

牛の排卵同期化・定時人工授精プログラムの現状と最近の 進歩

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	大澤, 健司
巻/号	65巻9号
掲載ページ	p. 673-681
発行年月	2012年9月

牛の排卵同期化・定時人工授精プログラムの 現状と最近の進歩

大澤 健司[†]

宮崎大学農学部 (〒889-2192 宮崎市学園木花台西1-1)

Current situations and recent advancement of ovulation synchronization
and timed artificial insemination protocols in cattle

Takeshi OSAWA[†]

Laboratory of Theriogenology, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture,
University of Miyazaki, Miyazaki, 889-2192, Japan

はじめに

現代の畜産経営において牛の効率的な繁殖管理は不可欠であり、そのための発情・排卵同期化処置は欠かせない技術となっている。黄体期の延長あるいは短縮による発情の人為的調節は、その後、排卵同期化処置と定時授精 (Timed AI : TAI) へと発展し、現在では十数種類に及ぶ定時授精プロトコルが報告されている。これらは、それぞれの現場の状況に応じて実用化され、生産性向上に大きく寄与している。しかし一方では、これらのプロトコルの理論的背景に対する誤解や理解不足が原因で現場において混乱を招いている面があることも否定できない。本稿では、牛の発情・排卵同期化法開発の歴史と最近の進歩を紹介し、おもなプロトコルの特徴と実用性について述べる。

牛の繁殖管理の現状と課題

乳牛、肉牛を問わず、牛群の大規模化が進行している。牛群の大規模化によって一人あたりの発情観察に要する労力が増えた結果、発情発見率が低下している。さらに、乳牛においては高泌乳化に伴う発情徴候の微弱化が発情発見率の低下や不適期での人工授精につながり、結果として受胎率低下を招いている (図1)。

繁殖成績を反映する指標として妊娠率が使われる。妊娠率は発情発見率×受胎率で表わされる。すなわち、現代の畜産経営が求める生産性の効率化が牛群における妊

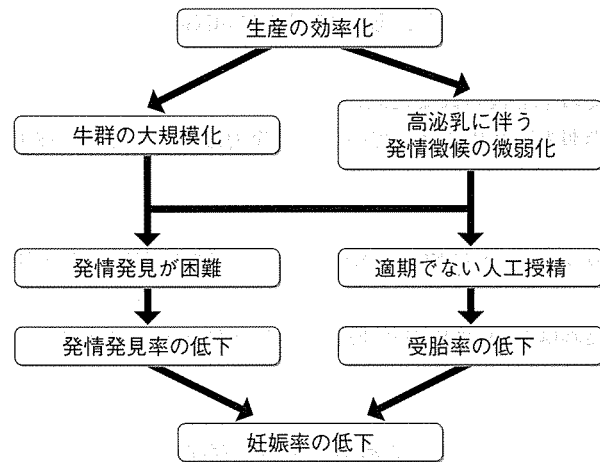


図1 牛の繁殖管理の現状と課題

娠率の低下を引き起こし、結果として生産性を低下させるというパラドックスに陥っているのが現状である。妊娠率を上げるために、いかにして発情発見率と受胎率を上げるか？ 発情発見率を上げるためには、発情観察時間を増やす、人を雇う、発情発見補助ツールを利用することなどがあげられる。また、受胎率を上げるためにはいかにして授精のタイミングを最適化するか？ これらの問題を解決する一つの有力な手段として排卵同期化処置・定時人工授精法が実用化されるようになった (図2)。排卵同期化処置・定時人工授精法のポイントは、発情発見率 (= 人工授精実施率) が理論上100%であること、及びホルモン製剤投与によって排卵時刻を集中化させる

[†] 連絡責任者：大澤健司 (宮崎大学農学部獣医学科産業動物臨床繁殖学研究室)

〒889-2192 宮崎市学園木花台西1-1 ☎・FAX 0985-58-7787 E-mail : osawa@cc.miyazaki-u.ac.jp

[†] Correspondence to : Takeshi OSAWA (Laboratory of Theriogenology, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki)
Miyazaki, 889-2192, Japan TEL・FAX 0985-58-7787 E-mail : osawa@cc.miyazaki-u.ac.jp

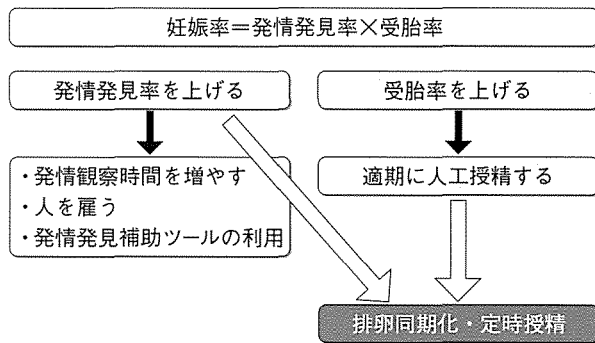


図2 妊娠率を上げるには？

ことで適期の人工授精を可能にしたことである。

発情・排卵同期化発展の歴史

ホルモン製剤の投与による牛の発情同期化処置は1950年代から報告がみられる。Nellorら [1] は、正常な成熟未経産肉牛に対してプロジェステロン (P_4) 乳濁液を筋肉内投与し、その15日後にeCGを投与したところ、90%が1～4日後に発情したと報告している。同論文の中で彼らはまた次のようにも述べている。「発情と排卵の同期化法としての黄体の除去は、ある程度の技術レベルを要し、研究機関以外では通常は実施されておらず、実施されているとしてもせいぜい25%程度までであろう」。まだPGF_{2α}製剤がなく、海外においても黄体の用手除去が行われていた時代の話である。発情同期化処置は1960年代の P_4 製剤とエストロジェン製剤投与を経て1970年代になってPGF_{2α}製剤やGnRH製剤が使用できるようになった。

