

受胎率向上のための前後処置法の検討

億 正樹 浦田博文 朝倉康夫[※] 石田充亮
大西桂史 清水 悟 青山 譲

※ 現：奈良県畜産課

要 約

移植前後に、hCG または Gn-RH を投与することにより、受胎率向上の効果があるかについて検討した。hCG 投与移植試験で受胎率は、無処置の 40% に対し、day6 投与では 60% と向上したが、day14 投与が 30% で差は認められなかった。P 濃度は、day 6 投与は、対照に比べ高値で推移したが、day14 投与では対照と同程度で推移した。Gn-RH 投与移植試験で受胎率は、無処置の 27.3% に対し、day6 投与では 54.5% と向上したが、day13 投与が 27.3% で差は認められなかった。P 濃度は、day6 投与は、対照に比べ高値で推移したが、day13 投与では翌日に低下していた。E2 濃度は、いずれの区でも、Gn-RH 投与翌日に低下していた。

緒 言

胚移植の実施頭数は年々伸び、その生産頭数も増加しているが、受胎率に関してはここ数年 45% 程度に停滞しており、より一層の受胎率向上が期待されている状況ある。

胚移植の受胎率は様々な要因が関係しているが、特に受胚牛については供胚牛（胚）との発情周期の一致、子宮疾患の無いこと、その栄養状態等が受胎に大きく影響している。さらに、受胎率を低下させる要因として、受胚牛の黄体機能不全による血中プロジェステロン（P）濃度の低下が特に重要であることが指摘されている。

そこで、移植前後に、胎盤性性腺刺激ホルモン製剤（hCG）、性腺刺激ホルモン放出ホルモン製剤（Gn-RH）をそれぞれ投与することにより、黄体機能を促進し、P の分泌機能を高めること、または、主席卵胞を退行させ、エストラジオール-17 β （E2）分泌を抑制することでの受胎率向上の効果があるかについて検討した。

なお、本試験は平成 13 年度～15 年度受精卵移植普及定着化事業共同試験において実施したものである。

試験 1：hCG 投与移植試験（H13 年度実施分）

目 的

受胚牛に移植前日（day6）または移植後（day14）の hCG 投与により、黄体機能の促進、或いは誘起黄体の形成によって、受胎率の向上が可能であるかを検討するため、血中 P 濃度の推移を無処置のものと比較し、その効果を検討する。

材料及び方法

1. 受胚牛

30頭の交雑種又はホルスタイン育成牛を、試験1区、試験2区及び対照区に各区10頭ずつ均等に配置し移植試験に供した。

2. 方 法

1) 移植胚：新鮮又は凍結の黒毛和種生体回収胚で、ランク及びステージは問わないが、各区均一になるよう移植に供した。

2) 移植方法：移植日は day7 または 8 とした。(日数は発情日を day0 とする)

3) hCG 製剤名及び投与量：動物専用プベローゲン(三共) 1,500 単位を、頸部筋肉内に投与した。

4) 投与時期：試験1区は移植前日の day6、試験2区は day14 にそれぞれ hCG を投与し、対照区は無処置とした。

5) 移植の基準：排卵側卵巣に黄体が形成された牛にはすべて移植を実施した。

3. 調査項目

1) 血中 P 濃度

試験1区は、day6(移植前日)・day7(移植直前)・day14・day21の計4回採血し、試験2区及び対照区については、day7・day14・day21の計3回採血した。採血はいずれも真空ヘパリン採血管を用い、採血後直ちにクラッシュアイスにて冷却後、0℃、3,000rpm、30minで遠心分離し、分離した血漿は-30度で凍結保存した。なおPの測定は(独)家畜改良センターで実施した。

2) 受胎率 妊娠診断は day35 の超音波観察で行った。

結 果

hCG 投与移植試験で受胎率は、無処置の 40% に対し、day6 投与では 60% と向上したが、day14 投与が 30% で差は認められなかった(表-1)。P 濃度は、対照の 7 日目 6.3ng/ml、14 日目 10.9ng/ml に対し、hCG day6 投与は 7 日目 10.1ng/ml、14 日目 18.5ng/ml で、無処置より高値で推移したが、day14 投与では 7 日目 5.3ng/ml、14 日目 9.8ng/ml と無処置と同程度の濃度で推移した(図-1)。以上の結果から移植前の day6 に hCG 1500IU 投与により受胎率が向上する傾向があった。

