

Progesterone 濃度測定에 의한 乳牛의 繁殖效率增進에 관한 研究

Ⅲ. 低受胎牛에서 乳汁中 progesterone 濃度變化

康炳奎, 崔漢善, 崔相功*, 孫章好, 全洪爽

全南大學校 獸醫科大學
(株) 西光 畜産事業部*
(1993년 10월 14일 접수)

Progesterone assays as an aid for improving reproductive efficiency in dairy cattle

Ⅲ. Milk progesterone profiles in repeat-breeder dairy cows

Byong-kyu Kang, Han-sun Choi, Sang-gong Choi*, Chang-ho Son, Hong-suk Chon

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University
Suhkwang Livestock Co. LTD*

(Received Oct 14, 1993)

Abstract: This study was undertaken to clarify the relationship between the cause of repeat-breeder and the luteal dysfunction in repeat-breeder dairy cows that failed to conceive to three or more artificial insemination(AI) at a regular interval. Progesterone concentrations were measured in milk fat for 20 to 22 days after AI.

From the 15 repeat-breeder dairy cows, six cows had a normal progesterone profiles. Five cows showed a delayed rise of the progesterone concentrations until 7 to 10 days after AI, two cows had a comparatively low concentration of milk progesterone below 150 ng/ml through most of the luteal phase, and two cows had a combined pattern of a delayed rise and a low concentration of milk progesterone during luteal phase.

It is suggest that luteal dysfunction as indicated by progesterone profiles is one of the causes of repeat-breeder in dairy cows.

Kew words : milk progesterone, repeat-breeder, dairy cows.

서 론

乳牛에 있어서 低受胎 Repeat-breeder란 生殖器官에 특이한 異常이 없이 정상 발정주기를 나타내면서 2~3회 이상 수정을 시켜도 수태되지 않은 경우라고 정의되고 있으며,^{1,4} 그 발생율은 5~25%로서^{3,5,6} 국내에서는 20.8%라 보고⁷된 바 있다.

저수태의 발생요인으로서는 乳牛의 年齡, 畜牛群의 규모, 발정확인 방법, 수정시기, 인공수정기술과 精液性狀, 분만후 첫 수정까지의 경과일수, 영양, 生殖器의 感染, 그리고 受精障害와 胚의 早期死를 초래하는 호르몬의 분비이상 등 여러가지로 보고되고 있으며,^{2,4,8} 특히 배의 조기사에 대하여는 黃體機能의 異常에 의한 progesterone(P₄)의 분비부족과 luteinizing

*본 연구는 1993년도 한국과학재단 연구비지원에 의한 결과임.
과제번호 : 931-0600-009-2

hormone(LH)의 분비이상이라고 지적되고 있다.^{2,3,8}

이처럼 저수태의 원인이 호르몬 특히 P₄와 LH의 분비이상이라는 지적에 따라 저수태의 치료에는 progesterone製劑 또는 Gonadotropin-releasing hormone(Gn-RH)과 Human chorionic gonadotropin(hCG)이 사용되어 왔다. 즉 저수태에 대한 치료법의 하나로 종래에는 수정후에 황체 호르몬제의 투여가 시도 되어졌으나,^{15,16} 수정후의 황체기능과 수태와의 관계에 대해서는 관계가 있다는 보고^{17,18}와 그리고 관계가 없다는 보고^{8,19}가 있어 결론은 언저 못하고 있는 실정이다. 특히 황체 호르몬제에 의한 저수태의 치료는 그 투여량, 투여시기 및 투여간격 등에 따라 다양하여서 치료효과에 대한 명확한 결론을 내리지 못하고 있다.

