

Norethisterone含有ペレット剤の皮下移植による犬の発情抑制効果

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	佐原, 啓二 筒井, 淑郎 内藤, 洋三
巻/号	45巻3号
掲載ページ	p. 191-194
発行年月	1992年3月

Norethisterone 含有ペレット剤の皮下移植 による犬の発情抑制効果

佐原啓二¹⁾ 筒井淑郎¹⁾ 内藤洋三¹⁾ 上葛昭一¹⁾

仁科徳啓²⁾ 半田淑明²⁾ 林 道明²⁾

1) 静岡県動物管理指導センター（浜松市大山町 3551-1, 〒431-11）

2) 静岡県衛生環境センター（静岡市北安東 4-27-2, 〒420）

（平成 3 年 4 月 22 日受付・平成 3 年 12 月 20 日受理）

Prevention of Estrus in Bitches by Subcutaneous Implantation of Norethisterone
KEIJI SAHARA¹⁾, SHUKUROU TSUTSUI¹⁾, YOUSOU NAITOU¹⁾, SHOUICHI UEKUZU¹⁾, TOKUHIRO
NISHINA²⁾, YOSHIKI HANDA²⁾ and MICHIAKI HAYASHI²⁾ (¹⁾ Pet Raisers' Guidance Center,
Shizuoka Prefecture, Ouyama-cho, Hamamatsu-shi, Shizuoka 431-11, ²⁾ Institute of Public
Health and Environmental Science, Shizuoka Prefecture, Kita-andou, Shizuoka-shi,
Shizuoka 420)

SUMMARY

The efficacy of subcutaneous implantation of 20% (w/w) norethisterone (NET) in silastic silicon rubber was examined for suppressing estrus in dogs. Of a total of 11 bitches, 10 received NET ranging from 5 to 50 mg/kg and one received only the rubber without NET, as a control. The suppressive effect of NET on estrus was confirmed in bitches that received NET at 10 mg/kg or more, but not in bitches with a dose of 5 mg/kg. The period from implantation to recovery of estrus was dose-dependent, 11 to 19 months for the dose of 10 to 15 mg/kg and 27 to 29 months for 25 to 30 mg/kg. No estrus was observed during the observation period of 33 months in bitches receiving 40 or 50 mg/kg. After the recovery of estrus in 3 bitches receiving 10 or 15 mg/kg, one bitch had become pregnant by spontaneous mating and was delivered of 5 normal puppies, but the other 2 bitches had become sterile.

—Key Words : bitch, implantation, norethisterone, prevention of estrus, silastic silicon rubber.

-----*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 45, 191~194 (1992)

要 約

Norethisterone (NET) を 20% (w/w) の割合でシリコン樹脂と混合したペレット剤を犬の頸部皮下に移植して、その発情抑制効果を調べた。供試犬として用いた雌犬 11 頭のうち、10 頭には NET5~50mg/kg 含有ペレット剤を、1 頭には対照として NET 無含ペレット剤を移植した。その結果、5mg/kg 移植犬では発情抑制効果が認められなかったが、10mg/kg 以上の移植犬では発情抑制効果が認められ、その抑制期間は用量依存的に長かった。すなわち、移植後発情回帰までの月数は 10~15mg/kg では 11~19 カ月、25~30mg/kg では 27~29 カ月であった。40~50 mg/kg では 33 カ月の観察期間中発情は認められなかった。

さらに、10~15mg/kg 移植犬 3 頭について回帰した発情での受胎性を自然交配によって検討したところ、1 頭は受胎し、5 匹の正常子犬を分娩したが、他の 2 頭は不妊であった。

—キーワード : 雌犬, 移植, ノルエチステロン, 発情抑制効果, ペレット剤.

