

牛の受精卵移植技術簡易化試験

(4) CIDR の装着とエストロジェン投与を併用した採卵成績

山城存 比嘉直志 野中克治

I 要 約

黒毛和種における効率的かつ計画的な過剰排卵（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（以下 CIDR）の装着とエストロジェン（安息香酸エストラジオール：以下 E2）を併用した採卵成績について検討した。試験区 12 回、E2 無投与とした対照区 12 回の採卵成績は以下のとおりであった。

1. 回収卵子数は、試験区 219 個、対照区 148 個と試験区で増加した。
2. 正常胚数は、試験区 121 個、対照区 89 個と試験区で増加した。
3. A ランク胚数は、試験区 90 個、対照区 60 個と試験区で増加した。
4. 変性・未受精卵子は、試験区 98 個、対照区 59 個と試験区で増加した。
5. 超音波測定による卵胞数は、E2 投与後の SOV 処置時に小卵胞数がわずかに増加して、逆に大卵胞数が減少した。

以上の結果より、E2 投与は既存卵胞の退行と新生卵胞の発育を促進して採卵成績を改善する手法として有効であると思われたが、E2 投与効果が一定の傾向を示さなかったことや、変性・未受精卵子が多くなる傾向にあることから今後、E2 投与方法の再検討および変性・未受精卵子の要因解明が必要と考えられた。

II 緒 言

受精卵移植技術を用いて優良牛を同時期に多頭数生産するためには、SOV 処置を計画的に行う必要がある。特に CIDR を用いた SOV 処置ができれば、供卵牛の性周期に関係なく実施できる点において、従来のプロスタグランジン F2 α （以下 PGF2 α ）を用いて発情を誘起した後、計画採卵を行うより簡易かつ正確に実施できる点ですぐれている。

前回著者ら¹⁾は、CIDR 装着時に投与したエストロジェン（エストリオール）が卵胞発育の退行を促進して新しい卵胞発育波を起こさせることを確認した。そこで今回、E2 投与が実際に採卵成績を向上させるか、E2 投与後の SOV 処置開始時期について予備試験を行い、比較的良好であった E2 投与後 4 日目からの SOV 処置開始について採卵成績を検討したので報告する。

III 材料および方法

1. 試験期間

試験期間は 1999 年 3 月から 12 月に実施した。

2. 供試牛

供試牛は子牛の離乳後、発情を確認した黒毛和種 12 頭を用いた。

3. 方法

試験は、供試牛を試験区と対照区に分けて実施した。

試験区は、発情周期に関係無く（発情日を除く）CIDR の装着と同時に E2 を 2mg 投与、その後 4 日目から SOV 処置を開始した。SOV 処置後 CIDR を除去、その後の人工授精および採卵は常法に従い実施した。（図 1）

対照区は、CIDR 装着後 E2 投与は行わず、試験区と同様 SOV 処置を開始その後常法に従い採卵を行った。両区とも CIDR 装着時および SOV 処置時に、超音波診断装置（動物用電子コンベックス探触子 5MHz およびスーパー EXSSD）を用いて小卵胞（2~5mm）、中卵胞（6~9mm）および大卵胞（10mm 以上）別に卵胞数を測定した。

SOV 処置は、著者ら²⁾が報告した PVP(ポリビニールピロリドン：MW10000)溶液を溶媒として FSH (総量 20AU) を 1 日 1 回、計 3 日間の減量投与方法で行った。人工授精に用いる精液は 4 種類で、供試牛ごとに同一種雄牛とした。飼養管理および環境は試験区と対照区ほぼ同一とした。

上記の一連の処置を 1 クールとして、2 クール目を約 1~1.5 月後に試験区と対照区の牛を反転させて行い、延べ 24 回の採卵を実施した。

CIDR+E2	FSH	FSH	FSH+PGF _{1α}	AI	採卵	予備飼育 (1~1.5 ヶ月)
0	4	5	6	8	15	(day)

