酢酸クロルマジノン・インプラント剤の 雌犬における発情抑制効果と安全性

丸尾幸嗣¹⁾ 円谷 剛¹⁾ 金重辰雄²⁾

村越正典³⁾ 鈴木 馨¹⁾ 飯塚三喜¹⁾

1) 東京農工大学農学部 (府中市幸町 3-5-8, 〒183)

2) 金重動物病院 (横浜市戸塚区汲沢町 428-7, 〒245)

3) 帝国臓器製薬株式会社安全性研究部 (川崎市高津区下作延 1604, 〒213)

(平成 5 年 2 月 5 日受付・平成 5 年 6 月 18 日受理)

Estrus Control and Safety Study in Bitches Implanted with Chlormadinone Acetate
Kohji MARUO¹⁾, Tsuyoshi TSUMURAYA¹⁾, Tatsuo KANESHIGE²⁾, Masanori MURAKOSHI³⁾,
Kaoru SUZUKI¹⁾ and Miki IIZUKA¹⁾

- 1) Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu-shi, Tokyo 183, Japan
- 2) Kaneshige Animal Hospital, Gumizawa, Totsuka-ku, Yokohama-shi, Kanagawa-ken 245, Japan
- 3) Department of Safety Research, Teikoku Hormone Mfg. Co. Ltd., Kawasaki-shi, Kanagawa-ken 213, Japan

SUMMARY

In bitches subcutaneously implanted with 5 mg/kg of chlormadinone acetate (CMA) estrus was successfully controlled for twelve months. Treating with 5.4 to 10.9 mg/kg of CMA was effective in 17 out of 19 bitches, and with regard to the side-effect by CMA there were diarrhea and pyometra one case each.

—Key Words: bitch, chlormadinone acetate, estrus control.

-----J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 46, 780~784 (1993)

要 約

雌犬の頸部皮下に酢酸クロルマジノン (CMA) インプラント製剤 (5mg/kg) を埋め込むことにより発情を 12 カ月間抑制できた。発情抑制効果は 5.4~10.9mg/kg 投与の 19 例中 17 例において明らかで、副作用として下痢、子宮蓄膿症が各 1 例に認められた。——キーワード: 雌犬, 酢酸クロルマジノン, 発情抑制。

-----日獣会誌 46, 780~784 (1993)

犬や猫の避妊手段としては、従来は卵巣摘出術や卵巣・子宮全摘出術などの外科的処置を実施することが奨励されてきたが、このような避妊手術によらない、種々のステロイド剤による発情抑制の研究も進められている^{1,2,4,6,11)}。本邦においては最近合成黄体ホルモンであるプロリジェストン¹⁰⁾の臨床使用が認可されたが、避妊薬の研究開発は今後ますます必要度を増すものと思われる。そこで、本研究では別の合成黄体ホルモンである酢酸クロルマジノン (CMA) インプラント製剤をとりあげ、雌犬における最小有効量を実験的に決定したのち、この量を基にして臨床例で有効かつ安全に適用できるかどうか

かを 12 カ月間にわたって検討した。

材料および方法

実験例における検討

投 与 方 法: CMA の結晶とシリコン樹脂を混合して成型した直径 5mm, 長さ 30mm の円柱棒状のインプラント製剤を使用し (1 本中に CMA 100mg を均質に含んでいる), これを投与量に従って切断して用いた。CMA インプラント製剤の投与は外陰部の外観および腫瘍塗抹所見を指標にして無発情期に行った。具体的には 24 時間絶食した実験例に硫酸アトロピン* (0.04mg/kg) とキシラジン* (2mg/kg) を皮下投与して鎮静後、0.5%塩酸プロカイン*約 5ml にて局所麻酔を施した。頸部背側中央部の皮膚を 3cm 切開し、皮下織に CMA イ

