

海外情報

国際胚技術学会第50回大会に参加して

家畜バイテクセンター 森 優賀
家畜改良技術研究所 佐々木 拓弥
前橋種雄牛センター 櫻山 真千子

1. はじめに

令和6年1月10日～12日にアメリカのコロラド州デンバーで国際胚技術学会（以下、IETS）第50回大会が開催されました。IETSは世界16の国や地域において活動する繁殖生物学や胚技術に関連する学会をつなぐ学会であり、年次大会では、胚技術に関する研究のみならず最先端の生殖工学技術など幅広い分野の発表が行われ、今回は50周年を迎える記念すべき年の開催となりました。また、年次大会に先立ってプレカンファレンスが開催され、各分野の第一人者を招いたパネルディスカッションや採卵などの実演が行われました。

2. コロラド州デンバー

コロラド州はアメリカ合衆国西部に位置し、ロッキー山脈が南北を貫いています。開催地であるデンバーはロッキー山脈の東側に位置し、州の人口の6割以上がデンバーの広域都市圏に集中しているそうです。デンバーはIETSの発足の地でもあり、IETSが1975年1月に初めて開催された際は参加者25名、講演6題からスタートし、今では80か国782人の会員が所属する繁殖分野では最大級の学会になりました。

3. 国際胚技術学会第50回大会

(1) 参加者および講演の概要

80か国から550名の参加があり、基調講演12演題、受賞記念講演2演題、ショートプレゼンテーション15演題、ポスター234演題の発表がありました。基調講演では「IETSの過去50年で我々はどこまで到達できたのか」、「妊娠成立の決定要因」、「胎児の発育と胎盤機能」、「ET産業を変えた現在の技術」、「生殖技術の新しい進展」、「胚技術の未来」と6つのセッションにおいて、各分野の第一人者からこれまでに得られてきた知見や今後の展望が紹介されました。ポスターセッションでは「卵胞形成／卵子形成」、「卵子成熟」、「受



会場の様子。家畜繁殖技術のバイオニアたる面々から地元コロラド州立大学の学生さんまで、幅広い層の参加者がみられた

精」、「胚培養」、「凍結保存」、「胚移植」といった胚技術に直接関わる分野だけでなく、「症例報告／フィールド調査」、「クローニング／核移植」、「発生生物学」、「遺伝子工学」といった繁殖生物学に関わる幅広い分野における最新の研究成果が紹介されました。

(2) 印象に残った演題

いくつか印象に残った演題をご紹介します。

体外受精に関する研究

体外胚生産における受精率や発生率は種雄牛によって異なります。また、胚生産成績と人工授精受胎率との間には関連が認められません。これまでに精子運動解析システムなどを用いた精子検査（運動性、濃度、形態）との関連が調べられてきましたが、体外胚の生産成績に関する有効なマーカーは見つかっていませんでした。アグリソームは変性あるいはミスフォールディングしたタンパクを凝集させる機構で、選択的オートファジーにより分解されると考えられています。演者らは先行研究においてアグリソームが欠落している

種雄牛を用いた体外胚生産では生産成績が低下することを報告しており、今回の発表では32種雄牛において精子頭部に蓄積した凝集タンパク含有量と体外胚生産の成績の関連を調べていました。凝集タンパクの蓄積量でクラス分けを行い、体外胚生産の成績を比較したところ凝集タンパク量が少ない種雄牛のほうが分割率および胚盤胞期への発生率が有意に高いことが明らかとなりました。これらの結果から、精子頭部の凝集タンパクの含有量が精子の受精能のマーカーとなる可能性が示されました。

ゲノム編集に関する研究

近年、アメリカ食品医薬品局が安全性評価の結果、ゲノム編集された肉用牛由来の製品について低リスク決定を下しており、家畜においてもゲノム編集が急速に広がっていくと考えられます。本大会においても、TALENやCRISPR/Cas9を用いてウシのゲノム編集を行った研究結果が複数報告されました。暑熱耐性を向上させることを目的にウシの毛色遺伝子PMELに毛色が明るくなる（黒色→灰色）変異を導入した研究では、TALENをペアで用いることで高効率かつ正確にゲノム編集が可能であることが示されていました。実際にゲノム編集により毛色が明るい産子が得られており、それらの産子では野生型と比較して太陽光の吸収量が有意に減少し、採食行動の増加や日陰利用の低下といった行動にも影響をおよぼすことが確認されました。また、別の研究ではCRISPR/Cas9により2つの遺伝子を同時にノックアウトし、精子などの配偶子へゲノム編集の結果が受け継がれるか検討していました。ゲノム編集個体の精子では多少の変動はあるものの体細胞と同程度の変異が維持されており、次世代にもゲノム編集による変異が受け継がれることが示されました。ゲノム編集では標的以外の遺伝子に変異がおこるオフターゲットが問題とされていましたが技術の進歩により克服されつつあり、今後遺伝的不良形質を除去あるいは有用な形質を持たせたゲノム編集種雄牛などが登場する可能性が考えられます。

