

# 黒毛和種雌牛の採卵における過剰排卵処理の簡略化

高田広達・樽本英幸・谷口俊仁・中本和弘<sup>1</sup>

和歌山県畜産試験場

## Simplified Method on Superovulation of Japanese Black Cow

Hirotatsu Takada, Hideyuki Tarumoto, Shunji Taniguchi and Kazuhiro Nakamoto<sup>1</sup>

*Livestock Experiment Station, Wakayama Prefecture*

### 緒 言

ウシ受精卵の採取はホルモン製剤による過剰排卵 (SOV) 処理および発情誘起処理の後、受精7日目に子宮内還流法により実施される。SOV処理には血液中の卵胞刺激ホルモン (FSH) 濃度を一定期間高値に保持する必要があるが、FSHは血中からの消失速度が速い (Demoustierら, 1988) ため、通常1日2回、3-4日間減量しながら複数回筋肉内に投与する減量投与方法が一般的である。複数回におよぶ注射は供卵牛に対しストレスを与える。また作業も非常に煩雑であるためSOV処理の簡略化が求められている。

これまで、SOV処理を簡略化する方法として高分子ポリマーであるポリビニルピロリドン (PVP) を溶媒としたFSHの1回投与によるSOV処理で減量投与方法と同等の採卵成績が得られることが報告されている (Takedomiら, 1995)。しかし、PVPは粘調性が非常に高く、FSHとの混合が困難なことが問題点として指摘されている。一方、ワクチンのアジュバントや薬剤の賦形剤として利用されている水酸化アルミニウムゲル (AG) を溶媒としたFSH (Hirakoら, 2003) の1回投与によるSOV処理で、従来の減量投与方法と同等の採卵成績が得られることが報告された (Kimuraら, 2007)。AGは粘調性が低く取り扱いが容易であるが、市販されるまでには至っていない。FSHをPVPやAGと混合し投与することで、FSHの体内への吸収が緩やかになり、1回投与であっても従来の減量投与方法と同等の効果が得られると考えられている。

そこで、本研究ではPVPやAG等を用いずに、筋肉内投与より体内吸収が緩やかな皮下に生理食塩水に溶解したFSHを1回投与することでSOV処理をおこない、その後の採卵成績について従来の筋肉内減量投与方法によるSOV処理後の採卵成績と比較した。

### 材料および方法

#### 1. 試験区分及び供試牛

試験区分は、SOV処理として生理食塩水 10 ml に溶解した FSH (アントリン R10, 川崎三鷹製薬)

---

<sup>1</sup>現在：紀南家畜保健衛生所

20AU を皮下に1回投与するワンショット区と生理食塩水に溶解した合計20AUのFSHを3日間にわたり減量投与する減量投与区の2区を設定し、当场で飼養している分娩後61-79日後の黒毛和種経産牛3頭を用いて、各処理を36-49日の間隔で1回ずつおこなった。供試牛3頭のボディコンディションスコア（BCS）はいずれも3程度であった。

## 2. 試験期間

2011年4月から7月に試験を実施した。

## 3. 試験方法

### 1) 過剰排卵処理

ワンショット区および減量投与区の採卵スケジュールを第1図に示した。

SOVはFSH投与開始日を0日目として-7日目あるいは-5日目に膣内留置型黄体ホルモン製剤(CIDR, イージーブリード, 家畜改良事業団)を用いて、性周期に関係なく開始し、-3日目の朝に酢酸フェルチレリン(性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH), コンセラル, シェリングプラウ)を25 $\mu$ g 筋肉内投与した。各区の採卵スケジュールに従い、ワンショット区では0日目の朝に頸部皮下にFSH 20AUを投与、2日目の朝にCIDRを抜去し、クロプロステノール(プロスタグランジン F2 $\alpha$ 類縁体 (PGF2 $\alpha$ ), レジプロンC, あすか製薬) 0.75 mgを筋肉内投与した。減量投与区では0日目から2日目にかけて3日間にわたる朝(9:00), 夕方(16:30)2回の減量投与(朝/夕方: 5/5, 3/3, 2/2AU, 頸部筋肉内投与)を行い、2日目の朝にCIDR抜去とPGF2 $\alpha$ を0.5 mg 筋肉内投与し、同日夕方にPGF2 $\alpha$ を0.25 mg 筋肉内投与した。

day	-7 or -5	...	-3	...	0	1	2	...	4	...	11
	9:00	CIDR in	GnRH 25 $\mu$ g		FSH 20AU		CIDR out PGF2 $\alpha$ 0.75 mg		GnRH 50 $\mu$ g		採卵
ワンショット区	.....										
	16:30										人工授精
	9:00	CIDR in	GnRH 25 $\mu$ g		FSH 5AU	FSH 3AU	FSH 2AU CIDR out PGF2 $\alpha$ 0.5 mg		GnRH 50 $\mu$ g		採卵
減量投与区	.....										
	16:30				FSH 5AU	FSH 3AU	FSH 2AU PGF2 $\alpha$ 0.25 mg				人工授精

