

豚の受精卵移植による分娩例

近藤ゆり*・松本徹郎**・川手秀一*・伊藤米人*

An Instance of Farrowing by Embryo Transfer in Pig

Yuri KONDO, Tetsuro MATSUMOTO, Shuichi KAWATE and Yoneto ITOH

(要旨)

1986年6月、豚の受精卵移植による分娩例を得るため移植試験を行った。

試験には未経産豚1頭と1産した経産豚3頭の計4頭を供し、PMSG, hCGまたはアルトレノジェストを用いて発情を同期化した。供卵豚は3頭を用い、授精後4~5日目(最初の授精日を0日とする)に屠殺し、屠体子宮から受精卵を回収した。黄体数に対する回収卵数の割合は、それぞれ79.2%(19/24)、62.5%(10/16)および88.2%(15/17)であった。合計44個の回収卵のうち形態的に正常と思われるもの25個を、全身麻酔下の外科的手術によって受卵豚1頭の子宮角先端部へ移植した。

その結果、受精卵移植後112日目の9月30日に、雄4頭、雌3頭の計7頭を正常に分娩した。

まえがき

豚の受精卵移植(Embryo Transfer;以下ETと略す)による成功例はKvasnickii(1951)¹⁾によって初めて報告された。わが国においては西川ら(1973)²⁾が産子を得た報告がある。1960年代には外科手術による豚のET技術の基礎がほぼ確立した^{3~5)}が、牛のETが現在では実用段階にあることに比較して、その技術の発達はやや停滞気味であった。これは、豚は妊娠期間が比較的短く多胎であるため、優良種畜の増殖を主目的とする牛ほどその効果が期待されなかったこと、また生殖器の構造上、採卵および移植に非外科的方法を用いることが困難であり、全身麻酔下の手術が必要とされることなどによるものであった。

しかし、近年、豚のETは衛生対策の一手段として注目されるようになってきた。すなわち、Jamesら(1983)⁶⁾および小栗ら(1988)⁷⁾は、オーエスキー病汚染農場内の抗体陽性豚から受精卵を回収し、これを非汚染農場内の抗体陰性豚に移植することによって抗体陰性の子豚が得られると報告している。一方、Bolinら(1982)⁸⁾は、オーエスキー病ウイルスを試験的に接種した供卵豚から回収した受精卵や高濃度のウイルスにさらした受精卵を移植すると受卵豚が陽転することを報告しているため、垂直感染の防除技術としては更に検討する必要がある。

またSPF豚群の血液更新のため、ETは子宮切断術

や帝王切開よりも安価かつ安全な方法である⁹⁾。

今回著者らは、豚の受精卵の回収および移植を試験的に実施し、分娩例を得たので、これを報告する。

材料と方法

1. 供卵豚の発情の同期化と授精

供卵豚は1産したランドレース(以下Lと略す)種2頭と未経産のLW種1頭の計3頭である(表1)。このうち離乳後の発情再帰を確認できなかった1頭についてはPMSG, hCGを、発情を確認した他の2頭については合成黄体ホルモン剤アルトレノジェスト(以下ATと略す)を用いて発情を同期化した(表2)。すなわち、L7534(以下ドナーNo1と略す)についてPMSG(セトロロビン[®])を1000IU、その約74時間後にhCG(ゲストロン[®])を500IU耳根部に注射した¹⁰⁾。またL7553およびLW212(以下ドナーNo2およびNo3と略す)については、1日1頭あたりAT20mgを18日間連続経口投与した^{11~13)}。AT投与開始日は発情周期の5~13日(発情開始日を0日とする)であった。

授精には、ドナーNo1及びNo3についてはL種の雄豚、No2についてはデュロック(以下Dと略す)種の雄豚を供した。ドナーNo1は、発情0~2日の3日間に、液状精液による人工授精を2回と自然交配を1回行った。ドナーNo2は発情0~1日の2日間に自然交配を2回、No

* 東京都畜産試験場 東京都青梅市新町715(〒198)