-----*日獣会誌* 45, 191~194 (1992)

1973 年「動物の保護および管理に関する法律」の制定以来、動物愛護の気運が高まっているが、飼育困難という理由で自治体に引き取られる犬猫の数は依然として減少していない。しかも、これらの大半は不必要な繁殖

の結果生まれた幼獣であり、このことは成獣に対して避妊措置がまだ広く普及していないことを示唆するものである¹⁾。

国内における犬猫の避妊方法は、卵巣子宮全摘出術が

一般的であるが、体重増加、脱毛、尿失禁等の副作用発生の可能性が指摘されている⁹⁾。欧米においては合成黄体ホルモンの経口または皮下投与で発情を抑制する方法が実用化されている⁹⁾。

いっぽう、合成黄体ホルモン含有ペレット剤の皮下移植による避妊法はヨーロッパや中南米で人に実用化され、長期間の有効性と安全性が確認されている¹⁰⁾。本法の動物への応用は動物園のネコ科動物に行われている^{6,13)}が、ペット動物への長期避妊を目的とした報告はみあたらない。

この研究では犬猫の不必要な繁殖を抑制するため、簡便な施術で長期間にわたり発情を抑制する避妊法の確立を目的としてNorethisterone (NET)³⁾含有ペレット剤の皮下移植法について検討した。

材料および方法

移植用ペレット剤の作製方法

NET (17 α -ethynyl-17 β -hydroxy-19-nor-4-androsten-3-one) 結晶 10g とシリコン樹脂 (SILASTIC 382 Medical Grade Elastomer, Dow Corning Co. Michigan) 40g を乳鉢内で混合し、これを注射シリンジに入れ、吸引により脱気後、添付の凝固剤を少量添加し、すばやく内径約5mmのプラスチックチューブ中に注入した。チューブ内のシリコン樹脂が凝固した後、長さ30mmの円柱状に成型し、これを移植用ペレット剤とした。同様に対照用としてシリコン樹脂のみで成型したNET無含ペレット剤を作製した。

供試動物および飼育管理法

供試犬は臨床上健康と認められた5~60カ月齢の雌犬11頭を用いた。各供試犬のペレット剤移植時における性周期のステージは、6頭は前回発情から3~6カ月後の無発情期、1頭は前回発情から1カ月後の発情休止期、4頭は幼犬であった(表1)。供試犬のうち5頭(No. 1

~3, 6, 11)については犬用固形飼料の標準給与量150~250gを1日1回給餌し、水は自由に摂取させ、日中は屋外に係留、夜間は個別の専用飼育舎で管理した。他の6頭(No. 4, 5, 7~10)は家庭飼育犬で、飼育管理は上記に準じた。

ペレット剤の移植方法およびNET用量

供試犬に鎮静剤(セラクター、バイエルジャパン)を投与後、局所麻酔(オムニカイン、第一製薬)下で左側頸部皮膚を約5mm切開し、ペレット剤を皮下に移植した後、切皮部位を1~2針縫合した。NET用量は対照の1頭を除いて5~50mg/kgとした(表1)。なお、幼犬に対するNET用量は成犬時の体重を推定して換算した。

移植後の発情回帰状況の観察

供試犬5頭(No. 1~3, 6, 11)については、日曜日を除く毎日、一般臨床所見および発情発現状況を観察した。また、毎月1回、血中progesterone (P)測定のための採血と体重測定を実施した。他の6頭(No. 4, 5, 7~10)については、飼主に一般臨床所見、外部発情徴候の観察および体重測定を依頼した。

NETの発情抑制効果の消失後、回帰した発情における受胎能については10(No. 4)、15mg/kg移植犬(No. 6, 7)の3頭について交配適期に交尾させ受胎の有無によって調べた。さらに、初回の発情で不妊に終わった2頭(No. 4, 6)については次回の発情における受胎能についても調べた。

血中progesterone値の測定

対照犬(No. 1)、5(No. 2, 3)、15(No. 6)、50mg/kg移植犬(No. 11)について黄体の有無を判断するため末梢血中P値の測定を行った。血液は橈側皮静脈から採取し遠心分離後、血漿はP測定まで-20℃で保存した。P測定はEIAキット(プレグテスト、帝国臓器製薬)によって行った。

