

牛胚移植前後のホルモン処置による受胎率向上

千田 惣浩・相澤 健一・小林 政樹・沼田 恵・小西 潤一

(秋田県畜産試験場)

Improvement of Pregnant Rate Following Administration of Synthetic GnRH
before and after Bovine Embryo Transfer

Michihiro CHIDA, Ken-ichi AIZAWA, Masaki KOBAYASHI, Megumi NUMATA and Jun-ichi KONISHI

(Akita Prefectural Livestock Experiment Station)

1 はじめに

当県における牛胚移植は改良・増殖に有効な技術として普及定着したが、依然として、受胎性が課題となっている。また、クローン胚や性別別胚等、再構築胚の移植頻度が増えており、益々受胎率の向上が求められている。

受胎率に関する要因として、移植する胚、移植技術および受胎牛が挙げられるが、その成功は、受胎牛の受胎、そしてその後の子牛の生産をもって成し遂げられる。すなわち、飼養管理を含め、受胎牛が正常な発情周期を営んでいること、具体的には強い発情、排卵、移植時の充実した黄体形成、妊娠維持のためのホルモンバランスなど多くの要因のクリアが必要となる。特に不受胎の原因として考えられている早期胚芽死は、黄体からのプロゲステロンの分泌不足あるいは優勢卵胞からのエストロゲン 17β の影響とされている。今回、その改善策として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン（以下、GnRH）類似体（有効成分ブセルリン）を移植前後に投与した場合の受胎率ならびに性ステロイドホルモンの推移について検討した。

なお、本試験は農林水産省の畜産新技術実用化対策事業で、全国10県の研究機関による共同試験における当県の成績である。

2 試験方法

(1) 供試牛

供試した牛は黒毛和種延べ30頭（実25頭）であり、産歴は1産が17頭、2産が2頭および未経産が6頭であった。

(2) 移植胚

供試胚の発育ステージは日差 ± 1 になるように選定（後期桑実胚16、初期胚盤胞9、胚盤胞5）し、新鮮胚20、凍結胚10（ステップワイス4、ガラス化6）を移植した。

(3) 試験区分

試験区は表1に示すように、発情日を0日とし7または8日目の移植に対し、移植前日（発情から6または7日目）にGnRHを投与する前投与区、移植後7日目（発情から14または15日目）に投与する後投与区、無投与の3区分とした。なお、GnRH類似体はブセルリンを有効成分とし、投与量は $10\mu\text{g}$ とした。

(4) 性ステロイドホルモンの定量

測定項目をプロゲステロン（以下、 P_4 ）とエストロゲン 17β （以下、 E_2 ）とし、移植前日、移植時、移植後7日目お

よび移植後14日目の4ステージについて頸静脈より血液を採取し、岩手大学農学部においてラジオイムノアッセイ(RIA)法により測定した。

(5) 黄体組織面積の算出

移植前日に超音波診断装置（日立ECOPAL (EUB-405)、7.5MHz）により、黄体の長径、短径を計測し、また内腔が存在する場合（のう腫様）はその長径と短径を計測し、Kastelicら¹⁾に基づき黄体面積を算出した（図1）。

3 試験結果及び考察

(1) 試験区別移植成績

受胎率は前投与区が10頭中7頭の受胎で70%、後投与区が10頭中4頭の受胎で40%、無投与区が10頭中5頭の受胎で50%であり、それぞれの間に有意な差は認められないものの前投与区で高い割合を示した（表2）。

また、胚の処理別では、新鮮胚の前投与区で7頭中6頭受胎の85.7%と高い受胎率が得られた。

(2) 血中 P_4 濃度

移植前日から移植後7日目までの推移は、全区上昇傾向にあったが有意な差は認められなかった（図2）。移植後14日目は前投与区が他の区より高い傾向であった。後投与区および無投与においては投与時の移植後7日目から14日目の推移がそれぞれ4.07から3.10ng/ml、4.43から2.64ng/mlと低下する傾向にあった。

(3) 血中 E_2 濃度

移植前日から移植時の推移は、前投与区で1.30から0.31pg/mlと有意に（ $P<0.05$ ）減少する特徴を示し、また移植時は無投与の他の区より有意に少ない値となった（ $P<0.05$ ：図3）。すなわち、注射から移植までの約24~30時間に E_2 値は顕著に減少する結果となった。

また、後投与区でも、投与時の移植後7日目から14日目の推移が0.87から0.26pg/mlと減少傾向にあった。

(4) 前投与区における E_2/P_4 比

図4に示すとおり、 E_2/P_4 比は前投与区の受胎牛（ $n=6$ ）において、移植前日から移植時までに減少した。西貝は²⁾ 受胎牛において血中 P_4 値が低く、 E_2 値が高い状態、すなわち血中 E_2/P_4 比が高い子宮内環境は胚の生存に悪影響を及ぼすことを報告している。本試験における前投与区の E_2/P_4 比の低下はGnRHの有効成分であるブセルリンの投与が、移植時の顕著な P_4 値の上昇にはつながらなかったものの E_2 値を低下させる作用に起因したと考えられた。