表-1 hCG 投与移植試験成績

試験区	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)
無処置	10	4	40.0
day6 投与	10	6	60.0
day14 投与	10	3	30.0

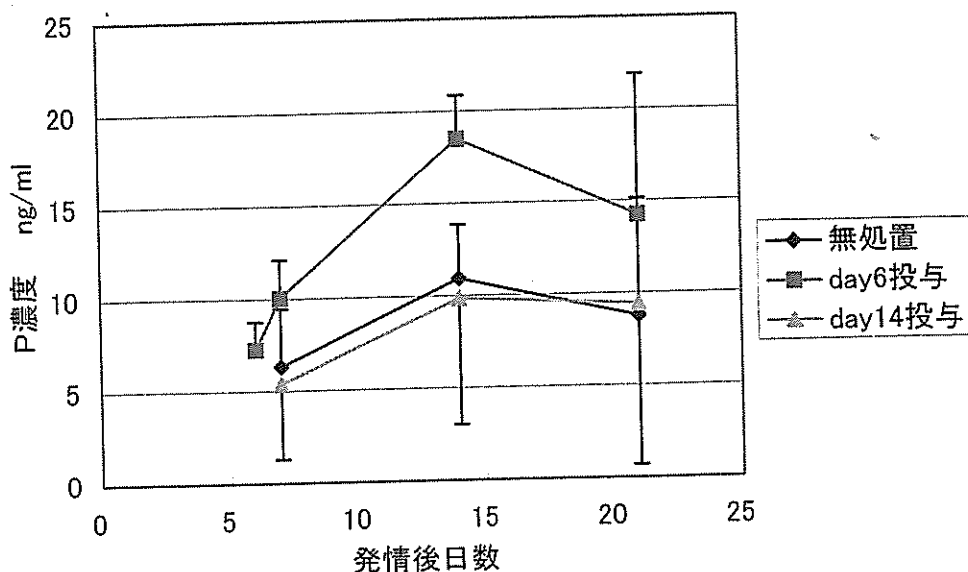


図-1 P濃度の推移

試験 2 : Gn-RH 投与試験 (H14 年度実施分)

目 的

主席卵胞を排卵させ、副黄体を形成させることにより、血中 E2 濃度を抑制し、P 濃度の上昇を目的として、移植前日 (day6) または移植後 (day13) に Gn-RH を投与し、受胎率の向上効果及び血中 P 濃度及び E2 濃度の推移を無処置のものと比較し、その効果を検討した。

材料及び方法

1. 受胚牛

33 頭の交雑種又はホルスタイン育成牛を、試験 1 区、試験 2 区及び対照区に各区 11 頭ずつ均等に配置し移植試験に供した。

2. 方 法

- 1) 移植胚：新鮮又は凍結の黒毛和種生体回収胚で、ランク及びステージは問わないが、各区均一になるよう移植に供した。
- 2) 移植方法：移植日は day7 または 8 とした。(日数は発情日を day0 とする)
- 3) Gn-RH 製剤名及び投与量：エストマール (三鷹製薬) 2.5ml (プセレリンとして 10 μ g) を頸部筋肉内に投与した。
- 4) 投与時期

試験 1 区は移植前日の day6、試験 2 区は day13 にそれぞれ Gn-RH を投与し、対照区は無処置とした。

- 5) 移植の基準：排卵側卵巣に黄体が形成された牛にはすべて移植を実施した。

3. 調査項目

1) 血中P及びE2濃度

いずれの区も、day6(移植前日)・day7(移植直前)・day13 day14・day21の計5回採血し試験1の方法に準じて血漿を分離保存した。なおPの測定は(独)東北農業研究センターにてE2の測定は岩手大学にて実施した。

2) 受胎率 妊娠診断はday35の超音波観察で行った。

結 果

Gn-RH投与移植試験で受胎率は、無処置の27.3%に対し、day6投与では54.5%と向上したが、day13投与が27.3%で差は認められなかった(表-2)。P濃度は、無処置の6日目2.7ng/ml、7日目3.1ng/ml、13日目5.4ng/ml、14日目6.1ng/ml、day6投与は、6日目3.2ng/ml、7日目3.6ng/ml、13日目7.0ng/ml、14日目8.1ng/mlで無処置に比べ高値で推移したが、day13投与では6日目3.0ng/ml、7日目2.9ng/ml、13日目5.5ng/ml、14日目4.8ng/mlと、投与翌日に低下していた(図-2)。E2濃度は、いずれの区でも、Gn-RH投与翌日に大きく低下していた(図-3)。

表-2 Gn-RH投与移植試験成績

試験区	移植頭数	受胎頭数	受胎率(%)
無処置	11	3	27.3
day6投与	11	6	54.5
day13投与	11	3	27.3

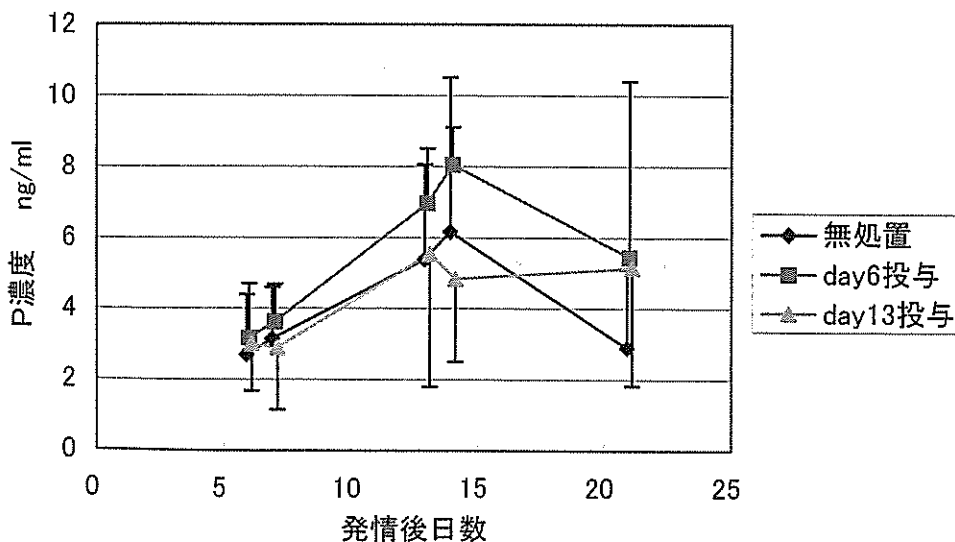


図-2 P濃度の推移

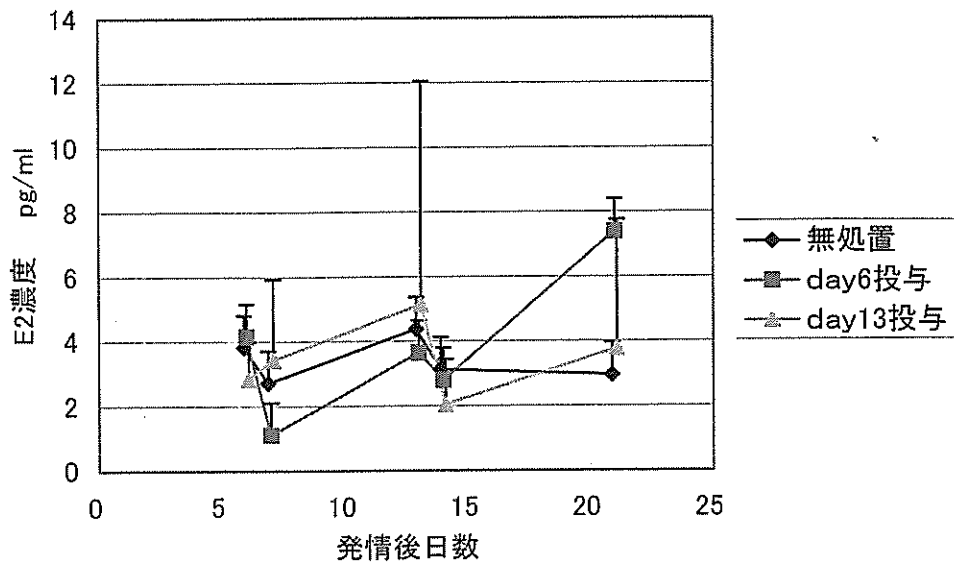


図-3 E2濃度の推移

試験3：hCG投与移植試験（H15年度実施分）

目的

試験1及び2の成績より、hCGの移植前（day6）の投与により受胎率の向上が認められた。本試験ではさらにhCGの投与日をday5とday7で比較検討した。

材料及び方法

1. 受胚牛

50頭の交雑種又はホルスタイン育成牛を、試験1区、試験2区及び対照区に各区均等に配置し移植試験に供した。

2. 方法

1) 移植胚：新鮮又は凍結の黒毛和種生体回収胚で、ランク及びステージは問わないが、各区均一になるよう移植に供した。

2) 移植方法：移植日はday7または8とした。（日数は発情日をday0とする）

3) hCG製剤名及び投与量：動物専用プベローゲン（三共）1,500単位を、頸部筋肉内に投与した。

4) 投与時期：試験1区は移植前日のday5、試験2区はday7にそれぞれhCGを投与し、対照区は無処置とした。

5) 移植の基準：排卵側卵巣に黄体が形成された牛にはすべて移植を実施した。

3. 調査項目

1) 血中P濃度

採血は各試験区2頭ずつ、day5・day6・day7・day8・day14・day21の計6回採血し、試験1の方法に準じて血漿を分離保存した。なおPの測定は東北農業研究センターに依

頼した。

2) 受胎率 妊娠診断は day35 の超音波観察で行った。

結 果

hCG 投与移植試験で受胎率は、無処置の 64.7%に対し、day5 投与では 62.5%と差は認められなかったが、移植日投与が 47.1%と低下した (表-3)。P 濃度は、対照の 7 日目 3.1ng/ml、14 日目 6.6ng/ml に対し、day5 投与では 7 日目 4.1ng/ml、14 日目 10.0ng/ml、day14 投与では 7 日目 4.1ng/ml、14 日目 9.2ng/ml と hCG 投与で、いずれの区でも無処置に比べ高値で推移した (図-4)。