過剰排卵処置におけるrhFSHの利用

現在ウシの過剰排卵処置ではブタ下垂体由来FSH（porcine FSH：pFSH）が多く用いられていますが、近年、遺伝子組換えヒトFSH（recombinant human FSH：rhFSH）を使用した処置方法の開発が行われています。rhFSHはヒトでは一般的に使用されており、高純度で品質が一定であること、半減期や薬力学など

の特性を変更できることが特徴です。本大会でも過剰排卵処置におけるrhFSHの有効性を調べた研究が複数みられました。Nelore種の未経産牛で行われた体内採卵の試験によると、22.5～30.0 μ gの長時間作用型rhFSHの単回投与による過剰排卵処置ではpFSHを用いた標準的なプロトコルと同様の卵胞発育が得られることが示唆されました。またrhFSHの方が排卵前卵胞サイズ、排卵率、黄体数は有意に大きく、回収胚数、生存胚数は多い傾向がみられました。rhFSHの利用については研究段階ですが、実用化されればより効率的な受精卵生産が可能になると考えられます。

抗GnRH製剤を使用した卵胞ウェーブの調節

エストラジオール製剤を使用した定時人工授精プロトコルは日本では広く使用されていますが、欧米ではエストラジオール製剤の使用は認められていません。消費者からのステロイドを使用しない食肉の需要の高まりにより、新しいプロトコルが必要とされています。カナダ・サスカチュワン大学のグループから、抗GnRH製剤であるCetrorelixによるウシの優性卵胞の発育パターンと卵胞ウェーブの出現に対する効果について報告されました。試験では、Cetrorelix（1.5mg）の24時間間隔・2回投与により主席卵胞は退行し、次のウェーブは平均で5.3 \pm 0.3日後に出現すること、黄体機能は低下しないことが分かりました。本製剤を使用した新たな定時人工授精プロトコルの開発が期待されます。

OPU実演と機器展示

プレカンファレンスの一枠で体内採卵、OPU、ETの実演がおこなわれました。OPUに関してはWTA社でOPU-IVFの技術サポートを行っているDr. Andre



毎年1月に開催される世界最大級の家畜市場National Western Stock Showの会場に併設されたスタジアム。枠場にいるのはアンガス牛

Dayan氏が担当されていました。ここでは、今回紹介されていたOPU針について報告します。紹介されていたのは、WTA社製の長さ65.5mmの短針です。太さは18Gと20Gがあり、状況に応じて使い分けことができます。メリットは針が短いことでラインが詰まりにくく、卵丘細胞が剥がれにくいという点です。また、2-3mm程度の小卵胞が多い場合には20Gの細い針を使うことで卵巣への刺激を減らすことができ、出血量を抑えられます。この針を使用するには適合するプローブ外套が必要ですが、機会があれば使用してみたいと思います。

早期不受胎の理解のための子宮モデル構築

妊娠初期3週間以内の不受胎の主な要因の一つとして、子宮内膜の受容性が低いことが挙げられます。そのため、胚や母体の受胎能力を評価するツールとして、着床を体外で再現できる子宮モデルの構築が以前より研究されてきました。しかしながら、着床期に起こる子宮内膜の構造変化や細胞の分化を体外で再現することは容易ではありません。また着床という現象は動物種による違いが大きく、マウスやヒトの胚盤胞は透明体から脱出した直後に着床しますが、ウシの胚盤胞はすぐに着床せずに1週間ほど子宮内を浮遊しながら伸長するため、子宮モデルの構築においてはウシならではの難しさもあります。

