イヌの繁殖に関する研究

XI. ホルモン処置による発情誘起と授精結果

武石昌敬・児玉幸夫・見上 孝・常包 正・岩城隆昌*

(日本大学農獣医学部・*日本 EDM (株))

GREENBLATT¹⁾, HANCOCK²⁾, GIER³⁾ および SOKOTOWSKI⁴⁾ らは、無発情犬に血清性腺刺激ホルモン(PMSG)を応用し卵胞の形成と発育をみるとめ、一方BLOOM⁵⁾, SCORGIE⁶⁾ らは、胎盤性性腺刺激ホルモン(HCG)の応用により排卵および黄体形成をみるとめている。

著者ら⁷⁾は、HCG と PMSG の併用により無発情犬に排卵を伴った発情を誘起させた。とくに発情の誘起し易い時期は発情終了 50 日以後と分娩 90 日以後であることを報告した。しかしながら、この方法による受胎例は今迄のところ非常に少ない。

小笠原ら⁸⁾および宮田ら⁹⁾は、独自の方法により HCG と PMSG を用い発情を誘起させたのち受胎、分娩させた例を報告しているが、適確な発情診断を行っていないために、ホルモン処置後かなりの期間を経ているために自然発情が促進され発現した場合との区別が明らかでない。

本研究では無発情犬に予めエストロン(E₁)の筋注を数回行い、子宮からの持続性出血を誘発したのち、HCG と PMSG を 2 度にわたり投与して排卵を誘起し、かつこの発情期に受精を行って受胎の有無および分娩についての検討を行った。

本実験のうち、E₁ 投与の前処置は子宮内膜に対して持続性出血を伴う発情期的変化を十分に起こさせることを目的とした。

Studies on reproduction in the dog. XI. Induction of estrus by hormonal treatment and results of the following insemination.

TAKEISHI, Masatoshi, Yukio KODAMA, Takashi MIKAMI, Tadashi TUNEKANE & Takamasa IWAKI* (College of Agriculture & Veterinary Medicine, Nihon University, Setagaya, Tokyo 154 & *Nihon E. D. M. Co. LTD., Shizuoka)

Jap. J. Animal Reprod. 22(2), 1976.

実験材料および方法

1. 実験犬

当研究室に飼育中の健康と認められる 2~4 才のビーグル種を用いた。雌 7 頭の体重は 10~15 kg。雄犬については予め精液性状を検査して良好と認められる 3 頭を選んで供用した。

授精は自然交配(2例)の他、雄犬よりマッサージ法により採取した精液をビペット使用により雌の腔内深く注入する方法(5例)を採用した。

食餌については、ドックフード(日量約 300 g)を給し、給水は自由摂取、運動は 1 日 1 時間の自由運動を課した。

2. ホルモン材および器材

E₁ 油剤、HCG と PMSG は、ともに帝国臓器製薬(株)の製剤を使用した。

腔スメアー採取用のビペットは、前報¹⁰⁾同様に、径約 3 mm のガラス管を約 10 cm に切り、ビペット状として先端を丸め、他端にスポイドを付したものを腔スメアー採取用に用いた。

陰唇短径の測定用には小型のノギスを用いた。

腔鏡(犬用)並びに精液注入ビペット(牛用)は、十分に洗滌し紫外線消毒したものをを用いた。

3. 発情診断法

発情の診断は、前報^{10,11)}に従い腔スメアー、発情出血の状態、陰唇短径の変動および雄に対する許容反応などを総合して実施した。

4. 発情誘起法

総量 300 ないし 3000 μ g の E₁ を 3~9 日間にわたり連日または隔日に筋肉注射し、持続性の出血が認められるに至って中止した。

HCG と PMSG の投与は、前報⁷⁾に準じて行った。

5. 授精の方法

種付適期の診断は前報¹¹⁾に従い、陰唇短径の縮小した日を排卵日と診断し、この日を中心に自然交配または人

Fig. 3. Hormonal treatment, induced estrus, insemination, pregnancy and parturition in No. F-6 bitch.

