

21. ウシ膣内留置型ホルモン製剤（PRID）を活用した 過剰排卵処理

農林水産研究指導センター畜産研究部 肉用牛・酪農チーム
○倉原貴美 安達聡 渡邊竜二 工藤一美 藤田達男

【目的】

ウシ受精卵移植は家畜改良増殖を加速する手法、並びに所得向上に資する手法として有効であることから、近年、その実施頭数は増加傾向にある。受精卵移植には、高品質卵を多数確保するための過剰排卵処理（SOV）技術が必要とされているが、その手法は、それぞれの技術者に委ねられているのが現状である。当県における SOV は、豚の下垂体から抽出した卵胞刺激ホルモン（FSH）を数日間にわたり多回投与する一般的な手法により実施しており、牛へのストレスや作業への業務負担が大きい。そこで、牛や作業への負担を軽減させるための SOV として、従来から¹⁾活用してきた CIDR（膣内挿入型黄体ホルモン製剤）の薬効に安息香酸エストラジオールが付与された PRID（膣内挿入型プロジェステロン・安息香酸エストラジオール配合剤）²⁾に着目した過剰排卵処理方法に取り組んだ。

【材料及び方法】

1 供試牛

当研究部にて飼養する、4.3～14.5歳（平均9.4歳）の黒毛和種雌牛17頭を用いた。供試牛は過去の採卵成績から推定し、概ね均等になるよう各試験区に配置した。

2 実施期間

2009年8月から2010年12月

3 試験区

（1）試験1 FSH3日間漸減投与におけるPG投与時期の検討

供試牛延べ16頭（うち7頭は60日以上 of 休息期間を設けて反復使用）を用いて、図1に示した過剰排卵プログラムを施した。発情前後2日以内を避けて、供試牛の膣内にPRID（TEIZO：（株）あすか製薬）を挿入し（挿入日を0日とする）、4～6日目にFSH（アントリンR：（株）川崎三鷹製薬）20AUを3日間（5・5AU、3・3AU、2・2AU）漸減投与した。

