



ET研究所ニュース 令和3年10月号

AIやETを行った牛の妊娠鑑定は、胎齢30日(以下D30)以降に超音波検査を行うことが一般的です。今回は最初の発情回帰が起こる前のD17-18頃に妊娠鑑定を行う新しい方法についての論文を紹介します。

概要・背景

妊娠鑑定はD30以降に行う、超音波検査や妊娠関連タンパク質の測定が一般的である。しかし妊娠していない場合に最初の発情回帰が起こるD21よりも前に妊娠鑑定ができれば、より計画的な交配や空胎期間の短縮が見込める。そこで本研究では、D17-18に受精卵から分泌されるinterferon-tau(IFNT)によって発現が変化する遺伝子、Interferon stimulated genes (ISGs)の発現量と実際の妊否を結びつけられるか調べた。

材料・方法

北海道内で飼育されているホルスタイン経産牛に人工授精(AI)を行い、D17あるいは18に外子宮口付近から綿棒でサンプリングを行い(図1)、その後D30に超音波検査により妊娠鑑定した。サンプリングした組織はRNA抽出を行い、発現変化の大きい3つのISGsをRT-LAMP法により増幅・定量し、遺伝子発現量と妊娠鑑定の結果で50頭分の機械学習を行った。さらに別の30頭について、遺伝子発現量から予想される妊否と超音波妊娠鑑定の結果を比較した。

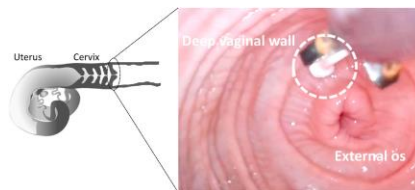


図1 サンプリング部位

結果

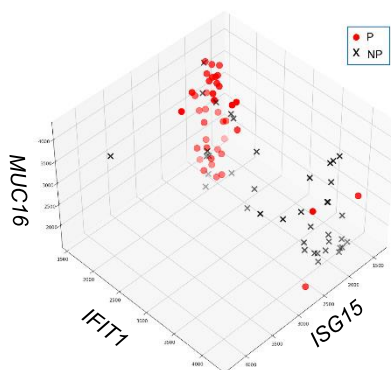


図2 3つのISGsの遺伝子発現量と超音波検査での妊娠/非妊娠(P/NP)の結果
3遺伝子の発現量をもとに3次元プロットしている

遺伝子	Accuracy(%)	Sensitivity(%)	Specificity(%)	PPV(%)	NPV(%)
ISG15	66.3	77.5	55.0	63.3	71.0
IFIT1	85.0	92.5	77.5	80.4	91.2
MUC16	60.0	70.0	50.0	58.3	62.5

遺伝子組み合わせ	Accuracy(%)	Sensitivity(%)	Specificity(%)	PPV(%)	NPV(%)
ISG15,IFIT1,MUC16	86.7	86.7	86.7	86.7	86.7
IFIT1,MUC16	90.0	93.3	86.7	87.5	92.9
IFIT1,ISG15	53.3	66.7	40.0	52.6	54.5
ISG15,MUC16	53.3	66.7	40.0	52.6	54.5

表1 各遺伝子のパラメーター 遺伝子発現が予測する妊娠/非妊娠をP/N、この予測の超音波検査による正/誤をT/Fとして
Accuracy: (TP+TN)/(TP+TN+FP+FN) Sensitivity: TP/(TP+FN) Specificity: TN/(TN+FP) PPV: TP/(TP+FP) NPV: TN/(TN+FN)

表の結果から、単独の遺伝子ではIFIT1の発現量で鑑定を行うのが最も正確で、その精度(Accuracy)は85%でした。またIFIT1とMUC16の発現量を組み合わせることによって、精度は90%まで上昇しました。筆者らはISG15が予測に用いる遺伝子として不適だった理由として、非妊娠牛でもISG15が一定程度発現していることを挙げており、遺伝子発現による鑑定には妊娠牛で十分に発現が高いだけでなく非妊娠牛で十分に発現が低い遺伝子がより適しているのではないかと述べています。過去の研究では末梢血の白血球を用いたD20-21の鑑定で精度が80%程度だったことから、今回の研究ではより早期に、かつ正確に鑑定を行うことができました。さらに遺伝子の種類や組み合わせを試していけば、より正確に鑑定できるかもしれません。

出典: Kunii H, et al. "Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and machine learning application for early pregnancy detection using bovine vaginal mucosal membrane." Biochem Biophys Res Commun 569 (2021): 179-186.

文責: 塚原