牛における Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ならびに妊馬血清性腺刺激 ホルモン併用による性周期同調

金田義宏*・中原達夫・百目鬼郁男

(農林省家畜衛生試験場 *同東北支場)

近年, prostaglandin $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) は牛において顕著な黄体退化作用を示すことが報告されている¹⁻⁴⁾。さらに本剤は牛の性周期同調に応用しうることが示唆されている^{5,6)}。中原ら⁷⁾は PGF $_{2\alpha}$ の子宮内注入による性周期同調効果は極めて優れているが、発情が同期化しないもののなかには、黄体が退化した後に卵胞の発育が不十分なものが存在することを示している。

本報告では、肉用牛において PGF $_{2\alpha}$ を子宮内に注入するとともに卵胞の発育を促すために低単位の妊馬血清性腺刺激ホルモン (PMS) を同時に筋肉注射して、これらの処置が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およぼす影響を検討した。

試験材料および方法

本試験は 1973 年 12 月に青森県下の一肉用牛集団飼育農場で行なった。試験対象牛は 40 頭の経産牛で、直腸検査によって子宮の状態が正常で、かつ卵巣に排卵後 5 日以降から黄体後期の間にあると判断される黄体が触知されたものである。試験牛は 2 群に区分し、A 群では PGF $_{2\alpha}$ の子宮内注入を行ない、B 群では PGF $_{2\alpha}$ の子宮内注入と PMS の筋肉注射を併用した。

A 群の試験対象牛は、分娩後の日数が 98~165 日平均 132 日の日本短角種 8 頭、黒毛和種 7 頭であり、処置前に授精を受けたものは 1 頭 (1 回) で、他はいずれも未授精であった。B 群の試験対象牛は、分娩後の日数が 120~889 日平均 403 日の日本短角種 16 頭、黒毛和種 9 頭で、これらのうち 18 頭は処置前に平均 4.8 回以上 (1~9 回以上) の授精を受けており、他の 7 頭は未授

精であった。処置時における性周期は、A 群は黄体初期 2 頭、黄体開花期 13 頭、B 群では黄体初期 3 頭、黄体開花期 20 頭、黄体後期 2 頭である。

試験に使用した PGF $_{2\alpha}$ (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。また、PMS は国際単位表示の市販のピーメックス (三共ゾーキ) である。PGF $_{2\alpha}$ の投与量は 6 mg とし、これを 2.5 ml (A 群の 7 頭、B 群の 13 頭) あるいは 5.0 ml (A 群の 8 頭、B 群の 12 頭) の生理食塩液に溶解して用いた。PGF $_{2\alpha}$ の子宮内注入は特別に考案した金属製子宮内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側の子宮角のほぼ中央部とした。

PMS の投与量は 500 IU とし、5.0 ml の生理食塩液に溶解して PGF $_{2\alpha}$ の子宮内注入直後に腎筋内に注射した。

発情観察は、処置後 2~4 日の間は 4 時間の間隔、その他の日には朝夕ならびに日中適宜行なった。発情徴候の発現は、他の牛にすり寄る、乗駕する、他の牛の乗駕を許容するなどの性行動ならびに外陰部の腫脹、粘液の排出などを指標として観察した。なお、処置後発情発現および授精までの時間は、処置の時刻を 0 として起算し 0~24 時間を 1 日として示した。発情牛については直腸検査を行ない、卵巣における黄体の萎縮、退化の程度と卵胞の発育状態をしらべ、さらに授精後は 18~24 時間の間隔で排卵の有無を確認した。

授精は発情徴候および腔・直腸検査の所見を総合して、最適期と思われる時期を選んで、凍結精液を用いて人工授精によって行なった。妊娠診断は、授精後 40~60 日の間に直腸検査によって行なった。

試験成績

1. 処置後の発情発現状況 (表 1)

A 群において黄体初期に処置した 2 頭は処置後それぞれ 5 日、13 日に発情した。黄体開花期に処置した 13 頭は処置後 37~60 時間に 3 頭、51~72 時間に 8 頭、73~84 時間に 1 頭が発情し、他の 1 頭は処置後 9 日に発

Use of prostaglandin $F_{2\alpha}$ and pregnant mare serum gonadotropin for estrous synchronization in beef cows.

