

# 琉球在来豚（アグー）の効率的繁殖技術の確立

## (5) 発情徴候不明瞭豚における性ホルモン動態と膈内粘液電気抵抗との関連

仲村敏 建本秀樹\* 島袋宏俊 稲嶺修  
山内昌吾\* 屋嘉比達郎\* 与古田稔

### I 要 約

琉球在来豚(アグー)で多く認められる不明瞭な発情徴候を示す個体群(発情不明瞭群)の繁殖効率向上を目的に、発情不明瞭群における膈内粘液電気抵抗(VER)値と性ホルモン濃度の推移との関連性について検討した。

1. 発情徴候が不明瞭で、かつ VER 値が周期的な変動を示す個体群(発情不明瞭群 TypeA)の血漿中エストロゲン(Estradiol-17 $\beta$ ; E<sub>2</sub>)は、発情徴候が明瞭な個体群(正常発情群)と類似した動態を示した。しかし、発情不明瞭群 TypeA は、正常発情群より E<sub>2</sub>の上昇開始時期が約 36 時間遅く、最高濃度に達するまでの時間も約 29 時間短かった。
2. 発情徴候が不明瞭で、かつ VER 値が周期的な変動を示さない個体群(発情不明瞭群 TypeB)は、個体ごとに異なる E<sub>2</sub>動態を示し、規則性は認められなかった。
3. 発情不明瞭群 TypeA の血漿中プロゲステロン(Progesterone; P<sub>4</sub>)は、正常発情群と類似した動態を示したが、P<sub>4</sub>上昇は、正常発情群より約 44 時間早く開始された。いっぽう、発情不明瞭群 TypeB では、持続的な P<sub>4</sub>の上昇は認められなかった。
3. 発情不明瞭群 TypeA の血漿中黄体形成ホルモン(Luteinizing Hormone; LH)は、正常発情群と類似した動態を示したが、LH サージは正常発情群より約 16 時間早く認められた。
4. 発情不明瞭群 TypeB の LH は、規則性が認められず、LH の増減を不規則に繰り返す個体と LH が低濃度で持続する個体が認められた。
5. VER 値と E<sub>2</sub>濃度との間には負の相関性(P<0.01)、P<sub>4</sub>濃度ならびに LH 濃度の間には正の相関性(P<0.01)が認められたことから、VER の測定は卵巢状態の推察に有効であることが示唆された。

以上のことから、発情不明瞭群 TypeA は、卵巢からの各ホルモンが不均衡な状態であることが示唆され、発情不明瞭群 TypeB はホルモンの分泌異常で多様な卵巢機能不全の状態であると推察される。そのため、発情不明瞭群でも VER を指標とした適切なホルモン処置により受胎率を改善できる可能性もあり、ホルモン療法による処置も今後、検討する必要があると思われる。

### II 緒 言

繁殖豚は通常、外陰部の発赤・腫脹、膈粘液の漏出、乗駕許容や背圧反応などの発情徴候により交配適期を判断している。しかし、アグーは、発情徴候の発現に乏しく、その約半数が明瞭な発情徴候を示さない個体である<sup>1)</sup>。また、体型が一般西洋豚に比べ小型なため、直腸検査による卵巢診断や治療も困難であり、繁殖供用ができていないのが現状である。このことが繁殖効率を低下させる要因の一つとなり種豚増殖を妨げる原因となっている。そのため、アグーを効率的に繁殖させ、生産性を高めるには、発情不明瞭豚に対しても応用可能な繁殖技術の確立が必要である。

近年、豚の発情期における VER 値と性ホルモン濃度には、高い相関があることが報告されている<sup>2)</sup>。伊東<sup>3~5)</sup>や岩村ら<sup>6)</sup>も VER 値は性ホルモンと同様な周期的な変動パターンを呈し、それは、黄体期に高値を示し、発情開始の 1~2 日前に最低値となることから、VER の測定により発情開始日の推定が可能であると報告している。著者ら<sup>1)</sup>もアグーの VER 測定において同様な変動パターンを確認し、VER を測定することで、発情および授精適期の推定が可能であることを報告した。さらに、正常発情群の VER 値と性ホルモン濃度の相関は高く、アグーは、一般西洋豚より排卵や授精適期が早期であることも明らかにした<sup>7)</sup>。また、VER 値を指標に適期で早期人工授精を実施すると、アグーの受胎率が飛躍的に向上することを示した<sup>8)</sup>。しかし、発情不明瞭群については、良好な受胎成績が得られず、繁殖に供用す