** 現、東京都大島支庁 東京都大島町元町(〒100-01)

表1 供試豚の品種と産歴

区 分	供 卵 豚			受卵豚
	ドナー№1	ドナー№2	ドナー№3	
個 体 名	7534	7553	212	7573
品 種	L	L	LW	L
産 歴	1	1	未	1

表2 供試豚の発情の同期化と授精

区 分	供 卵 豚			受卵豚
	ドナー№1	ドナー№2	ドナー№3	
同期化の方法	PMSG, hCG ¹⁾	AT ²⁾	AT ²⁾	AT ²⁾
同期化の程度 ³⁾	-1	0	0	0
授精に供した雄豚	L	D	L	—

1) PMSG 1000 IU 投与後74時間にhCG 500 IUを投与した。(6/2, 6/5)

2) アルトレノジェストを1日1頭あたり20mg, 18日間連続経口投与した。(5/14~5/31)

3) ドナー№1のみ発情開始日が1日早く, 3日間許容を示した。(6/5~7)

他の3頭の許容は2日間だった。(6/6~7)

3は0~1日に人工授精と自然交配を1回ずつ行った。

2. 受精卵の回収

受精卵の回収は, 授精後4~5日目(最初の授精日を0日とする)に供卵豚3頭を屠場において屠殺し, 生殖器をビニール袋に入れ約35℃の温湯で保温して当场に持ち帰って行った。すなわちバルンカテータルを子宮角先端から50~60cmの部位に開けた小孔から挿入してバルンを膨ませて保定した後, 卵管子宮接合部に鈍針を刺して40~50mlのダルベッコのPBSを2回に分けて注入し, 受精卵を浮遊させるように子宮を灌流してカテータルより100ml試験管に回収した。

回収液は全量を検索しやすいように方眼をつけたシャーレに移し, 実体顕微鏡下で鏡検した。回収卵はWhittinghamの培養液¹⁴⁾に移した後, 形態的に正常と思われるものを選んで移植に供した。

3. 受精卵の移植

受卵豚は1産したL種1頭である(表1)。発情の同期化は, ATをドナー№2および№3と同じ期間, 同じ方法で投与して行った。

ETは吸入麻酔下, 仰臥保定で行った。麻酔は, アザペロン(ストレスニル[®])10ccおよび塩酸ケタミン(ケタラル[®])20ccを筋注して前麻酔した後, 笑気1:酸素1の混合ガスに4%のハロセンガスで導入を行い, 笑気1:酸素1に1~2%のハロセンガスで維持した。仰臥保定後, 術野を洗浄剃毛し, 希ヨーチンを塗布してから手術布をかけた。切開は正中線上, 最後乳頭間から前へ約10cm行った。移植卵は, パスツールビベットにより約5mlの培養液とともに左の子宮角先端へ注入した。

結 果

ドナー№1はhCG投与日に, ドナー№2と№3はAT投与終了後6日(AT最終投与日を0日とする)に発情が発現した。

回収卵数は, ドナー№1, №2および№3の順にそれぞれ19, 10および15個の計44個であり, 回収率(回収卵数/黄体数×100)はそれぞれ79.2, 62.5及び88.2%で, 平均77.2%だった。また, 形態的に正常と思われる正常卵数はそれぞれ17, 1および7個の計25個であり, 正常卵率(正常卵数/回収卵数×100)はそれぞれ89.5, 10.0および46.7%, 平均56.8%だった(表3)。回収卵の発達ステージは4細胞期胚から桑実期胚までであり, 正常卵25個すべてを移植した。

受卵豚はAT投与終了後6日に発情を示し, 10日(発情後4日)にETを行った(表2)。黄体数は右10個, 左9個の計19個だった(表3)。ET終了後3日目にヘルニアの疑いを認め, 再手術を行ったが, その後は順調に経過した。

ET手術(6月10日)後112日目(9月30日)に, 雄4頭, 雌3頭の正常子豚7頭とミイラ化胎子2頭を自然分娩した(表4)。子豚の生時体重は 1.2 ± 0.2 (0.9~1.4)kgであり, 7頭とも外見上正常で, その後の発育も順調だった(写真1)。毛色は白色で耳は前傾し, 顔は長く体はのびのびとして, L種の外貌を呈していた。ミイラ化胎子2頭の体長は約19cmだった。

