

疾病流行への対策として養豚産業で役立つ豚胚移植技術

平山 祐理

(独立行政法人 家畜改良センター 企画調整部 管理課)

〒961-8511 福島県西白河郡西郷村大字小田倉字小田倉原1)

Hirayama, Y. (2022): Effectiveness of pig embryo transfer technology to protect against infectious diseases in the swine industry

All about SWINE 60, 11-16

はじめに

近年、世の中のグローバル化に伴い、疾病の侵入経路が予測不可能となっている。このため、日本だけでなく世界中の養豚農場が疾病侵入の危機に脅かされているといっても過言ではない。我が国では、26年ぶりに豚熱が発生し、いまだ収束する気配が見えない。疾病の伝搬は豚の移動によるリスクが大きいことから、国内の種豚流通が停滞している。これはすなわち種豚改良が停滞することであり、その結果は農家の収入減少につながる。また、現時点で豚熱が発生した農場の豚は全頭殺処分が原則であり、一度病気が侵入してしまうと貴重・希少な種豚遺伝資源が永遠に失われてしまう危険がある。こういったリスクに対する備えとして、受精卵（以下、「胚」と表記）を超低温保存しておくことや、胚移植を用いた種豚導入の有効性や重要性が再認識されている。このように豚における胚移植は疾病対策を主な目的としており、効率的な産子生産や育種改良が主な目的である牛の胚移植とは、その点において大きく異なる。

(独)家畜改良センターでは、これまでに豚胚の

超低温（以下、「ガラス化」と表記）保存法や、これを用いた胚移植関連技術を開発し、実用化してきた。今回は、これらの技術を中心に、養豚産業に役立てる実用的な胚移植技術について述べる。

Micro Volume Air Cooling (MVAC) 法による豚胚のガラス化

豚胚は、牛胚で実用化されている緩慢凍結法では生存性が著しく低いことが知られている。しかし近年、色々なガラス化法が開発され、これらの方法でガラス化された豚胚から子豚が生産されるようになった^{(1) (2) (3) (4)}。しかし、多くのガラス化法は、液体窒素に直接胚を接触して冷却する方法であった。液体窒素は、その保存容器が洗浄されないまま何年も使用されているケースが多いことから分かるように病原性微生物で汚染されている可能性がある。したがって、より衛生的にガラス化するためには、胚を含んだガラス化液が液体窒素に直接触れない方法が望ましい。(独)家畜改良センターが開発したMVAC法は、胚が先端に乗ったガラス化デバイスを、あらかじめ液体窒

素の中で冷却したストローに差し込み、ストローの中の空気で胚をガラス化する方法である⁽⁵⁾ (図1)。この方法は、次に述べる3つの観点から実用性において優れている。①汚染の可能性のある液体窒素に胚が直接触れない、②1頭の供胚豚からの1回採取分に当たる15個前後の胚を1本のデバイスでガラス化できるため個体管理が容易、③その15個前後の胚を移植して子豚を生産可能。養豚産業での利用を考慮した実用面において、これらの特徴を兼ね備えることは、他のガラス化法にはない大きなメリットである。このガラス化法は国内複数の研究機関において研究や実証に使用されており^{(6) (7) (8)}、またこの方法でガラス化した胚を遠隔地に宅配便で輸送し、外科移植することで疾病伝播リスクの少ない種豚導入が実証されている^{(9) (10)}。これについては、次項で詳しく述べる。

ガラス化胚移植を用いた SPF 育種農場への種豚導入

胚移植は、衛生レベルの異なる農場間での種豚流通を可能にする。例えば SPF 豚農場認定規則

では、異なる生産ピラミッド間および生産ピラミッド下位から上位の農場への豚(生体)移動は原則禁止されているが、胚移植を用いることによって帝王切開法等によるプライマリー豚作出過程と同等であるとみなされる。SPF 育種農場で飼養している豚を受胚豚として胚を移植し、その胚由来産子を得ることにより種豚導入を成す方法は、プライマリー作出過程で必要となる人工哺育が不要であるという利点がある。さらに、帝王切開法によるプライマリー豚作出には9名程度の作業者が同時に作業する必要があるのに対し、ガラス化胚移植を用いた種豚導入では胚採取時と移植時それぞれ3名で済む。ブタ胚のガラス化技術が確立されていなかった過去は、胚採取と移植を同日に実施しなければならないという制約があった。しかし技術が確立された現在は、あらかじめガラス化胚を作成・保存しておき、その後業務の都合に合わせてまとめて移植することが可能となり、産子生産がより計画的かつ効率的となっている。このことは胚移植の実用性を大きく向上させた。

