



# 連載

第13回

## 牛の過剰排卵処置

ジェネティクス北海道 顧問 高橋 芳幸

昭和50年 北海道大学大学院獣医学研究科修士課程修了、農林省畜産局採用(農林技官)  
 昭和51年 農林省日高種畜牧場勤務  
 昭和58年 北海道大学獣医学部・助教授  
 昭和61年 獣医学博士(北海道大学)  
 平成10年 北海道大学大学院獣医学研究科・教授  
 平成24年 北海道大学特任教授、名誉教授  
 平成25年 現職

通常の胚移植(受精卵移植)では、胚を提供する雌牛(ドナー)に各種のホルモン剤を投与して多数の卵胞の発育・排卵を促す過剰排卵処置を施し、多数の胚の回収を図ります。多数の卵胞の発育・排卵を誘起するためには、卵胞発育・卵胞ウェーブ、黄体退行、排卵を制御できるホルモン剤が使用され、発情・排卵の同期化(連載第10~12回)で紹介したホルモン処置が応用されています。そこで、今回は過剰排卵処置の原理、一般的な処置について解説します。

### 過剰排卵処置の基本的な処置

基本的には、ドナーが正常発情周期を繰り返すことを確認した後、表1に示したように発情後8~12日目(9~11日目)から3~4日間連続で卵胞刺激ホルモン(FSH)を投与して多数の卵胞を発育させる。そしてFSH投与開始から2日後あるいは3日後(48時間後あるいは72時間後)にプロスタグランジンF<sub>2</sub>α(PGF<sub>2</sub>α)を投与して黄体を退行させる。PGF<sub>2</sub>αを投与すると、その36~48時間後(40~56時間後)に発情が誘起される。また、発情発現の24~36時間後に排卵がみられるので、発情発現後10~12時間間隔で2回人工授精を行う。

表1 FSHとPGF<sub>2</sub>αを用いた基本的な過剰排卵処置の例

日	月	火	水	木	金	土
			発情 12日前	発情 11日前	発情 10日前	発情 9日前
発情 8日前						
FSH FSH	FSH FSH	FSH/PG FSH/PG	FSH FSH	発情 AI	AI	
				胚回収		

FSHを1日2回、4日間連続投与、PGF<sub>2</sub>αをFSH投与開始2日後に2回投与する例を示す。PG: PGF<sub>2</sub>α、AI: 人工授精

通常、FSHは1日2回(朝晩)、投与量を下げながら3~5日間反復投与(漸減反復投与)する。反復投与は、体内に吸収されたFSHの作用が約5時間で半分程度に低下するために必要な処置であるが、等量のFSHを反復投与すると、

遅れて発育する卵胞が排卵せずに発情ホルモン(エストロジエン)を分泌し続け、正常に排卵した卵子の受精・発生に必要な環境を乱すといわれる。FSHの総投与量(30~50 AU)は、品種、産次、体格などに応じて調節する。また、FSHはPGF<sub>2</sub>α投与後は投与しないこともある。

### 過剰排卵処置の原理

牛の卵胞発育は、FSHの一過性の多量分泌(FSHサージ)による多数の小卵胞(直径3~4 mm)の出現に始まる(卵胞ウェーブの始まり、卵胞動員)。小卵胞は直径5 mm以上に発育するとエストロジエンやインヒビンを生産分泌するため、下垂体におけるFSHの生産分泌が抑制され、血中FSH濃度は急激に低下する。そのため、卵胞動員後2~3日目には、低濃度のFSHでも発育できる機能をもつ卵胞以外は、多くの卵胞が次々に閉鎖退行の道をたどり、選抜された1個の主席卵胞だけが成熟・排卵することになる。

そこで、図1の示したように卵胞動員時からFSH製剤を連続投与して血中のFSH濃度を高い値で維持すると、多くの卵胞は閉鎖退行せずに発育を続け、多数の卵胞が成熟・排卵することになる。