排卵後5～16日の機能性黄体の存在下でPGF_{2α}を投与すると発情を誘起することができるが、発情発現日には投与後2～6日の幅がある。この幅を左右するのは、黄体の大きさや日齢ではなく主席卵胞である。すなわち、PGF_{2α}投与時に存在する主席卵胞が十分に大きければ2日ほどで発情が発現し、卵胞が主席性を獲得した直後にPGF_{2α}が投与された場合には、排卵卵胞へと成熟するまでに時間を要するために発情発現が6日後頃まで起こらない。これらの知見は、1980年代以降に研究機関を中心に応用されるようになった経直腸Bモード超音波検査によって得られた部分が多い。発情発現日に幅が出るという事象は、発情発見率が十分に上がらない要因でもある。実際のところ、現場においては発情誘起のためにPGF_{2α}を投与したとしても授精までに至らないケースが日常的に全国、そして世界の至るところで発生している。そこで、人工授精までを確実に実施できるという新しい処置の開発が注目を集めた。

PGF_{2α}投与時における主席卵胞の大きさを均一化する目的で開発されたのが、PGF_{2α}投与の7日前にGnRHを投与するプロトコルである。主席性を獲得した直径

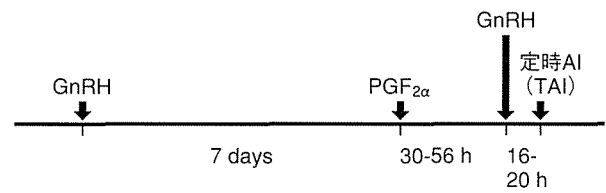


図3 Ovsynchプロトコル

8.5 mm以上の卵胞 [2] は外因性に投与されたGnRHに反応して排卵する。GnRHによりリセットされた新たな卵胞ウェーブは排卵後1.5～2日後に起こり、その5、6日後には主席卵胞の直径が10～12 mmへと発育している。そこで、この時期、すなわちGnRH投与から7日後にPGF_{2α}の投与を行うと、その後に発現する発情時期は、7日前にGnRHを投与しない場合と比較して、より斉一化されることになる。これは北米においてSelect-synchとして知られている [3, 4]。この方法は、発情発現日がより集中することで発情発見の労力が軽減されるとはいえ、発情観察が必要であることには変わりない。このSelect-synchをさらに進化させたのがOvsynch [5] である (図3)。排卵同期化処置 (Synchronization of ovulation) の言いやすい名称を考えていた当時大学院生のRichard Pursleyが午前2時に目覚めてOvsynchという名称を思い付いたというエピソードも知られているが、今やOvsynchは登録商標ではあるものの、日本を含む世界中の牛の繁殖管理の現場において一般名詞化した用語となっている。OvsynchはSelect-synchにおけるPGF_{2α}投与の30～56時間後にGnRHを投与、その16～20時間後に発情発現の有無に関わらずにTAIするというものである。本法による受胎率は、特に泌乳経産牛において、従来の発情発見後AIによる受胎率と比較して遜色ない成績であることが他のグループによる追試においても証明されたことから、1990年代後半以降、牛群規模が特に大きい北米及び南米を中心に飛躍的に普及した。日本国内においてもYamadaら [6] がいち早く本法を導入し、乳牛の牛群レベルにおける繁殖成績の向上を報告している。

Ovsynchの基本的考え方は以下のポイントで構成される [7]。

- (1) 卵胞ウェーブの同期化：GnRH投与後のLHサーージによる主席卵胞の排卵誘起の結果としてウェーブをリセットする。その後、GnRHの代わりにエストロジェンを投与して主席卵胞を退行させる結果としてのウェーブのリセットの方法も開発された [8]。
- (2) 卵胞ウェーブの適切な発育：高 P_4 環境における卵胞発育を図る。
- (3) PGF_{2α}投与時に高 P_4 環境を維持することと、ある程度の大きさの主席卵胞を存在させることで発情前期の環境の作出を図る。

(4) 成熟卵胞の存在下でGnRHを投与することによって排卵の同期化とTAIを可能とする。GnRHの代わりにエストロジェンを投与する方法もその後開発されている [9].

排卵同期化プログラムに関する疑問

—最適な投与間隔とは？

どの程度まで投与間隔を変更しても

受胎率に影響しないのか？

繁殖管理を担当している獣医師にとって、最高の妊娠率を達成し得るOvsynchプロトコルとは？そして現場の状況に応じてどの程度までそのプロトコルを改変できるのか、あるいは改変しても妊娠率に影響しないのか、という点は最も関心が高いことの一つである。

(1) 初回のGnRH投与からPGF_{2α}投与までの間隔：GnRH投与時にGnRHに反応する主席卵胞が存在していた場合には、GnRH投与後2～2.5時間でLHピークが発生し、その約25時間後に主席卵胞が排卵、その約24時間後からFSHの上昇と新しい卵胞ウェーブが起こる。すなわち、GnRH投与後2日過ぎから新しい卵胞ウェーブが起こることになる。Ovsynchにおいて初回のGnRH投与から7日目のPGF_{2α}投与は新しい卵胞ウェーブが起きてから約5日目にあたり、主席卵胞が選抜された後である。また、排卵後に形成された黄体がPGF_{2α}に対して反応性を有し始める時期であることから、Ovsynch開発の当初より初回GnRHとPGF_{2α}のインターバルが1週間というのは単に同じ曜日という実用的な理由からだけではなく、繁殖生理学的にも説明がつく間隔だったのである。ところが最近、肉用牛及び乳用牛において、この間隔を7日間から5日間へと短縮し、その代わりにPGF_{2α}から2回目のGnRH投与までの間隔を48～56時間から、72時間へと延長させるプロトコルを採用することで受胎率が向上したという報告 [10, 11] がある。このことから、主席性を有している時間を短縮することが受胎性向上につながるのではないかという議論が出てきているが、この点についてはさらなる追加試験を実施することにより明らかにしていく必要がある。