(独)家畜改良センターでは、ガラス化胚移植

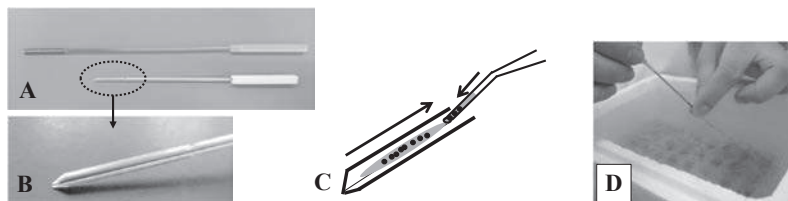


図1. Micro Volume Air Cooling (MVAC) 法⁽⁵⁾による胚のガラス化

A: 上のストローが胚保存用、下のストローは胚を乗せるガラス化器具を収納している

B: ガラス化器具の先端

C: 胚を含む極少量のガラス化液を胚スティックの先端のスリットまで薄くのばす

D: あらかじめ冷却したストローにガラス化器具を差し込むことでガラス化する

Misumi et al. (2013), J Reprod Dev. 2013 59: 520-524., 2020 および平山, 山口大学大学院連合獣医学研究科, 2021⁽¹⁶⁾を改変

による種豚導入を通常業務として実施している。手順は次に述べるとおりである。①福島県の家畜改良センター本所へ優良種豚を導入し、これらの豚から採胚してMVAC法によりガラス化する。②ガラス化した胚を育種牧場へ宅配便で輸送する。③輸送胚を育種牧場で外科移植し、産子を得る。この一連の方法により、移植した豚の分娩率76.9%および子豚生産率（胚由来産子数/全移植胚数）33.3%を達成した⁽¹⁰⁾。一般的なガラス化胚移植（外科）の場合、1頭の受胚豚に20～35個程度の胚を移植して約70～80%の分娩率と20%程度の子豚生産率が示されている⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾。しかし、三角ら⁽¹⁰⁾による報告では、11～18個という少数の胚で30%を超える優れた子豚生産率を達成した点で画期的である。

ガラス化胚を用いた非外科移植

豚の子宮は牛等に比較すると長くかつ湾曲しており、移植カテーテルを子宮の奥まで挿入することが困難である。このような動物種特有の特徴から、豚の胚移植は主に外科的に行われてきた。しかし近年、豚の子宮深部に非外科的に胚を移植可能な器具が開発され、新鮮胚による移植で高い分娩率が報告されて以来⁽¹¹⁾、豚の非外科移植は子宮深部への移植がスタンダードとなった。しかしこの方法は1mを超える長いインジェクターを子宮内に挿入する必要があることから移植には術者の技術の熟練を要する上、子宮を傷つける可能性があった。一方、(独)家畜改良センターは、牛胚の非外科移植に使われるステンレス製の市販カテーテルを改良した器具を用い、豚ガラス化胚を移植して60%の分娩率と17.9%の子豚生産率を