KANEDA, Yoshihiro, Tatsuo NAKAHARA*, Ikuo DOMEKI* (Tohoku Branch Laboratory, National Institute of Animal Health, Shichinohe, Aomori 039-25 & *National Institute of Animal Health, Kodaira, Tokyo 187)

Jap. J. Animal Reprod. 21 (1), 1975.

Table 1. Occurrence of estrus in the cow following intrauterine injection of PGF_{2α} and PMS

Exp. group	Treatment		Stage of the estrous cycle at treatment	Number of cows treated	Hours from treatment to estrus					
	PGF _{2α} (mg)	PMS (IU)			37~48	49~60	61~72	73~84	85~96	97≤
A	6	—	Early L. S.*	2						2
			Mid L. S.	13	1	2	8	1		1
			Total (%)	15	1 (6.7)	2 (13.3)	8 (53.3)	1 (6.7)		3 (20.0)
B	6	500	Early L. S.	3			1			2
			Mid L. S.	20	2	9	3		3	3
			Late L. S.	2		2				
			Total (%)	25	2 (8.0)	11 (44.0)	4 (16.0)		3 (12.0)	5 (20.0)

* Luteal stage.

* Quantity of saline used for dissolving PGF_{2α}Fig. 1. Relationship between quantity of saline used for dissolving PGF_{2α} and time interval from the treatment to estrus.

情した。結局、15頭のうち12頭(80.0%)は処置後37~84時間の間に発情した。B群においては、黄体初期に処置した3頭のうち1頭は61~72時間に発情したが、他の2頭は処置後それぞれ13日および15日に発情した。黄体開花期に処置した20頭は、37~48時間に2頭、49~60時間に9頭、61~96時間に6頭が発情し、その他の3頭は処置後9日ないし12日に発情した。黄体後期に処置した2頭は49~60時間に発情した。結局、25頭のうち20頭(80.0%)が処置後37~96時間に集中して発情した。

これらの牛の外部発情徴候は、B群において発情が同期化しなかった2頭が微弱であったほかはいずれも明瞭であった。また、処置後37~96時間に発情した牛の発

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性行動を指標とすると、A群では平均13.0時間(4~26時間)、B群では平均15.2時間(6~35時間)であった。なお、B群には30時間以上発情が持続したものが3頭認められた。

PGF_{2α}の溶解液量別の発情発状況は図1に示した。A群では溶解液量2.5ml使用例は5.0ml使用例に比べて早期に発情するものが多かったが、B群においては両者の間に差は認められなかった。

2. 処置後の卵巣所見

a) 処置後37~96時間に発情した牛：黄体は発情期にA・B両群ともに大多数はすでに退行していたが、A群の1頭、B群の3頭では退行の程度が軽度であった。また、直径8~22mmの发育~成熟卵胞がA群では1~2個(平均1.2個)、B群では1~3個(平均1.5個)触知された。排卵数はB群の1頭が2個であったほかはいずれも1個であった。排卵した卵胞は、A群では12頭のうち10頭(83.3%)、B群では20頭のうち15頭(75.0%)が処置時に黄体と共存していた直径6~15mmの卵胞であった。排卵は、発情終了後約30時間までの間にA群では全頭に、B群では16頭に確認された。

b) 発情が同期化しなかった牛：処置後3~6日における卵巣の変化は、A群の黄体初期に処置した2頭においてはかなり大きな卵胞がみられたが、黄体は1頭では退行程度が軽度であり、他の1頭では処置時とほぼ同様の所見を呈していた。黄体開花期に処置した1頭においては黄体の退行程度は軽度で、卵胞の发育がみられなかった。B群の黄体初期に処置した2頭のうち1頭の黄体

Table 2. Fertility of the cow at the first estrus after the treatment with $\text{PGF}_{2\alpha}$ and PMS

Exp. group	Number of cows served	Days from treatment to service (c)				Conception rate at synchronized estrus
		3	4	5	10~14	
A—I (a)	14	0/2(b)	7/7	2/3	1/2	75.0% (9/12)
B—I	11	1/1	4/6	0/1	2/3	62.5% (5/ 8)
B—II	12	0/1	3/8	1/3		33.3% (4/12)

(a) : Cows inseminated less than twice (I), and more than 3 times (II) during the period prior to the treatment.

(b) : Number of cows conceived/Number of cows inseminated.