(2) PGF_{2α}投与から2回目のGnRH投与までの間隔：GnRHとPGF_{2α}の投与間隔が7日間という場合、泌乳牛へのOvsynchにおいて、PGF_{2α}投与から2回目のGnRH投与までの間隔が0時間 (PGF_{2α}と同時の2回目のGnRH投与)、12、24及び36時間の群に分けて排卵卵胞直径、排卵同期化率、早期黄体退行率及び受胎率を比較してみたところ、排卵卵胞直径 (mm) は13.2, 13.9, 14.1, 14.6, 排卵同期化率 (%) は75, 77, 86, 88, 早期黄体退行率 (%)

は28.6, 15.4, 12.5, 11.8, そして受胎率 (%) は8.8, 13.2, 21.4, 28.0であった [12]。この結果から、PGF_{2α}投与と同時にGnRHを投与しても75%は排卵が同期化されるが、その場合には排卵時の卵胞直径が小さく、その後形成される黄体が早期に退行する割合が高く、そして受胎率が低いこと、またPGF_{2α}投与から2回目のGnRH投与までは36時間程度は間隔を空けた方がよいことが推察される。一方、高橋ら [13] は任意の発情周期にOvsynchを開始したホルスタイン種経産牛において、30時間間隔群と48時間間隔群との間で、2回目のGnRH投与時の末梢血中エストラジオール-17β (E₂) 濃度及びLH濃度、定時授精後の排卵同期化率、授精後48時間の胚生存率及び妊娠率を比較した。その結果、2回目のGnRH投与時のE₂濃度は両群に差はなく (30時間群5.4 ± 3.2 vs 48時間群5.4 ± 2.7 ng/ml)、排卵同期化率 (84.6 vs 85.7%)、授精後48時間の胚生存率 (53.8 vs 61.5%)、受胎率 (46.2 vs 53.8%) についても差を認めなかった。ただ、血中LH濃度は48時間群の方が30時間群と比較して有意に高値を示したことから、PGF_{2α}投与からGnRH投与までの間隔を48時間から大幅に延長させると、自然のLHサージが先に起こる可能性が高くなると考えられる。排卵時間をコントロールするためにはLHサージの時間をコントロールする必要があり、そのためには自然のLHサージが起こる前に2回目のGnRH投与を行わなければならない。したがって、PGF_{2α}-GnRH間隔は36～48時間が理想的だと考えることができる。しかしながら、前処置等により卵胞ウェーブをコントロールした上でOvsynchを開始するような場合には、48～56時間の間隔を空けるのが一般的になっている。

(3) 2回目のGnRH投与から定時人工授精までの間隔：前述のように、LHサージが排卵時刻を決定することから、2回目のGnRH投与時刻が決まれば授精時刻も自ずと決まる。GnRH投与後27時間 (投与2時間でLHピーク、その25時間後) で排卵することから、その8～12時間前、すなわちGnRH投与後15～19時間でのAIが理想的だとされる。とはいえ、状況によっては授精のタイミングを柔軟に考えてもよい。Pursleyら [14] は2回目のGnRH投与から人工授精までの時間を0, 8, 16, 24, 32時間とした時の成績を比較したところ、受胎率 (%) は37, 41, 45, 41, 32と、16時間後のAIが最高の受胎率であったものの、胚死減率が9, 21, 21, 21, 32だったために分娩率としては31, 31, 33, 29, 20であり、GnRH投与からAIまでの間隔による分娩率の差がなかったとしている。北米や南米の

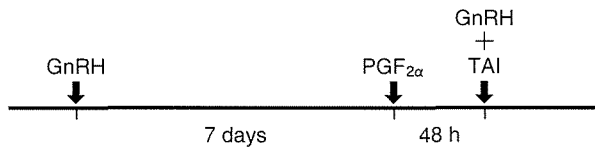
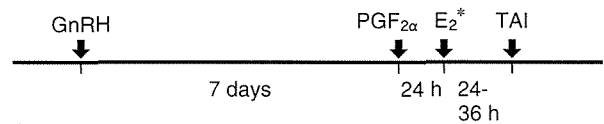


図4 Co-synch プロトコール



*安息香酸エストラジオール 1 mg

図5 Heatsynch プロトコール

肉用牛など、特に多頭数の放牧牛を捕まえて処置をする場合においては1回でも牛を捕まえる回数が少ない方が労力の省力化の程度が大きいことから、2回目のGnRH投与と同時のAI処置（いわゆる“Co-synch”）が実用的な方法として普及している（図4）。

排卵同期化プログラムに関する疑問

—最適な薬剤とは？

GnRH, E₂, hCG, どれがよいのか？

1回目の投与薬剤として：卵胞ウェーブの同期化の目的にはGnRHあるいはE₂が用いられる。しかし期待する作用は異なる。GnRHは新たな卵胞ウェーブを起こさせると同時に誘起黄体を形成させることでPGF_{2α}投与時における黄体の存在を確実にする。一方、E₂は高P₄環境下で卵胞を閉鎖退行させ、数日後に新たなウェーブを起こさせる。機能性黄体の存在が不確かな状況でのE₂の使用はその効果が限定的であることから、主として後述する腔内留置型P₄製剤とともに使用することが一般的である。なお、北米と欧州では、E₂製剤の牛での使用は禁止されている。