또한 저수태의 원인이 LH의 분비이상이라는 관점에서 저수태를 치료하기 위하여 Gn-RH 또는 hCG를 투여하여 치료효과를 검토하였으나 그 효과는 명확하지 않았다.^{3,6,20,22} Gn-RH가 어떻게 저수태에 유효한가에 대한 이론은 Thiber²³는 인공수정에 앞서 Gn-RH의 투여는 난포의 발육을 촉진한다고 하였고, Stevenson 등²²은 초기의 LH 급증을, Thiber 등⁶은 胚의 발육저해요인을 제거하고 또한 子宮內 胚의 유지에 효과가 있다고 하였으며, 그밖에 혈중 P₄ 농도의 상승,¹³ 機能黃體의 형성^{22,24}과 배란시기의 동기화^{20,23} 등 여러가지로 추론되고 있다.

乳牛에 있어서 분만후 난소기능 회복상태 또는 수태와의 관련에서 호르몬제의 투여효과에 대해 혈액 또는 유즙중 P₄ 농도의 변동에 따른 검토는 많은 보고^{8,13,16,17}가 있으나, 저수태에서 P₄ 농도의 변동에 따라 어떠한 異常이 실제적으로 있는가에 대해서는 그다지 밝혀져 있지 아니하다. 다만 Bulman과 Lamming⁸은 47예의 저수태에 대한 검토에서 P₄ 농도의 변화양상에 따라 正常型, 黃體期 持續型, 不定型, 卵巢週期停止型, 黃體期 때 授精, 妊娠期 때 授精 및 胚의 早期死 등으로 분류하여 저수태에는 여러가지 요인이 관여하나 특히 내분비 이상임을 강조한 바 있다. Kimura 등²도 21예의 저수태에서 P₄ 농도의 변화양상을 正常型, 遲延型, 低值型, 遲延低值型의 4가지로 분류하고 정상형을 나타낸 8예중 5에는 수태된 반면에 지연형, 저치형, 지연저치형을 나타낸 예에서는 不妊이었다는 사실에서 황체형성부전이 저수태의 발생과 밀접한 관련이 있음을 보고한 바 있다.

앞에서 언급한 바와 같이 저수태의 발생요인은 일반 사양관리에서부터 축우군의 규모, 번식기술 및 호르몬의 불균형 등 여러가지이다. 우리나라에 있어서의 저수태에 대한 검토는 그 발생률만이 보고되어져 있는 실

정이고 이에 대한 내분비학적 측면에서의 상세한 검토는 보고된 바 없다. 본 연구는 저수태 원인중의 하나가 황체기능의 이상임을 밝힐 목적으로 번식기록 및 임상 검사상 저수태로 진단된 15두를 대상으로 수정후 유지방중의 P₄ 농도를 측정하였다.

재료 및 방법

對象動物 : 전남지방의 한 낙농전업 목장에서 사육되고 있는 Holstein종 經產 乳牛에서 번식기록과 인공수정기록상 분만후 3회 이상 인공수정을 실시하여도 수태되지 않고 또한 임상검사 및 직장검사에서 뚜렷한 異常이 인정되지 않았던 15두를 대상으로 하였다. 年齡 및 産次는 4~9(평균 5.2)년 및 1~6(평균 2.5)産이었으며 또한 최종분만후의 인공수정 횟수는 3~6(평균 3.6)회 이었다.

乳汁採取 및 處理 : 육안적으로 발정이 관찰되면 인공수정을 실시하였으며, 직장검사로 배란유무를 확인하였다. 유즙의 채취는 수정일부부터 다음 수정일, 즉 1회의 발정주기동안 2일 간격으로 오후 착유시 分房에 관계없이 前搾乳 乳汁를 채취하였다. 시험관에 유즙 2 ml와 solvent(n-Butanol 15%, n-Butylamine 49%, Deionized water 36%) 0.4 ml를 혼합하여 80℃에서 3분간 방치한 다음 원심분리(3,000 G, 10 min)하여 유지방을 분리하였다. 시험관에 유지방 20 µl와 70% methyl alcohol 1 ml를 혼합하여 40℃에서 10분간 방치한 후 상층액 500 µl를 silica gel이 충전된 추출용기에 분주한 다음 diethyl ether 2.5 ml로 P₄를 추출하였다. 추출된 시료에서 diethyl ether만을 증발시키고 P₄는 G-PBS 1.5 ml로 재용해하여 분석에 이용하였다.