分娩は種付後 62 日目に起こり、雄 3 頭、雌 2 頭の正常な子犬を娩出した。子犬の体重ならびに増体量は標準例に近く、今日に至るまで異常を認めていない。

2. F5 号犬 (Fig. 2)

本犬は最終分娩後 135 日目で、無発情と診断されたものである。

E₁ 300 µg を 3 日連続投与したが発情出血を認めなかったため、さらに 600 µg を隔日に 2 回投与したところ、初回投与から 8 日目に発情出血が誘起された。

発情出血の発現した 3 日目に HCG 1000 MU, PMSG 400 IU の初回投与を行い、発情の第 1 日目に HCG 1000 MU, PMSG 200 IU 追注を行った。

発情の 5 日目に陰唇短径の縮小を認めたので人工授精を行った。発情前期は 12 日間、発情期は 8 日間で、陰唇短径は 1 発情期に 2 峰性の変化を示した。

授精後 60 日目に、雄 2 頭、雌 3 頭の正常な子犬を出産した。

3. F6 号犬 (Fig. 3)

犬は前回発情誘起により分娩したのち、1 度自然発情を発現したが授精しなかった犬で、今回は再び無発情に陥ったと診断されたものである。

発情出血は、E₁ 100 µg の 4 日連続投与により発現した。

発情出血を認めてから 4 日目に HCG 1000 MU, PMSG 400 IU の初回投与を行い、発情の初日に HCG 1000

MU, PMSG 200 IU の追注を行った。

発情の 5 日目に排卵反応を認めたので、人工授精を行ったところ、授精後 63 日目に、雄 1 頭、雌 4 頭の正常な子犬を出産した。

4. F7 号犬

本犬は、過去 2 回にわたり発情誘起により分娩した犬で、最終分娩後 120 日目に発情診断して無発情と診断されたものである。

発情出血は、E₁ 100 および 200 µg を 3 日間 6 回連続投与し、さらに 400 µg を隔日に 2 回投与した後に認められた。

発情出血を認めた 2 日目に HCG 1000 MU, PMSG 400 IU の初回投与を行い、発情期の初日に同量の追注を行った。

発情の 8 日目に排卵反応を示したので、人工授精を行った。発情前期は 12 日間、発情期は 8 日間みられ、陰唇短径は 1 発情期に 2 峰性の変化を示した。

授精後 63 日目に、雌 2 頭の正常子犬を出産した。

5. F8 号犬

本犬は最終分娩後 270 日目で発情がみられず無発情と診断されたものである。

発情出血は、E₁ 100 µg の 5 日間連続投与と 6 日目に 200 µg の投与により認められた。

発情出血のみられた 2 日目に HCG 1000 MU, PMSG 200 IU を初回投与し、また、発情の初日に同量の追注

Fig. 4. Hormonal treatment, induced estrus and insemination (non-pregnant) in No. F-10 bitch.

を行った。

発情の5日目に排卵反応を認めたので、人工授精を行ったが、妊娠に至らなかった。

6. F9 号犬

本犬は経産犬として購入して以来6ヵ月間ほとんど発情はなく、無発情と診断されたものである。

発情出血は、E₁ 100 μ g の3回にわたる隔日投与により認められた。

発情出血持続3日目に HCG 1000 MU, PMSG 200 IU を投与し発情期の初日に同量の追注を行った。

発情の5日目に排卵反応を認めたので、自然交配したが、授精後40日目に流産が起こった。その原因については不明である。

7. F10 号犬 (Fig. 4)

本犬は2産目の分娩後133日目の犬で、無発情と診断されたものである。

発情出血は、E₁ 200 μ g 3日間、400 μ g を6日間連続投与したところ認められた。

発情出血の認められた 4 日目に HCG 1000 MU、
PMSG 400 IU の初回投与、それぞれ同量を発情期の初
目に追注した。

排卵反応は認めなかったが、発情の5日目に人工授精を行った。しかしながら、妊娠に至らなかった。

考 察

著者ら⁷⁾は、先に無発情と診断した犬に対し、発情誘起の目的で PMSG 1000 IU または HCG 1000 MU の単独投与を実施したが発情の誘起は出来なかった。その後 HCG 1000 MU と PMSG 200~400 IU の同時2回投与を行って、はじめて 30 頭中 16 頭に排卵を認めたことを報告した。しかし、この方法⁷⁾で排卵は可能であっても受胎さらに分娩にまで導くことはできなかった。その原因としては、gonadotropin の処置により発情前期が極端に短縮されるために子宮内膜の着床準備が不十分となり、排卵しても受胎、分娩にまで達しないことが推察された。

無発情犬、卵巣剝去犬に対して、LEATHEM¹⁴⁾、KUNDO¹⁵⁾、小笠原ら⁹⁾は、ヒトの尿の中から抽出したエストロゲンあるいはスチルベストロールにより発情出血を誘起させたことを報告している。

