

# サラブレッド種雌馬における卵胞直径及び子宮内膜浮腫 グレードがヒト絨毛性性腺刺激ホルモン投与による 排卵効果に及ぼす影響

宮越大輔<sup>1)</sup> 池田寛樹<sup>1)</sup> 前田昌也<sup>1)</sup> 柴田 良<sup>1)</sup> 敷地光盛<sup>1)</sup>  
伊藤克己<sup>1)</sup> 園田 要<sup>1)</sup> 南保泰雄<sup>2)†</sup>

1) 日高軽種馬農業協同組合 (〒056-0002 日高郡新ひだか町静内神森175-2)

2) 日本中央競馬会日高育成牧場 (〒057-0171 浦河郡浦河町西舎535-13)

(2013年6月28日受付・2013年11月7日受理)

## 要 約

馬の臨床繁殖現場において経直腸超音波検査による卵胞直径及び子宮浮腫のグレード(グレード0~5)を交配タイミング決定の指針とし、交配6~24時間前にhCG製剤(3000IU)を投与した場合の排卵成績を調査した。調査対象馬はすべて少なくとも直径35mm以上の卵胞を一つ以上有し、子宮浮腫のグレードは1以上であった。調査頭数147頭中137頭(93.2%)でhCG製剤投与後48時間以内に排卵が確認された。卵胞直径の上昇及び子宮浮腫のグレード上昇に伴い排卵率の上昇が認められた。卵胞の直径が45mm以上でかつ子宮浮腫のグレードが4以上の34例ではhCG製剤投与後48時間以内に34例(100%)で排卵が確認された。本調査の結果、経直腸超音波検査により卵胞の直径、子宮の浮腫のグレードを把握し、hCG製剤を排卵促進剤として用いることは繁殖雌馬の交配管理において有用であることが示唆された。——キーワード：hCG, 繁殖雌馬, 排卵誘発, 排卵率, 超音波。

----- 日獣会誌 67, 183~187 (2014)

妊孕性の高い雄馬の精子は交配後2日間以上、雌馬の卵管内で受精能を有している [1] が、雌馬を種馬場に運び、1回の交配により効率的に受胎させるためには、排卵前48時間以内に交配することが望まれる [2, 3]。また、人工授精においては低温精液の場合は排卵前12時間以内、凍結精液の場合は排卵前8時間以内での授精が望まれる [2]。そのため馬の繁殖診療を行う獣医師の重要な仕事の一つとして排卵の時期を予測し、交配・授精の適期を決定することが求められる。

卵胞の直径は排卵時期を予測する最も有力な手がかりの一つである。馬の主席卵胞は、平均7.5日をかけてゆっくりと発育し [4]、牛のそれと比べて長い時間をかけて成熟卵胞へと成長する。しかし、排卵直前の卵胞の直径は35~60mmと個体差があること [5]、黄体期にも40mmを超える卵胞が明澄な発情徴候を示さずに発育、排卵する、いわゆるdiestrus follicular developmentが正常な個体にも頻繁に認められることから [6]、卵胞

直径のみから排卵のタイミングを予測するのは適切とはいえない。

一方、子宮内膜の浮腫(endometrial edema)の度合いは、発情周期によって大きく変化することが知られている [3]。子宮の浮腫像(車軸状変化)は経直腸の超音波検査により確認することができる [7]。子宮の浮腫像は発情休止期後期から認められ、発情期が進むにつれて浮腫も進行する。子宮の浮腫像は発情期中期に最も強く認められ、排卵の24~48時間前になると減少もしくは消失することが報告されている [8]。このような特徴より子宮の浮腫像の変化は排卵のタイミングを予測する一つの手がかりである [7]。

しかしながら、子宮の浮腫像は子宮内の炎症反応の影響を受ける場合があり、浮腫像のみから交配適期を決定するのは適切とはいえない [3]。human chorionic gonadotropin (以下hCG)は発情期の繁殖雌馬において安価な排卵促進剤として広く使用されており [1,

† 連絡責任者(現所属)：南保泰雄(帯広畜産大学)

