

獣医師生涯研修事業のページ

このページは、Q & A形式による学習コーナーで、小動物編、産業動物編、公衆衛生編のうち1編を毎月掲載しています。なお、本ページの企画に関するご意見やご希望等がありましたら、本会「獣医師生涯研修事業運営委員会」事務局（TEL：03-3475-1601）までご連絡ください。

Q & A 産業動物編

ある診療所での過剰排卵処置、採卵並びに胚移植の作業手順〔参考文献1〕を簡単に示している。

過剰排卵処置法として、黒毛和種の供胚牛に対して、①発情後9～12日に卵胞刺激ホルモン（FSH）24AUを漸減して筋肉内注射し、FSH投与開始から48時間後にPGF_{2α}類縁体製剤であるCloprostenol 0.5mgを筋肉内注射した。AIは発情日もしくは発情翌日に実施した。②発情後7日に非外科手術的子宮還流法によって胚を採取した。国際胚移植学会（IETS）マニュアル第3版の胚品質評価に基づき、③胚の発育ステージでは桑実胚から脱出（孵化）胚盤胞の胚、並びに④品質コードではコード1（ExcellentまたはGood）もしくはコード2（Fair）の胚を胚移植に供した。

胚の凍結保存法として、⑤胚の凍結保存液は、1.5M エチレングリコールに0.1M シュークロースを添加した20%子牛血清添加m-PBSとした。凍結方法としてプログラム・フリーザーを用い、⑥植氷温度は-7℃、-0.3℃/分の速度で-30℃まで緩慢冷却後、液体窒素中に投入して凍結を完了した。

胚移植の受胚牛はホルスタイン種未経産牛で、スタンディング発情（day0）を示した牛の中で移植日（day7±1）の直腸検査で卵巣に12mm以上の充実した黄体が確認された牛とした。胚移植は移植器具を用い、⑦新鮮胚もしくは凍結胚を黄体側子宮角分岐部に1胚移植した。

質問1：下線部①～⑦の作業内容で誤りがあるものをすべて選択し、番号で答えよ。

質問2：図1は採卵で採取された胚の写真の1例である。

下表と図1をみて、A～Eの胚の発育ステージコードと品質コードの組合せで誤りがあるものをA～Eの中から1つ選択せよ。ちなみに、胚の品質コードは、1：Excellent または Good, 2：Fair, 3：Poor, 4：DeadまたはDegeneratingである。

	発育ステージコード	品質コード
A	4（桑実胚）	2
B	5（初期胚盤胞）	1
C	4（桑実胚）	1
D	6（胚盤胞）	1
E	3（初期桑実胚）	2

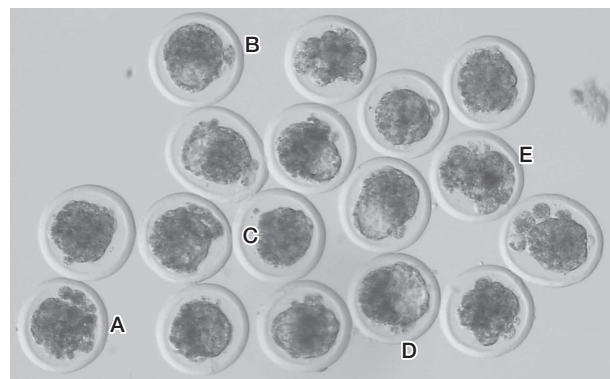


図1 採取された胚の写真

（解答と解説は本誌489頁参照）

解 答 と 解 説

質問1に対する解答と解説：

正解：③，⑦

③：胚の発育ステージにおいて、脱出（孵化）胚盤胞の記述は間違いである。商業ベースで透明帯から脱出した胚を移植することは、IETSの基準によると推奨されていない。胚の洗浄は完全な透明帯を保ち、透明帯に付着物がない胚のみ効果的な洗浄が可能である。発育ステージにかかわらず透明帯のない胚、透明帯に亀裂や欠損がある胚、透明帯の付着物が完全に除去できない胚は胚移植することは推奨されないし、国際的商取引は不可能である。これは、胚移植によって伝播される危険性のある伝染性疾病は、感染源が胚の細胞質中に存在する場合、胚の洗浄によって感染源を除去することはできないためである。

⑦：胚を黄体側子宮角分岐部には移植しない。通常、頸管経由法により黄体側の子宮角浅部（子宮角

分岐部より2～4cm）～子宮角深部（子宮角分岐部より10～15cm）に移植する。最近、柔らかいチューブで子宮角深部に注入できる移植器具も市販されており、子宮粘膜の損傷を招くことなく、深部に移植することが容易になっている（図2）。

