連載 第10回

発情・排卵の同期化と定時授精(その1)

ジェネティクス北海道　顧問　髙橋（たかはし） 芳幸（よしゆき）
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

近年、各種のホルモン剤を投与して発情を特定の日に集中発現（同期化）させ、たとえ発情が観察できなくても排卵時期を同期化することによって一定の時間に人工授精を行う「定時授精」技術が広く利用されている。この技術を有効活用するためには、その原理と限界を理解する必要がある。そこで、今回は北米や欧州で広く活用されているプロスタグランジン$F_{2\alpha}$（$PGF_{2\alpha}$）と性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）を用いた処置の基本となる「オブシンク（Ovsynch）」の処置について説明する。

$PGF_{2\alpha}$製剤を用いた発情の誘起

発情周期中には2～3回の卵胞ウェーブがみられ、2ウェーブでは2回目、3ウェーブでは3回目のウェーブの主席卵胞が成熟して発情を発現させるとともに排卵する（図1；連載第7～9回参照）。初回あるいは2回目のウェーブの主席卵胞は、その成熟に必要な黄体形成ホルモン（LH）の生産分泌が黄体から生産分泌される黄体ホルモン（プロジェステロン）によって抑制されているため、閉鎖退行する。しかし、適当な時期に$PGF_{2\alpha}$を投与すれば、黄体が退行して黄体ホルモンの生産が減少・停止するため、初回あるいは2回目の卵胞ウェーブの主席卵胞は成熟、発情が誘起されるとともに排卵される。

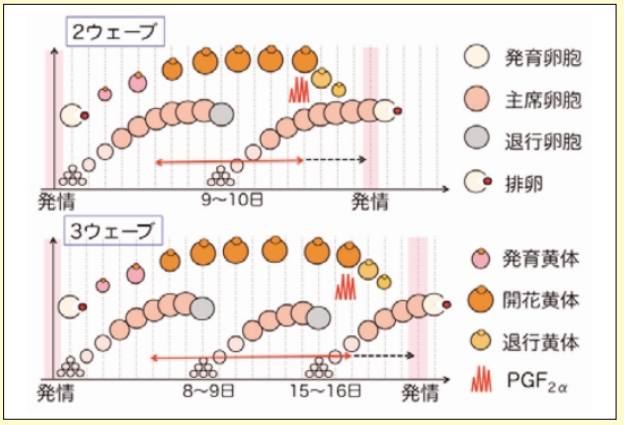

図1　発情周期における卵胞ウェーブと黄体の発育・退行
卵胞ウェーブにみられる小卵胞の発育・動員は、2ウェーブ（上図）では排卵日と排卵後9～10日、3ウェーブ（下図）では排卵日、排卵後8～9日後および15～16日にみられる。黄体は、子宮内膜から生産分泌される$PGF_{2\alpha}$により、発情後15～18日から退行し始める。「←→」は、$PGF_{2\alpha}$の投与により黄体が退行する時期（発情後6～16日あるいは6～17日）を示す。また、「破線→」は、$PGF_{2\alpha}$を投与しなくても、子宮内膜から生産分泌される$PGF_{2\alpha}$によって自然に黄体が退行する時期を示す。

すなわち、$PGF_{2\alpha}$を発情周期1～5日目に投与しても黄体は発育途中で反応しないが、6～16日目に投与すると開花期黄体が退行する。ただし、発情周期の15～18日目になると子宮内膜から$PGF_{2\alpha}$が生産されるので、$PGF_{2\alpha}$製剤を投与しなくても黄体は自然に退行する（図1）。

また、黄体開花期でも$PGF_{2\alpha}$の投与時期によって発情の発現時期が異なる。主席卵胞が選抜されて成熟に向かう時期に$PGF_{2\alpha}$を投与すると、主席卵胞が速やかに成熟するため、2～3日後には発情が発現する。いっぽう、主席卵胞が退行、新たな卵胞ウェーブが始まった頃（主席卵胞が選抜される前）に$PGF_{2\alpha}$を投与すると主席卵胞が成熟するまで時間を要するので、発情発現時期が遅れる（図2）。

