

## 精液供給における PRRS ウイルス感染雄豚のクリアランスと新しい人工授精技術の展望

中 根 崇 (千葉県畜産総合研究センター 生産技術部 生物工学研究室)

Nakane, T. (2003). Clearance of PRRS virus infected boar from seminal supply and prospects of a new technique of artificial insemination.

*Proc. Jpn. Pig Vet. Soc.* 44, 1-7

現在、わが国では、豚繁殖・呼吸障害症候群 (PRRS) が広く浸潤し、その対処に長年苦慮しているのが現状である。これまでのところ、PRRS ウイルスに有効な対策は見出せず、感染を受けた生産者は、ウイルスのコントロールと排除のみが実行可能な手段である。

PRRS ウイルスの汚染源は繁殖母豚群であり、離乳舎や育成豚舎でウイルスコントロールを実現する前に、まず、繁殖母豚群でウイルス排除が必要と考えられている。一部の汚染農場では、感染母豚群をオールアウトし、SPF 豚導入による入れ替えや汚染豚を分娩前に排除するなどにより清浄農場へ転換を図っている。そのため、清浄農家では、PRRS ウイルスの農場への侵入を防止するため、適切に管理された種雄豚の導入や人工授精 (artificial insemination ; AI) 用の清浄な精液が求められている。

そこで、アメリカのサウスダコタ大学の Christopher H らの PRRS ウイルスの感染メカニズムの研究から、PRRS ウイルス感染雄豚のクリアランス法を紹介する。

また、PRRS ウイルス等の疾病防除の面からも豚の AI が注目されており、近年、新しい手法が報告されている。AI は、精液を子宮頸管内に注入する方法が一般的だが、スペインのマルチア大学の Martinez らは、子宮角の先端に直接少量の精液を注入するシステムを開発した。今回、我々は、本システムの有効性について検討したので、その概要を紹介する。

## 1. PRRS ウイルスと生ワクチンウイルス

PRRS ウイルスは、1991年に初めてヨーロッパの豚から分離され、続いて北アメリカの豚からも分離され、その後世界の各地域から分離・確認が報告されている。PRRS ウイルスは、アメリカ型とヨーロッパ型に分類され、その違いは血清学的性状とシークエンスデータによって立証されている。また、本ウイルスは、アメリカ型及びヨーロッパ型ともに遺伝的多様性が存在している。わが国においては1993年に本ウイルスが分離

され、血清学的性状および遺伝子配列からアメリカ型に類似することが報告されている。

一方、アメリカにおいて1994年6月より認可されている PRRS 生ワクチンは1998年1月より日本においても使用され、本病の防圧と清浄化が期待された。しかし、ワクチンウイルスの弱毒化に關与する遺伝子およびアミノ酸領域は解明されつつあったが十分明らかでなく、培養細胞中で異なるワクチンウイルス株間の遺伝子組換えが報告され、ワクチンを使用することによって野外ウイルスの動向に影響を及ぼすことが推測されていた。実際に野外において、ワクチンウイルスが変異を起こし病原性を持ったことによると考えられる被害も報告されるなどワクチン使用の危険性が提起されていた。また、デンマーク王立大学の Mortensen S らは、生ワクチンウイルス株の伝播から PRRS ウイルスの感染様式を疫学的に調査し、デンマークの AI センターで1995年末から候補雄豚に使用したところ、ワクチン接種豚から他の雄豚に感染し、精液を介して他の農場でワクチン株による PRRS が多発したことを報告した<sup>1)</sup>。

生ワクチンの性質として、1) ワクチンを注射された豚から、ワクチンを打たれていない豚へとワクチンウイルスが水平感染する。2) ワクチンウイルスが免疫のない妊娠豚に感染すると、ウイルス血症を起こし、またワクチンウイルスは胎子に垂直感染し、流産を起こしうる能力がある。3) ワクチンウイルスが免疫のない種雄豚に感染するとウイルス血症を起こし、精液中にウイルスが出現し、精液を介する感染が起こることが、明らかとなっている。

