

牛の受精卵移植技術簡易化試験

(3) CIDR 装着時の卵胞動態およびエストロジェン投与が卵胞発育波に与える影響について

山城 存 西銘清二* 知念 司 野中克治

I 要 約

黒毛和種における効率的および計画的過剰排卵（以下SOV）処置を目的に、膈内投与プロゲステロン除放性性周期同調剤（Controlled Internal Drug Releasing, 以下CIDR）装着時の卵胞動態について観察した。またCIDR装着時のエストロジェン（エストリオール：Estra-1, 3, 5 (10)-trien-3, 16 α , 17 β triol, 以下E3）投与が卵胞発育波に与える影響について検討した。その結果は以下のとおりであった。

1. CIDR 装着牛群と非装着牛群の卵胞数の平均値は、ほぼ同じ値で推移したが、CIDR 装着牛群では装着日数が経過するにつれて標準偏差値が小さくなった。また、その要因は特に小卵胞数の変動に起因していた。
2. CIDR 装着牛群と非装着牛群の卵胞数平均値の推移から、CIDR を用いた計画的SOV 処置では、従来の方法と同程度の採卵成績が期待できると考えられた。
3. CIDR 装着時に投与したE3は、既存の卵胞の閉鎖退行を促進して、新しい卵胞発育波を起こさせることが示唆された。
4. CIDR とE3 投与を併用した過剰排卵処置開始日は、E3 投与後5日目頃が適当であると思われた。

II 諸 言

最近、牛の性周期中の卵胞発育波とそこから発育する優勢卵胞（Dominant Follicle：以下DF）の役割が明らかにされつつある¹⁻⁴⁾。特に牛のSOV 処置開始日については、卵胞発育波に配慮または、コントロールして開始することが採卵成績の向上につながるといわれている。つまり、牛では発情周期中に2から3回の卵胞発育波があり、その中小卵胞の発育波をとらえるようにSOV 処置を開始することが望まれている^{5,6)}。近年、CIDR を用いた計画的採卵において、従来のSOV 処置方法と同様の結果が得られたとの報告がある^{7,8)}。また卵胞発育波をコントロールして、人為的にSOV 処置日を制御する方法にCIDR の装着とエストロジェンの併用が有効であるとの報告もある⁹⁾。しかしCIDR 装着時の卵胞動態についての報告は少ない。そこで今回CIDR 装着時の卵胞動態について観察し、さらにE3 投与がCIDR 装着時の卵胞発育波に与える影響について検討した。

III 材料および方法

1. 試験期間

1997年9月から1998年2月。

2. 供 試 牛

場内飼養の黒毛和種経産牛10頭を用いた。

3. 方 法

- 1) 試験1：黒毛和種経産牛6頭を用いて、これらを2群に分け、試験区と対照区とした。

試験区では、性周期にかかわらずCIDRの装着と、自己黄体からのプロゲステロン産生を低下させるためプロスタグランジンF_{2 α} （クロプレステノールナトリウム：以下PGF_{2 α} ）0.526mgを筋肉内投与して、その後3日目より29日間（計13回）卵胞動態を観察した。CIDRは、装着後14日目に新しい製品と交換した。

* JICA 研修生（研修期間：1997.4～1998.3）

対照区では、PGF_{2α}を0.526mg 筋肉内投与して発情を誘起、発情後2日目より、21日間（計10回）卵胞動態を観察した。

前記の一連の処置および観察を1クールとして、2クールめを試験区と対照区の牛を反転させて行った。両区とも観察期間中の血中プロゲステロン（以下P）値をRIA（Radio Immunoassay）法により測定した。

2) 試験2：黒毛和種経産牛4頭を用いて、これらを2群に分け、試験区と対照区とした。

両区とも性周期にかかわらずCIDRの装着とPGF_{2α}を0.526mg 筋肉内投与した。試験区では、CIDR装着後7日目に5mg/mlのE3を1ml 筋肉内投与した、また対照区には、ミネラルオイル（以下オイル）1mlを筋肉内投与して、CIDR装着から14日間（計7回）卵胞動態を観察した。

