

論	文
Articles	

ミニチュアブタの黄体開花期におけるプロスタグランジン F_{2α} 連続投与が血中性ステロイドホルモン濃度および腔内生理諸性状に及ぼす影響

久下 壮*・岩田尚孝**・桑山岳人**・門司恭典**

(平成 17 年 2 月 2 日受付/平成 17 年 6 月 10 日受理)

要約 : PGF_{2α} の単独投与が血中性ステロイドホルモン濃度の動態および腔内生理諸性状に及ぼす影響について検討した。供試動物は、本学家畜繁殖学研究室にて飼育管理されている正常な発情周期を示すミニチュアブタ 10 頭を用いた。PGF_{2α} は、クロプロステノール 0.25 mg/ml 含有しているものを用いた。PGF_{2α} 投与は、試験区として、(1)1.0 mg の単回投与、(2)0.5 mg の 2 回投与、(3)1.5 mg の 2 回投与、(4)1.0 mg の 3 回投与に区分し、対照区として生理食塩水投与区とした。いずれの投与区においても黄体開花期 (Day7; 排卵日 = Day0) より、腔前庭粘膜下へ投与した。その結果、PGF_{2α} 投与区 (1), (2) においては 1 頭を除いた他の個体は 19.7±0.7 日 (Mean±SE) であった。しかし、PGF_{2α} 投与区 (3) および (4) において、発情周期は排卵日より 12.3±0.3 日であり、対照区 (18.7±0.9 日) と比較して有意 (P<0.05) に短縮を示した。また、これらの投与区においての腔垢内剥離上皮細胞の出現率および腔内電気抵抗値も正常な個体の発情期と同様の結果を示した。以上のことより、ミニチュアブタにおいて PGF_{2α} 投与により発情周期を短縮させることは可能であり、本法を用いての発情および排卵の同期化へ応用が示唆された。

キーワード : プロスタグランジン F_{2α}, 発情同期化, ミニチュアブタ, 血漿プロジェステロン, 血漿エストラジオール

緒 言

プロスタグランジン F_{2α} (以下 PGF_{2α}) は、家畜の発情同期化、分娩誘起、人工流産や繁殖障害の治療など黄体の退行を誘起し、ジェスタージェンの分泌を低下させることから多くの動物種において、多種多様に応用されている¹⁾。なかでもウシにおける発情同期化への応用は高度に確立されている²⁾。また、ブタにおける PGF_{2α} の応用には、妊娠後期の個体に対する分娩誘起³⁻⁵⁾、黄体遺残や無発情⁶⁾を呈する個体への投与など多岐に渡っている。ESTILL *et al.*^{7,8)} は、PGF_{2α} (トロメタミンジノプロスト) を発情発現日 (Day0) より、Day5~12 にかけて 12 時間間隔で投与を行ったところ、発情周期が有意に短縮したと報告している^{7,8)}。また、岩村ら (1998) も黄体開花期 (Day8~10; 排卵日 = Day0) に PGF_{2α} (ジノプロスト) を筋肉内へ 12 時間間隔で 6 回反復投与し、発情周期が 14~16 日間に短縮したと報告している^{9,10)}。更に、投与によって発情周期の短縮を示した個体のその後の繁殖成績は正常な個体と変わらないが、投与量および回数軽減を考慮した際、更なる投与方法の改善が必要であるとしている¹¹⁾。また、仁木ら¹²⁾ は、PGF_{2α} 投与部位の違いによる経産豚の分娩誘起効果を試みている。試験

は、PGF_{2α} (クロプロステノール) を耳根部筋肉内に 1.5 および 2.0 ml 投与と、その約 1/3 量 (0.6 ml) を腔前庭粘膜下への投与を実施した。その結果、これらの両部位における差は認められなかったとし、投与部位により少量の PGF_{2α} でも黄体退行作用を示すことを示唆しているがミニチュアブタについては明らかではない。

