



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	The studies on establishment of artificial insemination protocol in the Japanese macaque [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	高江洲, 昇
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15032号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86033
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	TAKAESU_Noboru_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：高江洲 昇

審査委員	主査 教授	坪 田 敏 男
	副査 教授	片 桐 成 二
	副査 准教授	下 鶴 倫 人
	副査 助教	柳 川 洋 二 郎

学位論文題名

The studies on establishment of artificial insemination protocol in the Japanese macaque

(ニホンザルにおける人工授精プロトコル確立に向けた研究)

ニホンザル (*Macaca fuscata*) は日本の固有種であり、動物園で広く飼育・展示されている。動物園では、野生下の生息状況を再現するため雌雄混合の群れで飼育されることが多いが、繁殖力が強く、個体数過剰が問題となる。また、ニホンザルの群れは排他的であるため、閉鎖的な集団で繁殖を繰り返し、遺伝的多様性の低下も問題となる。これらの問題を解決するためには、人工授精 (AI) を利用した繁殖管理が有効であるが、ニホンザルの AI についての報告は少なく、凍結保存精液を使用した産子獲得については報告がない。

第 1 章では、AI のオス側の課題である精液採取と凍結保存について検討した。ニホンザルの精液採取には直腸プローブによる電気刺激法 (EE 法) が用いられるが、高電圧の使用および副生殖腺液による精液の凝固が問題となる。食肉目動物では、 α_2 アドレナリン受容体作動薬の精管収縮作用により、尿管内に分泌された精液を尿管カテーテルの挿入により回収する方法 (UC 法) が報告されている。一方、精液凍結処理において、精液の短時間保存に適切な温度は動物種によって異なるが、ニホンザルの適正温度は不明である。また同属のアカゲザルにおいて、精液の冷却速度を速めることで凍結融解後の精子の活性が上昇したという報告がある。そこで、精液採取法の改善のためニホンザルにおける UC 法の有用性について検討した。また、使用電圧の低減のため、低電圧群 (3-4-5、4-5-6 V) と高電圧群 (5-10-15 V) の精液採取率を比較した。さらに、精液採取後の適切な一時保存温度 (4°C、15°C、25°C および 37°C) ならびに凍結保存の 2 次希釈のタイミングと冷却速度について検討した。その結果、ニホンザルにおいて鎮静量の α_2 アドレナリン受容体作動薬投与 (メデトミジン、25-50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) では UC 法により精液は採取できなかった。しか

し、EE 後に UC を実施する方法 (EE-UC 法) によって尿道内に残留する液状精液を回収し、総精子数を増加させることができた。精子採取には高電圧刺激が必要であるが、個体への侵襲性の低い 10 V までの刺激でも有効であることが示唆された。精液保存後 60 分の前進運動精子率が 25°C の保存温度下で高い傾向にあり、一時保存温度として 25°C が適正であることが示唆された。また、60 分から 90 分かけて徐々に冷却した後に二次希釈を行う方法に比べ、二次希釈を冷却前に行い 20 分で素早く 4°C 付近まで冷却することで凍結直前の前進運動精子率が改善した。

第 2 章ではメス側の課題として卵巣動態観察と誘起排卵および AI について検討した。過去のニホンザルの AI では、腹腔鏡検査および精液注入が排卵確認まで数日に亘って繰り返された。しかし頻回の麻酔および外科的処置は侵襲性が高く、侵襲性の低減および実施期間の短縮が必要である。そこで、超音波画像診断 (USG) によるニホンザルの卵巣動態観察、GnRH による誘起排卵および単回精液注入による AI の有効性を評価した。USG によって 6 回の自然排卵を観察した結果、生理周期の 12-14 日目に直径 7.4 ± 1.5 (5.1-9.6) mm の主席卵胞で自然排卵が起こることが明らかとなった。また、直径 5.8 ± 1.2 (4.7-7.4) mm の主席卵胞に対して GnRH 投与により投与翌日までに排卵が誘起された。GnRH による排卵誘起と単回の新鮮精液注入を併用した人工授精を生理周期の 8-14 日目に計 7 回実施した結果、生理周期の 12 日目に AI した 1 例が妊娠したが、胎齢 50 日付近で胎子死亡が確認された。

本研究で示された EE-UC 法による採取精子数の増加および USG による卵巣観察と GnRH 投与を利用した単回人工授精の有用性は、ニホンザルの人工授精の効率化および低侵襲化に有効であり、動物園等のニホンザル飼育施設における人工授精を利用したニホンザル飼育群の繁殖管理導入に貢献するものである。また、絶滅が危惧される近縁種の飼育下繁殖に応用できる可能性もあり、生息域外保全への貢献も期待される。よって審査員一同は、上記学位論文提出者高江洲昇氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規定第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。