るには未だ不十分なのが実情である。

そこで本試験では、発情不明瞭群の繁殖効率向上を目的に、不明瞭な発情徴候を示すアグーの VER 値と性ホルモン濃度を測定し、その関連性や繁殖技術への応用について検討した。

### Ⅲ 材料および方法

#### 1. 期間および場所

試験は 2008 年 5 月から同年 9 月に沖縄県畜産研究センターで実施した。

#### 2. 供試豚

当センターで飼養しているアグー種雌豚について事前に発情徴候と VER 動態を調べ、うち 11 頭を 1) 発情徴候が比較的明瞭で、かつ VER 値が周期的な変動を呈す個体群 (正常発情群) 5 頭, 2) 発情徴候が不明瞭で、かつ VER 値が周期的な変動を示す個体群 (発情不明瞭群 TypeA) 3 頭, 3) 発情徴候が不明瞭で、かつ VER 値が周期的な変動を示さない個体群 (発情不明瞭群 TypeB) 3 頭に群分けして供試した。

#### 3. 採血手法およびサンプル処理

##### 1) 頸静脈へのカテーテル装着手術および採血

前麻酔として鎮静剤 (ドミツール, 1ml/頭) および分泌抑制剤 (硫酸アトロピン, 0.05mg/kg) を耳根部に筋肉内投与, 続いて導入麻酔剤 (ドルミカム, 2ml/頭), 全身麻酔剤ペントバルビタール製剤 (ソムノペンチル 0.1ml/kg) の筋肉内投与により麻酔導入した。供試豚は手術台に固定し, ハロセン 2-3% と酸素の吸入により深麻酔状態を維持した。

頸静脈へのカテーテル装着手術は, 頸部腹側をメスで切開し, 外頸静脈を探り, そこへウロキナーゼ中心静脈用カテーテル (日本シャーウッド社, メディカット LCV-UK キット, 50cm, 18G) を挿入した。切開部は縫合し, カテーテルは体表に沿わせ背中に向け, 粘着性弾力包帯 (アルケア, エラテックス 5) を貼り付け, 固定し, 安静状態を保ったままでの採血を可能とした。術後は感染予防のため, アンピシリンを筋肉内投与した。

##### 2) 採血およびサンプル処理

採血は, 安静状態を保ったまま外頸静脈に固定したカテーテルを通して, VER の最低値を基準に前後 7 日間, 8 時間間隔で行った。採取した血液は, 直ちに抗凝固剤 (EDTA-2Na) 加真空採血管に移し, 3000rpm 30 分間遠心分離後, 血漿サンプルとして, 各性ホルモンを測定するまで  $-80^{\circ}\text{C}$  に保存した。なお, カテーテル内の血液凝固を防ぐため, 採血の前後にヘパリン生食を約 5ml カテーテル内へ注入し, フラッシュした。採血時には, カテーテル内のヘパリン生食を吸引除去し, 新しい注射筒で約 5-10ml の血液を採取した。

#### 4. VER 値および性ホルモンの測定

VER 測定には, 市販の膈内電気抵抗測定器 (ポーランド国, DORAMINSKI 社製) を使用し, 測定は性周期に併せて継続的に 1 日 1 回行い, 測定期間中 VER が最も低値を示した日を 0 日目とした。また, -2 日目から +5 日目までの計 7 日間の VER 測定は, 採血と併せて 8 時間間隔で行った。

$E_2$  及び  $P_4$  濃度の測定は, それぞれ市販の Estradiol EIA Kit, Progesterone EIA Kit (Cayman Chemical 社) を使用し, Protocol に従って Enzyme Immunoassay (EIA) 法により実施した。黄体形成ホルモン (Luteinizing Hormone; LH) 濃度は, 市販の LH ELISA Kit (Endocrine Technologies 社) を使用し, Protocol に従って Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) 法により定量した。

#### 5. 統計処理

統計処理は統計解析ソフト R を用いて行った。Shapiro-Wilk normality test で正規性を確認し分散分析を行った後, 有意差の認められた試験区において Tukey-Kramer test で多重比較検定を行った。

## IV 結 果

### 1. VER 値の動態

図1に各群(発情不明瞭群 TypeA, 発情不明瞭群 TypeB-1・TypeB-2・TypeB-3)の VER 最低値を基準とした VER の変動を示した。その結果, 正常発情群および発情不明瞭群 TypeA は, いずれも VER が最低値を示した後, 徐々に上昇するという類似した変動パターンを示した。また, VER の最低値は発情不明瞭群 TypeA が平均  $273.3 \pm 8.5$  unit で正常発情群 ( $252.0 \pm 8.6$  unit) より若干高い値を示した。

