



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	馬の受精卵移植に関する研究
Author(s)	小栗, 紀彦; 堤, 義雄; 高木, 亮司 他
Citation	北海道大学農学部附属牧場研究報告, 7, 1-8
Issue Date	1975-06-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/48890
Type	departmental bulletin paper
File Information	7_1-8.pdf



馬の受精卵移植に関する研究

小栗紀彦・堤 義雄

高木亮司・八戸芳夫

(北海道大学農学部)

I. 緒 言

ここ数年来、馬の受精卵移植、特に非手術的方法の開発について研究を継続してきた。初期の実験で、子宮角洗滌により排卵後6日目より10日目にかけて45%の採卵率を得たが、これら受精卵の頸管経由による移植は全例失敗に終わった (Oguri & Tsutsumi, 1972)。そこで、牛において成功した Sugie (1965) の方法を応用し、1972年春受精卵を膈門蓋部膈壁および子宮壁を通して子宮角内腔に移植したところ、15頭中6頭が妊娠し、内4頭は翌年春健康な子馬を4頭生産した (小栗, 1973; Oguri & Tsutsumi, 1974)。その後例数を重ね、1973年に更に20例の移植実験を追加したので、それまでの結果を合わせ検討を加えた。なお、本報告は排卵後6日目に採取した受精卵についてのみとりまとめたものであり、7日目および8日目に採取した卵については例数も少ないので割愛した。

II. 材料および方法

北海道大学農学部附属牧場繋養の2.5歳から19歳までの北海道和種、その雑種および中半血種の牝馬それぞれ16頭、1頭、10頭を供試した。排卵の確認は試情と直腸検査によって行ない、donors (卵子提供牝馬) に予定したものは発情後期に排卵が確認されるまで1日おきに1-3回交配した。なお、採卵および卵子移植の操作に先立ち、供試馬の鎮静のために体重100 kg 当り1 ml のプロピオニール・プロマジン剤 (Combelen, Bayer) を筋注した。

受精卵の採取ならびに移植方法の詳細は前報 (小栗, 1973; Oguri & Tsutsumi, 1974) に記載した通りで、図1および図2に示してある。採卵のための子宮洗滌は排卵後6日目 (144-168時間) に行なった。初期の実験 (Oguri & Tsutsumi, 1972) における子宮洗滌では空気を満したゴム風船を排卵側子宮角基部に設置して子宮角内腔のみを洗滌したが、洗滌液が子宮体内腔に漏出する場合があることと幾分操作しにくいことから、本実験では、ゴム風船を子宮内口部に設置して全子宮腔を洗滌する様に切り替えた。

recipients (卵子受容牝馬) に移植した受精卵35個の内12個は発見後直ちに洗滌液中より1 ml 当り1,000 I. U. のペニシリン G を含むリンゲル氏液と牝馬血清の等量混合液中に移したが、他の23個は移植まで洗滌液 (2% ゼラチンを含む生理的食塩水) 中に放置した。recipients

