

PGF2 α 製剤の違いが過剰排卵処理成績および採胚後の発情回帰におよぼす影響

誌名	山口県畜産試験場研究報告
ISSN	02871262
著者	藤井, 陽一 引田, 久美子 稲吉, 洋裕
巻/号	24号
掲載ページ	p. 1-5
発行年月	2009年3月

PGF₂α 製剤の違いが過剰排卵処理成績および 採胚後の発情回帰におよぼす影響

ふじよういち ひきたくみこ いなよしようすけ
藤井陽一・引田久美子・稲吉洋裕*

要 旨

PGF₂α 製剤である d-クロプロステノール、dl-クロプロステノールおよびトロメタミンジノプロストを、黒毛和種供胚牛の過剰排卵処理時および採胚直後に投与し、採胚成績および採胚後の発情回帰について、PGF₂α 製剤の違いによる影響を比較検討した。

胚回収時の推定黄体数、残存卵胞数、回収総数、移植可能胚率、凍結可能胚率および採胚後の発情回帰日数について、各 PGF₂α 製剤間で有意差はみられなかった。したがって、黒毛和種における過剰排卵処理による採胚および採胚後の発情誘起処理において、3種類の PGF₂α 製剤は同等の効果があると考えられた。

I 緒 言

過剰排卵処理（以下 SOV）時の発情誘起に使用する PGF₂α 製剤を比較した報告は、過去に天然型のジノプロスト製剤と類縁体である dl-クロプロステノール製剤について比較した成績がある^{1, 2, 3)}が、今回 PGF₂α の類縁体であるクロプロステノールの右旋性異性体（d-クロプロステノール）を有効成分とする合成 PGF₂α 注射剤が発売されたことから、d-クロプロステノール（以下 D 剤）、dl-クロプロステノール（以下 E 剤）およびトロメタミンジノプロスト（以下 P 剤）を用いて、SOV による採胚および採胚後の発情誘起処理を行い、PGF₂α 製剤の違いがこれらの成績に及ぼす影響について検討した。

II 材料及び方法

試験は2007年5月から2008年2月の間に実施した。供試牛は、当场繁養の黒毛和種供胚牛15頭で、これを5頭ずつ3群に分け、各々3回の SOV を行う中で、A 群では D 剤→E 剤→P 剤、B 群では E 剤→P 剤→D 剤および C 群では P 剤→D 剤→E 剤の順に用い、延べ45回採胚を実施した。

過剰排卵処理は当场の常法に従い、FSH 製剤（アントリン R・10、川崎三鷹製薬株）20AU を3日間漸

減投与（5,5,3,3,2,2AU）し、発情誘起処理は D 剤（ゲルマジン、川崎三鷹製薬株）0.15mg と E 剤（エストラメイト、シェリングプラウアニマルヘルス株）0.75mg は3日目の朝1回、P 剤（動物用プロナルゴン F 注射液、ファイザー株）30mg は朝夕2回（20,10mg）投与した。なお、D 剤は薬効を示す d 体が主成分であるため、dl 体の E 剤より少ない投与量で効果を発揮するといわれていることから、通常が発情誘起に使用する量を用いた。さらに、4日目の夕方 GnRH 製剤（酢酸フェルチレリン：コンサルタン注射液、あすか製薬株）0.2 mg を投与、5日目（発情日）の夕方1回人工授精を行い、12日目（発情後7日目）に子宮灌流法により採胚を行った。なお、発情はテールペイント（ALL-WEATHER PAINTSTIK、LA-CO Industries, Inc.）を用いて、スタンディング発情の有無により確認した。

採胚時の推定黄体数と残存卵胞数は、超音波診断装置を用いて計数した。なお、卵胞は谷口ら¹⁾の報告に基づき、直径18mm以上のものを残存卵胞と判定した。

血漿中プロジェステロン濃度（以下 P4）は、採胚後に採血し、酵素免疫測定法によるキット（血液中 P 測定キット「KMK」、川崎三鷹製薬株）を用いて測定した。なお、本キットの定量範囲は0.5~10.0ng/ml であるため、10ng/ml を越えるものについては、標準曲線から求めた一次回帰式に ELISA 値を当てはめて推

