

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06400

研究課題名（和文）経腔投与を基盤とした牛の新たな卵胞発育制御技術の開発

研究課題名（英文）Development of new follicle growth control technology for cattle based on vaginal administration

研究代表者

遠藤 なつ美（Endo, Natsumi）

東京農工大学・（連合）農学研究科（研究院）・准教授

研究者番号：40726684

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,500,000円

研究成果の概要（和文）：現在の酪農現場では、乳牛における卵巣障害の増加や受胎性低下への対処策として、プロスタグランジンF₂（PG）や安息香酸エストラジオール（EB）等の投与による発情・排卵誘起法へのニーズが高まっている。本研究では、経腔路での投薬法に注目し、徐放性や溶出パターンを制御した最新の徐放技術を応用すれば、卵胞発育を効果的に刺激し得る内分泌環境を作出できると考えた。牛のモデル動物としてシバヤギを実験に供試し、PGの経腔投与効果を従来の筋肉注射と比較したところ、投与頻度を増やすことや、徐放基剤と混合してカプセルに充填した薬剤を投与することにより、同等の効果が得られることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

牛のモデル動物としてシバヤギを実験に供試し、PGの経腔投与効果を従来の筋肉注射と比較した結果、筋肉注射で用いた投与量と同量では黄体退行率が少ないものの、投与回数を2回に分けることで同等の黄体退行率が得られることが示された。さらに、次の実験では、EBを徐放基剤と混合してゼラチンカプセルに充填して経腔投与した結果、同量のEBを筋肉注射した場合に匹敵する血漿エストラジオール濃度および発情誘起効果が得られた。以上の結果から、経腔投与を基盤とした繁殖ホルモン剤の投与方法は、従来の筋肉注射に代わる新たな方法として、実用化できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：At present dairy farms, there is an increasing need for estrus/ovulation induction methods by administration of prostaglandin F₂ (PG), estradiol benzoate (EB), etc. as a countermeasure against the increase in ovarian disorders and decreased fertility in dairy cows. In this study, we focused on the vaginal route dosing method and considered that the endocrine environment that can effectively stimulate follicle development can be created by applying the latest sustained release technique that controls sustained release and elution pattern. ... When Shiba goat was used as a model animal for cattle in an experiment and the effect of vaginal administration of PG was compared with that of conventional intramuscular injection. It was found that a similar effect can be obtained by dividing the number of administrations into two or by administering the drug mixed with the sustained-release base and filled in the capsule.

研究分野：獣医臨床繁殖学

キーワード：intravaginal estrus synchronization

1. 研究開始当初の背景

現在の酪農現場では、乳牛の高泌乳化に伴い微弱発情や排卵障害などの繁殖障害が増加し、酪農経営を悪化させる深刻な問題となっている。このため、ホルモン処置により発情・排卵を誘起し、定時に人工授精を行う発情同期化技術へのニーズは益々高まっている。現在、PG による黄体退行、E2 や性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) による発情・排卵誘起作用を組み合わせた方法が導入されているが、自然発情を示した牛に対する人工授精時の受胎率には及ばないのが現状である。この背景には、ホルモン剤を注射した場合、血中濃度の増加が速やかに起こるという利点がある反面、生理的なホルモン分泌パターンを模倣することが難しく、卵胞発育や受胎の成立に最適な内分泌環境を作出することが困難であることが推察される。例えば、卵胞の発育には GnRH および黄体形成ホルモン (LH) のパルス状分泌による刺激が重要であり、ヒトの生殖医療現場ではこれらの分泌パターンを模倣した間欠 (パルス) 投与療法が行われているが、牛などの大型家畜においては牛の保定や投与などの作業負担の増大する処置は実践的でない。牛では GnRH や E2 の単回投与による発情・排卵誘起が一般的に行われているが、卵胞の発育ステージが未熟な段階で投与すると受胎率が大幅に低下してしまう。PG においても単回注射よりも 8-24 h 間隔で間欠投与した方が完全な黄体退行を誘起できるとの報告もある (Archbald et al. 1993、Wiltbank et al. 2015)。つまり、現行の注射剤によるホルモン投与方法では受胎率への効果に限界があることを意味しており、これらの課題を克服するための新しい技術の開発が必要である。

PG やステロイドホルモンを始めとする繁殖用薬の多くは、腔からも吸収されることが知られている。セルロース化合物を中心とした水溶性高分子ポリマーやシリコン基剤を用いた最新の徐放化技術を用いれば、薬剤の溶出速度や溶出時期の調節により、少ない投与回数でも理想的な血中ホルモン濃度パターンを作出することができる可能性がある。例えば、間欠 (パルス状) に溶出する徐放剤では、腔内への単回投与のみで複数回の注射と同じ効果が得られる。時間差 (タイムラグ) 溶出では、理想的なタイミングでホルモンの徐放が開始しピーク濃度に達することで、卵胞発育の段階と合った最適な時期に発情や排卵を誘起することができるかもしれない。

2. 研究の目的

本研究による経腔ホルモン投与技術が目指すのは、治療効果の改善と投薬負担の軽減の 2 点にある。そこで本研究の目的は、臨床応用に直結する基盤的知見を明らかにするため、経腔ホルモン徐放剤を作出し、薬剤の溶出性、腔粘膜からの吸収性や血中へのホルモン吸収動態などを明らかにすることである。そして、経腔投与をベースとした徐放ホルモン剤の投与によって作出された血中ホルモンパターンが卵胞発育や発情・排卵などの受胎性を左右する要因に対してどのように作用するかを解明することである。

3. 研究の方法

本研究では、徐放基剤の組み合わせにより生理的なホルモン分泌様式に匹敵する徐放パターンの作出を試み、In vitro ならびに In vivo での基礎評価を行う。次段階として完成したホルモン徐放剤を牛またはヤギに投与し、卵胞発育、血中ホルモン動態、発情発現といった受胎性を左右する要因への影響について精査し、臨床現場での実用性の高い新たな治療プログラムの確立を目指して以下の実験を行った。PG の経腔投与による黄体退行-発情誘起効果の検証実験では、黄体期中期のヤギに以下の 5 種類の処置を行った。(1) IM2mg 群 (n=6) : PG 製剤 2mg を筋肉内単回投与、(2) IVG2mg (n=7) : PG 製剤 2mg を腔深部に単回投与、(3) IVG4mg (n=7) : PG 製剤 4mg を腔深部に単回投与 (4) 2IVG2mg (n=6) : PG 製剤 2mg を腔深部に 8 時間間隔で 2 回投与、(5) 2IVG1mg (n=8) : PG 製剤 1mg を腔深部に 8 時間間隔で 2 回投与を行う。投与後 2 日までに血漿中プロゲステロン濃度が 0.5ng/mL 未満になった頭数は IM 群では 6 頭中 6 頭 (100%)、IVG2mg 群では 7 頭中 2 頭 (28.6%)、IVG4mg 群では 7 頭中 4 頭 (57.1%)、2IVG2mg 群では 6 頭中 6 頭 (100%)、2IVG1mg 群では 8 頭中 6 頭 (75%) であり、単回経腔投与では黄体の退行効果は低いものの、間欠投与を行うことで黄体退行効果が向上することが明かとなった。

タイムラグ溶出する E2 徐放剤 (TL) による発情・排卵誘起効果の検証実験では、黄体期のヤギに対して PG 投与後 24h に、IM 群 (n=6) には 1mg の E2 を筋肉内注射し、TL 群 (n=6) には PG 投与と同時に TL を腔内投与した。対照群 (n=6) には PG 投与のみを行った。供試した全個体で発情が認められ、IM 群と類似した発情誘起効果が得られることが明らかとなった。

4. 研究成果

牛のモデル動物としてシバヤギを実験に供試し、PG の経腔投与効果を従来の筋肉注射と比較したところ、筋肉注射で用いた投与量と同量では黄体退行率が少ないものの、投与回数を 8 時間間隔で 2 回に分けることで同等の黄体退行率が得られることが示された。EB を経腔投与した実験では、EB 注射液を経腔投与するよりも、徐放基剤と混合してゼラチンカプセルに充填して経腔投与した方が、投与後の血漿中エストロジオール濃度が高く、同量の EB を筋肉注射した場合

に匹敵する血漿エストロジオール濃度および発情誘起効果が得られた。以上の結果から、経腔投与を基盤とした繁殖ホルモン剤の投与方法は、従来の筋肉注射に代わる新たな方法として、実用化できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 MATSUMOTO Sayaka, TANAKA Tomomi, ENDO Natsumi	4. 巻 67
2. 論文標題 Intravaginal administration of estradiol benzoate capsule for estrus synchronization in goats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 83 ~ 88
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1262/jrd.2020-126	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 ENDO Natsumi, RAHAYU Larasati Puji, YAMAMURA Takashi, TANAKA Hitoshi, TANAKA Tomomi	4. 巻 66
2. 論文標題 Intravaginal administration of progesterone using a new technique for sustained drug release in goats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 489 ~ 492
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1262/jrd.2019-151	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松本彩花、遠藤なつ美、田中知己
2. 発表標題 ヤギへのエストラジオール徐放性カプセルの経膣投与による発情同期化
3. 学会等名 第162回日本獣医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 斎藤聖人、遠藤なつ美、田中知己
2. 発表標題 ヤギにおけるプロスタグランジンF2 の経膣投与による黄体退行・発情誘起効果の検証
3. 学会等名 第162回日本獣医学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------