(c) : Time interval 0~24 hours after the treatment was termed as one day.

は發育して大きさを増しており、他の1頭の卵巣には軽度で退行した黄体と1個の大きな發育卵胞がみられた。黄体開花期に処置した3頭のうち1頭では、かなり大きな卵胞の發育がみられたが黄体の退行程度は軽度であった。他の2頭の黄体は、処置時とほぼ同様の所見を呈していた。

3. 処置後における受胎性 (表2)

処置後の初回発情時に授精したものは、A群では15頭のうち14頭、B群では25頭のうち23頭であった。A群の1頭は畜主の希望により、B群の2頭は微弱発情のため授精しなかった。処置後3~5日の間に授精した32頭については、A群では12頭のうち9頭(75.0%)、B群では20頭のうち9頭(45.0%)が受胎した。B群においては、本試験前の授精回数が0~2回のもの(表中B群—I)は8頭のうち5頭(62.5%)が受胎したのに対し、3回以上のもの(表中B群—II)では12頭のうち4頭(33.3%)が受胎したにすぎなかった。また、発情が同期化しないで処置後10~14日の間に授精した5頭については、A群では2頭のうち1頭、B群では3頭のうち2頭が受胎した。

考 察

中原ら⁷⁾は $\text{PGF}_{2\alpha}$ による発情同期化効果は、従来報告されている⁹⁾各種ホルモン処置による同調効果のうちで最も優れているものとはほぼ同等であるが、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 処置によって黄体が退行した後に卵胞の發育が乏しいものがあることを認めており、これは内因性性腺刺激ホルモンの分泌不足に起因することを示唆している。本試験では、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 処置後における卵胞の發育を促進して発情同期化の効率を高めるために、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の子宮内注入と同時に低単位 PMS の筋肉注射を併用した。その結果、処置後の発情は $\text{PGF}_{2\alpha}$ 単一処置のA群では処置後 61~72 時

間に、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ ・PMS 併用処置のB群では 48~60 時間の間にそれぞれ処置牛の約半数において集中して起こることを認めた。また、処置後 60 時間以内の発情発現頭数は、A群では僅かであったのに対して、B群では処置牛の半数を占めていた。これらのことから、PMS の併用によって発情は処置後早期に発現するものが多いことを認めた。しかしながら、処置後 96 時間までの間に発情が同期化したものはA・B両群とも全処置牛の 89% で両群の間に差は認められなかった。

中原ら⁷⁾は、放牧牛において鈍性発情牛が $\text{PGF}_{2\alpha}$ 処置後に明瞭な発情徴候を発現することに注目している。本試験の対象牛においては処置前の発情発現状況が詳かでなかったが、処置後の初回発情における発情徴候はB群において発情が同期化しなかった2頭が微弱であったほかはいずれも明瞭であった。

発情が同期化した牛の発情時における卵胞(直径 8 mm 以上)数は、B群では平均 1.5 個で、A群の平均 1.2 個と比べて若干多かったが、排卵数は1頭が2個であったほかはいずれも1個であった。最近、HILL ら¹⁰⁾は、牛において $\text{PGF}_{2\alpha}$ の子宮内注入ならびに PMS 筋肉注射を併用した場合の初回発情時における排卵数は、PMS 投与を $\text{PGF}_{2\alpha}$ 処置前2日に行なうと平均 4.6 個、同日に行なうと平均 2.3 個であったことを報告している。このように、PMS の投与時期によって卵巣の反応がかなり異なるので、同期化された発情期において確実に1個あるいは2個の卵胞を排卵させるのに必要な PMS の用量および投与の時期については、さらに検討を必要とする。

$\text{PGF}_{2\alpha}$ を子宮内注入する場合の本剤の溶解液量として、LOUIS ら²⁾は 0.5 ml、中原ら⁷⁾は 0.75 ml のごく少量を用いている。本試験では、2.5 ml あるいは 5.0 ml の生理食塩液を用いた結果、A群では 5.0 ml 使用

例の発情発現は 2.5 ml 使用例のそれに比べて遅れるものが多かった。このことは、5.0 ml 使用例では液量が多いために PGF_{2α} 溶液の一部が黄体の存在する卵巣と反対側の子宮角に流入したか、あるいは子宮外に排出したためと推測される。B 群では液量による差はとくに認められなかったが、これは PMS が卵胞の発育促進に効果的に関与したことが考えられる。