そこで本実験では、正常な発情周期を示すミニチュアブタを用いて黄体開花期に腔前庭粘膜下への PGF_{2α} の投与量や回数が、血中性ステロイドホルモン濃度、腔内電気抵抗値および腔垢内の剥離上皮細胞の出現率に及ぼす影響について検討した。

材料および方法

供試動物は、本学家畜繁殖学研究室にて飼育管理されている雌ミニチュアブタ、ゲッチング系 2 頭、CSK 系×ゲッチング系 8 頭の計 10 頭を用いた。2 頭は繰り返し供試されたが供試する際には、2 発情周期以上の間隔を設け、その期間中の内分泌の動態および外部発情徴候を確認して供試した。PGF_{2α} 製剤はクロプロステノール (Cloprostenol) を主成分とし、0.25 mg/ml 含有しているものを用いた (レジプロン-C, (株) 帝国臓器製薬)。試験は、対照区と

* 東京農業大学大学院農学研究科畜産学専攻

** 東京農業大学農学部畜産学科

して生理食塩水 (4ml) 投与, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与区として, (1)1.0 mg の単回投与, (2)0.5 mg の 2 回投与, (3)1.5 mg の 2 回投与, (4)1.0 mg の 3 回投与に区分した。雄許容最終日を排卵日 (Day0) とし, 黄体開花期 (Day7) に $\text{PGF}_{2\alpha}$ を投与した。全ての実験区において投与部位は腔前庭粘膜下とし, 投与間隔は 12 時間とした。採血は, 個体を仰臥位に保定し, 頸静脈より 21G 注射針を装着したヘパリンナトリウム加 10 ml シリンジにて採取した。また, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与期間中は, 投与直前を 0 とし, 1, 3, 6, 12, 24, 48 および 60 時間後に採血した。採取した血液は直ちに遠心分離 (3,000 rpm, 20 min) し, 血漿を得た。得られた血漿は, 酵素免疫測定法 (Enzyme Immunoassay ; EIA) により, 血漿中プロゲステロン (以下 P_4) およびエストラジオール-17 β (以下 E_2) 濃度を測定した^{13,14}。更に, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与区において発情徴候が見られた個体については, 腔内生理諸性状として腔垢内の剥離上皮細胞の出現率および腔内電気抵抗値を測定した¹⁵。腔垢の採取は, 供試ブタの腔内に生理食塩水で湿した綿棒を腔内に挿入し採取した。採取後は直ちにスライドガラスに塗抹して, 90% メタノールで 3 分間固定した。メチレンブルー染色液に 20 分浸漬させ標本を染色した。標本は, 光学顕微鏡下で, 3 視野以上, かつ, 総計 500 個以上の細胞を観察し, その形態から角化有核上皮細胞および小有核円形上皮細胞に分類して, その比率を算出した。また, 腔内電気抵抗値の測定は, ウシ用 AI テスター (富士工業株式会社, WFM-8) を用いて供試ブタの腔内に滅菌水で湿した電極棒を約 5 cm 挿入し, 背側の腔壁を押しつけるようにして, 数値が安定するまで 1 分間保持した。これを 2 回繰り返して, その平均値を測定値とした。

結 果

全投与区の投与後の発情発現日および排卵日を表 1 に示した。対照区と比較して, 投与区 (1) および (2) においては, 顕著な差は認められなかった。しかし, 投与区 (3) および (4) では, 発情周期の短縮が認められた。発情持続時間 (発情

発現～排卵までの期間) においては, 全投与区間に差は認められなかった。投与区 (1) において, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与後の P_4 濃度に顕著な変化は認められず, 対照区 (図 1) と同様の推移を示していた (図 2)。いずれの投与区においても E_2 濃度は P_4 濃度の減少に伴い上昇したが, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与量が少ない区において上昇の度合いが緩慢であった。また, 一度低下した P_4 値は, 投与区 (2) において初回投与より 96~120 時