いっぽう, 発情不明瞭群 TypeB は, 個体ごとに異なる VER 値の変動パターンを示し, 最低値を示した後の VER の持続的な上昇は, いずれの個体でも認められなかった。

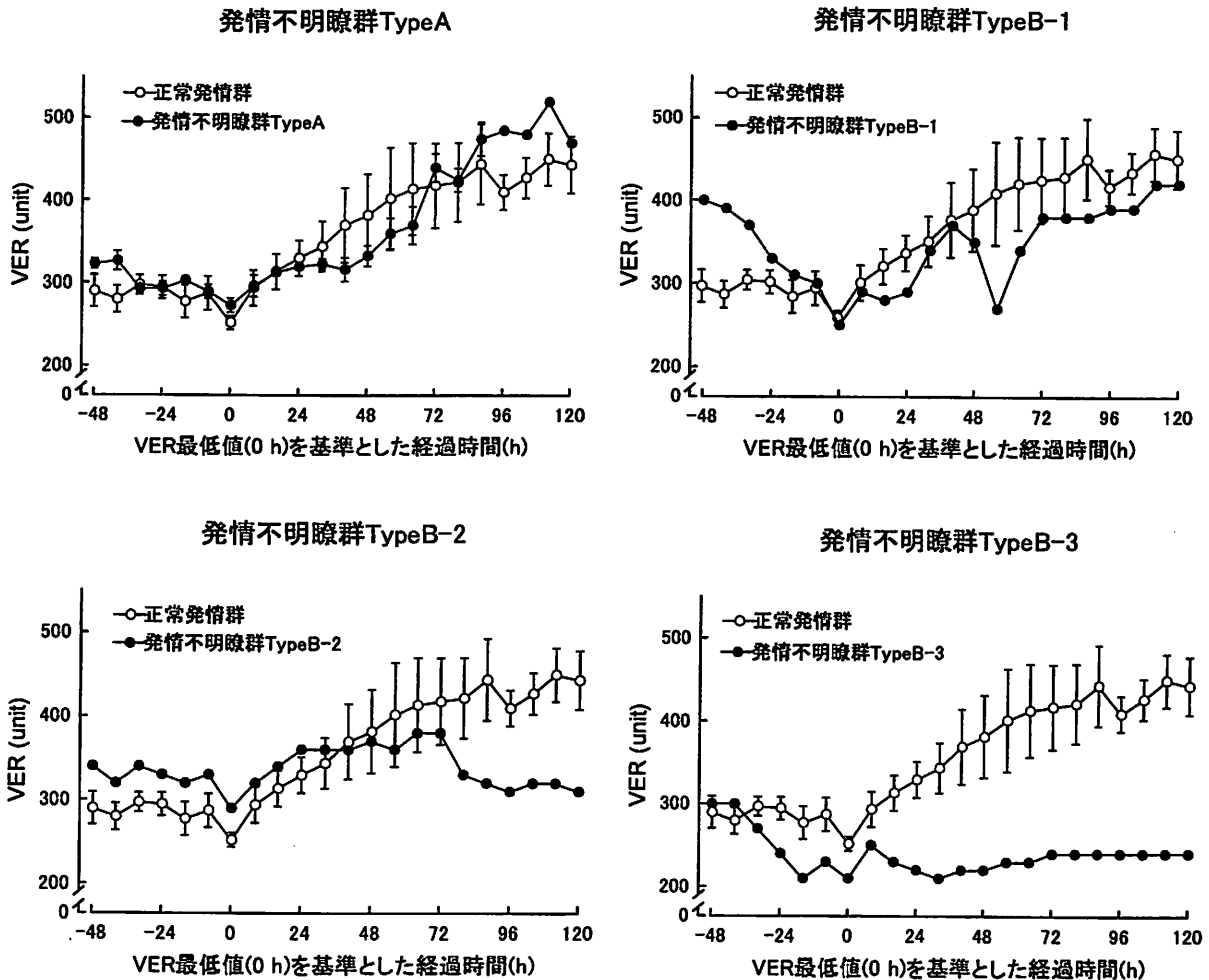


図1 VER 値の動態

注1) TypeB のグラフは個体 (n=1) を示す。

2) 平均±標準誤差。

### 2. 血漿中 E<sub>2</sub> 濃度の動態

図2に各群(発情不明瞭群 TypeA, 発情不明瞭群 TypeB-1・TypeB-2・TypeB-3)の VER 最低値を基準とした血漿中 E<sub>2</sub> 濃度の動態を示した。その結果, 正常発情群および発情不明瞭群 TypeA は, いずれも VER が最低値を示した前後に E<sub>2</sub> が上昇するという類似した動態を示した。しかし, E<sub>2</sub> が上昇し始めて (Mean + 2SD <) から最高濃度までの経過は, 正常発情群の場合, VER が最低値となる約 16 時間前に E<sub>2</sub> が上昇し始め, E<sub>2</sub> が最高濃度 ( $92.4 \pm 8.1$  pg/ml) に達したのは, それから約 56 時間後であった。それに対し, 発情不明瞭群 TypeA は, VER が最低値を示した約 16 時間後に E<sub>2</sub> が上昇し始め, E<sub>2</sub> が最高濃度 ( $150.8 \pm 27.1$  pg/ml) に達したのはそれから約 27 時間後であった。すなわち, 発情不明瞭群 TypeA は, 正常発情群より E<sub>2</sub> の