定時AI前の投与薬剤として：排卵誘起作用を有するGnRHの使用が最も一般的である。発情徴候を発現せずとも定時に授精すれば、従来の人工授精（AM-PM法）による受胎成績と遜色ない結果が得られる点はすでに証明されているところである。しかし、発情徴候を見せない牛に対して発情鑑定することなく授精を実施することは、特に授精業務だけを依頼された人工授精師にとっては抵抗のあることであった。そのため、国内ではOvsynchの導入当初、獣医師が薬剤投与して排卵同期化をセットアップしたにもかかわらず、授精されずに終わるケースが相当数発生した。このような状況の中、2回目のGnRHをE₂と置き換えるHeatsynchが提唱された（図5）。投与タイミングはPGF_{2α}投与後24時間で、E₂として市販されている安息香酸エストラジオール（EB）1 mgを筋肉内投与する。EB投与後11時間で血中E₂濃度がピークになること、及びEB投与後平均21.5時間でLHサージが起きることが知られている [15] ことから、Heatsynch プロトコールにおいてはEB投与後24～36時間でのTAIが一般的である。ちなみに、北米で使用論文が多いECP（Estradiol cypionate：シピオネート酸エストラジオール）の場合は、同用量のEBと

比較して血中E₂ピーク値が低く、血中からの消失速度が緩やかである [16] こともあり、ECP投与からTAIまでは少なくとも48時間の間隔を取るのが一般的である。CIDR-synchではCIDR抜去時にPGF_{2α}投与と同時にECP 1 mgを投与して、その66～72時間後にTAIというプロトコールもある。いずれにせよ、Heatsynchのメリットは、E₂投与後に発情徴候を示す個体の割合が多いという点である。Kasimanickamら [17] は、泌乳牛の分娩後初回授精牛535頭とリピートブリーダー186頭におけるOvsynch及びHeatsynch処置後、TAI実施前の発情発見率を比較したところ、Ovsynch処置群では初回授精牛及びリピートブリーダーでそれぞれ11.7%及び17.7%だったのに対して、Heatsynch処置群ではそれぞれ59.7%及び58.1%と、明瞭な差が認められた。ただし、受胎率に関してはOvsynch処置群では初回授精牛及びリピートブリーダーでそれぞれ24.7%及び21.0%、Heatsynch処置群ではそれぞれ27.8%及び28.2%と有意差は認められなかった。

排卵同期化・定時授精に関して発情徴候を示すことなく授精しても問題ないという点に関しては、人工授精師講習会や生産者、授精師、獣医師とのコミュニケーション、そして実際の受胎成績が出るにつれて授精師の間においてもOvsynchに対する理解が得られるようになったが、Heatsynchも現場で広く普及しているプロトコールである。

排卵同期化処置におけるhCGの効果：LHのβサブユニットと80%のホモロジーを有するhCGは、強力なLH様作用を有していて、GnRH製剤登場のはるか以前（1930年代）から臨床応用されている。産業動物の臨床現場においても排卵誘起薬剤として、また妊娠初期における胚死減予防薬として広く用いられている。しかしながら、OvsynchのオリジナルのプロトコールがGnRHを用いていることやアンチホルモン産生の可能性に対する懸念 [18] から、排卵同期化処置におけるhCG製剤の使用は一般的ではないのが現状である。では果たしてGnRHをhCGに置換した際の有効性はどのようなのか？ 弊害の有無はどのようなのか？

hCGが黄体のLHレセプターに及ぼす効果は投与後約30時間持続する [19]。一方、GnRH類似体である酢酸フェルティレリンや酢酸ブセレリン投与後の血中LH濃度は2～2.5時間でピーク値を示し、5～6時間後までに基底値に戻る [20, 21]。

正常な発情周期を営む肉用牛及び乳牛に対して実施した排卵同期化処置・定時授精において、2回目のGnRHの代わりにhCGを投与したところ、妊娠率に差は認められていない [22, 23]. しかしながら、暑熱環境下では、TAI後3日、6日、9日後の血中 P_4 濃度がGnRH投与群よりもhCG投与群の方が高く、妊娠率も高かったという報告 [24] もある. 暑熱環境が数日から数週間以上持続すると、黄体細胞、特に卵胞膜黄体細胞由来の P_4 産生能が低下するとともに、血漿中 P_4 濃度も減少する [25-30]. その原因としては、高温による黄体形成不全、 P_4 合成能の低下、排卵卵胞への障害などが考えられる.

hCGの頻回投与については慎重になる必要がある. 馬においては21日間隔で2回投与してもその排卵誘起効果に差はないとする意見があるものの、猫においては少なくとも4カ月間の間隔を空けることが望ましいとする報告 [31] がある. 牛におけるhCGの投与頻度と抗体産生及び反応性の変化との関係については十分に明らかにされていない部分もあるが、同一の排卵同期化処置プロトコル内でhCGを2回投与することは避けた方が賢明かもしれない.

排卵同期化プログラムに関する疑問

—前処置の効果は？

腔内留置型 P_4 製剤併用の効果は？

発情周期に関係なくOvsynchを開始した場合、2回目のGnRH投与前に発情が発現する個体の割合を明らかにするために、1回目のGnRH投与から9日間、1日2回の発情観察を行ったところ、345頭中68頭 (19.7%) が2回目のGnRH投与までに発情を示し、そのうちの17頭 (345頭中の4.9%) がPGF_{2α}投与までに発情を示したと報告されている [32]. 2回目のGnRH投与直前に発情を発現した場合にはタイミングとして問題ないだろうが、発情発現することなく排卵に至る個体も存在することを考慮すると、全体ではやはり15%前後の個体が定時AIでは遅すぎる授精となっていると推察される. したがって、定時AI前の排卵を防ぐための方策が必要である. その方策としては主として二つ考えられる. 一つはOvsynch開始に先立つ前処置、もう一つはOvsynch開始時における腔内 P_4 製剤の併用である.