乳脂肪中の progesterone 濃度測定 : P₄ 농도는 Choi 등²⁵의 기술에 준하여 측정하였고 유지방중의 P₄ 농도가 80.0 ng/ml 이상이면 난소내에 기능황체가 존재하는 것으로 판정하였다.

乳脂肪中の progesterone 濃度變化에 따른 低受胎의 分類 : Kimura 등²의 기술에 준하여 正常型, 遲延型, 低值型 및 遲延低值型으로 분류하였다.

결 과

유지방중의 progesterone 농도변화에 따른 저수태의 분류 : 수정후에 P₄ 농도가 80 ng/ml가 될 때까지 소요된 경과일수 및 상승정도에 따라 正常型, 遲延型,

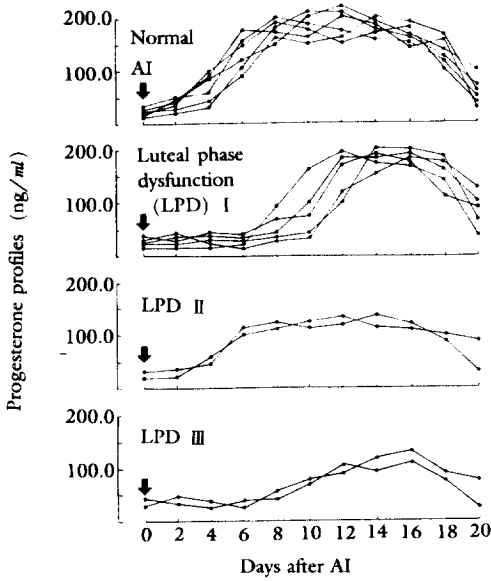


Fig. 1. Progesterone profiles in milk fat after artificial insemination(AI) in 15 repeat-breeder dairy cows. LPD I: the rise of progesterone concentrations delayed until the 7th to 10th day after AI; LPD II: progesterone concentrations during early and mid-luteal phases were relatively lower; LPD III: combined cases of LPDs I and II.

低値型 및 遲延低値型 등 4가지로 분류한 결과는 Fig. 1과 같다.

저수태 15두중에서 정상 발정주기와 동일한 양상의 P₄ 농도를 나타내는 정상형은 6두(40%) 이었고 나머지 9두(60%)는 정상 발정주기와는 다른 양상(비정상형)을 나타내었다. 즉 비정상형 9두중에서 P₄ 농도가 수정후 7~10일 사이에 증가되는 지연형은 5두(33.3%), 황체기동안 P₄ 농도가 150 ng/ml 이하로 낮게 지속되는 저치형은 2두(13.3%), 그리고 지연형과 저치형이 혼합된 지연저치형은 2두(13.3%) 이었다. 한편 각 分類型別에 있어서 유지방중 P₄ 농도의 변화양상은 다음과 같다.

정상형(Normal) : P₄ 농도는 수정후 6일 이내에 80 ng/ml 이상으로 상승하였고 그후 계속 증가하여 8~14일에는 최고치인 200 ng/ml에 도달하였으며, 다음 발정일 2~3일 전에는 다시 80 ng/ml 이하로 내려갔다.

지연형(Luteal phase dysfunction, LPD I) : 수정후 7~10일 사이에 P₄ 농도가 80 ng/ml 이상으로 상승하였고, 그후에는 정상형과 동일하였다.

저치형(LPDI II) : P₄ 농도는 수정후 6일 이내에 80 ng/ml 이상으로 상승하였지만 황체기에 있어서 P₄ 농

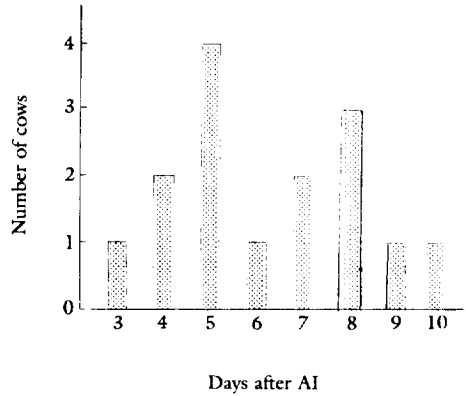


Fig. 2. Number of cows that raised the progesterone concentrations in milk fat above 80 ng/ml after artificial insemination(AI) in 15 repeat-breeder dairy cows.