図1 試験区の過剰排卵処置方法

4. 調査項目

回収卵子数、正常胚数、A ランク胚数、変性・未受精卵子数および卵胞数(CIDR 装着時と SOV 処置開始時)について調査した。

IV 結 果

1. 回収卵子数、正常胚数、A ランク胚数および変性・未受精卵子数の成績

全供試牛とも CIDR 装着後 15 日目に採卵を実施した。その結果は以下のとおりであった。

回収卵子数を図 2 に示した。試験区 219 個、対照区 148 個と試験区で 71 個多かった。

正常胚数を図 3 に示した。試験区 121 個、対照区 89 個と試験区で 32 個多かった。

A ランク胚数を図 4 に示した。試験区 90 個、対照区 60 個と試験区で 30 個多かった。

変性・未受精卵子数を図 5 に示した。試験区 98 個、対照区 59 と試験区で 39 個多かった。

しかし、いずれの調査項目についても有意差はなかった。

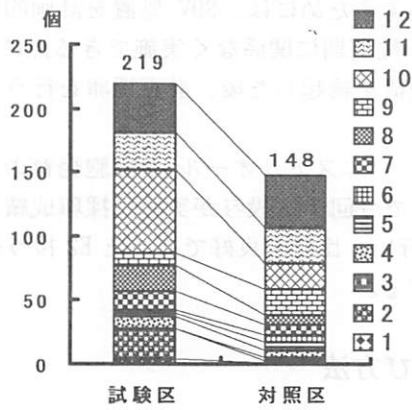


図2 回収卵子数

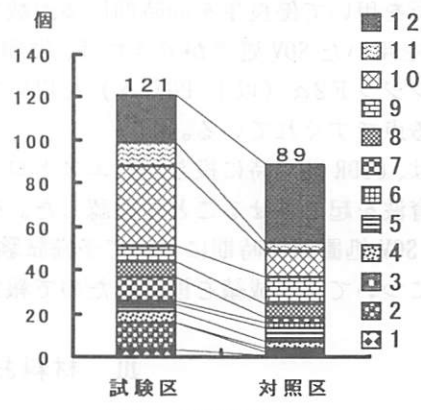


図3 正常胚数

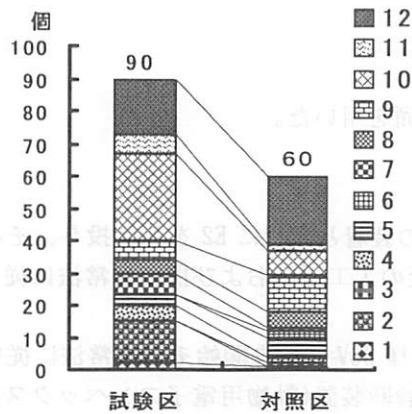


図4 Aランク胚数

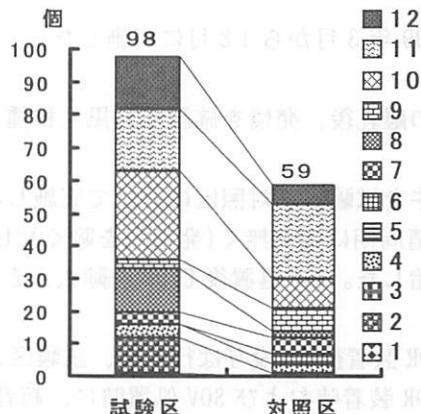


図5 変性・未受精卵子数

2. CIDR 装着時および SOV 処置開始時の卵胞数

E2 投与による卵胞数の変化について表 1 に示した。試験区において小卵胞数は CIDR 装着時平均 17.8 個、SOV 処置開始時 19.8 個とわずかに多くなった。大卵胞数は CIDR 装着時平均 0.8 個、SOV 処置開始時 0.4 個と逆に減少傾向を示した。しかし、いずれの卵胞数についても有意差はなかった。

表 1 E2 投与による卵胞数の変化

n=12	CIDR 装着時			SOV 処置開始時		
	小卵胞	中卵胞	大卵胞	小卵胞	中卵胞	大卵胞
試験区	17.8±8.3	0.7±0.6	0.8±0.6	19.8±9.6	1.0±1.0	0.4±0.6
対照区	17.8±8.4	0.9±1.0	0.4±0.5	18.1±7.3	1.0±0.9	0.6±0.6

注 1) 平均±標準偏差 2) 小卵胞 2~5mm、中卵胞 6~9mm、大卵胞 10mm以上

V 考 察

今回、延べ 24 回の採卵を計画的に実施できたことから、CIDR 装着は E2 投与の有無に関係無く供試牛の発情を抑制して計画的 SOV 処置を可能にしたと考えられた。

採卵成績については、E2 投与が一定の効果を示さず試験区と対照区との間に有意な差はなかった。このことは、E2 投与後の卵胞退行速度と卵胞新生速度の個体間の差に起因していると考えられる。また変性・未受精卵子数が試験区で多く、その要因の解明が採卵成績を改善すると考えられる。しかし、今回試験区では、対照区より多い正常胚を得ることができた。それは、受精卵を 1 個でも多く得ることを目的としている採卵の現状からすると、今後有効な技術として開発利用されることが考えられる。

E2 投与による卵胞数の変化については、特に採卵成績に影響を与える小卵胞数が試験区と対照区でほぼ同じ値であった。これは、E2 投与後 SOV 処置開始まで比較的短い 4 日間としたことで、新生卵胞の発育開始直後に測定したことにより起因すると考えられる。

