

リピートブリーダー対策としての 胚移植の利用

どうち おさむ
堂地 修

酪農学園大学 酪農学部

(〒069-8501 北海道江別市文京台緑町582)

(Email: dochi@rakuno.ac.jp)

乳牛の繁殖成績の低下が指摘されて久しいが、根本的な解決策は見いだされていない。なかでも受胎率の低下は大きな問題であり、人工授精を何回繰り返しても受胎しない牛が多いことをよく耳にする。教科書では、生殖器等に異常が認められず、発情周期が正常に繰り返されているにもかかわらず、人工授精を3回以上繰り返しても受胎しない牛をリピートブリーダーと呼んでいる。

今日問題になっている“何回人工授精しても受胎しない牛”は、先に述べたリピートブリーダーの範疇から外れるものも多いかもしれない。なぜなら、今日の乳牛の繁殖成績低下には思い当たる原因が多くあるからである。しかしながら、本稿ではこれらの牛をリピートブリーダーと呼ぶこととして、胚移植による受胎率向上について諸報告を参考に考えてみたい。

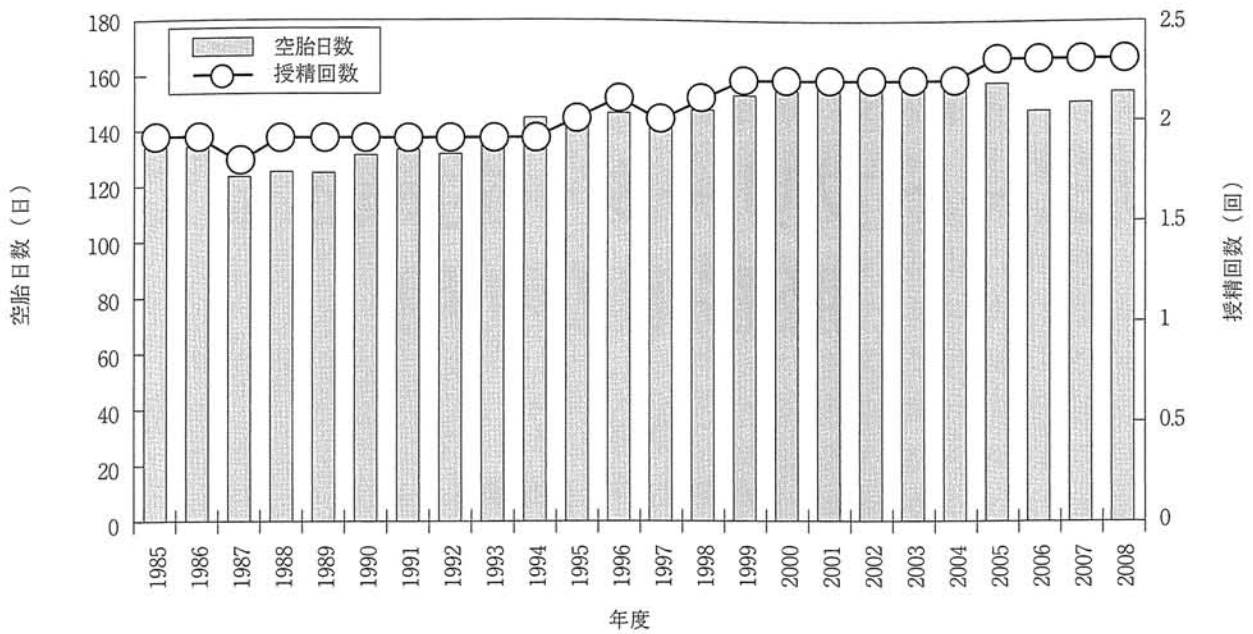
乳牛の繁殖成績低下の状況

乳牛の繁殖成績低下は、日本に限らず世界各国で深刻な問題になっている。特に高泌乳牛での繁殖成績低下が大きい。米国ニューヨーク州の乳牛の初回人工授精受胎率は1951年の約65%から1996年の約

40%まで低下し¹⁾、英国では過去25年間に約50%から約35%まで低下したと報告²⁾されている。米国における1970年代から1990年代の受胎に要する授精回数は1.6~1.9回から約3回に増加している^{10, 16)}。このような乳牛の繁殖成績の低下は世界各国で起きている^{6, 17)}。また、わが国も例外ではない。

