

図7. HCMV症例とVZV分離株の制限酵素 Pst I による切断パターンの比較

法によるHCMVの感染様式の解析に関する報告は数多くある。同一患者から長期間にわたり経時的に分離したウイルスが互いに異なっていることから、HCMVにおいても再感染が起り得ることが指摘されている。また伝播形式の解析では、先天性サイトメガロ症が母親の持つ潜在ウイルスの再活性に伴い、垂直感染によって胎児へ感染して起り得ることも、本法により証明されている。本ウイルスの伝播形式で最近特に問題とされるのは、骨髄移植や血友病などの輸血に関係した経路である。このような、感染源の追求に関しては、本法は有効なものと考える。

おわりに

ヘルペスウイルスは、最も古くから研究されてきているにもかかわらずまだ不明な点が多く、しかも常に新たな問題を提起し続けているウイルスでもある。最近になり、生物物理化学的あるいは分子生物学的技術が大きく進歩して

きている。これにウイルス感染病理の進歩も加わり、その発病病理の解明に今後の発展が期待される。

おわりにあたり、この機会をあたえて下さった豚病研究会、藤崎優次郎会長はじめ幹事の諸先生方、座長をしていただいた山岸郭郎博士に感謝致します。

文 献

- 1) Hondo, R.: A seroepidemiological study of herpes simplex virus. *Japan. J. Med. Sci. Biol.*, **27**: 205-213, 1974.
- 2) 青山友三: ヘルペス群ウイルスによる感染症の病理学的研究. *日病会誌*; **70**: 3-22, 1981.
- 3) 本藤 良, 他: ヘルペスウイルス感染症の検査法. *産婦人科の世界*, **34**: 663-669, 1982.
- 4) Hondo, R., et al: Enzymatic treatment of formalin-fixed and paraffin-embedded specimens for detection of antigen of herpes simplex, varicella-zoster and human cytomegaloviruses. *Japan. J. Exp. Med.*, **52**: 17-25, 1982.
- 5) 本藤 良, 他: ヘルペスウイルスの分子疫学. *感染症*, **15**: 64-68, 1985.

豚の受精卵移植について

井 上 忠 恕

(農林水産省家畜衛生試験場)

豚の受精卵(胚)移植(以下ETと略す)についてKvansnickii (1951)が最初の成功例を発表している。しかし牛における実用化は1970年代に入り急速に進められたのに比べ、豚のETはあまり進められなかった。ところが最近豚のETに関する報告が見られるようになった。

豚は多胎で、妊娠期間は114日と短く、年2回以上の妊娠、分娩も可能であることから、1回の処置で一度に多数の産子を得るといった牛のようなETの利用価値には余り必要性は認められてこなかった。ところが種豚業界を中心に、この豚のETについて強い関心が寄せられるようになった。特に新しい血液導入を容易にし、豚の感染症を持ち込む危険性を防止できる可能

性が検討されはじめた。原々種豚農場などにおけるSPF豚作出への利用法が考えられている。

1. 供卵豚 (Donor) の準備

供卵豚は当然高能力の優秀豚が選ばれるが、健康でしかも繁殖障害のない性周期の規則正しい豚を選ぶ。例え優秀豚であっても、性周期が不規則あるいは不明瞭な豚を選ぶと良い結果は期待できないことが多いので、特別な目的以外は供卵豚にしない。

豚はもともと多胎動物で自然排卵でも10数個得られる。そしてホルモン剤の影響を受けることなく繰り返し受精卵の回収が可能である。

過剰排卵させるには、自然の発情周期を利用して発情15～16日目にPMSG500～2000 IU投与し、さらに20日目にhCGを投与する方法がある。牛の過剰排卵ではPMSGとPGF2αの併用が専ら使われているが、豚では余り有効な成績は得られていない。

2. 開腹手法

豚のETにおいては、受精卵 (胚) の回収および移植では外科開腹手術で行われるのが一般的である。豚の各臓器の大きさや生殖器の解剖学的構造、特に子宮頸管の複雑な構造や、長い子宮のために非外科的回収および移植が難しい。非外科的回収方法についてAllenhofら (1982) の試みがあるが実用的段階に達していない。

豚は無保定あるいは局所麻酔のみでは手術が困難であり、全身麻酔下で準備から手術完了まで行われる。初めに硫酸アトロピン投与後、アザペロンで鎮静し、さらに塩酸ケタミンを投与して手術室あるいは手術台に移動するまでの麻酔とする。この間に手術豚の洗浄消毒および保定をする。手術中は吸入麻酔器を用いてハロタン、笑気および酸素の混合でマスクあるいは気管チューブで麻酔を維持する。