(註)卵胞の発育・排卵の調節にかかるホルモンについては、連載第9回を参照してください。

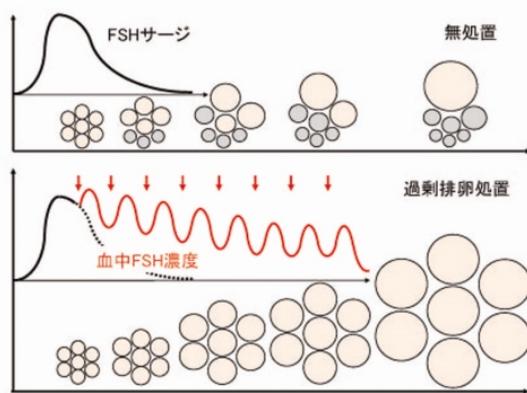


図1 過剰排卵処置時の卵胞発育と血中FSH濃度の変化

上図は無処置の牛の卵胞発育・主席卵胞選抜と血中FSH濃度の変化、下図は卵胞動員時からFSHを1日2回、4日間連続投与した場合の卵胞発育と血中FSH濃度の変化を示す。

### 過剰排卵処置開始時期による排卵数の違い

過剰排卵処置によって排卵する卵胞の数は、FSH投与開始時期によって違いがみられる。卵胞ウェーブの始まる時期、すなわちFSHサージにより多数の小卵胞が発育を始める時期(卵胞動員時)からFSH投与すると多数の排卵が期待できる。いっぽう、卵胞動員の1~2日後からFSH



投与を始めると排卵数は少なくなる(図2・3)。

これは、卵胞動員により発育を始めた卵胞の多くが2～3日で閉鎖退行していくことに原因する。すなわち、閉鎖退行卵胞が出現してからFSHを投与・補給しても、正常に発育・成熟できる卵胞の数は限られ、排卵数が減少することになる。

(註)FSH投与により発育・排卵する卵胞の数は、それぞれの雌牛のもつ卵胞リザーブによって左右され、卵胞リザーブの多い牛は卵胞ウェーブの卵胞動員時の卵胞数も多いので、常に多数の卵胞が排卵する(連載第8回参照)。

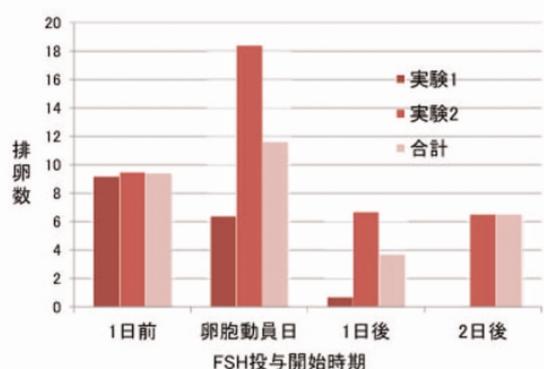


図2 過剰排卵処置開始時期による排卵数の違い  
Nasser LF et al (1993) と Adams GP (1994) のデータを基に作成。

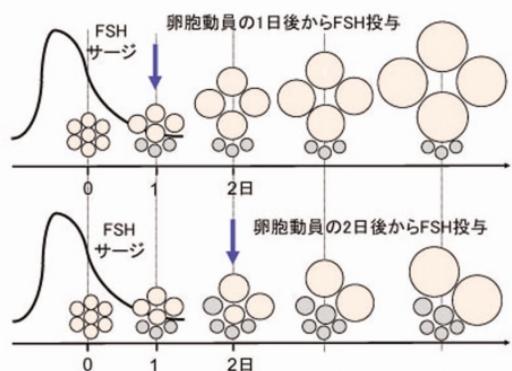


図3 卵胞動員(卵胞ウェーブ開始)の1日後あるいは2日後からFSHを投与し始めた場合の卵胞発育  
対照となる卵胞動員時にFSHを投与し始めた場合の卵胞発育は図1を参照。

ほとんどの牛は2回あるいは3回の卵胞ウェーブを有し、初回の卵胞ウェーブは排卵日にみられる。2回目の卵胞ウェーブは、それぞれ発情周期の9～10日あるいは10～11日目に始まるため、2回目の卵胞ウェーブの発現(卵胞動員)時期に合わせて発情周期の9～11日目からFSHを投与すると多数の排卵が期待できることになる(表1参照)。

