

# 抗ミューラー管ホルモン(AMH)を利用した胚生産性予測技術の実証

誌名	宮崎県畜産試験場試験研究報告 = Bulletin of the Miyazaki Livestock Experiment Station
ISSN	09187278
著者名	北野,典子 北原,豪 坂口,浩平 亀樋,成美 鍋西,久 小仲,瑠偉 杉野,文章 黒木,幹也 須崎,哲也
発行元	宮崎県畜産試験場
巻/号	29号
掲載ページ	p. 4-7
発行年月	2018年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 抗ミュラー管ホルモン (AMH) を利用した 胚生産性予測技術の実証

北野 典子・北原 豪<sup>1)</sup>・坂口 浩平<sup>2)</sup>・亀樋 成美<sup>3)</sup>・鍋西 久<sup>4)</sup>

小仲 瑠偉<sup>3)</sup>・杉野 文章・黒木 幹也・須崎 哲也

<sup>1)</sup>宮崎大学獣医学部、<sup>2)</sup>宮崎県都城家畜保健衛生所、<sup>3)</sup>宮崎県東臼杵農林振興局、

<sup>4)</sup>北里大学獣医学部

Proof of the embryo productivity prediction technique using Anti Mullerian Hormone (AMH)

Noriko KITANO, Gou KITAHARA, Kouhei SAKAGUCHI, Hisashi NABENISHI,

Rui KONAKA, Fumihiko SUGINO, Mikiya KUROKI, Tetsuya SUZAKI

＜要約＞黒毛和種育成牛 7 頭を用いて、抗ミュラー管ホルモン (AMH) 濃度および分娩後の採胚成績を比較したところ、AMH濃度と平均回収卵数は性周期やエネルギー充足状態に関わらず高い相関が見られた。また、黒毛和種成雌牛 22 頭のAMHを測定し、採胚成績と比較したところ、AMH濃度と平均回収卵数の間で正の相関が見られ、供胚牛をAMH濃度の高い区と低い区で比較したところ、平均回収卵数及び平均正常胚数はAMH濃度の高い区で有意に多くなった。このことから、AMH濃度は供胚牛の胚生産性を予測し、早い段階での供胚牛の選抜に有用であることが示唆された。

ウシの過剰排卵処理による採胚は、供胚牛の生理・遺伝的な個体の要因に加えて、環境的要因や飼養管理によっても影響を受けるため、採胚成績にばらつきが多く、安定的な胚生産の妨げとなっている。また、供胚牛の胚生産性を予測する技術に関する報告は少なく、供胚牛の選抜は胚生産性からではなく、血統によってのみ行われているのが現状である。

一方、ヒトの不妊治療では、卵巢予備能の目安となる評価指標として抗ミュラー管ホルモン (Anti Mullerian Hormone: AMH) が用いられている。AMHとは、TGF-βファミリーに属する糖タンパク質ホルモン (40kDa) で、女性では前胞状卵胞および胞状卵胞の顆粒層細胞からのみ分泌されている (図1)。このこ

とから、卵巢の中にどれだけ卵子が残っているかの目安となる指標として活用されている。

そこで、本試験ではAMHを用いた供胚牛の胚生産性予測技術を確立することを目的とし、黒毛和種雌牛のAMH濃度と採胚成績を調査した。

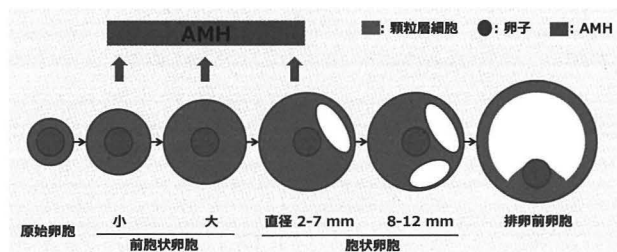


図1 AMH分泌の模式図

## 方 法

### 1 黒毛和種育成牛における胚生産性予測

#### (1) 供試牛

平成 22 年 1 ～ 2 月に市場導入した黒毛和種雌子牛 7 頭 (290.9 ± 7.5 日齢 : 平均 ± SD) を用いた。

#### (2) サンプルングおよび測定項目

サンプルングは、人工授精 (AI) 3 カ月前から分娩後 3 カ月後まで毎月 1 回採血を実施し、血中 AMH 濃度・プロジェステロン (P<sub>4</sub>) 濃度および血中遊離脂肪酸濃度 (NEFA) を測定した。