表1 Norethisterone 移植犬の発情回帰月数および受胎成績

供試犬 No.	NET用量 (mg/kg)	犬種	移 植 時			移 植 後		
			月齢	体重 (kg)	性周期のステージ	発情回帰 (月数)	受 胎 性	
							初回の発情	2回目の発情
1	0	雑	12	6.0	無発情期 (6)*1	1	+	
2	5	雑	60	7.0	無発情期 (3)	3		
3	5	雑	44	10.0	無発情期 (3)	3		
4	10	雑	5	10.5	未成熟	17, 24	-	+
5	10	雑	10	20.5	未成熟	18		
6	15	雑	6	9.0	未成熟	11, 16	-	+
7	15	セバード	19	27.0	無発情期 (4)	19	+	
8	25	雑	13	8.0	無発情期 (3)	27		
9	30	雑	8	6.0	発情休止期 (1)	29		
10	40	雑	11	7.5	無発情期 (3)	-*2		
11	50	雑	8	8.5	未成熟	-*2		

*1: 前回発情後の月数

*2: 観察期間 (33カ月) 中発情回帰が認められない

病理組織学的検査

移植後 33 カ月を経過した 40, 50mg/kg 移植犬 (No. 10, 11) の卵巣, 子宮および主要臓器について, 病理組織学的検査をペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血後剖検してから行った. 検体は 10%中性緩衝ホルマリンで固定した後, パラフィン包埋法により切片を作成しヘマトキシリン・エオジン染色後鏡検した.

成 績

発情抑制効果

5~50mg/kg のペレット剤を移植した各供試犬の発情抑制効果は表 1 に示した.

すなわち, 5mg/kg 移植犬 (No. 2, 3) はともに 3 カ月後, 前回発情から 6 カ月後に発情が回帰し発情抑制効果は認められなかった. 10 (No. 4, 5), 15mg/kg 移植犬 (No. 6, 7) はそれぞれ 17, 18, 11, 19 カ月後に, 25, 30mg/kg 移植犬 (No. 8, 9) は 27, 29 カ月後に発情が回帰し, 40, 50mg/kg 移植犬 (No. 10, 11) は 33 カ月間の観察期間中に発情徴候は認められず, 本剤の発情抑制効果は用量依存性であった. 5mg/kg 移植犬 (No. 3) の 3 カ月後および 15mg/kg 移植犬 (No. 6) の 11 カ月後に回帰した発情の徴候は微弱であったが, 他は正常であった. なお, 対照犬 (No. 1) は 1 カ月後に発情が回帰した.

ペレット剤移植後に回帰した発情での受胎能

初回の発情では 3 頭中 1 頭 (No. 7) が受胎し 5 匹の正常子犬を分娩したが, 他の 2 頭 (No. 4, 6) は不妊に終わった. 不妊に終わった 2 頭は次回の発情ではともに受胎し, それぞれ 3 匹の正常子犬を分娩した. なお, 対照犬 (No. 1) は移植 1 カ月後に認められた発情での交配で受胎し正常子犬 1 匹を分娩した.

血中 progesterone 値の変化

血中 P 値は発情徴候が観察された対照犬 (No. 1), 5, 15mg/kg 移植犬 (No. 2, 6) では発情後 1, 2 カ月に 3.5~15.5ng/ml の高値を示した. しかし, 発情徴候が微弱であった 5mg/kg 移植犬 (No. 3) および発情が認められなかった 50mg/kg 移植犬 (No. 11) の血中 P 値

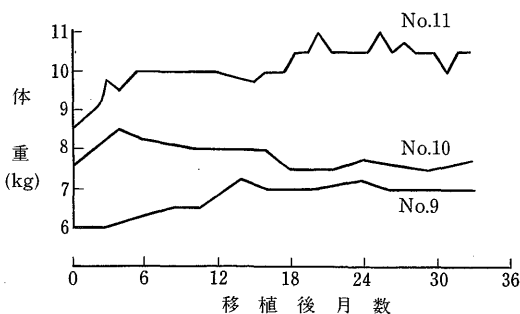


図 1 Norethisterone 移植犬の体重推移

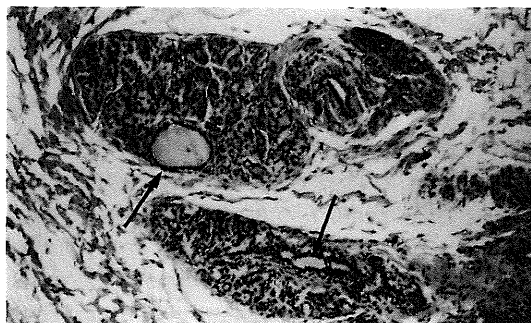


図 2 乳腺の組織像 (No. 11), 腺房の過形成と乳汁貯留 (矢印) (HE 染色 ×100)