試験区と対照区の SOV 開始時小卵胞数と採卵成績との関係については、試験区の小卵胞数と回収卵子数間の相関係数に有意性 (P<0.01) が認められかつ回帰直線の傾きも大きかった。対照区では相関係数に有意性は認められなかった。(図 6) 小卵胞数と正常胚数との間にも同じく試験区で相関係数に有意性 (P<0.01) が認められ対照区で認められなかった。(図 7)

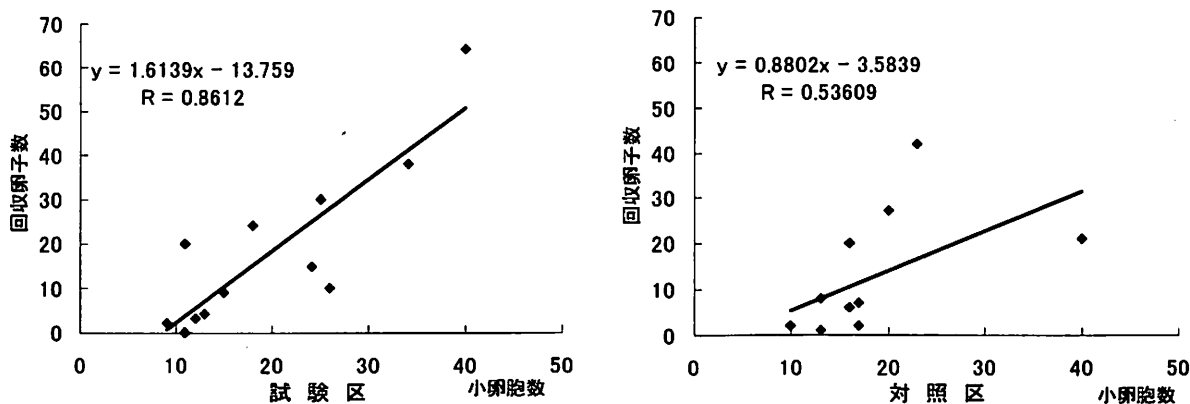


図 6 SOV 処置時の小卵胞数と回収卵子数との関係

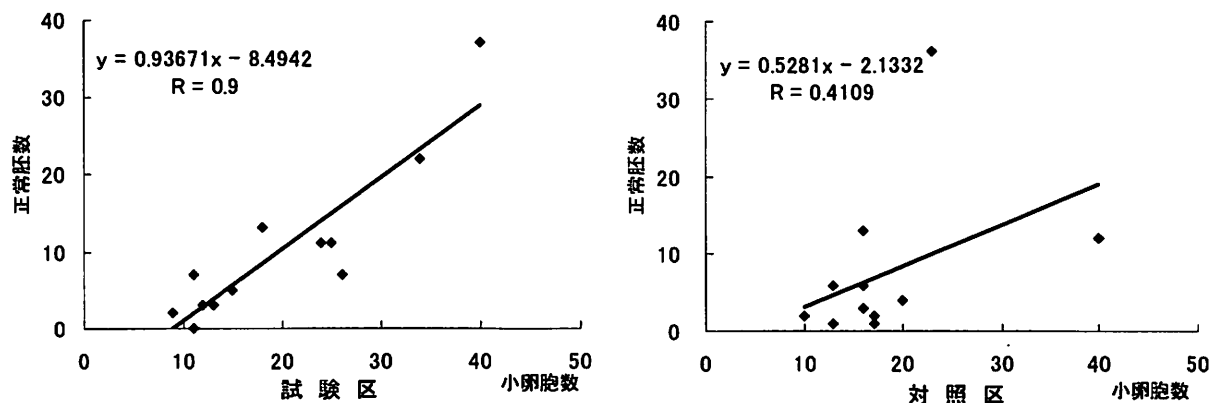


図7 SOV処置時の小卵胞数と正常胚数との関係

野中ら³⁾は、通常のSOV処置開始日の小卵胞数と採卵成績との間に正の相関($r=0.3911$; $P<0.05$)があると報告した。今回、試験区が野中ら³⁾と同様に相関係数に有意性が認められたことは、試験区ではE2投与が既存卵胞の退行と新生卵胞の発育を促進して、SOV処置に反応する卵胞数の比率を高くしたと考えられる。一方対照区では前報¹⁾で示唆されたCIDR装着が卵胞発育波を消失して卵子を老化させていることが示唆された。

今後、CIDRの装着とE2投与を併用した計画的採卵を確立するには、E2投与効果を一定にすることが必要であると考えられる。

VI 引用文献

- 1) 山城存・西銘清二・知念司・野中克治、1997、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ゲン投与が卵胞発育波に与える影響について、沖縄畜試研報、35、1~8
- 2) 山城存・野中克治・渡久地政康、1994、牛の受精卵移植(9)PVPを溶媒としたFSHの3回投与による過剰排卵処置の検討、沖縄畜試研報、32、7~9
- 3) 野中克治・山城存・知念司、1996、牛の受精卵移植技術簡易化試験(1)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