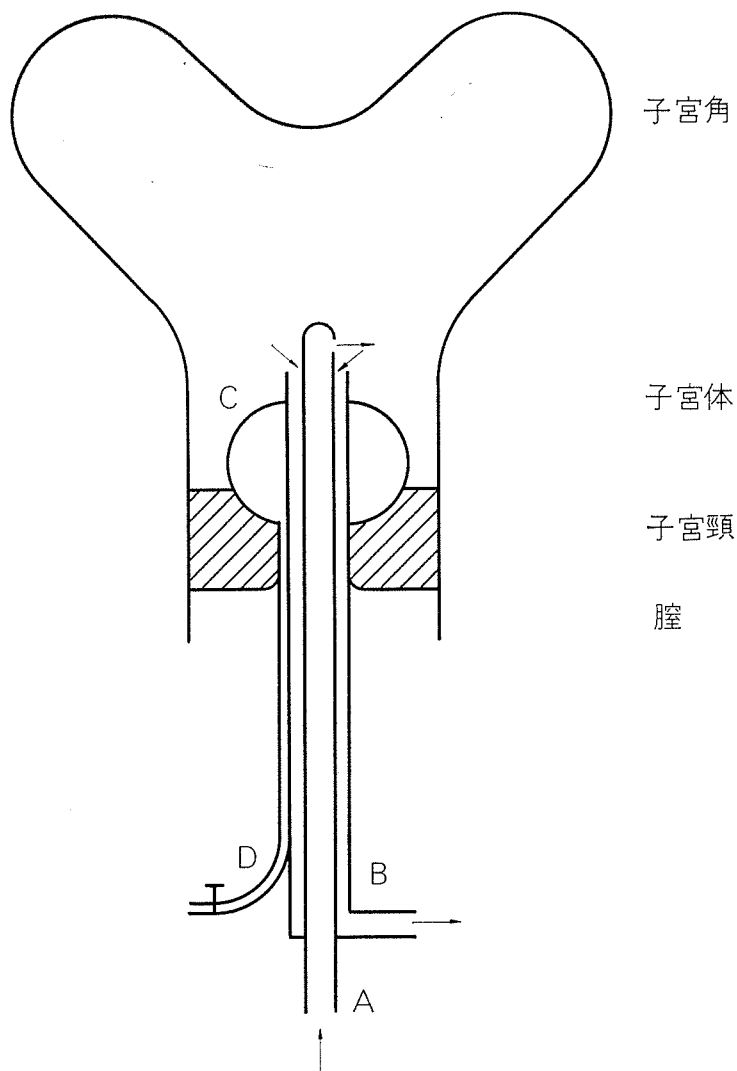


図 1 3 way 式採卵具による子宮洗滌の模式図。内筒と外筒は共にビニール管で、外筒の先端部にゴム風船が装着してあり、空気送入のためのポリエチレン製細管が接続してある。ゴム風船が子宮頸管を通過し終るまで、子宮内に器具を挿入し、その脱落と洗滌液の漏出を防止するために空気ですり込み風船を膨らませる。次で、落差 1 m の圧力を利用して洗滌液を内筒から注入して、子宮内に充満させる。子宮内に充満した液を外筒と内筒の間隙を通して、100 cc 試験管 15 本に分注して回収する。洗滌液の注入および回収の操作を 2-3 回繰返して、子宮洗滌を終了する。