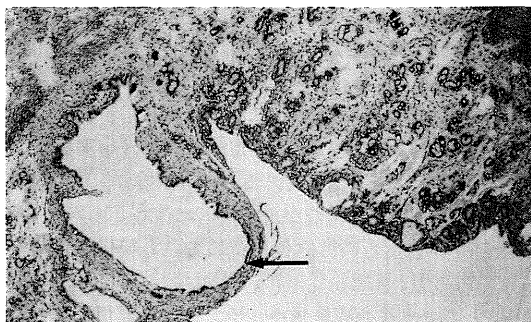


図 3 子宮内膜の組織像 (No. 10), 子宮腺の嚢胞状拡張 (矢印) (HE 染色 ×40)

は 1.5ng/ml 以下の低値で推移した.

体重の推移

30, 40, 50mg/kg 移植犬 (No. 9, 10, 11) の体重は移植後いずれも若干増加した. 最高値はそれぞれ移植後 13, 4, 20 カ月時に観察され, 移植時の 1.21, 1.13, 1.29 倍であった. 以後は顕著な増減は認められなかった (図 1).

病理組織学的所見

40, 50mg/kg 移植犬 (No. 10, 11) とともにペレット剤を移植した部位は皮膚表面からの触診によって容易にペレット剤の存在が確認された. 組織学的にはいずれも移植したペレット剤の周囲に僅かに結合組織の増生がみられた. 卵巣では多数の一次および二次卵胞を観察したが, 成熟卵胞および黄体は認められなかった. 乳腺では軽度な腺房の過形成と乳汁貯留を認めた (図 2).

40mg/kg 移植犬 (No. 10) の子宮は外観上異常は認められず, また子宮角腔内に膿様物等の貯留は認められなかったが, 子宮体部の内膜に 3×7.5mm の嚢胞 1 個と粟粒大の嚢胞が多数認められた. 組織学的には子宮体部の内膜に局限して子宮腺の拡張がみられたが, 炎症性細胞浸潤は認められなかった (図 3).

50mg/kg 移植犬 (No. 11) では 40mg/kg 移植犬 (No. 10) に認められた子宮の変化は全く観察されなかった.

なお、両供試犬ともに副腎、下垂体ほか主要臓器に NET 移植に伴うと考えられる異常所見は観察されなかった。

考 察

NET による犬の発情抑制効果については発情が予測される数週間前から 0.1~0.6mg/kg の用量を毎日経口投与すると有効であることが報告されている^{1,4,5,10,11)}。今回、採用したペレット剤移植法では発情休止期または無発情期に 10~15mg/kg のペレット剤を移植すれば 11 カ月間以上、25mg/kg 以上のペレット剤移植で 27 カ月間以上発情が回帰しないことが明らかとなった。

今回の供試犬における血中 NET 濃度の測定は実施していないが、移植によって長期間の発情抑制効果が得られたのは NET 含有ペレット剤の徐放性によるものと考えられた²⁾。

今回実施した血中 P 値の測定結果から、移植後に回帰した発情の徴候が正常であるものは、排卵、その後の黄体形成および黄体機能が正常と思われた。しかし、微弱発情を呈したものは P 値が低値を示し無排卵に終わったものと思われた。

NET のような合成黄体ホルモンによる発情抑制の機序は明らかにされていないが、フィードバック機構を介して下垂体からの性腺刺激ホルモン放出ホルモンの分泌の抑制を図るものと考えられている⁹⁾。

NET の副作用として体重増加が懸念されるが、30 mg/kg 以上では移植後数カ月間に若干の増加を認めたがその後はほぼ体重を維持する傾向があり増加は一時的であると考えられた。