なお、現在、ワクチン使用にあたり製造元のベーリンガーインゲルハイム社は、妊娠豚および種雄豚には使用せず、PRRS 陰性農場では使用しない様に注意を促している。

また、野外における PRRS ウイルスは感染豚における病原性が異なっているものや、生物学的、抗原的或いは遺伝学的にも異なるものが混じりあった (hetero-

geneous) 集団であることが報告されている。そのため、現在のワクチンは、一つの PRRS ウイルス株に基づくものであり、遺伝的に異なった PRRS ウイルス野外株の感染に対しての防御効果が乏しいことが推察されている。

## 2. Christopher らの感染試験

精液供給に必要な雄豚の維持には、ワクチンによる PRRS の防圧は困難であり、完全な隔離飼育と定期的な抗体検査及び精液中のウイルスの確実な検出法が必要とされていた。そこで、Christopher らが報告した PRRS ウイルスの感染と精液中ウイルスの動向の研究及び雄豚クリアランスのための効果的な検査方法を紹介する。

### 1) PCR による精液中の PRRS ウイルスの検出

1995年、PRRS ウイルスの検出用 RT-n PCR を検査法を開発し、ウイルス分離よりも感受性が高いことから PCR はウイルスの動性や精液の検査に有効であると報告している<sup>2)</sup>。PCR 法の概要は、まず、感染雄豚精液の濃厚部と精漿から遠心処理により、細胞塊を集めウイルス RNA をフェノール抽出する。PCR プライマーの塩基配列は、PRRS ウイルスの VR-2332 株（アメリカ株）の基本構造遺伝子（open reading frame）ORF-7（ヌクレオカプシド）及び Lelystad 株（ヨーロッパ株）の ORF-1b（ウイルス複製酵素）から設計された。高感度にアメリカ及びヨーロッパ株の識別が可能であり、臨床症状を示さない回復期の雄豚を検出できた。

この PCR 法は、PRRS ウイルスの感染が空気感染以外に精液による伝播が知られており、AI 用の精液を世界的に販売する精液供給会社での雄豚の高度な衛生対策に活用された。

### 2) 血清及び精液中の PRRS ウイルスの持続性

1995年、感染豚の血清及び精液中のウイルスの PCR 検査から精液中に長くウイルスが存在することを報告した<sup>3)</sup>。試験は、抗体陰性の 6～7 カ月齢雄豚 4 頭を個別に隔離飼育し、PRRS 分離株 VR-2332 を  $10^6$  FFU/mL 鼻腔内接種し、接種後 100 日間に渡り追跡した。検査方法は、週に 2～3 回血液を採取し、ウイルス分離、蛍光抗体（IFA）、中和抗体、PCR を実施した。また、精液も同様に採取し、PCR で陽性を示した精液を豚に接種し、感染性を調べた。

成績は、ウイルス血症が 1～9 日目に認められ、ウ

表 1 PRRSV 接種雄豚の血清および精液中からのウイルス分離と抗体およびウイルスゲノム検出（接種後日数）

| 豚 No. | 部位 | ウイルス分離 | IFA  | 中和抗体 | PCR    |
|-------|----|--------|------|------|--------|
| 1     | 血清 | 3 - 7  | 9 ~  | 35 ~ | 1 - 21 |
|       | 精液 |        |      |      | 7 - 25 |
| 2     | 血清 | 1 - 7  | 9 ~  | 38 ~ | 1 - 2  |
|       | 精液 |        |      |      | 3 - 56 |
| 3     | 血清 | 1 - 9  | 11 ~ | 38 ~ | 1 - 25 |
|       | 精液 |        |      |      | 3 - 25 |
| 4     | 血清 | 5 - 7  | 11 ~ | 35 ~ | 1 - 31 |
|       | 精液 |        |      |      | 5 - 92 |

modified ; Christopher-Hennings et al. J Vet Diagn Invest 1995

イルスゲノムが血清で 1～31 日間、精液では、3～92 日間、56 サンプル中 19 (34%) で検出された（表 1）。ウイルス及びゲノムの検出時期は、IFA 検出 2～8 日前、中和抗体検出 28～35 日前で、抗体検査で感染を識別する前に血液や精液中にウイルスが存在し、更に抗体検出後も抗体により不活化されずに長く精液中に排泄されていることが確認された。また、PCR 陽性の 42 日目、67 日目の精液のバイオアッセイで感染性が確認された。好中球増加症とリンパ球減少症を呈し、92 日目まで長く PCR で精液中にウイルスゲノムが検出された豚について、101 日目に検定殺し精密検査を実施したところ、尿道球腺からウイルスが分離された。

