



令和2年7月6日

報道関係者各位

国立大学法人帯広畜産大学

日本初の凍結精液を使用した人工授精後の受精卵による子馬の誕生
～受精卵移植による3頭の馬の代理出産～

【発表のポイント】

この研究成果により、日本でも馬の人工授精、受精卵移植の技術を利用して正常に発育する子馬を誕生させ得ることが示されました。この技術を用いることで、特に北海道和種馬などの絶滅が危惧される日本在来馬の効率的な生産を可能にし、それらの馬が障がい者や初心者にとって、安全に騎乗できる乗用馬として活用されることが期待されます。

【概要】

これまで日本において、凍結精液を使用した人工授精後の受精卵を移植され誕生した子馬の報告はありませんでした。そのため、馬の受精卵移植の技術が効率的な乗用馬生産のためにどれくらい寄与できるかを評価する目的で、本研究を行いました。ドナー(遺伝的母)、レシピエント(代理母)に用いられた馬はそれぞれ 0.1 mgのクロプロステノールで黄体退行を同期化され、排卵は2000IUのhCG(ヒト絨毛性ゴナドトロピン)または0.75 mgのGnRH製剤(デスロレリン)によって誘起しました。凍結精液はアイルランドのコネマラポニー種のものを用い、北海道和種馬であるドナーの、排卵が予期される側の深部子宮角へ人工授精をしました。排卵の7日後に非外科的手法による受精卵回収を行い、回収された受精卵は頸管経由法によりレシピエント馬の子宮体部へ移植しました。受精卵回収は計7回行われ、全部で4個の受精卵を回収することができました。また、移植された4個の受精卵のうち、3つが受胎し、分娩に至りました。妊娠期間中は週に1回採血、プロジェステロン濃度測定を行いました。以上より、本研究は日本で初めて、凍結精液を用いた人工授精後に、非外科的手法で受精卵移植を行って誕生した子馬の誕生を報告するものとなります。なお、同様の方法で、2020年度も元気な3きょうだい馬が無事に産まれており、さらなる馬受精卵移植法の普及定着が期待されます。

【詳細な説明】

～背景～

受精卵移植(Embryo Transfer)とはドナーと呼ばれる母馬の子宮から受精卵を回収し、それをレシピエントと呼ばれる代理母の子宮へ移植する技術です。この技術を用いることで、通常、馬は1年間に1頭しか産むことができないにもかかわらず、1頭の母馬から1年間で複数頭の子馬を生産できたり、子宮の疾患などにより妊娠維持しづらい馬でも遺伝的な子馬を生産できたり、馬術競技馬においては競技に出場しながら代理母が出産してくれるということが可能となります。

また、馬の人工授精の技術は、特に欧米においてここ20年で急速に発展しましたが、サラブレッド中心である日本の馬社会においてはあまり活用されていません。また日本古来の8種に及ぶ在来馬の絶滅は危惧され続けています。

そこで本研究は、これら2つの技術(人工授精・受精卵移植)が、日本国内において効率的な乗用馬の生産、また絶滅が危惧される日本在来馬の生産に活用できるのではないかと考え行われました。

～方法～

北海道和種馬は、比較的温厚な性格で体高130 cm程度と小柄であり、また寒さに強く丈夫な馬です。またコネマラポニー種は乗用馬として良い気質と身体能力を持っていると言われます。そこで今回はドナー馬に6歳齢の北海道和種馬、レシピエント馬に9～13歳齢の北海道和種馬あるいは北海道和種馬とハフリンガーの交雑種を用い、凍結精液にはコネマラポニー種のものを使用しました。ドナー馬、レシピエント馬は本学の馬介在室にてシェルター付きパドックで繋養され、水と乾草、サプリメント、鉱塩を適切に与えられた環境で飼育されました。

経直腸超音波検査は7.5MHzのリニアプローブ(Hitachi Aloka, Tokyo, Japan)を用いました。シーズン初回排卵は研究には用いず、ドナー馬、レシピエント馬が中期黄体期にある段階で共に0.1 mgのクロプロステノール(Planate, Nagase Medicals, Hyogo, Japan)を筋肉内投与することによって同期的に黄体退行させました。主席卵胞が成長してからは毎日超音波検査を行い、排卵は主席卵胞が35 mm以上で、子宮の浮腫グレードが3/5以上となったときに2000IUのhCG (Gonotropin, Asuka Animal Health, Tokyo, Japan)の静脈内投与あるいは0.75 mgのGnRH (Deslorelin, Boothwyn Pharmacy, Boothwyn, PA, USA)の筋肉内投与にて誘起しました。これらの手技によりレシピエントの排卵がドナーの排卵日の1日前～3日後となるように同期化しました。