* 硫酸アトロピン: 田辺製薬(株), 大阪

* キシラジン: バイエルジャパン(株), 東京

* 0.5%塩酸プロカイン: 東和薬品(株), 大阪

表1 CMA インプラント製剤臨床試験に用いた実験犬 19 例の概要

犬番号 (例)	投与量 (mg/kg)	品 種	年 齢	体重 (kg)	発情の有無	血漿プロジェステロン濃度 (ng/ml)
1	5.4	柴	4 Y	7.4	無	1.7
2	5.7	柴	9 Y	7.0	無	0.9
3	5.7	雑	1 Y 10M	7.0	無	0.2
4	5.8	雑	6 Y	17.1	無	< 0.1
5	6.4	シェルティー	6 Y	10.4	無	3.6
6	6.7	コッカースパニエル	6 Y	9.0	無	0.9
7	7.1	シェルティー	1 Y	8.4	無	1.3
8	7.7	雑	1 Y 6 M	13.0	無	1.3
9	8.0	雑	1 Y	9.4	無	2.1
10	8.3	プードル	1 Y 4 M	2.4	無	3.8
11	8.7	シェルティー	5 Y 6 M	11.4	無	2.6
12	9.1	柴	4 Y	8.8	無	< 0.1
13	9.3	シェルティー	10M	5.4	無	1.4
14	9.6	シュナウザー	1 Y 8 M	7.8	無	6.8
15	10.0	ビーグル	2 Y	15.0	無	>20.0
16	10.0	雑	6 Y	12.5	無	7.9
17	10.0	雑	4 Y	13.6	無	0.6
18	10.1	ヨーキー	6 Y	3.3	無	0.2
19	10.9	ボメラニアン	1 Y	4.6	無	10.2

ンプラント製剤を埋没し皮膚縫合した。術後は抗生物質を投与し1週間後に抜糸した。

供試犬：供試犬は生後1回以上発情を示し、かつ一般臨床所見に異常のないビーグル雌犬6例（体重8.5～12.5kg，年齢1～2歳）を用いた。これら6例をCMAインプラント製剤*2.5mg/kg投与群3例（No. 1, 2, 3），5.0mg/kg投与群3例（No. 4, 5, 6）の2群にわけ、12カ月間にわたって1カ月ごとに以下に示す検査を実施した。

一般臨床検査：CMAインプラント製剤投与日から1カ月ごとに一般臨床検査として体重，体温，脈拍数，呼吸数，元気，食欲，姿勢，行動，埋め込み局所所見，被毛状況，腹部所見，排便・排尿状況を観察した。生殖器所見としては乳頭，乳腺，外陰部の腫大・硬結の有無とその程度，外陰部からの漏出液の有無とその性状について検査した。

血中ホルモンの測定：血清中のプロジェステロン濃度は前もって石油エーテルにより抽出後 Enzyme Immunoassay キット*により，血清中 11-OHCS 濃度は硫酸エタノール蛍光法⁹⁾により，血漿中 CMA 濃度はガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー⁷⁾により測定した。

血液学的検査：赤血球数，白血球数，ヘモグロビン量，ヘマトクリット値，白血球百分率を求めた。また，血液化学的検査として臨床化学自動分析装置 VISION およ

び付属キット*を用いて GOT，GPT，尿素窒素，クレアチニン，グルコース，コレステロール，ALP を測定した。また，血漿総蛋白および標準セルロースアセテート電気泳動法にて血清蛋白の A/G 比を求めた。

病理組織学的検査：CMAインプラント製剤投与12カ月後麻酔下で安楽死させたのち剖検を行い，主要臓器についてはパラフィン包埋，HE染色により病理組織学的に検査した。

測定値の有意差：投与群における投与直前に対する投与後の測定値の有意差はt検定により検討した。なお，2.5mg/kg投与No. 2の10～12カ月の間の血液，血液化学的検査値および血清 11-OHCS 値はインプラント製剤が除去されていたため有意差検定から除外した。

臨床例における検討

供試犬：動物病院外来犬のうち飼主の同意を得た19例の雌犬について，CMAインプラント製剤の投与による発情抑制効果と安全性について12カ月にわたり検討した。年齢は10カ月～9歳，体重は2.4～17.1kg，品種は純血種が13例，雑種が6例であった（表1）。

投与方法：投与時期の決定およびCMAインプラント製剤の投与方法は前述の実験例による方法と同様で投与量は5.4～10.9mg/kgとした（表1）。

検査項目：一般臨床検査と生殖器検査，血漿プロジェステロン濃度および血液学的検査を前述した方法により測定した。

成 績

実験例における検討

一般臨床症状：12カ月間にわたる一般臨床検査およ

* TZV-801：帝国臓器製薬(株)，東京

* プレグテスト：帝国臓器製薬(株)，東京

* VISION：ダイナボット(株)，東京

図1 CMA インプラント製剤投与犬の血漿 CMA および血清プロゲステロン濃度

び生殖器所見では発情徴候は全例とも認められなかった。個体ごとの体重の推移では 2.5mg/kg 投与群 No. 2 は投与後 9 カ月目より明らかな体重減少が認められたが、他の 5 例はわずかな増加がみられたのみであった。2.5 mg/kg 投与群 No. 2 は埋没処理後 2 カ月経過しても術部の発毛が不完全で、投与後 7 および 8 カ月目に外陰部から白色クリーム色の分泌物が認められ、10 カ月目に CMA インプラント製剤を除去するとともに抗生物質を投与したところ症状は改善された。5.0mg/kg 投与群 No. 5 は投与後 3, 6 カ月に、No. 6 は 2, 3, 7 カ月に外陰部から白色ないしクリーム色の少量の分泌物が認められた。その他には著変は認められなかった。

