

## 日本ウズラにみられた近交退化現象

佐藤 勝 紀

岡山大学農学部

日本ウズラは、わが国の野生ウズラに起源をもち、古くから家禽化が進められた後、1959年以降、鳥類を代表する鶏の実験動物として、わが国のみならず諸外国において、遺伝学、発生学、形態学、生理学、内分泌学、疾病学、薬物学、腫瘍学、行動心理学などの広範囲な研究分野において使用され、実験動物としての価値が高まってきている。

一方、日本ウズラは近交世代の進行に伴い近交退化現象が著明に発現することから、近交退化に関する研究にもしばしば使用されてきている。この近交退化は実験用ウズラの作出、維持、生産にとって重要な形質に影響があることから、近交退化の解析、原因追究は育種学上重要な課題になっている。

本文では、はじめに実験動物の開発に関係してくる近親交配と近交退化現象について述べ、次にこれまで報告されている日本ウズラの近交退化現象について論ずる。さらに、岡山大学農学部家畜育種学研究室で行なった日本ウズラの近交退化の原因追究について論述するとともに、今後の研究の課題について述べる。

### 1. 近親交配と近交退化現象

実験動物の開発にあたって、近交系の作出は非常に重要視されている<sup>1)</sup>。その理由としては、近交系は系統特有の遺伝的特性をもち、かつ系統特有の反応を示すことから、特定の研究目的に適した実験動物となることである。さらに、近交系の利点としては、いずれの個体も遺伝的な類似性が高いので、各種の実験処理に対して均一な反応が期待できることがあげられる。

一方、近交系同志の交配によって得られる交雑群 F<sub>1</sub> は、遺伝分散が近交系と同様に小さく、また環境変動に対する緩衝能力、自己調節能力が高いために、反応の均一性も得られることから検定用

動物として重要視されてきている。

これらの研究用、検定用に使用される近交系の作出には、近親交配が採用されている。この近親交配は遺伝子をホモ化する可能性が最も高く、遺伝的に固定する場合にもっともすぐれた交配方法である。マウス、ラット、ハムスター、モルモット、ウサギなどの実験動物では多くの近交系が作出され、それぞれの研究分野にとって貴重な材料となっているが、これらの近交系はいずれも長年にわたる極度の近親交配によって確立されたものである。

他方、近交系の作出にあたって、近親交配を継続していくと、不良な形質についても同時に遺伝的に固定し、その結果、奇形、致死因子、半致死因子などのホモ化も進行してくる。また、近親交配によって近交度が上昇してくると、生物としての適応性が低下し、体の大きさ、成長率、産子能力、産卵能力、泌乳能力、受精率、孵化率の低下、活力の低下などいわゆる近交退化現象が発現してくる<sup>19)</sup>。

このように、近交退化現象は近親交配の継続によって発現してくることから、実験動物の近交系の作出、維持、生産にあたって極めて大きい障害となっている。

### 2. 日本ウズラの近交退化現象

前述したように、近交退化を解明し、その原因を追究することは実験動物の開発に関連して重要な課題である。日本ウズラは他種動物に比較して、近交退化が発現しやすい点から、これまで近交退化の研究材料としてしばしば用いられてきている。

日本ウズラの近交退化現象は、1966年 Sittmann *et al*<sup>20)</sup> によってはじめて検討が加えられた。それによると、全きょうだい交配によって近交世代を進めた場合、受精率、孵化率、育成率に著しい退

化現象が現われ、近交系の作出は3世代で困難になることが認められている。Sittmann *et al* の報告によると、これらの形質以外にも初産日齢の遅延、未産卵ウズラの出現頻度の増加、体重ならびに卵重の減少が認められている。

その後、新城ら<sup>18)</sup>も全きょうだい交配によって近交世代を進めたが、受精率、孵化率、育成率の急激な低下に加えて、成時体重、産卵数、卵重の減少ならびに性成熟日齢の遅延を認め、5世代以降の作出は困難になることを報告している。

また、Kulenkamp *et al*<sup>9)</sup>は、できるだけ多くの家系数を残す方法で5世代まで近交世代を進めたが、その作出過程で、受精率、孵化率、育成率の低下、産卵数の減少さらには系統数の急激な減少をみている。