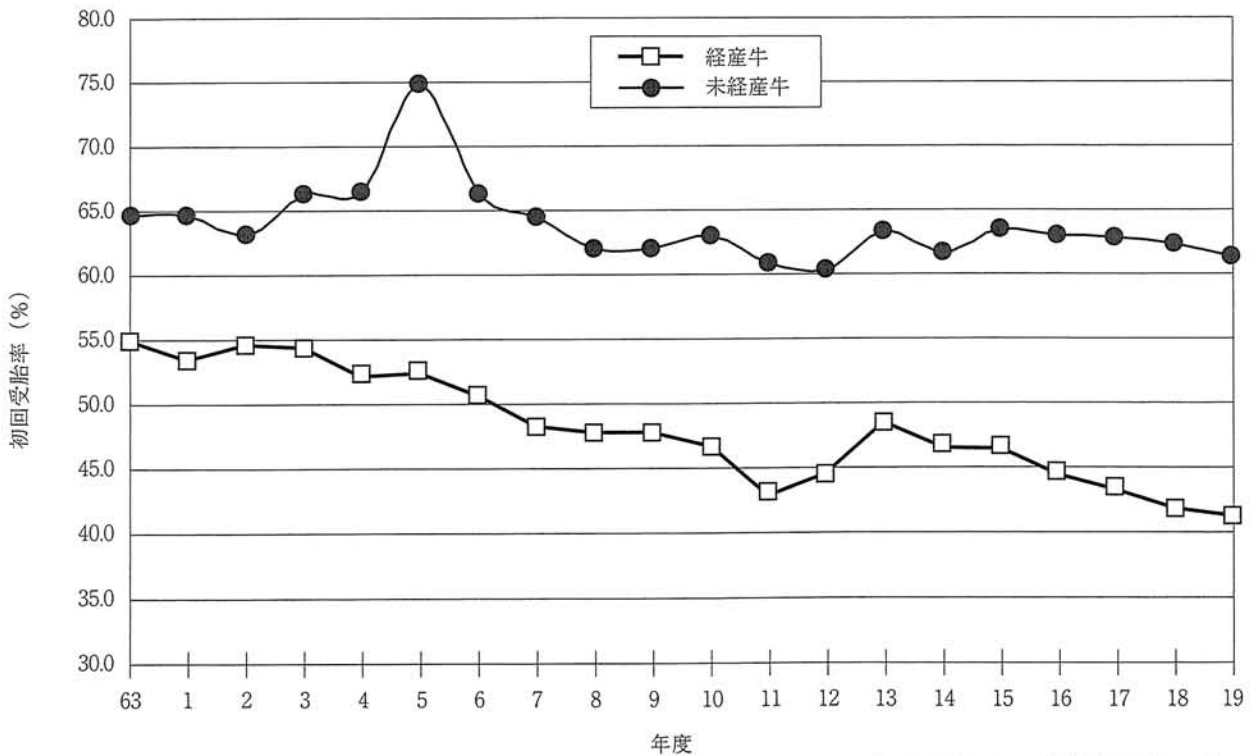
わが国の繁殖成績の推移(家畜改良事業団調べ)を1985年と2008年で比較してみると、乳量(305日、全国平均)は1985年が6,983 kg、2008年が9,184 kgで2,201 kg増えている。分娩間隔は402日から431日になり29日間、平均空胎日数は134日から155日になり21日間、それぞれ延長している。受胎に要した人工授精の回数は1.9回から2.3回に増えている(図1)。

また、北海道家畜人工授精師協会が調査した初回受胎率の推移を見ると、昭和62年に最高値に達し、それ以後低下がはじまり、平成19年には経産牛の初回受胎率は41.3%にまで低下している(図2)。このように、わが国の乳牛の繁殖成績も少なくともこの約25年の間に乳量増加に反比例するように明らかに低下している。乳牛の繁殖成績の顕著な低下は、米国では1980年代半からみられており⁶⁾、わが国の繁殖成績低下も時期を同じくしている。