血中ホルモン濃度：CMA 濃度は用量依存性を示し、インプラント製剤を 10 カ月目に抜去した 2.5mg/kg 投与群 No. 2 以外は実験期間中において持続的にある一定の濃度を維持した (図 1)。プロゲステロン濃度は 2.5 mg/kg 投与群の No. 1 の 10 カ月目、同じく No. 2 の 9 カ月目にそれぞれ 24.0, 7.2ng/ml という高値を示した

図2 CMA インプラント製剤投与犬の赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量および白血球数(平均値)

が、それ以外はすべて 2ng/ml 以下であった (図 1)。11-OHCS は実験期間中、両群とも正常範囲内にあった。

血液学的所見：ヘモグロビン量については 2.5mg/kg 投与群で 5 カ月目から、5.0mg/kg 投与群では 6~12 カ月目まで有意な減少 ($P < 0.01$ または $P < 0.05$) を示した (図 2)。白血球数、赤血球数、ヘマトクリット値および白血球百分率には著変は認められなかった。また、血液化学所見として GOT, GPT, 尿素窒素, クレアチニン, グルコース, コレステロール, ALP, 血漿総蛋白, A/G 比はいずれも正常値の範囲内であった。

病理組織学的所見：2.5mg/kg 投与群における剖検所見は No. 1 の卵巣断面での黄体, No. 2 の卵巣の卵胞と黄体の存在, No. 3 の子宮の軽度の肥大が認められた。病理組織学的所見は No. 1 のインプラント製剤移植部位の軽度な炎症性細胞浸潤が認められ, No. 2 の子宮は剖検時、形状、太さともほぼ正常であったが、内膜上皮の嚢胞状拡張とリンパ球浸潤が認められ、いわゆる嚢胞性内膜炎の像を示した。No. 3 は子宮腺の軽度拡張が認められ, No. 1 および 3 では乳腺の軽度な腺房過形成と乳汁分泌が観察された。5.0mg/kg 投与群における剖検所見は No. 4 の子宮角が嚢胞状に拡張し内腔には灰白色の粘液が貯留していた (図 3-a)。No. 5 および 6 の子宮は著変は認められず (図 3-b, 3-c)、また、卵巣断面において 3 例とも黄体を認めなかった。病理組織学的所見は No. 4 の子宮において子宮内膜の嚢胞状過形成を認めた (図 3-d)。No. 5 および 6 では 2.5mg/kg 投与の No. 3 と同様に子宮腺の軽度な拡張が観察された (3-e, 3-f)。乳腺においては軽度な腺房過形成と乳汁分泌が No. 4 (図 3-g) をはじめ 5.0mg/kg 投与の全例に認められ、卵巣では剖検所見と同様に黄体は観察されなかった。ま

図3 CMA インプラント製剤5.0mg/kg 投与後12カ月の
ビーグル犬の子宮の外観および子宮、乳腺の組織像
a: No. 4, b: No. 5, c: No. 6, d: No. 4, 子宮内膜
の嚢胞状過形成を認める (HE $\times 50$) e: No. 5
およびf: No. 6, 子宮腺の軽度拡張を認める (HE $\times$
100) g: No. 4 乳腺における軽度な腺房過形成と乳
汁分泌が認められる (HE $\times 100$)

た, No. 4, 5 および 6 の下垂体および副腎には著変は認められなかった。

臨床例における検討

CMA インプラント製剤の投与前の血液所見はすべての動物において異常は認められなかった。また、膣垢塗抹検査によって 19 例とも無発情期と判定したが、プロゲステロン濃度では 4 例が 6.8ng/ml 以上の値を示した (表 1)。CMA インプラント製剤投与後 19 頭中 2 頭に異常が認められた。すなわち No. 4 の雑種犬は CMA インプラント製剤投与 2 カ月後に元気、食欲なく、体温上昇、白血球数の増加、外陰部から膿が排出されたことにより子宮蓄膿症と診断し、卵巣・子宮全摘出術を実施しあわせてインプラント製剤も抜去したところ健康を回復した。また、No. 5 のシェルティーは CMA インプラント製剤投与直後から下痢がおこり、治療によって改善が認められないため投与 18 日後にインプラント製剤を抜去したところ下痢は止まった。その他の 17 例は観察した 12 カ月の間の異常所見は認められず、しかも発情徴候は発現しなかった (表 1)。