上記の一連の処置および観察を1クールとし、2クールめを試験区と対照区の牛を反転させて行った。

試験1、2とも卵胞の観察は、超音波診断装置（動物用電子コンパックス探触子5MHzおよびスーパーEXSSD500）を用いて行い、DF（直径約10mm以上）、中（直径約6～9mm）小（直径約2～5mm）卵胞別に計測した。（写真1, 2）



写真1 DF（優勢卵胞：10mm以上）の超音波画像

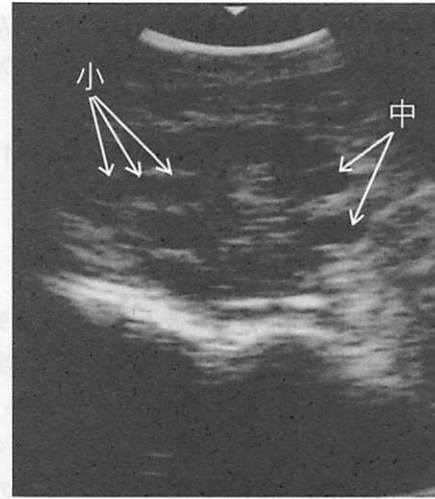


写真2 中卵胞（直径約6～9mm）、小卵胞（直径約2～5mm）の超音波画像

IV 結果および考察

1. 試験1

1) 卵胞総数の推移を図1、2に示した。試験区、対照区とも各個体間の卵胞発育波は一致せず、試験区は対照区と比較して、振幅が小さく卵胞発育波が不明瞭であった。また対照区では、従来のSOV処置適期日にあたる観察開始後9日目（発情後11日目）より、11日目（発情後13日目）まで、供試牛6頭中3頭の供試牛が卵胞数の減少傾向を示した。

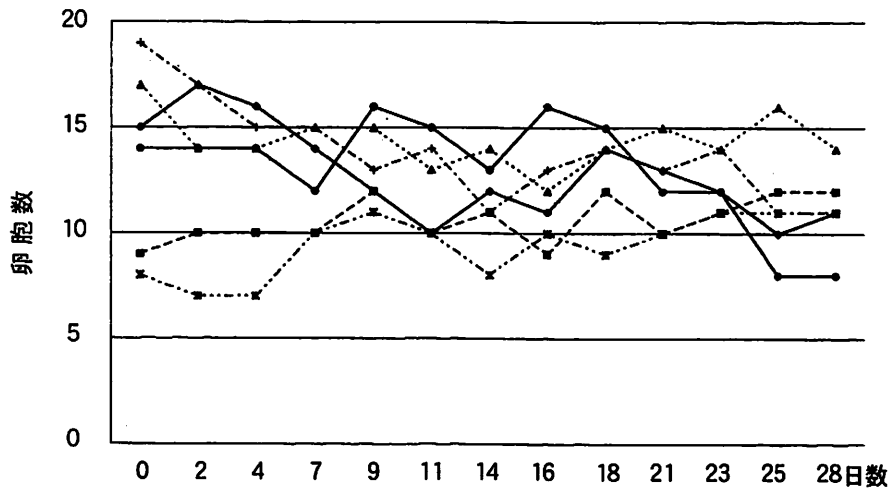


図1 卵胞総数の推移 (試験区)

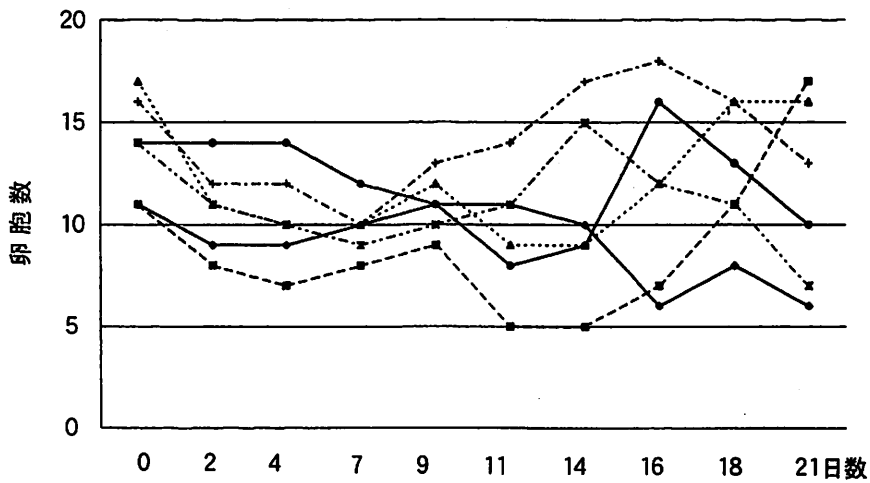


図2 卵胞総数の推移 (対照区)