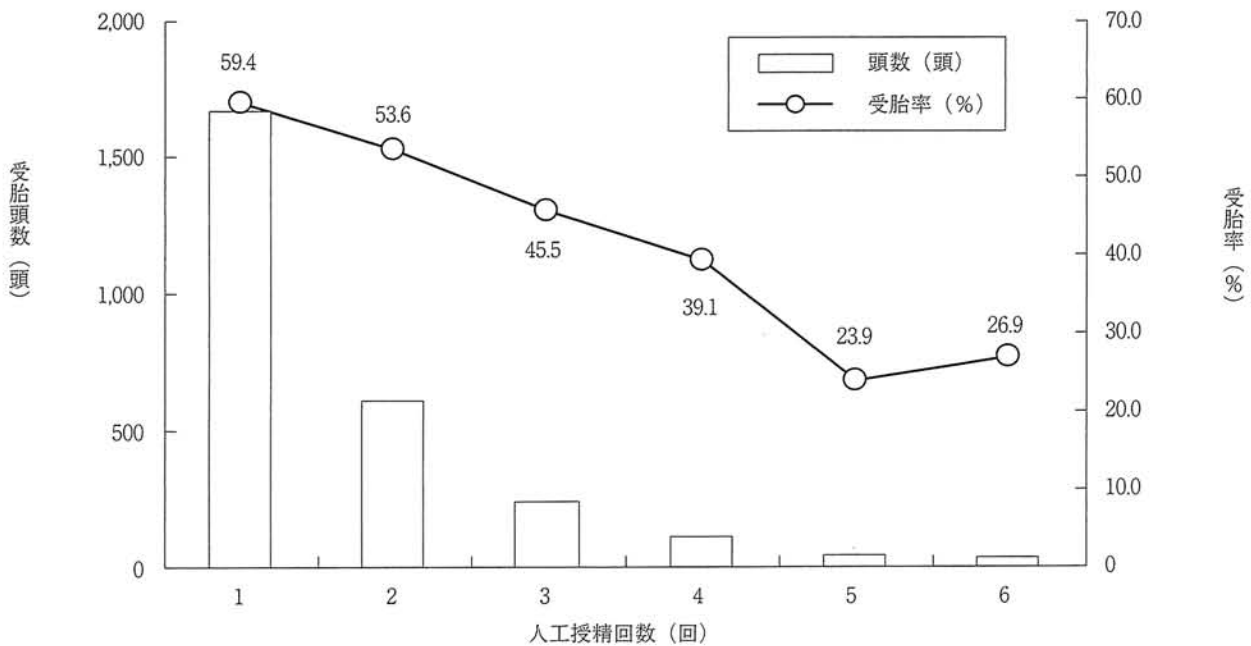
(「(社)家畜改良事業団牛群検定情報、年度別繁殖成績の推移」より)

図1 乳牛の空胎日数および授精回数の推移



(北海道家畜人工授精師協会調べ)

図2 北海道における初回受胎率の推移



人工授精回数別受胎率1981年～1987 (農水省旧日高種畜牧場業務成績報告書より作成)

