Recovery of Bovine Embryos by Invented Cervical Mucus Remover and Ova Collector Dish

Tatsuyuki SUZUKI, Shuichi MATSUDA, Yutaka SAKAI and Takashi ISHIDA

*Fukushima National Livestock Breeding Station, The Ministry of Agriculture,
Forestry and Fisheries, Nishishirakawa-gun, Fukushima 961*

(Accepted for publication August 3, 1987)

Summary. A newly devised cervical mucus remover was tested to improve a method for removing the cervical mucus before flushing the embryos. The embryos were collected in a newly devised collective dish.

The recovery rate of embryos was significantly higher with the new procedure than that with the cervical dilator. Namely, the number of embryos recovered were 12.05 ± 7.86 for the former vs 8.52 ± 6.82 for the latter ($P < 0.05$). Five of 43 donors had flushing trouble when the cervical dilator was used for removing the cervical mucus. However, there was no trouble when the newly devised cervical mucus remover was used for removing the mucus. **KEY WORDS:** BOVINE, FLUSHING, CERVICAL MUCUS REMOVER, COLLECTIVE DISH.

Jpn J Anim Reprod 33, 160-162, 1987

子宮頸管粘液除去器と卵回収容器の併用による 効率的なウシ胚の回収法

鈴木 達行・松田 修一・酒井 豊・石田 隆志

農林水産省福島種畜牧場 961 福島県西白河郡西郷村小田倉

一般にウシ胚は受精後7～8日目に非手術的な方法により子宮を灌流して回収される。この時期の子宮頸管は固く閉ざされ、粘着性の強い粘液で閉塞されている。したがって、この状態で直ちに頸管拡張棒やカテーテルを子宮頸管内に挿入すると糊状またはゼリー状の粘着性のある粘液を子宮内に押込むことになり、これが子宮灌流時のカテーテル小孔の目づまりの原因となり、胚回収を妨げる。そこで筆者らは受精卵を回収する前に頸管粘液を除去する目的で、先端から10cmの所まで直径2mm大の穴を18箇所開けたシリコン製の外筒部と内腔に密着するスチール製内芯部とからなる器具を新しく考察した。また、回収後の卵の検索を短時間で行うことを目的に、容器の周囲に75μmのメッシュを付けた器具を試作してウシ胚の回収に用いたところ、従来の方法に比べ

てより短時間で回収でき、胚回収率の向上が認められたので、その概要を報告する。

材料と方法

供試牛は福島種畜牧場繋養の2～10歳の黒毛和種雌牛81頭である。供卵牛には、前回の発情から9～14日後に卵胞刺激ホルモン(FSH)計24AU(デンカ製葉製0.5AU/ml)を朝夕2回に分けて3日間5・5・4・4・3・3AUずつ分割投与し、更にプロスタグランジン(PG)F_{2α}15mg(アジプソン製)をFSH投与開始後3日目の朝、昼、夕に、それぞれ5mgずつ分割投与した。次いで発情の現われた日の午後と翌朝の2回凍結精液を使用して人工授精を行った。黄体の形成数と未排卵卵胞数の推定は胚回収の前日、または当日に直腸検査により行った。

Fig. 1. Cervical mucus remover for removing the mucus from the cervix before flushing the ova in cattle.

A and B: The distal and proximal ends of cervical mucus remover.

(a) 18 holes 2 mm in diameter

(b) steel bar

(c) 2 rings for vacuum aspiration of the outer sheath

Fig. 2. A new cervical mucus remover after removing the mucus.

胚は過剰排卵処理により誘起された発情後7日目に回収した。まず、頸管拡張棒あるいは新しく考案した子宮頸管粘液除去器 (Fig. 1) を用い、それぞれ43頭と38頭について頸管拡張あるいは粘液を除去したのち、既報 (鈴木ら, 1984; 鈴木と下平, 1986) の多孔式カテーテル (ニプロ製) と自動灌流器具 (富士平製) を用いて、いずれも新しく考案した胚回収容器 (Fig. 2) に灌流液を集めた。

子宮頸管粘液除去器の構造は外筒部と内芯部とからなり、外筒部は長さ 40 cm, 直径 6 mm のシリコン製で、その先端部と先端から 10 cm の所まで直径 2 mm 大の穴を18箇所開けてあり、内芯部は直径 4 mm, 長さ 43 cm のスチール製で、内芯部の先端から 15 cm の所に外筒の内腔に密着するようにリングが付いている。使用時には、器具の先端が子宮頸管經由で子宮体へ到達した時に、内芯を約 15 cm 程度引きながら器具全体を膈外へ

Fig. 3. A new collective dish for collecting the embryos.