そこで今回は、無発情犬をあらかじめ E₁ で前処置し、発情出血を起こさせたのち、HCG と PMSG の併用による発情誘起法⁷⁾を実施したが、7 頭中 6 頭に妊娠を認め、内 5 頭が平均 4.25 頭の正常な子犬を出産した。この事実から無発情犬に対してホルモン処置による発情誘起によって妊娠および分娩が可能であることがわかった。

しかしながら、小笠原ら⁸⁾および宮田ら⁹⁾が HCG, PMSG の処置により、2～7 頭の子犬を出産させたとする報告とは内容的に若干異なっている。

すなわち、これらの報告では PMSG の投与から発情出血が誘起されるまでに 18 日ないし 35 日の長日数を要していること、宮田ら⁹⁾が発情出血後の腔スメアーが自然発情のものに相似していたと述べていることから、自然発情が促進された可能性もうかがえる。

総 括

無発情犬への発情出血の誘起は、E₁ 総量 300～3000 μ g の 3～9 日間にわたる投与により認められた。

発情出血を認めたのち HCG 1000 MU, PMSG 200～400 IU の併用投与を行い、発情期の第 1 日目に追加投与を実施した。

授精は、発情期に陰唇短径の縮小した日に人工授精または自然交配を行った。

その結果、授精した 7 頭中 6 頭が妊娠し、授精後 60～63 日目に平均 4.25 頭の正常子犬を正規分娩したが、1 頭は流産した。

最後にホルモン製剤、ドックフードを御提供賜った帝国臓器製薬(株)ならびにゼネラルフーズ(株)に対して感謝申し上げます。

(1976. 3. 13 受付)

文 献

- 1) GREENBLATT, R. B. & E. R. PUND: *Southern*

Med. J., **34**, 730, 1941.

- 2) HANCOCK, J. L. & I. W. ROWLAND: *Vet. Record*, **61**, 771, 1949.
- 3) GIER, H. T.: *Current veterinary therapy small animal practice*, Ed. by KIRK, R. W., SAUNDERS, W. B. Company, Philadelphia, 1964.
- 4) SOKOLOWSKI, J. H., R. W. MEDERERNACK & L. C. HELPER: *J. A. M. A.*, **153**, 425, 1968.
- 5) BLOOM, F.: *American Veterinary publications*, Evanston Illinois, 244, 1953.
- 6) SCORGIE, N. J.: *Vet. Rec.*, **51**, 265, 1939.
- 7) 桑原(志)・吉田(仁)・田中(茂)・村杉(栄)・武石(昌)・常包(正): *東京獣畜誌* (19～20), 128, 1973.
- 8) 小笠原(成)・伊東(多)・神原(仁)・杉浦(明)・堀場(利)・吉田(暢)・湧井(秀): *獣畜報*, (486), 15, 1969.
- 9) 宮田(勝)・香田(孝)・小暮(規): *獣畜報*, (499), 785, 1969.
- 10) 桑原(志)・吉田(仁)・田中(茂)・村杉(栄)・武石(昌)・常包(正): *東京獣畜誌* (19～20), 120, 1973.
- 11) 武石(昌)・柳田(美)・常包(正): *獣畜報*, (623), 977, 1974.
- 12) 武石(昌)・岩城(隆)・安藤(洋)・長谷川(典)・常包(正): *日大農獣医学報*, **32**, 224, 1975.
- 13) CAMPBELL, D. M.: *Vet. Record*, **64**, 367, 1952.
- 14) LEATHEM, J. H.: *Endocrinology*, **22**, 559, 1938.
- 15) KUNDO, M. M., F. E. D'AMER, A. J. CARLSON & R. C. CUSTANSON: *Am. J. Physiol.*, **95**, 630, 1930.

Summary

In seven anestrus bitches, estrus was experimentally induced by a specially designed hormonal treatment, which has been modified from the original method developed by TAKEISHI *et al.*, in 1973, and all of these females were soon inseminated naturally or artificially.

The result of this experiment was as follows:

1. In each bitch, vulval bleeding was observed 3 to 9 days after the intramuscular injection with estrone of 300 to 30000 μ g dose.
2. A duplicate gonadotrophic injection, consisted of HCG 1000 MU and PMSG 200 to 400 IU was given on the day, after the sexual bleeding was withdrawn, and the second gonadotrophic administration was done on the day, the vaginal smear showed estrus phase.
3. Insemination was carried out on the day, when the minor axis of vulva in each estrus bitch became shorter.
4. Six of the seven bitches treated became pregnant, and parturition occurred 60 to 63 days after insemination. Average litter size was 4.25.