도는 150 ng/ml 이하로 정상형에 비하여 낮게 유지되었다.

지연저치형(LPDI III) : 지연형과 저치형이 혼합된 것으로 수정후 7~10일 사이에 P₄ 농도가 80 ng/ml 이상으로 상승하였고, 황체기에도 150 ng/ml 이하로 낮게 유지되었다.

수정후 유지방중의 progesterone 농도가 80 ng/ml 이상으로 상승할 때까지의 경과일수 : Fig. 2에서 보는 바와 같이 유지방중의 P₄ 농도가 80 ng/ml 이상으로 상승한 것은 수정후 3일에 1두, 4일에 2두, 5일에 4두, 6일에 1두, 7일에 2두, 8일에 3두 그리고 9, 10일에 각각 1두로 나타났다. 즉 정상형 6두와 저치형 2두는 수정후 6일 이내에 P₄ 농도가 80 ng/ml 이상으로 상승하였으며, 지연형 5두와 저치형 2두는 수정후 7~10일 사이에 80 ng/ml 이상으로 상승하였다.

고 찰

黃體機能의 異常에 의한 P₄의 분비부족이 低受胎의 주요한 誘因일 것이라는 관점에서 저수태우 15두를 대상으로 수정일부터 1회의 발정주기 동안 유지방중 P₄ 농도의 변화양상을 검토하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 정상형은 40% 그리고 비정상형(지연형, 저치형 및 지연저치형)은 60%로 확인되었다. 이는 Bulman과 Lamming 등⁸⁾이 정상형은 30%, 비정상형이 70%, 그리고 Kimura 등²⁾이 각각 38%와 62% 이었다는 보고와 유사한 결과이었다.

각 分類型別 유지방중 P₄ 농도의 변화양상은 비정상형 9두중에서 수정후 7~10일 사이에 P₄ 농도가 80 ng/ml 이상으로 상승되었던 지연형은 5두, P₄ 농도는 수정후 5일 이내에 상승하였지만 그러나 황체기 동안에는 150 ng/ml 이하로 낮게 지속된 저치형은 2두, 그리고 지연형과 저치형이 혼합된 지연저치형은 2두 이었다. 즉 수정후 7~10일 사이에 P₄ 농도가 상승되었던 것(지연형, 지연저치형)은 황체형성지연으로 생각되며 황체기 때 P₄ 농도가 낮게 지속되었던 것(저치형, 지연저치형)은 황체형성부전으로 생각된다. 이는 수정후 P₄ 농도의 상승이 지연되거나 또는 황체기 때 P₄ 농도가 낮게 지속되는 것은 황체형성지연이나 황체형성부전을 의미하며 이러한 황체기능부전이 저수태의 원인이었다는 Sreenon과 Diskin,¹⁰ Swanson과 Young³ 및 Kimura 등²의 지적과 일치하였다.

Kimura 등²은 황체형성지연의 원인에 대한 내분비학적 근거는 발정기 때 LH의 분비와 관련이 있다고 추론하였으나 Roche 등¹⁹은 임신우와 비임신우에서 배란기 때 LH의 농도는 차이가 없었다고 지적한 바 있다. 한편 황체기능부전이 LH의 분비이상이라는 관점에서 저수태우를 대상으로 수정시 Gn-RH 또는 hCG를 투여하여 치료효과를 검토하였으나 수태율을 증가시켰다는 보고^{6,21}와, 수태율에는 관계가 없었다는 보고^{3,22,26,27}가 있어서 황체기능부전이 LH의 분비 부족인가에 대해서는 아직 명확한 결론은 얻지 못하고 있는 실정이다. 따라서 앞으로는 황체기능부전의 원인과 LH와의 관계에 대한 검토가 있어야 할 것으로 사료된다.

