

プロスタグランジンF₂ 及びPMSG、hCGによる豚の排卵同期化

柴田貴子*・田島茂行*・安藤康紀*

摘要：発情周期の短縮、個体間の排卵時期の斉一化、個体における排卵時間（排卵開始から終了までの時間）の短縮を目的として、PGF₂、PMSG及びhCGの投与を行った。これらホルモンを種々の組合せで投与し、発情時に人工授精を行った。6日後に胚を回収し、その発育ステージから排卵状況を推定した。

- 1 発情終了後12日目にPGF₂を朝夕2回投与したところ、発情周期が約2.0日間短縮された(P<0.05)。
- 2 対照区及び、PMSG投与72時間後にhCGを投与した区では脱出胚盤胞から桑実胚まで発育ステージが分散していた。一方、PGF₂をPMSG投与前日に朝晩2回投与した後hCGを投与した区では、回収胚の発育ステージは拡張胚盤胞に集中していた。

このことから、PGF₂とPMSG-hCGを組み合わせる投与することによって、性周期を約2.0日間短縮することができた。また、胚の発育ステージが拡張胚盤胞に集中していたことから、排卵時期の個体差が低減されたことと、個体における排卵時間の短縮ができたことが推察された。

キーワード：PGF₂、PMSG、hCG、豚、排卵時期の斉一化、排卵時間の短縮

The Method for Synchronizing of Ovulation with Prostaglandin F_{2α} and Gonadotropin in Gilts

SHIBATA Takako, TAJIMA Shigeyuki and ANDO Yasunori

Abstract: We investigated the effects of administration prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) followed by gonadotropin on cyclic gilts. Eighteen gilts were assigned to three groups. Group-I was the control. Group-II was injected with PMSG and hCG as in the same manner as usual method for synchronizing of ovulation. Group-III was given PGF_{2α} followed by PMSG and hCG injections. PGF_{2α} was injected to gilts twice a day (morning and evening) on Day 12 (Day0 = the last day of previous estrous). They were then received artificial insemination (AI) and embryos were collected on 6 day after AI.

1. In Group-III, the estrous cycle after treatment was reduced by 2.0 days compared with before treatment (P<0.05).
2. In Group-I and -II, various stages of embryos were collected, from morula to hatched blastocyst. On the other hand, embryos of Group-III concentrated on expanded blastocyst.

These results suggested that administration PGF_{2α} followed by gonadotropin is useful for reducing of estrous cycle, synchronizing of ovulation time, and shortening of ovulation period which is term to release ova, in cyclic gilts.

Key Words: PGF_{2α}, PMSG, hCG, Gilt, Synchronizing of Ovulation

緒言

豚の人工授精は、通常1発情中に2～3回以上の授精を行っており¹⁾、人工授精の省力化のメリットを十分活かすに足りない要因となっている。それは、豚の発情が2～3日間と牛に比べて長く、発情開始から排卵までの時間が個体により大きく異なり、あらかじめ授精適期を正確に把握できないためである²⁾。また1発情期に10～20個の卵子を排卵するため、排卵がばらつくと発育の遅れた胚は着床できず淘汰されるといわれている³⁾。

そのため、豚の排卵時期を斉一化すること、排卵を短時間に集中させることは、定時授精には欠かせない技術である。

牛ではプロスタグランジンF₂ (PGF₂) を利用した発情同期化技術が実用化されており^{4,5)}、人工授精等の省力化に役立っている。豚では発情周期のごく限られた期間でしかPGF₂ の黄体退行効果がなく、発情同期化には利用できないと考えられてきた⁶⁾。しかし最近、黄体初期～開花期でも反復投与することにより早期黄体退行を引き起こし発情周期が短縮したことが報告され⁷⁻⁹⁾、PGF₂ による発情同期化技術の可能性が示された。しかし、PGF₂ 投与後定時授精を行ったところ受胎率が低下したことが報告され、PGF₂ 単独投与では個体ごとの排卵時期を斉一化することが困難であることが示唆されている¹⁰⁾。

そこで、本試験では発情周期の短縮、個体間の排卵時期の斉一化、個体における排卵時間の短縮を目的として、PGF₂、妊馬血清性腺刺激ホルモン (PMSG) 及び人絨毛性性腺刺激ホルモン (hCG) の投与を行った。

材料及び方法

1 試験期間と供試豚

試験は2003年から2006年にかけて実施した。供試豚は、約7～12ヶ月齢、体重約140～180kgの正常な発情周期を営む未経産豚18頭 (デュロック種、大ヨークシャー種、ランドレース種) を用いた。