上昇が遅れて開始され、かつ持続時間も短かった。

いっぽう、発情不明瞭群 TypeB の  $E_2$  は、個体ごとに異なる動態を示し、類似した規則性は認められなかった。

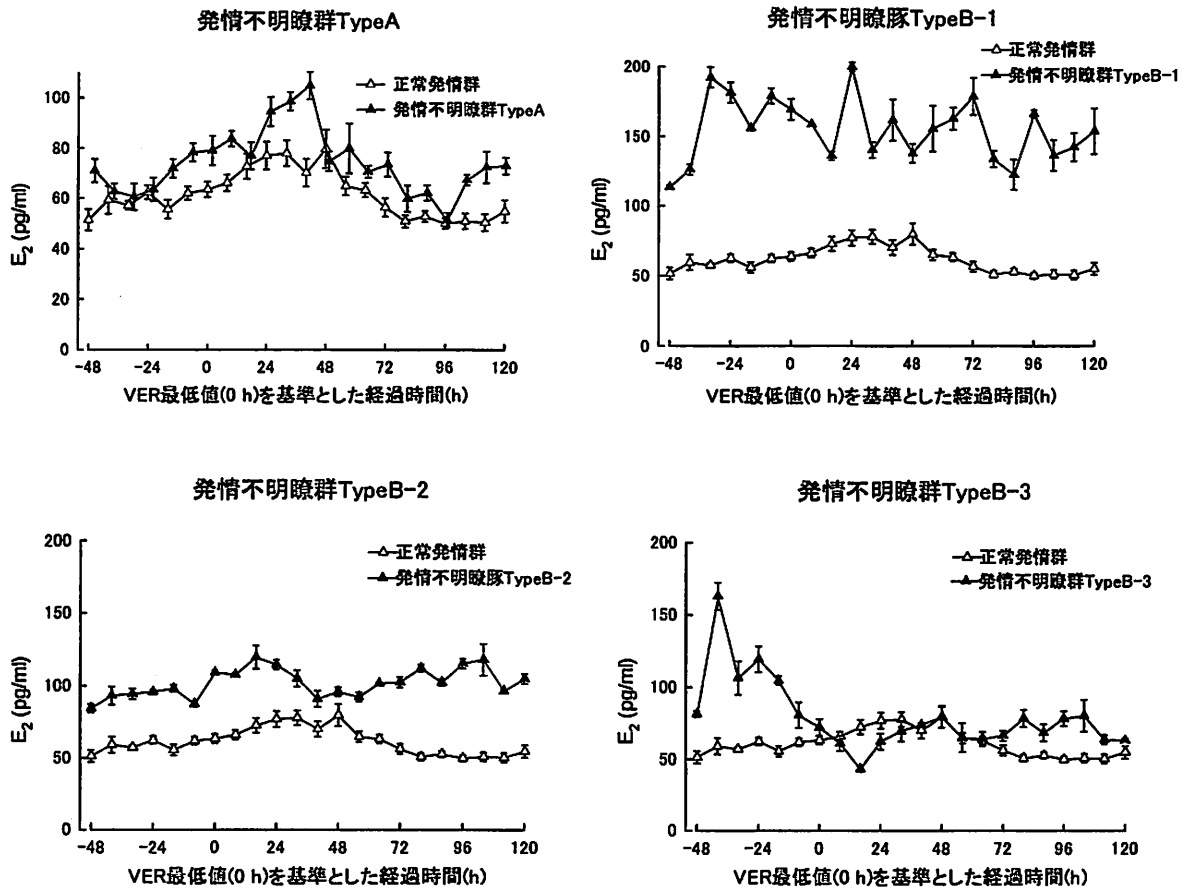


図2 血漿中  $E_2$  濃度の動態

注1) TypeB のグラフは個体 (n=1) を示す。

2) 平均±標準誤差。

### 3. 血漿中 $P_4$ 濃度の動態

図3に各群(発情不明瞭群 TypeA, 発情不明瞭群 TypeB-1・TypeB-2・TypeB-3)の VER 最低値を基準とした血漿中  $P_4$  濃度の動態を示した。その結果、正常発情群および発情不明瞭群 TypeA は、いずれも VER が上昇し始めた後に  $P_4$  も上昇 (Mean+2SD<) を開始するという類似した動態を示した。しかし、正常発情群の場合、VER が最低値を示してから約 88 時間後  $P_4$  が上昇し始めたのに対し、発情不明瞭群 TypeA は VER が最低値を示してから約 40 時間後に  $P_4$  の上昇が開始された。すなわち、発情不明瞭群 TypeA は、正常発情群より  $P_4$  の上昇が早く開始された。