Kawahara<sup>4)</sup>、Lucotte<sup>7)</sup>、岡本ら<sup>19)</sup>も近親交配に伴う退化現象について検討を加えているが、いずれも受精率、孵化率、育成率などの生産形質に著しい退化現象のみられたことを報告している。

前田ら<sup>8)</sup>は、ヘモグロビン型を指標にして毎世代ヘテロ同志 (A B × A B) の全きょうだい交配を行ない、近交系の作出を試みた。その結果、維持世代数は12世代となり、これまでの報告の中で最も近交係数の高いウズラ (近交係数90.8%) の作出に成功している。しかし、その作出過程において受精率、孵化率、育成率、産卵数、体重、卵重の減少および初産日齢の遅延が認められている。

一方、Narayan<sup>10)</sup>は、全きょうだい交配によらない交配方法として2重いとこ交配法を採用し、全きょうだい交配との比較において近交世代を進めた。それによると、2重いとこ交配では全きょうだい交配に比較して、受精率、孵化率、育成率、産卵率、体重の減少が少なく、維持世代数は長くなることが認められている。しかし、その場合でもこれらの生産諸形質は近交世代に伴い著しく退化することが認められている。

当研究室では、上記のこれまで報告されている日本ウズラの近交退化現象を確認するために、無作為交配によって維持してきた日本ウズラの閉鎖集団を材料として用い、全きょうだい交配によって近交世代を進めた場合、近親交配が日本ウズラの実産諸形質全般にどのような影響を及ぼすかに

ついて検討した。なお、この実験では上記の主な生産形質以外にこれまで十分検討が加られていなかった入卵率、孵化所要日数、雄の性成熟日齢、適応度指数などについても取り上げ、検討した。

表1は、全きょうだい交配によって近交世代を進めた場合の維持系統数と家系数の推移について示した。近親交配群 (近交群) では1世代目16系統、36家系で出発したが、世代の進行に伴い系統数と家系数は急激に減少し、4世代目では3系統、14家系となり、5世代の作出は困難となった。

表2は、近交係数10%増加あたりの各生産形質の退化量を示した。表からも明らかのように、近交群では受精率、孵化率、育成率、孵化所要日数、性成熟日齢、体重、卵重のすべてに退化の傾向が

表1 近交世代に伴う日本ウズラの維持系統数と家系数の推移

交配群	世代	1	2	3	4
近親交配群	系統数	16	12	7	3
	家系数	36	37	32	14
	胚の近交係数	.250	.375	.500	.594
無作為交配群	家系数	40	40	40	40

表2 近親交配による日本ウズラの実産形質の退化

生産形質	近交係数10%増加あたり	
受精率	2.16%	
孵化率	5.98%	
育成率 (孵化後4週齢まで)	5.52%*	
孵化所要日数	0.07日 <sup>1)</sup>	
性成熟日齢	雄	0.67日 <sup>1)</sup>
	雌	0.96日 <sup>1)</sup>
体重	雄 0週齢	0.03 g
	2	0.43 g
	4	0.71 g
	6	1.18 g
	10	0.50 g
	雌 0週齢	0.10 g
	2	1.01 g
4	1.65 g	
6	3.27 g*	
10	1.41 g	
産卵率	3.77%	
入卵率	0.63%	
卵重	0.21 g	
適応度指数 <sup>2)</sup>	7.33%	

1) 遅延 2) 受精率×孵化率×育成率

\* 5%で有意

みられた。特に受精率、孵化率、育成率、産卵率、雌の6週齢時体重に著しい退化が認められた。

このように、日本ウズラでは近親交配に伴い生産形質全般にわたって近交退化現象が発現すること、特に適応度に関連した形質では、近交退化が著明に発現し、その結果、系統の作出、維持が困難になることが明らかとなった。

日本ウズラの近交退化の原因については、これまで遺伝的荷重、荷重比の面から検討が加えられている。遺伝的荷重は Morton *et al*<sup>10)</sup> の式

$$-\log eS = A + BF$$

で算出されるが、この式ではSは生存率、Aは環境による死亡および近親交配によらない遺伝的死亡、Bは近交によっておこる遺伝的死亡、Fは近交係数、2Bは1個体あたりの致死相当量の下限、2(A+B)は上限である。