2 試験区の設定

ホルモン処理の異なる3区を、図1に示すように設定した。

区：対照区

ホルモン製剤を用いず自然発情を利用した

区：PMSG、hCG投与区

加納ら¹¹⁾の報告に準じて発情終了後13～16日目にPMSGを、さらに72時間後にhCGを投与した

区：PGF₂、PMSG、hCG投与区

発情終了後12日目に朝夕計2回PGF₂ (15mg×2回) を投与し、翌日にPMSG、その72時間後にhCGを投与した

3 人工授精及び採卵方法

区及び区は発情開始12時間後から2～3回の人工授精を行った。区についてはhCG投与後約24時間と40時間の2回人工授精を行った。

胚の回収は、人工授精後6日目にと殺又は開腹手術を行い、子宮灌流により行った。回収された灌流液を直ちにシャーレに移した後、実体顕微鏡下で集卵し、胚の形態を観察した。

4 調査項目

ホルモン処理前後の発情発現状況及び発情持続時間 (雄許容期間) を、雄豚を用いた背圧反応によって観察した。

採卵時に黄体数を確認したほか、回収された胚の発育ステージを顕微鏡下で検査し、排卵状況を推定した。

5 統計処理

統計処理は分散分析で行い、試験区間の差の検定はTukeyの多重検定で行った。

試験結果

1 発情周期の短縮効果

PGF₂ 処理による発情周期短縮効果を表1に示した。

区の処理前後の発情周期はそれぞれ20.2±1.1日、18.2±0.8日で、有意に発情周期が短縮され (P<0.05)、本研究においてPGF₂ の黄体退行効果が得られたことが確認できた。

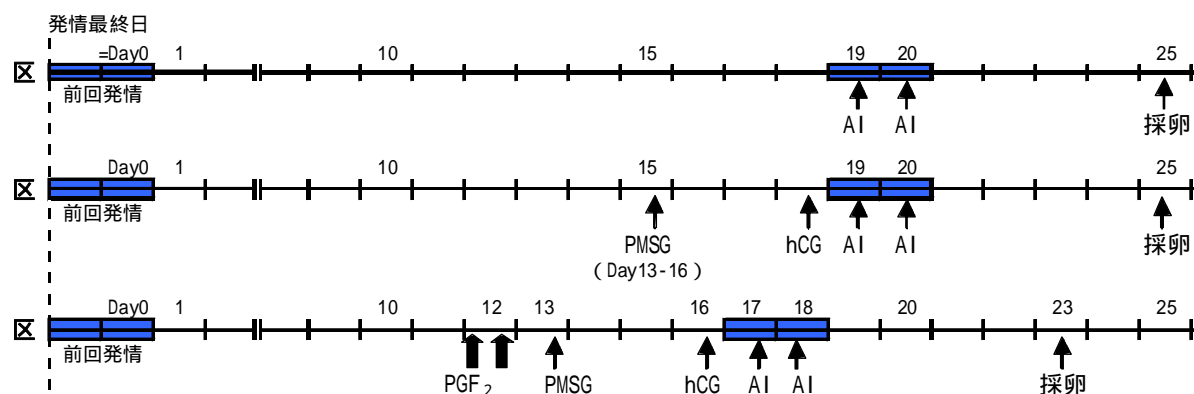


図1 試験区の設定

また、発情持続時間は処理前後で有意差は認められなかった。

2 胚回収成績

胚回収成績を表2に示した。平均黄体数及び平均回収胚数ともに、各試験区間で有意差は認められなかった。

3 回収胚の発育ステージ

回収された胚の各発育ステージの平均個数及び回収胚に対する平均割合を表3に示した。区及び区では桑実胚～脱出胚盤胞まで広い範囲のステージに分散しており、また未受精卵や変性胚の割合も高かった。一方区では、拡張胚盤胞が回収胚の約74%を占め、他の発育ステージより個数及び割合ともに有意に大きく ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)、顕著なピークが認められた。また、区の拡張胚盤胞の割合は、区に比べ有意に高い割合を示した ($P < 0.05$)。

次に、各区における個体間のバラツキを確認するため、供試豚ごとの回収胚の発育ステージ分布を図2に示した。

区及び区では、胚発育ステージのピークが各個体で分散していた。また異常胚（未受精卵及び変性胚）の占める割合が非常に高い個体も多かった。区においては、各個体の胚ステージのピークが拡張胚盤胞に集中しており、回収胚に占める割合もほとんどの個体で50～100%と高かった。