(5) 受胎別黄体組織面積

黄体組織面積は図5に示すとおり、受胎牛(328.2mm²、n=13)、不受胎牛(240.6mm²、n=8)、中止牛(139.7mm²、n=3)の順に大きくなり、受胎牛と不受胎牛ならびに中止牛間に有意な差が認められた(それぞれP<0.05、P<0.01)。

(6) 黄体組織面積と性ステロイド*

本試験の成績より、黄体組織面積を300mm²で区分すると、これより大きい面積の試験牛で、P₄値が有意に高く、E₂/P₄比が少ない傾向が認められた(図6)。特に前投与区では、黄体の大きさが300mm²未満の受胎牛3頭が全て受胎したことから、GnRH投与の有効性が示唆された。なお、後投与区は5頭中3頭、無投与区では3頭中1頭の受胎であった。

(7) 黄体形状と性ステロイド*

超音波診断した21頭中8頭(38.1%)という高頻度で黄体形成不全とされる、おう腫様黄体と確認した。その性ステロイドの値は図7のとおりであり、P₄、E₂値は通常のものと同等で、E₂/P₄比も極めて類似しており、受胎性も通常の黄体と遜色なく、特に前投与区では、4頭中3頭が受胎した。

(8) 大卵胞の有無と性ステロイド*

図8に示すとおり、大卵胞が存在した試験牛の性ステロイドはP₄値は同等であったが、E₂値は高くなる傾向を示した。この時期は、牛の発情周期のなかで、一群の卵胞群

の中から選抜された第1次優勢卵胞が発現する時期に当たり、受胎に負の作用をもたらす卵胞からのE₂の産生があったものと考えられた。前述の前投与におけるE₂/P₄比の低下は、この優勢卵胞と想定される大卵胞への作用によるものと考えられた。

2 まとめ

移植前日のGnRH類似体の投与は、おう腫様黄体への効果を含め、黄体形成の改善、大卵胞の子宮への作用軽減等から受胎への好作用が示唆された。また、受胎牛確保の観点からも有用と考えられた。経費は、1頭当たり約千円の試算となった。

引用文献

- 1) Kastelic, J. P., Bergfelt, D. R., Ginther, O. J. 1990. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. Theriogenology, 33(6), 1269-1278.
- 2) 西貝正彦. 1998. 牛凍結胚移植の受胎率向上に関する研究. 那須イ・ティ研究所研究報告書. 41.

表1 試験区分

区 分	GnRHの投与*	処置日(発情からの日数)
前投与区	10 μg	移植前日(6または7日目)
後投与区	10 μg	移植後7日目(14または15日目)
無投与区	—	無処置

*有効成分P₄セリン

表2 移植成績

区 分	移植頭数	受胎頭数	不受胎頭数	受胎率	(胚の処理別*)
前投与区	10	7	3	70.0%	新鮮 6/7, SW1/1, Vit0/2
後投与区	10	4	6	40.0%	新鮮 3/6, SW0/2, Vit1/2
無投与区	10	5	5	50.0%	新鮮 4/7, SW0/1, Vit1/2

*数値は受胎頭数/移植頭数、SW:ステップワイス、Vit:ガラス化

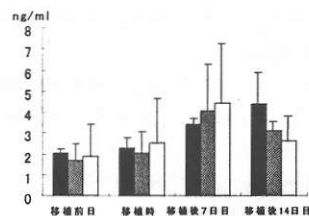


図2 試験区別P₄値の推移

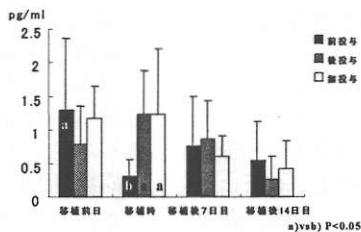


図3 試験区別E₂値の推移

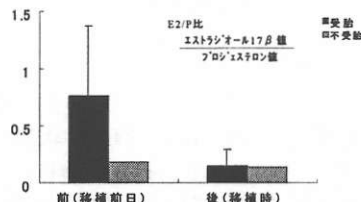


図4 前投与区におけるE₂/P₄比

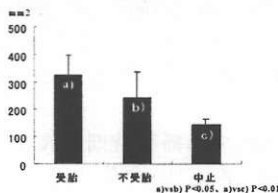


図5 受胎別黄体組織面積

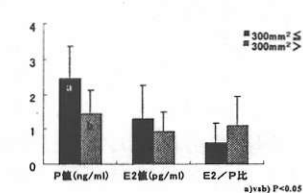


図6 黄体組織面積と性ステロイド*

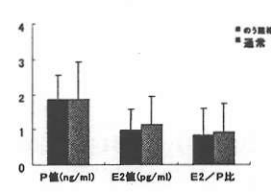


図7 黄体形状と性ステロイド*

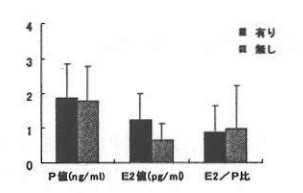


図8 大卵胞の有無と性ステロイド*

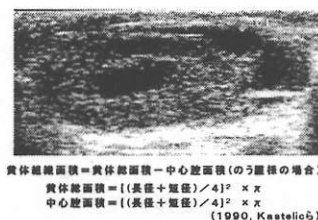


図1 黄体面積算出方法