

ニホンザルの室内人工繁殖法の確立
(07680914)

平成7年度～平成8年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）
研究成果報告書

平成9年3月

研究代表者 鳥居 隆三
(滋賀医科大学医学部)

研究組織

研究代表者 鳥居 隆三（滋賀医科大学医学部・助教授）

研究分担者 和 秀雄（大阪大学人間科学部・教授）

研究経費

平成7年度 1,100千円

平成8年度 1,100千円

計 2,200千円

研究発表

（口頭発表）

1. Y.Takenoshita, R.Torii, M.Miyashita, Y.Hosoi & A.Iritani.

A Preriminary study to establish a routine method for monkey IVF-ET:A case of cynomolgus monkey as a model.16th Congress, International Primate Society & 19th Conference, American Society of Primatologists, Madison, USA (1966.8-11-16)

2. R.Torii, Y.Masuda, Y.Takenoshita, Y.Hosoi & A.Iritani.

The establishment of routine IVF-ET methodology in the Japanese monkey (*Macaca fuscata*), Satellite Symposium of 8th AAAP, Wakayama (1996.10.10-11)

3. 細井美彦、入谷明、鳥居隆三、増田善行、野田洋一、竹之下洋司.

ニホンザルにおける体外受精並びに顕微授精の試み、第41回日本不妊学会総会、徳島(1996.11.6-8)

滋賀医科大学附属図書館



1997023664

1. 研究機関番号 14202 2. 研究機関名 滋賀医科大学

3. 研究種目名 基礎研究(C)(2) 4. 研究期間 平成7年度～平成8年度

5. 課題番号 07680914

6. 研究課題名 ニホンザルの室内人工繁殖法の確立

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
60106647	三井隆三	医学部	助教授

8. 研究分担者 (所属機関名は、研究代表者の所属機関と異なる場合に記入すること)

研究者番号	研究分担者名	所属機関名・所属部局名	職名
60072675	和秀雄	大阪大学・人間科学部	教授

9. 研究成果の概要 (当該研究期間のまとめ、600字～800字、図、グラフ等は記載しないこと)

本研究は、季節繁殖性を持つニホンザルを医学研究用動物として実験動物化するために、室内で周年にわたって繁殖出来る人工繁殖方法の確立を目的とし、平成7年から8年の2年間に行った。以下に実験経過と成績を示す。

- 1.メス、オス各々の年間の血中ホルモン値の動態、卵巢の形態観察および精巢の組織所見から、オス、メス何れにおいても明瞭な季節繁殖性と夏期の性腺機能の低下を確認した。
 - 2.冬期の繁殖期、腹腔鏡により排卵時期を推定し電気刺激で得られた精子を経膣法によって子宮体部に注入する人工受精法によって6頭中3頭の妊娠、出産に成功した。
 - 3.夏期の非繁殖期、薬物による誘起排卵と精子の経膣的注入によって冬期同様の方法で人工受精を試みたが、6頭すべて妊娠、出産には至らなかった。
 - 4.夏期の性腺機能低下を回復させる方法として除发型GnRHを用いたが十分な機能回復効果は得られなかった。
 - 5.体外受精法(IVF)を試みるべく、誘起排卵法によって採取した成熟卵と電気刺激法によって得た精子を用いてIVFを行った。その結果、16頭中12頭において受精に成功し卵の2～6分割を確認した。
 - 6.精子の凍結保存の検討を行った結果、IVF、ICSIに用いることが出来る精子の保存液と凍結保存方法に目処が付いた。
 - 7.夏期の性腺機能低下時に誘起排卵法による卵子と電気刺激法による精子を用いて顕微授精(ICSI)を試みた結果4例中4例何れにおいても、授精、分割に成功した。
 - 8.上記IVFあるいはICSIで得られた受精卵を腹腔鏡下で卵管内に移植を試みたが、妊娠には至らなかった。
- 以上のように、精液の経膣的人工授精法による人工繁殖法は方法論的には簡便ではあったが、繁殖効率の点では不十分なものに止まった。今後、今回見通しが付いた体外受精、顕微授精法と卵管内胚移植法につきさらに例数を増やすことによって精度を高め、より確実な妊娠維持方法を見出すことによって、周年室内繁殖方法が完成し確立できると考えられる。

