

16. 黒毛和種長期不受胎牛における繁殖性改善の試み

農林水産研究指導センター畜産研究部 1) 畜産技術室 2) 金丸獣医科医院

○波津久航・岡崎雅記・(病鑑) 佐藤 亘¹⁾・金丸裕之²⁾

【背景】

黒毛和種繁殖農家の経営には、施設維持、給与飼料、母牛の改良などの要素があるが、特に繁殖管理は重要であり、子牛を生産し、市場出荷または保留することは経営を左右する。大分県肉用牛振興計画では、「平均分娩間隔380日」を目標として定めているが、現在の分娩間隔は406日と達成できていない。これから、目標に向けて26日間の短縮が必要であり、直近の1戸あたりの繁殖牛飼養頭数16頭から計算すると、子牛1頭分の収益を失っていることとなる。飼料代の高騰が生産者を圧迫している昨今、その経営基盤強化には繁殖性改善が急務であると考えられる。

繁殖性の改善のため、臨床現場では膣内留置型プロゲステロン製剤、人工授精後副黄体形成を目的としたGnRH製剤や発情誘起のためのプロスタグランジン製剤などの性ホルモン剤の投与、分娩後の子宮回復を早める目的でイソジン液や抗生物質などの薬剤の子宮内投与、子宮内を生理食塩水などで還流し洗浄する方法などが用いられているが、それでも反応しない雌牛もおり、やむを得ず繁殖に供することができなくなる場合もある。

血小板を多く含む血漿は、多血小板血漿 (PRP) と呼ばれており、その組織再生能力は、人医療で注目され以前から再生医療などに用いられている。また、近年、獣医療でも用いられており、伴侶動物分野における老年性の関節炎や、重度やけど・乳腺腫瘍摘出の際などの広範囲の皮膚欠損などの場合に、産業動物分野における乳牛の潰瘍性飛節周囲炎や深部蹄底潰瘍などの場合に適用されている。さらに、人医療で、最近では不妊治療の際、子宮の厚さを改善する効果を目指し子宮内への注入も行われている。この方法を長期不受胎牛にも応用できないかと考え、牛での既報を調べたところ、国内・海外での報告は数例ほどしかなく、効果は不明であった。

今回研究部では、現場実証の一貫として、PRPの子宮内注入による効果の検証を試みた結果、良好な成績を得ることができたので報告する。

背景

多血小板血漿 (PRP)

自己血液から調整された血小板を多く含む血漿。
人再生医療で注目されている。

(応用)

伴侶動物：関節炎、皮膚欠損など

産業動物：潰瘍性の飛節周囲炎、蹄底潰瘍など

○人妊治療：子宮内への注入

→牛でも応用できないか？

国内・海外では数例ほどしか報告がなく、効果は不明。

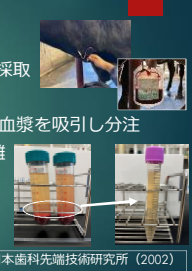
【材料と方法】

当部近隣の生産者4戸が飼養し、診療獣医師による繁殖改善治療や頻回の人工授精にも関わらず、半年以上不受胎で、廃用を検討されている7頭を供試牛とし、処置を行った。処置に際し、前回分娩での異常、分娩後日数などの繁殖履歴の聞き取り調査に加え、血液生化学検査も実施した。

材料と方法
(PRPの調整)

- ①供試牛から血液を約200ml採取
- ②200×gで30分遠心分離
- ③パフィーコートから上層の血漿を吸引し分注
- ④1,500×gで10分間遠心分離
- ⑤下層 (PRP) を吸引
- ⑥-80℃で冷凍保存
- ⑦使用時は37℃で解凍

※ミラノ大学 (2020)、日本歯科先端技術研究所 (2002) の調整方法を参考



1 調整方法および注入方法

輸血時に使用する輸血バッグに供試牛から血液を約200ml採血し、200Gで30分間遠心分離を行った。パフィーコートから上層の血漿を吸引したものを、次に1500Gでさらに10分間遠心分離を行った。最後に、その下層1/3をPRPとして吸引・分注した。PRPは使

用時まで-80℃で凍結保存し、使用時は37℃で解凍した。

使用時は、人工授精または発情後2～4日目の供試牛に、通常の薬剤注入と同様に直腸膈法で調整後のPRP15～20mlを注入した。

2 供試牛

供試牛1は、5歳7か月で不受胎が続き廃用を検討中だが、全国的に著名な民間種雄牛を父に持ち市場性に富んでいるので今一度繁殖供用を要望しており、発情誘起による人工授精後2日目に処置を行った。

供試牛2は、2歳10か月と若いものの、初産後4回の人工授精でも受胎しないとのことであった。一度PRP処置を行ったものの不受胎となったが、その後の強い発情で人工授精を行った後3日目に再び処置を行った。

供試牛3は、7歳5か月で、昨年に県外から受胎済みとして導入したものの、その後流産してから不受胎であった。飼料給与内容のアドバイスをを行い、発情誘起による人工授精後3日目に処置を行った。

供試牛4は、11歳6か月で、半年以上不受胎の状態を導入したが、肥育に供する前にもう一度繁殖供用を要望し、人工授精後3日目に処置を行った。

供試牛5は、13歳8か月と高齢であり、分娩後8か月经過しており発情回帰はするものの7回の人工授精でも受胎していなかった。血統的に後継をとりたいたいとのことで、自然発情による人工授精後3日目に処置を行った。