図3 ホルスタイン種未経産牛の人工授精回数別受胎率の推移

リピートブリーダーは増加

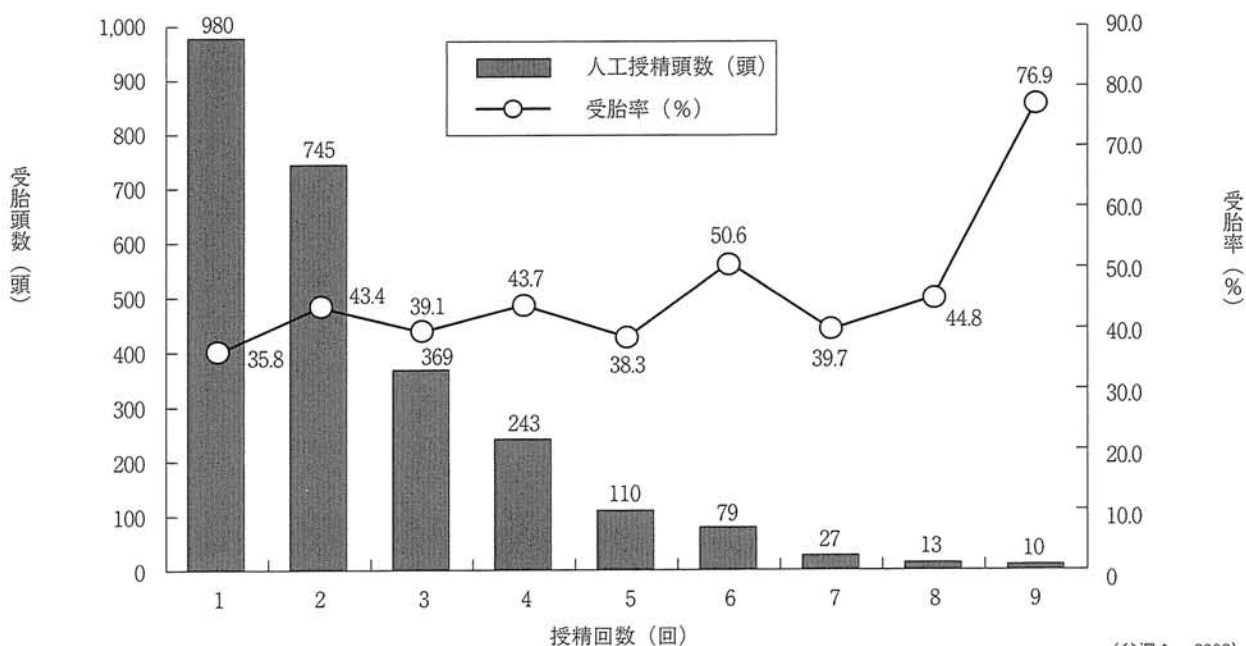
近年、乳牛では受胎率低下がもっとも深刻な問題になっている。北海道における乳牛経産牛の分娩後の初回受胎率は、1980年代半頃には約55%であったが、最近では約40%近くまで低下している。特に分娩後の初回人工授精の受胎率が低く、結果的に受胎に要する授精回数が増えている。上述したように米国では人工授精回数が3回を超えて、わが国では2.3回(家畜改良事業団調べ)である。このことは、人工授精を3回以上繰り返しても受胎しない“リピートブリーダー”が多く存在することを示している。

一般に、人工授精の受胎率は初回受胎率が高くなるにつれて低下する。未経産牛群は、繁殖機能が正常な牛群のモデルとして適していると思われることから、図3にホルスタイン種未経産牛約2,700頭の人工授精回数別の受胎率の推移を示した。初回受胎率が最も高く、2回目はやや低下し、3回目以降はさら

に低下し、5回目以降は20%台まで低下している(図3)。回数別の人工授精実施頭数割合は、初回59%、2回目22%、3回目9%、4回目4%、5回目2%、6回目1%であった。この牛群では、3回までの人工授精で受胎した割合は約90%で、4回以上の人工授精を必要とした割合は約10%であった。したがって、人工授精を3回実施しても受胎しないリピートブリーダーは約10%ということになる。

一方、現在の乳牛経産牛の中にリピートブリーダーがどの程度存在するか詳しく調査した報告はほとんどみあたらない。そこで、著者らは北海道道東のある地域を対象に、乳牛経産牛の初回受胎率および2回目以降の人工授精における受胎率ならびに人工授精の実施回数別の頭数割合を調べてみた。受胎率を初回授精から9回(延べ授精回数6,511回)まで調べた¹³⁾。

その結果、初回受胎率が最も低く(35.8%)、2回目以降は39.1%～76.9%(平均43.4%)と初回受胎率より高い値で推移していた(図4)。また、3回まで



(谷澤ら, 2008)

図4 ホルスタイン種経産牛における人工授精回数別受胎率

の人工授精によって約80%の牛が受胎し、残り20%の牛は4回以上の人工授精を実施していた。さらに、同じく道東地域で実施された別の人工授精記録(68,152回分、授精実頭数29,710頭、平均授精回数2.3回)についても、人工授精の授精回数別(1~16回)の受胎率(推定受胎率)を調べたところ、初回受胎率が40.9%、2回目が45.2%、3回目が46.2%、4回以降が44.9%で、初回受胎率がもっとも低かった⁸⁾(図5)。また、この調査結果から4回以上の人工授精を必要とした牛は約17%と推定された。