- A: 内 筒
- B: 外 筒
- C: ゴム風船
- D: 空気送入用細管
- ↑: 洗滌液の流れ

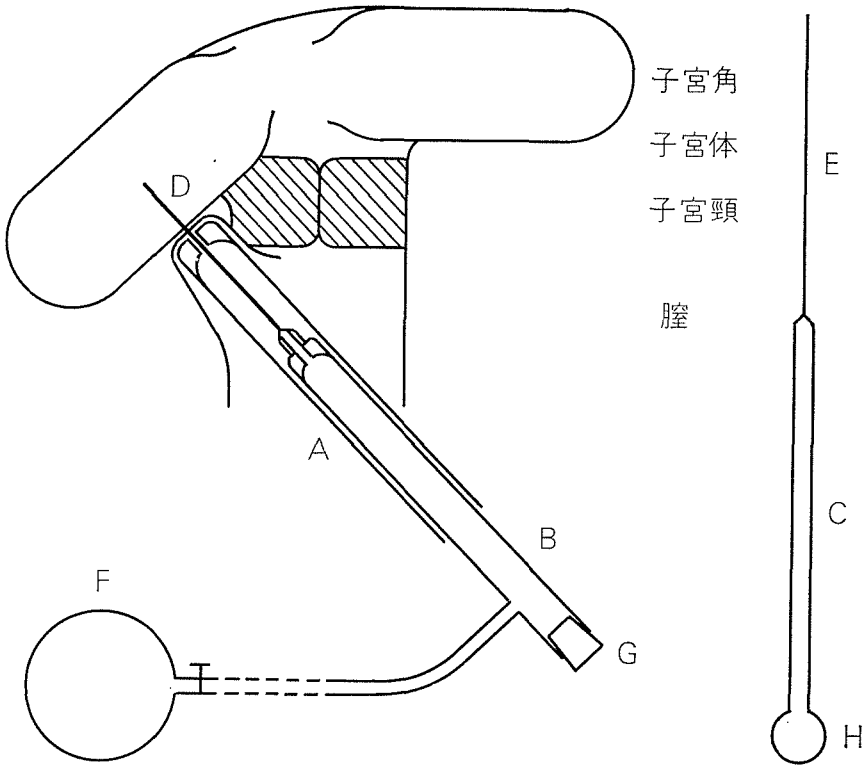


図 2 Sugie (1965) の方法を馬に応用した場合の卵子移植の模式図。器具は大, 中, 小の組になった 3 本のプラスチック管で構成されており, 大管は中管に接続された長い注射針 (外針) の先端 (鋭端) を膣門蓋部まで誘導するのに用いる。中管に接続してある外針は膣門蓋部で膣壁を, 続いて直腸内の手で膣壁の近くまで引き寄せた子宮角の壁を貫いて子宮角腔内に刺入される。外針の先端が子宮角腔内に存在することは中管を通して炭酸ガスを注入し, 子宮角の内腔をガスが通過する状態を直腸内の手で触感することによって確認できる。一方先端を鈍にした細長い注射針 (内針) を接続してある小管に, あらかじめ約 0.2 ml の液と共に卵子を吸入しておき, 外針の先端が子宮角腔内に達したことを確めた後, 中管の栓をはずして, 内針を中管および外針の中を通し, その先端を子宮角腔内に入れて, 液と共に卵子を注入する。

- A: 大 管
- B: 中 管
- C: 小 管
- D: 外針 (鋭端)
- E: 内針 (鈍端)
- F: 炭酸ガスタンク
- G: ゴム栓
- H: キャップ

にはその排卵日が donors の排卵日と前後 2 日以内に同調したものを選び、recipients と donors の排卵日が同じものを 0 と表わし、recipients の排卵日が donors に 1 日または 2 日先行したものを、+1, +2 とし、逆の場合を -1, -2 として表示した。

III. 結 果

受精卵の採取

排卵後 6 日目にのべ 43 頭の子宮を洗滌し、内 39 例から胚盤胞初期の胚 39 個を採取した (採卵率 90.7%)。子宮洗滌に要した時間は平均 15.5 分 (範囲 7-40 分) であった。排卵後 6 日目卵子の透明帯を含めた直径は平均 183 μ (範囲 149-282 μ) であった。

受精卵の移植

排卵後 6 日目の馬受精卵を排卵後 4 日目から 8 日目の recipients へ移植して得られた受胎成績は表 1 に示す通りである。recipients 35 例中 13 例が受胎し、受胎率は 37% であった。

表 1 排卵後 6 日目馬受精卵の非手術的移植による受胎成績

Recipients と donors の排卵日の差 (日)	移植例数	受胎例数	受胎率 (%)	不受胎 recipients の移植後性周期長* (日)	
				平均	(範囲)
-2	2	1	50	23	
-1	9	4	44	23.8	(23—25)
0	15	6	40	20.4	(18—23)
+1	7	2	29	19.6	(18—23)
+2	2	0	0	17.5	(17—18)
全体	35	13	37	20.7	(17—25)

* 排卵後 32—59 日目に次回排卵を示した 3 例は除いた。

表 2 馬受精卵移植による妊娠期間、分娩日の体重および産子の性

Recipients 名	妊娠期間* (日)	体 重				産子の性
		Recipients (kg)	Donors (kg)	産子 (kg)	産子/Recipients (%)	
27	323	560	326	39.0	7.0	♂
20	331	332	338	31.1	9.4	♀
4	326	341	323	29.1	8.5	♀
19	324	285	336	29.9	10.5	♂
27	327	539	323	44.0	8.2	♀
37	341	508	335	44.1	8.7	♂
19	322	260	332	30.0	11.5	♀
25	339	573	304	46.2	8.1	♂
35	328	426	312	38.0	8.9	♀