2) 卵胞数の平均値と標準偏差値を図3、4に示した。両区の平均値はほぼ同じ値 (10~14) で推移したが、試験区では、観察開始9日目頃を境として標準偏差値が小さくなる傾向があり、対照区では試験区と逆の結果となった。

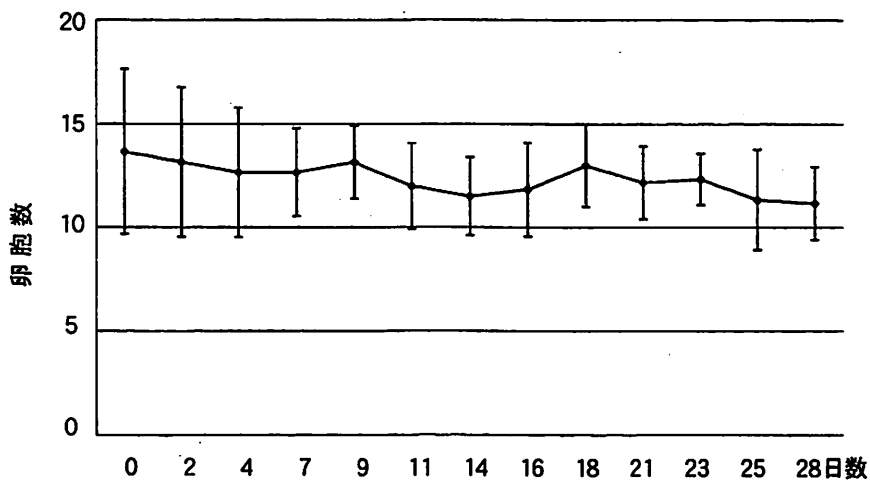


図3 卵胞数平均値の推移 (試験区)

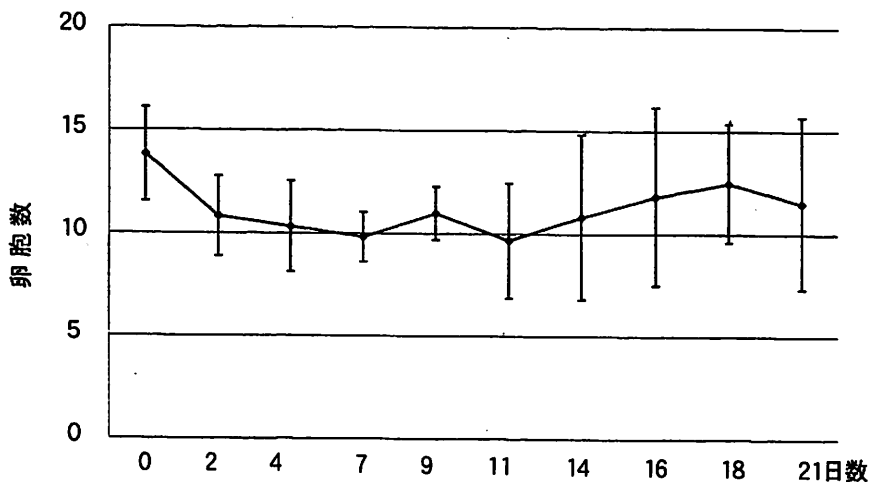


図4 卵胞数平均値の推移 (対照区)

3) 卵胞長径別、卵胞数平均値の推移を図5、6に示した。小卵胞数の推移は、結果2)で示した卵胞数平均値の推移とほぼ一致した。

異なる長径の卵胞間卵胞数については、対照区で、中小卵胞間に負の相関 (-0.765 : $P < 0.01$) があつた。試験区でも対照区と同様の傾向があつたものの相関はなかつた。

