

発情排卵後のCIDR応用による過剰排卵処置法の検討

誌名	鹿児島県肉用牛改良研究所研究報告
ISSN	13419064
著者	轟木, 淳一 山口, 浩 溝下, 和則
巻/号	3号
掲載ページ	p. 27-31
発行年月	1998年3月

発情排卵後のCIDR応用による過剰排卵処置法の検討

轟木淳一・山口浩・溝下和則・窪田力・田原則雄

緒言

現在、ウシ受精卵移植は現場において普及定着しつつあり¹⁾、この技術に関連する機器の開発も進み^{2) 3)}、超音波診断装置を用いて、卵胞波の詳細な動態が報告されるようになった^{4) 5) 6)}。また、持続的にプロゲステロンを放出する腔内留置型シリコン製剤（イゾブライド[®]、ネオ改製、以下CIDR）などの応用により、発情周期に関係なく過剰排卵処置が可能になった^{7) 8)}。ウシ過剰排卵処置法は、（1）通常第2の卵胞波の黄体期（8～14日目）（2）CIDR利用の場合は挿入9日目より行われている。しかし過剰排卵処置に、CIDRを利用する場合の挿入期間、PG投与の必要性については、十分に検討されていない。

そこで本研究では、黒毛和種供胚牛において発情排卵直後、黄体開花期、黄体退行期にCIDRを3日間留置し、過剰排卵処置、採胚する方法について検討した。

材料、方法

1. 供試牛

当所繁殖黒毛和種供胚牛13頭

2. 試験区分

ア) CIDR 挿入観察区：4頭

- ・A区（発情排卵後14日間留置）2頭
 - ・B区（発情後14日目から14日間留置）2頭
- イ) CIDR 留置（3日間）過剰排卵区：9頭
- ・C区（発情排卵直後過剰排卵開始区）2頭
 - ・D区（発情から5日目過剰排卵開始区）3頭
 - ・E区（発情から10日目過剰排卵開始区）2頭
 - ・F区（発情から18日目過剰排卵開始区）2頭

3. 過剰排卵処理

過剰排卵処置はCIDR挿入日からFSH18AU（アントリン：デンカ製薬）を3日間連続漸減投与した。C・F区は処置開始48時間後にCIDR除去のみとした。D・E区は、処置開始48時間後にCIDR除去するとともに、PGF₂α類縁体（エストラメイト：住友製薬）3mlを投与した。

4. 観察

超音波診断装置（SSD-500アロカ）で卵胞の発育動態を観察した。

5. プロゲステロン濃度¹⁰⁾

原則として1日1回頸静脈からの採血を行い、プロゲステロン濃度（以下P4）をオプチェック血液用EIAキット（デンカ製薬）にて測定した。

結果

発情排卵後、CIDR14日挿入A区について、血中P4値の推移は、CIDR挿入翌日には8ng/ml程度まで上昇し、挿入期間中8ng/ml以上で推移、除去翌日には5ng/mlに低下し、その後次の発情に向けて低下した。

一方黄体は、CIDR留置に関係なく、開花期に向け発育し、14・15日を境に縮小した。また、卵胞の個数の変化は、CIDR留置に関係なく10mm以上の大卵胞が2個前後、5～10mmの中卵胞が3個前後で推移し、5mm以下の小卵胞は、発情排卵後30個以上あり、その後、平均21.3個で推移した。また、CIDR除去時平均1.05cmの主席卵胞が確認され、除去から7日目で発情が観察された（図1）。