定した。

回収した胚は、胚の衛生的取り扱いマニュアル(国際胚移植学会 IETS マニュアル)⁵⁾に基づき品質を判定した。なお、Excellent、GoodおよびFair胚を移植可能胚とし、ExcellentおよびGood胚を凍結可能胚とした。

各試験群における初回のSOVは、自然発情に併せ9~12日目から処理を開始したが、2および3回目はCIDRを用いて84~144日間隔で発情同期化処理を行って実施した。即ち、CIDR挿入日を0日とし、7日目にCIDR抜去とE剤0.5mgを投与、9日目に酢酸フェルチレリン0.1mgを投与して発情を誘起、GnRH製剤投与日を0日として10日目からSOVを開始した。

採胚後の発情誘起処理は、SOVに使用したものと同一のPGF2 α 製剤を用いた。投与量は通常の発情誘起に用いられる量とし、D剤は0.15mg、E剤は0.5mgおよびP剤は20mg(1回投与)とした。

発情は、テールペイントを用いて、スタンディング発情の有無により確認した。

Ⅲ 結 果

1 胚回収成績

SOV時のスタンディング発情発現頭数は、D剤で10/15頭(66.7%)、E剤およびP剤で12/15頭(80.0%)、胚回収時の推定黄体数は、D剤が 11.5 ± 2.5 個、E剤が 12.4 ± 2.1 個およびP剤が 11.9 ± 2.0 個、残存卵胞数はそれぞれ 3.4 ± 0.8 個、 2.8 ± 0.7 個および 1.9 ± 0.5 個であり、各製剤間で有意差はみられなかった。

回収した胚の内訳については、回収総数はD剤が 9.6 ± 2.3 個、E剤が 11.7 ± 2.3 個およびP剤が 10.7 ± 2.1 個、移植可能胚数(率)はそれぞれ 4.8 ± 1.2 個(52.6 \pm 11.2%)、 6.8 ± 1.8 個(52.3 \pm 7.4%)および 6.1 ± 1.8 個(55.5 \pm 10.4%)、凍結可能胚数(率)はそれぞれ 2.9 ± 1.1 個(25.3 \pm 9.1%)、 4.2 ± 1.2 個(30.6 \pm 6.6%)および 3.5 ± 1.5 個(23.8 \pm 7.9%)であり、各製剤間で有意差はみられなかった[表1]。

2 採胚後の発情回帰成績

胚回収後のPGF2 α 製剤投与による発情回帰については、D剤およびP剤は15頭全頭で発情が回帰したが、

表1 PGF2 α 製剤の種類別の胚回収成績

区分	; 頭、個、%		
	D剤	E剤	P剤
供試頭数	15	15	15
発情発現頭数 ¹⁾	15	15	15
推定黄体数 ²⁾	11.5 ± 2.5	12.4 ± 2.1	11.9 ± 2.0
残存卵胞数 ²⁾	3.4 ± 0.8	2.8 ± 0.7	1.9 ± 0.5
回収総数 ²⁾	9.6 ± 2.3	11.7 ± 2.3	10.7 ± 2.1
移植可能胚数 ²⁾	4.8 ± 1.2	6.8 ± 1.8	6.1 ± 1.8
(移植可能胚率) ²⁾	(52.6 \pm 11.2)	(52.3 \pm 7.4)	(55.5 \pm 10.4)
凍結可能胚数 ²⁾	2.9 ± 1.1	4.2 ± 1.2	3.5 ± 1.5
(凍結可能胚率) ²⁾	(25.3 \pm 9.1)	(30.6 \pm 6.6)	(23.8 \pm 7.9)

1) テールペイントによるスタンディング発情確認頭数

2) 平均 \pm 標準誤差

表2 胚回収後のPGF2 α 製剤投与による発情回帰成績

区分	; 頭、日		
	D剤	E剤	P剤
供試頭数	15	15	15
発情回帰頭数	15	14	15
発情回帰日数 ¹⁾	15.5 ± 2.4	14.1 ± 3.0	20.3 ± 5.6
(最小日数~最大日数)	(2 ~ 31)	(3 ~ 36)	(5 ~ 50)