10. キーワード

- | | | |
|-----------|----------|---------------|
| (1) ニホンザル | (2) 室内繁殖 | (3) ステロイドホルモン |
| (4) 人工受精 | (5) 体外受精 | (6) 顕微授精 |
| (7) 胚移植 | (8) | (裏面に続く) |

11. 研究発表（印刷中も含む。）
 (雑誌論文)

著者名	論文標題			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
			—	

著者名	論文標題			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
			—	

著者名	論文標題			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
			—	

著者名	論文標題			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
			—	

著者名	論文標題			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
			—	

著者名	論文標題			
雑誌名	巻	発行年	ページ	
			—	

(図書)

著者名	出版者		
書名	発行年	総ページ数	
		—	

著者名	出版者		
書名	発行年	総ページ数	
		—	

ABSTRACT OF RESEARCH PROJECT, GRANT-IN-AID
FOR SCIENTIFIC RESEARCH (1996)

1. RESEARCH INSTITUTION NUMBER : 14202
2. RESEARCH INSTITUTION: Shiga University of Medical Science
3. CATEGORY: Grant-in-Aid for Scientific Research (C)
4. TERM OF PROJECT : (1995 - 1996)
5. PROJECT NUMBER : 07680914
6. TITLE OF PROJECT : The establishment of artificial indoor breeding systems for the Japanese monkey
7. HEAD INVESTIGATOR : 50106647, Ryuzo Torii, Shiga University of Medical Science, Faculty of Medicine, Associate professor
8. INVESTIGATORS (1) : 60072675, Hideo Nigi, Osaka University, Faculty of Human Sciences, Professor
9. SUMMARY OF RESEARCH RESULTS

For the past two years we have investigated methods of artificial indoor breeding in the Japanese monkey. Our goal is to make the Japanese monkey, the seasonal breeder, as good experimental animal for biomedical researches which can breed throughout the year under laboratory conditions. Results obtained in the present investigation are as follows.

- 1) Results of whole year observations of serum hormone level, ovarian morphology, and testicular histology showed clear seasonal changes, and sexual function in both sexes declined distinctly in summer.
- 2) During fertile season in the winter, appropriate timing of ovulation was verified by laparoscopy and sperm collected by electro-stimulation were introduced into the uterus through the vagina. The fertilization resulted in parturition was achieved in 3 out of 6 cases.
- 3) During infertile season in the summer, the ovulation was chemically induced and the artificial insemination attempted by the same methods as in the winter breeding period. However, pregnancy and parturition were not achieved in all of 6 cases.
- 4) A sustained-release formation of a GnRH agonist was utilized maintain the sexual function during summer, but sufficient maintenance of activity was not achieved.
- 5) IVF(in vitro fertilization) was tested using sperms and mature ova acquired through electro-stimulation and chemically induced ovulation, respectively. Fertilization and two to six cleavages of the zygote were confirmed in 12 out of 16 cases.
- 6) Prosperous methods for preservative solution and freezing of sperms available to artificial insemination were established.
- 7) Fertilization and cleavage of the zygote during the summer sterile period were also achieved by ICSI(intra cytoplasmic sperm injection) using sperms and ova acquired through electro-stimulation and chemically induced ovulation, respectively. Fertilization and two to six cleavages of the zygote were confirmed in all of 4 cases.
- 8) On an attempt of embryo transfer (ET), embryos acquired by the above mentioned IVF and ICSI procedures were transferred to the oviduct of females under laparoscopic observations but none of those became pregnant.

As shown above, introduction of sperm into the vagina, being a convenient method of artificial insemination, is not an efficient method for breeding. Now, IVF, ICSI and ET investigated in the present study are expected to become good methods for the year round indoor breeding, through further studies for implantation and maintenance of pregnancies.