図1. A区: 各種卵胞サイズ別個数の推移および血中P4値の動き

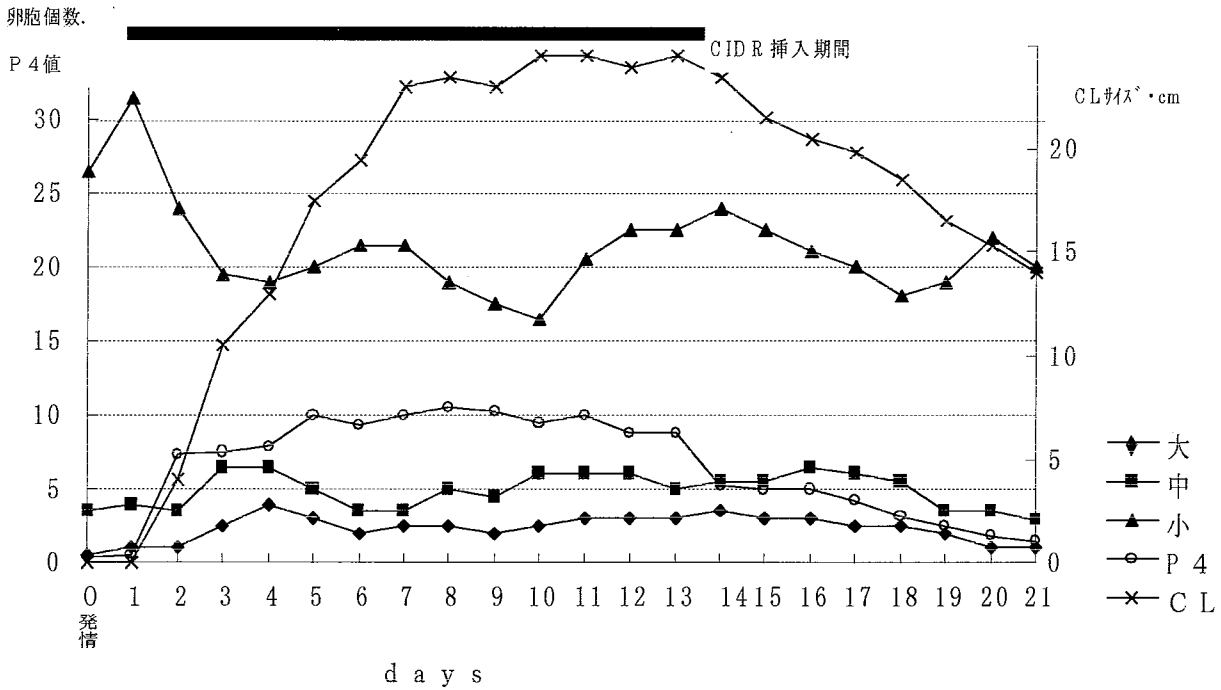
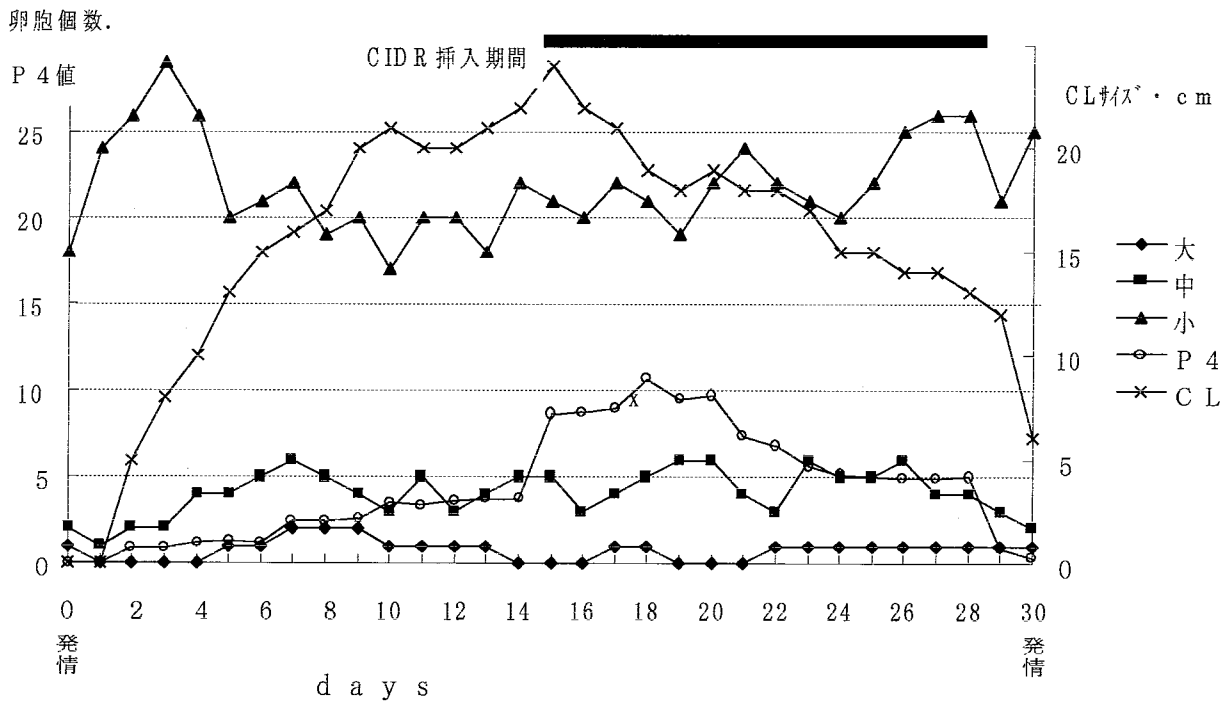