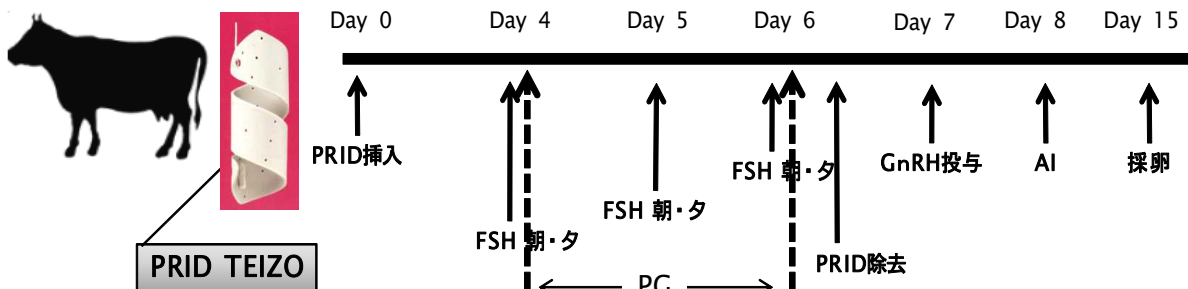


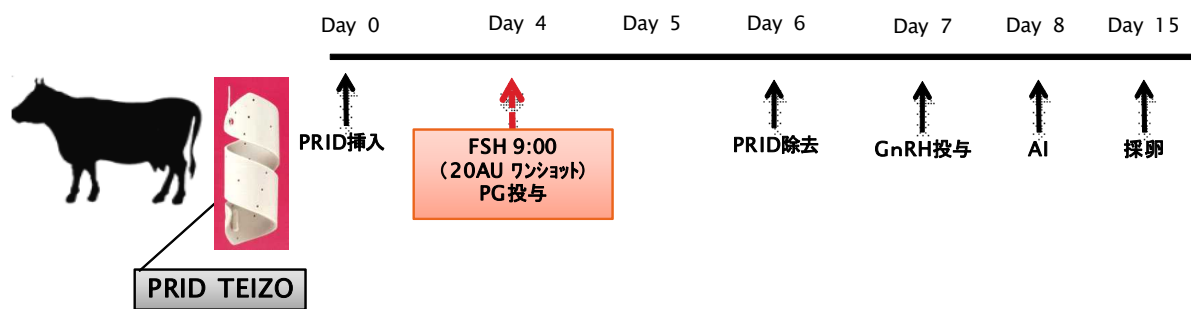
図1 過剰排卵プログラム

本試験では、6 日目 の PG 投与（対照区）と 4 日目の PG 投与（試験区）の採卵成績を比較検討した。

（2）試験 2 FSH 投与手法の違いが採卵成績に及ぼす影響の検討

供試牛延べ 22 頭（5 頭は 60 日以上 of 休息期間を設けて反復実施）に PRID を発情前後を避けて挿入し（挿入日を 0 日とする）、4 日目に FSH20AU を 25ml の生理食塩水に溶解した溶解液を頸部皮下に投与した（ワンショット法）（図 2）。これを試験 1 の FSH20AU3 日間漸減投与 4 日目 PG 投与（漸減投与法）（図 1）による採卵成績と比較検討した。

また、各試験とも PRID 挿入 7 日目の 16:00 に GnRH 製剤（酢酸フェルチレリン：（株）ナガセ医薬）を頸部筋肉内に投与を行い、8 日目の 16:00 に定時人工授精を実施した。



4 採卵および黄体数の確認

採卵は、1% 子牛血清および抗生物質（ペニシリン G カリウム 10 万単位・硫酸ストレプトマイシン 0.1g）を添加した乳酸化リンゲル液（1000ml）を還流液として、定法に従い、非外科的に行った。黄体の確認は、超音波診断装置（日立製 ECHOPAL II：型式 EUB-405B）を用いて採卵後に実施した。

【結果】

試験 1 の FSH3 日間漸減投与における PG 投与時期の検討結果を表 1 に示した。試験区に 7 頭、対照区に 9 頭を供試した結果、試験区の推定黄体数が 10.2 個、採卵数が 10.0 個、正常卵数が 6.9 個であったのに対し、対照区ではそれぞれ 8.4 個、6.6 個、4.4 個であり、未受精卵数を除いて有意な差は認められなかった。

表 1 PG 投与時期の違いが受精卵採取成績に及ぼす影響（推定黄体数と採卵成績）

試験区分	頭数	推定黄体数	採卵数	正常卵数	変性卵	未受精卵
試験区 (PG4 日目)	7	10.2 ± 1.8	10.0 ± 2.8	6.9 ± 2.1 (68.6%)	2.2 ± 0.6 (21.5%)	1.0 ± 0.5* (10%)
対照区 (PG6 日目)	9	8.4 ± 1.3	6.6 ± 1.5	4.4 ± 1.1 (67.8%)	1.9 ± 1.1 (28.9%)	0.3 ± 0.2* (3.4%)

*: P < 0.01

試験 1 で回収された受精卵のランク別割合を表 2 に示した。試験区では、A ランクが 28.6%、A' ランクが 28.6%、B ランクが 8.6%、C ランクが 2.9%であったのに対し、対照区ではそれぞれ 27.2%、30.6%、1.7%、8.5%で、B ランクで試験区が有意に多い結果となったものの、A' ランク以上と B ランク以下で区切って比較したときには両区に有意な差はなかった。

**表 2 PG 投与時期の違いが受精卵採取成績に及ぼす影響
(受精卵の品質成績)**

試験区分	正常卵数	正常胚の内訳			
		Aランク	A'ランク	Bランク	Cランク
試験区 (PG4日目)	6.9 ± 2.1 (68.6%)	2.9 ± 0.8 (28.6%)	2.9 ± 1.2 (28.6%)	0.9 ± 0.3* (8.6%)	0.3 ± 0.3 (2.9%)
対照区 (PG6日目)	4.4 ± 1.1 (67.8%)	1.8 ± 0.5 (27.2%)	2.0 ± 0.6 (30.6%)	0.2 ± 0.1* (1.7%)	0.6 ± 0.3 (8.5%)