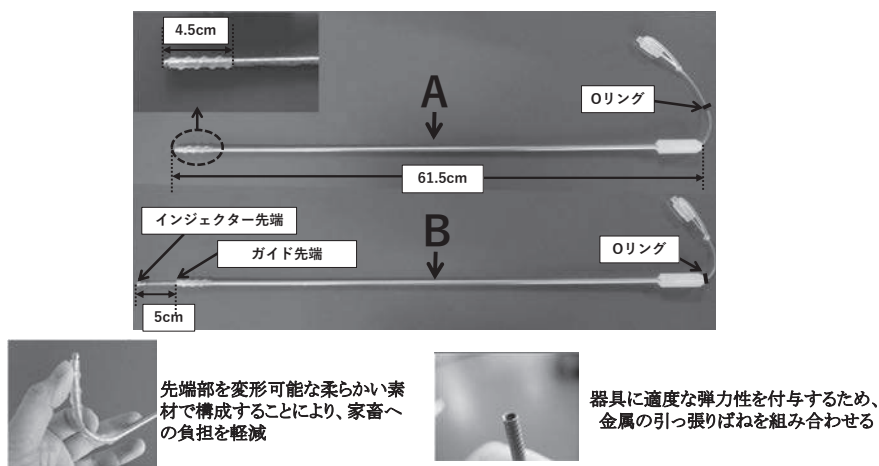


図 2. 開発した子宮浅部移植用非外科移植器具⁽¹³⁾

移植器具は適度な弾力があり、外側のガイドカテーテルと、その内側に組み込まれた柔らかいインジェクターで構成されている。ガイドの長さは61.5 cm、コイル状の先端の外径は8 mm、インジェクターの外径は2 mm、内径は1.2 mmである。図中の「A」は子宮頸管へ挿入時の移植器具の状態、「B」は胚移植時の移植器具の状態を示した。胚移植時には、インジェクターが外側のカテーテルの先端から子宮内に5 cm突出する。突出長は、持ち手側のインジェクターに取り付けられたOリングの位置まで挿入することにより5 cmに制限されている。

平山、(2021) 山口大学大学院連合獣医学研究科⁽¹⁶⁾、を改変

得た⁽¹²⁾。この時に移植した子宮内部位は深部ではなく、挿入が簡易な浅部だった。この結果は、子宮浅部への豚ガラス化胚移植における世界初の成功例であり、必ずしも子宮深部へ胚を移植しなくてもよいことを示した点で画期的であった。しかし、ステンレス製の移植器具は柔軟性がないことから挿入しにくい上、移植時に生殖器官を傷つける恐れがあった。そこで、適度な柔軟性を持つつつ細くて挿入しやすい子宮浅部移植用器具を、(独)家畜改良センター、ミサワ医科工業(株)および佐賀県畜産試験場が共同で開発した⁽¹³⁾(図2)。この移植器具は、胚移植の経験がなくても平均5分以内の挿入作業が可能で、さらに器具の外径が小さいため頸管の細い未經産豚への移植も可能である。移植器具は現在、市販されている(紅3号:ミサワ医科工業(株))。

生産現場で実施可能なブタガラス化胚の加温法

これまで述べてきたように、豚ガラス化胚移植は養豚農家での利用に向けた実用化に大きく近づいた。しかし豚ガラス化胚を移植する際は、実験室内の顕微鏡下で胚を加温する必要があることが、実用化を阻む大きな障壁であった。そこで(独)家畜改良センターは、誰でも簡単にガラス化胚の加温が可能なシリンジ内加温・希釈法を開発した⁽¹⁴⁾(図3)。この方法は、3mlの加温液を充填したシリンジに、MVAC法でガラス化した胚が乗ったデバイスを差し込むのみで胚の加温が完了する。実験室や顕微鏡、および胚操作技術などが不要なため、豚舎の中、つまり受胎豚の傍で簡単に胚の加温が可能である。前項で述べた非外科移植と組み合わせることによって、一般的な生産現場で胚移植を利用する準備が整った。