この二つの調査結果は、現在の乳牛経産牛の中で3回以上人工授精を実施しても受胎しない牛は、17~20%程度存在することを示している。この17~20%の牛は、生殖器等に異常が認められず発情周期が正常に繰り返されているにもかかわらず、人工授精を3回以上繰り返しても受胎しない牛、すなわち“リピートブリーダー”なのかどうかと言うと、少し疑問が残る。

なぜなら、今日の乳牛は次のような繁殖生理上の特徴があるためである。乳牛の分娩後の繁殖成績を

左右する最も重要な要因の一つが、分娩前後の栄養状態である。分娩まで理想的なボディコンディション(BCS)が維持され、分娩後は極端に低下せず負のエネルギーバランス状態に陥らないようにしなければならない。泌乳牛のエネルギーバランスは、分娩後1~2週間で最低値に達し¹¹⁾、その後6~10週間は負のエネルギーバランス状態にある。分娩後45日までBCSが低下し続けると初回授精日数が遅れ、空胎日数が延長する¹¹⁾。分娩前のBCSに比べて分娩後のBCS低下が0.5~1.0ポイントの牛は、1ポイント以上低下する牛に比べて初回授精時の受胎率が有意に高い²⁾。また、乳量の多い牛ほど分娩後のBCS低下割合は大きく初回排卵が遅れる⁹⁾。

著者らの研究室で日常的に調査している自動搾乳牛群(平均日乳量約40 kg)では、ボランティア ウェイティング ピリオド(VWP)を過ぎてもBCSが2.5以下の状態のときはほとんど受胎せず、2.75以上に回復すると受胎するようになる。さらに、この牛群では、分娩後のBCS回復の遅い個体は、初回排卵、初回発情、空胎日数が明らかに長く、発情が不明瞭