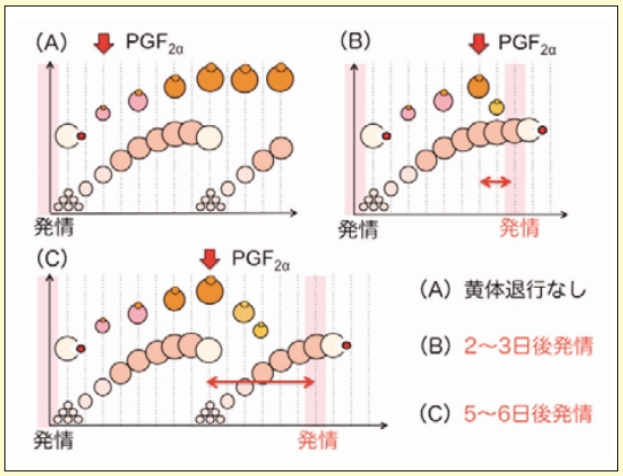

図2　PGF2αの投与時期による発情・排卵時期の違い
(A)PGF2αを投与しても黄体は無反応(退行しない)。(B)PGF2α投与の2〜3日後に発情が誘起される。(C)PGF2α投与の5〜6日後に発情が誘起される。

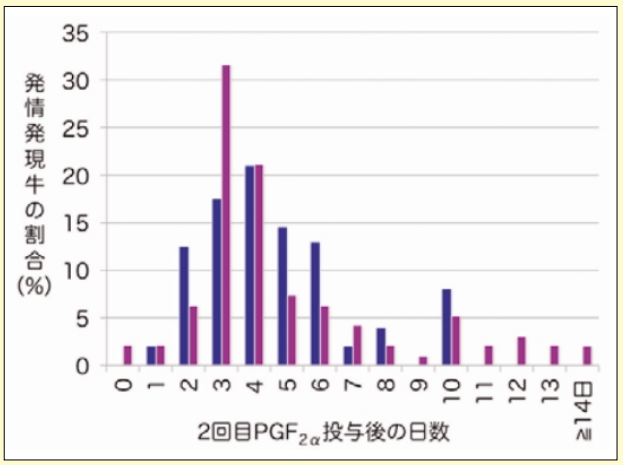

図3　PGF2a投与後の発情発現時期
分娩後の乳牛に対して14日間隔でPGF2αを2回投与、2回目PGF2α投与後の発情発現時期別の割合を示す。
Gumen A et al(2012)とFricke PM (2015)のデータを基に作成。

PGF2αを11〜14日間隔で2回投与すると、約70%の牛は2回目PGF2α投与の2〜6日後に発情を発現する(図3)。

すなわち、PGF2αを11日間隔で投与した場合、1回目投与が発情周期の1〜5日目であった牛も2回目投与時はPGF2αに反応する発情周期の12〜16日目になっている。

また、1回目のPGF2αに反応して2〜6日後に発情が発現した牛もPGF2αに反応する発情周期の13〜17日目になっている。

GnRHとPGF2αを用いた発情・排卵同期化

上述のようにPGF2α単独では発情を誘起できても発情発現時期にバラツキがみられる。発情発現時期のバラツキをなくし、排卵時期を一定の時間帯に集中させることができれば、定時に授精を行っても一定の受胎率が期待できる。そこで卵胞ウェーブを調節するオブシンク(Ovsynch)という処置が開発された。

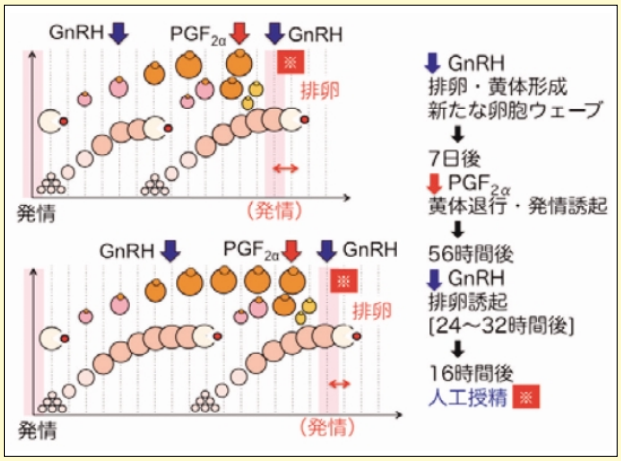

図4　オブシンク(Ovsynch)処置の例
発情周期の5日目から処理を開始した例(上図)と発情周期の8日目から処理を開始した例(下図)を示した。

オブシンク-56（Ovsynch-56）の処置（例）

日	月	火	水	木	金	土
	9:00 GnRH					
	9:00 PGF2α		17:00 GnRH	9:00 授精		

図5　オブシンク-56のホルモン投与スケジュールの例
土曜・日曜の処置を避けて、月曜に1回目のGnRH、その7日後にPGF2α、さらに2日後(56時間後)に2回目のGnRHを投与し、2回目GnRH投与の16時間後に人工授精を実施する例を示した。

オブシンク処置は、まずGnRHを投与して下垂体からの黄体形成ホルモン(LH)の分泌を促し、主席卵胞の排卵と新たな卵胞ウェーブ(GnRH投与の1.5〜2.5日後)を誘起する。また、