一般に、高用量の合成黄体ホルモン投与による副作用として嚢胞性子宮内膜増殖症 (CEH) を誘発することが知られている³⁾。CEH の発生は子宮蓄膿症の前段階とも考えられ、合成黄体ホルモン投与による子宮蓄膿症の発症が懸念される。しかし、NET 0.1~0.6mg/kg 程度の用量を 30 日間前後 (最長 14 カ月間) 毎日経口投与した報告によると臨床応用例では副作用の発生はほとんどなく^{1,4,5,10,12)}、本研究においても供試犬には臨床異常所見は観察されなかった。

受胎能を観察した 10、15mg/kg 移植犬 3 頭中 1 頭は移植後回帰した発情で受胎性が認められた。しかし、この 3 頭中不妊であった 2 頭も 2 回目の発情時には受胎した。このことから、本剤移植犬における受胎性の回復にはある程度の時間的経過が必要であるが繁殖機能の回復は可能であると思われる。

25mg/kg 以上の移植犬では一般臨床所見の観察、体重の推移等については異常はみられなかったが、病理組

織学的検索の結果、40mg/kg 移植犬の子宮体部の一部に局限して軽度な子宮腺の拡張が観察された。50mg/kg 移植犬にはこれらの所見が認められなかったことから、この変化は単に NET 用量に依存したのではなく、性周期に対する投与時期の違いあるいは個体差等に起因した変化とも推察された。この点については今後さらに検討を加える必要がある。

今回の成績から、犬の発情抑制法として本法を用いる際には NET 用量を適宜設定することで希望する発情抑制期間を得ることができ、少なくとも 10~15mg/kg の用量の範囲内で使用すれば繁殖能力の回復可能な方法として有用性があると考えられた。

しかしながら、今回供試した NET は 1 回の移植で 2 年間以上継続した長期間の発情抑制効果を得るには 25 mg/kg 以上が必要となるため、移植ペレット剤の容量が多く必要となり、移植にあたり手技等の点で問題が残る。NET 同様、犬に対して発情抑制効果の認められている他の合成黄体ホルモンについても本法による検討が望まれる。

NET 結晶の提供および血中 P 値の測定にご協力いただいた、帝国臓器製薬株式会社の関係各位に深謝いたします。

引用文献

- 1) COULDEN L. W.: *Vet. Rec.*, 76, 544 (1964).
- 2) DZIUK P. J. and COOK B.: *Endocrinology*, 78, 208~211 (1966).
- 3) EVANS J. M. and SUTTON D. J.: *J. Reprod. Fert., Suppl.*, 39, 163~173 (1989).
- 4) HALNAN C. R. E.: *J. Small Anim. Pract.*, 6, 201~206 (1965).
- 5) HALNAN C. R. E. and CAMERON R. S.: *Vet. Rec.*, 74, 1037~1038 (1962).
- 6) 堀 浩, 大阪 豊, 紺野康文, 北井 正: *動水誌*, 23, 9~13 (1981).
- 7) 池澤聖明: *日獣会誌*, 41, 827~831 (1988).
- 8) MCGANN J. P., ALTSZULER N., HAMPSHIRE J. and CONCANNON P. W.: *Acta Endocrinol. (Copenh)*, 116, 73~80 (1987).
- 9) 三宅陽一, 金田義宏, 原 茂雄, 藤井義雄: *日獣会誌*, 41, 267~271 (1988).
- 10) OLIVER J. J.: *Vet. Rec.*, 74, 1089~1090 (1962).
- 11) PROLE J. H. B.: *J. Small Anim. Pract.*, 15, 213~219 (1974).
- 12) PROLE J. H. B.: *J. Small Anim. Pract.*, 15, 221~228 (1974).
- 13) SEAL U. S., BARTON R., MATHER L., et al.: *J. Zoo Anim. Med.*, 7, 12~20 (1976).
- 14) SIVIN I., SANCHEZ F. A., DIAZ S., et al.: *Fertil. Steril.*, 39, 799~808 (1983).