### 3) 精管切除処置感染豚の精液からの PRRS ウイルスの検出

1998年、前回の試験で精液中から長くウイルスが検出されたことから、生殖系組織でのウイルスの潜伏増殖を疑い、精管切除処置した感染豚の精液中の PRRS ウイルス検出状況について報告している<sup>4)</sup>。

試験は、抗体陰性雄豚 5 頭の精管切除し、2 頭を非切除対照とし、PRRS 分離株 VR-2332 を  $10^6$  TCED 50/mL 鼻腔内接種し、21 日目に鑑定殺した。リンパ系組織（扁桃、腸骨リンパ、胸部、リンパ、腸間膜リンパ、胸腺、骨髄及び脾臓）、生殖系組織（精巣、精巢上体、精管、前立腺、尿道球腺、陰茎及び精囊腺）、主要臓器（肺、心臓、肝臓、脳及び小腸）及び精液について、ウイルス分離、RT-nPCR 検査を実施した。

各組織別のウイルス検出率は、精管切除豚と非切除豚のリンパ系組織でそれぞれ、27/35 (77%)、12/14 (86%)、生殖系組織で 29/35 (83%)、8/14 (57%)、主要臓器で 20/30 (67%)、8/12 (67%)、精液で 1/5 (20%)、2/2 (100%) であった（表 2）。

この試験からウイルスは各組織で増殖し、精管切除豚でも精液中からウイルスが検出されることから、生

表2 PRRS ウイルスの分離とゲノムの検出(接種21日目)

| 検出部位   | 精管切除豚(5頭)   | 非切除豚(2頭)    |
|--------|-------------|-------------|
| リンパ系組織 | 27/35 (77%) | 12/14 (86%) |
| 生殖器系組織 | 29/35 (83%) | 8/14 (57%)  |
| 主要臓器   | 20/30 (67%) | 8/12 (67%)  |
| 精液     | 1/5 (20%)   | 2/2 (100%)  |

Christopher-Hennings et al. Vet Pathol 1998

殖組織以外で増殖したウイルスは脈管系を介して精液中に混入することを確認している。

#### 4) 感染豚体内での PRRS ウイルスの持続性

2001年、PRRS ウイルスの各組織での持続性について報告した<sup>5)</sup>。試験は、抗体陰性雄豚 8 頭に PRRS 分離株 SD-23983 を  $10^6$  FFU/mL 鼻腔内接種し、40、47、61、88日目に鑑定殺し、血清、分泌物及び主要臓器について、ウイルス分離と RT-n PCR で体内でのウイルスの感染持続状況を調べた。ウイルス血症が 1～11日目に認められ、抗体は、ELISA で 11～14日目を以降、中和抗体で 25～46日目を以降に認められた。ウイルスは、40～47日目の扁桃のみ 6 頭中 3 頭から分離された。ウイルスゲノムの各組織の部位別検出率と時期及び頭数はそれぞれ、リンパ系組織で 25/64 (39%)、40～61日目 7 頭、生殖器系組織で 5/56 (9%)、40～47日目 4 頭、精液、主要臓器で 4/80 (5%)、40～47日目 3 頭であった。これらの成績からウイルスは、生殖器系組織よりも長期間に渡りリンパ系組織で増殖し、扁桃がウイルス分離部位に適していることが、示唆された。そこで、PRRS ウイルス感染雄豚 には、雄豚の検疫期間として 45日が必要であり、抗体検査と扁桃のバイオプシー材料の PCR 検査が効果的と報告している。

### 3. AI の普及

#### 1) AI のメリット

AI は、優秀な遺伝子を容易に導入できること、種雄豚を減らせるか飼う必要がないため、飼料、施設、人件費等のコストが削減できること、種雄豚の状態、雌豚との体格差に関係なく交配が可能なことなど多くのメリットがあるが、種雄豚の導入に伴う疾病の侵入機会を少なくできることから、PRRS の防除に関しても効果は高い。日本の AI 用供給精液施設では、毎年、種豚登録の際に PRRS と オーエスキー病の検査を実施し、独自に幾つかの疾病の検査を追加実施している。一方、世界中に精液を販売しているアメリカの企業では更に厳しい衛生基準を設定している。インターネット