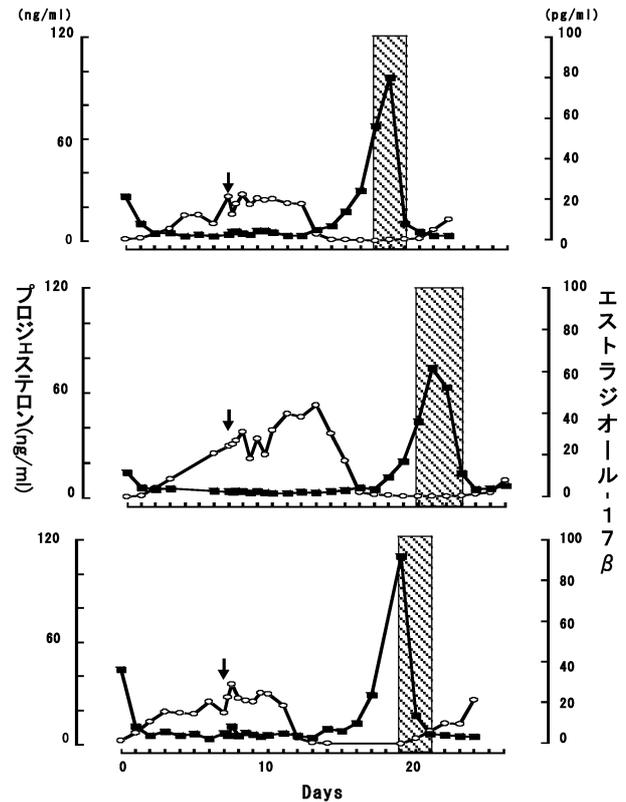


図 1 対照区 (生理食塩水投与) における血中ステロイドホルモン濃度の推移 (○: P_4 , ■: E_2 , ↓: 投与, ▨: 発情, Day0=排卵日)

表 1 各投与区における発情発現日および排卵日数

$\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与区*1	個体 No.	発情発現日(Day)*2	排卵日(Day)*2
対照区*3 (生理的食塩水投与)	(N=3)	18.7±0.9*3	21.0±1.2*3
(1) 1.0mg の 1 回投与	102 111	19 19	21 20
(2) 0.5mg の 2 回投与	6 466	21 13	23 15
(3) 1.5mg の 2 回投与	22 55	12 12	14 14
(4) 1.0mg の 3 回投与	27 145	13 12	15 14

*1; $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与間隔を 12 時間にて, 実施した。

*2; 排卵日 (雄許容最終日; Day0) からの日数を記載。

*3; 対照区として, 黄体開花期 (Day7) に生理的食塩水を投与した。

発情発現日および排卵日の日数は平均値±標準誤差を記載。

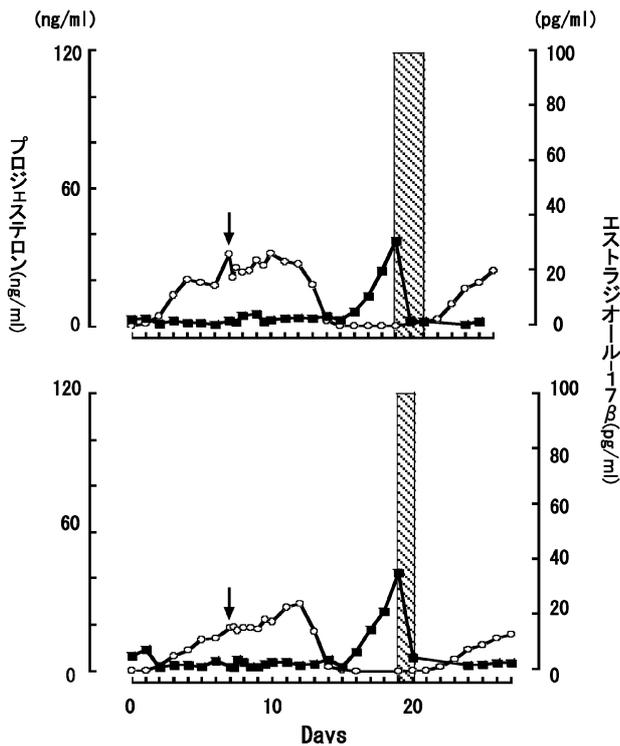


図 2 PGF_{2α} 投与区 (1.0 mg の 1 回投与) における血中ステロイドホルモン濃度の推移 (○: P₄, ■: E₂, ↓: 投与, ▨: 発情, Day0=排卵日)

