

# 牛胚の受胎率向上試験

## (3) 投与方法の違う黄体ホルモン製剤が胚移植時の受胎に及ぼす影響

山城存 前川巧 運天和彦 砂川隆治  
大城正光\* 与古田稔

### I 要 約

牛胚の受胎率向上を目的として、胚移植時に受卵牛へイージーブリード（以下CIDR：1.9g天然型プロゲステロン含有製剤）を膈内装着またはルテオージェンL（以下LUTE：持続型プロゲステロン製剤）の筋肉内投与が受胎率に及ぼす影響について検討した。受卵牛へ黒毛和種の新鮮胚または凍結胚を移植し、移植日にCIDR装着またはLUTE400mg投与を実施した結果は以下のとおりであった。

1. 供試牛全体の受胎率は、CIDRを装着した区（以下CIDR区）、LUTEを筋肉内投与した区（以下LUTE区）および無処置区（以下対照区）それぞれ57.6% (95/165), 61.0% (64/105) および56.7% (114/201) であり、有意差はないがCIDR区とLUTE区は、対照区よりも高い受胎率であった。
2. 新鮮胚移植のCIDR区、LUTE区および対照区の受胎率は、それぞれ60.9% (70/115), 62.3% (38/61) および55.9% (62/111) であり、有意差はないがCIDR区とLUTE区は、対照区よりも高い受胎率であった。
3. 凍結胚移植のCIDR区、LUTE区および対照区の受胎率は、それぞれ50.0% (25/50), 63.4% (26/41) および57.8% (52/80) であり、有意差はないがLUTE区は対照区よりも高い受胎率であったがCIDR区は低い受胎率であった。

以上から、LUTE投与は他区に比べ、有意差はないが新鮮、凍結胚移植のいずれの受胎率も高く、胚移植時にLUTEを投与すると受胎率の向上が期待できる。

### II 緒 言

近年、胚移植の受胎率向上を目的として、受卵牛への移植日前後に黄体形成を促進する性腺刺激ホルモン放出ホルモンの投与<sup>1~6)</sup>、黄体形成作用を示すヒト絨毛性性腺刺激ホルモン（以下hCG）の投与<sup>1~9)</sup>が試みられ一定の効果が示されている。しかし著者ら<sup>10)</sup>は、簡易化の目的から胚移植と同時にhCGを投与した場合においては、期待した結果が得られなかったことを報告した。いっぽう、発情同期化や流産防止を目的としたプロゲステロン製剤を直接投薬する方法としては、CIDRの膈内装着や持続型プロゲステロン製剤の筋肉内投与がある。前者のCIDRについては、胚移植時に使用することで、受胎を向上させるとする報告<sup>11~13)</sup>もあるが、装着時の衛生面に対する労力や装着に時間を要する。後者の持続型プロゲステロン製剤については、胚移植時の受胎率向上を目的とした投薬の報告は見あたらず、また、投薬が簡易であり牛に対するストレスも軽減されることが想定される。そこで本研究では、黄体ホルモン製剤であるCIDRおよびLUTEを胚移植日に投薬し、受胎へ及ぼす影響について検討した。

### III 材料および方法

#### 1. 試験場所および期間

供試牛は、本島南部で飼養するホルスタイン種471頭を用いた。試験期間は、2006年4月から2007年3月までとした。

#### 2. 胚の採取

過剰排卵処置は、黒毛和種雌牛を用い発情周期の任意の時期にCIDRを膈内に装着した。装着後5日目よりアントリン（卵胞刺激ホルモン製剤）総量20mgを3日間漸減投与し、3日目にCIDR除去と同時にプロスタグランジン30mgを筋肉内投与し発情を誘起した。CIDR除去2日目に発情を確認した後に人工授精を行い、人工授精後7日目に採卵を実施した。採卵は、受精卵回収液に1%子牛非動化血清加乳酸\*とよみ動物病院

リングルを用いて常法<sup>14)</sup>に従い実施した。

### 3. 胚の凍結方法

胚の凍結液は、1.5Mエチレングリコールおよび0.1Mシュークロース加修正リン酸緩衝液(mPBS)を用いた。凍結は、凍結液で胚を0.25mlストローへ充填した後、プログラムフリーザーを用いて、-7℃10分保持後、毎分-0.3℃で-30℃まで冷却し液体窒素へ投入保存した。