前処置：薬剤の1回用量のコストが低い米国ではOvsynch開始前の前処置が普及している. 最も早くから採用されていた前処置プロトコルはPresynch12と呼ばれているもので、PGF_{2α}投与後14日で再度PGF_{2α}を投与、その12日後からOvsynchを開始するというものである (図6). 14日間隔で2度PGF_{2α}を投与すると、ほとんどの個体は2回目のPGF_{2α}投与後2~7日に発情が発現 (発情徴候が弱くても3~8日後に排卵) するので、2回目のPGF_{2α}投与後12日でOvsynchを開始する

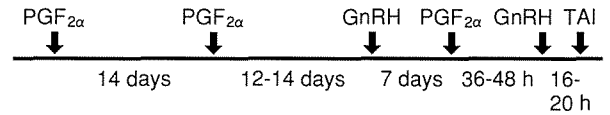


図6 Presynchプロトコル

ということは、ほとんどの個体が発情後5~10日に初回のGnRHを投与されることを意味する. Ovsynchによる受胎率を発情周期別に比較したところ、排卵後5~9日でのOvsynch開始が最も受胎率が高かったと報告されている [33] ことも、Presynch12の有効性が支持されている理由の一つである. なお、このプロトコルの変法として、2回目のPGF_{2α}投与後14日でOvsynchを開始するPresynch14も知られていて、投与する曜日が揃うことから実用的である.

その他の前処置プロトコルとして、G6GやDouble-Ovsynchがある. G6GはOvsynch開始の8日前にPGF_{2α}を投与、その2日後 (Ovsynchにおける初回のGnRH投与の6日前) にGnRHを前投与することで、Ovsynchにおける初回のGnRH投与による排卵誘起率を高めて受胎率を向上させようとするものである. Belloら [34] は、G6Gは従来のOvsynchと比較して、初回GnRHによる排卵率が54%から85%へ、PGF_{2α}投与後の反応率が69%から96%へ、2回目のGnRHによる排卵率が69%から92%へと、それぞれ有意に増加、妊娠率 (27%から50%) も増加する傾向 ($P < 0.08$) を示し、これらの数値はG4G (Ovsynch開始6日前のPGF_{2α}投与と同4日前のGnRH投与)、G5G (Ovsynch開始7日前のPGF_{2α}投与と同5日前のGnRH投与) と比較してもG6Gが最も高かったと報告している. Double-Ovsynchはその名のとおりに、Ovsynchの前処置としてOvsynchを行うプロトコルである. 前処置としてのOvsynchはGnRH投与の7日後にPGF_{2α}投与、その3日後にGnRHを投与し、7日後に2回目のOvsynchを開始するというものである. 2回目のOvsynch、すなわち定時授精を伴うOvsynchではGnRH投与、7日後にPGF_{2α}投与、その56時間後にGnRH、その16~20時間後にAIする. 前処置のOvsynchにより大半の個体が、前処置開始後11~12日に排卵することから、2回目のOvsynch開始時は排卵後5~6日にあたることになる. Double-Ovsynch群とPresynch12群との間で、Ovsynch中のPGF_{2α}投与時における高 P_4 濃度 (3 ng/ml以上) を示した個体の割合を比較したところ、Double-Ovsynch群の方が高く (78% vs 52%), 妊娠率も有意に高かった (50% vs 42%) [35].

腔内 P_4 製剤の併用：Ovsynch処置において、定時授精前の排卵を防ぐもう一つの有効な方法として、主席卵胞を高 P_4 環境下に置くことがあげられる. すなわち、

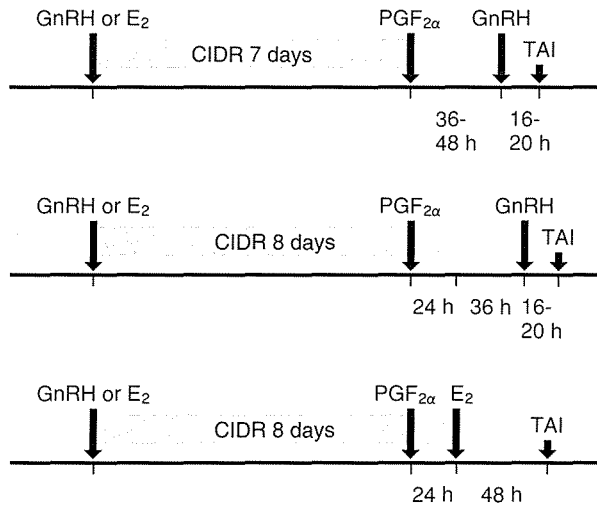


図7 CIDR-synch プロトコルの例
CIDR：含有プロゲステロン 1.9 g

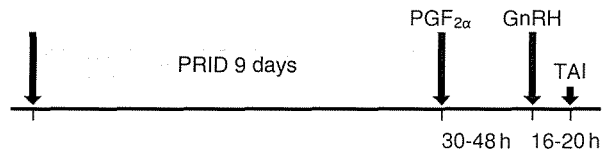


図8 PRID-synch プロトコルの例
PRID：含有プロゲステロン 1.55 g
+安息香酸エストラジオール 10 mg

OvsynchにおけるPGF_{2α}投与前に、個体が有する黄体が退行するタイミングであったとしても外因的にP₄を投与しておけば発情及び排卵を遅延させることが可能である。とはいえP₄の筋肉内投与では、一度上昇した血中の高P₄濃度を望むタイミングで低下させるようにコントロールすることが困難である。腔内留置型P₄製剤は、挿入と抜去によって生体のP₄レベルの増減を自由にコントロールすることが可能という点で優れていて、高P₄環境によって抑制されていたGnRHニューロンが、P₄製剤抜去後にその抑制が解除されることでLH分泌が亢進し、排卵への過程をとる。この作用を排卵同期化処置に応用したのが、Ovsynchにおける初回のGnRH投与時に腔内P₄製剤を挿入するプロトコルである(図7, 8)。腔内P₄製剤としてCIDRを用いる場合、挿入期間は7日間が一般的である。また、CIDRを8日間挿入して抜去1日前にPGF_{2α}を投与、抜去36時間後に2回目のGnRHを投与、その18時間後にTAI、あるいは抜去時にE₂を投与してその48時間後にTAI、といったプロトコルがある。腔内P₄製剤としてPRIDを用いる場合は挿入期間を9日間とした方がよい。PRIDには10 mgの安息香酸エストラジオールカプセルが装着されていて、腔内にて短時間で融解、体内に吸収されるものの、挿入後の血中E₂濃度が高値を示す状態が、E₂を1 mg筋