〒080-8555 帯広市稲田町西2線11

☎0155-49-5216 FAX 0155-49-5229

E-mail: ynambo@obihiro.ac.jp

9-12], 国内でも馬の臨床現場において頻繁に使用される薬剤の一つである。発情期後期の繁殖雌馬に2500~4000IUのhCGを筋肉内もしくは皮下に投与することで、投与後24~48時間で排卵が起こると報告されている [1]。また、発情兆候を示し、直径35mm以上の卵胞が認められる繁殖雌馬に2000~3000IUを血管内投与すると排卵促進作用を示すことが報告され、交配の6時間前の投与が推奨されている [10]。これまでの研究では、発育中の卵胞直径を基準としてhCGの投与時期が決定されているが、それに加えて子宮の浮腫像とあわせて投与時期を検討した報告は見当たらない。

本研究では、これまでに報告されているhCGの最適投与時期についてさらなる条件を検討するため、臨床現場において超音波診断装置を用いての卵胞の直径、子宮浮腫の程度を交配の適期予測の指針とし、hCGの排卵誘発効果を検討するとともに、交配6~24時間前にhCG製剤を投与した場合の排卵成績を検索した。

### 材料及び方法

2009~2012年までの4年間において、日高地方の民間牧場に繋養されている、臨床的に健康で正常発情周期を有するサラブレッド雌馬100頭におけるのべ147発情周期を調査対象とした。対象馬100頭のうち、未経産馬6頭、経産馬は94頭であり、経産馬のうち、調査年に分娩した泌乳馬は84頭、調査年に空胎であった空胎馬は2頭であった。8頭については調査年の分娩有無が不明であった。147発情周期のうち、6周期は未経産馬のもの、2周期は空胎馬のもの、8周期は分娩有無が不明であった経産馬のもの、131周期は泌乳馬のものであり、うち25周期は分娩後初回発情、99周期は分娩後2発情目以降での交配であった。また、泌乳馬の7周期は分娩後何回目の発情か不明であった。対象馬は交配6~48時間前に経直腸にて超音波診断装置を用いて卵胞の直径、位置、黄体の有無及び子宮の浮腫について記録した。卵胞直径及び排卵の有無は、いずれの馬においても、超音波画像診断装置 (prosound 2, 日立アロカメディカル(株), 東京) に5MHzリニアプローブを接続し、Bモード画像により直腸壁から検査を実施した。卵胞直径が、直径35mm以上のものを記録し、左右いずれの卵巣に存在するのかについても記録した。35mm以上の卵胞が複数個認められた場合ではその個数についても記録した。本調査に使用したいずれの症例にも、黄体は認められなかった。

子宮の浮腫はSamperら [3] の基準に従い (G0:浮腫なし G1:軽度の子宮浮腫像 G2:中程度の子宮浮腫像 G3:子宮全体の明らかな浮腫像 G4:重度の浮腫像、少量の液体が認められる場合もある G5:異常な子宮浮腫像)、0~5の6段階グレードで記録した。子

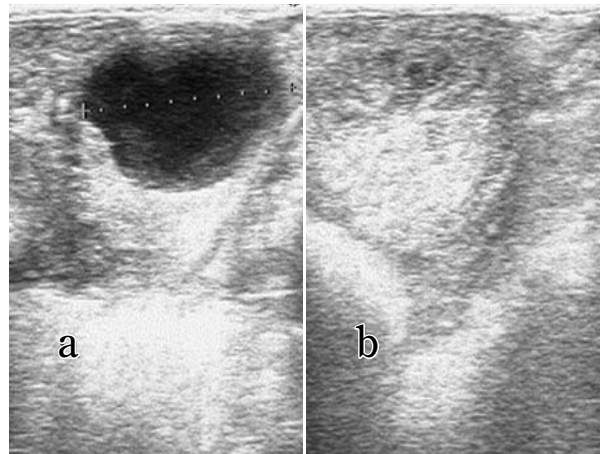


図 交配前の卵胞及び子宮の超音波画像  
a : 直径50mmの卵胞  
b : 子宮浮腫グレード3の子宮横断像

宮の浮腫の評価についてはSamperら [3] の方法に従い主席卵胞側の子宮角の横断像を用いて判断した (図)。

hCGの投与量はRobinson [2] の成書を参考に3000IUとし、すべての症例でhCG3000 IU (ゴナトロピン®筋注用3000単位, あすか製薬(株), 東京) を交配6~24時間前に血管内投与し、投与日時を記録した。また、各個体における1繁殖シーズン (毎年2~7月) でのhCGの投与回数についても記録した。