*: P < 0.05

次に、試験 2 の FSH 投与手法の違いが採卵成績に及ぼす影響の検討結果を表 3 に示した。試験区に 10 頭、対照区に 12 頭を供試した結果、試験区の推定黄体数が 9.4 個、採卵数が 8.3 個、正常卵数が 5.5 個であったのに対し、対照区ではそれぞれ 12.0 個、11.1 個、6.3 個と有意な差は認められなかった。

**表 3 FSH 投与手法の違いが受精卵採取成績に及ぼす影響
(推定黄体数と採卵成績)**

試験区分	頭数	推定黄体数	採卵数	正常卵数	変性卵	未受精卵
試験区 (ワンショット)	10	9.4 ± 1.8	8.3 ± 2.4	5.5 ± 1.6 (66.3%)	2.0 ± 1.0 (24.1%)	0.8 ± 0.3* (9.7%)
対照区 (漸減投与)	12	12.0 ± 1.4	11.1 ± 2.4	6.3 ± 1.5 (56.4%)	2.7 ± 0.8 (24.1%)	2.2 ± 0.9* (19.6%)

*: P < 0.01

試験 2 で回収された受精卵のランク別割合を表 4 に示した。試験区では、A ランクが 27.8%、A' ランクが 33.8%、B ランクが 2.5%、C ランクが 2.5%であったのに対し、対照区ではそれぞれ 26.4%、24.1%、4.6%、1.6%と各ランク間に有意な差は認められなかった。

**表4 FSH投与手法の違いが受精卵採取成績に及ぼす影響
(受精卵の品質成績)**

試験区分	正常卵数	正常卵の内訳			
		Aランク	A'ランク	Bランク	Cランク
試験区 (ワンショット)	5.5 ± 1.6 (66.3%)	2.3 ± 0.9 (27.8%)	2.8 ± 1.0 (33.8%)	0.2 ± 0.2 (2.5%)	0.2 ± 0.2 (2.5%)
対照区 (漸減投与)	6.3 ± 1.5 (56.4%)	3.0 ± 0.8 (26.4%)	2.7 ± 0.8 (24.1%)	0.5 ± 0.3 (4.6%)	0.2 ± 0.2 (1.6%)

【考察】

FSH は血中での生物学的半減期が短いため、過剰排卵処理には頻回投与する必要があるとされ、1日2回、3～4日間減量しながら投与する手法が一般的に実施されている。この短所を補い、過剰排卵処理法の簡素化を図ることを目的に、FSH を PVP (ポリビニルピロリドン)³⁾ や水酸化アルミニウムゲルに溶解して投与する手法で試みられ、漸減投与法と同等の採卵成績を得られることが報告されているが、普及までには至っていない。

今回の試験では、過剰排卵処理過程における牛へのストレス低減を図ることで、高品質卵の増産を試みたがこれには至らなかった。しかし、PRID 装着後4日目の FSH20AU ワンショットと同時に PG 投与を組み合わせさせた SOV プログラムは、注射作業の煩雑さを解消し、同時に、従来法と遜色ない採卵成績が得られることが示唆された。

【参考文献】

- 1) 沼辺 孝ほか、腔内留置型黄体ホルモン製剤 (CIDR-B) を用いた黒毛和種における連続過剰排卵処置 (1997) J Reprod Develop, 43: j27-j32
- 2) 早坂駿哉ほか、PRID を用いたウシ過剰排卵処理における安息香酸エストラジオールの効果 (2009)、東日本家畜受精卵移植技術研究会大会要旨
- 3) 奥地弘明ら、ウシにおける過剰排卵処理の簡易化技術 黒毛和種における PVP 溶解 FSH 1 回投与法の検討 (2010) 畜産技術 8 月号 22-26.