の Swine Genetics International 社のホームページを見ると、①アメリカにおける清浄化疾病として、口蹄疫、豚水疱性口炎、アフリカ豚コレラ、豚水疱疹、豚日本脳炎、豚コレラ。②精液に存在してはならない疾病病原体として、AR、グレーサー病、パストツレラ病、豚丹毒、豚赤痢、豚エバリスロゾーン病、伝染性胃腸炎、豚インフルエンザ、③精液を通して潜在的に伝染する繁殖関連疾病として、レプトスピラ症、ブルセラ病、抗酸菌症、オーエスキー病、PRRS については、陰性を確認している。また、レプトスピラ症、ブルセラ病、抗酸菌症は半年毎に、豚水疱疹、オーエスキー病、PRRS は 2 カ月毎に血液検査を実施し、安全性を確保している。

#### 2) AI の現状

砂川らは、日本と欧米諸国の AI の普及率について、1999年の AI 用精液供給本数/推定種付け頭数から推定し報告している(図1)。欧米諸国ではノルウェーの 90%を筆頭に 50%以上の国が肩を並べ、養豚業の必須の技術として普及・発展している。なお、日本では、日本養豚協会の調査によると、種付け頭数約 2 百万頭に対して 37万 5 千本の精液の供給に留まり、18.3%と低いのが現状である。

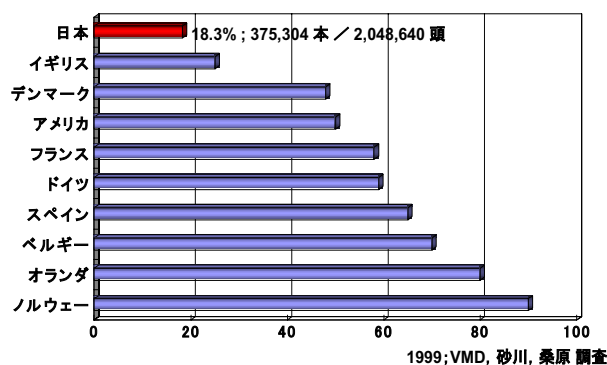


図1 日本と欧米諸国の AI の普及率

しかし、日本養豚研究会が、2002年に実施した養豚衛生実態調査では、AI の実施率は、母豚の飼育規模の増大に従って増加し、母豚数が 200頭以上の農家では、70%が実施しており、500頭以上の農家では、全農家が実施していることが判った(図2)。



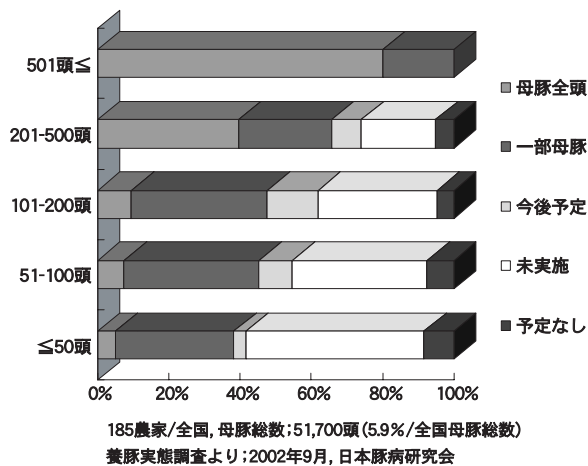


図2 規模別豚人工授精の実施状況

#### 4. 新しいAI技術の開発に向けた取り組み

豚のAI技術は、豚精子の凍結融解後の生存などの問題から、凍結精液の利用は少なく、通常、養豚場では、希釈後液状保存した精液を子宮頸管内に注入するのが一般的である。良好な繁殖成績を得るためには、40～50億の精子数を80～100mlの液状精液として発情中に2回注入することが推奨されている。橋爪は、1回の射出精液で授精可能な雌畜の頭数を算出している<sup>6)</sup>。雄豚からは通常1回の射出で100～1,000億の精子が採取されるが、1回分の射精で8～9頭の母豚にしかAI出来ず、この方法での精液の利用効率は、牛に比べるとかなり低い現状である。なお、雄牛は、1回に約50～100億の精子を射精し、通常2,500～5,000万の精子を1回注入するため、100～200頭の雌牛にAIが可能である(表3)。

