牛における Prostaglandin F_{2α} 子宮内注入による性周期同調

中原達夫・金田義宏*・百目鬼郁男・山内 亮**

(農林省家畜衛生試験場)

牛の多頭飼育が進むにつれて、繁殖管理を省力化するとともに、牛群全体の繁殖成績を高めることが必要になっている。このために、近年、新しい繁殖技術として性周期を同調あるいは発情を同期化するための研究が各国で活発に行なわれている。従来、牛の性周期を同調する方法としては、ホルモン処置あるいは子宮処置を行なうことが検討されている¹⁾。しかし、いずれの方法においても同調効果、同期化された発情期における受胎性、処置に要する労力、経済性などの諸点で、野外応用上の問題が残っている。

最近、LIEHR ら²⁾、LOUIS ら³⁾ および中原ら⁴⁾ は牛において prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) には顕著な黄体退行作用のあることを報告している。さらに ROWSON ら⁵⁾、TERTVIT ら⁶⁾ は本剤を牛の性周期同調に応用しようことを示している。

本報告では、放牧牛において PGF_{2α} を子宮内投与した場合の性周期同調効果、ならびに同期化された発情期における受胎性について検討した成績について述べる。

実験材料ならびに方法

本試験は岩手県ならびに青森県下の 2 放牧地 (A 牛群、B 牛群) において行なった。

試験対象牛は両放牧地における多数の牛について、子宮ならびに卵巢の状態を直腸検査によって検査して、子宮の状態が正常で、かつ黄体が排卵後 5 日以降、黄体後期の間にあると判断されたものを選んだ。A 牛群の試験対象牛は、分娩後の日数が平均 74.4 日 (52~93 日) のホルスタイン種経産牛 13 頭、ならびに黒毛和種経産牛 3 頭である。これらのうち 10 頭は分娩後すでに発情の発現がみられていたが、6 頭は無発情であった。B 牛群の

試験対象牛は、月令平均 19.0 カ月 (16~28 カ月) のホルスタイン種末経産牛 36 頭である。これらの牛は試験開始前 42 日に入牧したもので、試験実施までの間に発情発現のあったものは 28 頭、無発情のものは 8 頭であった。すなわち、試験対象牛 52 頭の中 14 頭は鈍性発情とみなされるものであった。処置時における性周期の時期別頭数は、黄体初期 7 頭、黄体開花期 41 頭および黄体後期 4 頭である。

実験に使用した PGF_{2α} (富士薬品工業) は、磷酸緩衝液に溶解した後、凍結乾燥して保存されているものである。PGF_{2α} の投与量は、9 頭においては 6 mg 他の 43 頭においては 4 mg とした。これらの用量の PGF_{2α} はともに投与前に 0.75 ml の蒸留水に溶解して、1 回に子宮内に注入した。PGF_{2α} の子宮内注入は、特別に考案した金属製の子宮内薬液注入器を用いて頸管を通して行なった。また、注入部位は黄体の存在する卵巢と同側の子宮角のほぼ中央部とした。

処置後の発情観察は、A 群においては朝、夕ならびに放牧時に適宜行なったが、B 群においては処置後 2~4 日の間は 4~6 時間の間隔、その他の日には A 群におけると同様に行なった。発情発現の観察は、他の牛にすり寄る、乗駕する、他の発情牛の乗駕を許容するなどの性行動ならびに外陰部の充血、腫張、粘液の自然排出などを指標として行なった。発情牛については陰腔検査あるいは (ならびに) 直腸検査を行ない、粘液の排出状況、卵巢における卵胞の発育状態を検査した。

授精はこれらの検査、観察所見から判断して最適期と思われる時期を選んで行なった。なお、使用した精液はすべて凍結精液である。授精後、再発情がなかったものは 40~60 日後に直腸検査によって妊娠診断を行なった。

試験成績

1. 処置後の発情発現

PGF_{2α} を子宮内に注入した後の発情発現状況は表 1 に示した。黄体初期に 4 mg を投与した牛 7 頭のうちの 2 頭は処置後それぞれ 9 日および 16 日に発情したが、

* 家畜衛生試験場東北支場

** 現所属：東京大学農学部

Estrous synchronization of the cow by intrauterine injection of prostaglandin F_{2α}.

NAKAHARA, Tatsuo, Yoshihiro KANEDA, Ikuo DOMEKI & Makoto YAMAUCHI (National Institute of Animal Health, Kodaira, Tokyo 187)

Jap. J. Animal Reprod. 20 (2), 1974.