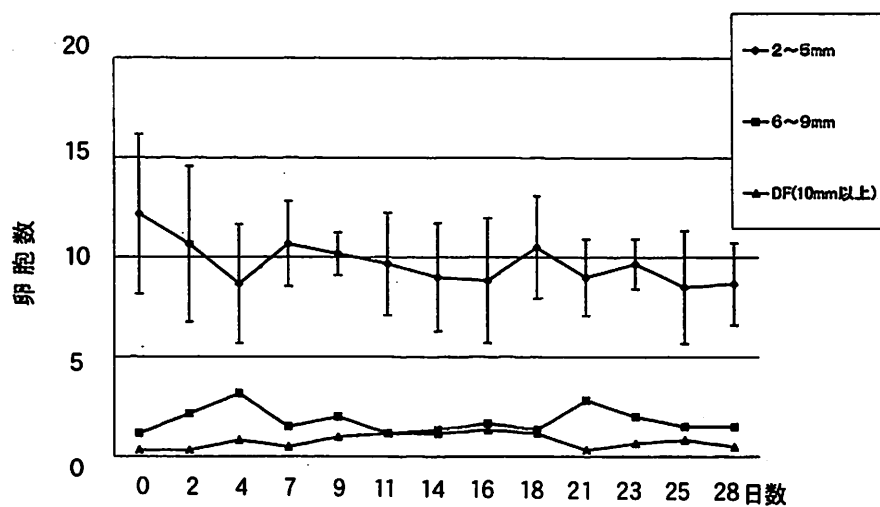


図5 卵胞長径別の卵胞数平均値推移 (試験区)

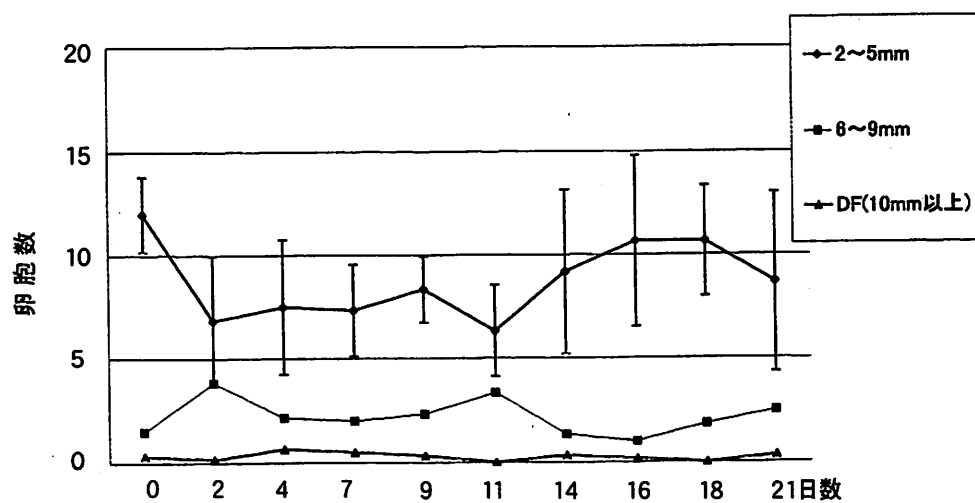


図6 卵胞長径別の卵胞数平均値推移 (対照区)

- 4) 卵胞観察期間中の血中P値の平均を図7、8に示した。試験区では、CIDRを装着した初期と、新しい製品と交換した日から2日後の14日目頃に高いP値を示したが、その後は低値で推移した。対照区では牛の正常性周期でのP値の推移とほぼ同じであった¹⁰⁾。

