

eCGを併用したFSH皮下1回投与による過剰排卵処理の検討

第3報 eCG投与量の検討

研究開発第二課 倉田佳洋 中井里香 松田浩典 西野治* 朝倉康夫**
*現 奈良県家畜保健衛生所 **現 奈良県食肉公社

要約

黒毛和種への卵胞刺激ホルモン（以下FSHとする）皮下1回投与による過剰排卵成績の向上を目的として、妊馬血清性腺刺激ホルモン（以下eCGとする）を併用する際の投与量を検討するためFSH頸部皮下1回投与の2日後の午前にeCG 800 IU（試験1区）、eCG 600 IU（試験2区）、eCG 400 IU（試験3区）をそれぞれ投与し、採胚成績および過剰排卵処理（以下SOVとする）開始から採胚時までの卵巣所見を各区で比較した。

採胚成績では採胚総数において試験1区が20.3個で、試験2区13個と試験3区11個に比べ多かったが、未受精卵数も多かった。正常胚数は試験1区の4.7個と試験2区が4.3個とほぼ同じ程度で、試験3区の2.7個に比べ多かった。卵巣所見では過剰排卵時の卵胞の発育は直径5mm以上の卵胞数のAI実施日において、試験1区が41.7個、試験2区が34.7個、試験3区が31個と試験1区が最も多かったが、いずれの試験区もAI後、5mm以上の卵胞数は一旦低下したがその後採胚日まで増加していた。また採胚時の黄体数は試験1区が20.3個、試験2区が11個、試験3区が9.3個であった。

これらの結果からFSH皮下1回投与による黒毛和種の過剰排卵処理におけるeCGの投与量は600 IUが適量と考えられた。

緒言

ウシの体内胚生産においてFSHの漸減投与法によるSOVは注射回数が多く牛へはストレスとなり人へは作業負担がかかり、これらの軽減が長年の課題になっていた。

近年、当県が参加する共同研究グループは生理食塩水を溶媒としたFSH皮下1回投与法が漸減投与法と同等の採卵成績を得られることを報告した¹⁾²⁾³⁾⁴⁾。また、シンディ種において、eCGを併用して漸減投与のSOVを行うと排卵数及び胚の品質が向上するとの報告があった⁵⁾。

そこでFSH皮下1回投与にeCGを併用することにより採胚成績が向上するかを検討した。前報ではPRID抜去の半日前であるPRID挿入後6日目の午前にeCGを投与した試験区が採胚成績、卵質成績、卵胞発育において午後にeCGを投与した試験区とeCG未投与の対照区よりも高い結果であったことから、今報ではeCG投与時期をPRID挿入後6日目の午前に設定し、eCGの投与量について検討を行った。

なお、本試験は11府県との共同研究として行っており、今報告は当県のデータのみでの報告である。

材料及び方法

1. 方法

発情および発情直後を避けて、プロジェステロンとエストロジェン徐放剤（PRID TEIZO：あすか製

薬株式会社)を挿入した(0日目とする)。4日目に生理食塩水(大塚生食注:大塚製薬株式会社)50mlを溶媒としたFSH(アントリンR10:共立製薬株式会社)20AUを皮下1回投与し、プロスタグランジンF2 α 製剤を同時投与した。前報よりeCG(動物用セロトロピン:あすか製薬株式会社)の投与時期を6日目の午前に設定し、投与量が800IUを試験1区、600IUを試験2区、前報と同様の400IUを試験3区とした。7日目午後GnRH10 μ g(動物用イトレリン注射液:あすか製薬株式会社)を筋肉内投与し、8日目午後定時AIを行い、15日目午前採胚した(図1)。

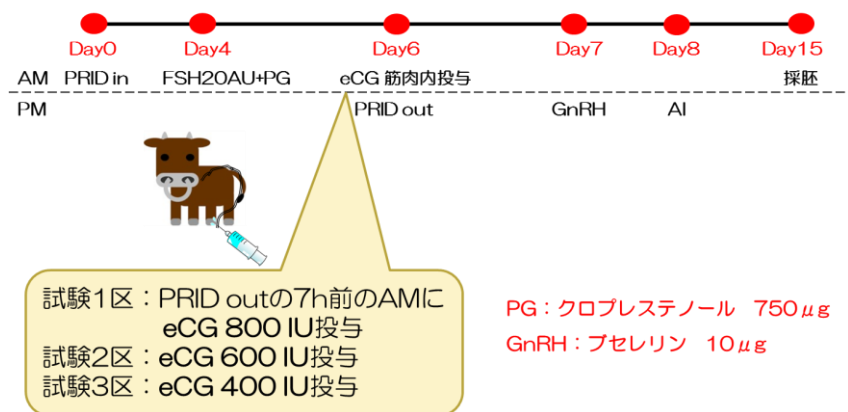


図1 採胚プログラム

2. 供試牛

当センターで繁養している黒毛和種経産牛3頭を各3回供試し、試験区を各区反転させるラテン方格法により配置し計9回採卵を行い、それぞれ採胚間隔は63日以上とした(表1)。