Table 1. Occurrence of estrus following intrauterine injection of $\text{PGF}_{2\alpha}$ in the grazing cow

Stages of estrous cycle at treatment	Doses of $\text{PGF}_{2\alpha}$ (mg)	Numbers of cow treated	Days from treatment to estrus			
			2	3	4	9~16
Early luteal stage	4	7	2	3		2
Functional luteal stage	4	32	7	17	3	5
Functional luteal stage	6	9		7	2	
Late luteal stage	4	4	3	1		
Total (%)		52	12 (23.1)	28 (53.9)	5 (9.6)	7 (13.4)

Table 2. Enhancement of estrous signs of the cow following intrauterine injection of $\text{PGF}_{2\alpha}$

Estrus before treatment	Herd	Numbers of cow (heifer) treated	Numbers of cow (heifer) came in estrus after treatment	
			2~4*	9~16*
Observed	A	10	9	1
	B	28	22	6
Not observed	A	6	5 (1)**	
	B	8	7 (1)	
Total		52	43 (2)	7

Postpartum period of the cow in herd A and age of heifer in herd B were 74.4 (52~93) days and 19.0 (16~28) months, respectively.

* Days from treatment to estrus, ** Cows showed weak heat.

Table 3. Fertility of the cow at synchronized estrus following intrauterine injection of $\text{PGF}_{2\alpha}$

Stages of estrous cycle at treatment	Doses of $\text{PGF}_{2\alpha}$ (mg)	Numbers of cow inseminated	Days from treatment to insemination			
			2	3	4	9~16
Early luteal stage	4	6		2 / 4*		1 / 2
Functional luteal stage	4	30	2 / 2	11 / 15	6 / 8	3 / 5
Functional luteal stage	6	5		3 / 4	0 / 1	
Late luteal stage	4	3	2 / 2	1 / 1		
Total		44	4 / 4	17 / 24	6 / 9	4 / 7
			27 / 37 (73.0%)			

Of all 52 treated cows, 6 were not served due to owner's wish, 1 due to discharge of cloudy mucus and 1 due to weak heat.

* Numbers of cow conceived/Numbers of cow served.

他の5頭は処置後2日あるいは3日に発情した。黄体開花期に4mgを投与した32頭のうち、5頭は処置後9日ないし14日に発情したが、他の27頭においては、処置

後2, 3および4日目にそれぞれ7, 17および3頭が発情した。また、黄体開花期に6mgを投与した9頭は、全例が処置後3日あるいは4日に発情した。黄体後期に

4 mg を投与した 4 頭は、処置後 2 日あるいは 3 日に発情した。結局、52 頭の全処置牛のうち、7 頭 (13.4%) は処置後 9 日ないし 16 日の間に発情して、発情の同期化がみられなかったが、他の 45 頭 (86.6%) においては処置後 2、3 および 4 日目に集中して、それぞれ 12 頭 (23.1%)、28 頭 (53.9%) および 5 頭 (9.6%) が発情した。

これらの集中して発情した牛 45 頭の発情徴候は、2 頭が微弱であった他はいずれも明瞭で、発情持続時間は他の牛に乗駕する、他の牛の乗駕を許容するなどの点を指標とすると、大多数が 8 時間ないし 18 時間であった。微弱発情を示した 2 頭はいずれも試験前の期間において、鈍性発情と認められるものであったが、その他の鈍性発情牛 12 頭がこの処置後 3～4 日の間に明瞭な発情徴候を示したことが注目された (Table 2)。

発情が同期化しなかった 7 頭の処置後 3～5 日における卵巣の変化は、黄体初期に処置した 2 頭のうち 1 頭では黄体は一時萎縮した後に再び発育していた。他の 1 頭ではかなり大きな卵胞の発育がみられたが、黄体の萎縮の程度は軽度であった。黄体開花期に処置した 5 頭のうち 1 頭においては、黄体は退行していたが卵胞の発育は良くなかった。他の 4 頭においては、3 頭にかなり大きな卵胞の発育がみられたが黄体の萎縮の程度は軽度であった。

2. 処置後の受胎性

PGF_{2α} の子宮内注入を受けた 52 頭のうち、処置後に発現した最初の発情時に授精したものは 44 頭であった。残りの 8 頭のうち 6 頭は飼育者の希望によって、1 頭は発情微弱のため、他の 1 頭は発情時の腔粘液が白濁していたために授精を行なわなかった。

受胎成績は一括して Table 3 に示した。処置後 2 日目に授精した 4 頭は全例受胎した。3 日目に授精したものは 24 頭のうち 17 頭、4 日目に授精したものは 9 頭のうち 6 頭が受胎した。結局、処置後 2 日ないし 4 日の同期化した発情期に授精した 37 頭のうち 27 頭 (73.0%) が受胎した。なお、処置後 9 日ないし 16 日の間に発情した 7 頭においては 4 頭が受胎した。

