

# 牛における人工授精時の性腺刺激ホルモン 放出ホルモン投与が受胎に及ぼす影響

門司恭典\*・佐藤光夫\*\*・桑山岳人\*・百目鬼郁男\*

(平成 14 年 5 月 27 日受付/平成 14 年 9 月 25 日受理)

要約：一般畜産農家、公共牧場および本学富士畜産農場で飼育されている雌牛 418 頭に人工授精と同時に性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH, プセレリン) を 6, 10 および 20  $\mu\text{g}$  を投与し、無処置対照群のそれと受胎率について比較した。また、本剤の投与効果を判定するために血漿中プロゲステロン濃度を測定し、黄体機能への影響についても検討した。その結果、プセレリン 6, 10 および 20  $\mu\text{g}$  投与のいずれの群においても受胎率は対照群のそれよりも 7.6~9.2% と高い成績が得られた。次いで、空胎期間の短い区 (120 日未満) と長い区 (120 日以上) に分けて検討したところ、空胎期間の長短に関係なく受胎率は投与群の方が対照群よりも高い傾向を示した。さらに、投与回数を 1 回と 2 回に分けたところ、1 回目の投与での受胎率は、各投与群と対照群の間に有意差はなかったが、2 回目の投与では投与群の受胎率は対照群よりも 16.4~47.6% 改善され、特に 10  $\mu\text{g}$  投与群での受胎率は 85.7% で対照群および 6  $\mu\text{g}$  投与群よりも有意 ( $P < 0.05$ ) に高いことが認められた。従って、受胎しにくい牛に対するプセレリン投与の効果が顕著に現れた。

キーワード：牛, 人工授精, GnRH (プセレリン), 受胎率, プロゲステロン

## 緒言

牛は適当な間隔で分娩を繰り返しながら子牛と乳を生産しているが、経済的能力を十分発揮させるための理想的な分娩間隔は 12 ヶ月とされている。しかし、家畜改良増殖法の規定に基づき、平成 12 年に公表された家畜改良増殖目標の中で、乳用牛および肉用牛の分娩間隔は全国平均 13.6 および 13.3 か月で、数年来短縮される傾向は見られない<sup>1)</sup>。

この理由として、発情が発現しないために人工授精ができない、発情徴候が微弱あるいは持続時間が短いため授精適期が把握できない。また、授精しても受胎しないなどの問題点が指摘されている。牛の繁殖成績を向上させるためには、これらの問題を解決し、分娩間隔を短縮することが重要である。

牛の繁殖成績向上対策の一つとして、従来からヒト絨毛性性腺刺激ホルモン (hCG)<sup>2-5)</sup> あるいは性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH)<sup>6-10)</sup> などのホルモン投与が試みられている。特に人工授精と同時に GnRH の投与は、排卵の促進と排卵前後の卵巣機能の活性化に有効に作用して受胎率が向上したとする報告がある<sup>6-11)</sup>。一方、GnRH を投与しても受胎率を改善させることはできなかったとする報告もあり<sup>12-14)</sup>、その効果はまちまちで、十分に検討されたとはいえない。

そこで本実験では、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH: 以下プセレリンと記す) の応用を試み、人工授精

と同時のプセレリン投与が牛の受胎率に及ぼす影響について広範な野外試験を行うとともに、授精後の血中プロゲステロン濃度への影響についても併せて検討した。

## 材料および方法

供試牛は、一般畜産農家、公立の公共牧場、畜産試験場および本学富士畜産農場で飼育されているホルスタイン種 388 頭、黒毛和種 30 頭の経産および未経産牛計 418 頭を供試し、無作為にエストマール注 1.5 ml (プセレリンとして 6  $\mu\text{g}$ )、2.5 ml (10  $\mu\text{g}$ ) および 5.0 ml (20  $\mu\text{g}$ ) を投与する群と無処置対照群の 4 群に区分した。

供試薬は、ドイツヘキスト社が開発したプセレリン (商品名: エストマール注: シオノギ製薬(株)) 1 ml 中に酢酸プセレリン 4.2  $\mu\text{g}$  (プセレリンとして 4  $\mu\text{g}$  を含有) を使用した。

試験方法は、93 頭にプセレリン 6  $\mu\text{g}$ 、139 頭に 10  $\mu\text{g}$  および 132 頭に 20  $\mu\text{g}$  を人工授精と同時に臀部筋肉内に 1 回注射した。また、54 頭は無処置対照群とした。ただし、各群とも受胎しなかった場合は次回の授精時にも同じ処置を行った。