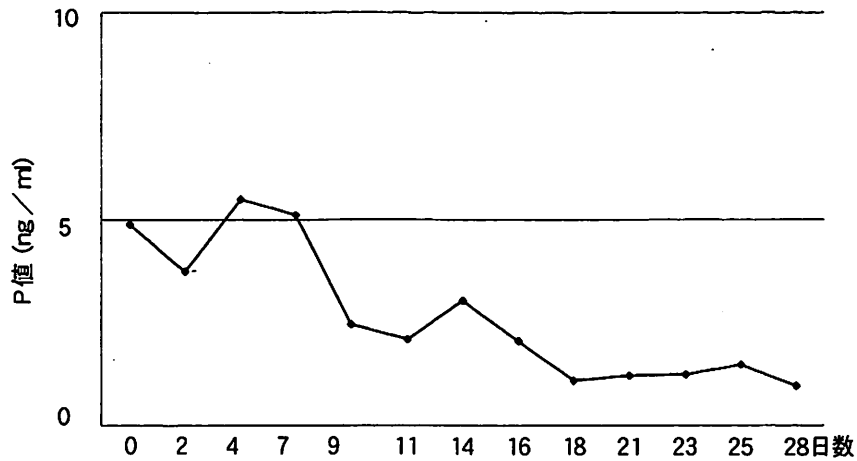


図7 P値の平均値の推移 (試験区)

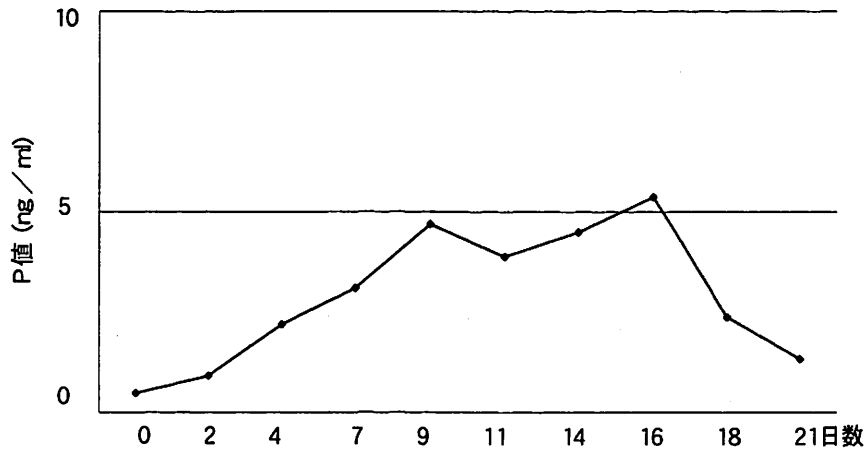


図8 P値の平均値の推移 (対照区)

卵胞数の平均値が試験区、対照区でほぼ同じ値で推移したこと、またその要因が小卵胞の動態に起因していたと思われることから、CIDRを用いて計画的にSOV処置を行う場合と、従来の発情後8～14日目にSOV処置を開始した場合とでは牛群の採卵成績に差が生じないことが示唆された。またCIDRを用いた場合は、小卵胞数の標準偏差値が小さいことから採卵成績に個体間のばらつきが小さくなると思われた。

従来のSOV処置での採卵成績のばらつきを小さくし、採卵成績を改善するには(特に採卵成績の悪い個体については)、対照区の卵胞数の推移から標準偏差値の小さい観察開始後7～9日目(発情後9～11日目)にSOV処置を開始することで採卵成績が改善されると考えられる。

異なる長径の卵胞間の関係については、一般にインヒビンを産生しているDFが、小卵胞の数を減少させているといわれている^{1,2)}。また、DF破碎後のSOV処置が採卵成績を改善するとの報告もある⁴⁾。しかし最近では、中卵胞でもすでにインヒビンを産生するといわれており²⁾今回中小卵胞数間に負の相関があったことは、それを裏付けるものと思われた。今後SOV処置開始日には、DFおよび中卵胞をコントロールすることが必要であると考えられた。

血中P値の推移については、CIDR装着牛群では、小提ら¹¹⁾がCIDRを用いた乳牛での発情同期化試験で調査した結果とほぼ同じ傾向を示した⁶⁾。CIDR装着牛群での血中P値の低下による発情の発現は認められなかったが、このように低いP値では、LHパルスを抑制できないため、DFを閉鎖退行させることができない。そのため新しい卵胞発育波を起こすことができないといわれている¹⁾。今後CIDRによる高い血中P値の持続効果が望まれる。