考 察

CMA インプラント製剤の発情抑制効果は実験的検討においてプロゲステロン濃度と病理組織学的所見から 2.5mg/kg 投与群では発情の回帰が 3 例中 2 例に認められたが、5.0mg/kg 投与群では認められなかったことより 5.0mg/kg 投与が 12 カ月間の発情抑制のための最小有効量と考えられた。この時の血中 CMA 濃度から 0.5 ないし 1ng/ml が発情抑制の最小有効血中濃度と推察された。また、このことは 5.4~10.9mg/kg の範囲で投与した臨床例において 12 カ月間発情が抑制されたことから裏付けられ、SEKELES ら⁵⁾の水性懸濁注射液 3 mg/kg の皮下投与により 6 カ月間発情抑制されたとする結果よりも長期間の有効性が示された。なお、CMA 投与前にプロゲステロン濃度が高値を示した実験例 2 例、臨床例 4 例においても 5.0mg/kg 以上の投与によって 12 カ月間にわたって発情抑制が可能であったことから、CMA の投与時期は必ずしも無発情期である必要はないのかもしれない。ただし、一般臨床症状および膣垢塗抹所見により無発情期と判定した例においてプロゲステロン濃度が高値を示した理由は不明であった。

また、CMA はグルコルチコイド作用をもち犬副腎に抑制的に働くことが報告されているが⁸⁾、本実験では 11-OHCS、グルコース、好酸球数、副腎重量および副腎の病理組織所見に異常が認められないことより、CMA 2.5 および 5.0mg/kg 投与は副腎機能抑制作用はないと思われる。また、2.5mg/kg 投与群 No. 1 のインプラント製剤移植部位で認められた軽度な炎症性細胞浸潤は 5.0

mg/kg 投与群では全く観察されなかったことから偶発的所見と判断された。CMA 投与により異常症状を示した実験例の 2.5mg/kg 投与群の No. 2、臨床例の No. 4 および 5 の CMA 投与との因果関係は本検討では明らかにできなかったが、多数の症例を用いた詳細な検討も必要と思われる。

次に、CMA 投与による血液および血液化学所見ではヘモグロビン量のみが 6 カ月を過ぎてから減少した以外は特に問題となる所見はなかった。この原因は不明であるが佐原らの (第 111 回日本獣医学会, 1991) 報告ではこのような異常は認められていない。

以上により、CMA インプラント製剤の皮下投与における 12 カ月間の観察では 5.0mg/kg 投与以上において発情回帰のないことが確認された。今後は、発情抑制の持続期間、ヘモグロビン量の有意な減少、子宮への影響などについて検討することが必要と思われる。さらに避妊手術後産子を希望する飼主がかなりいる現状³⁾を考えれば、CMA インプラント製剤の抜去後の発情回帰と妊娠成立についての検討も必要であろう。なお、この点に関しては佐原らにより詳細に検討されており、1 年間の CMA インプラント製剤 (7.5~50mg/kg) 埋め込み後に摘出したところ、供試犬の全例に発情が回帰し、さらには受胎性も認められ、正常に分娩したことが報告されている。このように、CMA インプラント製剤による発情抑制 (避妊) は、卵巣・子宮摘出手術に代わる一つの方法と考えられた。

本論文の一部は第 112 回日本獣医学会 (岐阜) において発表した。

引用文献

- 1) BRYAN HS: Am J Vet Res, 34, 659-663 (1973)
- 2) EVANS JM, SUTTON DJ: J Reprod Fert, Supp 39, 163-173 (1989)
- 3) 三宅陽一, 金田義宏, 原 茂雄ほか: 日獣会誌, 41, 267-271 (1988)
- 4) 佐原啓二, 筒井淑郎, 内藤洋三ほか: 日獣会誌, 45, 191-194 (1992)
- 5) SEKELES E, de LANGE A, SAMEL L et al: J small Anim Pract, 23, 151-158 (1982)
- 6) SOKOLOWSKI JH, ZIMBELMAN RG: Am J Vet Res, 34, 1493-1499 (1973)
- 7) 塚本國雄, 本間誠次郎, 岩村 敏ほか: 薬理と治療, 16, 2504-2513 (1988)
- 8) 臼井哲夫, 牧野正雄, 堀内 敏ほか: 応用薬理, 15, 1185-1209 (1978)
- 9) 臼井敏明, 河本裕子, 島雄周平ほか: ホルモンと臨床, 18, 151-156 (1970)
- 10) VAN OS JL, OLDENKAMP EP: J small Anim Pract, 19, 521-529 (1978)
- 11) WILDT DE, KINNEY GM, SEAGER SWJ: JAAHA, 13, 223-231 (1977)