個々の供試牛についての記録は、農家名、牛の名号、産歴、授精月日、発情の徴候および妊娠の確認日 (授精後 50 日前後に直腸検査により実施した) など 19 項目について人工授精師または獣医師に記録を依頼・回収し、これらを集計した。受胎率の有意差検定には  $\chi^2$  検定、血中プロゲステロン値は分散分析し、平均値および標準誤差で表し

\* 東京農業大学農学部畜産学科

\*\* 東京農業大学農学部富士畜産農場

た。なお、品種、産歴、栄養状態および地域差などについては考慮せず、全供試牛を一括した成績で示した。

また、プセレリン投与日を0日として7, 12 および20日目に各群それぞれ3頭から血液を採集し、血中プロジェステロン濃度を酵素免疫測定法 (EIA) のシステムを利用したオブチェック血漿用 EIA キット (デンカ製薬(株))<sup>15,16)</sup> により測定した。

## 結 果

### 1. 受胎促進の効果について

人工授精時と同時にプセレリン投与群および対照群の受胎率を表1に示した。

プセレリン 6, 10 および 20  $\mu\text{g}$  投与群の受胎率は、それぞれ 61.3 (57/93), 64.7 (90/139) および 62.9% (83/132 頭) で、対照群のそれ 53.7% (29/54 頭) に比べて、7.6~9.2% 高い成績が得られた。

次に、空胎期間の短い区 (120 日未満) と長い区 (120 日以上) の 2 群に分け、空胎期間の違いからみた受胎率の差異を図1に示した。

空胎期間の短い区はプセレリン 6, 10 および 20  $\mu\text{g}$  投与群では、それぞれ 59.4 (41/69), 65.9 (56/85) およ

び 63.9% (53/83 頭) で、対照群の 55.8% (24/43 頭) に比べて高い傾向がみられた。また、空胎期間の長い区は受胎率はプセレリン 6, 10 および 20  $\mu\text{g}$  投与群では、それぞれ 66.7 (16/24), 63.0 (34/54) および 61.2% (30/49 頭) で、対照群の 45.5% (5/11 頭) に比べてすべての群でかなり高い傾向が認められた。このことから、空胎期間の長短に関係なく投与群の受胎率は対照群よりも高いことが明らかとなったが、有意差は認められなかった。

さらに、プセレリン 1 回投与で受胎した牛群と 2 回目の投与で受胎した群に分け、その違いによる受胎率の差異について検討し、その成績を表2に示した。

1 回投与での受胎率はプセレリン 6, 10 および 20  $\mu\text{g}$  投与群では、それぞれ 63.4% (45/71), 61.0% (72/118) および 63.4% (64/101 頭) で、対照群の 63.6% (21/33 頭) よりわずかに低かったが、各投与群と対照群の間に有意差は認められなかった。一方、2 回投与での受胎率はプセレリン 6, 10 および 20  $\mu\text{g}$  投与群では、それぞれ 54.5 (12/22), 85.7 (18/21) および 61.3% (19/31 頭) で、対照群の 38.1% (8/21 頭) に比べて 16.4~47.6% 高く、受胎率は改善され、特に 10  $\mu\text{g}$  投与群の受胎率は 85.7% で対照群および 6  $\mu\text{g}$  投与群よりも有意 ( $P < 0.05$ ) に高いことが認められた。

### 2. 血中プロジェステロン濃度の変動について

人工授精と同時にプセレリン投与群および無処置対照群、各3頭につき、7, 12 および 20 日目の血中プロジェステロン濃度を測定し、その変動を図2に示した。

プセレリン投与後7日目の血中プロジェステロン濃度はプセレリン 6, 10 および 20  $\mu\text{g}$  投与群では、4.1 ng/ml, 5.8 ng/ml および 4.5 ng/ml で、対照群 (3.1 ng/ml) に比べ高い傾向がみられた。12 日目では、それぞれ 7.2 ng/ml, 8.6 ng/ml および 7.4 ng/ml と、対照群 (6.7 ng/ml) より高く、また、7 日目に比べいずれも上昇がみられた。さらに、20 日目では 10.2, 11.8, および 9.9 ng/ml と上昇し、対照群 (11.7 ng/ml) も高い値を示したが、各群間に有意差は認められなかった。

表1 人工授精と同時プセレリン投与による受胎率

投与量	供試頭数	妊娠頭数	受胎率 (%)
対 照	54	29	53.7
6 $\mu\text{g}$	93	57	61.3
10 $\mu\text{g}$	139	90	64.7
20 $\mu\text{g}$	132	83	62.9
合 計	418	259	62.0