考 察

従来、牛の性周期を同調する方法としては、主として黄体ホルモン誘導体を経口投与、皮下移植、あるいは腔内投与する方法などが検討されている¹⁾。いっぽう、中原らは^{7,8)} 子宮処置によって性周期を同調しうることを報告している。すなわち、排卵後 2 日ないし 3 日以降の

黄体期に子宮内にヨード溶液を注入して子宮粘膜に一過性の炎症を誘起すると、処置時の性周期は、処置を黄体開花期に行なうと変化しないが、黄体初期に行なうと短縮し、黄体後期に行なうと反対に延長して、その結果、性周期が同調される。また、MCMILLAN⁹⁾ も benzyl alcohol を用いて同様の試みを行なっている。これらの方法は子宮卵巣間の調節機構を介して、黄体の寿命を規制することによるものである。

最近、黄体の寿命を支配する有力な子宮因子、すなわち、黄体退行因子として、prostaglandin F_{2α} が繁殖生理上重要な意義を有していることが注目されている^{10,11)} LIEHR ら²⁾ LOUIS ら³⁾ および中原ら⁴⁾ は、牛において本物質を子宮内に注入すると、また、LAUDERDALE¹²⁾ はこれを筋肉内に注射すると黄体が急激に退行して、これに伴って新たな卵胞の発育がおこり、この処置後 4～5 日に次の排卵が起こることを報告している。さらに、ROWSON ら⁵⁾、TERVIT ら⁶⁾ は PGF_{2α} を牛の性周期同調に応用しうることを示している。

本試験においては、蒸留水 0.75 ml に溶解した PGF_{2α} 4 mg あるいは 6 mg を、黄体の存在する卵巣と同側の子宮角に注入した結果、処置後 2 日ないし 4 日の 3 日間に、処置牛 52 頭のうち 45 頭 (86.6%) に発情の発現がみられた。この性周期同調効果は、従来報告されている¹⁾ 各種のホルモン処置による同調効果の中で、最も優れているものとほぼ同等である。これら 45 頭の中の 14 頭は分娩後あるいは入牧後試験実施までの期間、無発情の鈍性発情牛であったが、大多数がこの処置により明瞭な発情徴候を示したことが注目される。中原ら⁷⁾ はヨード溶液を子宮内に注入して性周期を同調する試験において、これと同様のことを認めている。

発情が同期化しなかった 7 頭は、黄体初期ないし黄体開花期の間に PGF_{2α} 4 mg の注入を受けたもので、処置後 9 日ないし 16 日の間に発情した。PGF_{2α} の黄体退行作用の発現は ROWSON ら⁵⁾ によると性周期の 5 日以降、中原ら⁴⁾ によると排卵後 5 日以降であることが示されている。従って、黄体初期に処置した 2 頭は処置の時期が早かったことが考えられる。黄体開花期に処置した 5 頭のうち 1 頭においては、黄体は処置後 3～4 日に退行したが、卵胞の発育が不十分であった。このことは PGF_{2α} によって黄体が退行しても、同時に卵胞の発育、成熟あるいは排卵を促すことができる十分量の内因性性腺刺激ホルモンの分泌がなければ、期待した性周期同調効果が得られないことを示唆するものである。他の 4 頭の黄体の退行程度はいずれも軽度であった。黄体開花期

に 6 mg を投与した 9 頭においては、全例が発情同期化に成功していることから、これら 4 頭の黄体が完全に退行しなかった理由としては、PGF_{2α} 投与量の絶対量が不足していたことも考えられるが、いっぽう、これらの牛の生理的条件が黄体初期の早い時期のものと同じであったことも考えられる。

各種の方法による性周期同調試験において、同期化された発情期の受胎成績は一般に良くないことが認められている。本試験においては、PGF_{2α} で処置した後 2 日ないし 4 日の間に発現した発情期に 37 頭に授精して、このうち 27 頭 (73.0%) が受胎している。この受胎成績は、試験を行なった 2 放牧地における例年の受胎成績に比べてかなり優っている。このことは PGF_{2α} を子宮内に注入して卵巣機能を変調しても、卵胞の発育、成熟、排卵は正常に起こり、さらに受胎性にも悪影響がないことを示している。本試験においては、むしろ、自然発情時に授精した場合より高い受胎率が得られた。このことは、処置後 2 日ないし 4 日の限られた期間に集中して発情の観察を行なうことができたこと、さらに、このために授精最適期を把握することが可能であったことによると考えられる。