手術室は外部からの汚染防止および保温に十分に配慮しなければならない。林ら (1985) は手術環境による受胎率の差を調べ、手術室の保温と浄化の程度が関連していると報告している (表1)。

表1. 手術環境による受胎率

手術室環境	平均落下細菌数 [※]	移植数	受胎数 (%)
A. 温度調節無	92.2	14	2 (14.3)
B. 温度調節有	12.8	21	4 (19.0)
C. 温度調節 + 殺菌燈	4.2	16	10 (62.0)

※9 cm シャーレ5枚にて普通寒天培地10分間暴露24時間培養
1シャーレ当りの平均落下細菌数 林哲ら (1985)

卵回収および移植時の手術の巧拙により泌尿生殖器、腸管などとの種々の程度の癒着が起き次回の手術時の障害になることがある。癒着防止策として①不必要に泌尿生殖器、腸管を器具や術者の手で圧迫、接触しないこと②綿花、ガーゼ、手術用手袋の粘滑剤などが腹腔内にわずかでも入らないようにすること、③出血は最小限に押え、血液が他に付着しないようにすることなどである。癒着防止剤 (ヘパリン、コンドロイチン硫酸など) を腹腔内に投与することも推奨される。これらの方法により林ら (1985) は

4～5回の反復手術が可能であるとしている。

3. 受精卵 (胚) の回収方法

正中切開で開腹し、卵巢付近から子宮角先端付近まで体外に露出する。フォレイカテーテル (風船付尿導カテーテル) を子宮角基部に挿入して風船部分で液の漏出を止めるようにする。初めにカニューレを用いて卵管采側から卵管を灌流し、次にフォレイカテーテルで子宮角内を灌流する (図1)。灌流液は生理食塩水TCM-199, リン酸緩衝液 (PBS), Ham's F-10

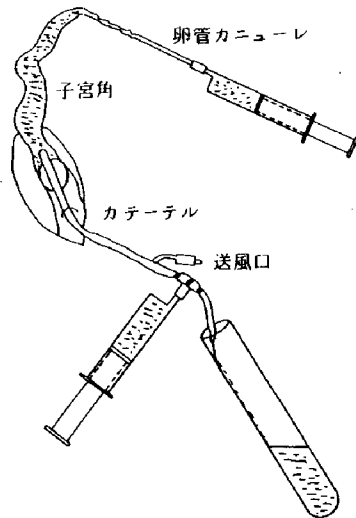


図1. 卵管子宮同時還流法

Brinster液あるいはEagleMEMなどの合成培地に必要に応じ血清あるいは血清アルブミンを添加して使用される。両子宮角ともに数回灌流し、回収された灌流液は全量を検査するか、あるいはシリンダーか試験管に30分以上静置し、沈査部分をシャーレあるいは時計皿に移し、実体顕微鏡下で受精卵を探し出し新しい保存液に移す。さらに必要に応じ倒立顕微鏡を用いて高

倍率で形態を観察し、発育段階に分類し、移植可能かどうか判定する。受精卵(胚)の確実な客観的生死判定法あるいは評価法がこれまでのところないので形態により判断している。場合によっては数時間から24時間程度培養して発育状態を観察している。

豚の受精卵(胚)は特に温度感作に弱く15℃以下では生存できないとされているので、卵回収から移植までの保温に留意し、急激な温度変化を受けないようにし、さらに液の蒸発やpHの変化をさせないようにし、しかも特に無菌的な操作に心掛けることが肝要である。

Stoneら(1984)は予め過剰排卵処置した雌豚を屠場で屠殺してその子宮から受精卵(胚)を回収して利用する方法を報告している。この場合は供卵豚として1回限りしか使えないが、手術操作がないので極めて簡単に回収ができる。

林ら(1985)は第1回目の交配から回収までの日数を3日目(72±12時間)、4日目(96±12時間)および5日目(120±12時間)に区分し、回収された発育段階ごとに分類した(表2)。

表2. 発育段階別回収卵

発育段階	交配から回収までの日数(時間)			
	3日(72±12)	4日(96±12)	5日(120±12)	合計
1～4細胞期	35 (57.3) ^{個 %}	217 (35.2) ^{個 %}	10 (12.0) ^{個 %}	262 (34.5) ^{個 %}
6～8細胞期	16 (26.2)	102 (16.6)	3 (3.6)	121 (15.9)
桑実胚	9 (14.8)	235 (38.1)	37 (44.6)	281 (37.0)
胚盤胞	0 (0)	11 (1.8)	15 (18.1)	26 (3.4)
変性	1 (1.7)	31 (5.0)	1 (1.2)	33 (4.3)
未受精	0 (0)	20 (3.3)	7 (20.5)	37 (4.9)
合計	61	616	83	760

