

豚胚移植における外科的および非外科的手法の検討
 早田繁伸・村上忠勝・古閑護博・家入誠二・中島達彦・野田伸司
 (熊本県農業研究センター)

Shigenobu HAYATA, Tadakatsu MURAKAMI, Morihiro KOGA, Seiji IERI,
 Tatuhiro NAKASIMA and Shinzi NODA : investigation of surgical
 and non-surgical transfer for porcine embryo transfer

はじめに

近年、豚受精卵移植に関する試験は、優良系統豚の改良増殖、SPF 群の作出、慢性疾病の清浄化促進等を目的に、非外科的採卵移植法、豚受精卵の凍結保存、体外受精、核移植等の研究へと発展しつつある。熊本県では平成5年度にこの研究に着手し、実用技術として確立するため発情の同期化技術、採卵および移植技術等について検討を加えた。

1. 材料および方法

1) 実施期間：1994年11月～1994年8月

2) 供試豚：供試豚は当場繁殖のランドレース種、デュロック種および雑種で6～8か月の未経産豚を使用した。

3) 同期化：試験豚の同期化は発情誘起についてPMSを投与72時間後にhCG投与し、24時間後に交配を行った。移植手術は雄許容開始後3～6日目(雄許容開始日を0日目とする)に実施して、手術前には繋留所に繋養し、24時間の絶食をおこなった。

4) 開腹手術(外科的方法による採卵・移植)

(1) 外科的手法による受精卵の採取と移植：採卵は開腹手術により露出された子宮角から約20～30cmの子宮角背面に眼科用鉗で小孔を開け、2way式バルーンカテーテルを挿入し、子宮角の膨隆の状態を確認しながら固定した。約50mlの還流液を子宮角の先端まで上向させた後、受精卵を浮遊させながら下向性にカテーテルを經由して100cc大試験管へ採卵した。受卵豚への移植は子宮角先端部から約30cm部位に金属性鈍針で小孔を開け、パストールピペットを使用して保存液とともに移植した。

(2) 非外科的方法による移植(頸管経由法)：頸管経由法は1993年米村らが開発した方法をもとに実施した。牛胚移植用ビニル鞘を装着した豚人工受精用カテーテル(ディスプレイザブルタイプ)の内外を滅菌したPBS(-)またはリングル氏液で十分に濡らし、カテーテルを腔内に挿入し頸管手前まで進め、PBSを少量注入し逆流がないのを確認し、受精卵を注入し、次にPBS(-)を全部注入する。

2. 結果

採卵時黄体数は11個～34個で平均22.6±7.5個であり、採卵数は4個から35個で平均20.8±8.5個であった。受精卵は供卵豚11頭の全頭から229個の受精卵を回収した。移植胚は15～35個で1頭平均19.3±6.1個移植した。移植した胚のステージは8細胞期から脱出胚盤胞期であった。移植方法は頸管経由法が6例、うち受胎、分娩確認が3頭、外科的方法是5例、うち3頭が分娩、

残り1頭についても受胎確認済みである。移植に用いた胚の発育段階は、最も多かったのは桑実期の47個で全体の39.1%を占めた。次に8細胞期27個で22.5%、拡張胚盤胞期22個で18.3%、胚盤胞期19個で15.8%、脱出胚盤胞期4個で3.3%の順であり初期胚盤胞期は1個であった。移植の受胎状況は移植した11頭中7頭が分娩、または受胎確認し分娩受胎率は63.6%であった。うち分娩したもので平均移植胚数は25.3±6.1個で産子数は平均6.8±4.3頭であった。着床率は26.7%であった。外科的に移植した受胎成績は5頭移植し4頭が受胎確認され、受胎率は80%であった。胚は合計81個移植し、26頭の産子を得、着床率は32.1%であった。

非外科的手法(頸管経由法)は6例実施して3頭が受胎、受胎率は50%であった。すでに分娩したものは1頭であるが、20個の胚を移植し、産子数は1頭であり着床率は5%にすぎなかった。