Sittmann *et al*<sup>21)</sup> は、上記の式を用い日本ウズラの致死相当量(有害遺伝子の量)について検討を加えている。その結果、日本ウズラの致死相当量は1個体あたり8.7~11.1であることが推定されている。その後、新城ら<sup>18)</sup>、前田ら<sup>8)</sup>、Kawahara<sup>5)</sup>によっても検討がなされ、それぞれ4.9~6.5、4.2~6.1と4.4~4.6、8.7~10.0の値が報告されている。筆者らの行なった実験結果<sup>17)</sup>によると、日本ウズラの致死相当量は1個体あたり4.95~5.78の値となり、日本ウズラ集団では約5~6個の有害遺伝子を保有することが明らかとなった。

一般に、遺伝的荷重は集団のゲノムをホモ接合状態にした場合の適応度の低下の割合を示す数値であり、その値が高い程適応度は著しく低下するものとみられている<sup>14)</sup>。

前述した日本ウズラの遺伝的荷重はこれまで報告されている肉牛<sup>23)</sup>、乳牛<sup>3,15,19)</sup>、豚<sup>15)</sup>、山羊<sup>20)</sup>、鶏<sup>12,15)</sup>の値に比較して高いことから、日本ウズラでは他種動物に比較して、近親交配に伴う生産諸形質の退化現象が顕著に発現したのと考えられる。

Wallace<sup>22)</sup>によると、荷重比(B/A)が25ないし50以上の場合、近交退化の原因は突然変異による荷重であり、それより小さい値の場合には分離による荷重によるものであると考えられている。

筆者らの得た荷重比5.90の値から推察して、近

交退化の原因は分離による荷重すなわち適応度の劣るホモ接合体が必然的に分離出現し、適応度の低下をもたらしたことによるものと考えられる。新城ら<sup>18)</sup>は、得られた荷重比3.226の値から単純な有害遺伝子の保有だけでなく、むしろ多くの遺伝子座にある遺伝子の超優性効果によってもたらされている可能性が大きいと考察している。また前田ら<sup>8)</sup>は、作出した近交7世代および12世代の2つの集団において、荷重比2.21と28.52の異なる値を得ているが、これらの結果から、近交退化の原因は突然変異による荷重に加えて、ポリジーンへのヘテロ性の低下も関与すると考察している。

以上のように、日本ウズラの近交退化の原因についてはこれまで集団遺伝学の面から説明がなされている。

### 3. 日本ウズラの近交退化の原因追究

日本ウズラの近交退化の原因は、前述したように、集団遺伝学の立場から検討が加えられている。しかしながら、何ら原因の解明はなされていない。そこで、当研究室では、近交退化の原因を解明するために、近親交配のさいに顕著にみられた孵化率の低下についてその要因となる胚死亡に着目して、形態学、酵素組織化学、生化学の面から検討を加えた。なお、この研究は、昭和58年、59年度の2ヶ年にわたる文部省科学研究費一般研究(B)「日本ウズラを用いた近交退化の原因追究に関する研究」<sup>2)</sup>(研究代表者 猪 貴義)の研究補助金によって進められたものである。

まずはじめに、近交群と無作為交配群における胚の死亡時期を明らかにするために、胚発育段階を「1」から「17」までに区分し、それぞれの胚発育段階に対応する胚死亡率について両群間で比較検討した。その結果、近交群での胚死亡率は無作為交配群に比較していずれの発育段階においても高く、その差は特に発育段階「1」から「4」までの発育初期段階で顕著であった。さらに、両群における胚死亡率のピークが胚発育段階「1」および「17」の2時期にあることが認められた。さらに、胚死亡率について、発生前期、中期、後期、死ごもり期の4段階に分けて検討した結果、両群ともに発生前期での胚死亡率は中期、後期、死

ごもり期の胚死亡率に比較して高く、また近交世代に伴い顕著に増加することが明らかとなった。このように、発生前期に胚死亡率が高いことから、発生前期での胚死亡は孵化率低下を決定する要因とみられた。