林哲ら(1985)

その結果、5日目においても8細胞期以前のもものが15.6%もあり、全体に発育段階にバラツキがみられた。従って常に卵管と子宮内を同時に灌流することにより回収もれが少なくなる方法である。

4. 受精卵(胚)の移植

移植はほとんど開腹手術により行われてい

る。供卵豚と発情がほぼ同期化している受卵豚(Recipient)に、4細胞期以前のもでは卵管采または卵管膨大部に、4細胞期以上の受精卵は子宮角上部に細いパストールピペットを用いて少量の保存液とともに注入移植される。片側の子宮角に注入された受精卵は自然に両子宮角に移行して着床部位を定めて妊娠が成立、維持される。片側の子宮角に、4個以下の受精卵が

移植される場合、妊娠は成立しないとの報告が多い。

Jamesら（1983）は桑実期胚のほうが4～8細胞期の受精卵よりも妊娠率が有意に高いが、産子数は変わらないと報告している。また彼らは805個の受精卵を34頭に移植し、22頭（65%）の受卵豚から208頭の子豚を得ている。Polge（1982）は3,000個以上の受精卵を移植し、妊娠率84%、胎児の生存率70%という良い成績を報告している。

5. 豚の受精卵移植の応用

豚のETはSPF豚の生産手段として使われてはじめて有意義なものになるとの意見が大部分である。SPF豚による集団変換は疾病防除を目的としたものであり、豚赤痢をはじめ豚流行性肺炎、豚萎縮性鼻炎など常在化しやす

い慢性病の清浄化に有効な手段として使われている。このSPF豚作出方法に加えて、豚のETを導入することにより、これまでプライマリーSPF豚の作出で主に子宮切断により1回限りで犠牲にしていた優良豚から、反復して受精卵を回収することができる。しかも過剰排卵処置によりこれまでよりも多数の受精卵（胚）が得られる。それを数頭の受卵豚に移植することにより供卵豚を有効に活用できる。移植される受卵豚は健康で繁殖性に問題がなければ特別な豚を選ぶことなく、雑種を含めたコンベンショナルの安価な受卵豚に移植し、その豚から子宮切断によりプライマリーSPF豚の作出ができる。またすでにSPF化され、しかも発情同期化された豚がいれば、直接移植して無菌哺育施設を使うことなくSPF豚を作出できる（図2）。

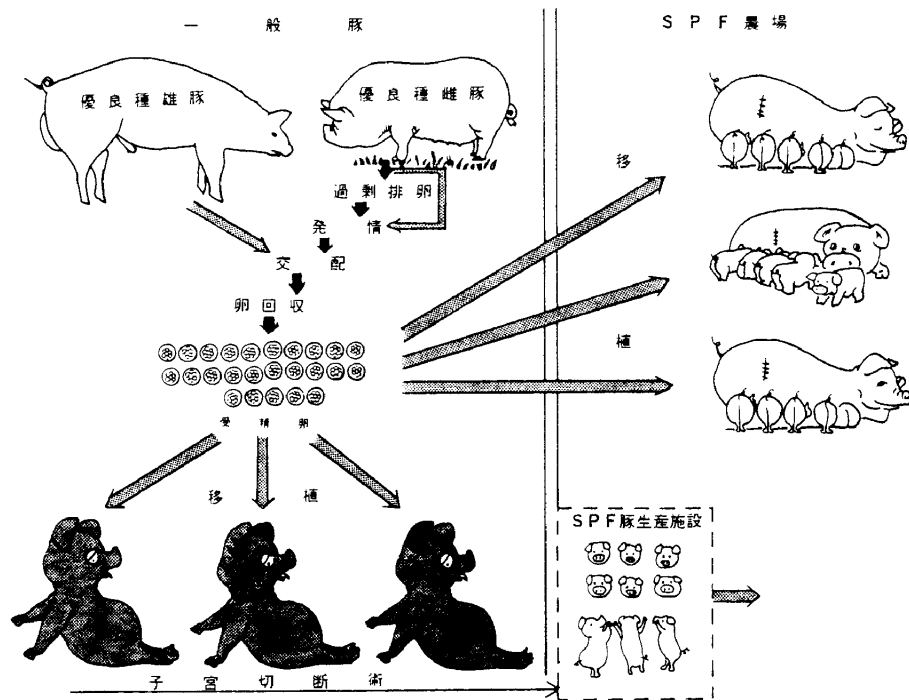


図2. 豚の受精卵移植の応用例

受精卵（胚）を介しての疾病の伝播についてはいくつかの報告がある。養豚界の大きな問題であるオーエスキー病についてJamesら（1983）は、オーエスキー病抗体陽性豚から回収した受精卵を抗体陰性豚に移植したところ、その受卵豚およびその子豚も中和抗体は陰性であったと報告している。しかしBolinら（1982）は供卵