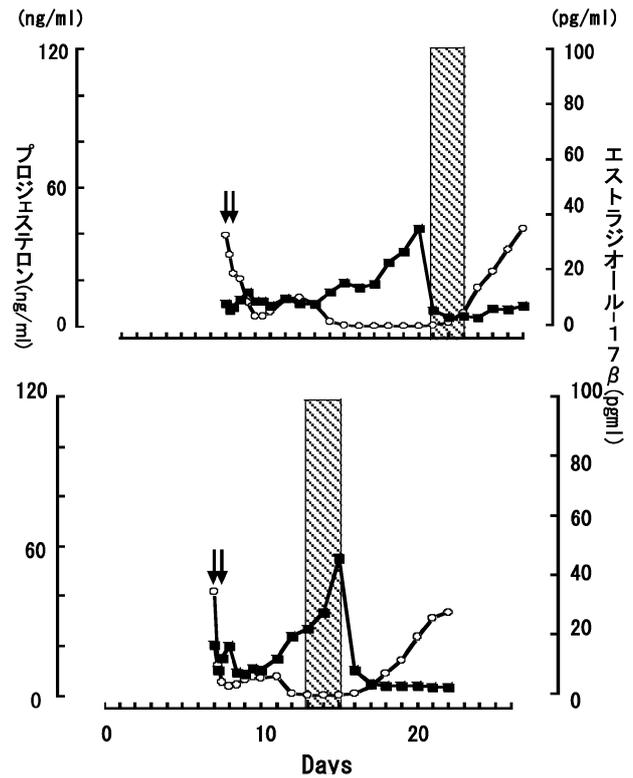


図 3 PGF_{2α} 投与区 (0.5 mg の 2 回投与) における血中ステロイドホルモン濃度の推移 (○: P₄, ■: E₂, ↓: 投与, ▨: 発情, Day0=排卵日)

間後 (Day11~12) に約 10.0 ng/ml の一時的な上昇が認められた (図 3)。これに反して投与区 (3) および (4) では、急激な減少以降、初回投与より 48~96 時間後には、1.0 ng/ml 以下の低値を示し、発情発現まで推移した。また、両投与区の E₂ 濃度は P₄ 濃度の減少に伴い、速やかな上昇が認められた (図 4, 5)。発情周期が短縮した投与区 (3) および (4) において、腔垢内の剥離上皮細胞の出現率、腔内電気抵抗値を図 6 に示した。腔内電気抵抗値においては、投与区 (4) では、一頭体については誘起された発情発現日の 3 日前より上昇傾向を示したものの、その他は顕著な変化は認められなかった。剥離上皮細胞の出現率においては、両投与区とも試験期間中、角化有核上皮細胞と小有核円形上皮細胞の出現率においては相反する推移を示していた。

考 察

PGF_{2α} 投与区 (1) および (2) は、総 PGF_{2α} 投与量は同量であるが投与後の P₄ 濃度の推移には顕著な差が認められた。KINDAHL ら¹⁶⁾ によると、ウシでは子宮内膜で合成された PGF_{2α} は血液中に放出されるが、肺循環 1 回通過でその約 90% が活性を失うと報告している。つまり、PGF_{2α} は体内での代謝速度が早いから、例え同量を投与していても、単回投与では黄体退行作用を示すことなく、代謝されたものと考えられる。同様に、本実験で用いられたクロプロステノールにおいても代謝は速やかであり、1 回投与よりも 2 回投与の方が、血中の PGF_{2α} の値を長く、高値に保つことが出来たものと推測される。岩村ら^{9,10)} は、12~60