経直腸での超音波診断により投薬後36~48時間での排卵の可否について調査した。排卵の確認は、交配前に記録されたエコーフリー像を呈する卵胞の消失あるいは出血体の存在を持って診断した。直径35mm以上の卵胞が複数個認められた症例において、1個以上の卵胞で排卵が認められた場合、排卵したと判断した。

統計解析にはJMP7.0を用い、排卵率の比較にはフィッシャーの正確検定を用いて $P < 0.05$ を有意と判断した。

### 成 績

hCG製剤投与から48時間以内に93.2%で排卵が認められた。

**雌馬の状態と排卵率:** 未経産馬, 空胎馬, 泌乳馬における排卵率はそれぞれ100% (6/6), 100% (2/2), 94.7% (124/131)であった。なお、調査年の分娩有無が不明であった経産馬8周期は結果から除いている。泌乳馬において分娩後初回発情での排卵率は100% (25/25), 分娩後2発情目以降での排卵率は95.0% (94/99)であり、両グループ間に有意差は認められなかった。なお、泌乳馬のうち分娩後何発情目か不明であった7周期は結果から除いている。

**子宮の浮腫像のグレードと排卵率:** グレード1, 2, 3, 4でそれぞれの排卵率は100%, 78.6%, 95.2%,

表1 卵胞直径及び子宮浮腫と排卵率の関係

卵胞の直径	子宮浮腫のグレード (頭数)				
	1	2	3	4	1~4
40mm 以下	100% (1/1)	75.0% (3/4)	85.7% (12/14)	76.9% (10/13)	81.3% <sup>a</sup> (26/32)
45mm 以下	0% (0/0)	50.0% (1/2)	95.8% (23/24)	100% (12/12)	94.7% (36/38)
50mm 以下	100% (1/1)	87.5% (7/8)	97.8% (45/46)	100% (22/22)	97.4% <sup>b</sup> (75/77)
合計	100% (2/2)	78.6% (11/14)	95.2% (80/84)	93.6% (44/47)	93.2% (137/147)

a, b間はフィッシャーの正確検定を用いて $P=0.0077$ で有意差あり

93.6%であった。また、グレード0及び5は本調査では認められなかった(表1)。

各グループ間で排卵率に有意差は認められなかった。

**最大卵胞の直径と排卵率：**最大卵胞の直径が40mm以下のものでは排卵率が81.3%，45mmのものでは94.7%，50mm以上のものでは、97.4%であった(表1)。また、卵胞が45mm以上で子宮の浮腫のグレードが3のものでは97.1% (68/70)で排卵が認められ、同様に卵胞が45mm以上で子宮の浮腫のグレードが4のものでは100% (34/34)の排卵が認められた(表1)。

50mm以上のものは40mm以下のものに比較し、有意に排卵率が高い値となった( $P=0.0077$ )。他のグループ間では有意差は認められなかった。

**hCG製剤の投与回数と排卵率：**1繁殖季節中のhCG製剤の投与が1~2回目の場合は排卵率が93.6%であった。3~4回目の使用の場合は85.7%であった(表2)。

**卵胞の個数と排卵率：**35mm以上の卵胞が1個の場合は排卵率が92.6%であり、2個以上の場合は94.3%であった(表3)。

## 考 察

本調査により正常発情周期を有するサラブレッド種繁殖雌馬において発育過程にある直径35mm以上の卵胞及びグレード1~4の子宮浮腫像が認められた場合、hCG製剤を静脈内投与することで投与後48時間以内に約93%の排卵が起こることが判明した。この成績はこれまでの報告、すなわち発情徴候を伴い、発育途中にある卵胞が卵巣内に存在する繁殖雌馬にhCG製剤を投与した場合、48時間以内に80%以上で排卵が認められるとの結果[10]と同等の成績を示すものであった。子宮の浮腫像は排卵時期を予測するための重要な指標の一つである。排卵約2日前になると子宮の浮腫像が消失することは排卵時期を予測するための有用な指標となる[8]。しかしながら、子宮浮腫像の消失は未経産馬及び空胎馬

表2 hCG製剤の投与回数と排卵率

投与回数	排卵率 (頭数)
1~2	93.6% (131/140)
3~4	85.7% (6/7)

表3 35mm以上の卵胞数と排卵率

卵胞数	排卵率 (頭数)
1	92.6% (87/94)
2以上	94.3% (50/53)