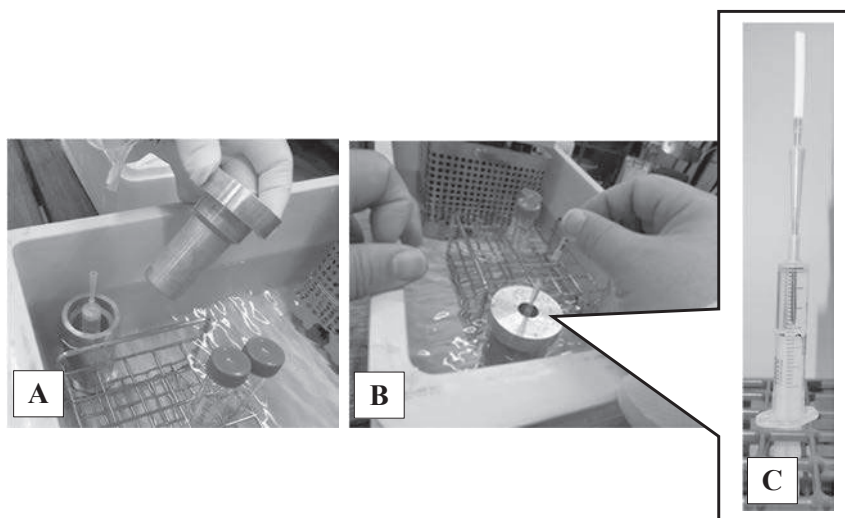


図3. 新たなガラス化胚のシリンジ内加温・希釈法⁽¹⁴⁾

- A: 保温した加温・希釈液が入ったシリンジ
 B: シリンジの筒先に接続したマイクロピペット用チップをガイドとしてガラス化デバイスを挿入して胚を加温・希釈
 C: ガラス化器具がシリンジに差し込まれた状態のイメージ写真
 瀧下ら, (2020) 日本養豚学会誌; 57(4): 138-146. を改変

生産農家でのガラス化胚移植実証

これまでの技術開発の集大成として、上述の3つの技術、すなわちMVAC法による豚胚のガラス化、子宮浅部非外科移植器具およびガラス化胚のシリンジ内加温・希釈法を組み合わせた養豚農家での実証が、愛知県および佐賀県で実施された。この結果、移植を実施した4件の農場すべてにおいて産子を得ることに成功した⁽¹⁵⁾。このことから、これらの胚移植技術体系が生産現場である養豚農家において適用可能であり、疾病伝播リスクの少ない種豚導入が実現できることが明らかとなった。さらに、あらかじめ人工授精を行った受胎豚に移植を行う追い移植法を用いることで、ガラス化胚の受胎率が向上することが明らかになった^{(8) (15)}。

おわりに

これまでに解説した豚における胚移植関連技術は、伝染性疾病による優良種豚群の消失といった有事に備えた遺伝資源の保存と復活、および疾病伝播リスクの少ない種豚導入を実現するため、先端技術を養豚産業における実用技術とすることを目的としたものであり、この目的はほぼ達成されたと考える。今後は、冬季の豚舎内といった条件の厳しい環境下でも実施可能な移植時の保温方法や、より高い分娩率・子豚生産率が得られる方法の開発など、農家で利用しやすい胚移植関連技術を発展させることで、疾病伝播のリスクや遺伝資源の消失に対して更なる強力な防衛手段となることが期待できる。

本稿で述べた研究の一部は農研機構生研支援センター「革新的技術開発・緊急展開事業（うち地域プロジェクト）」の支援を受けて行った。

引用文献

- 1) Berthelot, F., Martinat-Botte, F., Locatelli, A., Perreau, C., & Terqui, M. (2000), Piglets born after vitrification of embryos using the open pulled straw method. *Cryobiology*, 41: 116-124. [https://doi: 10.1006/cryo.2000.2273](https://doi.org/10.1006/cryo.2000.2273)
- 2) Cameron, R. D. A., Beebe, L. F. S., Blackshaw, A. W., & Keates, H. L. (2004), Farrowing rates and litter size following transfer of vitrified porcine embryos into a commercial swine herd. *Theriogenology*, 61: 1533-1543. [https://doi: 10.1016/j.theriogenology.2003.09.003](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.09.003)
- 3) Beebe, L. F. S., Cameron, R. D. A., Blackshaw, A. W., & Keates, H. L. (2005), Changes to porcine blastocyst vitrification methods and improved litter size after transfer. *Theriogenology*, 64: 879-890. [https://doi:10.1016/j.theriogenology.2004.12.014](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.12.014)
- 4) Fujino, Y., Kojima, T., Nakamura, Y., Kobayashi, H., Kikuchi, K., & Funahashi, H. (2008), Metal mesh vitrification (MMV) method for cryopreservation of porcine embryos. *Theriogenology*, 70: 809-817. [https://doi:10.1016/j.theriogenology.2008.05.045](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.045)
- 5) Misumi, K., Hirayama, Y., Egawa, S., Yamashita, S., Hoshi, H., & Imai, K. (2013), Successful production of piglets derived from expanded blastocysts vitrified using a micro volume air cooling method without direct exposure to liquid nitrogen. *The Journal of Reproduction and Development*, 59: 520-524. <https://doi.org/10.1262/jrd.2013-045>
- 6) Sakagami, N., Nishida, K., Misumi, K.,