人工授精は、排卵が予期される側の子宮角深部へ、排卵誘発剤投与後の32時間を目安に行いました。815 mmものカテーテルを子宮頸管から子宮角深部へ挿入し、その中に融解した精液を含むストローを押し込むことで、精液をドナー馬の子宮へと注入しました。

受精卵回収は、非外科的手法でドナー馬の排卵後7日目に行いました。回収された受精卵

はすぐにレシピエント馬の子宮体部へ頸管経由法により移植されました。

採血は妊娠期間週に1回、外頸静脈から行いました。ヘパリン管に採血し、RIA法により血漿中プロジェステロン濃度を測定しました。

～結果～

今回、受精卵回収は計7回行われ、全部で4個の受精卵を回収することができました。また、移植された4個の受精卵のうち、3つが受胎し、分娩に至りました。図1のA、B、Cはそれぞれレシピエント馬と産まれた子馬3きょうだいの写真です。子馬A、B、Cはそれぞれ産後44日、45日、8日のものです。図1のDはドナー馬と産まれた子馬3頭が並んだ写真です。右から2頭目がドナー馬で、子馬はそれぞれ121、122、54日齢になったものです。子馬たちは2020年現在も1歳馬となり元気に本学にて過ごしています。

分娩は3頭とも自然分娩で行い、出生後60分程度で起立し、70分程度で授乳しました。3頭とも出生後1日と8週間後の馬体重はそれぞれ約40kg、約110kgと順調に成長し続けています。

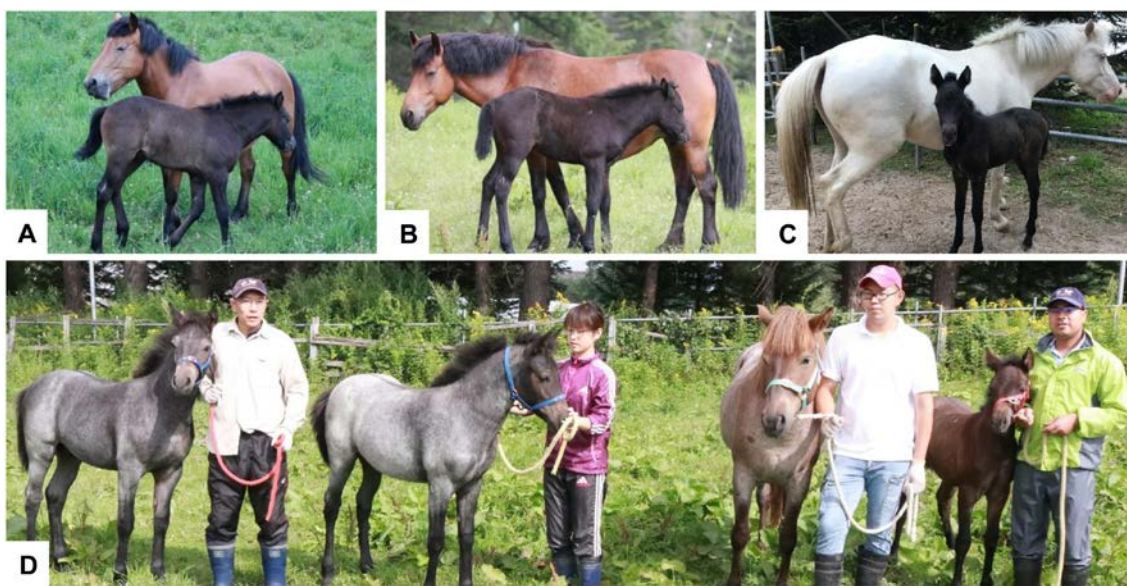


図1：A、B、Cは日本で初めて凍結精液を用いた人工授精後に受精卵移植されたレシピエント馬と産まれた子馬の写真。子馬はそれぞれ44、45、8日齢当時のもの。Dはその子馬とドナー馬に用いた北海道和種馬との写真。右から2番目がドナー馬。3きょうだいの子馬はそれぞれ左から121、122、54日齢。