発情が処置後 5 日以降に発現したものが、A 群に 3 頭 B 群に 5 頭認められた。このうちの 4 頭は黄体初期の処置例であったが、PGF_{2α} は排卵後 4 日以前に投与した場合には著しい黄体退化作用を発現しないことが認められているので⁴⁾、これらはこの時期のものであったと考えられる。他の 4 頭は黄体開花期に処置したもので、処置後 3～4 日における黄体の萎縮退行の程度は軽度であった。この理由としては、PGF_{2α} の絶対量の不足あるいはその他の内分泌的要素の関与が考えられるが、いずれによるものかは明らかでない。

中原ら⁷⁾は、PGF_{2α} の子宮内注入によって同期化した初回発情時の受胎率は正常で、自然発情時におけるそれよりむしろ高いことを報告している。本試験における同期化した発情期の授精による受胎率は、処置前に未授精あるいは 2 回以内の授精を受けていたものについては、A 群ならびに B 群の間に著しい差違はみられなかった。しかし、B 群で処置前に 3 回以上の授精を受けて不受胎であったいわゆる受胎困難牛については、同期化した初回発情時における受胎率は 33.3% (4/12 頭) でかなり低く、従来報告されている¹⁰⁻¹⁴⁾ リピートブリーダー牛について無処置のまま授精した場合における受胎率とはほぼ同等であった。

要 約

肉用牛 40 頭 (日本短角種 24 頭、黒毛和種 16 頭) において、黄体期に生理食塩液 2.5 ml あるいは 5.0 ml に溶解した prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) 6 mg を黄体の存在する卵巣と同側の子宮内に注入 (A 群 15 頭) あるいはこれと同時に PMS 500 IU を筋肉注射 (B 群 25 頭) して、処置後の発情発現状況および初回発情時の受胎性を検討して、つぎの成績を得た。

1. 発情発現は、A 群では処置後 61～72 時間に 8/15 頭 (53.3%)、B 群では 49～60 時間に 11/25 頭 (44.0%) に集中して起こり、PMS の併用によって発情発現までの時間が短縮することを認めた。しかし、処置後 37～96 時間に発情が同期化したものは、A 群で 12/15 頭 (80.0%)、B 群では 20/25 頭 (80.0%) で、両群の

間に差違はみられなかった。なお、PGF_{2α} の溶解液量 5.0 ml 使用群では 2.5 ml 使用群と比べて発情発現が若干遅れる傾向を認めた。

2. 発情が同期化した牛における発育卵胞 (直径 8 mm 以上) 数は、A 群で平均 1.2 個 (1～2 個)、B 群では平均 1.5 個 (1～3 個) で、このうち排卵したものは B 群の 1 頭が 2 個であったほかはいずれも 1 個であった。

3. 処置前の授精回数が 0 あるいは 1～2 回の牛において、同期化した発情期の授精による受胎率は A 群では 75.0% (9/12 頭)、B 群では 62.5% (5/8 頭) であった。しかし、3 回以上の授精を受けていた牛における受胎率は 33.3% (4/12 頭) でかなり低かった。

4. 以上の成績から、PGF_{2α} 子宮内注入と同時に低単位の PMS を投与した場合、処置後発情発現は早期に起こるが、性周期の同調効果および同期化された発情時における受胎成績は、PGF_{2α} 単一投与の場合のそれと大差ないことを認めた。

稿を終るに当たって、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、ピーメックスを御提供下さった三共ゾーキ株式会社、ならびに試験実施にあたって御協力戴いた農林省奥羽種畜牧場池田森男場長はじめ関係職員各位に衷心より感謝の意を表します。

(1974. 8. 5 受付)

