糞中 progesterone 濃度の測定によるメキシカン ヘアレスピッグの発情周期把握

筒井真理子・寺井禎貴*・山田由香理・竹下 剛・森好政晴**

(独)家畜改良センター茨城牧場, 茨城県筑西市, 308-0112

* (独)家畜改良センター宮崎牧場, 宮崎県小林市, 886-0004

** 酪農学園大学, 北海道江別市, 069-8501

(2006 年 7 月 5 日受付, 2007 年 5 月 7 日受理)

緒 言

メキシカンヘアレスピッグ (以下, MHP) は, 実験用動物として幅広い分野での利用を期待して 1996 年に我が国に初めて導入された小型豚である¹⁾。このため, 国内においてその管理や繁殖に関する基礎的な知見が少なく, 飼育に際しては, 他種の小型豚や産業用豚の管理技術を応用している。概して小型豚は産子数が少なく, また, 非繁殖期間が長引くと不妊になりやすい²⁾ ことから, 特に繁殖に関する基礎的な知見の蓄積が望まれている。

MHP の中には外見上, 発情徴候の不明瞭な個体も認められる。そのような事例では, ホルモン動態の把握が次の交配時期の推定に有効な手法の一つと考えられる。しかしながら, 豚は比較的神経質で, 採血時の保定ストレス等により, ホルモン動態に変化を生じる事例も報告されている^{3,4)}。

森好ら^{5,6)} は, 牛用に市販されている EIA (Enzyme Immunoassay) キットが, 産業用豚の血中および糞中ステロイドホルモンの測定に有用であることを示した。この方法によれば, 通常の実験

施設においてもホルモン濃度測定が可能で, また, 血中ステロイドホルモン濃度は乳汁, 唾液, 尿および糞便中のそれと一定の相関を示すことが報告されている⁵⁾ ことから, 豚に対する侵襲性が低い測定方法として, 血液ではなく糞便を用いたホルモン動態把握ができる可能性もある。

今回, MHP 成雌豚の発情周期において, エストロジェンの中で発情時期に一番大きく変動すると考えられるエストラジオール (E_2) 濃度と, 同じくジェスタージェンの代表的ホルモンであるプロゲステロン (P_4) 濃度の動態を検討した。また, MHP における血中および糞中 P_4 濃度の関係や, 次回交配時期推定の可能性についても検討した。

材料および方法

1. 供試豚

茨城牧場にて飼養する, 性成熟に達した MHP の成雌 3 頭 (明瞭な発情徴候を示す個体 A および発情徴候が外観上不明瞭な個体 B および C) を用いた。それぞれ, キャスター付きステンレス製単飼ケージにて繋養し, 1 発情周期以上の間, 1 日

Measurement of Fecal Levels of Progesterone for Ascertaining the Estrus Cycle of Mexican Hairless Pigs

Mariko TSUTSUI, Sadataka TERAJ*, Yukari YAMADA, Tsuyoshi TAKESHITA and Masaharu MORIYOSHI**
Ibaraki station of Natinal livestock breeding center, Chikusei-shi 308-0112, Japan

* Miyazaki station of Natinal livestock breeding center

** Rakuno gakuen university

Key words : Mexican hairless pig, progesterone, EIA

連絡者: 筒井真理子 (E-mail : m0tsutsu@nlbc.go.jp Tel. 0564-46-4581)

2 回発情観察^{7,8)}を行うとともに、1 日 1 回、採血および採糞を実施した。

2. 採血方法

前大静脈洞内カテーテル留置⁹⁾を施し、採血を実施した。血液はヘパリン加血液として採取後速やかに 1,700 G・15 分間で遠心分離を行い、得られた血漿は、測定時まで -20℃ に凍結保存した。

3. 採糞方法

無保定状態もしくは給餌時無保定状態で、直腸より用手採糞を行った。採取した糞 0.5 ml は、滅菌蒸留水 20 ml により均一な溶液となるまで混和した後、1,700 G・15 分間の遠心分離を行い、上清を測定時まで -20℃ に凍結保存した。

4. 測定方法

血中 P_4 濃度測定には、オブチェック血液用 EIA キット（川崎三鷹製薬株式会社）を用い、糞中 P_4 濃度測定には、オブチェック牛乳用 EIA キット（川崎三鷹製薬株式会社）を使用した。また血中 E_2 濃度は、RIA 固相法¹⁰⁾により測定した。

結果と考察

1. 血中 P_4 濃度および E_2 濃度の動態

試験期間中に供試豚が外陰部や行動の変化等、何らかの発情徴候を示した初日を Day0 として、その前後 10 日間について、血中 P_4 濃度と血中 E_2

濃度の動態を検討した（図 1）。

血中 P_4 濃度は、3 頭とも発情周期に応じた増減を示し、A では発情開始の翌日に、B では微弱発情が認められた当日に、また、C では微弱発情が認められた翌日に、それぞれ最も低値を示した。

血中 E_2 濃度は、明瞭な発情期を示す個体 A においては発情時期直前に増加したが、発情徴候が微弱な 2 頭においては、検出限界（10 pg/ml 未満）以下で推移した。