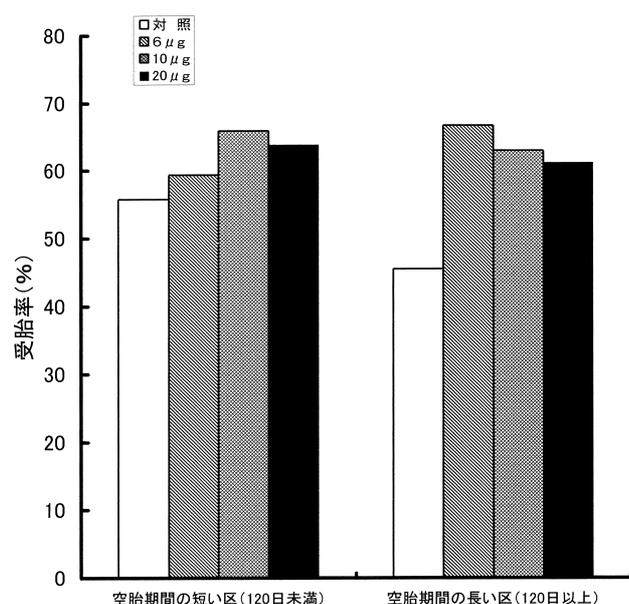


図1 空胎期間の違いからみた受胎率

表2 投与回数の違いによる受胎率

回数	投与量	供試頭数	妊娠頭数	受胎率 (%)
1	対 照	33	21	63.6
	6 $\mu\text{g}$	71	45	63.4
	10 $\mu\text{g}$	118	72	61.0
	20 $\mu\text{g}$	101	64	63.4
合 計		323	202	62.5
2	対 照	21	8	38.1 <sup>a</sup>
	6 $\mu\text{g}$	22	12	54.5 <sup>a</sup>
	10 $\mu\text{g}$	21	18	85.7 <sup>b</sup>
	20 $\mu\text{g}$	31	19	61.3
合 計		95	57	60.0

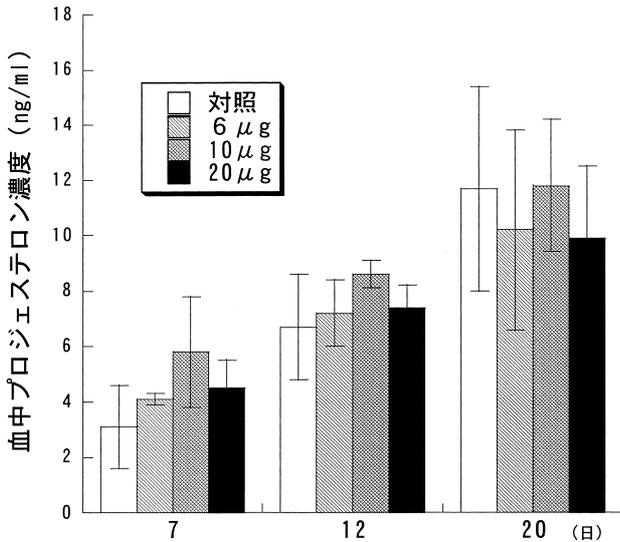


図2 血中プロジェステロン濃度の変動

以上の結果から、供試したすべての牛群において血中プロジェステロンが上昇し、黄体機能が活性化して妊娠が成立していることが示唆された。

### 考 察

人工授精を行うと同時に GnRH の投与という簡単な操作で受胎率の向上が望めるか否かについて検討した。

その結果、プセレリンの人工授精時投与による受胎率は対照群に比べて有意ではないが改善されることが認められた。このことは、MACMILLAN ら<sup>6)</sup>、RYAN ら<sup>7)</sup>、NAKAO ら<sup>10)</sup>、ANDERSON and MALMO<sup>11)</sup> の報告と一致した。RYAN ら<sup>7)</sup>、PURSLEY ら<sup>17)</sup> は人工授精時のプセレリン投与が、適時の LH サージとそれに続く適時の排卵、さらには、黄体形成の促進を期待するものであると述べており、本実験においてもプセレリン 6 μg、10 μg および 20 μg 投与のいずれの群においてもその受胎率は無処置対照群のそれよりも 7.6~9.2% とかなり高い成績が得られた。