表3 供試豚別の黄体数、回収卵数および移植卵数

区 分	供 卵 豚			受卵豚	
	ドナーNo.1	ドナーNo.2	ドナーNo.3		
黄 体 数	右	11	9	6 ⁴⁾	10
	左	13	7	11	9
	計	24	16	17	19
回 収 卵 数	右	8	4	6	—
	左	11	6	9	—
	計	19	10	15	—
回 収 率 ¹⁾ (%)	79.2	62.5	88.2	—	
正 常 卵 数 ²⁾	17	1	7	—	
正 常 卵 率 ³⁾ (%)	89.5	10.0	46.7	—	

1) 回収卵数/黄体数×100
2) 正常卵数=移植卵数

3) 正常卵数/回収卵数×100
4) 他に囊種性卵胞3個

表4 移植、分娩および産子の状況

移植年月日	移植卵数	分娩年月日	産 子 数 ¹⁾			産子の体重 (範 囲)(kg)
			雄	雌	計	
1986年6月10日	25	1986年9月30日	4	3	7	1.2±0.2 ²⁾ (0.9~1.4)

1) 正常子豚7頭の外にミイラ化胎子2頭を娩出した。
2) 平均±標準偏差

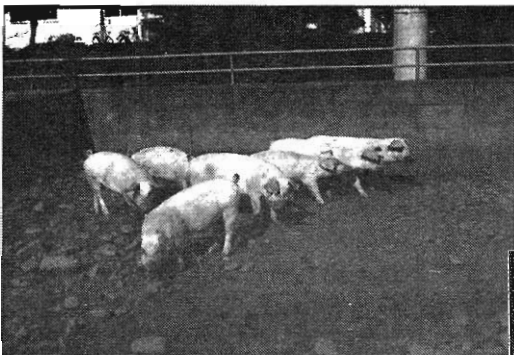


写真1 受精卵移植で生れた子豚

考 察

著者らは昭和60年度から豚のETに関する研究に着手し、61年度に初めて移植を試みて成功した。

豚のETによる妊娠を継続させるためには最低4個以上の正常卵が必要であるといわれている¹⁵⁾。しかし、形態的に正常と思われる受精卵であっても、それらすべて

が移植後も発達を続けるとは限らず、今回の試験では受胎させることを主目的としたため、形態的に正常と思われた25個すべてを移植に供した。

ETに十分な数の正常卵の確保は、1頭の供卵豚の自然排卵からの回収のみでは必ずしも確実ではなく、より確実に多数の正常卵を得る方法として、供卵豚の過排卵処置とともに複数の供卵豚を用意することが有効である。今回は供卵豚が3頭で、それぞれの受精卵の品種はL、LDおよびLWLと異っていたが、外見上の違いから確実に区別することはできないため、産子の品種の判定はできなかった。しかし、産子の毛色はいずれも白色で耳が前傾し、L種の特徴を示していた。また、LD種はL種と比較して毛色がやや褐色がかっていたり斑点が出たりして区別がつく場合があるので、その点からもLD種ではない可能性が高い。今後複数の供卵豚を用いる場合は、明らかな毛色の差などで親子判別を容易にすることが必要と思われる。

豚の受精卵の凍結保存は現在実験段階にあり、この技術が確立・普及するまでの間は、供卵豚と受卵豚の発情

の同期化が必要とされる。今回は離乳後発情が再帰しなかったドナー№1のみMSG、hCGを投与し、他の供卵豚および受卵豚は発情を確認していたのでATを用いた。発情の開始は、ドナー№1のみ1日早く、他はほぼ同時だった。豚のETの場合、供卵豚の発情が受卵豚の発情と同時よりもむしろ1~2日早い方が良いといわれており¹⁵⁾、そのことからドナー№1の受精卵(L)を受胎した可能性が高いと判断される。