그리고 Fig. 1에서 보는 바와 같이 수정후 6일 이내에 P₄ 농도가 80 ng/ml 이상으로 상승한 후, 황체기 때는 150 ng/ml 이상으로 높게 유지되다가 다음 발정일 2~3일전에 감소한 정상형은 15두중 6두 이었는데, 이는 정상 발정주기^{28,29}의 P₄ 농도와 거의 유사한 양상을 보여주었다. 이는 저수태의 발생에는 발정발견의 잘못도 부수적으로 영향을 미친다는 O'Farrell 등¹¹의 지적처럼, 앞으로는 이러한 정상형과 같은 것을 대상으로 내분비학적 측면에서 뿐만 아니라 발정발견의 정확성 또는 배란의 확인 등 저수태의 발생에 대한 다른 요인들에 대해서도 검토가 있어야 할 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합하여 보면 저수태우 15두중 9두(60%)가 P₄ 농도의 변화양상으로 보아 황체기능부전으로 나타났는데 이는 황체형성부전에서 기인되는 P₄ 농도의 분비부족으로 생각되며 황체기능과 저수태 사이에는 깊은 관련성이 있음이 시사되었다.

低受胎의 原因과 黃體機能不全과의 關係를 闡明 목적으로 전남지역 낙농전업 목장에서 번식기록 및 인공 수정기록상 低受胎牛로 진단된 乳牛 15두를 대상으로 수정일부터 1회의 발정주기동안 유지방중 P₄ 농도를 측정하였다.

유지방중 P₄ 농도의 변화양상으로 보아 저수태우 15두중에는 정상 발정주기와 동일한 양상을 보인 正常型이 6두, 수정후 7~10일 사이에 유지방중의 P₄ 농도가 80 ng/ml 이상으로 상승되었던 遲延型은 5두, P₄ 농도의 상승시기는 정상형과 동일하였지만 황체기 동안 P₄ 농도가 낮게 지속되었던 低值型은 2두 이었으며 그리고 지연형과 저치형이 혼합된 遲延低值型은 2두 이었다.

이러한 P₄ 농도의 변화양상으로 보아 황체기능부전이 저수태 원인중의 하나라고 추론된다.

참고 문헌

1. Gunther JD. Classification and clinical management of the repeat breeding cow. *Comp Cont Ed Pract Vet* 1981; 3: 154~158.
2. Kimura M, Nakao T, Moriyoshi M, et al. Luteal phase deficiency as a possible cause of repeat breeding in dairy cows. *Br Vet J* 1987; 143: 560~566.
3. Swanson LV, Young AJ. Failure of gonadotropin-releasing hormone or human chorionic gonadotropin to enhance the fertility of repeat-breeder cows when administered at the time of insemination. *Theriogenology* 1990; 34: 955~963.
4. Bartlett PC, Kirk JH, Mather EC. Repeated insemination in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Theriogenology* 1986; 26: 309~322.
5. Lafi SQ, Kaneene JB. Risk factors and associated economic effects of the repeat-breeder syndrome in dairy cattle. *Vet Bull* 1988; 58: 891~903.
6. Thiber M, Gouffe D, Jean O, et al. Enhancing the rate of recovery and quality of the embryos in repeat breeding cows by using a GnRH analogue injection at mid-luteal phase prior to breeding. *Theriogenology* 1985; 24: 725~736.