取り出した。頸管拡張棒による子宮頸管の拡張は、先端部が子宮体へ到達したのち、数回回転させながら子宮頸管を広げた後膈外へ抜去した。

胚の回収に用いた容器は高さ 4.5 cm, 直径 8 cm の円筒状で、底から 1 cm の所から高さ 1.5 cm, 幅 7.5 cm の 75 μ m のメッシュを2箇所張りつけ、取り外しのできるシリコン製の蓋の付いた構造になっている (Fig. 3)。灌流液には Wittingham's Modified Dulbecco's

Table 1. The recovery of ova using the new cervical mucus remover and cervical dilator for removing the cervical mucus

Used equipments for removing the mucus	No. of donors	No. CL palpated	No. of donors choked with mucus	No. ova recovered
Cervical dilator	43	13.64±6.40	5	8.52±6.82 ^a
Cervical mucus remover	38	13.93±6.85	0	12.05±7.86 ^b

* Mean ± SE a vs b P<0.05

PBS (Whittingham, 1971) を用い、左右子宮角を別々にそれぞれ 300 ml で灌流し、直接メッシュ付回収容器に灌流液を集め、実体顕微鏡下で胚を検索した。

結果および考察

頸管拡張棒とバルーンカテーテル、あるいは粘液除去器とバルーンカテーテルを用いた場合の胚回収率は、それぞれ 75.5% と 87.9% となり後者で有意に高かった (P<0.05)。推定黄体数は、頸管拡張棒を使用した牛群と粘液除去器を使用した牛群との比較では、それぞれ 13.64±6.40 (平均±標準偏差、以下同様) と 13.93±6.85 となり両群間に有意な差異はなかったが、回収胚数は 8.52±6.82 と 12.05±7.86 となり有意差 (P<0.05) が認められた。また、前者では胚回収時にバルーンカテーテルに目づまりを生じ、取り換えを行った事例が 5 例あったのに対し、後者ではこのような事例はみられなかった。

本実験で用いた頸管粘液除去器では、粘液を効果的に除去することが出来たのに対し、拡張棒では粘液が除去されないばかりか、逆に子宮内に押し込んでしまうことが考えられた。これは前者では、バルーンカテーテルに目づまりする例がなく、スムーズに灌流できたのに対し、後者ではバルーンカテーテルに目づまりが生じ、灌

流に支障を来とし、5 例ではカテーテルの交換を余儀なくされたことで示唆される。また、回収容器からの胚の検索は回収後直ちに鏡検が可能であったことから、これまでの静置法 (Elsden *et al.*, 1976; Sreenan, 1978) に比べて胚の回収所要時間を 1 時間以上も短縮することができた。このように本実験で用いた粘液除去器と胚回収容器の併用は、ウシの胚回収のために極めて有効であると考えられた。

References

- Elsden RP, Hasler JF, Seidel GE (Jr.) (1976) Non-surgical recovery of bovine eggs. *Theriogenology* 6: 523-532.
- Suzuki T, Shimohira I (1986) Recovery of bovine embryos by new developed balloon catheter. *Jpn J Anim Reprod* 32: 42-43 (in Japanese).
- Suzuki T, Suzuki M, Shimohira I, Fujiyama M (1984) An automatically flushing instrument of bovine's embryo. *Jpn J Anim Reprod* 30: 194-196 (in Japanese).
- Sreenan JM (1978) Non-surgical egg recovery and transfer in the cow. *Vet Rec* 102: 58-60.
- Whittingham DG (1971) Survival of mouse embryos after freezing and thawing. *Nature (Lond)* 223: 125-126.

要 約

新しく考案した子宮頸管粘液除去器が胚回収前の頸管粘液除去に有効かどうかを検討した。胚は新しく考案した胚回収シャーレ内に集めた。

新しい手法での胚の回収率は子宮頸管拡張棒を用いたものよりも有意に高かった。すなわち回収された胚の数は前者で 12.05±7.86、後者で 8.52±6.8 となった (P<0.05)。頸管粘液除去のために頸管拡張棒を用いた例では灌流障害が 43 頭中 5 頭にみられた。しかし新しく考案した子宮頸管粘液除去器を用いた例では灌流障害はみられなかった。