そこで、次に近親交配による発生前期での胚死亡ならびに胚発育異常の原因を明らかにするために、まずはじめに孵卵後2日、3日、4日目の初期死亡胚と発育異常胚について形態学的検討を加えた。その結果、これらの初期死亡胚と発育異常胚では脳、心臓の形成不全、形成異常、脊索、体節の崩壊、消失、血球形成不全、血管発育不全さらに頭屈曲、頸屈曲不全など多くの形態異常が認められた。これらの形態異常は、胚発生過程における器官の分化形成、特に外胚葉と中胚葉性器官の分化形成が障害を受けたことによるものと考えた。近交群と無作為交配群での胚の形態異常を比較すると、両群間に大きな差異は認められなかったが、近交群では無作為交配群より羊膜の発育遅延が多く認められた。このことは、近交群では無作為交配群よりも前羊膜の細胞分裂・増殖速度の低下が多くみられたことに起因しているものと考えた。

孵卵後2日目の初期死亡胚と発育異常胚について、さらに微小形態学的検討を加えた結果、近交群、無作為交配群ともに脳胞、神経管、心臓の形成不全、脳胞の壊死、脱落、脳腔への出芽、脳壁の肥厚、血球の不足さらには体節の部分消失、間充織の壊死、部分消失、大動脈の拡張などの組織器官の形成異常が認められた。以上の結果から、前述した胚の形態異常は組織器官の形成異常に起因して生じたものであることが明らかとなった。

初期死亡胚と発育異常胚の形態異常に関連して、近交群と無作為交配群での胚の脳、神経管、体節、血球、血島の壊死細胞数と分裂細胞数について検討した。その結果、胚における壊死細胞数はいずれの組織においても近交群と無作為交配群の正常胚では少なく、これに対して近交群の死亡胚と発育異常胚では多かった。一方、胚における分裂細胞数はいずれの組織においても近交群と無作為交配群の正常胚では多く、これに対して近交群の死亡胚と発育異常胚では少なかった。以上の

形態学的検討結果から、近親交配による初期死亡と発育異常は細胞の死滅と退行的変化ならびに細胞の分裂・増殖の停止と分裂・増殖速度の低下に起因したものと考察した。

前述の形態学的知見から、近交群では細胞の代謝活性が低下していることが示唆されたので、近交群での細胞の代謝活性の低下を明らかにするために、孵卵後40時間の胚のNADH脱水素酵素、 $\alpha$ -グリセロリン酸脱水素酵素、コハク酸脱水素酵素、酸性ホスファターゼ、アルカリ性ホスファターゼ、非特異性エステラーゼの酵素活性値について酵素組織化学的検討を加えた。その結果、近交群の酵素活性値は無作為交配群に比較して、非特異性エステラーゼ以外はいずれも低い傾向がみられた。特に、その差異は酵素活性値の高い脳、神経管の組織で有意であった。以上のことから、近交群の胚では細胞の代謝活性が低下しているものと考察した。

また、近交群と無作為交配群における胚の発育段階を体節数7~10個、11~14個、15~17個の3段階に分類し、それに対応する胚組織のNADH脱水素酵素、 $\alpha$ -グリセロリン酸脱水素酵素、コハク酸脱水素酵素、酸性ホスファターゼ、アルカリ性ホスファターゼの酵素活性値について検討した。その結果、近交群の胚では体節数が少ないのに対し、無作為交配群の胚では体節数が多いことが確認され、近交群では発育段階の遅れることが明らかとなった。さらに、酵素活性値について体節数7~10個、11~14個、15~17個の胚発育段階で相互に比較したところ、両群ともいずれの酵素活性値も体節数7~10個の胚発育段階では低く、一方体節数15~17個の胚発育段階では高くなる傾向が認められた。以上の結果は、近交群における酵素活性値の低下が発育遅延胚の増加と、これらの胚での著しい酵素活性の低下に起因することを示すものであり、近交群での酵素活性値の低下は胚発生過程の全般にわたる酵素合成機能の低下に起因したものと考察した。

さらに、孵卵後2日、3日、4日目の初期胚のタンパク量、酵素量について生化学的検討を加えた。その結果、近交群では無作為交配群に比べてタンパク量およびヘキソキナーゼ、ホスホリラー

ゼの酵素量はいずれも低い値を示した。近交群での胚タンパク量の減少は胚発生過程でのタンパク合成機能の低下に起因するものであり、また近交群での酵素量の低下は近親交配により遺伝子がホモ化する過程で、酵素の合成機能が全般にわたって低下したことに起因するものと考察した。本研究で取り上げた酵素はいずれも胚の発生と分化に重要な役割を果たすことから、これらの酵素の活性値、量の低下は、胚の発生と分化に関連する代謝系を抑制、阻害するものと考えた。