結 論

放牧牛において、PGF_{2α} の子宮内注入による性周期同調効果ならびに同期化された発情期における受胎性について検討して、次の成績を得た。

1. 放牧牛 52 頭 (ホルスタイン種 49 頭、黒毛和種 3 頭) において、黄体期 (黄体初期 7 頭、黄体開花期 41 頭、黄体後期 4 頭) に、蒸留水 0.75 ml に溶解した PGF_{2α} 4 mg あるいは 6 mg を、黄体の存在する卵巣と同側の子宮角に注入した結果、処置後 2, 3 および 4 日目に集中してそれぞれ 12 頭 (23.1%), 28 頭 (53.9%) および 5 頭 (9.6%) が発情した。残りの 7 頭 (13.4%) は処置後 9 日ないし 16 日の間に発情した。

2. 試験対象牛 52 頭のうち 14 頭は、供試前の期間

において無発情の、鈍性発情牛であったが、このうち 2 頭は微弱発情、12 頭は明瞭な発情徴候を示したことが注目された。

3. 処置後 2 日ないし 4 日の間に集中して発情した牛 45 頭のうち、授精を受けたものは 37 頭で、このうち 27 頭 (73.0%) が受胎した。

4. 以上の成績から、牛の性周期同調技術として、PGF_{2α} の子宮内注入は優れた方法であることを認めた。

稿を終るに当って、本試験に使用した PGF_{2α} を御提供下さった富士薬品工業株式会社ならびに試験実施に当って御協力戴いた農林省岩手種畜牧場豊田晋場長はじめ関係職員各位に深く感謝の意を表します。

(1974. 1. 18 受付)

文 献

- 1) 中原(達): 家畜試験報, **62**, 174, 1971.
- 2) LIEHR, R. A., G. B. MARRION & H. H. OLSON: *J. Anim. Sci.*, **35**, 247, 1972.
- 3) LOUIS, T. M., H. HAFS & D. A. MORROW: *J. Anim. Sci.*, **35**, 247, 1972.
- 4) 中原(達)・百目鬼(郁)・金田(義)・山内(亮)・本誌, **20**, 35, 1974.
- 5) ROWSON, L. E. A., R. Tervit & A. BRAND: *J. Reprod. Fert.*, **29**, 145, 1972.
- 6) Tervit, H. R., L. E. A. ROWSON & A. BRAND: *J. Reprod. Fert.*, **34**, 179, 1973.
- 7) NAKAHARA, T., I. DOMEKI & M. YAMAUCHI: *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, **11**, 219, 1971.
- 8) NAKAHARA, T., I. DOMEKI & M. YAMAUCHI: *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, **11**, 211, 1971.
- 9) MACMILLAN, K. L.: *Aust. Vet. J.*, **49**, 267, 1973.
- 10) PHARRISS, B. B., S. A. TILLSON & R. R. ERICKSON: *Recent Prog. Horm. Res.*, **28**, 51, 1972.
- 11) INSKEEP, E. K.: *J. Anim. Sci.*, **36**, 1149, 1973.
- 12) LAUDERDALE, J. W.: *J. Anim. Sci.*, **35**, 246, 1972.

Summary

Effectiveness of an intrauterine injection of prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) on the estrous synchronization in the grazing cow and the fertility at the synchronized estrus were investigated.

A total of 52 cows (Holstein 49 and Japanese Black Cattle 3) were treated with 4 or 6 mg of PGF_{2α} during the luteal stage (early l. s. 7, functional l. s. 41 and late l. s. 4) Each dose

of $\text{PGF}_{2\alpha}$ dissolved in 0.75 ml of aq. distillata was injected singly into the middle portion of an ipsilateral uterine horn to the corpus luteum through the cervix using the metal catheter. Estrus occurred in 12 (23.1%), 28 (53.9%) and 5 (9.6%) cows on 2, 3 and 4 days after the treatment respectively, and the remaining 7 cows (13.4%) between 9 and 16 days. It was noticeable that 14 cows which were considered to be silent or dull estrus during the period prior to the treatment revealed distinct estrous signs except 2 cows which showed weak heat. Out of 45 cows which came into estrus during 2~4 days after the treatment, 37 cows were inseminated with the frozen semen at that time and conceived in 27 cows (73.0%). Two cows were not served due to the weak heat or discharge of unclean mucus and 6 cows due to owner's wish.

These results indicate that an intrauterine injection of $\text{PGF}_{2\alpha}$ is an excellent method for the technique of the estrous synchronization in the cow.