2. 試験2

1) 卵胞総数の推移を図9、10に示した。試験区では、全頭ともE3投与後卵胞数は一時減少して、その後増加した。

対照区では試験1の1) とほぼ同じ結果であった。

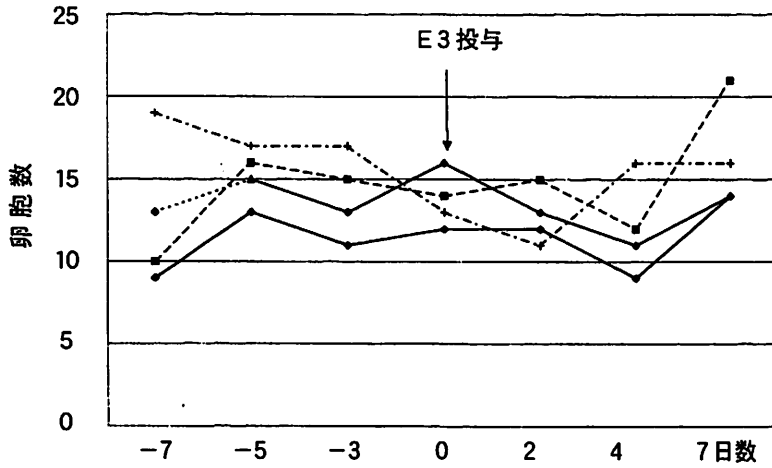


図9 卵胞総数の推移 (試験区)

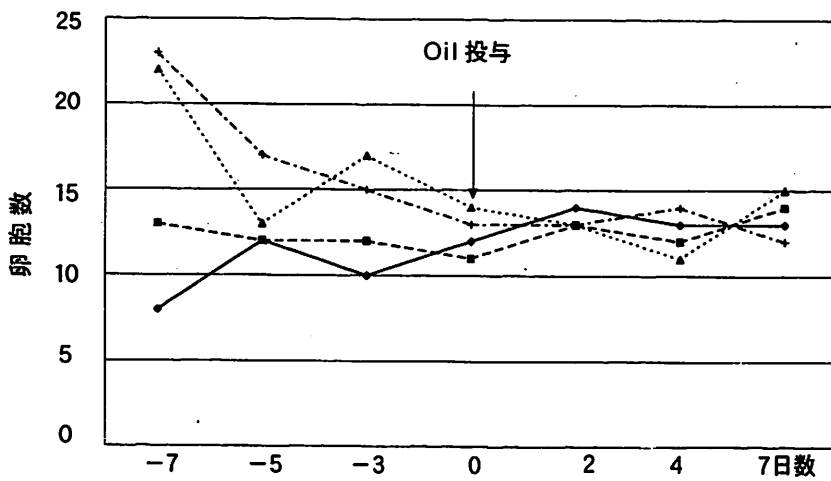


図10 卵胞総数の推移 (対照区)

2) 卵胞数の平均値と標準偏差値を図11、12に示した。試験区ではE3投与後標準偏差値が大きくなる傾向があった。

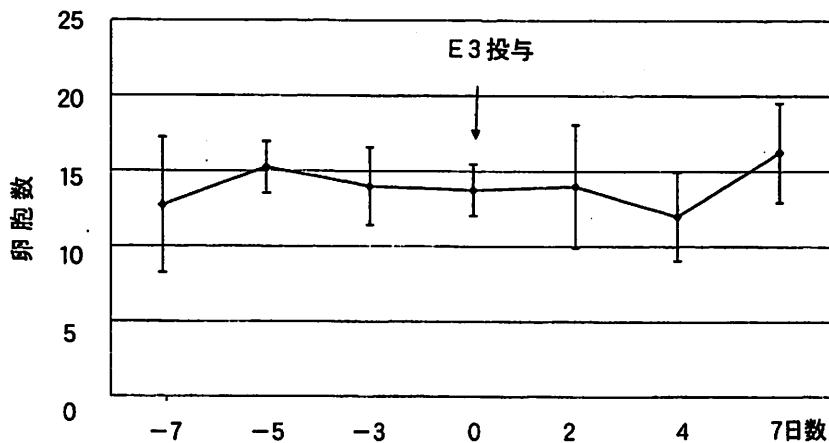


図11 卵胞数平均値の推移 (試験区)