今回は供卵豚をすべて屠殺し、その生殖器を持ち帰って受精卵を回収した。廃用可能な供卵豚を複数使う場合、この方法は手術よりも時間の節約と労力の軽減になる。また、屠殺後切り離れた子宮は、生体の腹腔内にある子宮よりも、その灌流が容易にできる。しかし反面、屠場で屠殺する場合は屠場関係者に開腹処理を依頼することになるため、子宮に傷をつけたり、屠体の洗浄と冷却のための冷水を受けたりする危険性もある。当场と屠場は車で約1時間の距離にあるが、保温に注意すれば、この程度の輸送は子宮の中の受精卵の生存性に重大な影響を与えてはいないようである。

産子は正常子豚が7頭であったが、同時にミイラ化胎子2頭も娩出された。胎子が死亡した原因は不明だが、体長が約19cmあったので、死亡時期は妊娠中期から後期と推定される¹⁶⁾。

受卵豚は、術後3日目にヘルニアとなったため再手術した。今後は縫合法の改善などを検討する必要がある。しかし、ヘルニアとその再手術にもかかわらず、着床と妊娠の継続は順調に進み、正常分娩に至ることができた。

今後、当场では衛生対策の一手段として、また正常分娩が困難な貴重な豚の遺伝子保存の一手段として、ETを利用していくことを考えており、今回の受胎例は貴重な第1段階となった。

謝 辞

稿を終るに当り、アルトレノジェストの提供をしていただいた(株)科学飼料研究所に深謝します。

文 献

1) Kvasnickii, A. V. (1951), Interbreed ova transplantation. Anim. Breed. Abs. 19, 224
 2) 西川義正・佐藤英明・入谷 明・角田幸生・加藤征史郎 (1973), 豚における受精卵の採集並に移植に関する研究(予報). 第61回大会講演要旨, 76.
 3) Hancock, J. L. and J. R. Hovell (1962), Egg

transfer in the sow. J. Reprod. Fert., 4, 195-201
 4) Dziuk, D. J., C. Polge and L. E. Rowson (1964), Intra-uterine migration and mixing of embryos in swine following egg transfer. J. Anim. Sci., 23, 37-42
 5) Vincent, C. K., O. W. Robison and L. C. Ulberg (1964), A technique for reciprocal embryo transfer in swine. J. Anim. Sci., 23, 1084-1088
 6) James, J. E., D. M. James, P. A. Martin, D. E. Reed & D. L. Davis (1983), Embryo transfer for conserving valuable genetic material from swine herds with pseudorabies. J. Am. Vet. Med. Assoc., 183, 525-528
 7) 小栗紀彦・相馬 正・小島敏之・今田忠男・川村賢 (1988), 受精卵移植による清浄化. 日豚会誌, 25, 48-49
 8) Bolin, S. R., L. J. Runnels, C. A. Sawyer and D. P. Gustafson (1982), Experimental transmission of pseudorabies virus in swine by embryo transfer. Am. J. Vet. Res., 43, 278-280
 9) 日本SPF豚協会編 (1985), ピッグ・ヘルス・コントロール, 初版, 189-193, チクサン出版社, 東京
 10) Christenson, R. K. and H. S. Teague (1975), Synchronization of ovulation and artificial insemination of sows after lactation. J. Anim. Sci., 41, 560-563
 11) Weibel, S. K. (1976), Estrous control in swine with a progestogen. J. Anim. Sci., 42 (Abs.), 1358
 12) Davis, D. L., D. B. Killian and B. N. Day (1976), Control of estrus in gilts with Compound A-35957. J. Anim. Sci., 42 (Abs.), 1358
 13) Knight, J. W., D. L. Davis and B. N. Day (1976), Estrus synchronization in gilts with a progestogen. J. Anim. Sci., 42 (Abs.), 1358
 14) Whittingham, D. G. (1971), Culture of mouse ova. J. Reprod. Fert., 14, 7-21
 15) Polge, C. (1982), Embryo transplantation and preservation. In Control of pig reproduction (D. J. A. Cole and G. R. Foxcroft, Ed.), 277-291, Butterworths, London
 16) 熊谷哲夫・波岡茂郎・丹羽太左衛門・笹原二郎編 (1977), 豚病学, 初版, 704-705, 近代出版, 東京