そこで発表者のNiamh Forde教授に「子宮モデル構築における難しさはどこにあると感じるか」と質問したところ、「組織の弾性が重要。もし死んだ臓器から足場だけを取り出せるならそれに細胞を播種するのがベストだし、3Dプリンターがあれば細胞外マトリックスをプリントして足場を作るという手もある」との回答を得ました。要するに、適度に弾力のある立体構造を形成することが組織モデル構築における難所だということだと思えます。ウシは着床前に胚が子宮全体にいきわたるほど大きく伸長するため、子宮モデルを構築する際もそれに見合ったサイズにする必要があります。組織モデルのサイズアップのためには血管系や神経系の導入が必須であると言われていることもあり、ウシ子宮モデル構築における課題はまだ多いといった印象を受けました。

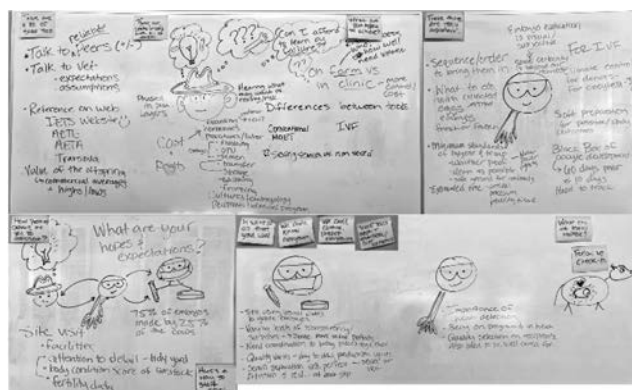
繁殖の悩みは世界共通

他のプレカンファレンスでは、飼養者・獣医師・胚培養士の三者の視点から家畜繁殖に際する問題点を挙げて解決策を出し合い、それぞれがより効果的に仕事

をするにはどうすればよいかが話し合われました。飼養者の立場からは「採卵やOPU-IVFによる産子の生産にはどのくらいのコストがかかるのか」、「胚生産率や受胎率の期待値はどれくらいか」などの疑問が挙げられました。獣医師からは、季節や天候、ウシの状態など、あらゆる要因を考慮していかに胚生産率や受胎率を最大化するか、また得られた結果を飼養者に説明し、牧場の繁殖管理能力をいかにマネジメントしていくかに関する難しさが話題になりました。胚培養士の視点からは、いまだに見た目のみで胚の品質判断を行っていることに対する不安が挙げられました。

ある参加者は、こんなに科学技術が進歩しても受胎率を明確に予測するこれといった明確な判断基準がないこと、またそれを提示できない獣医師や研究者に対して大きな憤りを持っておられる様子でした。受胎率を左右する要因はいくつもありますが、農場によって飼養状況や経営方針が異なるため、その農場に最適な方法を探すには、地道に試行錯誤を繰り返すことが一番の近道なのだと思います。現場での不満や不安は、相談し納得してアドバイスを受けられる信頼できる相手がいなかったことが本質的な問題なのではないかと感じました。

このように、技術レベルの向上や問題解決・現状打破のために、業種や立場を超えて忌憚のない意見を出し合う機会を作ろうという試みは、わが国の畜産分野においても日本ET実務者ネットワークなどの有志によって行われています。議論の中身は異なりますが、日米のいずれで出た話題も畜産繁殖分野においてはよくある悩みであり、両方の会に参加して、より良い仕事を行うためには実務者同士のコミュニケーションがいかに重要か、またそのような場がいかに貴重なのかを実感しました。



プレカンファレンスで出た意見。参加者のほとんどが獣医師だったため、獣医師と飼養者とのコミュニケーションに関する話題が多かった

4. おわりに

IETSは、世界中から胚技術関係の研究者・実務者が集まる学会のためにポスター演題数が非常に多く、会場も活気にあふれていました。今回は50周年記念大会ということもあり、基調講演ではIETSや胚技術の歴史を振り返る発表も多く非常に勉強になりました。研究のトレンドとしては、オミクス（トランスクリプトーム、トランスレイトーム、プロテオーム）解析や

細胞外小胞、miRNAに着目した報告が多く見受けられました。研究対象としては卵子成熟や受精から胚盤胞期までの発生過程に着目したものが多くですが、胚盤胞期以降の伸長胚や*in vitro*系を用いた着床へのアプローチも増えてきている印象でした。当団では今後も国内外における最新の知見を収集し、実用技術の開発を目指していきたいと思います。

投稿 コーナー

みるりる（21）みるりるとパトたん 作 宮田彩可



3



1



4



2

※宮田氏は、愛知県刈谷市の清水牧場にお勤めされています。