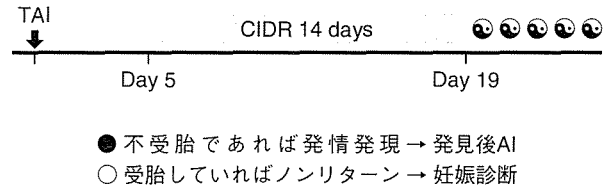


図9 授精後の腔内プロゲステロン製剤投与の例

肉内に投与した時と比較してやや長く持続することから、投与後の卵胞ウェーブの再開も2日程度遅れて起こる。したがって、主席卵胞のサイズが一定以上の大きさの時にTAIするためには抜去のタイミングを2日遅らせた方がよい。

排卵同期化プログラムに関する疑問

— AI 後の黄体機能強化の効果は？

排卵時の卵胞サイズが大きいほど、その後形成される黄体サイズも大きく、産生されるP₄量も多い[36, 37]。また、直径11 mm以下の卵胞にGnRHで排卵を誘起してTAIした場合、胚死減率が増加したとの報告[38]もある。さらに、AI後5日のhCG投与やAI後11日のGnRH投与、hCG投与は血中P₄濃度を上昇させることが知られている。これらのことから、TAI後に腔内P₄製剤を使用した場合の効果についても検証されてきた。TAI後に腔内P₄製剤を使用することのメリットは妊娠初期における黄体機能を強化することの他に、不受胎個体の発情発見率を高めることである。すなわち、TAI後5日から14日間腔内にP₄製剤を挿入してTAI後19日で抜去した場合(図9)の受胎率と、不受胎個体に対する発情発見率は、P₄製剤を使用しなかった場合と比較して向上することが報告されている。

妊娠診断で不受胎とされた個体に対するプロトコル

Resynch：では、排卵同期化処置により授精された個体が不受胎の場合には、どのように対応するべきであろうか。もちろん、発情回帰を見逃すことなく発情発見後にAIできれば問題ないのであるが、それが困難な状況の場合には再度の排卵同期化処置も考慮する必要がある。

空胎期間短縮のためには不受胎個体に対する再度の授精はできるだけ早く実施したい。そのためには早期妊娠診断を実施して不受胎個体を摘発することが重要である。定時授精後の不受胎個体に対する再度の排卵同期化処置をResynchと呼んでいて、超音波検査による早期妊娠診断を併用する(図10)。授精後26日以降から妊娠診断が可能であること、及び不受胎個体で発情周期の延長がなかった場合には授精後26日は前回の発情から5日後となることから、GnRHに対して反応性を有する主席卵胞が存在している可能性が高い時期でもある。授精

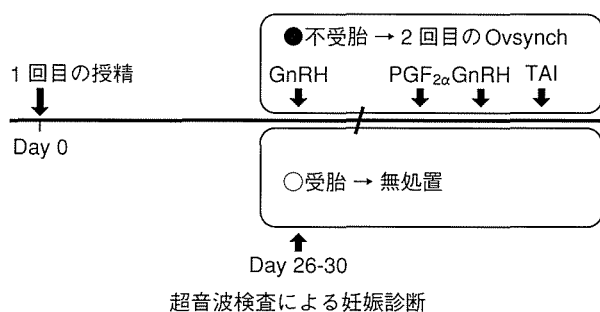


図10 Resynch プロトコルの例

後26日の妊娠診断で不受胎と診断された個体に対してただちにResynchを実施したところ、無処置の場合と比較して繁殖成績が有意に向上した [39]。ただ、授精後26日の妊娠診断には若干の熟練も必要であることから、妊否が不明な個体も含めて授精後26日にGnRH等を投与して7日後（授精後33日）に再度妊娠診断を行い、確実に不受胎であることを確認した後にPGF_{2α}投与へと進むこともできる。あるいは、授精後30～31日まで待ってから妊娠診断、そしてResynchという選択肢もある。排卵後5～9日でのOvsynch開始が理想的だと考えると、Resynch開始のタイミングは前回の授精後26～31日が最適であろう。

黒毛和種牛に対する排卵同期化処置・定時授精

黒毛和種牛における排卵同期化処置・定時授精プログラムの有効性も多数報告されている。長期空胎牛（平均空胎日数400日以上）を公共牧野に放牧した後にOvsynch-TAIを実施したところ、25～52%の受胎率を得ることができた [40]。しかしながら、授乳中の無発情牛に対して用いた場合、初回のGnRHの投与により排卵が誘起されたとしてもその後形成される黄体が十分に機能せず、排卵同期化率も低かった [41]。一方、CIDR-synchを黒毛和種授乳牛に応用したところ、Ovsynchでの受胎率と比較して有意に高い受胎率が得られた [42]。これは、前述したように、PGF_{2α}投与時までに黄体退行が起こる発情周期にある個体に対しても、外因性P₄の作用により排卵時期を遅らせて同期化率を高めていることが受胎率を向上させている理由の一つである。さらに、授乳中の無発情牛に対してもCIDR-synchの有用性 [43] が報告されている。無発情個体の初回排卵後に形成された黄体の寿命は正常な発情周期における黄体寿命と比較して短いことが知られている [44]。したがって、TAI後の排卵に先立って外因性P₄により高P₄環境を作出することで、TAI後に形成される黄体が十分な機能性を有することが期待できる。