いっぽう、発情不明瞭群 TypeB は、いずれの個体においても持続的な  $P_4$  の上昇を示すことなく推移した。

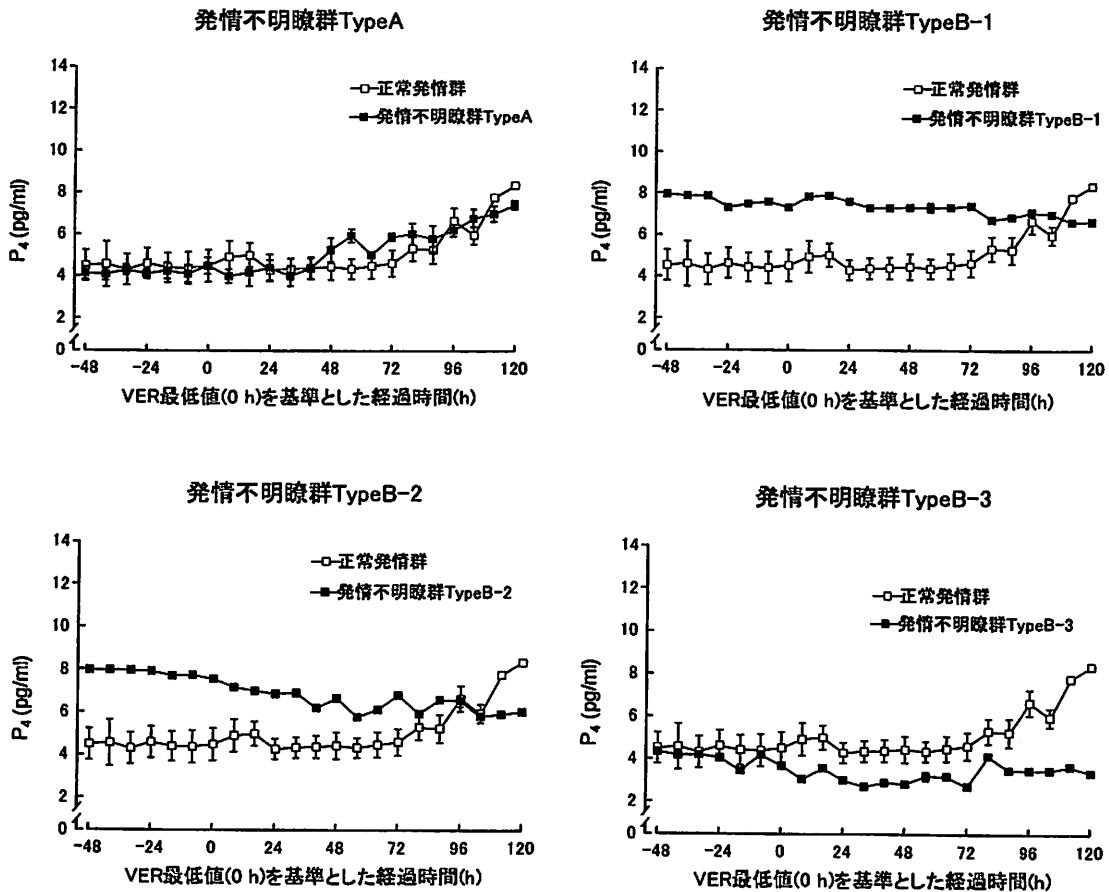


図3 血漿中  $P_4$  濃度の動態

注1) TypeB のグラフは個体 (n=1) を示す。  
 2) 平均±標準誤差。

#### 4. 血漿中 LH 濃度の動態

図4に各群(発情不明瞭群 TypeA, 発情不明瞭群 TypeB-1・TypeB-2・TypeB-3)の VER 最低値を基準とした血漿中 LH 濃度の動態を示した。その結果, 正常発情群および発情不明群 TypeA は, いずれも VER が上昇し始めた後に LH サージが認められるという類似した動態を示した。しかし, 正常発情群の場合, VER が最低値を示してから約 72 時間後に LH サージが認められたのに対し, 発情不明瞭群 TypeA は, VER が最低値を示してから約 56 時間後に LH サージが認められた。すなわち, 発情不明瞭群 TypeA は, 正常発情群より LH サージの発現が早期であった。また, 発情不明瞭群 TypeA の LH の最高濃度は  $1.1 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$  で正常発情群 ( $1.3 \pm 0.2 \text{ ng/ml}$ ) より若干低い値であった。

いっぽう, 発情不明瞭群 TypeB のうち 2 頭(A-1, A-2)が無秩序に LH の増減を繰り返すパターン, 残り 1 頭は測定期間中 LH が低濃度で推移するパターンが認められた。しかし, いずれの個体も規則的な LH の動態は認められなかった。