第1図 採卵スケジュールの比較

### 2) 人工授精

FSH投与開始日を0日目として、4日目の朝にGnRHを50 $\mu$ g 筋肉内投与し、同日夕方に人工授精をおこなった。

### 3) 採卵

採卵は人工授精後7日目に子宮内灌流法により卵を採取後、実体顕微鏡下で形態を観察し、正常

卵，変性卵および未受精卵に分類した．正常卵についてはさらに変性部位の割合により A ランク，B ランクおよび C ランクの 3 段階に分類した．A ランクは変性部位 10% 以下，B ランクは変性部位 10-30%，C ランクは変性部位 30-50% とした（愛知県畜産総合センター編，1994）．

#### 4) 反応黄体数の計数

採卵開始前に直腸検査により推定黄体数を数えた．

#### 4. 調査項目

調査項目は推定黄体数，回収卵数，正常卵数および採取した卵の品質とした．

#### 5. 統計処理

推定黄体数，回収卵数および正常卵数については分散分析および Fisher の PLSD，正常卵，変性卵および未受精卵の割合については Fisher の直接確率計算法により解析した．

## 結 果

採卵成績について第 1 表に，採取した卵の品質を第 2 表にそれぞれ示した．

採卵時における推定黄体数，回収卵数および正常卵数の平均値は，ワンショット区はそれぞれ 5.0 個，4.3 個，4.0 個であった．一方，減量投与区はそれぞれ 9.3 個，8.3 個，6.0 個であり，いずれの項目においてもワンショット区と減量投与区の間に，有意な差は認められなかった．

第 1 表 採卵成績への影響

区分	供試頭数	推定黄体数	回収卵数	正常卵数
ワンショット区	3	5.0 ± 2.6	4.3 ± 5.9	4.0 ± 6.1
減量投与区	3	9.3 ± 5.5	8.3 ± 6.7	6.0 ± 6.1

平均 ± 標準偏差

第 2 表 回収卵の品質への影響

区分	回収卵数	回収卵の品質別個数 (%)				
		A	B	C	変性卵	未受精卵
ワンショット区	13	1(8)	10(77)	1(8)	1(8)	0(0)
減量投与区	25	1(4)	6(24)	11(44)	7(28)	0(0)
<i>P</i> 値		0.883	0.053	0.080	0.221	1.000

回収卵の品質の内訳はワンショット区で A ランク 8% (1/13)，B ランク 77% (10/13)，C ランク 8% (1/13)，変性卵 8% (1/13) であり，減量投与区では A ランク 4% (1/25)，B ランク 24% (6/25)，C ランク 44% (11/25)，変性卵 28% (7/25) であった．

ワンショット区では，減量投与区と比較して，B ランクの卵が多く (*P* 値 = 0.053)，C ランクの卵が少ない (*P* 値 = 0.08) 傾向がみられた．

## 考 察

SOV 処理は FSH を通常 1 日 2 回, 3-4 日間減量しながら複数回筋肉内に投与する減量投与法が一般的である。しかし, 供卵牛へのストレスや作業の煩雑さが問題点となっており, SOV 処理の簡略化が求められている。PVP (Takedomi ら, 1995) または AG (Kimura ら, 2007) を溶媒とした FSH の 1 回投与法は, いずれも FSH の血中への吸収を緩やかにして, 血中 FSH 濃度を維持し持続的に卵巣に作用させることで筋肉内減量投与法と同等の採卵成績が得られることが報告されている。PVP や AG 等を用いずに, 生理食塩水に溶解した FSH を皮下に 1 回投与することで SOV 処理を行ったワンショット区の採卵成績は, 推定黄体数, 回収卵数, 正常卵数のいずれにおいても, 減量投与区の採卵成績と比較して有意な差は認められなかった。この結果は, 牛の品種および使用している薬剤は異なるが Bo ら (1994) の報告と一致する。注射による薬剤の吸収速度は, 筋肉内より皮下が緩やかであるため, FSH を皮下に投与することで吸収が緩やかになり, 血中 FSH 濃度が長時間維持された結果, 持続的に卵巣に作用し, 筋肉内減量投与法と同等の採卵成績が得られたと考えられる。