空胎期間を 120 日未満と 120 日以上に分けて、空胎期間と受胎率との関係を検討したところ、空胎期間の長短に関係なく、受胎率は投与群の方が対照群よりも高い傾向を示した。さらに、投与回数を 1 回目と 2 回に分けて受胎率を検討したところ、1 回目の投与での受胎率はいずれの投与群でも対照群よりわずかに低かったが、各投与群と対照群の間に有意差はなかった。一方、2 回目の投与では投与群の受胎率は対照群よりも 16.4~47.6% 改善され、特に 10 μg 群での受胎率は 85.7% で対照群および 6 μg 投与群よりも有意 ( $P < 0.05$ ) に高かった。

投与回数によって各群の受胎率に差が出ているのは、2 日目の投与における対照群の受胎率が低いためにプセレリンの効果がより明瞭に発現したものと考えられる。このことは、STEVENSON ら<sup>18)</sup> が報告しているように、もともとの受胎率が高い場合は、プセレリンによるそれ以上の改善効果は明確ではないがリピートブリーダーなどの低受胎牛では、プセレリン投与によって適時に LH サージと排卵が誘

起され、さらには周排卵期におけるホルモン環境などが改善されることによって、受胎が向上したものと推察される。

次に、GnRH 投与後のホルモン分泌動態について検討した。このことについては、わずかな報告<sup>19)</sup> が見られるだけで、牛についてはわれわれの<sup>20)</sup> 報告のみで、生体内での性ホルモン分泌動態および生理的役割など不明な点が多い。

そこで、本剤の投与による排卵後の血中プロジェステロン濃度に及ぼす影響について検討した。

その結果、各牛群間には有意差は認められなかった。しかし、投与後 7 日目の血中プロジェステロン濃度は 4.1~5.8 ng/ml、12 日目では 7.2~8.6 ng/ml、20 日目では、さらに上昇して 9.9~11.8 ng/ml を示した。この値は、妊娠牛に関する従来の報告<sup>21)</sup> と一致した。

以上のことより、牛において人工授精と同時期のプセレリン 6 μg、10 μg の投与は効果的で、受胎率を向上させる可能性が示唆された。特にリピートブリーダー等を含む受胎しにくい牛に対しては、プセレリン投与の効果はより明瞭に現れるものと考えられる。

### 参考文献

- 1) 農林水産省, 2000. 家畜改良増殖目標, 3-7.
- 2) WAGNER, J.F., VEENHUIZEN, E.L. TONKINSON, L.V. and RATHMACHER, R.P., 1973. Effect of placental gonadotropin on pregnancy Rate in the bovine. *J. Anim Sci.*, **36**, 1129-1136.
- 3) 加茂前秀夫・岩村祥吉・加藤和彦・荒井 徹・百目鬼郁男・金田義宏, 1991. hCG 投与による牛の受胎促進. 第 111 回日本獣医学会要旨, 225.
- 4) BREUEL, K.F., SPITZER, J.C., THOMPSON, C.E. and BREUEL, J. F., 1990. First-service pregnancy rate in beef heifers as influenced by human chorionic gonadotropin administration before and/or after breeding. *Theriogenology.*, **34**, 139-145.
- 5) SIANAGAMA, P.C. and RAJAMAHENDRAN, R., 1992. Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology.*, **38**, 85-96.
- 6) MACMILLAN, K.L., TAUFU, V.K. and DAY, A.M., 1986. Effects of an agonist of gonadotropin releasing hormone (buserelin) in cattle. III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. *Anim. Reprod. Sci.*, **11**, 1-10.
- 7) RYAN, D.P., KOPEL, E., BOLAND, M.P. and GODKE, R.A., 1991. Pregnancy rates in dairy cows following the administration of a GnRH analogue at the time of artificial insemination or at mid-cycle post insemination. *Theriogenology.*, **36**, 367-377.
- 8) RETTMER, I., STEVENSON, J.S. and CORAH, L.R., 1992. Pregnancy rates in beef cattle after administering a GnRH agonist 11 to 14 days after insemination. *J. Anim Sci.*, **70**, 7-12.
- 9) SHELDON, I.M. and DODSON, H., 1993. Effects of gonadotropin releasing hormone administered 11 days after insemination on the pregnancy rates of cattle to the first and later services. *Vet. Rec.*, **133**, 160-163.
- 10) NAKAO, T., NARITA, S., TANAKA, K., HARA, H., SIRAKAWA, J., NOSHIRO, H., SAGA, N., TUNODA, H. and KAWATA, K., 1983. Improvement of first-service pregnancy rate in cows

