T_3 比に違いが認められなかったことから、回復遅延群では T_4 から T_3 への変換が抑制されたのではなく、甲状腺ホルモン分泌が低下していたと考えられる。甲状腺ホルモンの構成物質であるヨウ素は、土壌および飼料中の含有量に依存している。また、甲状腺は他の内分泌腺とは異なり、大量のホルモンを蓄えることができるため、通常1~3週間分のホルモンを蓄えている [3]。分娩前後の回復遅延群のDMIが早期回復群に比べ低く推移したことが、回復遅延群での低い甲状腺ホルモン濃度をもたらしたと考えられる。また、肝臓から分泌されるIGF-1が分娩前2週において早期回復群が高い傾向にあったことから、ソマトロピン軸に関与する成長ホルモンおよび胃から分泌されるグレリンの分泌が上昇していた可能性が推察される [11]。

乳牛における分娩後の負のエネルギーバランスは、繁殖機能に関係する視床下部—下垂体—性腺軸を抑制する [2] とともに視床下部—下垂体—甲状腺軸も抑制する [12]。ラットにおいて、甲状腺機能低下が副腎皮質機能および卵巣機能を低下すると報告されている [13]。すなわち、コルチコステロンが低下するとACTHおよびCRH分泌が過剰になり、GnRH分泌が抑制される。さらに、プロラクチンの過剰分泌による P_4 濃度の上昇も生じてLH分泌を抑制し、その結果として、卵巣機能が抑制されると考えられる。本研究において、LHおよび副腎皮質ホルモンは測定していないが、回復遅延群でNEFAが分娩前から高い傾向にあり、分娩後1週において早期回復群よりも有意に高くなったことから、エネルギー不足であったと考えられ、ストレスによる性腺機能低下と同様の現象が起こっていたと考えられる。また、分娩前後のNEFAは T_4 [5] および T_3 [14] と負の相関を示すことが報告されており、本研究においても分娩後1週において負の相関が認められた。

繁殖機能にはさまざまなホルモンが関与しているが、IGF-1は卵巣成熟段階で重要な役割を果たしており [15]、甲状腺ホルモンはFSHあるいはFSHとインスリンの存在下において顆粒膜細胞での P_4 産生を、 T_3 はアロマトラーゼ活性も多少刺激するとの報告 [16] がある。本研究において、分娩後の T_4 濃度とIGF-1濃度に正の相関が認められたことから、甲状腺ホルモンがIGF-1とともに卵巣機能に影響を及ぼしていた可能性が考えられる。

繁殖成績には分娩前の栄養状態が関係し、分娩前に過肥や低栄養など栄養状態の悪い個体あるいは代謝に関わる肝機能が低下している個体は、分娩後に繁殖障害を発

症しやすく、卵巣機能の回復が遅い傾向にある [17]。本研究では、血液生化学性状から供試牛の肝機能は正常範囲であったと考えられ、分娩前の採食量の違いが負のエネルギーバランス状態の差の大きさに反映し、その結果、繁殖成績に影響を及ぼしたと考えられる。

以上より、分娩前後の採食量および甲状腺ホルモンが卵巣機能回復に関係していたと考えられる。また分娩後の T_4 濃度とIGF-1濃度に正の相関が認められたことから、甲状腺ホルモンがIGF-1とともに卵巣機能に影響を及ぼしていた可能性が考えられ、分娩後の繁殖成績に影響していたと考えられる。