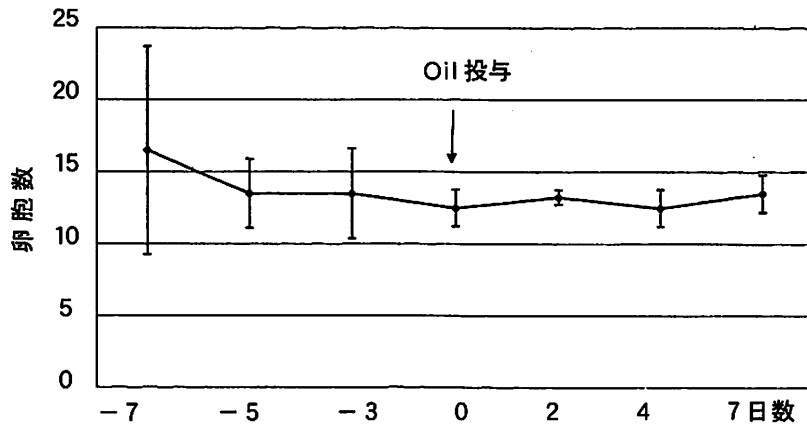


図12 卵胞数平均値の推移 (対照区)

3) 卵胞長径別、卵胞平均値の推移を図13、14に示した。試験区での小卵胞数は、E3投与後一時減少してその後増加した。中卵胞は、E3投与後一時全頭から無くなり、E3投与後7日目に現れた。DF (10mm以上) は、観察期間中認められなかった。対照区での小卵胞数は、オイル投与後特に変化はなかった。中卵胞およびDFは観察期間中いずれかの個体に存在していた。

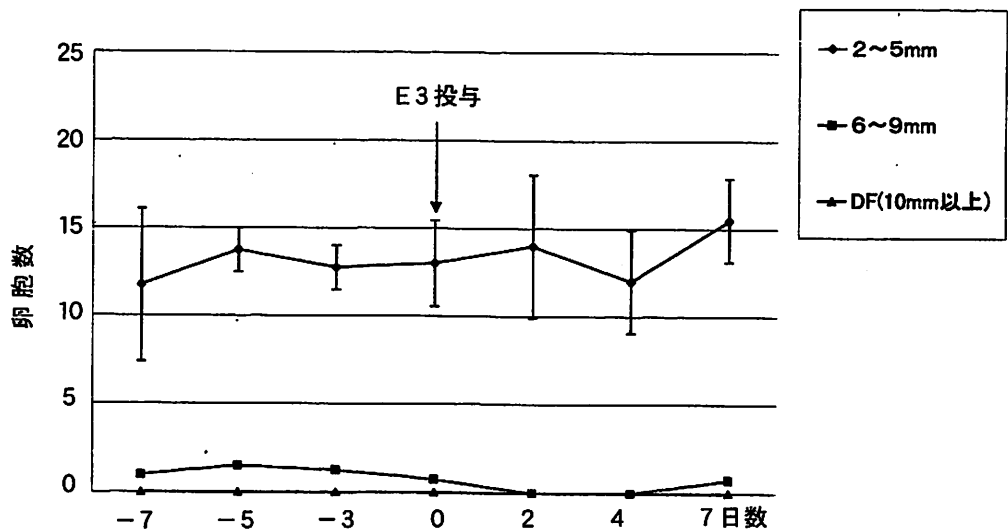


図13 卵胞長径別の卵胞数平均値推移 (試験区)