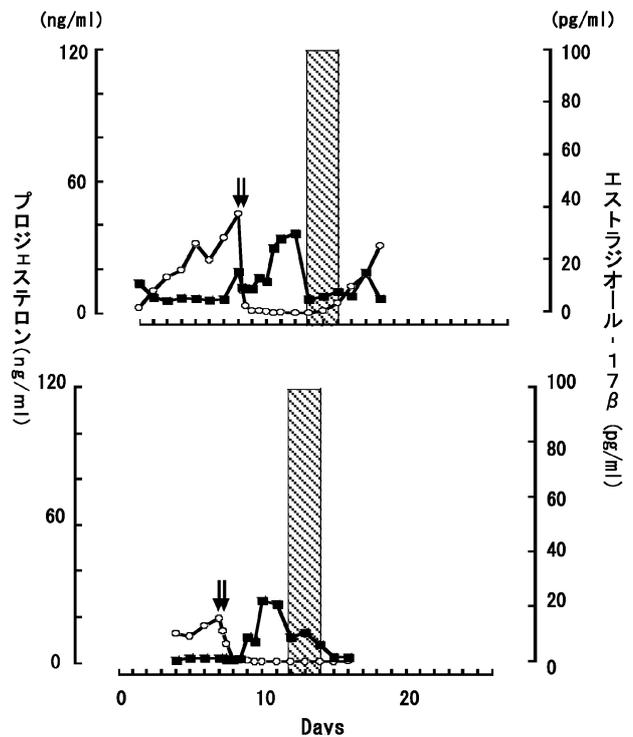


図 4 PGF_{2α} 投与区 (1.5 mg の 2 回投与) における血中ステロイドホルモン濃度の推移 (○: P₄, ■: E₂, ↓: 投与, ▨: 発情, Day0=排卵日)

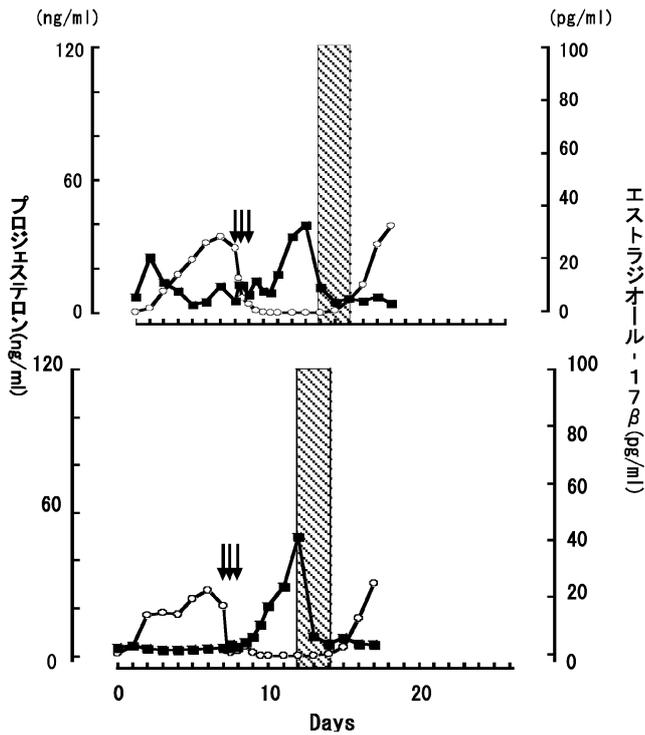


図5 PGF_{2α}投与区 (1.0mg の3回投与)における血中ステロイドホルモン濃度の推移 (○: P₄, ■: E₂, ↓: 投与, ▨: 発情, Day0=排卵日)