#### (3) 採胚

初産後約 3 カ月から過剰排卵処理による採胚を開始した。

#### (4) 評価方法

3 ～ 4 カ月間隔で実施した 4 ～ 5 回の採胚で得られた平均回収卵数、平均正常胚数と AMH 濃度との関係について検討を行った。

### 2 黒毛和種成雌牛における胚生産性予測

#### (1) 供試牛

平成 23 年 1 月～平成 29 年 3 月に採卵を実施した当時飼養の黒毛和種成雌牛 22 頭を用いた。

#### (2) サンプルングおよび測定項目

平成 28 年 12 月、平成 29 年 2 月および平成 29 年 4 月に採血を行い、AMH 濃度を測定した。

#### (3) 採胚

採胚間隔は 60 日以上とし、各供胚牛 2 ～ 12 回の採胚を行った。

#### (4) 評価方法

得られた AMH 濃度と平均回収卵数および平均正常胚数の関係について検討を行った。

### 1 黒毛和種育成牛における胚生産性予測

各供胚牛ごとの平均 AMH 濃度と分娩後の採胚成績を図 2 および表 1 に示した。どちらも各供胚牛の間で有意な差が見られた。AMH 濃度が他の供胚牛より有意に高い値を示した 365 号牛は、分娩後の採胚成績において平均回収卵数および平均正常胚数も有意に高い値となった。また、AMH 濃度において有意差のなかった供胚牛同士では、採胚成績においても差がない結果であった。

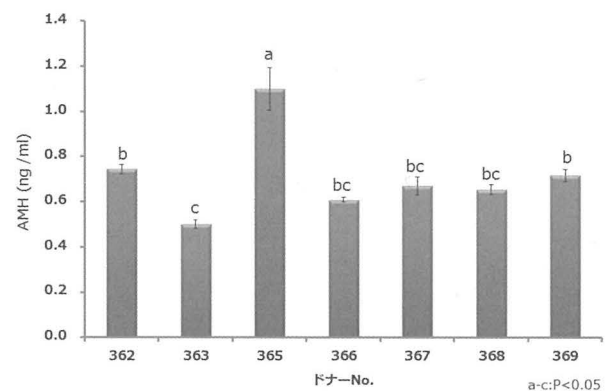


図2 各供胚牛における平均AMH濃度

表1 各供胚牛の分娩後の採胚成績

供胚牛No.	採胚回数	平均回収卵数	平均正常胚数
362	4	22.0 ab	19.8 ab
363	4	15.5 ab	7.3 ab
365	5	33.4 a	26.6 a
366	4	24.3 ab	8.5 ab
367	4	15.0 ab	11.5 ab
368	4	8.0 b	5.0 b
369	5	10.8 b	7.8 b
mean.	4.9	18.0	12.3

a-b:P<0.05

## 結果および考察

次に、各サンプルング時期における平均AMH濃度の推移を図 3 に示した。AI 前は各供胚牛

ごとのばらつきが見られるが、妊娠期間中ではばらつきが見られなかった。また、分娩後は再びばらつきが見られた。各サンプリング時期におけるAMH濃度と採胚成績の関係を評価したところ、AI前と分娩後ではAMH濃度と採胚成績に高い相関が見られたが、妊娠期間中では相関が低いことが示された(表2)。

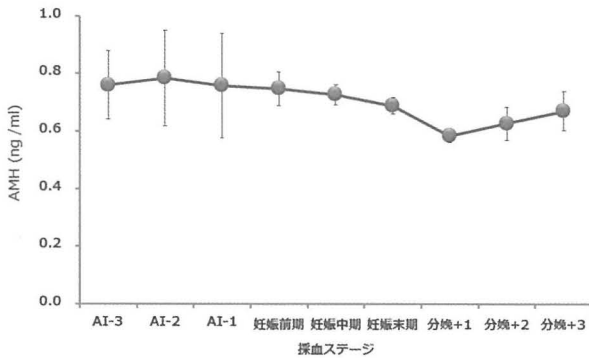


図3 各サンプリング時における平均AMH濃度の推移

表2 各サンプリング時期のAMH濃度と採胚成績の関係

時期	回収卵数		正常胚数	
	相関係数	P値	相関係数	P値
AI前	0.68	0.0006	0.79	<.0001
妊娠前期	0.41	0.0674	0.60	0.0041
妊娠中期	0.38	0.0877	0.68	0.0007
妊娠末期	0.54	0.0133	0.76	0.0001
分娩後	0.77	0.0003	0.78	0.0003

次にP<sub>4</sub>濃度およびNEFA濃度とAMH濃度との関係を図4および図5に示した。どちらも相関性が認められなかったことから、AMH濃度は性周期にもエネルギー充足状態にも影響されないことが示された。