なお、担当獣医師や診療所により手技手法は異なると思われるが、①、②、④、⑤、⑥の記述に問題はない。

質問2に対する解答と解説：

正解：E

E胚の発育ステージコードは4（桑実胚）、品質コードは3（Poor）に該当する。形態的に初期桑実胚ではない。E胚の中心部は正常な細胞が認められるものの、その辺縁部には、遊離した変性細胞が半分以上占めている。また、E胚は細胞の大きさや色調などに異常がみられ、25～50%程度の細胞が正

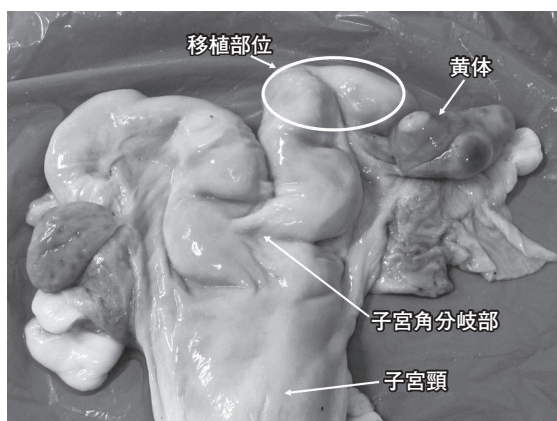


図2 胚の移植部位（黄体側の子宮角浅部～深部）

常と考えられるため、品質コードは3となる。商業ベースで活用されることはないが、まったく受胎しないというわけではない。

胚の発育ステージコードは図3に示すとおりである。コード1：1細胞，コード2：2～16細胞，コード3：初期桑実胚，コード4：桑実胚，コード5：初期胚盤胞，コード6：胚盤胞，コード7：拡張胚盤胞，コード8：脱出（孵化）胚盤胞，コード9：拡張脱出（孵化）胚盤胞である。

胚の品質コードは，コード1（ExcellentまたはGood）は，個々の細胞の大きさ，色及び集合性が一様であり，対称的で均整のとれた球形をなしている。発育ステージと矛盾がなく，変性細胞は少なく，85%以上の細胞は正常である。また，透明帯は明瞭で，凸凹やフラットな面が存在しない。コード2（Fair）は，胚の細胞，大きさ，色，集合性，全体の形状に問題はなく，50%以上の細胞が正常である。コード3（Poor）は，細胞の輪郭や大きさ，色と個々の細胞に異常が多く，25%以上の細胞が正常である。コード4（DeadまたはDegenerating）は，変性した胚，卵子または1細胞期胚で，生存性は認められない。

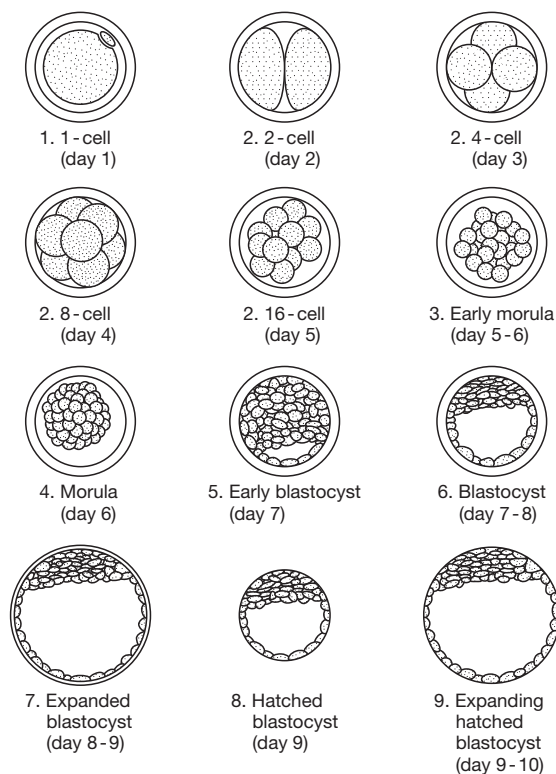


図3 牛胚における発育ステージのコード

（出典：The Manual of the International Embryo Transfer Society）[参考文献2]

参考文献

- [1] Takahashi M, Tsuchiya H, Hamano S, Inaba T, Kawate N, Tamada H: Improvement of superovulatory response and pregnancy rate after transfer of embryos recovered from Japanese Black cows fed rumen bypass polyunsaturated fatty acids, J Vet Med Sci, 75, 1485-1490 (2013)
- [2] Stringfellow DA and Seidel SM: The Manual of the International Embryo Transfer Society: A Procedural Guide and General Information for the Use of Embryo Transfer Technology, Emphasizing Sanitary Procedures, 3rd ed., International Embryo Transfer Society, Champaign (1998)

キーワード：牛，過剰排卵処置，採卵，胚移植，胚品質

※次号は，小動物編の予定です