表3 1回の射出精液で授精可能な雌畜の頭数

| 家畜 | 1回の射出<br>精液量(ml) | 1回の射出<br>精子数(億) | 1回の注入<br>精子数(億) | AI可能<br>総頭数 |
|----|------------------|-----------------|-----------------|-------------|
| 牛  | 3～10             | 50～100          | 0.25～0.5        | 100～200     |
| 豚  | 150～500          | 100～1,000       | 50              | 8～9         |

一部修正 橋爪 力; 家畜人工授精講習会テキスト

また、豚は、多胎動物ゆえに子宮が約150cmと非常に長いという形態的な特徴から多量の精液を必要とすると思われるが、Steeverinkらは、従来のAIでは精液の液量の約70%、精子の25%が注入後2.5時間以内に子宮頸管から外部に流失し、無駄が多いことを報告している(表4)<sup>7)</sup>。

しかし、最近、Kruegerらが子宮角の先端に外科的に精液を注入した場合、約1億の精子数で十分に受精卵が得られることを報告した<sup>8)</sup>。その後、AIにおける

表4 人工授精後の体内からの注入精液量および精子数の流失率

| AI時後経過時間   | 母豚数 | 総精液量    | 総精子数    |
|------------|-----|---------|---------|
| AI精液注入時    | 76  | 7±1.1%  | 8±1.3%  |
| 0～0.5時間後   | 110 | 31±1.7% | 14±1.0% |
| 0.5～2.5時間後 | 78  | 36±2.6% | 9±0.8%  |

精液利用の効率化を目的として、子宮頸管よりも先端部位に少量精子を注入する手法が各種検討されて来た。ノースカロライナ大学のB.A. Belstraは、Annual Swine Report 2002の中で最近の豚のAI技術の進展について、従来法との比較を紹介している<sup>9)</sup>(図3)。英国のWatsonらは、フランスのIMV社が開発したDeep Golden Pigと呼ばれる子宮頸管から18～20cm先の子宮体部に精液を注入するIntra-uterine body insemination (IUI)用カテーテルの産業レベルで実施試験を行い、精子数20億で受精率に支障の無いことを報告した<sup>10)</sup>。更に、スペインのMartinezらは、独自に開発したDeep Intrauterine Insemination (DIUI)用フレキシブルカテーテルを開発し、5千万及び1億5千万の精子を希釈液5mlで子宮角深部2/3に注入した群と従来のAIカテーテルで精子数30億を頸管内注入した群を比較して、受胎率及び産子数に差が認められないことを報告した<sup>11,12)</sup>。

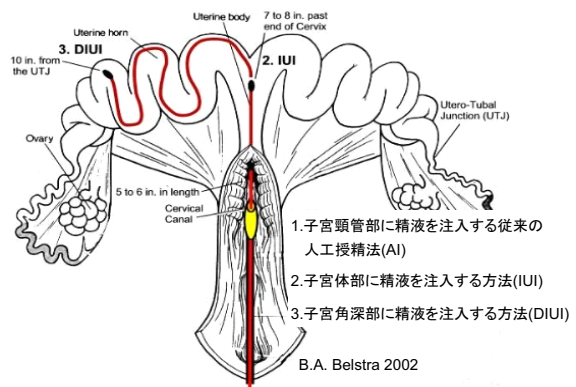


図3 3種類の異なる人工授精法と精液注入部位

#### 5. 子宮角内深部精液注入法と子宮頸管内注入法の比較試験

今回、我々はDIUIの有用性を確認するために、最近発売されたフレキシブルカテーテルを用いてDIUIを実施し、受精及び受胎状況を観察し、作業性と繁殖成績について調査し、当研究センターで通常に実施しているAIと比較、検討した。