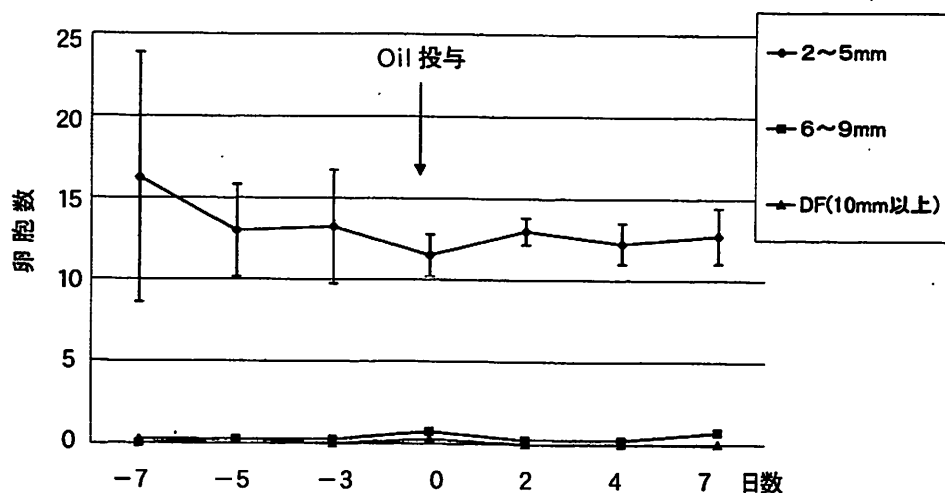


図14 卵胞長径別の卵胞数平均値推移 (対照区)

CIDR 装着時の E3 投与は、中小卵胞の閉鎖退行を促進して次の新しい卵胞発育波を起こすことが示唆され、この発育波をとらえての SOV 処置は、採卵成績の改善につながると思われた。E3 投与により新しい卵胞発育波が起こったことは、小西ら⁹⁾が CIDR と E3 を併用した SOV 処置後の採卵成績試験において、特に通常の SOV 処置後の採卵成績で採卵数が 10 個未満であった個体では、回収卵数、正常卵数等の成績が改善したとの報告を裏づける結果となった。

E3 投与後の SOV 処置開始日については、小卵胞が最も減少した 4 日目以後、また中卵胞が出現する前の、6 日目以前の 5 日目頃が適当であると考えられた。しかし今回の試験設定では、E3 投与後卵胞数の標準偏差値は大きくなる傾向にあったので、個体ごとに SOV 処置開始日にずれを生じる可能性もある。今後 E3 の投与量、あるいは他のホルモン剤について検討して、ほぼ同一に新しい卵胞発育波が起こるようにする必要がある。

V 文 献

- 1) 中尾敏彦、1997、牛の繁殖障害に対する最近のホルモン療法、臨床獣医、5、13～18
- 2) 上村俊一、1997、性周期における卵胞発育ウェーブとその臨床的意義、臨床獣医、5、19～24
- 3) 山田恭嗣、1997、無発情および不適期授精対策としての GnRH - PGF_{2α} 併用による定時人工授精法、1997、臨床獣医、5、25～30
- 4) 小林修一・生水誠一・河合隆一郎・山田雅保・内海恭三、1996、同一個体におけるインヒビン抗血清投与および優勢卵胞吸引後の各々の卵胞動態とウシ過剰排卵反応、第 3 回日本胚移植研究会、54
- 5) 野中克治・山城 存・知念 司、1996、過剰排卵処置時における卵胞の状態と採卵成績、沖縄畜試研報、34、1～3
- 6) 鈴木 修・居在家義昭・島田和宏・荒木玄朗・小杉山基昭、1988、過剰排卵誘起牛における卵胞発育、排卵、卵回収、中国農研報、2、21～33
- 7) 沼辺 孝・及川俊徳・中島 聡・石渡浩江・青山 譲・市野清博・志賀一徳・須崎哲也、1996、黄体ホルモン製剤を用いた過剰排卵処置法の検討、第 3 回日本胚移植研究会、53
- 8) 沼辺 孝・及川俊徳・菊池 武・中島 聡・仲沢浩江・青山 譲・市野清博・広瀬啓二・赤塚裕人、小西一之、1997、黄体ホルモン製剤を用いた過剰排卵処置法の検討、第 4 回日本胚移植研究会大分大会、26
- 9) 小西一之・堂地 修・岡田真人・宮澤 彰・橋谷田豊・後藤祐司・今井敬・小林修司・小島敏之・高橋博人、1996、黒毛和種未経産牛の CIDR を用いた過剰排卵処理における Estradiol - 17 β の影響、家畜改良センター 年報、5、92～93
- 10) 星 修三・山内 亮、1986、新版家畜臨床繁殖学、68
- 11) 小提知行・武田正寛、1997、CIDR (黄体ホルモン製剤) を用いた発情同期化法の検討、宮城畜産、8-1、1～3