### 4. 胚移植およびプロゲステロン製剤の投薬

胚移植は、発情後7日目(発情日=0日目)に、黄体側子宮角に頸管経由法により移植を実施した。

新鮮胚移植は、カテーテル型移植器を用いて子宮角深部へ<sup>15)</sup>、また凍結胚はカス式移植器により子宮角浅部へ移植した。

CIDR区は、移植実施後に10~14日間膈内に装着した。LUTE区は、LUTEを10ml(プロゲステロンとして400mg)移植後に筋肉内に投与した。対照区は、無処置とした。

### 5. 供試頭数

#### 1) 移植牛全体の頭数

胚移植を実施したCIDR区、LUTE区および対照区の頭数は、それぞれ165頭、105頭および201頭とした。

#### 2) 新鮮胚移植頭数

新鮮胚移植を実施したCIDR区、LUTE区および対照区の頭数は、それぞれ115頭、61頭および111頭とした。

#### 3) 凍結胚移植頭数

凍結胚移植を実施したCIDR区、LUTE区および対照区の頭数は、それぞれ50頭、44頭および90頭とした。

### 6. 調査項目

#### 1) 供試牛の移植成績

供試牛全体の受胎率について調査した。

#### 2) 新鮮胚の移植成績

新鮮胚移植の受胎率について調査した。

#### 3) 凍結胚の移植成績

凍結胚移植の受胎率について調査した。

### 7. 統計処理

統計処理はカイ二乗検定法を用いて実施した。

## IV 結果および考察

### 1. 移植牛全体の成績

新鮮胚移植および凍結胚移植を合わせた供試牛全体の受胎率成績を表1に示した。CIDR区、LUTE区および対照区の受胎率は、それぞれ57.6%、61.0%および56.7%であり、有意差はないが、対照区と比較してLUTE区の受胎率が最も高かった。CIDR区の受胎率は、対照区とほとんど差はなかった。プロゲステロンは、卵巢の黄体から分泌され、胚が着床するための子宮環境をつくるホルモンである。今回とくにLUTE区において、60%以上の受胎率が得られたことから、投与プロゲステロンが子宮環境を整え、受胎率を向上させたと考えられた。

表1. 供試牛の受胎成績

	移植頭数	受胎頭数	不受胎頭数	受胎率(%)
CIDR区	165	95	70	57.6
LUTE区	105	64	41	61.0
対照区	201	114	87	56.7
合計	471	273	193	58.0

### 2. 新鮮胚移植成績

新鮮胚移植成績を表2に示した。CIDR区、LUTE区および対照区の受胎率は、それぞれ60.9%、

62.3%および55.9%であり有意差はないが、CIDR区とLUTE区は、対照区よりも高い受胎率であった。

佐々木<sup>12)</sup>や加藤<sup>13)</sup>によると、胚移植後にCIDRを装着した受胎率は、対照区よりも高いと報告している。今回の結果においても、新鮮胚移植におけるCIDR区は、佐々木<sup>12)</sup>や加藤<sup>13)</sup>らの報告と同様に高い受胎率であった。

表2. 新鮮胚移植における受胎成績

	移植頭数	受胎頭数	不受胎頭数	受胎率(%)
CIDR区	115	70	45	60.9
LUTE区	61	38	23	62.3
対照区	111	62	49	55.9
合計	287	170	117	59.2

### 3. 凍結胚移植成績

凍結胚移植成績を表3に示した。CIDR区、LUTE区および対照区の受胎率は、それぞれ50.0%、59.1%および57.8%であり有意差はないがLUTE区は、対照区よりも高い受胎率を示し、CIDR区は低い受胎率であった。CIDR装着は、新鮮胚移植時に効果は認められたが、凍結胚移植において期待した効果が得られなかった。このことについての要因は分からなかった。

表3. 凍結胚移植における受胎成績

	移植頭数	受胎頭数	不受胎頭数	受胎率(%)
CIDR区	50	25	25	50.0
LUTE区	44	26	18	59.1
対照区	90	52	38	57.8
合計	184	103	85	56.0