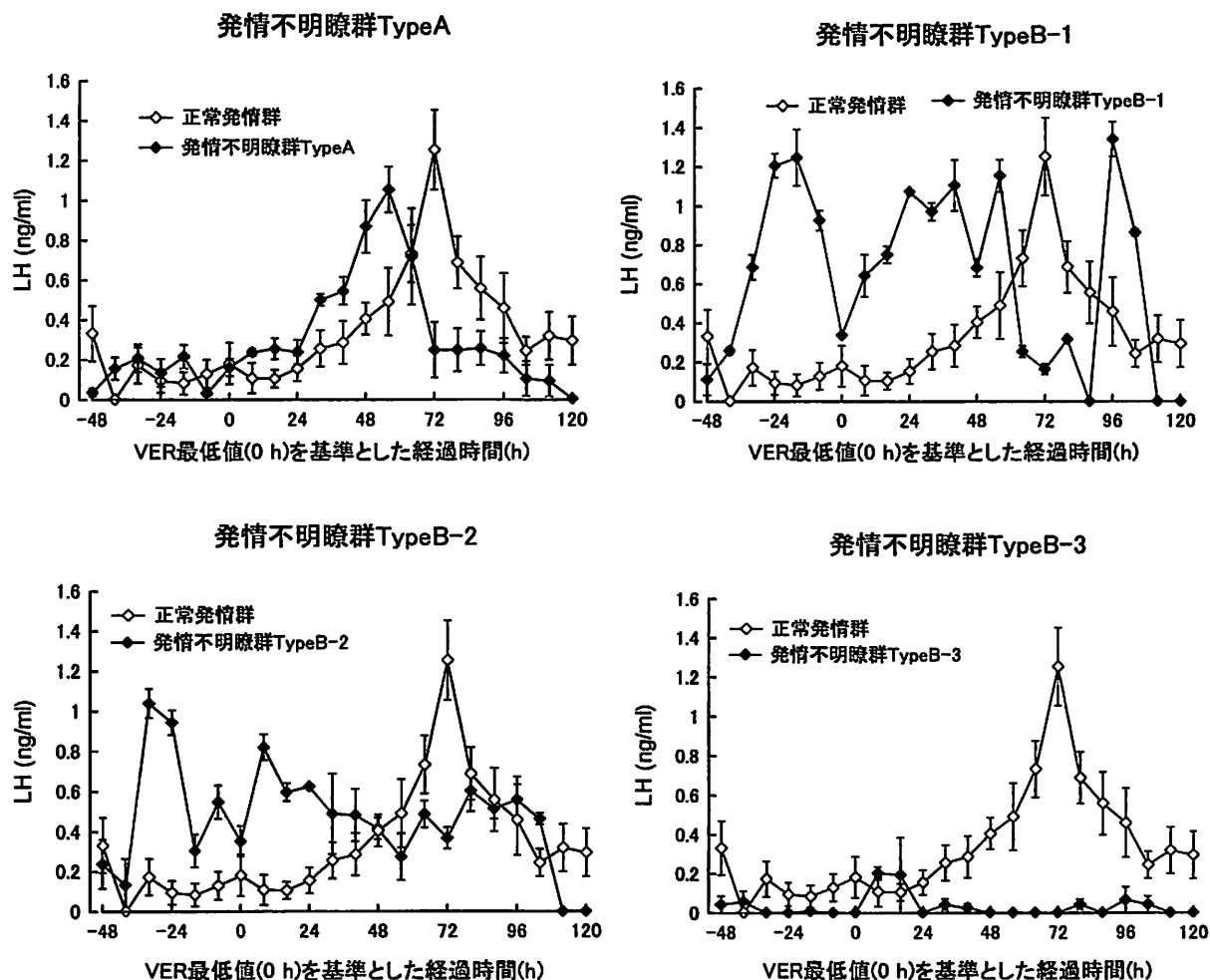


図4 血漿中 LH 濃度の動態

注1) TypeB のグラフは個体 (n=1) を示す。

2) 平均±標準誤差。

## 5. VER 値と各性ホルモン濃度との相関関係

表1に VER 値と各性ホルモン濃度 ( $E_2$ ,  $P_4$  および LH) の相関関係を示した。その結果,  $E_2$  と VER 値の間には有意な負の相関が認められ ( $P < 0.01$ ),  $P_4$  ならびに LH と VER 値の間には有意な正の相関性が認められた ( $P < 0.01$ )。

表1 VER 値と各性ホルモン ( $E_2$ ,  $P_4$ , LH) との相関関係

	$E_2$	$P_4$	LH
相関係数 (r)	-0.615 **	0.643 **	0.561 **

注1) NS; 有意差なし

2) \*\*  $p < 0.01$

## V 考 察

今回、不明瞭な発情徴候を示すアグーの VER 値と性ホルモン濃度を測定し、その関連性や繁殖技術への応用について検討した。その結果、発情不明瞭群 TypeA の VER 値、 $E_2$  濃度、 $P_4$  濃度、LH 濃度は、正常発情群とほぼ類似した変動パターンや動態を示していた。いっぽう、発情不明瞭群 TypeB では、すべての検査項目において正常発情群との類似性は認められなかった。また、すべての群における VER 値と各性ホルモン濃度との間には相関性が認められ、VER は各性ホルモンの動態をよく反映しており、VER の測定は卵巢の状態を推察するのに非常に有効であることが示唆された。