以上のことから、黒毛和種供胚牛の早期選抜基準としてAMHを活用できることが示唆された。

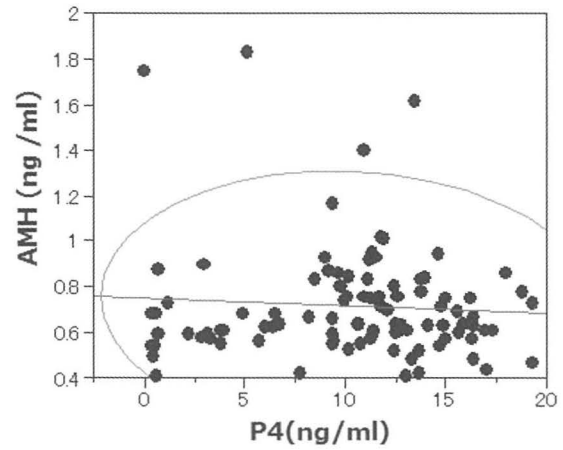


図4 P<sub>4</sub>濃度とAMH濃度との関係

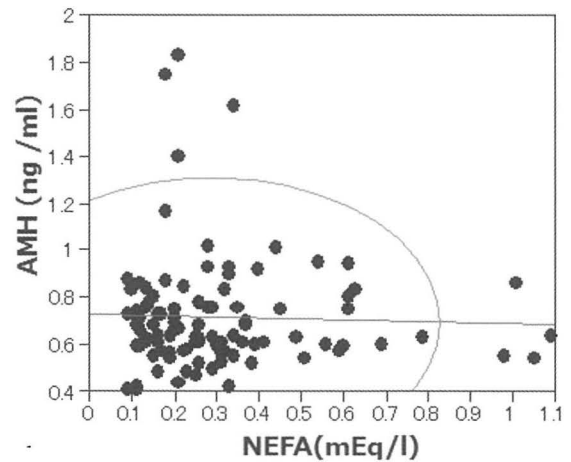


図5 NEFA濃度とAMH濃度との関係

## 2 黒毛和種成雌牛における胚生産性予測

供試した22頭のAMH濃度と平均回収卵数および平均正常胚数との関係を図6および図7に示した。平均回収卵数とAMH濃度との関係は、 $Y=43.636x+749.83$  ( $R^2=0.2349$ )、平均正常胚数との関係は $Y=70.476x+792.74$  ( $R^2=0.212$ )であり、やや相関があることが示された。また、AMH濃度が全供胚牛の平均値以上であった個体を高AMH区(N=11)、平均値以下であった個体を低AMH区(N=11)に分けて検討したところ、高AMH区は低AMH区と比較して平均回収卵数および

平均正常胚数が有意に多いことが示された (表3)。

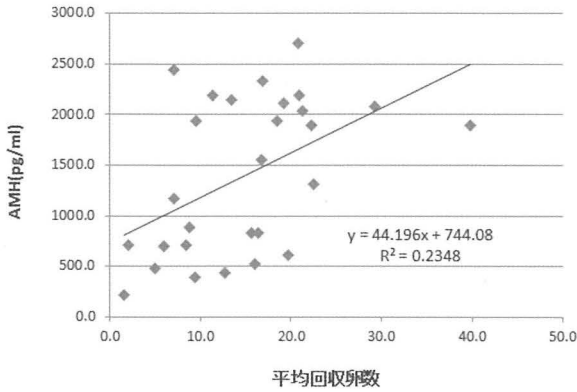


図6 AMH濃度と平均回収卵数の関係

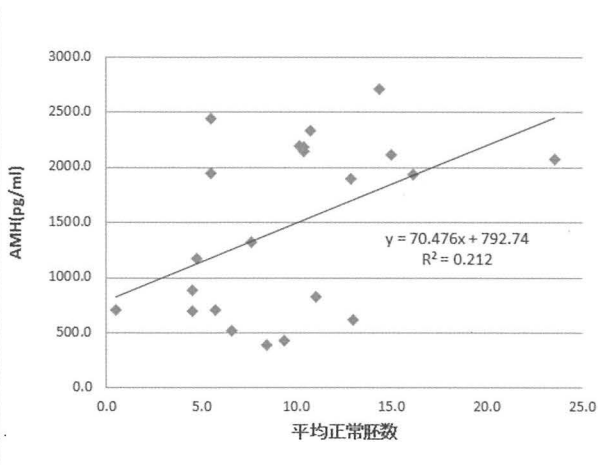


図7 AMH濃度と平均正常胚数の関係

表3 高AMH区と低AMH区と比較

	高AMH区 (N=11)	低AMH区 (N=11)	P値
平均AMH値	2180.4	753.9	
平均回収卵数	18.56	13.00	0.00159
平均正常胚数	13.60	7.58	0.000015

以上のことから、AMH濃度の値が高い供胚牛は平均回収卵数・平均正常胚数が多い傾向があること示された。また、供胚牛を高AMH区

と低AMH区の2区に分けて比較したところ、平均回収卵数・平均正常胚数ともに高AMH区で有意に多くなることが示された。

過剰排卵処理による採胚では、卵巣内に存在する全ての卵胞が卵胞刺激ホルモンに反応するとは限らず、また反応しても排卵せずに遺残卵胞として残存している場合もある。しかしながら、今回測定した22頭において平均よりAMH濃度の高い供胚牛では平均回収卵数が有意に多くなったことから、AMH濃度は供胚牛の胚生産性を予測し、早い段階での供胚牛の選抜に有用であることが示唆された。

### 参考文献

referred Broekmans *et al.*, *Trends Endocrinol. Metab.* 19,340-347,2008  
 北原豪、鎌田立、邊見広一郎、小林郁雄、大澤健司：日本繁殖生物学会 講演要旨集 (2013), OR2-36  
 平山博樹、内藤学、福田茂夫、藤井貴志、陰山聡一：日本繁殖生物学会 講演要旨集 (2013), P-129  
 平山博樹、浅田正嗣、稲葉泰志、川俣昌和、内藤学、福田茂夫、藤井貴志、陰山聡一：日本繁殖生物学会 講演要旨集 (2015), P-115