豚に人工的に鼻腔内および子宮内に直接高濃度のオーエスキー病ウイルスを接種した場合は受精卵（胚）を介して受卵豚に伝播したと述べている。

即ち、胎盤感染する細菌やウイルスが受精卵（胚）に付着する以前に、未感染豚に移植することによりこれらの感染を避けることができる

可能性を示唆している。米国で少数群ではあるが、種豚家でオーエスキー病豚群から新SPF豚群へ移行させるため本法を用いて清浄化している (Martin 1983)。

豚においては長期保存のための凍結保存法は確立されていない。凍結保存が可能になれば、長距離輸送や国際間の輸出入、稀少品種の長期保存、品種改良などに多大の貢献をなすものと考えられる。今後の技術開発が望まれる。

効率の良い育種改良と清浄な養豚のためにこの豚ETが活用されることを期待する。

文 献

1) 会田ら (1984) : 豚受精卵の移植技術に関する研究 (予報), 第97回日本獣医学会講演要旨集, 237.
 2) ALLENHOF, R.L. et al. (1982) : Investigations of nonsurgical embryo collection in swine. *Theriogenology*, 17, 75.
 3) BOLIN, S.R. et al. (1982) : Experimental transmission of pseudorabies virus in swine by embryo transfer. *Am. J. Vet. Res.*, 44, 278-280.
 4) 福井 豊, 金川弘司 (1982) : 豚における受精卵移植, 畜産の研究, 36, 842~846.
 5) 林 哲ら (1985) : 豚受精卵の移植技術に関する研究, I. 卵の回収成績について, 第99回日本獣医学会講演要旨集, 220.
 6) 林 哲ら (1985) : 豚受精卵の移植技術に関する研究, II. 外科的移植による受胎成績について, 第99回日本獣医学会講演要旨集, 221.
 7) 井上忠恕 (1985) : 豚の受精卵移植技術に

ついて, 臨床獣医, 3, 54~59.
 8) JAMES, J.E. et al. (1983) : Embryo transfer for conserving valuable genetic material from swine herds with pseudorabies. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 183, 525-528.
 9) 河原崎達雄 (1985) : 豚の受精卵移植の応用, 臨床獣医, 3, 60~63.
 10) 小林一彦 (1984) : 豚の受精卵移植について, 臨床獣医, 2, 102-105.
 11) KVANSNICKII, A.V. (1951) : Inter breed ova transplantation. *Sovetsk. Zootech.*, 1, 36-42 [*Anim. Breed, Abst.*, 19, 224]
 12) MARTIN, P.A. (1983) : Commercial transfer in swine: Who is interested in it and why. *Theriogenology*, 19, 43-48.
 13) POLGE, C. (1982) : Embryo transplantation and preservation in domestic animals. 家畜繁殖誌, 28, 221-222.
 14) STONE, B.A. et al. (1984) : Transfer of pig embryos collected from a sow slaughtered at an abattoir. *Aust. Vet. J.*, 61, 30-31.
 15) 吉田光敏ら (1985) : 豚の受精卵回収と移植について, 第99回日本獣医学会講演要旨集, 221.

茨城県における豚病の動向と問題点

菅原茂美
 (茨城県農林水産部畜産課)

I. 茨城県の養豚の概況

(1) 豚の飼養戸数, 頭数の推移 (表1)

昭和56年まで, 全国1位の飼養頭数であったが, 57年から鹿児島県に首位の座をゆずっている。

表1. 豚の飼養戸数・頭数の推移

(農林統計)

昭和年		25	30	35	40	45	50	55	59	
茨城県	飼養戸数(戸)	36,107	58,900	59,260	55,210	36,000	19,200	12,000	8,520	
	飼養頭数(頭)	41,873	79,120	151,160	354,940	570,000	649,000	744,000	768,900	
	頭/1戸当	1.2	1.3	2.6	6.4	15.8	33.8	62.0	90.5	
全国	飼養戸数(戸)	460,372	528,000	799,120	701,560	398,300	223,400	141,300	91,500	
	飼養頭数(千頭)	623	825	1,917	3,975	6,904	7,684	9,998	10,423	
	頭/1戸当	1.4	1.6	2.4	5.7	17.3	34.4	70.7	113.9	
占有率	茨/国	戸数%	7.8	11.1	7.4	7.8	9.0	8.6	8.5	9.3
		頭数%	6.7	9.5	7.8	8.9	8.2	8.4	7.4	7.4