* Recipients の排卵日から分娩日までの日数。

recipients と donors の排卵日の差が -2 日から +1 日までの範囲で受胎しており、受胎率は -2 日から順に 50%, 44%, 40%, 29% であった。不受胎例中、3 例は次回排卵が 32 日目、37 日目、59 日目と遅延したが、他の 19 例は正常な性周期長の範囲 (17-25 日、平均 20.7 日) で次回排卵があった。発見後直ちに洗滌液からリンゲル氏液と牝馬血清の等量混合液に移した卵子は 12 個中 6 個が受胎し、移植まで洗滌液に保存した卵子は 23 例中 7 例が受胎した。洗滌開始から移植終了までの平均時間は 90 分 (範囲 58-150 分) であり、受胎例のみでは 89 分、不受胎例のみでは 92 分で、ほとんど差はなかった。recipients の排卵側子宮角に卵子を移植した場合は 15 例中 4 例、反対側に移植した場合は 20 例中 9 例の受胎であった。なお、妊娠角を確認した 11 例の内 5 例に子宮内移行が認められた。

受胎した recipients 13 例の内 9 例は、妊娠期間 322-341 日で、健康な子馬を分娩したが (表 2)、残りの 4 例は recipients の排卵後 70 日目から 289 日目に流産した。

IV. 考 察

馬の受精卵は排卵後およそ 144 時間で子宮に到達するので (Oguri & Tsutsumi, 1972)、子宮洗滌によって最も若い受精卵を採取するためには、排卵後 6 日目 (144-168 時間) に採卵することが必要である。排卵後 6 日目の子宮洗滌による採卵率 (90.7%) は前報 (Oguri & Tsutsumi, 1972) における採卵率 (47%) より著しく向上している。これは本実験で子宮内腔全体を洗滌して採卵したことが、子宮角部主体の洗滌に比較して、採卵率を向上させた原因であろうと考えられる。馬では卵子の子宮内移行が起こり易く 50% 近くのものが排卵の反対側に妊娠しており (西川, 1968)、家兎では卵子が子宮内に出現した 6 時間後に既に子宮頸近くまで移動しているものがあり (Tsutsumi & Hafez, 1974)、本研究における採卵率の向上と子宮内卵子の移動とを考え合わせることは非常に興味深い。なお、馬では通常の交配によって 90.7% 以上の卵子が受精し、これらの卵子が少なくとも排卵後 6 日目まで正常に発育する事実の特筆すべきことである。

本実験では recipients と donors との排卵日のずれが ± 2 日の範囲で、受胎例が得られたのは recipients が donors より 1 日早く排卵したものから 2 日遅れた例までに限られたので、この結果のみで馬における卵子移植成立の許容限界を決定することはできない。ちなみに、他家畜における許容範囲は緬羊で -3 日から +2 日 (Rowson & Moor, 1966)、豚で -2 日から +1 日 (Webel, Peters & Anderson, 1970)、牛で -2 日から +3 日 (Rowson, Lawson, Moor & Baker, 1972) と報告されている。

Rowson, Moor & Lawson (1969) が牛の卵子移植で保存液の影響を強調しているように、本実験でも保存液による受胎成績の差が認められているが、6 日目馬受精卵は 2% ゼラチンを含んだ生理的食塩水のような medium 中に保存された場合でも移植によって子馬になってい

ることは卵子の抵抗性を示すものとして興味深い。なお、洗滌開始から移植終了までの時間はおよそ2時間まで受胎への影響は特に認められないと考えられる。また, recipients の排卵側子宮角に移植した場合より反対側子宮角に移植した場合の方が受胎成績が良好であったが、その理由は不明である。

V. 要 約

43 頭の牝馬の子宮から排卵後 6 日目の子宮洗滌で 39 個の胚盤胞を得 (採卵率 90.7%), その内 35 個を排卵後 4 日目から 8 日目までの recipients 35 頭の子宮角内に非手術的方法で移植した。その結果, recipients と donors の排卵日の差が -2 日から +1 日の範囲の recipients 13 例 (37%) が受胎した。受胎した 13 頭の内 4 頭は流産したが, 9 頭はそれぞれ健康な子馬を分娩した。