さらに細かく、個々の個体での胚発育ステージの分布をみると、区では比較的広い範囲のステージが回収されている個体が多くみられた。

表1 PGF₂ 処理後における発情周期¹⁾及び発情持続時間

区分	処理頭数 (頭)	発情周期(日)		発情持続時間(日)	
		処理前 ²⁾	処理後 ²⁾	処理前 ²⁾	処理後 ²⁾
区	7	19.7±1.5	20.0±1.6	2.6±0.8	2.4±0.4
区	5	20.2±1.1	18.2±0.8*	1.9±0.4	2.1±0.4

¹⁾ 前回発情開始日から次の発情開始日までの日数

²⁾ 平均±標準偏差

* 処理前発情周期に比べ有意差あり ($P < 0.05$)

表2 黄体数及び回収胚数

区分	供試頭数 (頭)	総黄体数 (個)	平均黄体数 ¹⁾ (個)	平均回収胚数 ¹⁾ (個)
区	7	111	15.9±4.1	14.6±4.7
区	6	95	15.8±3.9	12.3±2.8
区	5	108	21.6±13.8	15.0±12.4
計	18	314	17.4±7.9	13.9±6.9

¹⁾ 平均±標準偏差

表3 回収胚の発育ステージ

	区分	胚の発育ステージ				
		脱出胚盤胞	拡張胚盤胞	胚盤胞	桑実胚	異常胚 ²⁾
個数(個)	区	0	3.0±3.7	4.7±4.0 ^p	1.4±3.4	5.4±7.6
	区	1.8±4.0 ¹⁾	5.0±4.9	0.3±0.5 ^q	0	5.2±5.8
	区	0.2±0.5 ^a	12.4±13.0 ^b	1.0±2.2 ^{apq}	0.6±0.6 ^a	0.8±1.3 ^a
回収胚に対する割合(%)	区	0	22.5±29.4 ^p	36.1±30.9	10.5±24.4	31.0±32.3
	区	17.9±40.3 ¹⁾	41.2±39.6 ^{pq}	3.2±5.3	0	37.7±42.5
	区	0.5±1.2 ^A	73.9±26.0 ^{Bq}	10.0±22.4 ^A	5.2±6.3 ^A	10.4±18.6 ^A

¹⁾ 平均±標準偏差

²⁾ 異常胚：未受精卵及び変性胚を示す

A, B 同一処理区内の異符号間で有意差あり ($P < 0.01$)

a, b 同一処理区内の異符号間で有意差あり ($P < 0.05$)

p, q 同一胚発育ステージ内の異符号間で有意差あり ($P < 0.05$)