発情徴候は主として  $E_2$  の作用によって発現し、 $P_4$  がこれに協力的に働き、ホルモン濃度の上昇に伴って外陰部は腫脹・充血し、発情症状が現れてくる。家畜では  $E_2$  が最高濃度に達して、 $E_2$  と  $P_4$  との比率、すなわち E/P 比が最も高い数値を示した時点から発情行動が開始される<sup>9)</sup>。また、電気伝導度や抵抗値は、発情期における腔粘液中の塩化物を含む電解質イオン濃度の上昇を反映したものであり、その要因については  $E_2$  や LH 等の性ホルモン作用と考えられている<sup>10)</sup> また、排卵は、成熟卵胞の膨大、卵胞壁が拡張・充血することにより起こり、これらは LH サージにより誘起される<sup>11)</sup>。いっぽう、ブタの排卵時期は、発情が始まってから 24~48 時間(平均 31 時間)の発情終了日頃とされ、ブタは排卵数が多いため最初の排卵から最後の排卵までに 1~7 時間(通常 2 時間程度)を要すると言われ<sup>9)</sup>、排卵時間は発情持続時間の短いものは早く、長いものは遅れる傾向にある<sup>11)</sup>。著者ら<sup>1)</sup> は微弱発情を呈すアグーの発情持続時間は、1.7 日と短く、LH サージも早期に認められることから、一般西洋豚より排卵の時期が早く、持続時間が短いことを報告している。