図2. B区: 各種卵胞サイズ別個数の推移および血中P4値の動き



発情排卵後のCIDR応用による過剰排卵処置法の検討

B区における血中P4値は、CIDR挿入までは4ng/mlまで徐々に増加し、CIDR挿入翌日には8ng/mlに上昇した。その後約1週間高い値を示し、CIDR除去まで5ng/mlで推移、除去翌日には、1ng/ml以下に低下しその翌日には発情が確認された。

一方黄体形成は、CIDR留置に関係なく開花期に向け発育し14・15日を境に縮小し、卵胞の個数は、大卵胞が2個前後、中卵胞が4個前後で推移し、小卵胞は発情排卵後30個でその後平均16.7個で推移した。また、CIDR除去時平均0.95cmの首席卵胞が確認され除去から3.2日で発情が観察された(図2)。

CIDR3日間留置区(C区:発情排卵後3日間・D区:発情から5日目後・E区:発情から10日目後・F区:発情から18日目後)、CIDR14日間留置区(A区:発情排卵から14日間・B区:発情排卵14日目から14日間)の血中P4値を図3に示した。すべての区において、CIDR挿入翌日にはP4値が平均4.5ng上昇し、挿入期間中5ng/ml前後で推移した。(図3)

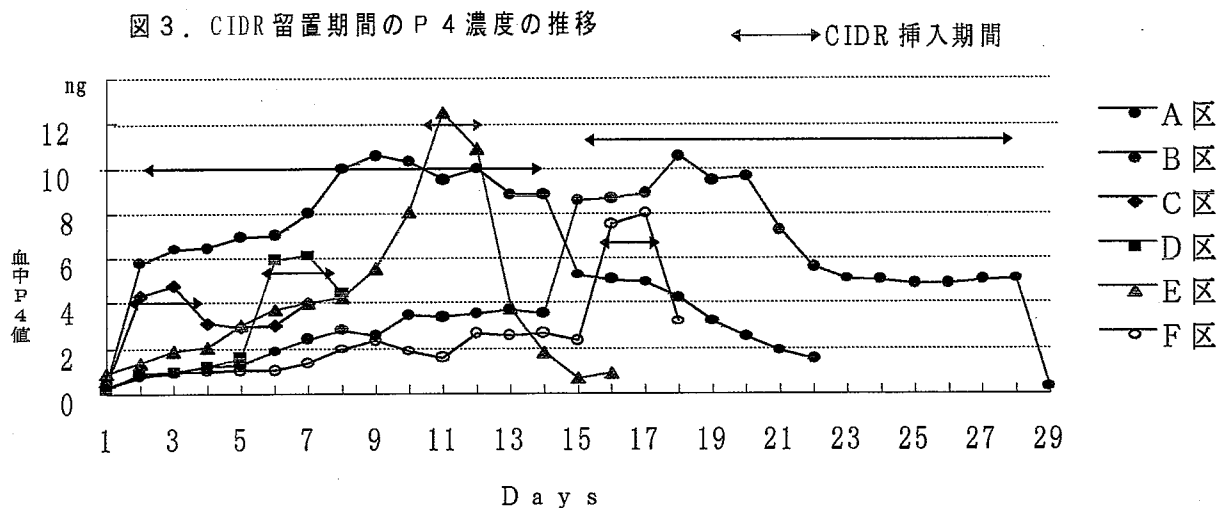


表1. 過剰排卵処置区における採胚成績

(mean ± sen)

区	採胚総数	移植可能胚数 (過去1年間の採胚成績)	採胚後発情までの日数
C	※	※	18.5 ± 1.5 (発情~)
D	6.0 ± 0.8	4.0 ± 2.1 (8.8 ± 4.8)	6.7 ± 1.2
E	14.5 ± 1.5	5.5 ± 0.5 (6.4 ± 2.2)	11.5 ± 3.5
F	15.0 ± 2.0	12.5 ± 4.5 (8.3 ± 5.7)	6.5 ± 1.5

※ NG

D. E区は、過剰排卵開始48時間後にPGF₂α注射

表 1 に過剰排卵処置区の採胚成績を示した。C区では、多数の卵胞が形成されたが発情は観察されなかった。(1頭は卵胞の自然退行、他の1頭はCIDR除去から7日目に経膈採卵¹¹⁾で34個の卵子を採取し、うち18個を体外受精して3個の移植可能胚を作出)

D~F区の平均採胚数、平均移植可能胚数は、D区で6.0 ± 0.8、4.0 ± 2.1、E区で14.5 ± 1.5、5.5 ± 0.5、F区で15.0 ± 2.0、12.5 ± 4.5個採胚あった。