- with gonadotropin-releasing hormone analog. *Theriogenology*, **20**, 111-119.
- 11) ANDERSON, G.A. and MALMO, J., 1985. Pregnancy rate of cows given synthetic gonadotropin-releasing hormone at the time of service. *Aust. Vet. J.*, **62**, 222-224.
  - 12) LEWIS, G.S., CALDWELL, D.W. and REXROAD, C.E., 1990. Effects of gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin on pregnancy rate in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **73**, 66-72.
  - 13) CHENAULT, J.R., 1990. Effect of fertirelin acetate or buserelin on conception rate at first or second insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **73**, 633-638.
  - 14) MEE, M.O., STEVENSON, J.S. and SCOBY, R.K., 1990. Influence of gonadotropin-releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service. *J. Dairy Sci.*, **73**, 1500-1507.
  - 15) 平子 誠・仮屋堯由・百目鬼郁男, 1987. マイクロプレートを用いた酵素免疫測定法キットによる牛血漿中プロゲステロンの直接測定. *家畜繁殖誌*, **33** (3), 134-139.
  - 16) 田中樹竹・中尾敏彦・河原隆人・森好政晴・河田啓一郎, 1988. 牛血漿中 Progesterone 測定用 EIT キット (Ovu-check) の実用性についての検討. *日獣会誌*, **41** : 83-87.
  - 17) PURSLEY, J.R., STEVENSON, J.S. and CORAH, L.R., 1993. Ovarian follicular waves in dairy cow after administration of gonadotropin-releasing hormone at estrus. *J. Dairy Sci.*, **76**, 2548-2560.
  - 18) STEVENSON, J.S., CALL, E.P., SCOBY, R.K. and OHATAK, A.P., 1990. Double insemination and gonadotropin-releasing hormone treatment of repeat-breeding dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **73**, 1766-1772.
  - 19) 百目鬼郁男・加茂前秀夫・金田義宏・横木勇逸・小笠晃・中原達夫, 1982. 発情期の牛における LH-RH 類縁物質投与前後の血中性ホルモンの変動について. 第 93 回日本獣医学会大会要旨. P. 223.
  - 20) 百目鬼郁男・金田義宏・加茂前秀夫・平子 誠・仮屋堯由・竹之内直樹・宮川準平・稲庭政則・加藤寿次・小野寺強・香本頌利・福島義信・川口 擁・円山八十一・中原達夫, 1988. GnRH agonist 製剤 Buserelin の牛卵巣疾患への応用. 第 74 回家畜繁殖学会大会要旨. P. 119.
  - 21) BARNES, D.C. and LAMMING, G.E., 1978. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *J. Reprod. Fertil.*, **54**, 447-458.

# Effect of gonadotropin-releasing hormone administration during artificial insemination on the pregnancy rates in cattle

By

Yasunori MONJI\*, Mituo SATO\*\*, Takehito, KUWAYAMA\* and Ikuo DOMEKI\*

(Received May 27, 2002/Accepted September, 25, 2002)

**Summary** : Gonadotropin-releasing hormone (GnRH, buserelin) was administered to 418 head of cattle bred by a general stock-raising farmer at a public pasture and here at the Fuji Zootechnical station, simultaneously during artificial insemination at doses of 6, 10 and 20  $\mu$ g respectively. Pregnancy rates for this group and for a non-treated control population were then compared. Blood progesterone concentration was also measured in order to determine the effect of this treatment. The effect on the luteal function was also examined. For buserelin, results were of 6  $\mu$ g and 10  $\mu$ g doses. Pregnancy rates for both groups with administered doses of 20  $\mu$ g resulted in a high 7.6~9.2%. The pregnancy rate for the buserelin-administered group was higher than that of the control population regardless of the merits and demerits during the non-pregnant period when they were examined. Subsequently, it was divided into the short division (less than 120) of a non-pregnant condition period, and the long division (120 or more) and investigated. In addition, there was no significant effect on the pregnancy rate following the first administration in each treated group and control population, when the administration frequency was divided into 1 and 2 times. During the second administration, the pregnancy rate of the treated group improved to 16.4~47.6% more than the control population and at a specially notable 85.7% pregnancy rate in the 10  $\mu$ g-dose administered group control population. It might be significantly higher ( $P < 0.05$ ) than the 6  $\mu$ g-dose administered group. Therefore, it is difficult to accurately demonstrate the effect of buserelin treatment on cattle pregnancy rates.

**Key Words** : cattle, artificial insemination, GnRH(buserelin), pregnancy rate, progesterone

---

\* Department of Zootechnical Science, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

\*\* Fuji Zootechnical Station, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture