

豚における糞中ステロイドホルモン測定の実用

森好政

(酪農学園大学獣医学部獣医臨床繁殖学教室：〒069-8501 江別市文京台緑町582-1)

Moriyoshi, M. (1999) Measurement of steroid hormone concentration in feces and its application to pregnancy diagnosis in the sow. *Proc. Jpn. Pig Vet. Soc.* 35: 6-9

はじめに

豚においても牛や馬と同様に、血液中の各種ステロイドホルモンを測定することにより、早期妊娠診断や卵巣疾患の診断およびその後の治療効果判定はじめ胎盤機能検査や副腎皮質機能検査などが可能であることは以前から知られている。しかし、残念ながらこれらは、現在ほとんど臨床応用されていないのが現状である。その理由として、ひとつは豚の場合検査試料である血液の採取がほかの家畜に比べやや困難であることがあげられる。またこれまでのRIAやEIAによる測定では測定操作が煩雑で、しかも測定に2日以上長時間を要し、特に豚の臨床現場では応用価値が低いものであったと思われる。そこで今回はこれらの問題点を改善するため、ホルモン測定試料として血液よりはるかに採取が容易な糞について検討を行った。さらに一部のホルモンについては測定操作が簡単で短時間の測定が可能な市販のEIAキットによる測定についても検討した。

糞中ジェスタージェンの応用

(1) 糞の採取と糞液の作成

糞は直腸内の宿糞を適量採取し、2.5ml ディスポーザブルシリンジの先端部分を切断して作成した簡単な糞計量器を用いて、糞を0.5cm³ (約0.5g) 計り取った。ペレット状になった糞を防腐剤として0.05% アジ化ナトリウム添加した蒸留水20mlの中に入れ、これを十分攪拌した後、1700×g、15分間遠心分離し、その上清を糞液としてジェスタージェン測定まで-20℃に保存した。

(2) 測定方法

測定には市販の牛乳中プロジェステロン測定用EIAキット(オプチェック牛乳用EIAキット、デンカ製薬株)を用い、このほかに自家製の標準糞液を使用した。測定操作は、牛乳の代わりに披検糞液および標準糞液を用いる以外は、キットの測定手順に従って行った。測定時間は約1時間30分であった。

(3) 発情周期における糞中ジェスタージェンの動態

当教室飼養の雑種雌豚5頭を用い、一発情周期の

間2日間隔で糞を採取し測定した。また同時に血液を採取し血漿中プロジェステロン値との比較を行った(図1)。糞中ジェスタージェン値は発情後2日目まで平均45ng/gの最低値を示し、発情後8~18日目の間332~626ng/gの高値を持続し、発情後22日目に再び101ng/gの低値を示した。いっぽう、血漿中プロジェステロン値は発情開始日に、0.5ng/ml以下の最低値を示し、その後急激に上昇し、発情後6~16日目まで、16.5~30ng/ml以上の高値を示し、20日目に再び6.9ng/mlの低値を示した。このように糞中ジェスタージェン値は血漿中プロジェステロン値より約2日遅れで、血漿値と類似の動態を示した。

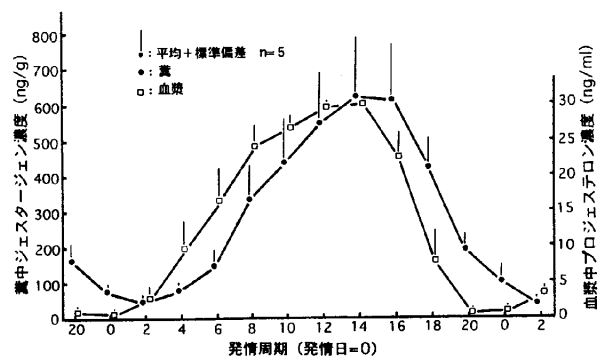


図1 豚の発情周期における糞中ジェスタージェン濃度と血漿中プロジェステロン濃度の推移の比較

(4) 早期妊娠診断

本学近郊の養豚農場および当教室で飼養されている繁殖雌豚のうち、最終交配後21~25日にあった合計149頭を用いた。糞中ジェスタージェン濃度が200ng/g以上の例を妊娠、200ng/g未満の例を非妊娠と仮定し、その結果を最終交配後22日目以降に行った超音波断層検査による妊娠診断結果と比較すると、21日目の3例、22日目の1例および23日目の1例を除くすべての例において一致した(図2)。本キットによる診断精度は、21日目92.5%、22日目97.1%、23日目92.3%、24日目100%、25日目100%であった(表1)。また全体の妊娠診断適中率は、21~25日目の妊娠例で96.2% (102/106)、非妊娠例では95.3% (41/43)、

両者の合計では96.0%の適中率であった(表1)。

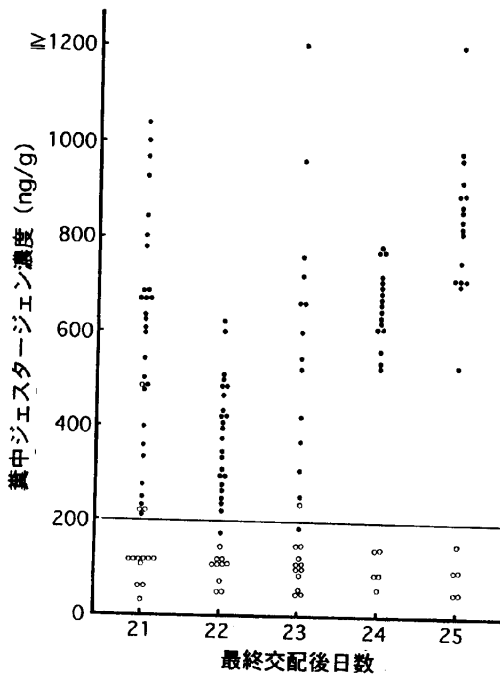


図2 定量キットによる妊娠および非妊娠における最終交配後21~25日目の糞中ジェステルゲン濃度測定値の分布
(0日目=最終交配日) ●妊娠、○非妊娠

表1 定量キットによる豚の糞中ジェステルゲン濃度に基づく最終交配後21~25日目における妊娠診断精度

	最終交配後日数(0日目=最終交配日)					計
	21	22	23	24	25	
供試豚数	40	34	31	22	22	149
定量キットによる妊娠例数	30	23	19	17	17	106
超音波断層法による妊娠例数	27	23	18	17	17	102
妊娠と判断された精度(%)	90.0	100	94.7	100	100	96.2
定量キットによる非妊娠例数	10	11	12	5	5	43
超音波断層法による非妊娠例数	10	10	11	5	5	41
非妊娠と判断された精度(%)	100	90.9	91.7	100	100	95.3
妊娠・非妊娠の合計の精度(%)	92.5	97.1	92.3	100	100	96.0

(5) 卵巣疾患の診断

供試豚45頭は、臨床的検査により卵巣静止9頭、卵巣嚢腫2頭、黄体遺残2頭、鈍性発情の卵胞期25頭、鈍性発情の黄体期7頭と診断された。それぞれの診断時の糞中ジェステルゲン値の分布を図3に、またジェステルゲンの平均値と治療後の繁殖成績を表2に示した。卵巣静止例および鈍性発情の卵胞期例の平均糞中ジェステルゲン値は、それぞれ144ng/gおよび181ng/gと低値であった。また、卵巣嚢腫例、黄体遺残例および鈍性発情の黄体期例は、それぞれ382ng/g、368ng/gおよび634ng/gの高値を示した。

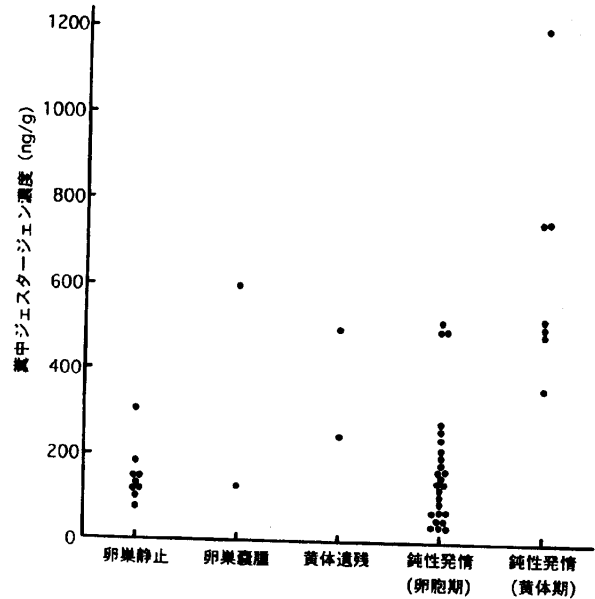


図3 卵巣疾患豚の卵巣疾患別の糞中ジェステルゲン値の分布

表2 豚の糞中のジェステルゲン濃度測定による卵巣疾患の診断と治療後の繁殖成績

	例数	糞中ジェステルゲン値 (ng/g)	発情回帰例数(%)	妊娠例数(%)**
卵巣静止	9	144±70*	7 (77.8)	6 (85.7)
卵巣嚢腫	2	382±308	1 (50.0)	1 (100)
黄体遺残	2	368±181	2 (100)	2 (100)
鈍性発情卵胞期	25	181±140	18 (72.0)	17 (94.4)
鈍性発情黄体期	7	937±120	7 (100)	6 (85.7)
計	45		35 (77.8)	32 (91.4)

*平均±標準偏差、** (妊娠例数/発情回帰例数)

(6) 卵巣疾患の治療経過

卵巣疾患診断後の治療経過を各疾患の代表的な例について以下に述べる(図4)。

卵巣静止例(WL4): この症例は、離乳後8日目の初診時に発情と診断され交配されてから妊娠陰性と診断されるまで糞中ジェステルゲン値は34~44ng/gの低値を示したため卵巣静止と診断され、妊馬血清性性腺刺激ホルモン製剤(PMSG、セロトロピン、帝国臓器製薬(株))を1,000IU筋肉内投与した。投与4日後に発情が回帰し、交配後妊娠陽性と診断されるまで544~1,000ng/gの高値で推移した。

多胎性大型卵胞嚢腫例(LW141): 本症例は、離乳後7日目の初診時に卵巣静止と診断されPMSGを1,000IU筋肉内投与したところ、1週間後に多胎性大型卵胞嚢腫を発症したため、牛下垂体前葉性性腺刺激ホルモン製剤(bAPG、ヒポホリン、帝国臓器製薬(株))を400Rab.U筋肉内投与した。その後糞中ジェステルゲン値が780ng/gに上昇し嚢腫の黄体化が推察されたため、プロスタグランジンF2α製剤(PGF2α、プ

ロナルゴンF、アップジョン社)を10mg投与した。1週間後、糞中ジェスタージェン値は164ng/gまで減少したが、良好な発情は認められず交配されなかった。その1週間後、糞中ジェスタージェン値は560ng/gまで上昇したため再度PGF2 α を10mg投与し、3日後PMSGを1,000IU投与したところ良好な発情が帰帰し交配され、妊娠陽性と診断されるまで560~1,040ng/gの高値で推移した。

黄体遺残例(WL15)：本症例は、交配後23日目に妊娠診断で妊娠陰性と診断された。初診時の糞中ジェスタージェン値は360ng/gで黄体期と診断され、1週間後も496ng/gの高値を示したため卵巣の触診所見と合わせ黄体遺残と診断し、PGF2 α を10mg筋肉内投与し3日後にPMSGを1,000IU筋肉内投与したところ初診後2週目にジェスタージェン値は92ng/gまで減少し、発情が帰帰し交配された。交配後妊娠陽性と診断されるまでジェスタージェンは272~308ng/gの高値を示した。

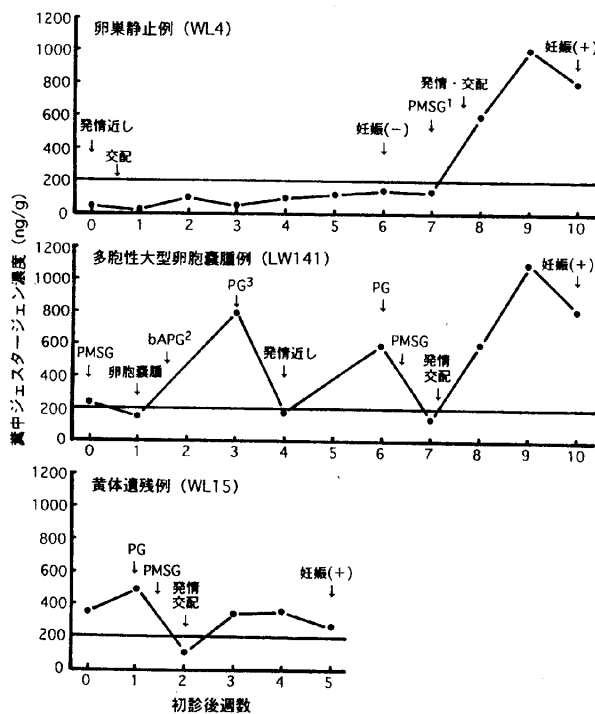


図4 豚の糞中ジェスタージェン測定による卵巣静止、卵巣腫瘍および黄体遺残例の診断と治療経過
1:PMSG 1,000IU 2:bAPG 400Rab.U 3:PGF2 α 10mg

糞中エストロンサルフェートの応用

(1) 糞の採取と糞液の作成

直腸内から採取した糞を4g計り取り、0.1% BSA添加の0.01Mリン酸緩衝液8mlの中に入れ、これを十

分攪拌した後、1700×g、15分間遠心分離し、その上清を糞液としてエストロンサルフェート測定まで-20℃に保存した。

(2) 測定方法

Ohtakiらの糞中エストロンサルフェートのRIAにより測定を行った。

(3) 妊娠期における糞中エストロンサルフェートの動態

当教室飼養の雑種雌成豚5頭を用い、妊娠期間中を2日間隔で糞を採取した。また同時に血液を採取し血漿値との比較を行った(図5)。血漿中エストロンサルフェート濃度はこれまでの報告同様、交配後26~32日の間と70日から分娩直前の間でピークを形成する2峰性の推移を示した。一方、糞中エストロンサルフェートの推移は交配後28~32日の間で1794~1838pg/gのピークと交配後72日から分娩終了後までに最高値2827pg/gのピークを示し、血漿中の推移に比べ2~4日間遅れはするものの類似の2峰性の推移を示すことがわかった。糞中エストロンサルフェートも血液中のものと同様に胎子胎盤由来のものであることから、これを早期妊娠診断や胎子胎盤機能検査に応用可能であることが示唆された。

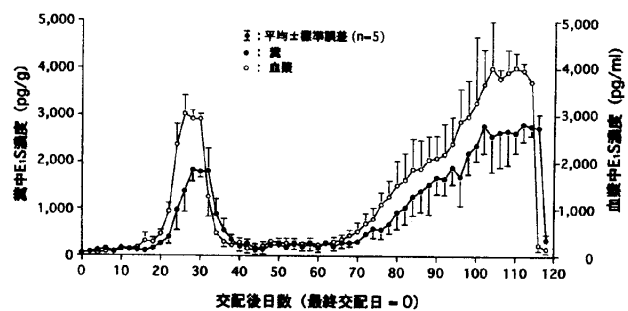


図5 豚の妊娠期における糞中および血漿中エストロンサルフェート(E₁S)濃度の推移の比較

(4) ミイラ変性胎子娩出例の糞中エストロンサルフェートの動態

ミイラ変性胎子4頭と未熟子1頭を娩出した雑種繁殖雌豚1頭における妊娠中の糞中および血漿中エストロンサルフェート濃度の推移を正常分娩例と比較して図6に示した。ミイラ変性胎子娩出例では、特に交配後80~90日以降において著しくエストロンサルフェート濃度が低く、血漿値および糞値ともに類似の推移を示した。娩出されたミイラ変性胎子の肉眼所見では胎齢80日前後に死亡したものと推定され、この時期と糞中エストロンサルフェート値の減少の時期がほぼ一致

したことから、本法が胎子胎盤機能状況のモニタリングに有用であることが示唆された。

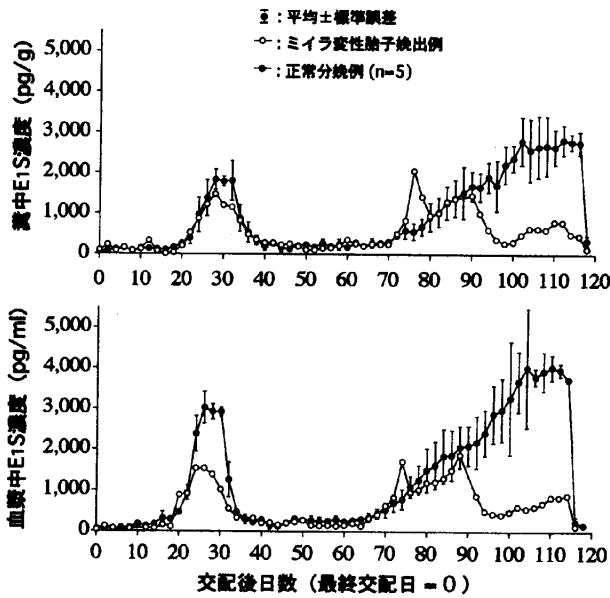


図6 豚のミイラ変性胎子娩出例と正常分娩例の妊娠期における糞中および血漿中エストロンサルフェート (E₁S) 濃度の推移の比較

おわりに

これまで糞中ステロイドホルモン分析は、測定試料としての血液採取が困難な野生動物や動物園動物を中心にその繁殖生理機能を解明する一研究手段として発達してきた。しかし、これらの報告の多くは測定に種々の規制があるRIAによるものであり、家畜の臨床領域においては応用されにくいものであった。近年、

わが国においても、一般の家畜診療所で短時間に測定が可能な牛乳用あるいは血液用プロジェステロン測定EIAキットが市販されるようになり、今回の豚の糞中ジェスタージェン分析もこれを応用したものである。豚の糞中ステロイドホルモン分析については、今回紹介したジェスタージェンとエストロンサルフェートのほかにも現在エストロン、エストラジオール、コルチゾールなどについて検討中である。ジェスタージェン以外のホルモンについても欧米では血液用EIAキットがすでに発売されているものがある。それらを豚の糞中ステロイドホルモンの測定に応用することにより、今後臨床現場におけるより正確で迅速な早期妊娠診断、卵巢疾患の診断、胎盤機能状況のモニタリングなどが実施されることを期待する。

参考文献

1. Moriyoshi, M., Nozoki, K., Ohtaki, T., Nakada, K. and Nakao, T. 1997. Measurement of gestagen concentration in feces using a bovine milk progesterone quantitative test EIA kit and its application to early pregnancy diagnosis in the sow. *J. Vet. Med. Sci.* 59: 695-701.
2. 森好政晴. 1997. 雌豚の繁殖障害と早期妊娠診断に関する研究. 酪農学園大学紀要 (自然科学編) 22: 33-79.
3. Ohtaki, T., Moriyoshi, M., Nakada, K. and Nakao, T. 1999. Fecal estrone sulfate profile in sows during gestation. *J. Vet. Med. Sci.* 61: 661-665.