1) 平均 \pm 標準誤差

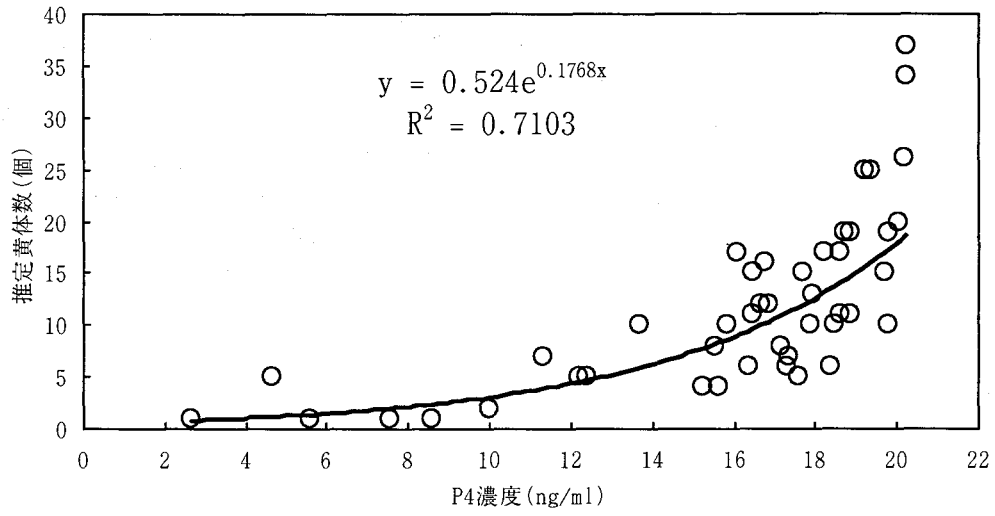


図1 P4濃度と推定黄体数の関係

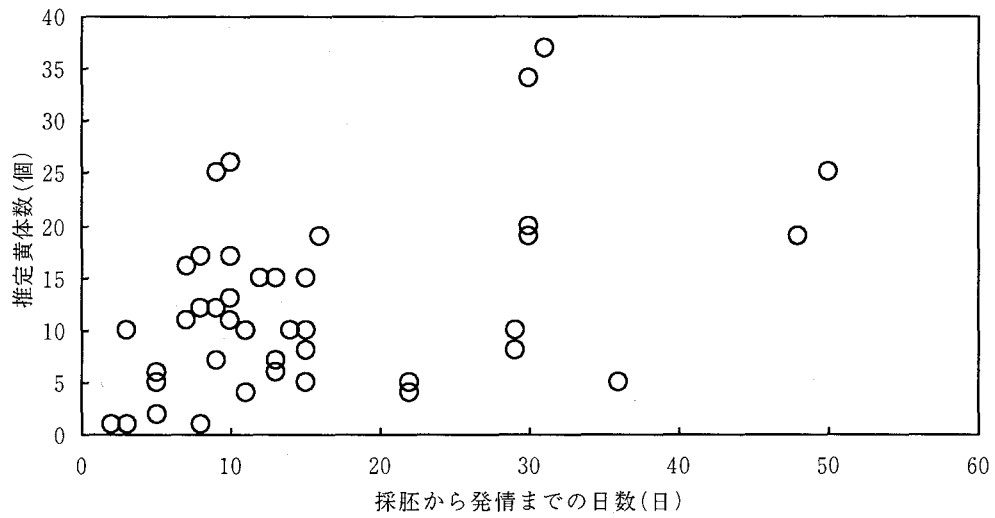


図2 推定黄体数と採胚から発情までの日数の関係

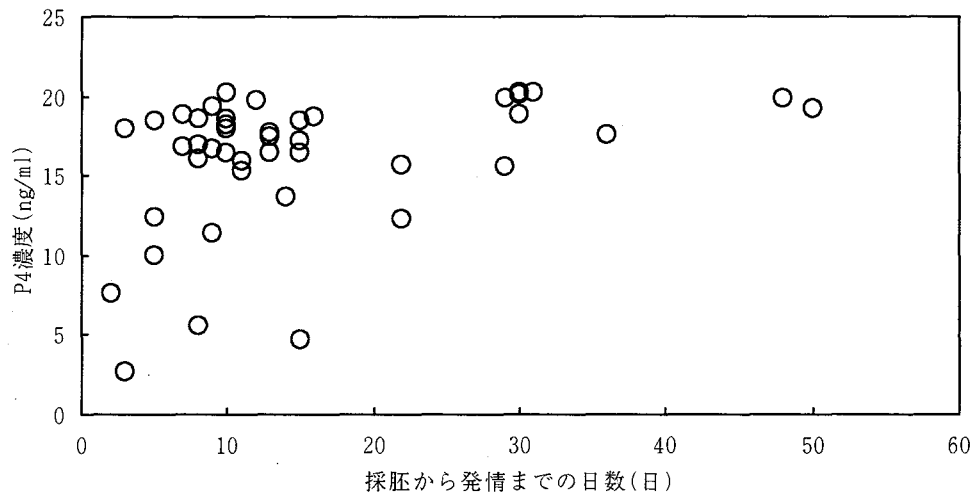


図3 P4濃度と採胚から発情までの日数の関係

E剤では15頭中1頭で発情が確認されなかった。

回帰日数は、D剤で 15.5 ± 2.4 日(2~31日)、E剤で 14.1 ± 3.0 日(3~36日)およびP剤で 20.3 ± 5.6 日(5~50日)であり、各製剤間で有意差はみられなかった[表2]。

採胎時のP4濃度は全頭が機能性を有する黄体レベル(1ng/ml以上)にあり、大半が定量範囲の上限(10.0ng/ml)を上回り、D剤では13/15検体(86.7%)、E剤では14/15検体(93.3%)およびP剤では12/15検体(80.0%)であり、各製剤間で有意差はみられなかった。

なお、P4濃度(10ng/mlを越えたものは、標準曲線から求めた一次回帰式にELISA値を当てはめて推定)と推定黄体数の関係については、正の相関($p < 0.01$)がみられたが、推定黄体数と採胎から発情までの日数およびP4濃度と採胎から発情までの日数の関係については、一定の傾向はみられなかった[図1、2、3]。