では信頼性が高いが、分娩馬の分娩後初回発情での交配時には信頼性が低い[9]と報告されている。また、繁殖移行期の排卵を伴わない発情においても、64%に子宮の浮腫像が抽出されること[13]、子宮内感染時には強い子宮浮腫像が認められること[3]が報告されており、子宮浮腫のみから交配のタイミングを決定するのは適切とはいえない。今回の調査では子宮の浮腫のグレード3~4が全体の89.1% (131/147)を占めており、その94.7% (124/131)が投薬後48時間以内に排卵した。したがって排卵促進剤を用いて交配する場合は子宮の浮腫グレードが消失するのを待つ必要はないと考えられる。

一般的に馬の卵胞は35~50mmの直径で排卵することが知られている[3]。また、hCG製剤を排卵促進剤として投与する場合、卵胞の直径が少なくとも35mm以上あることが求められる[9]。本研究の結果では卵胞の直径が35~40mmにおけるhCG製剤の投薬は50mm以上の場合に比較し、投与後48時間以内の排卵率が低い値となった。この要因として、直径が35~40mmの場合、一部の繁殖雌馬では発情期の初期であったと考えられ、卵胞が十分に成熟しておらず、hCG製剤への反応が弱かったと考えられる。その結果、48時間以内に排卵が認められなかったと推察される[14]。卵胞直径が50mm以上になってから自然排卵が起こる繁殖雌馬では、卵胞直径が35~40mmでhCG製剤を投与しても、卵胞が未熟でhCGに反応しない場合があるとされ、そのような馬の場合、卵胞直径が40mmよりも大きくなってからのhCGによる排卵促進が推奨されている[14]。卵胞が35~40mmの場合は特に子宮浮腫のグレードを考慮に入れ、交配適期を判断することが重要であると考えられる。

分子量の大きい(36kDa)異種タンパクホルモンであるhCGは、複数回投与により抗体を産生するため低用量で1シーズン中2回までの使用が推奨されている[1, 2]。今回の調査では1シーズン1~2回目の使用での排卵率は3~4回目の排卵率に比較し高い傾向が認められ

たが、3～4回目の症例数が少なくさらなる検討が必要である。これまでの報告では、3回目以降の交配において排卵促進剤の使用の必要がある場合は、抗体産生の心配がない deslorelin acetate など他の排卵促進剤の使用が推奨されている [2, 9]。

本調査では直径35mm以上の卵胞の個数は排卵率へ影響を与えなかった。しかし、hCG製剤投与時に卵胞が複数個ある場合は48時間以内の排卵率が50%程度まで低下するとの報告があり [3]、卵胞の個数が48時間以内の排卵率に影響を与える可能性が示唆されている。

排卵促進剤としてhCGを使用する場合推奨される投与量は1500～3300IUである [2]。さらに低量の投与(750IU)であっても十分な効果が期待できるとする報告もある [3]。また、排卵促進作用のためhCG 4500IU以上の高用量での使用は受胎率を低下させるとも報告されている [10]。今回の調査においても3000IUの投与量で十分な排卵促進効果が得られた。

本調査ではhCG製剤を交配6～24時間前に投与した。人工授精用の交配プログラムでは精子を注入する12～24時間前でのhCG投与が推奨されている [2]。また、自然交配においても交配前6～24時間での投与が推奨されている [10]。交配予定時刻が明らかな場合、事前のhCG投与はより適切なタイミング(可能なかぎり交配後早い時間での排卵)で排卵させるための有用な処置といえる。排卵促進剤は交配する種雄馬の人気の高い場合もしくは1発情で1交配のみしか認められていない場合には積極的な使用が推奨される [9]。また、交配誘導性子宮内膜炎 (breeding-induced endometritis) が疑われる場合においても複数回の交配による子宮の炎症を防ぐために排卵促進剤を使用するべきである [2]。

以上の結果から、経直腸の超音波検査により卵胞の直径に加えて、子宮浮腫グレードを把握したうえでhCG製剤を用いることは、繁殖雌馬の交配精度を高め、繁殖管理を容易にすることができる有用な方法であることが示唆された。

#### 引用文献

[1] Roberts SJ : Gestation and Pregnancy Diagnosis in the Mare. In Current Therapy in Theriogenology 2:

- Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive Disease in Small and Large Animals, Morrow DA, ed, 670-687, Saunders WB, Philadelphia (1986)
- [2] Robinson NE : Current Therapy in Equine Medicine 5, 240-242, Elsevier Science, Amsterdam (2003)
- [3] Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO : Current Therapy in Equine Reproduction, Co Saunders WB, Philadelphia (2007)
- [4] Gastal EL, Gastal MO, Bergfelt DR, Ginther OJ : Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares, Biol Reprod, 57, 1320-1327 (1997)
- [5] Cuervo-Arango J, Newcombe JR : Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors, Theriogenology, 69, 681-687 (2008)
- [6] Ginther OJ : Reproductive Biology of the mare, Basic and Applied Aspect, 2nd ed, Equiservices, 171-232, Cross Plains, Wisconsin (1992)
- [7] Samper JC : Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to time ovulation in mares, Proc Am Ass Equine Practnrs, 43, 189-191 (1997)
- [8] Hayes KE, Pierson RA, Scraba ST, Ginther OJ : Effects of estrous cycle and season on ultrasonic uterine anatomy in mares, Theriogenology, 24, 465-477 (1985)
- [9] McCue P, Hudson JJ, Bruemmer JE, Squires EL : Efficacy of hCG at inducing ovulation: A new look at an old Issue, Proc Am Ass Equine Practnrs, 50, 525-530 (2004)
- [10] Hopkins SB : Ovulation Management, In Current Therapy in Equine Medicine, Robinson NE, ed, 498-500, Saunders WB, Philadelphia (1987)
- [11] Evans MJ, Irvine GHG : Response of anestrus releasing hormone, Biol Reprod, 15, 474-484 (1976)
- [12] Bosu WTK, Waelchli-Suter RO, Vasey J : Induction of ovulation with gonadotrophin releasing hormone and progesterone in seasonally anestrus mares, Can vet J, 23, 332-336 (1982)
- [13] Watson ED, Thomassen R, Nikolakopoulos E : Association of uterine edema with follicle waves around the onset of the breeding season in pony mares, Theriogenology, 59, 1181-1187 (2003)
- [14] McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varnaer DD : Equine Reproduction, 2nd ed, 1804-1809 Wiley-Blackwell, West Sussex (2011)

Efficacy of Human Chorionic Gonadotropin for Inducing Ovulation  
in Thoroughbred Mares Relative to Follicle Diameter  
and Uterine Edema Pattern

Daisuke MIYAKOSHI<sup>1)</sup>, Hiroki IKEDA<sup>1)</sup>, Masaya MAEDA<sup>1)</sup>, Ryo SHIBATA<sup>1)</sup>,  
Mitsumori SIKITI<sup>1)</sup>, Katsumi ITO<sup>1)</sup>, Kaname SONODA<sup>1)</sup>  
and Yasuo NAMBO<sup>2)†</sup>

1) *Hidaka Horse Breeders Association, 175-2 Shizunaikamimori, Shinhidaka-cho, Hidaka-gun, 056-0002, Japan*

2) *Hidaka Training and Research Center, Japan Racing Association, 535-13 Nishicha, Urakawa-cho, Urakawa-gun, 057-0171, Japan*

SUMMARY

We surveyed the ovulation rates of mares that were treated with human chorionic gonadotropin (hCG) 6-24 hours before mating. The timing of mating was determined according to the pattern of uterine edema (Grade 0-5), and follicular diameter determined through an ultrasound examination. All mares had at least a 35 mm follicle and uterine edema of Grade 1 or more. Of the mares that were treated with hCG, 95.7% (137/147) ovulated within 48 hours after injection. As the follicle diameter and uterine edema grade increased, ovulation rates increased. Of the mares with a follicle diameter greater than 45 mm and a uterine edema of Grade 4, 100% (34/34) ovulated within 48 hours. Detection of the pattern of uterine edema and the follicular diameter through an ultrasound examination, combined with the rectal palpation of the follicles and the use of ovulation-inducing agents (such as hCG), helped veterinarians determine the optimal time for breeding a normal mare.

— Key words : hCG, mare, ovulation-inducing, ovulation rate, ultrasound.

† *Correspondence to (Present address) : Yasuo NAMBO (Department of Clinical Veterinary Medicine, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine)*

*2-11 Nishi Inada, Obihiro, 080-8555, Japan*

*TEL 0155-49-5216 FAX 0155-49-5229 E-mail : ynambo@obihiro.ac.jp*

*J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 67, 183 ~ 187 (2014)*