これらのことから、今回の試験においては、発情周期の把握には E_2 濃度よりも P_4 濃度の測定が有効であると推察した。

2. 血中および糞中 P_4 濃度の比較

観察期間中の血中および糞中 P_4 濃度を比較するため、それぞれ 1 発情周期以上の期間（26 日間～36 日間）における血中 P_4 濃度と採血当日、翌日、2 日後および 3 日後の糞中 P_4 濃度を比較した。その結果、いずれの個体も採血 2 日後が、最も両者の相関が高かった（表 1）。

血中 P_4 濃度と糞中 P_4 濃度は、2 日間のタイムラグをはさんで高い相関を示すことが及位¹¹⁾により産業用豚で報告されているが、MHP においても同様の結果を得た。

3. 微弱発情豚における交配時期の推定

Day0 に血中 P_4 濃度が発情周期中最低値とな

※ B and C showed feeble estrus on Day 0.

図 1. 血中プロゲステロン濃度と血中エストラジオール濃度の推移

Fig. 1. Variation of the level in the plasma-progesterone and the plasma-estradiol

表 1. 血中および糞中プロジェステロン濃度の相関

Table 1. Coefficient of correlation of the level of progesterone between plasma and feces

Days after blood sample collection	A	B	C
0	0.383	0.718	0.576
1	0.732	0.789	0.777
2	0.732	0.800	0.873
3	0.704	0.579	0.737
Observation period	28 days	36 days	30 days

り、微弱な発情徴候を呈した個体 B は、Day22 に再度、血中 P_4 濃度が発情周期中最低値となったが、その前後で外見上は発情徴候が認められなかった。

同様に、Day0 に微弱な発情が認められ、その翌日に血中 P_4 濃度が発情周期中最低値となった個体 C も、Day20～Day22 に血中 P_4 濃度が発情周期中最低値を示したが、Day21 に非常に微弱な発情徴候が認められたのみであった。

発情徴候が微弱な個体では、通常、繁殖に供することが困難であるが、1 発情周期以上、 P_4 濃度のモニタリングを行い、周期性を確認できれば発情周期が把握可能となり、次回の交配時期が推定できると思われる。その際、血中 P_4 濃度の推移を糞中の P_4 濃度で推測すれば、採糞による MHP の発情周期や交配時期の推定が可能となる。

今回の例で言えば、個体 B は Day1～Day3 に、個体 C は Day2～4 に、それぞれ糞中 P_4 濃度が周期中最低値を示したことから、糞中 P_4 濃度が最低値となった日から 19～20 日後が次回の発情時期の目処になると推定された。

以上の結果より、森好ら^{5,6)}の市販牛用 EIA キットを用いた豚のホルモン測定手法は、MHP にも応用可能であると思われた。また、一般に神経質な傾向が強い小型ブタの発情周期の把握や発情微弱個体の交配時期推定には、糞中 P_4 濃度の測定

が簡便かつ有用であることが示唆された。

文 献

- 1) 社団法人日本実験動物協会編：実験用小型ブタの開発，20-33，2001.
- 2) 中西喜彦：我が国におけるミニブタ開発の現状，アニテックス，**11** (1)，4-11，1999.
- 3) G. SPENCER, G.S. and HALLETT, K.G. : Hormone and metabolite changes with stress in pigs, In Swine in Biomedical Research 1, Plenum Publishing Corp., New York, p 159-165, 1986.
- 4) BERNETT, J.L. and HEMSWORTH, P.H. : The impact of handling and environmental factors on the stress response and its consequences in swine., Lab. Anim. Sci. **36** (4), 388-368, 1986.
- 5) MORIYOSHI, M. : Clinical study of breeding disorders and early pregnancy diagnosis in sows., J. Rakuno Gakuen Univ., **22** (1), 33-79, 1997.
- 6) MORIYOSHI, M., NOSOKI, K., OHTAKI, T., NAKADA, K., NAKAO, T. and KAWATA, K. : Measurement of gestagen concentration in feces using a bovine milk progesterone quantitative test EIA kit and its application to early pregnancy diagnosis in the sow., J. Vet. Med. Sci. **59** (8), 695-701, 1997.
- 7) 社団法人日本家畜人工授精師協会編：家畜人工授精講習会テキスト（家畜人工授精編），344-350，1980.
- 8) 柏崎 守・久保正法・小久江栄一・清水実嗣・出口栄三郎・古谷 修・山本孝史編：豚病学（第四版），116，近代出版，東京，1999.
- 9) 株式会社エス・エル・エー研究所編：ミニブタ実験マニュアル，65-69，2000.
- 10) 清水幸子・大久保和俊・栗原広行・矢内原巧：エストロゲン エストロン (E_1)，エストラジオール (E_2) とエストリオール (E_3)，日本臨床，**53**，553-565，1995.
- 11) NOSOKI, K., MORIYOSHI, M., OHTAKI, T., NAKADA, K. and NAKAO, T. : Fecal gestagen determined in sows to diagnose pregnancy early., J. Rakuno Gakuen Univ., **24** (1), 1-6, 1999.