第1表 受卵豚一覽

| 豚番号 | 品種 | 生年月日 | 月齢 | 移植胚数 | 胚ステージ | 移植月日 | 移植方法 | 受胎有無 | 分娩頭数 |
|--------|--------|----------|-------|-------|--------|-----------|-------|------|-------|
| D-552 | デュロック | '94.2.15 | 10 | 15 | 胚盤胞 | '94.11.30 | 頸管経由 | 不受胎 | 1 |
| L-95 | ランドレース | 94.6.29 | 8 | 20 | 8細胞 | 94.12.12 | 頸管経由 | 受胎 | 13 |
| L-1 | ランドレース | 94.4.13 | 8 | 35 | 8細胞-胚盤 | 94.12.12 | 外科的方法 | 受胎 | 7 |
| LW-53 | 雑種 | 94.5.23 | 8 | 20 | 桑実 | 95.1.13 | 外科的方法 | 受胎 | 6 |
| LW-79 | 雑種 | 94.6.24 | 8 | 26 | 桑-脱出 | 95.3.22 | 外科的方法 | 受胎 | |
| LW-240 | 雑種 | 94.11.8 | 8 | 15 | 8細胞 | 95.6.15 | 外科的方法 | 不受胎 | |
| LW-344 | 雑種 | 95.2.6 | 6 | 12 | 16-桑 | 95.8.23 | 外科的方法 | 受胎 | |
| L-386 | ランドレース | 95.3.12 | 6 | 17 | 4-胚盤 | 95.9.26 | 頸管経由 | 不受胎 | |
| L-392 | ランドレース | 95.3.11 | 6 | 20 | 桑-拡張 | 95.9.26 | 頸管経由 | 受胎 | |
| L-8 | ランドレース | 94.4.17 | 17 | 17 | 4-桑 | 95.9.26 | 頸管経由 | 不受胎 | |
| LW-323 | 雑種 | 95.2.5 | 7 | 15 | 桑 | 95.9.26 | 頸管経由 | 受胎 | |
| 平均 | | | 8.36 | 19.27 | | | | | 6.75 |
| 標準偏差 | | | ±2.96 | ±6.12 | | | | | ±4.26 |

第2表 胚移植に用いた胚の発育段階

| 移植胚 DAY: | 移植胚合計 | 胚の発育段階 | | | | | | |
|----------|-----------|-----------|----------|-----------|---------|-----------|-----------|---------|
| | | 8細胞 | 16細胞 | 桑実胚 | 初期胚盤胞 | 胚盤胞 | 拡張胚盤胞 | 脱出胚盤胞 |
| 4.5±0.5 | 151 (100) | 42 (27.8) | 14 (9.3) | 49 (32.5) | 1 (0.7) | 19 (12.6) | 22 (14.6) | 4 (2.6) |

注) () 内は%

第3表 外科的移植法による受胎成績

| 受卵豚 DAY: | 移植頭数 | 受胎頭数 | 受胎率 (%) | 移植胚数(1) | 産子数(2) | 着床率(3) | 妊娠日数(4) |
|----------|------|------|---------|---------|---------|--------|---------|
| 4.2±0.4 | 5 | 4 | 80 | 27±6.2 | 8.7±3.1 | 32.1 | 115 |

注) 1, 2, 3, 4) は分娩した母豚のみの成績

第4表 非外科的移植法による受胎成績

| 受卵豚 DAY: | 移植頭数 | 受胎頭数 | 受胎率 (%) | 移植胚数(1) | 産子数(2) | 着床率(3) | 妊娠日数(4) |
|----------|------|------|---------|---------|--------|--------|---------|
| 4±1 | 6 | 3 | 50 | 20 | 1 | 5 | 114 |

注) 1, 2, 3, 4) は分娩した母豚のみの成績