このような自然の発情周期の特定の日から過剰排卵処置を行うことが困難な場合、発情・排卵の同期化(第10～12回)で紹介したホルモン処置による新たな卵胞ウェーブの誘起法が活用されている。

## 発情ホルモンと腔内留置型プロジェロン製剤を併用した過剰排卵処置

前回(第12回)説明したように発情ホルモン(エストラジオール製剤)を黄体期(血中プロジェロン濃度の高い時期)に投与すると視床下部におけるGnRHの生産分泌を抑制するため、下垂体における卵胞発育に必要なFSHとLHの生産分泌が抑えられる。その結果、発育中の卵胞(主席卵胞を含む)は退行する。そして、体内でエストラジオールが代謝され、血中濃度が低下すると多量のFSHが生産分泌(FSHサーチが発現)されるため、新たな卵胞ウェーブが誘起される。

発情ホルモンである安息香酸エストラジオール(EB)を投与すると、その約4日後(3～5日後)に新たな卵胞ウェーブが発現する。そこで、この時期に過剰排卵処置(FSH投与)を開始すると多数の排卵が期待できる(表2参照)。

腔内留置型プロジェロン製剤(PD)は、発情周期の任意の時期から過剰排卵処置を始められるように(PGF<sub>2α</sub>を投与する前に内因性のPGF<sub>2α</sub>により黄体が退行しても問題がないように)、EB投与時からPGF<sub>2α</sub>投与時(あるいはPGF<sub>2α</sub>投与の翌日)まで腔内に留置する。

このEBとPDを併用する過剰排卵処置は、発情周期の特定の時期(8～12日)に縛られることなく、任意の時期から過剰排卵処置を始めることができる。

表2 腔内留置型プロジェロン製剤と発情ホルモンを併用した過剰排卵処置の例

日	月	火	水	木	金	土
				PD EB		
	FSH FSH	FSH FSH	FSH/PG FSH/PG	FSH FSH	発情 AI	AI
					胚回収	

発情周期の任意の時期に発情ホルモン(EB:安息香酸エストラジオール)と腔内留置型プロジェロン製剤(PD)を投与(PDはPG投与時に抜去)、EB投与の4日後から過剰排卵処置(FSH投与)を始める。

なお、前回紹介したように、発情ホルモン(エストラジオール製剤、EB)投与後の卵胞ウェーブの発現時時期は、エストラジオール製剤の投与量、代謝速度によって左右される。そのため、新たな卵胞ウェーブの発現時期には若干のバラツキ(3～5日)がみられる。

EBとPDを併用した処置は、発情周期の8～12日にFSH投与を開始する一般的な処置と同等あるいは同等以上の成績(多数の移植可能胚の回収)が得られると報告されている。EB投与により誘起された新たな卵胞ウェーブで動員された健康な卵胞(卵母細胞)が発育することによって、発生能の高い卵子が排卵するためと考えられる。

## 卵胞吸引除去後の過剰排卵処置

超音波ガイド経腔卵子採取(OPU)の要領で直径5 mm以上の卵胞あるいは主席卵胞と次に大きな卵胞(次席卵胞)を吸引除去すると、1~2日後に新たな卵胞ウェーブが発現する。そこで黄体期に卵胞除去操作を加え、1~2日後に過剰排卵処置(FSH投与)を始めると、上述の過剰排卵処置と同等あるいは同等以上の成績(多くの排卵と正常胚の回収)が得られている。しかし、超音波検査装置や卵胞吸引器具が必要なため、この方法を活用できる臨床現場は限られる。

## 性腺刺激ホルモン放出ホルモンと腔内留置型プロジェステロン製剤を併用した過剰排卵処置

性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)を投与すると主席卵胞は排卵して、1.5~2.5日後に新たな卵胞ウェーブが発現する。そこで、GnRH投与の2~3日後から過剰排卵処置(FSH投与)を始める方法も開発されている(表3)。この処置法でも、発情周期の任意の時期から過剰排卵処置を始められるようにGnRH投与時からPGF<sub>2α</sub>投与時まで腔内に留置する。