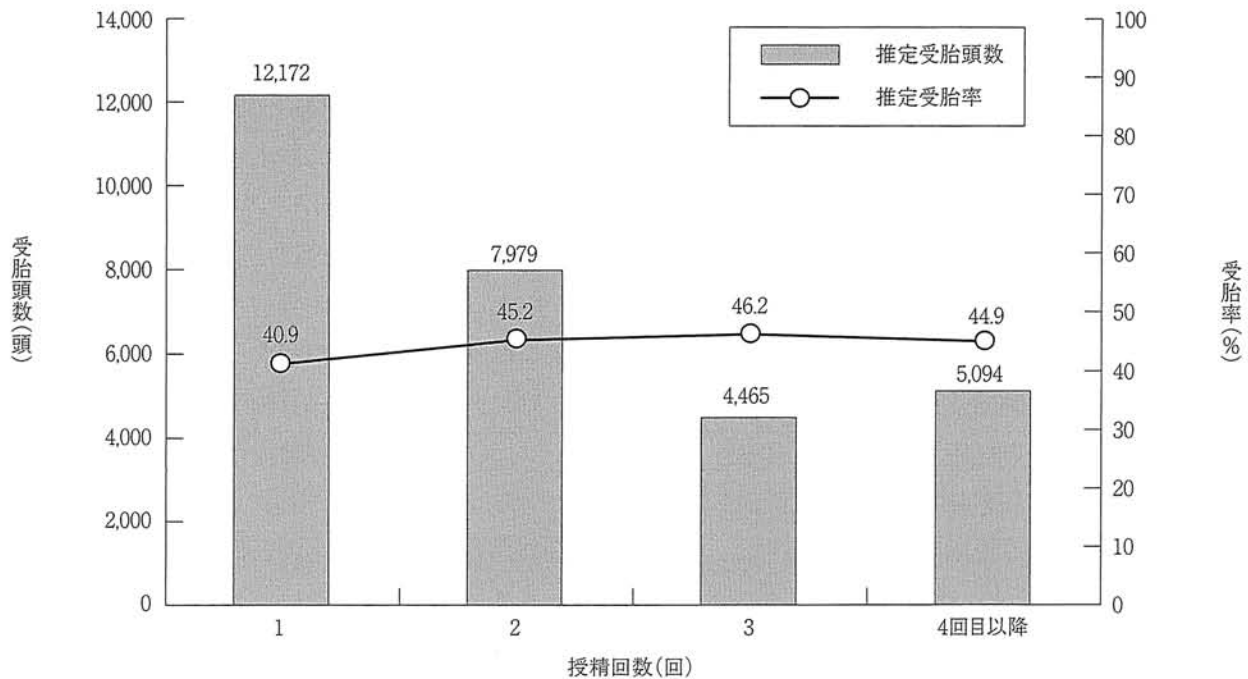


図5 授精回数別推定受胎頭数と推定受胎率

(西川ら, 2008)

で、膿様物が頸管粘液中や腔壁へ付着しているほか尿腔が認められる牛の割合が高い。これらの牛は空胎日数が長く、受胎に要する人工授精回数も多い。そのため、厳密には教科書に記載されているようなリピートブリーダーとは異なるが、多回授精を必要とする牛である。繁殖機能に何らかの異常のある牛は、受胎に要する人工授精回数が多くなるのが普通であり、逆に上述したホルスタイン種未経産牛群のような正常な牛群では、初回または2回目の授精で受胎する割合が高い。したがって、繁殖成績の良好な牛群の受胎に要する人工授精回数は平均2回以下(1.6~1.8回)になるのが一般的である。以前は乳牛経産牛でも初回受胎率がもっと高かったことや、肉用牛経産牛の初回受胎率は今でも高い値が維持されていることから、乳牛だけに明らかな受胎率低下がみられることは、乳牛に特異的な問題が発生していることを指しているのではないだろうか。

リピートブリーダーに対する胚移植

不受胎の原因はさまざまあるが、もし受精の失敗

に起因する不受胎であれば、胚移植を行うことにより受胎させることが可能である。受精失敗の原因には、不適期人工授精、卵子の異常、卵管の異状が考えられる。卵胞が正常に発育・排卵し機能的黄体を形成すれば、胚移植により受胎する可能性が高い。一方、子宮環境に問題のある牛では、いくら胚を移植しても受胎する可能性は低い。したがって、受精の失敗により不受胎のリピートブリーダーは胚移植によって受胎する可能性が高い。

近年、人工授精を何回繰り返しても受胎しない牛に胚移植を行い良好な結果が得られている^{7, 14, 15)}。著者ら^{4, 12)}も、人工授精を3回以上(~21回)実施しても受胎しなかった乳牛に対する胚移植試験を実施している。移植には、体外受精由来の凍結保存胚を用いた。体外受精胚の作出には黒毛和種の凍結精液を用いた。

リピートブリーダーへの胚移植は、発情後7~8日目に移植する方法(ETのみ)とあらかじめ人工授精を実施し、さらに人工授精後7~8日目に移植する方法(追い移植, AI+ET)の2法で実施した。産

表1 ホルスタイン種のリピートブリーダーに対する胚移植後の受胎率 (Dochi et al., 2008)

産暦	処置	移植頭数	受胎頭数	(%)
未経産牛	AI+ET	61	30	49.2 ^a
	ETのみ	61	18	29.5 ^b
経産牛	AI+ET	273	114	41.5 ^{ac}
	ETのみ	137	28	20.4 ^{bd}

^{ab} P < 0.05.

^{cd} P < 0.01.

子の由来は、毛色で判定した。すなわち、人工授精はホルスタイン種の凍結精液を用いたため産子の毛色は白黒斑になり、胚移植由来産子の毛色は黒になることから産子の由来を識別した。受胎率は、経産牛のETのみが20%、追い移植が42%、未経産牛のETのみが30%、追い移植が49%であった。未経産牛、経産牛ともに追い移植の受胎率が有意に高かった(表1)。また、胚移植に供するまでの人工授精の実施回数別(3~5回, 6~10回, 11回以上)に受胎率を調べた結果、ETのみでは差は認められなかった。しかし、追い移植の場合は、3~5回の受胎率が高く、11回以上の受胎率は、3~5回および6~10回に比べて有意に低かった(表2)。