稿を終るにあたり、御指導御助言を賜わった農林省畜産試験場の杉江博士に、また本実験に御協力戴いた北海道大学農学部附属牧場の職員各位に対して厚く御礼申し上げます。なお、本研究に対し社団法人日本馬事協会より研究費の助成を受けた。

引 用 文 献

- 1) 西川 (治) (1968): 馬の早期胎児の子宮内遊走. 北海道獣医師会雑誌, **12**: 137-142.
- 2) 小栗 (紀) (1973): 馬における受精卵の移植. 家畜繁殖誌, **19**: xxxvii-xliii.
- 3) Oguri, N. & Tsutsumi, Y. (1972): Non-surgical recovery of equine eggs, and an attempt at non-surgical egg transfer in horses. J. Reprod. Fert., **31**: 187-195.
- 4) Oguri, N. & Tsutsumi, Y. (1974): Non-surgical egg transfer in mares. J. Reprod. Fert., **41**: 313-320.
- 5) Rowson, L. E. A., Lawson, R. A. S., Moor, R. M. & Baker, A. A. (1972): Egg transfer in the cow: synchronization requirements. J. Reprod. Fert., **28**: 427-431.
- 6) Rowson, L. E. A. & Moor, R. M. (1966): Embryo transfer in the sheep: the significance of synchronizing oestrus in the donor and recipient animal. J. Reprod. Fert., **11**: 207-212.
- 7) Rowson, L. E. A., Moor, R. M. & Lawson, R. A. S. (1969): Fertility following egg transfer in the cow; effect of method, medium and synchronization of oestrus. J. Reprod. Fert., **18**: 517-523.
- 8) Sugie, T. (1965): Successful transfer of a fertilized bovine egg by non-surgical techniques. J. Reprod. Fert., **10**: 197-201.
- 9) Tsutsumi, Y. & Hafez, E. S. E. (1974): Distribution patterns of rabbit embryos during preimplantation stage. J. Morph., **144**: 323-336.
- 10) Webel, S. K., Peters, J. B. & Anderson, L. L. (1970): Synchronous and asynchronous transfer of embryo in the pig. J. Anim. Sci., **30**: 565-568.

追記: 頸管経由による馬受精卵の移植についても実施中で、既に成功例を得ているが、更に検討を加えてゆく予定である。

Studies on the Non-surgical Embryo Transfer in Horses

Norihiko OGURI, Yoshio TSUTSUMI, Ryoji TAKAGI
and Yoshio HACHINOHE

Faculty of Agriculture, Hokkaido University,
Sapporo, Japan

Résumé

Thirty-nine blastocysts were recovered by non-surgical methods from forty-three mares 6 days after ovulation. The recovery rate of embryos was 90.7%. Thirty-five of the thirty-nine blastocysts were transferred non-surgically to the uteri of thirty-five recipient mares 4 to 8 days after ovulation. Thirteen recipient mares (37%) conceived. Nine mares delivered nine healthy foals and four aborted. Synchronization varied from -2 days to +1 day in successful transfer.

写真の説明

- 1-4. 排卵後6日目に子宮より採取した胚盤胞。
1. $\times 390$ 2. $\times 265$ 3. $\times 193$ 4. $\times 173$
5. 写真6の donor No. 8 (右側の牝馬) から採取し, recipient No. 19 (左の牝馬) に移植され, 左側の子馬に成長した6日目胚盤胞 ($\times 50$)。
6. Donor No. 8 (右側の牝馬) と recipient No. 19 (左) および 写真5の胚盤胞から発育した子馬 (recipient No. 19 についている)。なお, 牝馬 No. 8 についている子馬は写真5の胚盤胞採取後, 最初の発情期に交配され, No. 8 自身によって分娩された子馬であり, これら2頭の子馬は同一時期に分娩された双児でない全きようだいである。