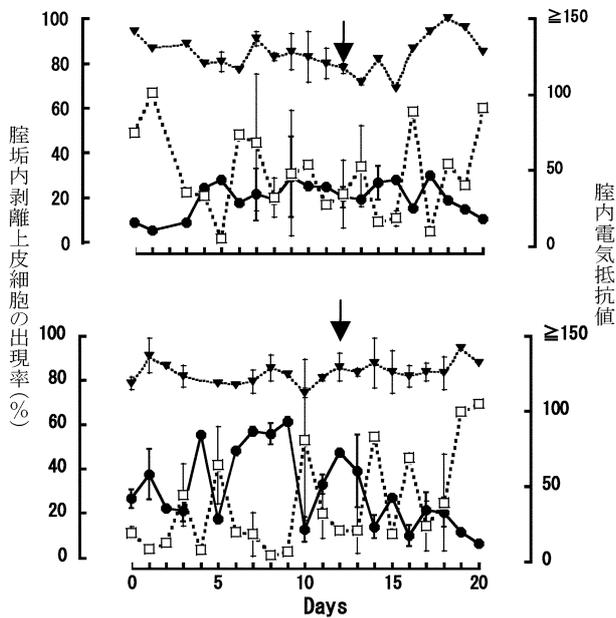


図6 腔垢内剥離上皮細胞の出現率および腔内電気抵抗値の推移 (上図: PG1.5 mg×2回投与区, 下図: PG 1.0 mg×3回投与区, ●: 角化有核上皮細胞, □: 小有核円形上皮細胞, ▼: 腔内電気抵抗値, ↓: 発情)

ヶ月齢の正常な発情周期を営む経産豚 (体重 190~240 kg) の黄体開花期 (Day8~10, 排卵日=Day0) に PGF_{2α} 15 mg または 30 mg を 12 および 24 時間間隔で連続投与したところ発情周期の短縮 (14.1±0.1 日間) が認められたと報告

している。このときの血漿中 P₄ 濃度は、投与終了後には、正常な発情期と同様の 1.0 ng/ml 以下と低値を示していた。本実験において連続投与区として 1.5 mg の 2 回投与区および 1.0 mg の 3 回投与区を設けたところ、初回投与より P₄ 濃度は急激な減少を示し、1.0 ng/ml 以下の値で推移した。更に、この P₄ の動態に伴い E₂ 濃度では個体差は見受けられるもののいずれの個体でも上昇傾向を示した。田中ら¹⁵⁾ は、ミニチュアブタでは、発情発現日前に腔内電気抵抗値は減少し、発情持続中は高値を示すこと、更に腔垢像の推移は、黄体期には小有核円形上皮細胞、発情期には角化有核上皮細胞が多く出現するため発情鑑定の補助的な手段として用いることが可能であるとしている。本実験でも例数は少ないもの腔内生理諸性状において同様の推移は認められている。また、ホルモン動態においても対照区 (生理食塩水) の個体と類似していることから、正常な発情が誘起できたものと思われる。

以上のことより、PGF_{2α} を腔前庭粘膜下に投与することで、P₄ 濃度を減少させるだけでなく、発情周期を短縮させることが可能であり、本投与方法を用いての発情同期化法への応用の可能性が示唆された。