表-3 hCG 投与移植試験成績

試験区	移植頭数	受胎頭数	受胎率 (%)
無処置	17	11	64.7
Day5 投与	16	10	62.5
移植日投与	17	8	47.1

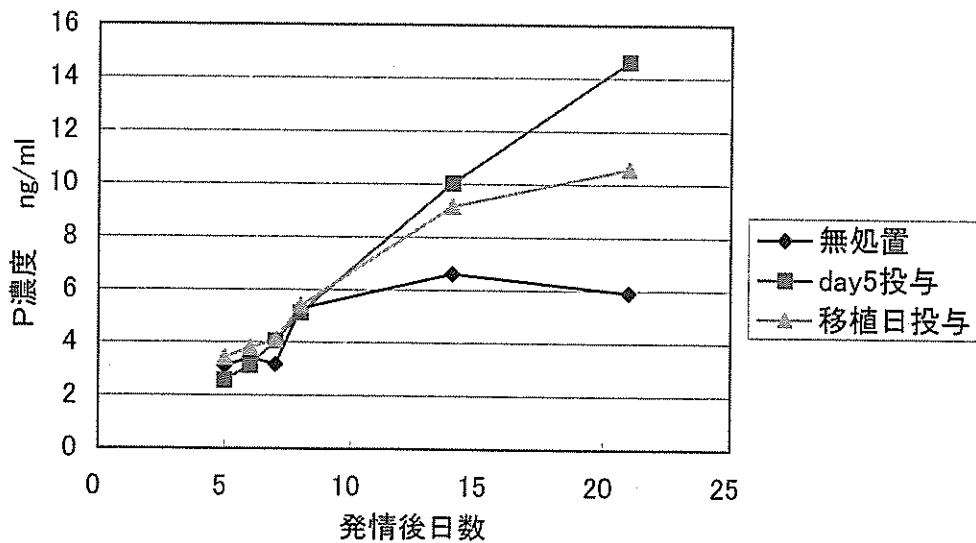


図-4 P濃度の推移

考 察

胚移植における hCG 又は Gn-RH による受胎率向上に関する研究は、種々の報告^{1) 2)}がなされている。今回われわれは H13 年度から H15 年度の 3 年間、受精卵移植普及定着化事業の国庫補助を受け、移植前後に、hCG、Gn-RH をそれぞれ投与することにより、黄体機能を促進し、P の分泌機能を高めること、または、主席卵胞を退行させ、E2 分泌を抑制することでの受胎率向上の効果があるかについて検討した。

hCG の移植前 (day6) 投与は、西貝¹⁾らの報告などにあるように、一定の効果が認めら

れた。しかし移植後投与 (day14) 投与では、P 値の低下を遅らせるのみで、著しい上昇及び受胎率の向上は認められなかった。

Gn-RH の移植前 (day6) 投与では僅かなP値の上昇とE2値の低下が認められ、受胎率が向上する傾向が認められた、しかし、移植後 (day13) 投与については、P 値及びE2 値の低下が認められ、受胎率も向上しなかった。Gn-RH 投与時のP 値レベル別にみると、投与時のP値が6ng/ml 未満のものでは問題

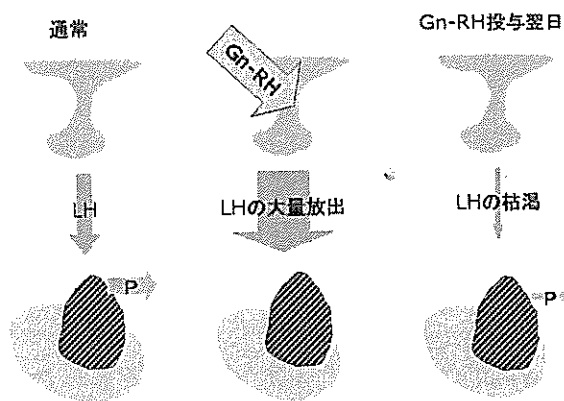


図-5 Gn-RH 投与が黄体に及ぼす影響

ないが、6ng/ml 以上の固体に投与すると翌日には低下する傾向があった。これは、Gn-RH の day13 投与により、下垂体からの LH の一過性の過剰な放出により、下垂体内の LH が一時的に枯渇状態になり、黄体機能が低下したことによるものであると考えられる(図-5)。6ng/ml は移植日前後の P 値であり、Gn-RH を投与する場合には day5 以前に投与するか、または投与量を減量した方が安全であると考えられる。

以上の結果から、hCG、Gn-RH、共に受胎率が向上する傾向が認められたが、hCG については移植試験、及びP 値の成績からも比較的明瞭な結果であった。一方、Gn-RH については、受胎率の向上傾向はあったものの、P 値の上昇は不明瞭で、しかも、その効果は受胎牛の投与時の状態に左右されるなど、普及する技術としては不適であると判断し、最終年度は hCG の投与時期について再検討した。移植成績では、移植日投与の受胎率が低下する傾向が認められたが、P 値の成績では day5 投与と、移植日投与に差は認められず、いずれも、無処置に比べ高値で推移した。以上の結果より移植前の day5~day7 に hCG を 1,500IU 投与することにより受胎率が向上する傾向があることが判った。

稿を終えるに当たり、ホルモン測定等ご指導いただいた、独) 家畜改良センター的場理子先生、独) 東北農業研究センター竹之内直樹先生に深謝する。

参考文献

- 1) 西貝正彦(2001)、The Journal of Reproduction and Development、47(5):283-294
- 2) J.E Ellington (1991)、Theriogenology、36(6) : 1035-1042