

研究課題：体細胞クローン受胎牛における分娩遅延の要因

（体細胞クローン胎子の胎盤機能に関する基礎研究：分娩遅延の要因解明）

担当部署：道立畜試 基盤研究部 受精卵移植科 遺伝子工学科 家畜研究部 肉牛育種科

協力分担：

予算区分：外部資金（科研費）

研究期間：2006～2008年度（平成18～20年度）

1. 目的

道立畜試は黒毛和種雄牛の体細胞クローン検定法の確立に取り組んでおり、クローン牛間での肉質の相似性が非常に高く、効率的かつ高精度に種雄候補牛の能力を推定できることを明らかにしている。しかし、現時点でクローン検定は実用化されておらず、その理由として流産率や生後の死亡率が高く、クローン子牛の生産効率が低いことがあげられる。また、クローン子牛は生時体重が増加するケースが多く、クローン胎子を受胎している受卵牛（クローン受胎牛）にみられる分娩遅延は難産を引き起こし、クローン子牛の生産効率を下げの一因となっている。本試験では、クローン子牛の生産効率の改善を目的として、クローン受胎牛における分娩遅延の要因解明を目指す。

2. 方法

1) クローン子牛の生時体重および生存率とコルチゾル分泌能

生時体重、分娩方法（経膈および帝王切開）および生後7日目の生存率を調査し、分娩後の血中コルチゾル濃度を測定した。

2) クローン受胎牛における分娩時のホルモン動態

分娩予定日の4および2週間前、分娩誘起処理前（デキサメサゾン投与前）、デキサメサゾン投与翌日の分娩誘起処理時（プロスタグランジンF_{2α}およびエストリオール投与前）および分娩直前の母体血中エストロン（E1）、エストラジオール-17β（E2）、エストロンサルフェート（E1S）およびプロジェステロン（P4）濃度を測定した。

3) 胎盤におけるエストロジェン合成と活性制御

分娩時の胎盤におけるアロマターゼ（CYP19）、サルファトランスフェラーゼ（SULT1E1）およびサルファターゼ（STS）の遺伝子発現量を解析し、これらの遺伝子発現量と母体血中エストロジェン濃度との相関を調べた。

3. 成果の概要

- クローン子牛は、生時体重が有意に重く、生後7日目の生存率が有意に低かった（表1）。胎子性コルチゾルは母体へ分娩を促すシグナルであるが、分娩後のクローン子牛は正常なコルチゾル生産能を示した（図1）。
- クローン受胎牛は、分娩前の血中活性型エストロジェン（E1およびE2）濃度が低いが、不活性型エストロジェン（E1S）濃度が高く、E1/E1S比が上昇しないために分娩遅延が発生することを示した（図2）。P4濃度は分娩誘起処理後に正常に低下した。
- クローン受胎牛の胎盤におけるエストロジェンの新規合成（CYP19）および活性化（STS）に関する酵素の発現量に異常は無かった。エストロジェンに硫黄分子を結合させ不活性化する酵素（SULT1E1）の高発現が、低いE1/E1S比の原因であることが示された（図3、表2）。

クローン受胎牛の分娩遅延は、血中の活性型/不活性型エストロジェン比が低いことが原因であり、この現象は胎盤における遺伝子発現異常に起因することを示した。

表 1 クローン子牛の生時体重および生存率

子牛	分娩方法	供試頭数	生時体重 (kg)	生存率 ¹⁾
クローン	経膣	19	43.3±2.1	63%
	帝王切開	15	57.9±3.0	33%
	合計	34	49.7±2.1 ^a	50% ^b
対照	経膣	9	29.0±1.6 ^b	100% ^a

1) 生後 7 日目の生存率

a,b : クローン合計と対照の間に有意差あり (P<0.01)

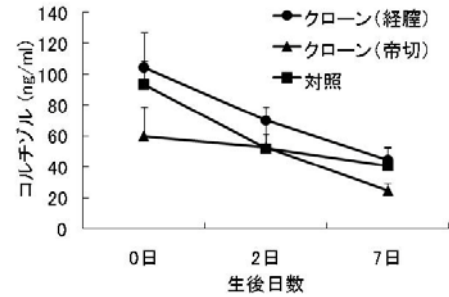


図 1 分娩後のクローン子牛における血中コルチゾール濃度

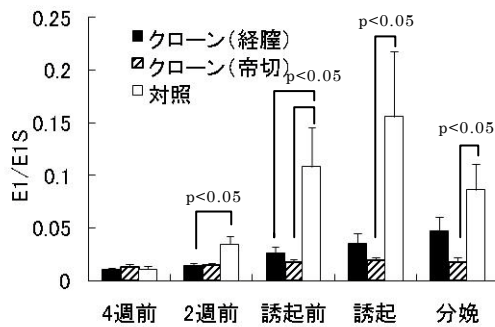


図 2 クローン受胎牛の血中 E1/E1S 比

4、2 週前：分娩予定日の 4、2 週前

誘起前：デキサメサゾン投与前

誘起：プロスタグランジンF_{2α}・エストリオール投与前

分娩：分娩直前

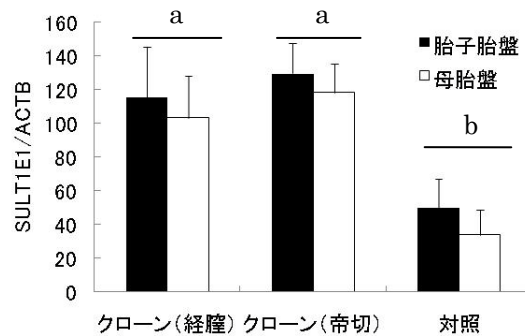


図 3 胎盤における SULT1E1 発現量

a,b グループ間に有意差あり

胎子胎盤と母胎盤間には有意差なし

表 2 クローン受胎牛の分娩時の胎盤における遺伝子発現量と母体血中エストロゲン濃度の相関係数

エストロゲン	CYP19 mRNA		SULT1E1 mRNA		STS mRNA	
	胎子胎盤	母胎盤	胎子胎盤	母胎盤	胎子胎盤	母胎盤
E1	0.45	0.60	-0.71*	-0.48	0.56	0.32
E1S	0.05	-0.13	0.79*	0.25	-0.23	-0.07
E2	0.50	0.84**	-0.65	-0.39	0.62	0.69*

* p<0.05, ** p<0.01

4. 成果の活用面と留意点

- 1) 分娩誘起法を改良してクローン子牛の生産効率を改善するために、本試験による知見を活用する。
- 2) 一般牛の分娩管理労力の低減を目的として、分娩時間をより厳密に制御でき、胎盤停滞の発生を低減できる分娩誘起法を開発する際に、本試験による知見を活用する。

5. 残された問題とその対応

- 1) クローン受胎牛においてエストロゲンの過剰な不活性化を引き起こす原因を明らかにし、十分な効果を得られる分娩誘起技術を開発する。