

# Gn-RH 投与により卵胞をコントロールすることが黒毛和種雌牛の 過剰排卵処理及び採胚成績に及ぼす影響（第2報）

瀬尾哲則\*・入江誠一\*\*・栗原昭広\*\*\*・山根法明\*\*\*\*

\*現 鳥取県畜産振興協会      \*\*現 日野農業改良普及所

\*\*\*現 鳥取家畜保健衛生所      \*\*\*\*現 鳥取農業改良普及所

## 要 約

牛において安定的に多くの正常胚を得るために、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (Gn-RH) を利用して卵胞をコントロールすることが過剰排卵処理及び採胚成績に及ぼす影響を検討した。

1 過剰排卵処理時の PG 投与後 32 時間または 48 時間に Gn-RH100  $\mu\text{g}$  を投与した結果、通常の場合と比べ採胚総数及び正常胚数が増加し未受精卵数が減少する傾向がみられ、Gn-RH 投与により過剰排卵処理後の排卵が同期化され採胚成績が向上することが示唆された。

2 主席卵胞を除去し新たな卵胞発育波を促す目的で、発情排卵後 7 日目に Gn-RH100  $\mu\text{g}$  を投与し、その 24 時間後または 96 時間後に過剰排卵処理を開始した場合の採胚成績は通常の場合と比べ低下した。

## 緒 言

牛胚の採取において、現場ではより多くの正常胚を効率的に得る技術が期待されている。

既報<sup>6)</sup>において、通常の過剰排卵処理後における排卵の観察から Gn-RH 投与により排卵を同期化することが採胚成績を向上させると考えられた。また、通常の過剰排卵処理の 48 時間前に Gn-RH200  $\mu\text{g}$  を投与した場合には卵胞発育波のステージが様々であり、さらに主席卵胞のコントロールが明確でなく、採胚成績は向上しなかった。

今回、過剰排卵処理後の排卵を Gn-RH 投与により同期化することや卵胞発育波の第 1 ウェーブにおける主席卵胞の除去を目的とした Gn-RH 投与を試み、それらの採胚成績を検討した。

## 方 法

### 1 試験期間

平成 12 年 9 月～13 年 3 月

### 2 供試材料

供試牛は、當場けい養の黒毛和種成雌牛を用いた。過剰排卵処理に使用したホルモン剤は FSH20AU (デンカ製薬、アントリン R・10、Lot No.801071) と合成 PGF<sub>2</sub> 類縁体クロプロステノール 0.750mg (エストラメイト、住友製薬) だった。過剰排卵処理は 3 日間の FSH 減量投与方法とした。Gn-RH はその類縁物質である酢酸フェルチレリン 100  $\mu\text{g}$  (コンセラー、武田薬品工業) を使用した。

胚の回収は過剰排卵処理開始日を 0 日として、11 日目に子宮角灌流法により行った。

### 3 試験方法

#### 1) 試験 1

過剰排卵処理後の排卵を Gn-RH 投与によりコントロールし採胚成績の向上を図った。適切な Gn-RH 投与時期を検討するため、過剰排卵処理時の PG 投与後 32 時間 (過剰排卵処理開始日を 0 日として 3 日目午後) に Gn-RH100  $\mu\text{g}$  を投与した場合 (試験 1 区、n=5) と 48 時間 (過剰排卵処理開始日を 0 日として 4 日目午前) に Gn-RH100  $\mu\text{g}$  を投与した場合 (試験 2 区、n=5) を設定し、Gn-RH 無投与の場合 (対照区、n=10) と比較検討した。

卵巣の大型卵胞（径8mm以上）、中型卵胞（径6～8mm）の経時的観察を超音波診断装置（Aloka社SSD-1200CV、7.5MHz直腸プローブ使用）により行った。

供試牛の年齢は5.3±4.4歳（平均±標準偏差）だった。試験1のプログラムを表1に示した。

表1 試験1のプログラム

日数	処理	Gn-RH投与	超音波診断
発情			
0	過剰排卵処理	PG投与後 32時間(1区)	PG投与後 32時間
1			
2			
3			
4			
4	人工授精	48時間(2区)	48・56時間
5	人工授精		72・80時間
11	採胚		採胚時

## 2)試験2

過剰排卵処理前に主席卵胞を抑制し新たな卵胞発育波を促す目的で、発情排卵後7日目午前Gn-RH100μgを投与し、その24時間後に過剰排卵処理を開始した場合（試験1区、n=5）と96時間後に過剰排卵処理を開始した場合（試験2区、n=4）を検討した。それぞれにGn-RHを投与しない対照1区（n=4）と対照2区（n=4）を設けた。

卵巣の大型卵胞（径8mm以上）、中型卵胞（径6～8mm）、小型卵胞（径5mm以下）の経時的観察を超音波診断装置（試験1と同様）により行った。

供試牛の年齢は5.1±3.4歳（平均±標準偏差）だった。試験2の各プログラムを表2、表3に示した。

表2 試験2(1区)のプログラム

日数	処理	Gn-RH投与	超音波診断
0(発情)			
5	過剰排卵処理	午前	午前
6			午前
7			午前
8			午前
9			
10			
11			
12	人工授精		
13	人工授精		
19	採胚		採胚時

