

牛の過剰排卵処理方法の簡易化

西 康裕・榊原秀夫・余谷行義

畜産部

要 旨

過剰排卵処理における省力化を図る目的で、卵胞刺激ホルモン及びプロスタグランジンF_{2α}の注射回数削減について和牛を使用して検討したところ、現行法の7回注射と比べ、3回注射でも平均回収胚数、平均正常胚数、平均Aランク胚数において同等の成績が得られ、処理方法の簡易化が図られた。

キーワード：過剰排卵処理、FSH-R、PGF_{2α}。

緒 言

牛の過剰排卵処理に主に用いられる卵胞刺激ホルモン（以下FSHと略）は血液中における半減期が短いため、1日2回、3～4日間連続して投与方法が一般的であり、採胚専用牛で何度も繰り返しホルモン処理をする場合、労力的に煩雑な上、牛へのストレスがかなり大きいものと推察される。そこで、FSH製剤を用いた過剰排卵処理の簡易化について検討した。

材料及び方法

1992年4月～1995年3月の3年間、当部繋養の黒毛和種経産牛35頭（延べ81頭）を用い、過剰排卵処理を下記の4区に分けて実施した。

FSH製剤は豚脳下垂体由来で精製度の高いRefined FSH（以下FSH-Rと略）を用いた。また発情誘起には合成プロスタグランジンF_{2α}類縁体クロプロステノール（以下PG-Aと略）を用いた。

- 7回注射（現行法）：FSH-R計24AUを頸部皮下に1日2回、3日間（5、5、4、4、3、3AU）漸減投与し、3日目にPG-Aを0.6mg頸部筋肉内に投与した。
- 4回注射：FSH-R計24AUを頸部皮下に1日1回、3日間（10、8、6AU）漸減投与、3日目にPG-Aを0.6mg頸部筋肉内に投与した。
- 3回注射：FSH-R計24AUを1日1回、3日間（10、8、6AU）漸減投与、2日間は頸部皮下、3日目は注射器内でPG-A0.6mgと混合し、頸部筋肉内に投与した。
- 2回注射：FSH-R30AUを1mlの生理的食塩水

で溶解後、30%ポリビニルピロリドン溶液（以下PVPと略）9mlと注射器内で混合し頸部皮下に1回全量投与、2日後にPG-A0.6mgを頸部筋肉内に1回投与した。

発情が発現すれば人工授精を行い、発情日を0日目として6～8日目に非外科的に胚を回収した。胚は形態的に表1のようにA～Dの4段階に区分し、Cランク以上のものを正常胚とした。過剰排卵処理により著明な発情が発現しなかったもの及び人工授精しても反応が著しく悪く採胚を中止したものは採胚数0とした。

表1 胚の形態別分類

ランク	特徴
A	細胞変性0～10%以内の凍結可能な優良胚
B	細胞変性10～30%以内の一部凍結も可能な胚
C	細胞変性30～50%の新鮮胚移植は可能な胚
D	未受精卵、分割停止胚、その他移植できない変性胚

結 果

- 正常胚が1個でも回収できたものを回収成功として、成功した割合を表2に示した。

従来からの方法である7回注射では100%（11/11頭）の成功率であったのに対して、4回注射では73.9%（17/23頭）、3回注射で83.3%（25/30頭）とやや低下し、2回注射では58.8%（10/17頭）とさらに低下した。

表2 正常胚回収成功割合

区分	処理頭数	成功頭数	成功率(%)
7回注射	11	11	100.0
4回注射	23	17	73.9
3回注射	30	25	83.3
2回注射	17	10	58.8

表4 ランク別胚回収割合 (%)

区分	A	B	C	D
7回注射	54.1	11.8	2.4	31.8
4回注射	55.2	14.1	1.2	29.4
3回注射	58.8	8.6	2.3	30.3
2回注射	56.6	4.7	3.8	34.9

表3 胚回収成績

区分	処理頭数	平均回収胚数	平均正常胚数	平均Aランク胚数
7回注射	11	7.7±4.3	5.3±3.2	4.2±2.9
4回注射	23	7.1±5.4	5.0±4.3	3.9±3.4
3回注射	30	7.4±5.5	5.1±4.4	4.3±3.8
2回注射	17	6.2±5.3	4.1±5.1	3.5±4.6

2 試験区別胚回収成績は表3に示すように有意な差は見られなかったが、平均回収胚数および平均正常胚数は7回注射が最も多く、7.7±4.3、5.3±3.2で、以下3回注射の7.4±5.5、5.1±4.4、4回注射の7.1±5.4、5.0±4.3、2回注射の6.2±5.3、4.1±5.1の順であり、注射回数を少なくするほど成績が低下し、バラツキも大きくなる傾向にあった。しかし、最も重要となるAランク胚の平均回収数は3回注射が最も多く、4.3±3.8で、以下7回注射の4.2±2.9、4回注射の3.9±3.4、2回注射の3.5±4.6の順であった。