産子の由来は、人工授精由来の産子が多い場合や、逆に胚由来産子が多い場合があり、一定しなかった。双子は合計で9組(8.3%)生まれ、三つ子が1組(1%)生まれた。この三つ子の産子は、人工授精由来2頭、胚移植由来1頭であった(表3)。

この試験では、人工授精を3回以上繰り返しても受胎しないリピートブリーダーに、胚移植を行うと受胎率が向上することが示された。また、リピートブリーダーへの追い移植による双子の発生率は低いことも示された。このようにリピートブリーダーへの胚移植は受胎率向上に有効であり、実用的な受胎率向上対策の一つであることが明らかになった。

著者らの一連の試験において、なぜ過去に何回も人工授精を行って受胎しなかった牛の20~50%が1回の胚移植で受胎するのか、その詳しい理由につい

ては明らかにできていない。少なくとも不適期授精、卵子の品質不良、卵管の閉塞などの原因による不受胎牛においては、胚移植は効果的であると考えられる。また、追い移植の受胎率は胚移植のみの場合より高かったが、その理由についても良く理解できていない。牛では、発情後15~18日に母体側の妊娠認識が起こるといわれている。その際に、妊娠維持に重要な役割を果たすのが胚から分泌されるインターフェロントウである。品質の不良な胚は、このインターフェロントウの分泌能力が低い可能性が指摘されている。もし、リピートブリーダーの原因の一つに胚の品質不良があるとすれば、人工授精後に胚移植することにより胚から分泌されるインターフェロントウの量を増やすことができ、妊娠維持に効果的に作用し結果的に受胎率が向上する可能性が考えられる。

リピートブリーダーへの胚移植における受胎率向上対策

リピートブリーダーの原因の一つに子宮環境の不良がある。受精が正常に起こっても、子宮環境が不良であれば胚は途中で死滅する可能性が高い。KATAGIRI (2006)⁵⁾は、胚の発育に重要な役割を果たす上皮細胞増殖因子(EGF)濃度の発情周期中の分泌パターンが、正常牛とリピートブリーダーで異なることを明らかにしている。正常牛のEGF濃度は、発情後3日目に上昇し、7日目に低下し、14日目に再度上昇するパターンがみられるが、リピートブリーダーでは発情後3日目と14日目の濃度が正常牛に比べて低いことを示している。彼はリピートブリーダーに対して、高単位のエストラジオール(安息香酸エストラジオール, 5mg)と腔内留置型プロジェステロン製剤(CIDR)を用いて発情誘起処置を行うと、62~78%の牛のEGFパターンが正常に戻り、これらの牛に人工授精を行ったところ高い受胎率が得られたことを報告している。

表2 人工授精 (AI) の実施回数がホルスタイン種のリピートブリーダーに対する胚移植後の受胎率に及ぼす影響

AI回数	AI+ET			ETのみ		
	移植頭数	受胎頭数	%	移植頭数	受胎頭数	%
3-5	80	44	55.0 ^{ac}	93	15	16.1
6-10	212	88	41.5 ^b	88	27	30.7
>10	42	12	28.6 ^{bd}	16	4	25.0

^{ab} P < 0.05

^{cd} P < 0.01

(DOCHIら、2008)

表3 ホルスタイン種のリピートブリーダーに対する体外受精由来凍結胚移植における産子成績

バッチ	子牛頭数	産子の由来			
		AI	ET	AI+ET (双子)	AI+AI+ET (三つ子)
A	34	11 (32.4) ^a	19 (55.9) ^a	3 (8.8)	1 (2.9)
B	74	60 (81.1) ^b	8 (10.8) ^b	6 (8.1)	

^{ab} P < 0.01

人工授精はホルスタイン種の凍結精液を用いて行い、胚移植には黒毛和種の凍結精液を使用して作出した胚を用いた。産子の由来は毛色により判定した (人工授精由来の産子はホルスタイン種で毛色は白黒斑、胚移植由来の産子は交雑種で毛色は黒毛)。

(DOCHIら、2008)

この報告は、リピートブリーダーへの高濃度のエストラジオールとCIDRによる処置が受胎率向上に効果のあることを示しており、発情同期化処置を兼ねてこの処置を実施し胚移植を行うと、受胎率が向上すると期待される。