表1 供試牛

牛番号	B165	B142	B145
生年月日	H19.4.5	H16.8.22	H16.10.21
産歴	3	4	4
最終分娩日	H24.11.22	H24.11.16	H25.1.14
過去の平均正常胚数	10.3	12.6	13.1
試験1回目	試験1区	試験2区	試験3区
試験2回目	試験2区	試験3区	試験1区
試験3回目	試験3区	試験1区	試験2区

3. 調査項目

採卵成績においては採卵時に採卵総数、正常胚数、変性卵数、未受精卵数、採胚時黄体数、遺残卵胞数を記録し、実態顕微鏡による形態学的な卵質調査を行った。正常卵の品質および変性胚、未受精卵の判定は「胚の衛生的取扱いマニュアル」の「胚の品質コード」に準じて行った⁶⁾。

また卵巣所見においては、PRID挿入後4日目のSOV開始から15日目の採卵日まで24時間毎に超

音波画像診断装置（日立メディコ 本体；ECHOPAL II、プローブ；EUP-033(7.5MH)）により黄体数及び卵胞発育調査を行った。卵胞は直径により 5mm 以上と 5mm 未満と区分して記録した。なお、供試数が少ないため統計処理については行わなかった。

結 果

採胚成績では試験 1 区が正常胚数 4.7 個、正常胚率 54.4%、試験 2 区では正常胚数 4.3 個、正常胚率 53.8%となり、試験 1 区と試験 2 区とも試験 3 区の正常胚数、正常胚率よりも多い結果となった。また試験 1 区は黄体数 20.3 個、採胚総数 20.3 個と試験 2 区と試験 3 区よりも多かったが、未受精卵数も 11 個と他の試験区よりも多くなった（表 2）。

卵質成績においては A+A'ランクの受精胚が試験 1 区で 3.7 個、試験 2 区 4 個となり、試験 3 区の 2.7 個よりもわずかではあるが多い結果となった（表 3）。

また卵巣所見において、SOV 開始から AI 直前までの卵胞の発育では各区ともほぼ同様の推移を示した。AI 直前の 5mm 以上の卵胞数は試験 1 区で 41.7 個と、試験 2 区 34.7 個および試験 3 区の 31 個よりも多かった。いずれの試験区においても、5mm 以上の卵胞数は AI 後に一旦減少した後も採胚時まで再び増加した。（図 2）。

表 2 試験区別採胚成績（平均 n=3）

試験区	eCG 投与量	黄体数	遺残卵胞数	採胚総数	正常胚数	変性胚数	未受精卵数	正常胚率
試験 1 区	800 IU	20.3	22	20.3	4.7	4.7	11	54.4%
試験 2 区	600 IU	11	25.3	13	4.3	5.3	3.3	53.8%
試験 3 区	400 IU	9.3	23.7	11	2.7	1	7.3	44.4%

※正常胚率は各試験区の採卵毎の正常胚率の平均とする。

表 3 試験区別卵質成績（平均 n=3）

試験区	A	A'	A+A'	B	C
試験 1 区	1.3	2.3	3.7	0.7	0.3
試験 2 区	2.3	1.7	4	0.3	0
試験 3 区	0.7	2	2.7	0	0