考 察

現在、過剰排卵処置方法の簡易化ならびに処置間隔の短縮化についての試験研究が重点的に進められているが、過剰排卵処置技術の最大の課題点は、その処置に対する卵巣反応を正確に予知できないことである。どの供胚牛からも同じ程度多数の移植可能胚が採取できないことである。最近、優勢卵胞の存在が過剰排卵処置成績に及ぼす影響について興味を持たれ優勢卵胞除去による過剰排卵処置成績を向上させる手法の開発が考えられている^{12) 13) 14) 15) 16)}。しかし、これらの手法にも特殊な器具を必要とすることから現場への定着は今のところ望めない。過剰排卵処置開始時の小卵胞数と過剰排卵反応との間に正の相関関係があり^{17) 18)}、内因性のFSHが上昇し始める発情周期の2日目からFSHを投与すると良好な採胚成績が得られたとの報告がある^{19) 20)}。我々は、発情周期の卵巣動態を超音波診断装置で観察する中で、発情排卵後小卵胞が多い傾向が見られた。この時期にCIDRを用い過剰排卵処置を行ったが、外因性の黄体ホルモン製剤投与に関係なく、黄体は開花期に向かい発育し採胚はできなかった。小林ら^{19) 20)}は同じく発情排卵後にCIDRを用いずPGF_{2α}類縁体を処置開始4日目に投与し、過剰排卵処置に成功している。CIDR挿入と血中P4値との関係は、CIDR挿入翌日には5ng前後の上昇がみられた。

CIDR挿入と黄体形成との関係は、CIDR挿入に関係

なく黄体は開花期に向け発育し、次回発情に向け退行していった。F区では、過剰排卵処置にPGF_{2α}類縁体を必要とせずCIDR除去のみで12.5個の移植可能胚が採胚できた。これは、CIDR留置により、発情周期をコントロールできたものと考えられる。

以上の結果により、これまで発情から8~14日目開始だった過剰排卵処置が、CIDRを3日間用いる(排卵処置開始は4日目のPG投与を行う)ことで性周期のどの時期からでも過剰排卵処置が可能であることが示唆された。

この研究は、1997年の第4回日本胚移植研究会で発表してあります。

参 考 文 献

- 1) 小島敏之, 1995; 畜産技術 P5-8
- 2) Pieterse, M. C., K. A. Kappen, Th. A. M. Kruip & M. A. M. Taverne 1988; Theriogenology, 30: 751-762
- 3) Kruip, Th. A. M., M. C. Pieterse, Th. H. vanBeneden, P. Vos, Y. A. Wurth & M. A. M. Taverne, 1990; Theriogenology, 33: 269(abstr)
- 4) 轟木淳一, 金子浩之, 山口浩, 溝下和則, 窪田力, 猪八重悟, 1997; 第92回日本畜産学会講演要旨 P171
- 5) 轟木淳一, 金子浩之, 山口浩, 溝下和則, 窪田力, 田原則雄, 野口純子, 菊池和弘, 田谷一善, 渡辺元, 1997; 日本繁殖生物学会講演要旨 P42
- 6) J. Todoroki, H. Kaneko, H. Yamakuchi, K. Mizoshita, C. Kubota, N. Tabara, T. Maehara, J. Noguchi, K. Kikuchi, G. Watanabe, K. Taya, 1998; Theriogenology, 49: 358(abstr)
- 7) 武富敏郎, 青柳敬人, 小西正人, 板倉はつえ JA全農飼料畜産中央研究報告, 1994; 第21号 79-83

- 8) 沼辺孝. 及川俊徳. 菊池武. 中島聡. 仲沢浩江
青山謙. 市野清博. 広瀬啓二. 赤塚裕人. 小西
一之, 1997;
第4回日本胚移植研究会講演要旨 P26
- 9) Iwazumi Y., et al; J. Reprod. Dev. 1994;
40, 259-266
- 10) 阿諏訪次郎: 北海道獣医師会誌,
1995; 39, 223-225
- 11) 轟木淳一, 1996; 日本胚移植学会誌
第18巻 3号 P218-222
- 12) Adams GP. Theriogenology, 1994;
41: 19-24.
- 13) Bo GA et al. Theriogenology,
1991; 36: 169-183.
- 14) Bo GA et al. Theriogenology,
1993; 40: 225-239.
- 15) Wu M et al. Theriogenology,
1988; 29: 333.
- 16) Fortune JE. Anim. Reprod. Sci.,
1993; 33: 111-125
- 17) Romero A, Albert J, Brink Z, Seidel Jr GE.
Theriogenology, 1991; 35: 265
(abstr)
- 18) Van der Schans A, Van der Westerlaken LA
J, de Wit AAG, Eyestone WH, de Boer HA.
Theriogenology, 1991; 35: 288
(abstr)
- 19) Fricke PM, Kirsch JD, Reynolds LP, Redmer D
A. Theriogenology, 1994; 42: 43-
53
- 20) 小林修一ら, 日本胚移植学会誌, 第17巻,
3号