今回の試験において、発情不明瞭群 TypeA は、VER や性ホルモンの動態は正常発情群とよく類似していた。しかし、 $E_2$  の上昇開始は正常発情群より約 36 時間遅かったにもかかわらず、最高濃度に達したのは正常発情群より約 29 時間早かった。また、正常発情群より約 16 時間早く LH サージが認められ、 $P_4$  が上昇を開始したのも正常発情群より約 44 時間早いことが確認された。このことから発情不明群 TypeA の場合、卵巢周期を営み、それに伴う腔粘液性状などの変化は認められるものの、正常発情群より  $E_2$  の持続的な上昇に乏しく、 $P_4$  の上昇も LH サージも早期に発現することにより、卵巢における各ホルモンが不均衡な状態なため、明瞭な発情徴候が発現しないと考えられた。また、これらは成熟卵胞の発育や排卵にも影響を与えていると考えられ、著者ら<sup>7)</sup> が報告した微弱発情豚より排卵の時期や時間がさらに早く、短いか無排卵と考えられた。すなわち、発情不明瞭群 TypeA の卵巢状態は、軽度な卵胞発育障害か未発達の機能性黄体が比較的長く遺残する黄体遺残型鈍性発情の状態ではないかと推察され、このことが VER を指標に早期人工授精を実施しても良好な受胎成績が得られない原因ではないかと考えられた。

したがって、発情不明瞭群 TypeA の受胎率を高め、繁殖に供用するには、VER を指標にウマ絨毛性性腺刺激ホルモン(PMSG) 投与により卵胞の成熟を促すとともにヒト絨毛性性腺刺激ホルモン(hCG) 投与により排卵を誘導した後、人工授精を実施することが有効な方法ではないかと思われた。

いっぽう、発情不明群 TypeB は、無秩序に LH の増減を繰り返す、あるいは、LH が低濃度で推移するという分泌異常が認められ、 $E_2$  および  $P_4$  の動態においても正常発情群に見られる規則性が認められなかった。このことから、発情不明群 TypeB の卵巢は卵胞囊種や黄体囊種あるいは卵巢萎縮など個体により多様な状態があると思われた。

岩村ら<sup>12)</sup> は、黄体遺残型鈍性発情の治療としてプロスタグランジン(PG) $F_2\alpha$  の反復投与による黄体退行作用と性腺刺激ホルモン放出ホルモン類縁物質(GnRH-A)による排卵誘起作用を併用し、人工授精による産子を得ることに成功している。このことから今後は、不明瞭な発情徴候を示すアグーの処置方法や臨床現場での治療技術の開発も検討する必要があると思われた。

## VI 引用文献

- 1) 仲村敏・大城まどか・稲嶺修・山内昌吾、吉元哲兵、建本秀樹、蝦名真澄(2006) 琉球在来豚(アグー)の効率的繁殖技術の確立(2) 腔内電気抵抗値を指標とした発情開始日および授精適期の推定、沖縄畜研セ研報、44,43-47
- 2) L. Dusza, M. Opałka, B. Kaminska, T. Kaminski, and R. E. Ciereszko(1996) The relationship between

- electrical resistance of vaginal mucus and plasma hormonal parameters during periestrus in sows, *Theriogenology*, 45, 1491-1503
- 3) 伊東正吾・保科和夫・宮脇耕平(1999)周排卵期における豚の深部膈内電気抵抗性を指標とした授精成績, 豚の繁殖セミナー通信, 25, 26-30
  - 4) 伊東正吾(1994)豚の周排卵期における膈深部電気抵抗性の変化と血中ホルモンの動態, 豚の繁殖セミナー通信, 21, 33-37
  - 5) 伊東正吾(2005)種雌豚の深部膈内電気抵抗値を指標とした繁殖機能の判定技術, *Proc Jpn Pig Vet Soc*, 47, 18-22
  - 6) 岩村祥吉・吉岡耕治・加茂前秀夫(1994)豚の周排卵期における膈深部の電気抵抗性の変化, 豚の繁殖セミナー通信, 21, 15-17
  - 7) 仲村敏・島袋宏俊・稲嶺修・山内昌吾・吉元哲兵, 建本秀樹, 与古田稔(2007)琉球在来豚(アグー)の効率的繁殖技術の確立(3)膈内粘液電気抵抗値の変動と性ホルモン濃度の動態との関連, 沖縄畜研セ研報, 45, 25-30
  - 8) 仲村敏(2008)琉球在来豚アグーを増殖させるための繁殖技術, 日豚会誌, 45(4), 2332-230
  - 9) 日本家畜人工授精師協会(2003)家畜人工授精講習会テキスト(家畜人工授精編), 177-289
  - 10) 星修三・山内亮(1982)新版家畜臨床繁殖学, 朝倉書店, 73-76
  - 11) 上村謙一(1977)繁殖豚の種付適期とその簡易判定法, 畜産の研究, 6, 46-50
  - 12) 岩村祥吉・吉岡耕治・鈴木千恵(2002)養豚場における離乳後無発情の卵巣診断, 豚の繁殖セミナー通信, 29, 57-59

---

研究補助：又吉博樹，赤嶺圭作