ま と め

以上のまとめとして、排卵同期化処置・TAI実施のガイ

ドラインを記す。

- (1) OvsynchとHeatsynch：発情発現率はHeatsynchの方が高いが、受胎率に差はない。
- (2) 前回の排卵から4日以内：5日後からOvsynch
- (3) 前回の排卵から5～11日：Ovsynch
- (4) 前回の排卵から12日以降：CIDR-synchまたはPRID-synch
- (5) 卵巢静止牛：CIDR-synchまたはPRID-synch
- (6) 発情周期不明で機能性黄体あり：①CIDR-synchあるいはPRID-synch、②PresynchあるいはDouble-Ovsynch後のOvsynch、または③Ovsynch開始後に発情観察を併用し、発情発見後AI、発情徴候がなければTAI
- (7) TAI後の再AI：①TAI後5日から14日間、膈内P₄製剤を挿入してTAI後19日で抜去し、発情発見後に再AI。②TAI後26日から31日で妊娠診断、不受胎の場合にはResynch開始

直腸検査をすることなく、半ば“機械的に”対象牛全頭に対して薬剤投与する米国や南米諸国での繁殖管理と違い、薬剤のコストが高く、牛群規模が米国よりも小さく、そして1頭あたりの価値が高い日本では、1頭ごとに卵巢所見を見極めた上で排卵同期化処置を行う方がよいケースも少なくない。また、Ovsynchを開始した後も、PGF_{2α}投与時に黄体が存在していないのが明らかかな場合には、PGF_{2α}投与以降のプログラムを中止することも含め、発情時期、排卵時期を見極める対応をすべきである。さらに重要な事項として、対象牛及び対象牛群の健康状態や栄養状態を診断して、排卵同期化処置の実施以前に行うべき治療や改善すべき飼養管理等がないかどうかを確認した上で排卵同期化処置を開始することが、TAIによって十分な受胎成績を得る上で重要である。

獣医師には、実際の繁殖管理の現場において、どのプロトコルをいつ、どのような状況下で用いるべきかという判断を科学的根拠をもとに下す能力、及び生産者や地域の状況に応じて最適な方法を選択する能力が求められている。

引 用 文 献

- [1] Nellor JE, Cole HH : The hormonal control of estrus and ovulation in the beef heifer, J Anim Sci, 15, 650-651 (1956)
- [2] Roche JF, Mihn M, Diskin MG, Ireland JJ : A review of regulation of follicle growth in cattle, J Anim Sci, 76, 16-29 (1998)
- [3] Burke JM, de la Sota RL, Risco CA, Staples CR, Schmitt É JP, Thatcher WW : Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows, J Dairy Sci, 79, 1385-1393 (1996)
- [4] Rabiee AR, Lean IJ, Stevenson MA : Efficacy of

- Ovsynch program on reproductive performance in dairy cattle : a meta-analysis, *J Dairy Sci*, 88, 2754-2770 (2005)
- [5] Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC : Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH, *Theriogenology*, 44, 915-923 (1995)
- [6] Yamada K, Nakao T, Mihara N : Synchronization of ovulation and fixed-time insemination for improvement of conception rate in dairy herds with poor estrus detection efficiency, *J Reprod Dev*, 45, 51-55 (1999)
- [7] Wiltbank MC, Sartori R, Herlihy MM, Vasconcelos JLM, Nascimento AB, Souza AH, Ayres H, Cunha AP, Keskin A, Guenther JN, Gumen A : Managing the dominant follicle in lactating dairy cows, *Theriogenology*, 76, 1568-1582 (2011)
- [8] Burke CR, Day ML, Bunt CR, Macmillan KL : Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle, *J Anim Sci*, 78, 145-151 (2000)
- [9] Stevenson JS, Tiffany SM, Lucy MC : Use of estradiol cypionate as a substitute for GnRH in protocols for synchronizing ovulation in dairy cattle, *J Dairy Sci*, 87, 3298-3305 (2004)
- [10] Bridges GA, Helser LA, Grum DE, Mussard ML, Gasser CL, Day ML : Decreasing the interval between GnRH and PGF_{2α} from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows, *Theriogenology*, 69, 843-851 (2008)
- [11] Santos JE, Narciso CD, Rivera F, Thatcher WW, Chebel RC : Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows, *J Dairy Sci*, 93, 2976-2988 (2010)
- [12] Peters MW, Pursley JR : Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows, *Theriogenology*, 60, 1197-1204 (2003)
- [13] 高橋 純, 大澤健司, 洲鎌圭子, 中坪競願, 松原和衛, 三宅陽一 : 乳牛のオプシク処置におけるPGF_{2α}から2回目GnRH投与までの間隔が定時授精後の排卵同期化率, 授精後早期の胚生存率および妊娠率に与える影響, *日本家畜臨床学会誌*, 32, 1-7 (2009)
- [14] Pursley JR, Silcox RW, Wiltbank MC : Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows, *J Dairy Sci*, 81, 2139-2144 (1998)
- [15] Lammoglia MA, Short RE, Bellows SE, Bellows RA, MacNeil MD, Hafs HD : Induced and synchronized estrus in cattle : dose titration of estradiol benzoate in periparturient heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F_{2α}, *J Anim Sci*, 76, 1662-1670 (1998)
- [16] Vynckier L, Debackere M, De Kruif A, Coryn M : Plasma estradiol-17β concentrations in the cow during induced estrus and after injection of estradiol-17β benzoate and estradiol-17β cypionate - a preliminary study, *J Vet Pharmacol Ther*, 13, 36-42 (1990)
- [17] Kasimanickam R, Cornwell JM, Nebel RL : Fertility following fixed-time AI or insemination at observed estrus in Ovsynch and Heatsynch programs in lactating dairy cows, *Theriogenology*, 63, 2550-2559 (2005)
- [18] Sundby A, Torjesen PA : Plasma levels of testosterone in bulls. Response to repeated hCG injections, *Acta Endocrinol*, 88, 787-792 (1978)
- [19] Schmitt EJ, Barros CM, Fields PA, Fields MJ, Diaz T, Kluge JM, Thatcher WW : A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day 5 of the estrous cycle, *J Anim Sci*, 74, 1915-1929 (1996)
- [20] Chenault JR, Kratzer DD, Rzepkowsky RA, Goodwin MC : LH and FSH response of Holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin, *Theriogenology*, 34, 81-98 (1990)
- [21] Osawa T, Nakao T, Nakada K, Moriyoshi M, Kawata K : Pituitary response to exogenous GnRH on day 7 postpartum in high-producing dairy cows, *Reprod Dom Anim*, 31, 343-347 (1997)
- [22] Geary TW, Salverson RR, Whittier JC : Synchronization of ovulation using GnRH or hCG with the CO-synch protocol in suckled beef cows, *J Anim Sci*, 79, 2536-2541 (2001)
- [23] De Rensis F, Marconi P, Capelli T, Gatti F, Facciolo F, Franzini S, Scaramuzzi RJ : Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG, *Theriogenology*, 58, 1675-1687 (2002)
- [24] De Rensis F, Valentini R, Gorrieri F, Bottarelli E, Lopez-Gatius F : Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season, *Theriogenology*, 69, 1077-1082 (2008)
- [25] Rosenberg M, Folman Y, Herz Z, Flamenbaum I, Berman A, Kaim M : Effect of climatic conditions on peripheral concentrations of LH, progesterone and estradiol-17β in high milk-yielding cows, *J Reprod Fertil*, 66, 139-146 (1982)
- [26] Wise ME, Rodriguez RE, Armstrong DV, Huber JT, Wiersma F, Hunter R : Fertility and hormonal responses to temporary relief of heat-stress in lactating dairy cows, *Theriogenology*, 29, 1027-1035 (1988)
- [27] Younas M, Fuquay JW, Smith AE, Moore AB : Estrous and endocrine responses of lactating Holsteins to forced ventilation during summer, *J Dairy Sci*, 76, 430-436 (1993)
- [28] Howell JL, Fuquay JW, Smith AE : Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer, *J Dairy Sci*, 77, 735-739 (1994)
- [29] Jonsson NN, McGowan MR, McGuigan K, Davison TM, Hussain AM, Kafi M, Matschoss A : Relationships among calving season, heat load, energy bal-