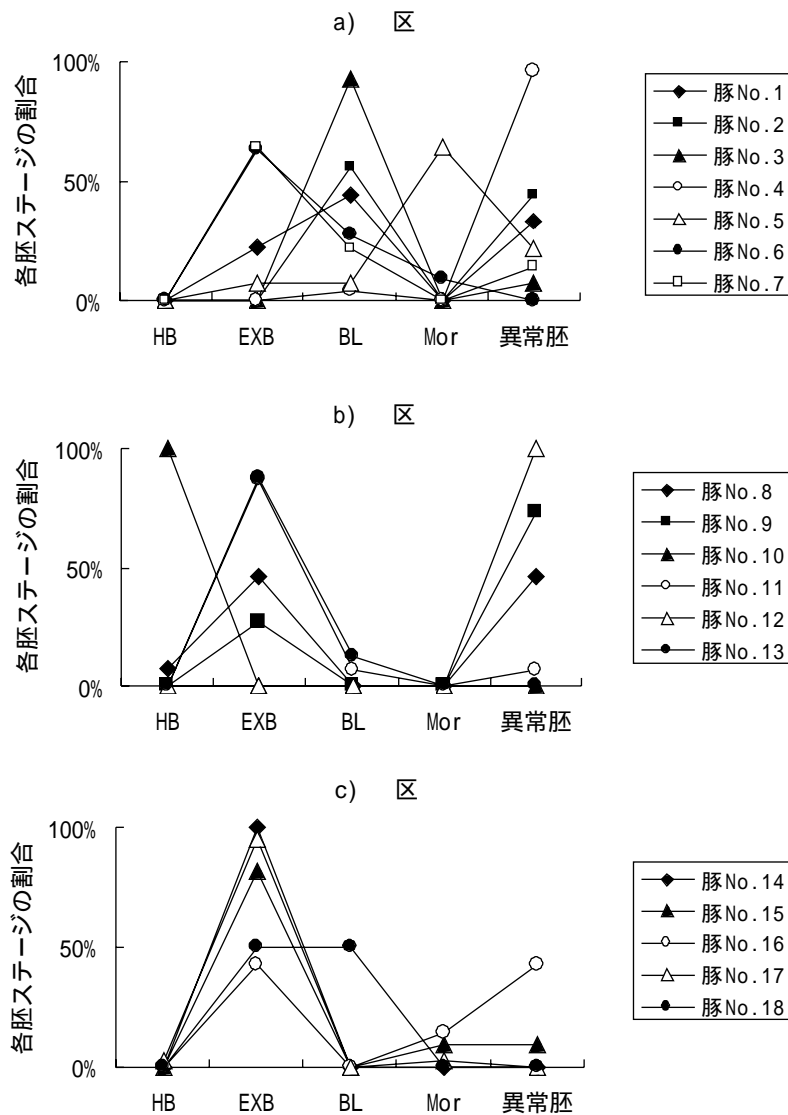


図2 各供試豚における回収胚の発育ステージ割合
 HB: 脱出胚盤胞、 EXB: 拡張胚盤胞、 BL: 胚盤胞、
 Mor: 桑実胚、 異常胚: 未受精卵及び変性卵

考 察

発情終了日から12日目に朝夕2回PGF₂を投与したところ、発情周期の短縮が認められ(P<0.05)、PGF₂の黄体退行効果が確認できた。

Connorら¹²⁾が同様の報告をしており、本試験の結果と一致する。Diehlら¹³⁾は発情周期12日目にPGF₂を2又は5mg投与した場合、血中プロゲステロン濃度は一時的には減少したが、発情周期の短縮は認められなかったと報告している。本試験及びConnorらの報告から、Diehlらの試験では投与量が少なく、黄体退行を引き起こさなかったことが考えられた。

回収胚の発育ステージを観察したところ、区及び区では桑実胚から脱出胚盤胞まで広い範囲のステージに分散していた。特に区では、個々の個体の最も多い胚

ステージが大きく分散していることが確認できた。区における各個体の胚ステージの分布は、若干拡張胚盤胞に集まる傾向が見られたが、回収胚に対する割合も低く、未受精卵や変性卵の割合が高い個体が多かった。これらのことから、区及び区では、排卵時期が個体によって大きく異なることが推察された。

胚の発育ステージの経時的変化が、藤野ら¹⁴⁾のよって報告されている。それによると桑実胚から拡張胚盤胞までの発育には約24時間、拡張胚盤胞から脱出胚盤胞までの発育には約7時間以上が必要とされている。このことから、区では個体間の排卵時期のズレは24時間以上にわたって、区では7時間以上にわたって分散していることが示唆された。

一方、区では回収胚に対する拡張胚盤胞の割合が約74%と非常に高く、有意なピークを示した。各個体に

いても、最も多い胚ステージが拡張胚盤胞に揃っていた。このことから、各個体の排卵時期がほぼ同時期であることが示唆された。

また、区では胚ステージのピークが個体間で分散しているだけでなく、個々の個体での胚ステージの分布が広い範囲に分散している傾向がみられた。このことから、排卵開始から終了までに長時間かかったことが推察された。一方、区では、ほとんどの個体で拡張胚盤胞の割合が50～100%を示しており、排卵が短時間に完了したことが示唆された。

PMSG及びhCGの投与は、内因性の性腺刺激ホルモンの影響が少ない春機発動前の未成熟豚において、発情誘起及び排卵時期の斉一化を目的に利用されている^{15, 16)}。しかし、小林ら¹⁷⁾は発情経験豚にPMSGとhCGを投与した場合、個体によって反応が大きく異なることを報告している。また、Christensonら¹⁸⁾はmethallibureを経口投与後、PMSG及びhCGを投与すると、排卵時期を比較的特定することができるかと報告している。本試験の結果からも、春機発動後の豚においては、PMSGとhCGのみで個体間の排卵時期を斉一化することは困難であることが示された。これは、個々の豚の発情周期が異なっているために、PMSG投与時の感受性が異なるためであると考えられる。通常のPMSG-hCG投与のプログラムでは、PMSG投与時が、プロゲステロンが減少し始め、逆に卵胞の発育に伴いエストロゲンが増加し始める時期、つまりプロゲステロンとエストロジェンの比が大きく変わる時期と重なっている¹⁹⁾。そのため、プロゲステロンとエストロジェンのバランスが個体によって異なり、外因性ホルモンに対する感受性に個体差が生じたと考えられる。

PGF₂投与後約2時間で血中プロゲステロン濃度が減少し始めることが報告されている¹²⁾。本試験では血中ホルモン濃度を測定していないため、推測の域を超えないが、PMSG投与前日にPGF₂を投与することによって、PMSG投与時のプロゲステロンとエストロジェンの比が一定になり、各個体の反応を斉一化することができたと考えられる。