なお、オブシンク処置(連載第10~11回)で紹介したように、GnRHを投与して新たな卵胞ウェーブを誘起できるのは、GnRHに反応して排卵する主席卵胞が存在する時期(発情周期の45~60%の時期)に限られる。そのため、新たな卵胞ウェーブを誘起して良好な過剰排卵処置効果が得られる確率は決して高いとは言えないが、前述の発情ホルモンと腔内留置型プロジェステロン製剤を併用した過剰排卵処置と同等の成績も報告されている。

表3 腔内留置型プロジェステロン製剤とGnRHを併用した過剰排卵処置の例

日	月	火	水	木	金	土	PD GnRH
		FSH FSH	FSH FSH	FSH/PG FSH/PG	FSH FSH	発情 AI	
						胚回収	

## 1回のFSH投与による過剰排卵処置

通常のFSHを用いた過剰排卵処置(1日2回、3~5日間連続投与)は、大きな労力を伴うだけでなく、注射による家畜へのストレスも大きい。最近、農研機構らの研究グループは体内で徐々に放出されるFSH製剤(水酸化アルミニウムゲルにFSHを吸着)を開発した。このFSH製剤を頸部皮下に投与すれば、体内で徐々に放出されるため1回の投与で、従来のFSH製剤を用いた3~5日間連続投与(筋肉

内注射)処置に匹敵する過剰排卵・胚回収成績の得られることが公表されている(表4、図4)。今後、野外応用で優れた成績の得られることが検証されることが期待される。

表4 新たなFSH製剤の1回投与による過剰排卵処置成績

	回収卵数	移植可能胚
新しいFSH製剤	10.2±1.4	4.9±0.9
従来のFSH製剤	12.4±1.3	6.5±0.8

新しいFSH製剤は皮下に1回投与、従来のFSH製剤は1日2回3~5日投与。農研機構公表値(2017.9.14)

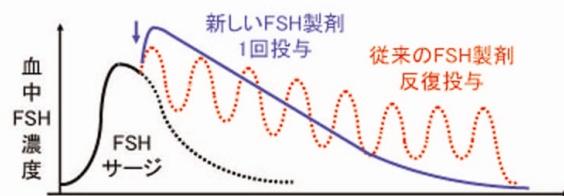


図4 新しいFSH製剤と従来のFSH製剤を投与した時の血中FSH濃度の推移  
新しいFSH製剤は皮下に1回注射、従来のFSH製剤は1日2回4日間筋肉内注射したときの血中FSH濃度(農研機構公表図を基に作成)。

## 過剰排卵処置時の人工授精

過剰排卵処置を施した牛の排卵は、その数が多いため一度に起こらない。約80%の卵胞は最初の排卵から8時間以内に排卵するが、8~12時間も要することもある(図5)。そのため、人工授精は発情発現後12~14時間と17~24時間の2回、高品質の精液を用いて実施する。また、複数回の授精が困難な場合には発情発現後16~20時間に1回授精する。発情やLHサージの出現時期は個体により差異があるため、発情・排卵の同期化処置に準じてGnRHなどを投与して排卵を誘起し、発情観察を行わずに定時に授精する方法も考案されている。

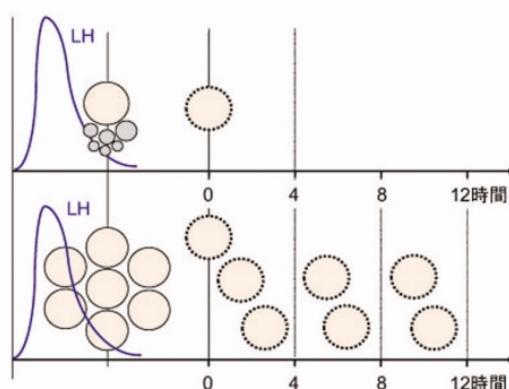


図5 過剰排卵処置後の排卵のようす

上図は自然排卵(1個の排卵)、下図は最初の排卵(0時間)から12時間のうちに起こる排卵を示す。