発情・排卵同期化処理による定時胚移植

リピートブリーダーの原因として、不十分な発情観察、不明瞭な発情徴候が挙げられる。このような場合は、ホルモン剤投与による発情・排卵誘起による定時胚移植も選択肢の一つである。

最近、腔内留置型プロジェステロン (CIDR)、エストラジオール、GnRH等を用いた多くの発情・排卵同期化処置法が報告されている。最近の発情・排卵同期化法は、発情観察を行わず定時に人工授精や胚移植を行っても良好な受胎率が得られることが報告されている。発情・排卵同期化処置による胚移植プログラムもリピートブリーダーの受胎率向上対策

に利用できる一つの考え方である。

おわりに

リピートブリーダーの受胎率向上対策としての胚移植の利用は、最近注目を集め、その期待も高まっている。しかし、胚移植がリピートブリーダーの根本的な解決策ではないことは言うまでもない。今日の乳牛の繁殖成績低下問題を解決するためには、飼養管理や人工授精の技術を含めた繁殖管理全般にわたって見直す必要がある。また、リピートブリーダーへの胚移植は、リピートブリーダーの原因追及の研究手法としても有効であると思われることから、広範なデータの蓄積が大切である。

参考文献

- 1) BUTLER WR : J Dairy Sci, 81, 2533-2539 (1998 Review)
- 2) BUTLER WR, SMITH RD : J Dairy Sci, 72, 767-783 (1989)

- 3) COOK J : Understanding conception rates in dairy herds, In Practice 31, 262-266 (2009)
- 4) DOCHI O, TAKAHASHI K, HIRAI T, HAYAKAWA H, TANISAWA M, YAMAMOTO Y, KOYAMA H : Theriogenology 69, 124-128 (2008)
- 5) KATAGIRI S : J Reprod Dev 52 (Suppl), S133-137 (2006)
- 6) LUCY MC : J Dairy Sci, 84, 1277-1293 (2001)
- 7) 三津橋吾郎, 佐藤健也, 赤井 優, 津田輝幸, 矢藤伸也, 伊藤正史, 神崎秀夫, 川添 綾, 高橋健一, 松崎重範 : リピートブリーダー牛への胚移植試験, その後の経過, 繁殖技術, 23, 25-26 (2003)
- 8) 西川昭弘, 佐々木 圭, 高橋健一, 小山久一, 堂地 修 : 乳牛経産牛の人工授精実施回数と受胎率の関係, 繁殖技術, 28, 39-40 (2008)
- 9) 坂口 実, 笹本良彦, 鈴木貴博, 高橋芳幸, 山田 豊 : 産次, 分娩季節, 乳量およびボディーコンディションスコア低下が分娩後乳牛の繁殖性に与える影響, 北畜会報, 45, 33-40 (2003)
- 10) SILVIA WJ : J Dairy Sci, 81, (Supple 1), 244 (abstr) (1998)
- 11) STEVENSON JS : J Dairy Sci, 84, E128-E143 (2001)
- 12) TAKAHASHI K, HIRAI T, HAYAKAWA H, DOCHI O, KOYAMA H : J Reprod, Dev 52 (Suppl), S139-S145 (2006)
- 13) 谷澤 誠, 佐々木 圭, 西川昭弘, 小山久一, 堂地 修 : 繁殖技術, 28, 37-38 (2008)
- 14) 戸丸瑞穂, 武田英理子, 御園雅昭, 登丸亨介, 森好政晴, 中田 健, 澤向 豊 : 北海道牛受精卵移植研究会報, 26, 21-24 (2007)
- 15) 浦川真実, 出田篤司, 齋藤暁子, 酒井久美子, 岩佐昇司, 酒井伸一, 青柳敬人 : 北海道牛受精卵移植研究会報, 24, 28-31 (2005)
- 16) WASHBURN SP, SILVIA WJ, BROWN CH, MCDANIEL BT, MCALLISTER AJ : J Dairy Sci, 85, 244-251 (2002)
- 17) 山口誠司, 小山久一, 高橋 茂, 堂地 修 : 北海道牛受精卵移植研究会報, 29, 14-19 (2010)