供試牛6は、2歳5か月の未経産牛であったが、6回の授精でも受胎しないとのことで、発情誘起による人工授精後3日目に処置を行った。

供試牛7は、10歳7か月で、比較的高齢牛で鈍性発情になり1回しか授精でき

材料と方法

供試牛	市町村	年齢	分娩後	経歴	繁殖状況
1	竹田市久住町	5歳7ヶ月	18ヶ月	産子市場性あり	5回AIしたが不受胎
2	竹田市久住町	2歳10ヶ月	11ヶ月	好成绩の実績あり	4回AIしたが不受胎
3	竹田市	7歳5ヶ月	不明	県外から導入後流産	流産後3回AIしたが不受胎
4	玖珠町	11歳6ヶ月	不明	半年以上不受胎で導入	発情回帰するが授精できず
5	玖珠町	13歳8ヶ月	8ヶ月	血統的に後継がほしいが高齢	7回AIしたが不受胎
6	竹田市久住町	2歳5ヶ月	未経産	未経産で長期不受胎	6回AIしたが不受胎
7	竹田市久住町	10歳7ヶ月	10ヶ月	産子市場性あり	1回AIしたが不受胎

ず廃用を検討中だが、全国的に著名な民間種雄牛を父に持ち市場性に富んでいるので今一度繁殖供用を要望しており、今回良好な発情で人工授精をし、その後4日目に処置を行った。

【結果】

供試牛	年齢	分娩後	繁殖状況	発情の状況	PRP処置	妊娠
1	5歳7ヶ月	18ヶ月	5回AIしたが不受胎	誘起	AI後2日目	+
2	2歳10ヶ月	11ヶ月	4回AIしたが不受胎	自然	発情後3日目 受精卵移植へ	
3	7歳9ヶ月	不明	流産後3回AIしたが不受胎	誘起	AI後2日目	+
4	11歳6ヶ月	不明	発情回帰するが授精できず	自然	AI後3日目	+
5	13歳8ヶ月	8ヶ月	7回AIしたが不受胎	自然	AI後3日目	+
6	2歳5ヶ月	未経産	6回AIしたが不受胎	誘起	AI後3日目	+
7	10歳7ヶ月	10ヶ月	1回AIしたが不受胎	誘起	AI後4日目	

妊娠鑑定した5頭全てで**受胎確認**。

PRP 処置の結果、試験に供した7頭のうち、妊娠鑑定がなされた5頭すべての受胎が確認された。また、血液生化学検査の結果、7頭とも正常値から大きく逸脱するものはなかった。それぞれの供試牛の直近の分娩の際、難産や子宮捻転、後産停滞などその後の繁殖成績に影響を及ぼすような異常はなかった。

【結語】

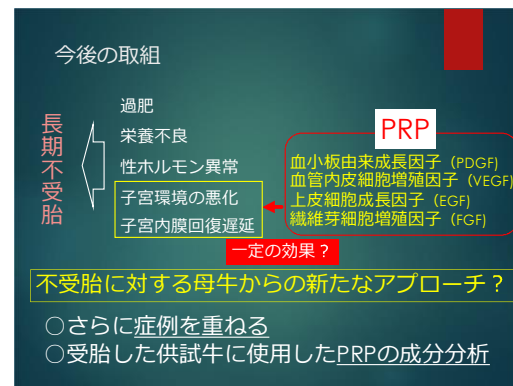
長期不受胎の原因として、過肥、栄養不良、性ホルモンの異常、子宮環境の悪化、子宮内膜回復遅延などがある。一方、PRP の効果として、血小板 α 顆粒由来の成長因子（血小板由来成長因子、血管内皮細胞増殖因子、上皮細胞成長因子、繊維芽細胞増殖因子など）が組織再生を活性化していると言われており、人医療では不妊治療の際、PRP 処置を行うことで子宮の厚さが増し、妊娠につながる事が報告されている。

牛では、子宮形状が人と異なるため、同じ作用が子宮内で起きているかは明らかではないが、今回は妊娠鑑定が終了した供試牛すべてで妊娠を確認できた。

以上から、不受胎牛に対する母体側からの新たなアプローチ方法として有効であることが示唆された。

今後は、さらに供試を重ね、受胎牛と不受胎牛の違いを比較する必要がある。

また、供試牛の子宮内検索や、受胎した供試牛に使用した PRP の成分分析も研究機関と実施していきたいと考えている。



【参考文献】

Fausto Cremonesi ら、Platelet Rich Plasma for Regenerative Medicine Treatment of Bovine Ovarian Hypofunction、Front Vet Sci、第7巻 517頁、2020年、イタリア

堤治ら、子宮内膜菲薄化による難治性不妊に対するPRP（多血小板血漿）療法、医学のあゆみ、第278巻 第7号 688～693頁、2021年

Konstantinos Sfakianoudis ら、Successful Implantation and Live Birth Following Autologous Platelet-rich Plasma Treatment for Patient with Recurrent Implantation Failure and Chronic Endometritis、Journal In vivo、第33巻 第2号 515～521頁 2019年、ギリシャ

山根進ら、多血小板血漿（PRP）の精製法についての検討、日口腔インプラント誌 第16巻 第1号 77～83頁 2003年

Maryam Eftekhari ら、Can autologous platelet rich plasma expand endometrial thickness and improve pregnancy rate during frozen-thawed embryo transfer cycle? A randomized clinical trial. 、Journal Taiwanese journal of obstetrics & gynecology、第57巻 第6号 810～813頁、2018年、台湾