7. 康炳奎, 羅鐵洙. 全南地域 乳牛에 있어서 繁殖障害 牛의 發生狀況 및 그 血液値의 評價에 關한 研究. 大韓獸醫學會誌 1976; 16: 65~69.
8. Bulman DC, Lamming GE. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *J Reprod Fertil* 1978; 54: 447~458.
9. Gustafsson H, Larsson K, Kindahl H, et al. Sequential endocrine changes and behavior during oestrus and metoestrus in repeat-breeder and virgin heifers. *Anim Reprod Sci* 1986; 10: 261~273.
10. Sreenonson JM, Diskin MG. Early embryonic mortality in the cow: Its relationship with progesterone concentration. *Vet Rec* 1983; 28: 517~521.
11. O'Farrell KJ, Langley OH, Hartigan PJ, et al. Fertilization and embryonic survival rate in dairy cows culled as repeat breeders. *Vet Rec* 1983; 29: 95~97.
12. Lee CN, Maurine E, Ax RL, et al. Efficacy of gonadotropin-releasing hormone administered at the time of artificial insemination of heifers and postpartum and repeat-breeder dairy cows. *Am J Vet Res* 1983; 44: 2160~2163.
13. Echtenkamp SE, Maurer RR. Conception embryonic development and corpus luteum function in beef cattle open for two consecutive breeding seasons. *Theriogenology* 1983; 20: 627~637.
14. Agalon N. A review of embryonic mortality in cattle. *J Reprod Fertil* 1978; 54: 483~493.
15. Herrick JB. Clinical observation of progesterone therapy in repeat breeding heifers. *Vet Med* 1953; 48: 489~490.
16. Johnson KR, Ross RH, Fourt DL. Effect of progesterone administration on reproductive efficiency. *J Anim Sci* 1958; 17: 386~390.
17. Erb R, Garverick E, Randel RD, et al. Profiles of reproductive hormones associated fertile and non-fertile inseminations of dairy cows. *Theriogenology* 1976; 5: 227~242.
18. Nakao T. Practical procedure for enzyme immunoassay of progesterone in bovine serum. *Acta Endocr* 1980; 93: 223~227.
19. Roche JF, Lreland JJ, Bolland MP. Concentration of luteinizing hormone and progesterone in pregnant and non-pregnant heifers. *Vet Rec* 1985; 116: 153~155.
20. Stevenson JS, Schmidt MK, Call EP. Gonadotropin-releasing hormone and conception of Holsteins. *J Dairy Sci* 1984; 67: 140~145.
21. Phatak AP, Whitmore HL, Brown MD. Effect of gonadotrophin releasing hormone on conception rate in repeat-breeder dairy cows. *Theriogenology* 1986; 26: 605~609.
22. Stevenson JS, Frantz KD, Call EP. Conception rates in repeat-breeders and dairy cattle with unobserved estrus after prostaglandin F₂ alpha and gonadotropin-releasing hormones. *Theriogenology* 1988; 29: 451~460.
23. Thiber M. La recours a la gonadoliberine(GnRH) ou analogues en medicine veterinaire. Analyse pharmacologique et therapeutique chez les bovins. *Ann Rec Vet* 1988; 19: 153~167.
24. Moller K, Fielden ED. Pre-mating injection of an analogue of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and pregnancy rates to first insemination. *Nz Vet J* 1981; 29: 214~215.
25. Choi HS, Kang BK, Lee CG, et al. Studies on the improvement of reproductive efficiency in Korean native cows. -Development of radioimmunoassay for progesterone. *Korean J Vet Res* 1990; 30: 171~175.
26. Archbald LF, Sumrall DP, Tran T, et al. Comparison of pregnancy rates of repeat-breeder dairy cows given gonadotropin releasing hormone at or prior to the time of insemination. *Theriogenology* 1992; 39: 1081~1091.
27. Lewis GS, Caldwell DW, Rexroad CE. Effects of gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin on pregnancy rate in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1990; 73: 66~72.
28. Lamming GE, Bulman DC. The use of milk progesterone radioimmunoassay in the diagnosis and treatment of subfertility in dairy cows. *Br Vet J* 1976; 132: 507~517.
29. Nakao T, Sugihashi A, Kawata K, et al. Milk progesterone levels in cows with normal or prolonged estrous cycles, referenced to an early pregnancy diagnosis. *Jpn J Vet Sci* 1983; 45: 495~499.