IV 考 察

SOV時のスタンディング発情発現率は、各PGF2 α 製剤間で有意差はみられなかったが、Donaldson¹⁾や岩住ら²⁾の報告ではクロプロステノール製剤およびジノプロスト製剤とも90%以上の発情発現率を示しており、これらと比較すると今回の成績は低い傾向がみられた。

SOVによる採胎成績については、各PGF2 α 製剤間で有意な差はみられなかった。ジノプロスト製剤とクロプロステノール製剤を用いたSOVによる採胎成績を比較した報告をみると、Donaldson¹⁾は、ジノプロスト製剤投与群の方がクロプロステノール製剤投与群より分割卵率は高かったが、変性胚率も高かったため、結果として移植可能胚数は両者間で差はなかったとしている。また、岩住ら²⁾は、ジノプロスト製剤投与群の方がクロプロステノール製剤投与群より平均採胎数は少ないが、正常胚率はやや高い傾向にあったとしている。さらに、久保ら³⁾は、ジノプロスト製剤投与群の方がクロプロステノール製剤投与群より、回収卵数、正常胚数は多い傾向にあったが、未受精卵数(率)も多(高)く、正常卵率は低い傾向にあり、岩住ら²⁾の報告とは逆の傾向を示したとしている。しかし、岩住ら²⁾および久保ら³⁾の報告では、いずれも有意差は認められていない。