また、成熟豚にPMSG-hCGを投与後胚を回収すると、異常胚が増加することが多く報告されている¹⁷⁾。PMSG-hCG投与によりプロゲステロンとエストロジェンの比が正常値をずれると異常胚が増加するという報告もある²⁰⁾。今回の試験において、有意差はないものの区で異常胚が減少する傾向が見られた。これは、排卵時期の斉一化、排卵時間の短縮により卵子が適期に受精できたことが考えられる。さらに、前述したようにプロゲステロンとエストロジェンのバランスが正常値に近付いた可能性が考えられる。いずれにせよ、今後血中ホルモンレベルを調査する必要がある。

以上のことから、PGF₂とPMSG、hCGを組み合わせる投与することにより、発情周期の短縮のほか、排卵時期の個体差が低減されたことと、個体における排卵時間の短縮ができたことが示唆された。

今後は内分泌的な解明を行うとともに、さらに黄体初期においてPGF₂、PMSG及びhCGを組合せた投与の影響を

確認する必要がある。

引用文献

1. 岩村祥吉. 雌ブタの繁殖学 - 発情・排卵を中心として. 臨床獣医. 20(3), 113-120(2002)
2. Soede, N. M., Kemp, B. Expression of oestrus and timing of ovulation in pigs. J. Reprod. Fertil. Suppl. 52, 91-103(1997)
3. 武井真理, 小林章二, 神戸三智雄. ブタの子宮内膜細胞における繁殖関連遺伝子の発現動態. 愛知県農総試研報. 33, 271-276(2001)
4. Pursley, J. R., Mee, M. O., Wiltbank, M. C. Synchronazation of ovulation in dairy cows using PGF₂ and GnRH. Theriogenology. 44(7), 915-923(1995)
5. 全国家畜産物衛生指導協会. 生産獣医医療システム乳牛編1. 農山漁村文化協会. 東京. p.69-98(1999)
6. 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4版. 近代出版. 東京. p. 494-496(1999)
7. Estill, C. T., Britt, J. H., Gadsby, J. E. Repeated administration of prostaglandin F₂ during the early luteal phase causes premature luteolysis in the pig. Biol. Reprod. 49, 181-185(1993)
8. 岩村祥吉, 吉岡耕治, 鈴木千恵, 加茂前秀夫. 豚の発情周期の制御における課題. J. Reprod. Dev. 47, j19-j26(2001)
9. 神山佳三, 岩村祥吉, 染井英夫, 丸山朝子, 内藤昌男. PGF₂の反復投与による豚の発情周期の短縮とその繁殖成績. 日本養豚学会誌. 43(2), 39-48(2006)
10. 岩村祥吉, 吉岡耕治, 鈴木千恵. 生産農場におけるPGF₂を用いた発情同期化と繁殖成績. 豚の繁殖衛生セミナー通信. 27-28, 54-55(2001)
11. 加納正敏, 平山鉄夫, 榊原幹男, 増田達明. 性成熟豚におけるホルモン投与プログラムの検討. 第78回日本養豚学会大会講演要旨. 日本養豚学会誌. 39(4), 312(2002)
12. Connor, L., Phillips, G. D., Palmer, W. M. Effect of Prostaglandin F₂ on the estrous cycle and hormone levels in the gilt. Can. J. Anim. Sci. 56, 661-669(1976)
13. Diehl, J. R., Day, B. N. Effect of prostaglandin F₂ alpha on luteal function in swine. J. Anim. Sci. 39(2), 392-396(1974)
14. 藤野幸宏, 中村嘉之. eCGとhCGによる未経産豚の発情同期化と胚の回収成績. 豚の繁殖衛生セミナー通信. 31, 60-63(2004)
15. 加納正敏, 増田達明, 大橋秀一, 田中明. 豚における過排卵処理方法の検討. 畜産の研究. 50(7), 793-796(1996)
16. 山田豊, 未性成熟豚におけるPMSG-hCGによる排卵の同期化. 日本養豚学会誌. 34(4), 153-156(1997)

17. 小林章二, 市川明, 加藤泰之, 石原武. 開腹手術によるブタの胚移植の受胎成績. 愛知農総試研報. 22, 353-358(1990)
18. Christenson, R. K., Pope, C. E., Zimmerman-Pope, V. A., Day, B. N. Synchronization of estrus and ovulation in superovulated gilts. J. Anim. Sci. 36(5), 914-918(1973)
19. 伊東正吾. 実践的母豚の繁殖生理学. 養豚界. 36(3), 87-95(2001)
20. 菅原七郎. 豚の受精卵子移植技術 - その現状と将来(2). 畜産の研究. 42(5), 585-591(1988)