3 ランク別胚回収成績を表4に示した。回収胚数に対するAランク胚の割合は3回注射が58.8%と最も多く、以下2回注射の56.6%、3回注射の55.2%、7回注射の54.1%の順であった。未受精卵や変性胚であるDランクは2回注射が34.9%と最も多かった。

考 察

牛に対する過剰排卵処理にF SH製剤を投与する場合、ホルモンの体内濃度を一定時間維持する必要がある。豚脳下垂体由来F SH製剤は血中における半減期が短く、5時間といわれている⁶⁾。このためF SH製剤を用いた過剰排卵処理では1日に2回、3～4日間漸減的に投与する方法が一般的であり^{2,5)}、PGF_{2α}の注射も含めると7回～10回も1頭の牛に注射することになる。この方法では術者が時間的に拘束されるなど煩雑であることや、牛に与える注射のストレスが大きいのと思われる。

注射によるストレスの軽減という意味では、注射回数が少ないほど効果も期待できると思われるが、今回我々が行った試験では、正常胚回収成功割合は7回注射に比べて、注射回数が少なくなるほど成功割合が低下し、回収胚数や正常胚数など成績のバラツキも大きくなる傾向があったことから、ストレスと採胚成績との関係につい

て明らかにすることはできなかった。

しかし、平均回収胚数、平均正常胚数、平均Aランク胚数をみると4回注射、3回注射でも現行法の7回注射と比べてほぼ同等の成績であったことから、F SH-Rは1日1回の投与及びPGF_{2α}と混合して使用しても問題ないことが判明した。

2回注射の方法は、F SHを30%PVPと混合して1回で投与する方法だが、2回注射の成績はバラツキが大きく、今回の試験区の中ではもっとも成績が低かった。

PVP溶液そのものの粘稠度が高いためF SH製剤との混合や注射に手間がかかることから、牛によって体内での吸収状況が一定でなかった可能性もある。同じ2回注射で過剰排卵処理が可能な妊馬血清性腺刺激ホルモン製剤（以下PMS-Gと略）を用いた方法は血中残留時間が長すぎる³⁾ことや抗ホルモンが得意²⁾ためなどの理由であまり用いられていないが、大久ら⁴⁾はPMS-Gと性腺刺激ホルモン放出ホルモン（以下LH-RHと略）を併用してよい成績をあげており、省力化とストレス軽減につながると報告している。また、F SHをPVPと混合して1回全量投与する方法でも、山本ら⁶⁾、永田ら³⁾の報告では比較的よい成績が得られていることや、今回我々の成績でも、個体により非常に優れた成績を得た牛もあったことやAランク胚数の割合が比較的高いことから、PVP溶液の作成方法など、さらに改善すれば有効な方法となる可能性がある。

以上のことから、安定的な成績を求める場合は、現行法の7回注射がよいと思われるが、労力やコストも含め総合的に考えた場合、3回注射の方法がより実用的な方法と思われる。

乳牛については、今回実施していないが、今後検討したい。

引用文献

- 1)磯貝保ら(1992)：ウシの過剰排卵処理における高純度F S H製剤の利用とその効果、Journal of Reproduction and Development 38(5),21~25
- 2)金川弘司：牛の受精卵移植、22~34、東京、近代出版1984
- 3)永田浩章ら(1995)：P V Pを溶媒としたF S H 1回投与による牛の過剰排卵処置法の検討、東日本家畜受精卵移植技術研究会報11、47~48.
- 4)大久範幸ら(1992)：卵胞刺激ホルモンと妊馬血清性腺刺激ホルモンによる牛の過剰排卵誘起、日獣誌45、471~475.
- 5)鈴木達行ら(1985)：受精卵の採取、家畜人工授精師会テキスト(家畜受精卵移植編)、125~127.
- 6)山本政生ら(1993)：ポリビニルピロリドンを溶媒とした卵胞刺激ホルモンの1回投与による牛の過剰排卵処置、日獣会誌46、554~556.

Simplification of Superovulation Treatments in Cows

Yasuhiro NISHI, Hideo SAKAKIBARA, Yukiyo YOTANI

Abstract

We examined into a reduction for injection number of FSH-R and PGF_{2α} to save a labor in superovulation treatments in Japanese black cows. There were no significant differences in average numbers of total ova/embryos, transferable embryos and A rank embryos between present method (7 times injection) and 3 times injection. These results suggested that 3 times injection was effective for simplification of superovulation treatments.

Key words : superovulation, FSH-R, PGF_{2α}.