10. KEY WORDS

- | | | |
|------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| (1) <u>Japanese monkey</u> | (2) <u>indoor breeding</u> | (3) <u>steroid hormone</u> |
| (4) <u>artificial insemination</u> | (5) <u>IVF</u> | (6) <u>ICSI</u> |
| (7) <u>embryo transfer</u> | (8) | |

(CONTINUE TO NEXT PAGE)

11.REFERENCES

<u>AUTHORS, TITLE OF ARTICLE</u>	<u>JOURNAL, VOLUME-NUMBER</u>
	<u>PAGES CONCERNED, YEAR</u>

1. 研究機関番号 14202 2. 研究機関名 滋賀医科大学
3. 研究種目名 基礎研究(C)(2) 4. 研究期間 平成7年度～平成8年度
5. 課題番号 07680914
6. 研究課題名 ニホンザルの室内人工繁殖法の確立
7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
50106647	加藤 三郎 隆三	医学部	助教授

8. 研究経費
- | | | |
|-------|-------|----|
| 平成7年度 | 1,100 | 千円 |
| 平成8年度 | 1,100 | 千円 |
| 平成 年度 | | 千円 |
| 平成 年度 | | 千円 |
| 平成 年度 | | 千円 |
| 計 | 2,200 | 千円 |

9. 研究経過

本研究は、季節繁殖性を持つニホンザルを医学研究用動物として実験動物化するために、室内で周年にわたって繁殖出来る人工繁殖方法の確立を目的とし、平成7年から8年の2年間に行った。以下に実験経過と成績を示す。

1. メス、オス各々の年間の血中ホルモン値の動態、卵巢の形態観察および精巢の組織所見から、オス、メス何れにおいても明瞭な季節繁殖性と夏期の性腺機能の低下を確認した。
2. 冬期の繁殖期、腹腔鏡により排卵時期を推定し電気刺激で得られた精子を経膈法によって子宮体部に注入する人工受精法によって6頭中3頭の妊娠、出産に成功した。
3. 夏期の非繁殖期、薬物による誘起排卵と精子の経膈的注入によって冬期同様の方法で人工受精を試みたが、6頭すべて妊娠、出産には至らなかった。
4. 夏期の性腺機能低下を回復させる方法として除发型 GnRH を用いたが十分な機能回復効果は得られなかった。
5. 体外受精法 (IVF) を試みるべく、誘起排卵法によって採取した成熟卵と電気刺激法によって得た精子を用いて IVF を行った。その結果、16頭中12頭において受精に成功し卵の2～6分割を確認した。
6. 精子の凍結保存の検討を行った結果、IVF、ICSI に用いることが出来る精子の保存液と凍結保存方法に目処が付いた。
7. 夏期の性腺機能低下時に誘起排卵法による卵子と電気刺激法による精子を用いて顕微授精 (ICSI) を試みた結果4例中4例何れにおいても、授精、分割に成功した。
8. 上記 IVF あるいは ICSI で得られた受精卵を腹腔鏡下で卵管内に移植を試みたが、妊娠には至らなかった。

以上のように、精液の経膈的人工受精法による人工繁殖法は方法論的には簡便ではあったが、繁殖効率の点では不十分なものに止まった。今後、今回見通しが付いた体外受精、顕微授精法と卵管内胚移植法につきさらに例数を増やすことによって精度を高め、より確実な妊娠維持方法を見出すことによって、周年室内繁殖方法が完成し確立できると考えられる。

10. 研究成果報告書として取りまとめられない理由

科学研究費補助金による研究成果の新聞掲載報告書

フリガナ

- 1. 研究代表者 (所属研究機関・所属部局・職) : 馬尾 隆三(滋賀医科大学・医学部・助教授)
- 2. 研究課題名 (研究種目名) : ニホンザルの室内人工繁殖法の確立
()
- 3. 交付総額 : 220万円(研究期間 : 平成7年度 ~ 平成8年度)
- 4. 掲載新聞名 : 新聞(朝刊・夕刊) 平成 年 月 日()掲載
- 5. 掲載された記事部分

機関番号	研究者番号	課題番号
14202	50106647	07680914

(作成上の注意)

- 1. この様式は、科学研究費補助金による研究成果が新聞に掲載されたときに研究代表者が作成し、所属研究機関の事務局を経由して速やかに提出すること。なお、提出にあたっては、特に研究機関の代表者からの公文書によることはなく、科学研究費担当課長等からの事務連絡で差し支えない。
- 2. 様式はA4判縦長で作成し、原則として「5. 掲載された部分」箇所に掲載された記事を貼ることとするが、空欄に貼りきれないような場合は別紙で添付しても差し支えない。