表3 試験2(2区)のプログラム

日数	処理	Gn-RH投与	超音波診断
0(発情)			
5	過剰排卵処理	午前	午前
6			午前
7			午前
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			人工授精
16	人工授精		
22	採胚		採胚時

## 結果

### 1 試験1

#### 1)卵巣動態

試験1区、試験2区、対照区の大型・中型卵胞及び排卵した優勢卵胞（径6mm以上）の平均個数について、PG投与時を0時間とした推移を図1～図3に示した。

試験1区、試験2区、対照区ともにPG投与後72時間で最も多い排卵数を示した。排卵曲線は試験1区が比較的明瞭だった。

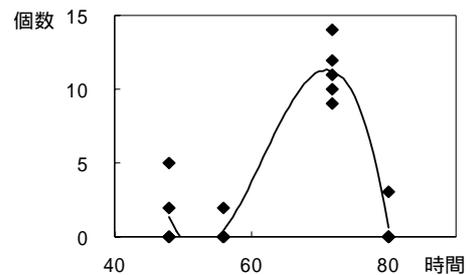


図1 卵巣動態の推移（試験1 - 試験1区）

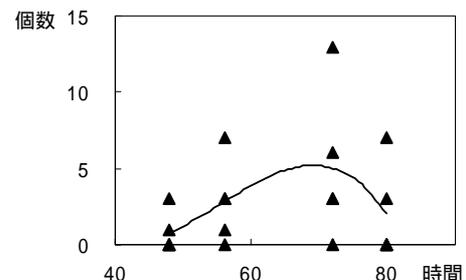


図2 卵巣動態の推移（試験1 - 試験2区）

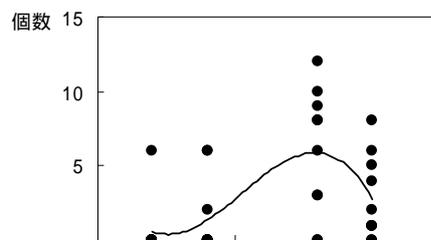


図3 卵巢動態の推移 (試験1 - 対照区)

2)採胚成績

試験1の採胚成績を表4に示した。

表4 採胚成績 (試験1)

項目	試験1区	試験2区	対照区
総数	5.5±4.2	6.2±7.8	2.9±5.5
正常胚	3.0±3.8	2.6±3.7	0.5±0.8
Aランク胚	2.5±3.8	2.2±3.0	0.5±0.8
変性胚	1.8±2.2	2.2±3.5	0.9±1.2
未受精卵	0.8±1.0	1.4±1.7	1.6±4.7

各区とも採胚成績に個体差がみられ、有意差は認めないが、試験1区、試験2区は対照区と比べ、採胚総数、正常胚数が増加し、未受精卵数が減少する傾向を示した。

各区の正常胚、変性胚、未受精卵の採胚総数に占める割合を図4に示した。試験1区、試験2区は対照区と比べ、正常胚の割合が増加し、未受精卵の割合が減少する傾向がみられた。

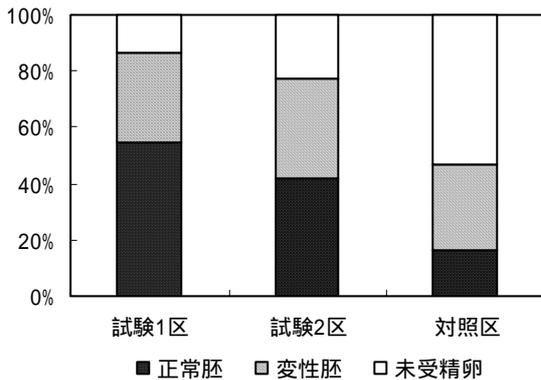


図4 正常胚、変性胚、未受精卵の割合 (試験1)

2 試験2

1)卵巢動態

試験1区、対照1区の卵巢動態の推移を図5、図6に示し、試験2区、対照2区のそれらを図7、図8に示した。

試験1区では、Gn-RH投与24時間後で小型卵胞数の増加が少し認められたが、試験2区では、Gn-RH投与96時

間後で、小型卵胞数は減少した。対照1区、対照2区では卵巢動態の観察中、卵胞発育波の新生は認められなかった。

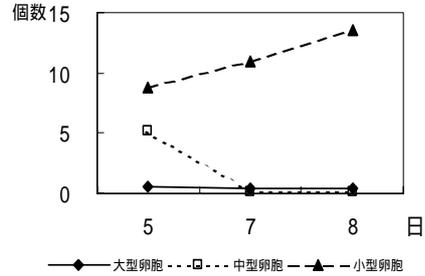


図5 卵巢動態の推移 (試験2 - 試験1区)

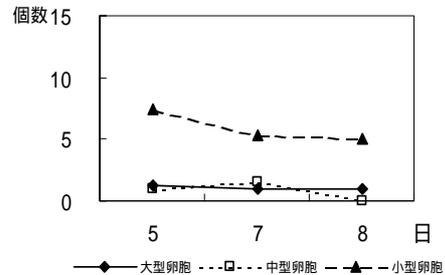


図6 卵巢動態の推移 (試験2 - 対照1区)