##### 1) 材料と方法

##### ① DIUI

DIUI は、スペインの Magapor 社製の DIUI 用ファイヤーフレックス (FFX) を用いて実施した (図 4)。FFX は、全長が150cm、外径が 4 mm、内径が1.5mm、最大湾曲角度が160度で、カテーテル自体がかなりの柔軟性があり、子宮角に挿入しても、子宮壁を傷つける危険性が低い構造である。



図 4 DIUI 用カテーテル

使用法は、まず、先端部の精液放出口を拡張するため切断し加工した AI 用プラスチック製スパイラル状注入器 (従来カテーテル) を豚の外陰部より挿入して、子宮頸管部に固定し、次に、従来カテーテルの精液注入口から FFX を挿入した。更にカテーテルの精液放出口から FFX を頸管の先30~90cm の子宮角内に挿入後、その基部に注射器を装着して希釈精液10ml を速やかに注入した (図 5)。



図 5 DIUI 用カテーテルによる精液の注入作業

対照として、従来のカテーテルを用いて頸管内注入による AI を実施した。従来カテーテルの先端を子宮頸管部に固定し、精液が逆流しないようにゆっくりと希釈精液100ml を注入し、2 分間カテーテルを子宮頸管内に留置した。

## ② 精液

精液は、大ヨークシャー種 (W) とランドレース種 (L) より採取し、モデナ液で 1 ml 当たり 1 億個の精子を含むように希釈し用いた。

## ③ 授精試験

試験豚は、L 経産豚 13~14 ヶ月齢 (産暦 1 産) 24 頭と正常な発情周期を認める W 未経産豚 8 ヶ月齢 10 頭を用いた。まず、自然発情時に AI を実施し、妊娠させた後25~38日目にクロプロステノール (プラネート、住友化学工業社製) 0.175mg を24時間間隔 2 回投与し、流産を誘起した。2 回日のクロプロステノール投与時に注射用妊馬血清性腺刺激ホルモン; eCG (ピーメックス、三共社製) 1,000 iu を、その72時間後に注射用ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン; hCG (プローベン、三共社製) 500 iu をそれぞれ頸部筋肉内に投与し、発情を誘起した。DIUI は hCG 投与後に雄許容確認した経産豚14頭に24時間間隔で 2 回、未経産豚 8 頭に hCG 投与後 36 時間後に片側の子宮角内に 1 回実施した。AI は hCG 投与後に雄許容を確認した経産豚10頭に24時間間隔で 2 回実施した。試験豚は DIUI 及び AI 後 4 日目にと殺し採胎した。

## ④ 受胎試験

授精試験と同様に処理した W 未経産豚 2 頭に DIUI を 1 回実施し、30日目にと殺し、受胎状況を観察した。

## ⑤ 作業性

試験豚は、L 経産豚45頭を用い、DIUI は35頭、AI は10頭に実施した。それぞれ、カテーテルを膈内に挿入してから一連の作業が終了し、抜き取るまでの時間を測定すると共に挿入の難易性を調べた。

## ⑥ 繁殖試験

試験豚は、L 経産豚13~14ヶ月齢16頭を用い、雄許容確認後、DIUI は10頭に24時間間隔で 2 回、AI は 6 頭に同様に実施し、分娩まで飼養した。それぞれ、受胎数、産子数、死産子数、生時体重を調べた。

## 2) 結果

### ① 授精試験成績

授精試験で得られた成績を表 5 に、採取した胚を図 6 に示した。黄体の総数は510個で受精卵の総数は487 個であった。また、正常胚の総数は424個であった。AI 区の経産豚と未経産豚及び DIUI 区の経産豚の受精率 (受精胚数/黄体数) は、それぞれ90%以上で、正常胚回収率 (正常胚数/黄体数) は、それぞれ80%以上と良好な成績を示し、各区に有意差は認められなかった ( $P>0.05$ )。

表5 授精試験成績

| 区分   | 頭数 | 受精率<br>(受精胚/黄体数) | 正常胚回収率<br>(正常胚/黄体数) |
|------|----|------------------|---------------------|
| DIUI |    |                  |                     |
| 未経産  | 8  | 90.7%(166/183)   | 80.2%(150/183)      |
| 経産豚  | 14 | 97.5%(159/163)   | 84.0%(137/163)      |
| AI   |    |                  |                     |
| 経産豚  | 10 | 98.7%(162/164)   | 83.5%(137/164)      |
| 計    | 32 | 95.5%(487/510)   | 83.1%(424/510)      |