引用文献

- 1) 中原達夫, 1976. 繁殖領域における Prostaglandin の生理的意義, 日本獣医師会雑誌, 29, 3-10.
- 2) 中尾敏彦, 1998. ウシにおける排卵の人為的支配と臨床応用, J. Reprod. Dev., 44, j107-j113.
- 3) 百目鬼郁男, 1977. Prostaglandin によるブタの分娩誘起時における血中性ステロイドの動態, 家畜繁殖学雑誌, 23, xlv-xlix.
- 4) 菅原七郎, 1977. Prostaglandin F_{2α} によるブタの分娩誘起, 家畜繁殖学雑誌, 23, xl-xlv.
- 5) 山田 豊, 1988. 妊娠初期のブタにおけるプロスタグランジン F_{2α} 投与の影響, 日本養豚学会誌, 35, 43-46.
- 6) 河田啓一郎, 1977. ブタの繁殖障害ならびに発情同期化に対する Prostaglandin F_{2α} の応用, 家畜繁殖学雑誌, 23, li-lviii.
- 7) ESTILL, C.T., BRITT, J.H. and GADSBY, J.H., 1993. Repeated administration of Prostaglandin F₂ alpha during the early luteal phase causes premature luteolysis in the pig, Biol. Reprod., 49, 181-185.
- 8) ESTILL, C.T., BRITT, J.H. and GADSBY, J.E., 1995. Does increased PGF₂ alpha induced luteolysis during early diestrus in the pig, PROSTAGLANS, 49, 255-267.
- 9) 岩村祥吉・吉岡耕治・鈴木千恵, 1998. プロスタグランジン F_{2α} を用いた豚の発情同期化について, 豚の繁殖衛生セミナー通信, 24, 50-51.
- 10) 岩村祥吉・吉岡耕治・鈴木千恵・伊東正吾・加茂前秀夫, 1999. 豚の黄体開花期における PGF_{2α} 連続投与が卵巣に及ぼす影響, 豚の繁殖衛生セミナー通信, 25, 13-14.
- 11) 神山佳三・岩村祥吉・遠藤 篤, 2000. 反復投与による発情誘起と繁殖成績, 豚の繁殖衛生セミナー通信, 26, 20-22.
- 12) 仁木明人・大西 充・服部 且, 1986. プロスタグランジン F_{2α} アナログによる豚の分娩誘起試験 I. 徳島県肉畜試験場研究報告, 14, 33-35.
- 13) 竹之内直樹・居在家義昭・大島一修・島田和宏・高橋政義, 1993. ウシ血漿中プロジェステロンの酵素免疫測定法, 中国農業試験場研究報告, 12, 125-132.
- 14) 竹之内直樹・大島一修・島田和宏・高橋政義, 1997. マイ

- クロプレートを用いた牛血漿中エストラジオール 17β の酵素免疫測定法, *J. Reprod. Dev.*, **43**, j9-j14.
- 15) 田中敦士・門司恭典・桑山岳人・竹之内直樹・百目鬼郁男, 2000. ミニチュアブタの発情期における腔内電気抵抗値, 腔垢像および血漿中ステロイドホルモン濃度の変化, 東京農業大学農学集報, **45** (1), 107-114.
- 16) KINDHL, H., LINDELLAND, J.O. and EDQVIST, L.E., 1981. Release of prostaglandin F_{2α} during the oestrus cycle, *Acta. Vet.Scand. Suppl.*, **77**, 143-158.

The Effect of Multiple Administration of PGF_{2α} to Miniature-pig on the Kinetics of Sex Steroid Hormone and Physiological Property

By

Takeshi KUGE*, Hisataka IWATA**, Takehito KUWAYAMA**
and Yasunori MONJI**

(Received February 2, 2005/Accepted June 10, 2005)

Summary : In this study we investigated the effect of PGF_{2α} administration on the kinetics of sex steroid hormone and physiological properties of vagina. PGF_{2α} administrations divided into 5 groups, (1) 1.0 mg PGF_{2α}, (2) 0.5 mg × 2 times given of 12hs. interval, (3) 1.5 × 2, (4) 1.0 mg × 3, (5) no treatment (physiological salt solution = Control) were examined in a total of 10 pigs. In all experimental groups, the concentration of Progesterone (P₄) tended to decrease just after PGF_{2α} treatment. But more than 3.0 mg PGF_{2α} decreased and kept the concentration of progesterone at less than 1.0 ng/ml. Estrous cycle of groups (3, 4) were significantly shorter than that of group (1), (12.3 ± 0.3 days vs. 18.7 ± 0.9 days, P < 0.05). In addition, vagina physiological properties of group (3, 4) were normal. In conclusion, multiple administration of PGF_{2α} is useful for the synchronization of pig estrous cycle.

Key words : Prostaglandin F_{2α}, Synchronization of estrous cycle, Miniature pig, Progesterone, Estradiol

* Department of Animal Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

** Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture