

氏名（国籍）	Abdul Razaq Irshad（アフガニスタン イスラム共和国）
主指導教員氏名	岩手大学 准教授 高橋 透
学位の種類	博士（獣医学）
学位記番号	獣医博甲第449号
学位授与年月日	平成27年9月24日
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岩手大学
学位論文題目	Studies on the Development of Piggyback Programmable Syringe Pump and Multiple pFSH Injection Regimen for Superovulation in Cows (インテリジェントマイクロシリンジを用いた豚卵胞刺激ホルモン製剤の多回投与による牛の過剰排卵に関する研究)
審査委員	主査 岩手大学 教授 佐藤 繁 副査 帯広畜産大学 教授 松井 基純 副査 岩手大学 准教授 高橋 透 副査 東京農工大学 准教授 田中 知己 副査 岐阜大学 教授 村瀬 哲磨

学位論文の内容の要旨

牛の過剰排卵処置は胚移植に供する体内発生胚を採取するための重要な技術であり、胚移植の基盤的技術として発展して来た。しかしこれまでの膨大な研究にもかかわらず、過剰排卵処置によって採取される移植可能胚の数は過去30年以上に渡ってほとんど改善をみしていない。また、現在実施されている方法は豚由来の卵胞刺激ホルモン製剤（pFSH）を1日2回4日間注射するという煩雑かつ牛に対するストレスの大きなものであり、作業の簡便化や動物福祉の観点から改善が求められている。このような中であって、これまでも1回の投与で過剰排卵処置が可能となる方法が検討されて報告されて来た。研究の初期には馬絨毛性腺刺激ホルモンの1回投与による過剰排卵処置が試みられたが、このホルモンは血中半減

期が約1週間と極めて長いために、過剰排卵処置終了後にも持続的に卵巣を刺激し、胚の品質低下を招く事が知られている。また、半減期の短い(～6時間)pFSHの欠点を改善するために、pFSHを徐放性基剤と混合して1回投与する手法も報告されたが、残存卵胞が多い等の問題点が伴う。そこで本論文では、新開発の牛の背中に背負わせるシリンジポンプを牛の過剰排卵に応用し、1日4回ないし6回の投与プログラムを検討して、従来法である1日2回投与法と比較した。

第1章では、シリンジポンプを用いて合計28アーマー単位(AU)のpFSHを排卵後10日(D10)から1日あたり6回ずつ4日間投与し(実験群)、同じく合計28AUのpFSHをD10から1日2回4日間投与する従来法(対照群)と比較した。実験は12頭のホルスタイン種雌牛を用いて6頭ずつの2群で実施した。過剰排卵処置中の卵胞発育を超音波診断装置でモニターし、血中ホルモン濃度の推移を時間分解蛍光免疫測定法で測定した。血中ホルモン濃度は群間に差が認められなかったが、発育卵胞数や黄体数は実験群よりも対照群で多い傾向にあり、実験群では対照群と比較してD21における残存卵胞数が少ない傾向にあることが示された。

第2章では、シリンジポンプを用いて合計30AUのpFSHをD10から1日4回4日間投与し(実験群)、同じく合計30AUのpFSHをD10から1日2回4日間投与する従来法(対照群)と比較した。実験は18頭のホルスタイン種雌牛を用いて、9頭ずつの2群で実施した。処置中の卵胞発育動態のモニターや血中ホルモン濃度の測定は第1章と同じ方法で実施した。その結果、シリンジポンプを用いた1日4回の投与は、1日2回投与法と比較して発育卵胞数が多い事が示された。排卵後に形成される黄体数は群間に差が認められなかったが、実験群においてはD21の残存卵胞数が対照群よりも有意に少なかった。血中ホルモン濃度の推移は群間で差が認められなかった。

本論文の成績から、1日6回投与による牛の過剰排卵処置は、1日2回投与法と比較した場合発育卵胞数や黄体数の点で優れているとはいえないが、残存卵胞数が少ない事が伺われ、1日4回投与法は発育卵胞数や黄体数の多さ、残存卵胞数の少なさという点から1日2回投与法よりも優れた手法であると思われた。このような結果に至った原因として、卵胞を過剰に発育させるためには、毎回一定以上のpFSHを投与する事の必要性が示唆され、1日6回の投与は、1回あたりの投与量が少なくなってしまう、十分な数の卵胞を発育させる事ができなかったものと思われた。しかしながら、D21の残存卵胞の少なさという点では、1日4回または6回投与法の方が1日2回投与法よりも優れていた。この原因として発育を開始した卵胞を最後まで成熟させて排卵に至らせるためには頻度の高いFSH投与が必要であり、内因性FSHパルス頻度(約8回/日)により近い1日6回投与や4回投与法が良好な成績を示したものと思われた。

以上の成績から、本論文で開発した背負型のシリンジポンプを用いる事によって、pFSH製剤を任意の量を任意の間隔で反復投与する事が可能になり、これを活用する事によって、

牛の卵胞発育を刺激する適切な処置法の確立のための pFSH の投与パターンを検討する事ができた。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は牛の過剰排卵処置の成績改善を目的として、過剰排卵処置に用いる豚 FSH 製剤を、予め任意の投与量や投与間隔をプログラムして投与できる背負型のシリンジポンプで投与した際の効果を明らかにする目的で行われた。

第 1 章では、12 頭のホルスタイン種牛（年齢 2.7 ± 0.20 ）を用いて、排卵後 10 日目 (D10) から合計 28 アーマー単位 (AU) の豚 FSH 製剤をシリンジポンプで 1 日 6 回ずつ 4 日間投与した (実験群)。また、対照として 28AU の製剤を 1 日 2 回ずつ注射器で 4 日間投与した (対照群)。その結果、血中ホルモン動態に群間の差はなかったものの、発育卵胞数や黄体数は実験群が対照群よりも少ない傾向があり、実験群は D21 における残存卵胞数が少ない傾向が明らかにされた。

第 2 章では、18 頭のホルスタイン種牛（年齢 5.0 ± 0.4 ）を用いて、シリンジポンプを用いた 1 日 4 回 4 日間投与 (実験群) と、従来法である注射器を用いた 1 日 2 回 4 日間投与 (対照群) の過剰排卵成績を比較した。その結果、シリンジポンプを用いた 1 日 4 回投与法は、従来法である 1 日 2 回の注射法に比較して発育卵胞数が多く、残存卵胞数が少なかった。

本研究の成績から、1 日 6 回投与法は発育卵胞数の点では従来法である 1 日 2 回投与法に劣るものの、発育した卵胞の多くが排卵に至る事が示唆された。また、1 日 4 回投与法の成績は、発育卵胞数の多さと残存卵胞数の少なさという点において 1 日 2 回投与法よりも優れたものであった事が示された。これらの成績は、卵胞を過剰に発育させるには、ある程度の量の FSH に感作される事が必要であり、発育を開始した卵胞が最終的に成熟・排卵に至るためには FSH を高頻度に間欠投与するがあるという概念を提示するものである。この概念は、豚 FSH 製剤の長時間作用を期待して徐放性基剤と共に全量を 1 回投与して過剰排卵を誘起した際に残存卵胞が多発するとする先行研究の結果や、1 日 2 回 4 日間の投与が必要という従来法の考え方と符合するものがある。

以上について、本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると審査委員が全員一致で認めた。

基礎となる学術論文

題 目： Development of a programmable piggyback syringe pump and four-times-a-day injection regimen for superovulation in non-lactating Holstein cows

著 者 名： Irshad, A. R., Sasaki, T., Kubo, T., Odashima, N., Katano, K., Osawa,

T., Takahashi, T. and Izaike, Y.

学術雑誌名: Journal of Reproduction and Development

巻・号・頁・発行年: In press