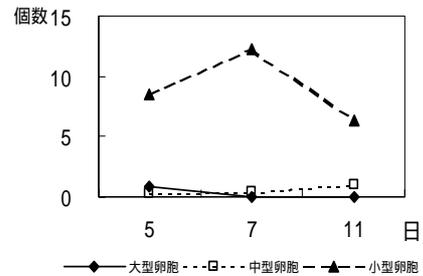


図7 卵巢動態の推移 (試験2 - 試験2区)

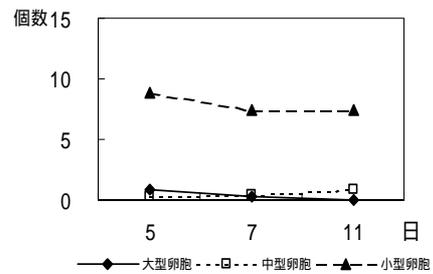


図8 卵巢動態の推移 (試験2 - 対照2区)

## 2)採胚成績

試験2の採胚成績を表5に示した。

試験1区、試験2区はそれぞれの対照区と比べ、有意差は認めなかったが、採胚成績が低下する傾向がみられた。

表5 採胚成績(試験2)

項目	試験1区	対照1区	試験2区	対照2区
総数	0.8±1.5	2.3±4.0	1.5±2.4	8.5±9.3
正常胚	0.5±1.0	0.0±0.0	0.5±0.6	3.8±3.8
Aランク胚	0.5±1.0	0.0±0.0	0.5±0.6	2.8±2.8
変性胚	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	1.3±1.5
未受精卵	0.3±0.5	2.3±4.0	1.0±2.0	3.5±4.4

## 考 察

今回、Gn-RH 製剤として使用した酢酸フェルチレリンは牛の排卵障害治療薬として広く利用されている。排卵障害には、卵巣に卵胞が発育しても排卵までに長時間を要する排卵遅延と、排卵に至らず閉鎖退化または嚢腫へ移行する無排卵が含まれる。通常、酢酸フェルチレリン100~200 µgの投与後30~36時間に排卵が起こるとされ、人工授精は酢酸フェルチレリン投与後9~24時間に行うとよいといわれている。試験1-試験1区では過剰排卵処理時のPG投与後32時間にGn-RHを投与したが、この場合第1回の人工授精はGn-RH投与後24時間で行い、第2回の人工授精はGn-RH投与後40時間で行ったことになる。同様に試験1-試験2区では、第1回の人工授精はGn-RH投与後8時間で行い、第2回の人工授精はGn-RH投与後24時間で行ったことになる。このことからGn-RHの投与は過剰排卵処理時のPG投与後48時間で行った方が効率的であり、PG投与後32時間でGn-RHを投与した場合はGn-RHの投与時期が早過ぎるものと考えられた。今回、試験1ではPG投与後32時間にGn-RHを投与した場合の方が比較的明瞭な排卵曲線を描いたが、例数を重ねた検討が必要だと思われた。

主席卵胞を除去し、新たな卵胞発育波を促す目的で、発情排卵後7日目にGn-RHを投与した。卵胞の発育には1性周期に2~3回の波状の変動があり、通常の卵胞発育波では、主席卵胞は発育の際、他の小さな卵胞の発育を抑制し、過剰排卵処理開始時の小型卵胞数と過剰排卵反応との間に高い正の相関がある。今回、Gn-RHの投与を発情排卵後7日目に限定して実施したが、主席卵胞の制

御やその後の卵胞発育波の新生は不明瞭であり、過剰排卵処理前のGn-RH投与は採胚成績を向上させないと考えられた。

## 謝 辞

今回、共同研究としてご協力、ご助言をいただいた京都府碓高原総合牧場、埼玉県農林総合研究センター畜産支所、山梨県酪農試験場、島根県立畜産試験場、愛媛県畜産試験場及び農林水産省家畜改良センター技術部(当時)の関係諸氏に深謝します。

## 引用文献

- 1) 星野邦夫ら：牛の雌不妊症(排卵障害) 家畜共済の診療指針( ) 27 - 30 (1993)
- 2) J.F.Roche et al.:分娩後の牛の繁殖効率、日獣会誌、第52巻、第10号、627-634 (1999)
- 3) 山田恭嗣ら：GnRH-PGF<sub>2</sub> -GnRH 投与法による乳牛の排卵の同期化と定時人工授精による受胎成績、家畜診療、第409号、23-27 (1997)
- 4) 上村俊一：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、第15巻、第6号、19-24 (1997)
- 5) 金田義宏：牛の発情周期における卵胞発育波、家畜診療、第46号、第2号、67 - 75 (1999)
- 6) 瀬尾哲則ら：Gn-RH投与により卵胞をコントロールすることが過剰排卵処理及び採胚成績に及ぼす影響(第1報) 鳥取畜試研報、第30号、3-7 (2000)