図 2 に示すのは、今回北海道和種馬にアイルランドのコネマラポニー種の凍結精液を人工授精して得られた受精卵です。すべて排卵後 7 日のもので A と D は早期胚盤胞、B は拡張期胚盤胞、C は胚盤胞になります。受精卵のグレードとしては全て excellent または good に分類され、レシピエント馬へ移植されました。A～C の受精卵はその後妊娠に至りましたが、D の受精卵は妊娠に至りませんでした。

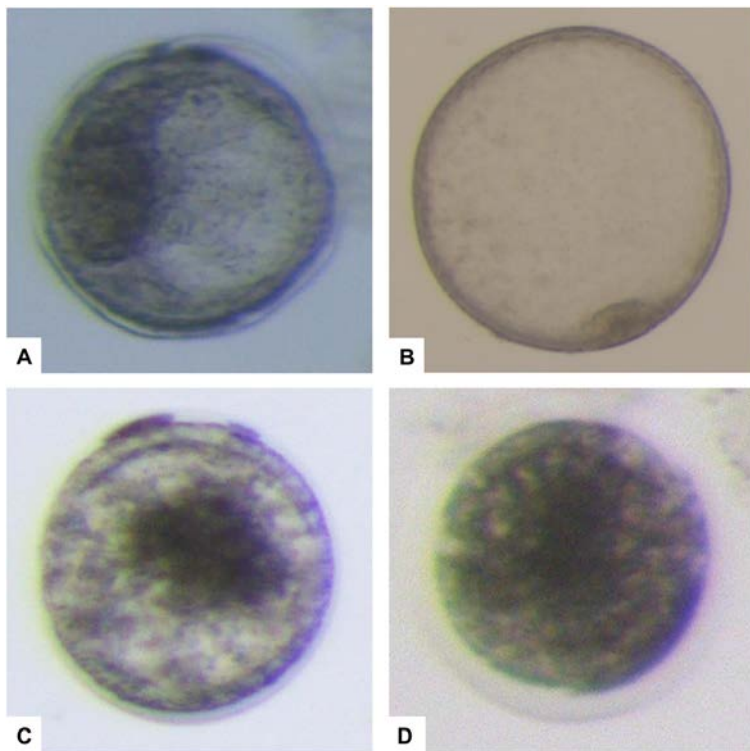


図 2 : 今回回収された 4 個の受精卵 (Day7)

図 3 にレシピエント馬の妊娠期間中のプロジェステロン濃度動態を示します。母馬の黄体や妊娠した場合は胎盤から生成されるプロジェステロンは、妊娠維持のための大切なホルモンです。図 3 のグラフの横軸は時間経過となり、レシピエント馬の排卵日を 0 日としています。排卵によって黄体が形成され、1 週目にはプロジェステロン濃度は上昇します。通常の馬の発情周期はおおむね 21 日 (3 週) サイクルであるため、4 週目には再びプロジェステロン濃度は 0 に下がるはずですが、母馬が妊娠認識しているため 4 週を過ぎてもプロジェステロン濃度は 0 まで下がるはずですが、母馬が妊娠認識しているため 4 週を過ぎてもプロジェステロン濃度は 0 まで下がるはずですが 6 週前後から上昇に転じます。その後妊娠 10 週前後でピークとなり、26 週目前後でプロジェステロン濃度は低値となることがわかります。