ワンショット区で B ランクの卵が多く, C ランクの卵が少ない傾向がみられた。これらの傾向は注射回数が減ることによるストレス軽減に起因する可能性がある。PVP を溶媒とした FSH の 1 回投与でも, 従来の筋肉内減量投与と比較して, 移植可能卵が多くなり, 変性卵が少なくなることが報告されており (Yamamoto ら, 1994), AG を溶媒とした FSH の 1 回投与でも良質卵が多く, 変性卵が少ない傾向がみられることが報告されている (林ら, 2005)。

生理食塩水に溶解した FSH の 1 回投与における投与部位について, BCS が 1-2 の牛では頸部皮下投与は肩後皮下投与に比べ採卵成績が低下するが, BCS が 3-5 の牛では採卵成績に差がないことから, FSH の吸収速度は投与部位の皮下脂肪量に依存していると推察されている (Bo ら, 1994)。今回, 供試した牛の BCS はいずれも 3 程度であったことから良好な成績が得られたのではないかと考えられる。BCS の低い個体に対し, 今回行った方法が有効であるかは今後検討する必要がある。

以上の結果から, 黒毛和種雌牛において, 生理食塩水に溶解した FSH の皮下 1 回投与による過剰排卵が可能であることが示された。受精卵移植技術による牛の改良を促進するためには, 優秀な牛に SOV 処理後, 人工授精および採卵をおこないできるだけ多くの体内受精卵を回収する必要がある。現行の SOV 処理は FSH を数日間にわたって投与する必要があるが, SOV 処理の簡略化が求められている。FSH の皮下 1 回投与法は供卵牛に与えるストレスが少なく, 技術者への負担も軽減できるため, 普及性の高い技術であると考えられる。

## 摘 要

黒毛和種雌牛の過剰排卵処理の簡略化を目的に, 通常 1 日 2 回, 3-4 日間減量しながら筋肉内投与される FSH を, 皮下に 1 回投与することで過剰排卵処理をおこない, その後の採卵成績を調査した。その結果, 従来の減量投与法と比較して推定黄体数, 採卵数, 正常卵数において有意な差は認められなかった。

## 引用文献

- Bo, G. A., D. K. Hockley, L. F. Nasser and R. J. Mapletoft. 1994. Superovulatory response to a single subcutaneous injection of follitropin-V in beef cattle. *Theriogenology*. 42: 963-975.
- Demoustier, M. M., J. F. Beckers, P. V. D. Zwalmen, J. Closset, J. L. Gillard and F. Ectors. 1988. Determination of porcine plasma follitropin levels during superovulation treatment in cows. *Theriogenology*. 30: 379-386.
- Hirako, M., H. akahashi and K. Kimura. 2003. Change in concentration of porcine FSH in bovine peripheral blood following a single intramuscular injection with aluminum hydroxide gel suspension. *Theriogenology*. 59: 526.
- Kimura, K., M. Hirako, H. Iwata, M. Aoki, M. Kawaguchi and M. Seki. 2007. Successful superovulation of cattle by a single administration of FSH in aluminum hydroxide gel. *Theriogenology*. 68: 633-639.
- Takedomi, T., Y. Aoyagi, M. Konishi, H. Kishi, K. Taya, G. Watanabe and S. Sasamoto. 1995. Superovulation of holstein heifers by a single subcutaneous injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology*. 43: 1259-1268.
- Yamamoto, M., M. Ooe, M. Kawaguchi and T. Suzuki. 1994. Superovulation in the cow with a single intramuscular injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology*. 41: 747-755.
- 愛知県畜産総合センター編. 1994. 牛の受精卵移植技術マニュアル P. 20-24
- 林 登・加藤誠二・坂口慎一・澤田幹夫・関 誠・竹内昭司・木村康司・角川博哉. 2005. 黒毛和種のワンショット過剰排卵処理法の確立に関する研究－第1報 筋肉内投与法の検討－. 岐阜県畜産研究所研究報告, 5: 30-33.