

氏 名	金 正 翊 キム チヨン イク
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 343 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 畜 産 学 専 攻
学位論文題目	IN VITRO FERTILIZATION OF GOAT OOCYTES WITH CAPACITATED SPERMATOZOA (受精能獲得精子による山羊卵子の体外受精)

論文調査委員 (主 査) 教授 入 谷 明 教授 石 橋 武 彦 教授 並 河 澄

論 文 内 容 の 要 旨

これまで多くの実験動物、牛、豚、ヒトなどで体外受精に成功しているが、山羊においてはその試みもなされていない。著者は山羊において体外受精に使われる卵子及び精子材料の準備に関する一連の研究を実施したのち、それらを基礎として体外受精にとりくみ、大要つぎのごとき成績を得ている。

1. 体外受精用の未受精排卵卵子を多数得るための過剰排卵処置についての実験を行っている。この実験ではホルモン処理と発情との関係およびホルモン処理とそれに伴う卵巢の反応について検討した。プロスタグランディン $F_{2\alpha}$ を、妊馬血清性性腺刺激ホルモン (PMSG) 処理の 6, 12 時間前あるいは PMSG 処理後 24 時間で投与することにより、一定時間内に発情の発現後、ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン (hCG) 注射による過剰排卵を試みた結果、hCG 投与後平均 28 時間で排卵し、排卵率は 70%、排卵数は平均 10 個であった。

2. 体外受精用の成熟卵子を得る他の方法として、ホルモン処理によって発情を誘起した雌山羊卵巢から未成熟卵胞卵子を採集して、体外で培養成熟させる実験を行っている。修正 KRB 液中での培養後 20-30 時間で、約半数の卵胞卵子が成熟し、体内での成熟に要する時間 (28 時間) とほぼ一致した。

3. 上記のような実験用卵子の準備法が確立された段階で、体外受精用の精子、すなわち受精能獲得精子を得るための処理条件について検討した。またこの際山羊卵子への授精にききだって、予備実験として透明帯除去ハムスター卵子への侵入試験により、受精能獲得の有無を間接的に検定した。豚の子宮および卵管内で 5 時間培養した山羊の精子を体外で透明帯除去ハムスター卵子に授精すると、授精後 2 時間で 59% の卵子に精子の侵入が認められた。また兎および牛の子宮内で前培養された山羊精子を使ってもハムスター卵子への精子の侵入が認められた。これらのことから山羊精子は異種の生殖器内でも受精能獲得に近い生理学的変化が誘起されるものと考えられる。

4. つぎに最終的に山羊の成熟卵子を使って体外受精を試みた。すなわち透明帯除去ハムスター卵子に侵入しうるような山羊精子は、ほぼ受精能を獲得しているものと考えられたので、この条件をそなえた精

子を使って山羊卵子への精子侵入の有無をしらべた。豚および兎の子宮内で前培養された山羊精子を授精した結果、透明帯除去卵子には高率に侵入したが、透明帯付着卵子には侵入し得ず、精子受精能の完全獲得のためには前処理の段階で追加されるべき条件の存在が示唆された。

論文審査の結果の要旨

一般に哺乳動物の体外受精に成功することは、その種における受精の初期像を直視下で正確に把握しうることになり、また応用面では、不妊の治療、受精環境の人為的制御、受精卵の移植に関連する技術などの見地からきわめて有意義である。これまでに多くの実験動物、牛、豚、ヒトなどで体外受精に成功しているが、山羊においてはその試みもなされていない。著者は山羊において受精実験に使われる卵子および精子材料の準備に関する一連の研究を実施したのち体外受精にとりくみ、大要つぎのごとき成績を得ている。

1. 体外受精用の未受精排卵卵子を多数確保するために、性腺刺激ホルモン処理と発情との関係およびホルモン処理による卵巢の反応について検討した。その結果、PMSG 処理による発情の発現後 hCG を注射することにより、平均70時間で排卵することを確認した。また排卵率は28%、1頭当りの排卵数は平均10個であった。

2. 体外受精用の成熟卵子を得るための他の方法として、雌山羊の卵巢から未成熟卵胞卵子を採集して体外で培養、成熟させる実験を行い、修正 KRB 液中で20-30時間培養することにより、約半数の卵胞卵子が成熟することを確認した。

3. 体外受精の成功に不可欠な精子の受精能獲得のための処理条件について検討した。この場合受精能獲得の有無をしらべるための卵子材料として、山羊のかわりに透明帯除去ハムスター卵子を利用した。山羊精子を豚の子宮および卵管内で5時間前培養することにより、体外でハムスター卵子に侵入しうる能力を獲得し、授精後2時間で約60%の卵子に侵入しうるような条件をそなえた山羊精子は、受精能を獲得しているものと考えられたので、最終目的である山羊卵子を使っての体外受精を試みた。すなわち透明帯除去および透明帯付きの山羊卵子に、豚および兎の子宮管内で前培養した山羊精子を授精した結果、透明帯除去卵子には高率に侵入したが、透明帯付きの卵子には侵入しえなかった。

透明帯付きの山羊卵子に侵入をみていないので完全な成功とはいえないが、透明帯除去卵子での受精に成功した点で、この動物種での体外受精は大きく進展したものと評価される。

以上のように本論文は体外受精が困難とされている中型家畜において多くの新しい知見を得ており、家畜繁殖学並びに受精生理学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。