今回の検討より、プロゲステロン製剤であるLUTEの投与は、対照区と比較して高い受胎率が得られたことから、胚移植時の投与は、受胎率を向上させる効果があると考えられた。いっぽう、CIDRは、新鮮胚移植において高い受胎率を示したが、凍結胚移植時の受胎成績が低く、全体の成績を下げる結果となった。CIDRの投薬については、胚の生存性を考慮しながら、今後も検討する必要があると思われた。

プロゲステロン製剤の投与方法については、CIDRが膈内装着、LUTEが筋肉内投与であるが、膈内装着は、筋肉内投与に比較して衛生面に対する労力や時間を必要とすることから、筋肉内投与方法であるLUTEが簡易的であった。

以上の結果から、LUTE投与はCIDR装着より投薬方法が簡易であり、胚移植時に投与することでの受胎率を向上させることが示唆された。

## V 引 用 文 献

- 1) 平泉真吾・千代田惣浩・高田直和・坂上信忠・三宅晃次・億正樹・田頭明子・山崎慎一郎・梅木英伸・谷口岳・的場理子・竹之内直樹・大澤健司 (2004) ウシ胚移植における移植前後のhCGおよびGnRH投与の効果, 日本畜産学会報, 75, 127
- 2) 谷口岳・中武誠司・長友隆典・赤塚裕人 (2004) 受胎率向上のための前後処置法の検討, 宮崎畜試研報, 17, 7-10
- 3) 梅木英伸・志村英明・藤田達夫・久々宮公二・志賀一穂 (2003) 牛の受精卵移植技術の実用化に関する研究(3) 受胎率向上のための前後処置法の検討, 大分畜試研報, 32, 77-85
- 4) 千代田惣浩・相澤健一・小林政樹・沼田恵・小西潤一 (2002) 胚移植前後のホルモン処置による受胎率向上(第1報) 性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)の有効性, 秋田畜試研報, 17, 49-52
- 5) 高田直和・早坂駿哉・千葉和義・伊藤裕之 (2003) 牛の受精卵移植技術の実証, 宮城畜試研報, 14-1, 53-55
- 6) 戸田博子・櫻田孝之・森一憲・安達善則 (2002) 牛の人工妊娠技術に関する基礎的研究 III 受胎牛へ

- 
- のGn-RH処理が受胎率に与える影響, 京都府碓高原総合牧場試験研究報告, 23, 29
- 7) 西貝正彦(2003)牛凍結胚移植における受胎率の向上, 那須イーテイ研究所, 25, 18-28
- 8) 坂上信忠・秋山清・田中嘉州・橋村慎二・仲澤慶紀・岸井誠男(2005)受精卵移植技術高度化に関する試験(1)牛の受精卵移植におけるhCG投与が受胎率に与える影響, 神奈川畜試研報, 90, 1-7
- 9) 谷口雅律・住尾善彦(2005)hCG投与および栄養膜小胞共移植が受胎率に及ぼす影響(第3報), 熊本農研センター畜産研究所, 75-76
- 10) 山城存・大城正光・比嘉直志・運天和彦・砂川隆治・蝦名真澄(2003)牛胚受胎率向上試験(1)ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン投与が牛胚の受胎率に及ぼす影響, 沖縄畜研セ研報, 44, 5-7
- 11) 梅木英伸・志賀一穂(2004)牛の受精卵移植技術の実用化に関する研究(2)受胎率向上のためのCIDR活用の検討, 大分畜試研報, 34, 12
- 12) 佐々木恵美・長谷川清寿・安部亜津子・高仁敏光(2005)胚移植後にプロゲステロン製剤を膈内留置した受配牛の受胎成績に関する検討, 島根畜試研報, 38, 14-17
- 13) 加藤聡・久保田雅之・黒沢功(2006)ホルスタイン種育成牛への受精卵移植直後の黄体ホルモン製剤の(CIDR)利用, 群馬畜試研報, 13, 43-461
- 14) 社団法人日本人工授精師協会(2001)家畜人工授精講習会テキスト, 158-168
- 15) 山城存・大城正光・比嘉直志・運天和彦・砂川隆治・蝦名真澄(2003)牛胚受胎率向上試験(2)カテーテル型移植器を用いた子宮角深部移植が胎率に及ぼす影響, 沖縄畜研セ研報, 44, 9-11
- 

研究補助：小波津明彦，石垣新