- ance and postpartum ovulation of dairy cows in a subtropical environment, *Anim Reprod Sci*, 47, 315-326 (1997)
- [30] Wolfenson D, Sonogo H, Bloch A, Shaham-Albalancy A, Kaim M, Folman Y, Meidan R : Seasonal differences in progesterone production by luteinized bovine thecal and granulosa cells, *Domest Anim Endocrinol*, 22, 81-90 (2002)
- [31] Swanson WF, Roth TL, Graham K, Horohov DW, Godke RA : Kinetics of the humoral immune response to multiple treatments with exogenous gonadotropins and relation to ovarian responsiveness in domestic cats, *Am J Vet Res*, 57, 302-307 (1996)
- [32] DeJarnette JM, Salverson RR, Marshall CE : Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronization using GnRH and PGF_{2α}, *Anim Reprod Sci*, 67, 27-35 (2001)
- [33] Keith BR, Leslie KE, Johnson WH, Walton JS : Effect of Presynchronization using prostaglandin F_{2α} and a milk-ejection test on pregnancy rate after the timed artificial insemination protocol, *Ovsynch*, *Theriogenology*, 63, 722-738 (2005)
- [34] Bello NM, Steibel JP, Pursley JR : Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows, *J Dairy Sci*, 89, 3413-3424 (2006)
- [35] Souza AH, Ayres H, Ferreira RM, Wiltbank MC : A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows, *Theriogenology*, 70, 208-215 (2008)
- [36] Vasconcelos JL, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC : Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate, *Theriogenology*, 56, 307-314 (2001)
- [37] Sartori R, Fricke PM, Ferreira JC, Ginther OJ, Wiltbank MC : Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles, *Biol Reprod*, 65, 1403-1409 (2001)
- [38] Perry GA, Smith MF, Lucy MC, Green JA, Parks TE, MacNeil MD, Roberts AJ, Geary TW : Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success, *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 102, 5268-5273 (2005)
- [39] Osawa T, Honjou S, Nitta H, Uchiza M, Tameoka N, Moro Y, Izaike Y : Effect of synchronisation of ovulation on ovarian profile and days open in holstein cows diagnosed as nonpregnant 26 days after timed artificial insemination, *J Reprod Dev*, 55, 163-169 (2009)
- [40] Osawa T, Morishige D, Ohta D, Kimura Y, Miyake YI : Application of timed artificial insemination protocols to grazing Japanese Black cattle with long open period, *J Vet Med Sci*, 65, 459-464 (2003)
- [41] Osawa T, Morishige D, Ohta D, Kimura Y, Hirata TI, Miyake YI : Comparison of the effectiveness of ovulation synchronization protocol in anestrous and cycling beef cows, *J Reprod Dev*, 49, 513-521 (2003)
- [42] Kawate N, Itami T, Choushi T, Saitoh T, Wada T, Matsuoka K, Uenaka K, Tanaka N, Yamanaka A, Sakase M, Tamada H, Inaba T, Sawada T : Improved conception in timed-artificial insemination using a progesterone-releasing intravaginal device and Ovsynch protocol in postpartum suckled Japanese Black beef cows, *Theriogenology*, 61, 399-406 (2004)
- [43] Sakase M, Kawate N, Nakagawa C, Fukushima M, Noda M, Takeda K, Ueno S, Inaba T, Kida K, Tamada H, Sawada T : Inhibitory effects of CIDR-based ovulation-synchronization protocols on uterine PGF_{2α} secretion at the following luteal phase in early postpartum non-cycling beef cows, *J Reprod Dev*, 52, 497-502 (2006)
- [44] Garverick HA, Parfet JR, Lee CN, Copelin JP, Youngquist RS, Smith MF : Relationship of pre- and post-ovulatory gonadotropin concentrations to subnormal luteal function in postpartum beef cattle, *J Anim Sci*, 66, 104-111 (1988)