引用文献

- [1] Reist M, Erdin DK, von Euw D, Tschümperlin KM, Leuenberger H, Hammon HM, Morel C, Philipona C, Zbinden Y, Künzi N, Blum JW : Postpartum reproductive function: association with energy, metabolic and endocrine status in high yielding dairy cows, *Theriogenology*, 59, 1707-1723 (2003)
- [2] Jorritsma R, Wensing T, Kruip TAM, Vos PLAM, Noordhuizen JPTM : Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows, *Vet Res*, 34, 11-26 (2003)
- [3] Kaneko JJ : 甲状腺の機能, 獣医臨床生化学, 久保周一郎他訳, 第4版, 636-654, 近代出版, 東京 (1991)
- [4] 納 敏 : ヨード欠乏, 生産獣医療における牛の生産病の実際, 内藤善久他編, 119-121, 文永堂出版, 東京 (2000)
- [5] Djoković R, Šamanc H, Jovanović M, Nikolić Z : Blood concentrations of thyroid hormones and lipids and content of lipids in the liver in dairy cows in transitional period, *Acta Vet Brno*, 76, 525-532 (2007)
- [6] Huszenicza GY, Kulcsar M, Rudas P : Clinical endocrinology of thyroid gland function in ruminants, *Vet Med-Czech*, 47, 199-210 (2002)
- [7] Reist M, Erdin D, von Euw D, Tschuemperlin K, Leuenberger H, Chilliard Y, Hammon HM, Morel C, Philipona C, Zbinden Y, Kuenzi N, Blum JW : Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows, *J Dairy Sci*, 85, 3314-3327 (2002)
- [8] Blum JW, Kunz P, Leuenberger : Thyroid homoens, blood plasma metabolites and Haematological parameters in relationship to milk yield in dairy cows, *Anim Prod*, 36, 93-104 (1983)
- [9] 有賀 徹, 田辺茂之, 宇塚雄次, 更科孝夫 : 分娩前後の乳牛における血清甲状腺ホルモン濃度の変動, *日獣会誌*, 54, 172-176 (2001)
- [10] Zulu VC, Nakao T, Yamada K, Moriyoshi M, Nakada K, Sawamukai Y : Clinical response of ovarian cysts in dairy cows after PRID treatment, *J Vet Med Sci*, 65, 57-62 (2003)
- [11] 加藤和雄, 石渡広子, 小原嘉昭 : 反芻動物のソマトロピン軸の栄養素による調節, *家畜栄養生理研究会報*, 46, 69-87 (2002)

- [12] 植竹勝治：牛のストレスとは，臨床獣医，23，10-15 (2005)
- [13] Tohei A, Imai A, Watanabe G, Taya K : Influence of thiouracil-induced hypothyroidism on adrenal and gonadal functions in adult female rats, *J Vet Med Sci*, 60, 439-446 (1998)
- [14] Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilibroste P : Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow, *Reproduction*, 127, 727-737 (2004)
- [15] Roche JF, Diskin MG : 分娩後の牛の繁殖効率，上村俊一訳，日獣会誌，52，627-634 (1997)
- [16] Spicer LJ, Alonso J, Chamberlain CS : Effects of thyroid hormones on bovine granulosa and thecal cell function *in vitro* : dependence on insulin and gonadotropins, *J Dairy Sci*, 84, 1069-1076 (2001)
- [17] Roche JF : The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency, *Anim Reprod Sci*, 96, 282-296 (2006)

Relationship Between Thyroid Function and the Resumption of the Ovarian Cycle Postpartum in Dairy Cows

Mamiko ONO*, Tadatoshi OHTAKI†, Naohito KUSAKARI, Daiji KONNO and Shigehisa TSUMAGARI

* *College of Bioresource Sciences, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa, 252-0880, Japan*

SUMMARY

Using 46 dairy cows, the relationship between the resumption of the ovarian cycle postpartum and the thyroid hormone (T_3 and T_4) levels around calving was clarified, and its association with insulin-like growth factors (IGF-1), blood chemistry, and later reproductive performance was investigated. The cows were divided into early ($n = 23$) and delayed ($n = 23$) recovery groups, within which ovarian function recovered either within 50 days or 51 days or later after calving, respectively. The T_3 and T_4 levels were significantly lower in the delayed recovery group than in the early recovery group. The dry matter intake was significantly lower in the delayed recovery group from week -2 through week 1, and the IGF-1 level in weeks 1 and 2 after calving showed a significant positive correlation with the T_4 level. The number of days open was significantly prolonged in the delayed recovery group compared to the early recovery group. These findings suggest that food intake and thyroid hormone levels are high in cows whose ovarian function recovers rapidly after calving, and their later reproductive performance is favorable.

—Key words : dairy cow, dry matter intake, reproductive performance, resumption of ovarian cycle, thyroid hormone.

† *Correspondence to : Tadatoshi OHTAKI (Laboratory of Theriogenology, Nihon University)*

1866 Kameino, Fujisawa, 252-0880, Japan

TEL 0466-84-3479 FAX 0466-84-3470 E-mail : ohtakitd@brs.nihon-u.ac.jp

—J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 64, 135 ~ 139 (2011)