文 献

- 1) LIEHER, R. A., G. B. MARRION & H. H. OLSON: *J. Anim. Sci.*, **35**, 247 (abstr.), 1972.
- 2) LOUIS, T. M., H. HAFS & D. A. MORROW: *J. Anim. Sci.*, **35**, 247 (abstr.) 1972.
- 3) LAUDERDALE, J. W.: *J. Anim. Sci.*, **35**, 246 (abstr.) 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. Fertil.*, **29**, 145 (abstr.) 1972.
- 6) Tervit, H. R., L. E. A. ROWSON & A. BRAND: *J. Reprod. Fertil.*, **34**, 179, 1973.
- 7) 中原(達)・金田(義)・百目鬼(郁)・山内(亮): 本誌, **20**, 62, 1974.
- 8) 中原(達): 家畜試験報, (62), 174, 1971.
- 9) HILL, J. R. Jr., J. F. DICKEY & D. M. HENRICKS: *J. Anim. Sci.*, **37**, 315 (abstr.), 1973.
- 10) HERRICK, J. B.: *Vet. Med.*, **48**, 489, 1953.
- 11) WILTBANK, J. N., H. W. HAWK, H. K. KIDDER, W. G. BLACK, L. C. ULBERG & L. E. CASIDA: *J. Dairy Sci.*, **39**, 456, 1956.
- 12) 中原(達)・山内(亮)・橋本(和)・小笠(晃): 日獣誌, **21** (学会号), 59, 1959.

- 13) 山内(亮)・中原(達)・橋本(和)・小笠(晃)・志賀(鑑)・片岡(敏)・乾(純)・円山(八): 本誌, 7, 53, 1961.
 14) ZEMJANIS, R.: 本誌, 12, 7, 1966. から引用。

Summary

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) and pregnant mare serum gonadotropin (PMS) were used for estrous synchronization in beef cows, and the fertility at the first estrus after the treatment was investigated.

A total of 40 beef cows (24 Japanese Shorthorn and 16 Japanese Black Cattle) in the luteal stage of the estrous cycle were allotted to two experimental groups; i. e. Group A consisting of 15 cows, which were given a single intrauterine injection of 6 mg of $PGF_{2\alpha}$, and Group B consisting of 25 cows, which were given the $PGF_{2\alpha}$ treatment and an intramuscular injection of 500 IU of PMS. $PGF_{2\alpha}$ dissolved either in 2.5 ml or 5.0 ml of sterile saline was injected into the middle portion of the uterine horn, ipsilateral to the corpus luteum through the cervix, by using a metal catheter. PMS was injected immediately after the $PGF_{2\alpha}$ treatment. Estrus was checked every 4 hours, during the period 24 to 96 hours after the treatment, and the ovaries of the cows exhibiting estrus were examined per rectum. Each cow that came into estrus was inseminated with frozen semen, and diagnosis of pregnancy was made between 40 to 60 days later, by rectal palpation.

Estrus occurred in 8 (53.3%) of 15 cows in Group A, during 61~72 hours of the post treatment period, and in 11 (44.0%) of 25 cows in Group B, during 49~60 hours of the post treatment period. Number of cows which came into estrus within 60 hours after the treatment in Groups A and B, were 3 (20.0%) and 13 (52.0%), respectively. However, the cows which showed estrus during 37~96 hours of the post treatment period in Groups A and B, were 12 (80.0%) and 20 (80.0%), respectively. The remaining 8 cows in both groups exhibited estrus between 5 and 15 days after the treatment. Occurrence of estrus was somewhat later in the cow receiving $PGF_{2\alpha}$ dissolved in 5.0 ml saline, than in that receiving $PGF_{2\alpha}$ dissolved in 2.5 ml saline. The average number of follicles larger than 8 mm in diameter in the cow of Groups A and B, which came into estrus during 37~96 hours of the post treatment period, were 1.2 (1~2) and 1.5 (1~3), respectively. One ovulation occurred in all cows of both groups, except one animal in Group B, which ovulated two follicles. In the cows that had been inseminated either once or twice, or not inseminated during the period prior to the experiment, their conception rates were 75.0% (9 of 12 cows) in Group A, and 62.5% (5 of 8 cows) in Group B by the service during 3~5 days of the post treatment period, whereas, the cow which had received more than three inseminations, conceived in 33.3% (4 of 12 cows).

These results indicated, that the time interval between treatment and the occurrence of estrus could be reduced by the simultaneous injection of $PGF_{2\alpha}$ and the lower dose of PMS. However, there was no marked differences between the cow treated with $PGF_{2\alpha}$ alone, and the cow injected with PMS immediately after the $PGF_{2\alpha}$ treatment, in (a) the number of cows which came into estrus during the period of 96 hours after the treatment, (b) the number of grown follicles and ovulations, and (c) the conception rates at the first synchronized estrus.