- Hirayama, Y., Yamashita, S., Hoshi, H., Misawa, H., Akiyama, K., Suzuki, C., & Yoshioka, K. (2013), The relationship between oxygen consumption rate and viability of in vivo-derived pig embryos vitrified by the micro volume air cooling method. *Anim Reprod Sci*, 164: 40-6. [https://doi: 10.1016/j.anireprosci.2015.11.008](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.11.008)
- 7) 大曲秀明, 三角浩司, 宮下美保, 永瀨成樹, 山下祥子, 星 宏良, 平山祐理, 吉岡耕治 (2019), 養豚農場での活用を想定した非外科的胚移植技術の検討. *日本獣医師会雑誌*, 72: 285-290.
- 8) Tajima, S., Uchikura, K., Kurita, T., & Kikuchi, K. (2020b), Insemination of recipient sows improves the survival to term of vitrified and warmed porcine expanded blastocysts transferred non-surgically. *Anim Sci J*, 91: e13476. <https://doi.org/10.1111/asj.13476>
- 9) 大曲秀明, 三角浩司, 宮下美保, 永瀨成樹, 御澤弘靖, 山下祥子, 星 宏良, 平山祐理, 吉岡耕治 (2015), 種豚から個体ごとに採取した胚盤胞期および拡張胚盤胞期ガラス化保存胚の胚移植による子豚生産効率. *日本養豚学会誌*, 52: 1-7.
- 10) 三角浩司, 清水裕文, 井ノ口政明, 江川紗智子, 瀧下梨英, 平山祐理, 古川義仁 (2016), プタガラス化保存胚を用いた育種素材豚導入について. *日本養豚学会誌*, 53: 167.
- 11) Martinez, E. A., Caamano, J. N., Gil, M. A., Rieke, A., McCauley, T. C., Cantley, T. C., Vazquez, J. M., Roca, J., Vazquez, J. L., Didion, B. A., Murphy, C. N., Prather, R. S., & Day, B. N. (2004), Successful nonsurgical deep uterine embryo transfer in pigs. *Theriogenology*, 61: 137-146. [https://doi: 10.1016/s0093-691x\(03\)00190-0](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(03)00190-0)
- 12) 三角浩司, 江川紗智子, 御澤弘靖, 平山祐理 (2020), プタガラス化保存胚盤胞を用いた非外科的移植方法の改善. *日本養豚学会誌*, 57(4): 129-137.
- 13) Hirayama, Y., Takishita, R., Misawa, H., Kikuchi, K., Misumi, K., Egawa, S., & Hashiyada, Y. (2020), Non-surgical transfer of vitrified porcine embryos using a catheter designed for a proximal site of the uterus. *Animal Science Journal*, 91: e13457. <https://doi.org/10.1111/asj.13457>
- 14) 瀧下梨英, 平山祐理, 橋谷田豊 (2020), プタガラス化胚のシリンジ内加温・希釈における加温・希釈液の温度および量の検討. *日本養豚学会誌*, 57(4): 138-146.
- 15) Tajima, S., Motoyama, S., Wakiya, Y., Uchikura, K., Misawa, H., Takishita, R., Hirayama, Y., & Kikuchi, K. (2020c), Piglet production by non-surgical transfer of vitrified embryos, transported to commercial swine farms and warmed on site. *Anim Sci J*, 91: e13476. <https://doi.org/10.1111/asj.13476>
- 16) 平山祐理 (2021), プタ胚採取のための効率的な排卵同期化および非外科的移植の研究. 山口大学大学院連合獣医学研究科博士論文