上記のように、近交群の初期胚ではタンパク量、酵素活性値および酵素量の著しい低下が認められたことから、次にタンパク質、酵素の合成に関与する DNA, RNA の量について生化学的検討を加えた。その結果、近交群における初期胚の DNA, RNA 量は無作為交配群に比較していずれも低くなることが認められた。このような近交群での DNA, RNA 量の減少は胚発生に伴うタンパク質と酵素の合成量を著しく低下させ、その結果、胚発育の遅延と異常、さらには胚死亡をひきおこすものと考えた。

以上のことから、近交群における初期発生段階での胚死亡と発育異常の増加は、胚発育を誘導するポテンシャルエネルギーの不足と、胚の発生、分化に関連する代謝機能の低下に起因したものと考察した。

以上の結果から、日本ウズラの近交退化の原因は遺伝学的な面から、遺伝的荷重が大きいことならびに近交によるポリジーンへのヘテロ性の低下にあることが推定された。さらに、形態学、酵素組織化学、生化学の面から、胚の発生を誘導するポテンシャルエネルギーの不足ならびに代謝機能の低下にあることが明らかとなった。

#### 4. 今後の研究の課題

前述したように、実験動物の開発にあたって、近交系の作出は非常に重要視されている。広範囲な研究分野において使用されてきている日本ウズラにおいてもこれまで近交系の作出がしばしば試みられている。しかしながら、日本ウズラでは近交系の作出過程で近交退化現象が著明に発現し、近交系の作出・維持は非常に困難とされている。

当研究室では、昭和50年から52年度までの3ヶ年にわたる文部省特定研究「実験動物の純化と開発」「家畜・家禽の実験動物化に関する調査・研究」<sup>16)</sup> (研究代表者 猪 貴義)で、日本ウズラの近交系の作出について取り上げた。その検討結果から、日本ウズラの近交系の作出は、徐々に近交係数を高める交配法、具体的には近交係数の比較的高い系統(近交係数50%)を基礎集団とした系統交配(line breeding)ならびに血縁関係のない3家系を基礎集団とした3対の循環交雑(three pairs rotation cross)によって可能であることが示唆された。

新城ら<sup>18)</sup>は、日本ウズラの近交系の作出法として、有害遺伝子の少ない近交系統を選び出し、世代を進めると同時に近交退化が著しくなった時点では、系統内ランダム交配を行ない、一度回復をみてから、再度近親交配を行なうことを提言している。また、前田ら<sup>8)</sup>は日本ウズラ近交系の作出にあたって、遺伝的荷重の小さい系統を選ぶとともに、毎世代、数多くの交配を設定し、その中から適応度の高い個体を辛抱強く選抜する必要があることを提案している。

日本ウズラの近交系を作出するにあたっては、上記のいずれの方法を採用するにしても、その育種過程において厳重な選抜、淘汰を加えるか、あるいは自然淘汰(natural selection)を導入して、適応度の回復、向上をはかる必要がある。

このような育種的方法によって作出された日本ウズラの近交系は実験動物としての価値を一段と高め、今後研究分野での使用範囲を拡大するものとみられる。

日本ウズラの近交系の作出に関連して、その作出過程で発現する近交退化現象を解析し、その原因を追究することは非常に重要である。当研究室では、日本ウズラにおいて発現した近交退化現象のうち、最も特徴的に認められた初期発生段階での胚死亡ならびに胚発育異常の原因について形態学、酵素組織化学、生化学の面から検討を加えている。これまでの検討結果から、近親交配による初期発生段階での胚死亡ならびに胚発育異常は胚発育を誘導するポテンシャルエネルギーの不足と、胚の発生、分化に関連する代謝機能の低下に起因

することが明らかになってきている。しかしながら、胚死亡と胚発育異常の原因追究に関連して、本研究で検討した酵素の種類はわずかであり、今後胚の発生と分化に関係する多くの種類の酵素を取り上げ、初期発生段階での近交胚の代謝機能についてさらに明らかにしていく必要がある。