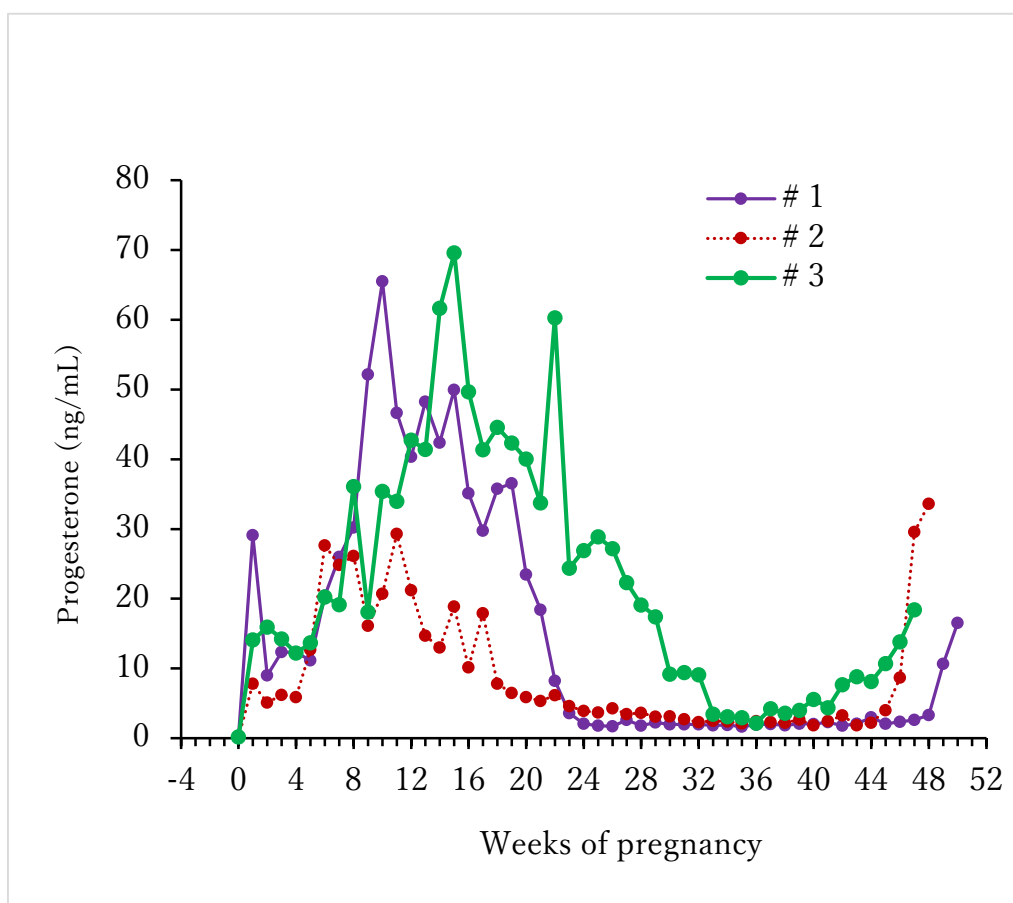


図 3 : 3 頭のレシピエント馬の妊娠中のプロジェステロン濃度変化

～まとめ～

今回日本で初めて、凍結精液を用いた人工授精後の受精卵移植によって子馬が 3 頭誕生しました。凍結精液を用いた人工授精は交配のために馬を移動させる必要がないため、獣医師・人工授精師によりいつでもどこでも行うことができ、交配によって生じる人馬の怪我のリスクやコストを減らすことができます。

また受精卵移植の技術を用いることで、通常 1 年間に 1 頭の出産であるにもかかわらず、1 頭の母馬から 1 年間で複数頭の子馬を生産できたり、子宮の疾患などにより妊娠維持しづらい馬でも遺伝的な子馬を生産できたり、馬術競技馬においては競技に出場しながら代理母が出産してくれるということが可能となります。

これらの技術について、特殊な器具や技術が必要であること、日本ではまだ法整備が進んでいないこと、十分な検査をされていない精液を用いると感染症を広げてしまうリスクがあることなど課題はまだありますが、内国産乗用馬の効率的な生産や絶滅が危惧される日本在来馬の生産、障がい者乗馬やホースセラピーに用いることができるおとなしい馬の生産など、必要とされる馬を必要な数だけ生産することが可能となり、さらなる馬事文化の発展に貢献しうることを期待します。

【発表雑誌】

発表雑誌名 : Journal of Reproduction and Development

論文名 : Birth of first foals through embryo transfer after artificial insemination
using frozen semen in Japan

著者名 : Hannan M A、羽田真悟、村田海志、竹内詩織、Soon Hon Cheong、南保泰雄

DOI : 10.1262/jrd.2019-117

論文 URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7175392/>

【お問い合わせ先】

国立大学法人帯広畜産大学

グローバルアグロメディシン研究センター

教授 南保 泰雄

電話 : 0155-49-5394

E-mail : ynambo@obihiro.ac.jp