GnRH投与の7日後にPGF$_{2\alpha}$を投与して黄体を退行させ、主席卵胞の成熟と発情を誘起する。さらに、PGF$_{2\alpha}$投与の2日後（56時間後）に再度GnRHを投与、成熟卵胞の排卵（GnRH投与24～32時間後）を誘起する。人工授精は、子宮に注入した精子の卵管貯蔵部への移送に必要な時間（8～16時間）を考慮して、GnRH投与の16時間後に行うと高い確率で受胎が期待できる（図4、図5）。

オブシンク処置の限界

オブシンク処置では、初回のGnRH投与により排卵を誘起して新たな卵胞ウェーブを誘起できないと、その後のホルモン投与による排卵同期化は期待できない（図6）。GnRHに反応して排卵が期待できるのは顆粒層細胞にLH受容体を有する主席卵胞である。

しかし、初回GnRH投与時に主席卵胞が排卵する確率は50～60%程度である（図7）。

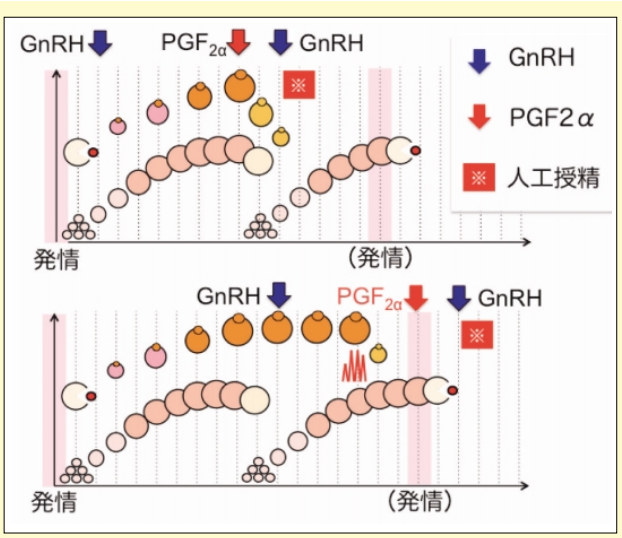

図6　オブシンク処置における初回GnRH投与により排卵がみられない例

（上図）初回GnRH投与時だけでなく2回目GnRH投与時に主席卵胞がないため排卵を誘起できない。（下図）初回GnRH投与時に主席卵胞がないため排卵がみられず、かつPGF2α投与の前に子宮からPGF2αが生産分泌され、黄体が退行、2回目GnRH投与前に排卵するため、人工授精を行っても受胎しない。

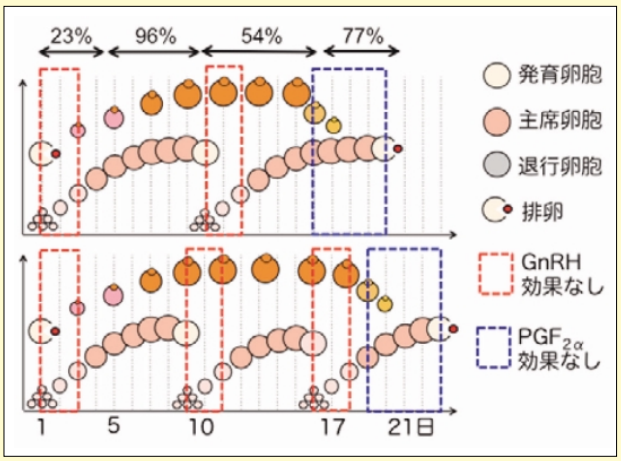

図7　発情周期の任意の時期にGnRHを投与した場合の排卵誘起効果

図中の数値は、発情周期の1～4日、5～9日、10～16日、17～20日にGnRHを投与した場合の排卵率（Vasconcelos et al, 1999）。

また、初回GnRH投与によって排卵が誘起されると2番目の黄体が形成されるため、通常のPGF$_{2\alpha}$投与で2つの黄体が完全に退行する確率は70～80%である。さらに、2回目のGnRH投与の24～32時間後に排卵させられる確率（約85%）を考慮すると、オブシンク処置の最終的な排卵同期化の確率は30～40%になる。

このようにオブシンク処理だけでは、発情・排卵同期化効果が低い。そこで、オブシンク処置の前に卵胞ウェーブを同期化する「プレシンク・オブシンク（Presynch - Ovsynch）」、黄体を持たない牛（排卵周期が回復していない分娩後の牛）にも効果が期待される「G6G」、「ダブル・オブシンク（Double Ovsynch）」などの処置法が開発されている（これらの処置法については、次回説明します）。