したがって、今回の成績およびこれまでの報告から、

SOVに用いるPGF2 α 製剤の種類により採胎成績に差はなく、それぞれ同等の効果を示すと考えられる。

採胎後の発情回帰について、PGF2 α 製剤投与等の発情誘起処置を行わなかった場合、久保ら³⁾の報告では、黒毛和種雌牛ではSOVによる発情後 27.5 ± 7.2 日(SOV時にジノプロスト製剤使用)または 28.3 ± 12.6 日(SOV時にクロプロステノール製剤使用)で回帰したとしている。また、高橋ら⁶⁾の報告では、ホルスタイン種未経産牛では 27.9 ± 6.2 日(SOV時にジノプロスト製剤使用)で、SOV前の周期 19.7 ± 1.9 日に比べ有意($p < 0.01$)に延長したが、胚回収の次の発情周期は 18.5 ± 3.2 日と、処理前の周期に戻ったとしている。さらに、大津ら⁷⁾の報告では、乳用種未経産牛では 36.8 ± 10.4 日(SOV時にジノプロスト製剤使用)で発情が回帰したとしている。

今回の試験では、採胎直後にPGF2 α 製剤を投与して発情を誘起した結果、D剤では 15.5 ± 2.4 日で、E剤では 14.1 ± 3.0 日で、P剤では 20.3 ± 5.6 日で発情が回帰した。これは、採胎時(SOVによる発情後7日目)からの日数であるので、SOVによる発情からの日数に換算すると、それぞれ22.5日、21.1日および27.3日となり、久保ら³⁾や高橋ら⁷⁾の報告よりやや短いか同程度となる。久保ら³⁾は回収卵数と発情回帰日数の間に正の相関($p < 0.01$)が、また大津ら⁷⁾も推定排卵数(黄体数)と発情発現日数の間に正の相関($p < 0.05$)が認められたとしている。今回の試験では、P4濃度と推定黄体数の間には相関が見られたにも関わらず、推定黄体数と採胎から発情までの日数との間およびP4濃度と採胎から発情までの日数との間には一定の関係は認められなかったことは、PGF2 α 製剤投与により発情が誘起されたことを示唆していると考えられるが、P4濃度が高濃度の条件下では、通常の黄体期よりも発情回帰が遅延することが示唆された。

以上、SOVによる採胎後の発情誘起に対してもPGF2 α 製剤の種類による反応差はなく、それぞれ同等の効果を示すと考えられる。

謝 辞

本試験の実施にあたり、ご指導をいただいた山口大学大学院連合獣医学研究科、音井威重教授並びに各製剤の提供とP4濃度の測定を実施していただいた川崎三鷹製薬株式会社、石井健容氏および関誠氏に深謝いたします。

参考文献

- 1) Lloyd E. Donaldson: A COMPARISON OF CLOPROSTENOL AND DINOPROST TROMETHAMINE FOR THE CONTROL OF ESTRUS IN BOVINE EMBRYO TRANSFER、THERIOGENOLOGY、21、1019-1022 (1984)
- 2) 岩住安晃・青柳敬人・古館誠：乳牛の過排卵処置におけるプロスタグランディン F2 α 製剤の投与方法について、繁殖技術研誌、9 (3)、113-16 (1987)
- 3) 久保博文・佐野正記・石川邦生：プロスタグランディン製剤の違いが過剰排卵処理成績に与える影響、富山県畜産試験場研究報告、10、13-16 (1989)
- 4) 谷口雅康・音井威重・佐々木恵美・中尾敏彦：過剰排卵処置した黒毛和種牛の採卵時における残存卵胞が PGF2 α 投与後発情発現までの日数に及ぼす影響、第11回日本胚移植研究会、31 (2004)
- 5) 社団法人畜産技術協会：胚の衛生的取り扱いマニュアル (国際胚移植学会 IETS マニュアル) 第3版、106-107 (2001)
- 6) 高橋芳幸・堀田仁一：ホルスタイン種未経産牛における過剰排卵処理および非手術的卵回収後の受胎成績と発情周期の変化、家畜繁殖誌、29 (2)、80-83 (1983)
- 7) 大津昇三・角田龍司・笠原民夫・大野光男・佐々木捷彦・谷中匡・湊芳明：乳用未経産牛の過剰排卵処置後の発情発現と受胎成績について、家畜繁殖誌、29 (4)、194-197 (1983)