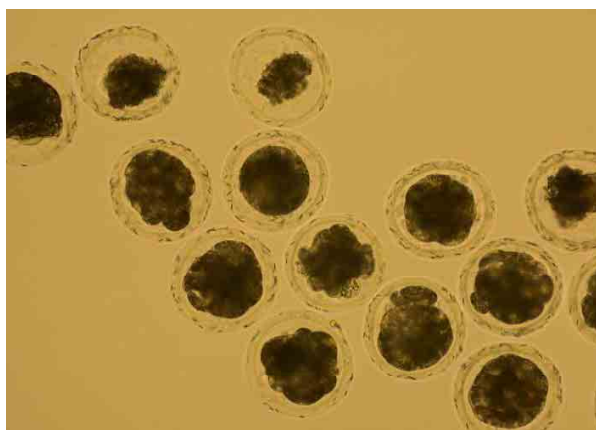


図6 授精試験で得られた胚

## ② 受胎試験成績

受胎試験で得られた成績を表6に、採取した卵巣と胎子を図7に示した。DIUI実施30日目の未経産豚A、Bの卵巣に16個と14個の黄体を認め、両側の子宮角内に、それぞれ、16頭（7例と9例）と10頭（6例と4例）の胎子が観察された。

表6 受胎試験成績

| 区分   | 黄体数 |   |    | 胎子数 |   |    |
|------|-----|---|----|-----|---|----|
|      | 右   | 左 | 計  | 右   | 左 | 計  |
| 未経産A | 7   | 9 | 16 | 7   | 9 | 16 |
| 未経産B | 11  | 3 | 14 | 6   | 4 | 10 |

DIUI 1回 実施後 30日目



図7 DIUI30日目に採取した卵巣と胎子

## ③ AI 作業性

平均AI作業時間は、DIUI区で4分9秒±1分33秒、対照区で3分52秒±0分33秒であった。また、試験した全ての豚にFFXの挿入が可能で、出血等の異常は認められなかった。

## ④ 繁殖試験成績

繁殖成績は、DIUI区とAI区の分娩頭数、平均産子頭数、平均死産子数及び平均生時体重は、それぞれ、9頭、9.7頭、0.6頭1.7kgと6頭、9.8頭、0.6頭、1.5kgであった（表7）。全ての項目において、両区に有意差は認められなかった（ $P>0.05$ ）。

表7 繁殖試験成績

| 区分   | 交配母<br>豚頭数 | 受胎母<br>豚頭数 | 分娩母<br>豚頭数 | 平均総<br>産子数* | 平均死亡<br>産子数* | 平均生<br>時体重* |
|------|------------|------------|------------|-------------|--------------|-------------|
| DIUI | 10         | 9          | 9          | 9.7±3.5頭    | 0.6±0.9頭     | 1.7±0.2Kg   |
| AI   | 6          | 6          | 6          | 9.8±3.4頭    | 0.6±0.9頭     | 1.5±0.3Kg   |

\*；平均±標準偏差

また、DIUIで得られた産子は、AI区の産子と相違は認められず発育した。なお、DIUI区の不受胎母豚1頭については、発情が再発したので、再びDIUIを実施したが再発し、改めて頸管内注入AIを実施したが再度再発し、最終的には繁殖障害と判断して廃用とした。

## 3) 考察

今回、FFXを用いた1及び2回のDIUIと通常のカテーテルを用いた2回のAIにおける受精率、正常胚回収率に有意差は認められず、同等の採卵成績を認めた。DIUIは、未経産豚においても少ない精子数で同等の受精率を認め、1回の授精でも黄体数に見合う胎子が得られ、さらに片側子宮への挿入でも両側の卵が受精することを確認した。なお、FFXの作業性には特に問題は認められず、子宮を傷つけることなく従来のAI技術者なら容易にFFXの使用が可能と思われ、分娩した豚の繁殖成績は頸管内注入と同等であることが確認された。これらの成績は、Martinezらの報告と一致し、DIUIの有用性を実証した。