また、本研究では初期発生段階での胚タンパク質の合成について、タンパク量、DNA量、RNA量の面から検討を加えているが、今後はこれらの量的検討にとどまらず、胚タンパク質の合成機構および調節機構の面から検討を加える必要がある。

最近の生物学特に分子生物学の進歩は目ざましいものがあるが、これらの技術、手法の導入によって、近交退化現象の原因は次第に明らかにされていくものとみられる。

## 文 献

- 1) 猪 貴義：実験動物学. 10-11, 91-104, 養賢堂, 東京, 1982.
- 2) 猪 貴義・河本泰生・佐藤勝紀：日本ウズラを用いた近交退化の原因追究に関する研究. 文部省科研費研究成果報告書, 1-89, 1985.
- 3) Conneally, P. M., W. H. Stone, W. J. Tyler, L. E. Casida and N. E. Morton : Genetic load expressed as fetal death in cattle. *J. Dairy Sci.*, 46 : 232-236, 1963.
- 4) Kawahara, T. : Inbreeding depression in Japanese quail. *Annual Report of National Institute of Genetics*, 23 : 126-127, 1972.
- 5) Kawahara, T. : Genetic loads in wild and domestic Japanese quails. *Annual Report of National Institute of Genetics*, 26 : 76-77, 1976.
- 6) Kulenkamp, A. M., C. M. Kulenkamp and T. H. Coleman : The effect of intensive inbreeding (brother×sister) on various traits in Japanese quail. *Poult. Sci.*, 52 : 1240-1246, 1973.
- 7) Lucotte, G. : Le fardeau Génétique de la Caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*). *Ann. Biol.*, 14 : 167-182, 1975.
- 8) 前田芳実・伊集院正敏・橋口勉・武富萬次郎：ウズラの近交系作出の試み. 家禽会誌, 18 : 86-97, 1981.
- 9) 水間豊・猪 貴義・岡田育穂：家畜育種学. 133-138, 朝倉書店, 東京, 1982.
- 10) Morton, N. E., J. F. Grow and H. J. Muller : An estimate of the mutational damage in man from data on consanguineous marriages. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 42 : 855-863, 1956.
- 11) Narayan, A. D. : Effect of different rates of inbreeding on reproductive characters of Japanese quail. *SABRAO Journal*, 7 : 201-210, 1975.
- 12) 岡田育穂・番匠宏行・青山茂夫・津恵卓三：鶏における遺伝的荷重. 家禽会誌, 16 : 35-38, 1979.
- 13) 岡本悟・松尾昭雄：ウズラの量形質におよぼす近親交配の影響. 佐賀農彙. 46 : 9-16, 1979.
- 14) 大羽滋：集団の遺伝. 120-130, 東京大学出版会, 東京, 1979.
- 15) Pisani, J. F. and W. E. Kerr : Lethal equivalents in domestic animals. *Genetics*, 46 : 773-786, 1961.
- 16) 佐藤勝紀：実験用ウズラの遺伝的統御と大量生産方式の確立に関する研究. 文部省特定研究「実験動物の純化と開発」「家畜・家禽の実験動物化に関する研究」(研究代表者 猪 貴義) 研究報告集録, 昭和50年度～52年度, 77-84, 1978.
- 17) Sato, K., T. Yamamoto, S. Ito, H. Kobayashi and T. Ino : Genetic load in Japanese quail. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 55 : 789-791, 1984.
- 18) 新城明久・水間豊・西田周作：日本ウズラにおける近交退化に関する研究. 家禽会誌, 8 : 231-236, 1971.
- 19) Shotake, T. and K. Nozawa : Genetic load in animal populations. I. Dairy cattle. *J. Zootech. Sci.*, 39 : 180-187, 1968.
- 20) Shotake, T. : Genetic load in animal population. II. Dairy goat. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 42 : 409-416, 1971.
- 21) Sittmann, K. and H. Abplanalp : Inbreeding depression in Japanese quail. *Genetics*, 54 : 371-379, 1966.
- 22) Wallace, B. : Genetic load. Its biological and conceptual aspects. Prentice-Hall Inc., Englewood cliffs N. J. 1970.
- 23) 山本幸造・山岸敏宏・水間豊：奥羽種畜牧場における日本短角種集団の遺伝的荷重. 日畜会報, 51 : 404-407, 1980.