

北里大学大学院獣医学系研究科

博士課程学位論文審査の結果と最終試験の成績

2021年2月19日

学位論文題目

乳牛の定時人工授精プログラムの改良に関する研究

氏名 万代 一翔 所属 獣医学専攻 獣医繁殖学

審査委員 主査 北里大学 教授 岡野 昇三



副査 岩手大学 教授 高橋 透



副査 北里大学 教授 永野 昌志



副査 北里大学 准教授 鍋西 久







審査の結果

合格

最終試験の成績

優

論文審査の要旨および担当者

学位申請者	万代 一翔 (DV17007 獣医繁殖学)			
学位論文題目	乳牛の定時人工授精プログラムの改良に関する研究			
担当者	主査	北里大学	教授	岡野 昇三 
	副査	岩手大学	教授	高橋 透 
	副査	北里大学	教授	永野 昌志 
	副査	北里大学	准教授	鍋西 久 

論文審査の要旨

定時人工授精(TAI)プログラムは、ホルモン剤の投与により排卵のタイミングを同期化し、排卵時期に合わせて人工授精(AI)を行う方法で、理論上 AI 実施率が 100%になることから効率的な繁殖管理技術として広く普及している。特に乳牛においては、高泌乳化に伴う発情徴候の微弱化や発情持続時間の短縮による AI 実施率低下を改善できることから有用なツールと言える。その代表例である Ovsynch を基に、処置回数低減を目的として排卵誘発剤の GnRH 投与と TAI を同時に実施する Cosynch や、排卵同期化の失敗を防ぐために前処置を行う各種プログラムが考案・実用化されている。しかし、後者では処置実施回数が増加し、処置実施者の労力や投薬コストが増大するデメリットがある。さらに、動物福祉の観点からも、保定や処置によって牛が受けるストレスは最小限に抑えられることが望ましい。

そこで、これらの問題を解決する一つの方法として Short-Synch プログラム(SS)が挙げられる。この方法は、黄体期の牛にプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ (PGF)を投与して黄体を退行させ、その後エストラジオール(E_2)や性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)の投与により LH サージを発生させて排卵を誘発するものであり、上述の方法と比較して所要日数が短いメリットがある。しかし過去に報告されている SS では、処置実施回数や労力面・コスト面でのデメリットが依然として存在している。そこで本研究では、排卵誘発剤として安価な安息香酸エストラジオール(EB)を用い、処置実施間隔を等間隔に設定することでコストと労力の両者を軽減可能な SS(EB-SS)について、従来の GnRH を用いた SS(GnRH-SS)を対照として評価した。

さらに、近年では臨床現場においても超音波画像診断装置が広く普及し、黄体や卵胞のサイズや個数といった卵巢所見を詳細に観察することが可能になっている。また、GnRH-SS では、処置開始時の卵巢画像所見によって受胎率に差異が生じることが報告されている。一方で、EB-SS と GnRH-SS では、PGF 投与から TAI 実施までの間隔が異なり、処置開始時の卵巢画像所見による受胎率差には、この TAI 実施のタイミングが影響している可能性が考えられる。よって GnRH-SS においても、TAI 実施時間の調整による受胎率向上が期待される。

そこで本研究では、①労力およびコストを軽減可能な EB-SS では従来法の GnRH-SS と同等以上の受胎率が得られ代替法となり得るのか、②処置開始時の卵巢画像所見に基づき TAI 実施タイミングを調整することで GnRH を用いた SS の受胎性が向上するのか、③EB-SS においても処置開始時の卵巢画像所見による受胎率の差異が存在するのか、の 3 点を明らかにする目的で臨床試験を実施した。

1. 排卵誘発剤に安息香酸エストラジオール(EB)を使用する低コストで実用的な Short-Synch プログラム

過去に報告されている SS では、PGF 投与のタイミングによっては以後の処置を夜間や早朝に実施する必要が生じ、実施者に時間面の制約が生じるデメリットが存在する。またこれらのプログラムの受胎率は Ovsynch と同等程度に留まり、SS のメリットは処置実施回数と金銭コストの低減のみであった。そこで、労力の低減化を図るとともに受胎率向上を目指す方法として、PGF 投与から 24 時間後に EB を投与し、その 24-28 時間後に TAI を実施する新たなプログラム(EB-SS)の有用性を検証した。対照群には、従来法である PGF 投与から 56 時間後に GnRH を投与し、その 16-20 時間後に TAI を実施するプログラム(GnRH-SS)を設定した。その結果 EB-SS の受胎率は 56.6%であり、GnRH-SS の 29.8%より有意に高かった。特に経産牛で有意差が認められた一方で、初産牛では群間に有意差は認められなかった。排卵誘発剤として用いた EB は GnRH よりも安価であることから、EB-SS は GnRH-SS と比較してコストと労力の低減が実現可能であり、有用な定時人工授精プログラムの一つとなることが示された。(Bandai *et al.*, *Theriogenology*, 2020)

2. 排卵誘発剤に GnRH を用いる Short-Synch プログラムの改良

EB-SS で高受胎率が得られる要因として、TAI 実施のタイミングが GnRH-SS より早いことが挙げられる。一方、GnRH-SS においては、PGF 投与時に超音波画像診断を行い、直径 10mm 以上の卵胞が 1 個のみ存在した牛(卵胞 1 個群)よりも 2 個以上存在した牛の方が高受胎率となることが報告されている。卵胞 1 個群は、第 1 卵胞波主席卵胞(W1DF)が存在する時期に処置を開始している可能性が高い。W1DF は PGF 投与後の排卵

タイミングが早いケースも想定されることから、EB-SS の早い TAI 実施が受胎率差を生んだ一因と考えられる。そこで、卵胞 1 個群に対する GnRH-SS でも TAI 実施時期を EB-SS と近似させれば受胎率が向上すると仮説を立て、PGF 投与から 48～56 時間後に GnRH 投与と TAI を同時に実施するプログラム(GnRH-Cosynch)について、従来の GnRH-SS と受胎率を比較した。その結果、前者の受胎率(61.1%)は後者(23.1%)より高い傾向がみられ($P=0.07$)、卵胞 1 個群の牛の TAI 実施適期は PGF 投与から 48～56 時間後である可能性が示唆された。

3. Short-Synch プログラム開始時の卵巢画像所見と定時人工授精実施後の受胎率の関係

卵胞 1 個群に対する SS において、TAI 実施時期を早めることが受胎性を向上させる可能性が示された。そこで卵胞 1 個群の牛では、EB-SS の受胎率が GnRH-SS より高いと仮説を立て、両者の受胎率と卵胞個数の影響を評価した。群全体の受胎率は EB-SS(45.4%)が GnRH-SS(35.0%)よりも有意に高く、経産牛でのみ有意差が認められることを再確認した。またロジスティック回帰分析の結果、卵胞個数と排卵誘発剤の種類間に交互作用が認められた。多重比較検定の結果、卵胞 1 個×GnRH 群(27.5%)と比較して、卵胞 2 個×GnRH 群(53.4%)・卵胞 1 個×EB 群(43.4%)・卵胞 2 個×EB 群(51.9%)の 3 群がいずれも有意に高い受胎率を示した。これらことから、EB-SS で高い受胎率が得られた要因は、卵胞 1 個群でも高い受胎率が得られるためであることが示された。

本研究の成果から、処置開始時の超音波卵巢画像所見に基づき適切な Short-Synch プログラムを選択することで、高い受胎率を得られることが

明らかとなった。コストを重視する場合には EB-SS が優位であり、労力を重視する場合には卵胞 1 個群では GnRH-Cosynch も選択肢となる。これらの成果は、卵巣画像所見と TAI プログラムの受胎性の関係や、PGF 投与と TAI 実施の最適間隔に関する新たな知見であるとともに、臨床現場でも広く普及可能な技術として期待される。

本研究成果は、Short-Synch プログラムを改良することで低労力・低コストであるにもかかわらず高い有効性が得られ、さらに超音波卵巣画像所見を組み合わせることでより高い受胎率が得られることを明らかにした。この成果は産業動物の繁殖分野において貴重な知見を提示した。また、著者の研究に対する真摯な姿勢と高い学識が読み取れ、著者が研究者として十分な資質を備えていることが判断できた。よって、本論文は博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認め、審査員一同は合格と判定した。