また、伊東らは、Watsonらの報告に準じたIUIを実施し、12億の精子数で良好な受胎性と産子数を認めることを報告しており<sup>13)</sup>、DIUIでは更に効率的に精液を利用できる可能性を研究する必要があると考えられる。

今回の成績から、1回分の頸管内注入量として、総精子数が約50～100億である80～100mlの流通精液を



活用して DIUI で10ml 使用する場合、精液の利用効率は、8～10倍に向上することが期待される。

また、深部注入法を用いることにより、輸入精液や優良個体の精液を効率的に利用することが可能となり、急速な豚の育種改良や生産効率の向上が期待される。

#### 4) 謝辞

試験に用いた豚胚の採材に協力していただいた㈱千葉県食肉公社、光町営東陽食肉センター、東総食肉衛生検査所並びに試験豚の管理をお願いした当研究センター養豚施設の諸氏に深謝する。

#### 6. 参考文献

- 1) Mortensen S, Stryhn H, Sogaard R, Boklund A, Stark KD, Christensen J, Willeberg P. Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Prev Vet Med.* 2002 Feb 14;53(1-2): 83-101.
- 2) Christopher-Hennings J, Nelson EA, Nelson JK, Mines RJ, Swenson SL, Hill HT, Zimmerman JJ, Katz JB, Yaeger MJ, Chase CC, et al. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in boar semen by PCR. *J Clin Microbiol.* 1995 Jul;33(7):1730-4.
- 3) Christopher-Hennings J, Nelson EA, Hines RJ, Nelson JK, Swenson SL, Zimmerman JJ, Chase CL, Yaeger MJ, Benfield DA. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in serum and semen of adult boars. *J Vet Diagn Invest.* 1995 Oct;7(4):456-64.
- 4) Christopher-Hennings J, Nelson EA, Nelson JK, Rossow KD, Shivers JL, Yaeger MJ, Chase CC, Garduno RA, Collins JE, Benfield DA. Identification of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in semen and tissues from vasectomized and nonvasectomized boars. *Vet Pathol.* 1998 Jul; 35 (4):260-7.
- 5) Christopher-Hennings J, Holler LD, Benfield DA, Nelson EA. Detection and duration of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in semen, serum, peripheral blood mononuclear cells, and tissues from Yorkshire, Hampshire, and Landrace boars. *J Vet Diagn Invest.* 2001 Mar; 13 (2):133-42.
- 6) 橋爪力. 人工授精の意義及び得失. 家畜人工授精講習会テキスト. 社団法人日本家畜人工授精師協会. 平成10年7月: 293-295
- 7) Steverink, D. W. B, N. M. Soede, E. G. Bouwman, and B. Kemp. Semen backflow after insemination and its effect on fertilization results in sows. *Animal Reproduction Science* 1998 54:109-119.
- 8) Krueger C and Rath D. Intrauterine insemination in sows with reduced sperm number. *Reprod, Fertility and Development.* 2000 12: 113-117
- 9) Belstra B. A Review : Intrauterine (transcervical) and fixed-time artificial insemination in swine. [Http://mark.asci.ncsu.edu/Swine Reports/2002/belstro3.htm](http://mark.asci.ncsu.edu/Swine_Reports/2002/belstro3.htm)
- 10) Watson PF, Behan J, Decuadro-Hansen G and Cassou B. Deep insemination of sows reduced sperm numbers does not compromise fertility. a commercial based field trial. Sixth International Conference on Pig Reproduction, University of Missouri Columbia. pp. 2001 : 135
- 11) Martinez EA, Vazquez JM, Roca J, Lucas X, Gil MA, Parrilla I and Vazquez JL. Deep intrauterine insemination in sows with a low number of spermatozoa : a new and simple procedure. *Theriogenology* 2001 55 : 248
- 12) Martinez EA, Vazquez JM, Roca J, Lucas X, Gil MA, Parrilla I, Vazquez JL and Day BN. Minimum number of spermatozoa required for normal fertility after deep intrauterine insemination in non sedated sows. *Reproduction* 2002 123 : 163-170
- 13) 伊東正吾, 石崎芳彦, 岩村祥吉, 保科和夫: 深部注入型カテーテルを用いた豚の人工授精による受胎性と産子状況. 第78回日本養豚学会講演要旨2002 15