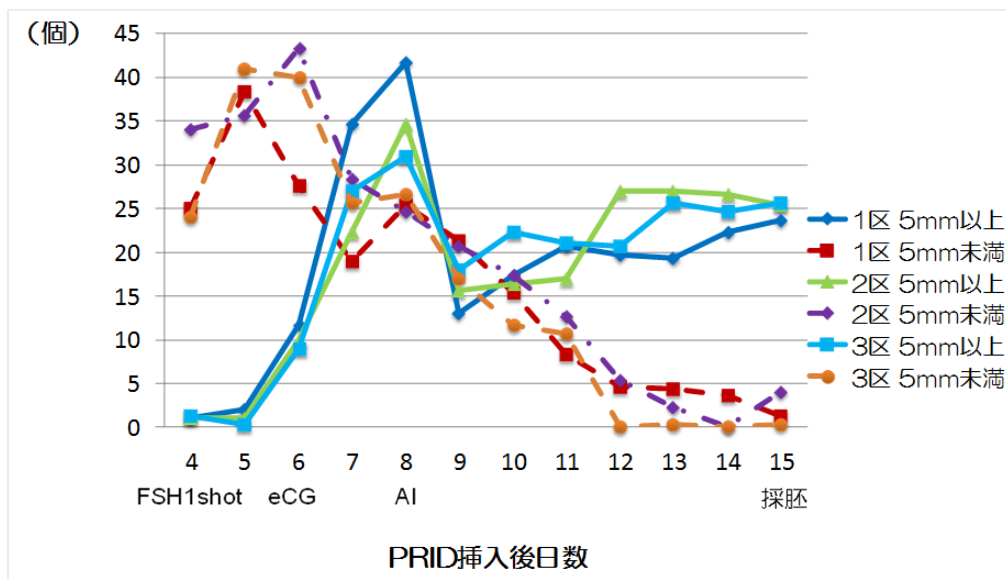


図2 卵胞発育の推移

考 察

本試験は、第1報および第2報で行ってきたeCGを併用したFSH皮下1回投与による過剰排卵処理試験の継続で、前報までの試験によりeCGをPRID抜去の半日前であるPRID挿入後6日目（FSH皮下1回投与の2日後）の午前中に1回投与と設定し、本試験でeCGの投与量を検討した。MattosらによるとeCGのLH様作用が最終的な卵胞および卵子の成熟を改善すると考えられているが⁵⁾、eCGはウマ以外の動物種ではFSH様作用が強くLH様作用が弱いため、投与量が多くなるとFSH様作用が強くなると考えられる。そのため本試験では求めている効果である卵胞および卵子の成熟がどのeCGの投与量まで濃度比例的に起こるかを検討した。

採胚成績より全試験区において正常胚数、正常胚率とも大きな差ではなかったが、試験1区と試験2区が試験3区よりも高い結果となった。しかし試験1区においては採卵総数が多かったが未受精卵数と変性胚数も多くなり、試験2区でも他の試験区よりも未受精卵数は少なかったが変性胚数は試験1区と同様に多くなった。

卵胞発育の推移では試験1区がAI直前において5mm以上の卵胞数が最も多く、試験2区と試験3区は同程度の数となっているため、eCGは投与量が多いほど卵胞の発育に有効と考えられたが、eCGのLH様作用だけでなくFSH様作用の効果も考えられた。またいずれの試験区でも5mm以上の卵胞数がAI後にいったん低下してから採胚日まで再び増加したことから、eCGの半減期が長いこと⁷⁾により、どの投与量でもLH様作用とFSH様作用がAI後も持続し卵胞の発育の継続が考えられた。試験1区の未受精卵数が多い結果となったことから、投与量が多いことにより排卵時期が長期化する可能性が考えられた。

これらの結果から、いずれの投与量においてもAI後の卵胞の発育は持続するが、未受精卵数は増加せずに正常胚数および正常胚率が増加する投与量である600IUが適当と考えられた。

第1報及び第2報と今回の結果よりFSH皮下1回投与による過剰排卵処理におけるeCG併用はPRID抜去の半日前に600IUを1回投与することで胚の品質を向上させることが示唆された。

参考文献

- 1) 西野 治ら：卵胞刺激ホルモン製剤1回投与による黒毛和種の過剰排卵処理の簡易化の検討 奈良県畜産技術センター研究報告 第40号 (2015)
- 2) 平泉真吾ら：生理食塩水を溶媒とした卵胞刺激ホルモン (FSH) 皮下1回投与法により牛の過剰排卵処理が可能である 第24回東日本家畜受精卵移植技術研究会大会講演要旨 52-53
- 3) 平泉真吾ら：Superovulatory response in Japanese Black cows receiving a single subcutaneous porcine FSH treatment or six intramuscular treatments over three days Theriogenology Vol.83 No.4 466-473(2015)
- 4) 及川俊徳ら：黒毛和種過剰排卵処理の簡易化に向けた共同試験の取り組み 日本胚移植学会雑誌 Vol.35 No.2 55-59(2013)
- 5) Mattos ら：Improvement of embryo production by the replacement of the last two doses of porcine follicle-stimulating hormone with equine chorionic gonadotropin in Sindhi donors Animal reproduction science Vol.125 No.1 119-123(2011)
- 6) 社団法人畜産技術協会：胚の衛生的取り扱いマニュアル第3版(2001)
- 7) 山内亮ら：牛に投与した PMS の血中 level について 日本獣医学雑誌 23 440(1961)