

学 位 論 文 題 名

ウシにおける子宮内膜の組織学的変化と
受胎性との関係に関する研究

学位論文内容の要旨

ウシ子宮内膜と受胎性との関係を組織学的に解析することを目的として、子宮内膜の形態学的変化を精査した後、増殖の機序を免疫組織化学的に検討した。ついで、周期的発育に異常の認められた子宮内膜に及ぼすpolyvinyl-pyrrolidone iodine 製剤 (PVP-I) の効果を組織学的に検討した後、野外例においてPVP-I投与後の受胎率を検討することによって、受胎性に及ぼす子宮内膜の形態学的な異常の影響を明らかにすることを試みた。

第1章 未経産牛の発情周期に伴う子宮内膜の形態学的変化に関する検討

正常に発情を繰り返すウシの子宮腺細胞、間質細胞、内膜上皮細胞および内膜機能層上層部における周期的変化を組織学的に検討した。

子宮腺細胞の核分裂像は、発情直前から増加し、発情期に最も多くなった後、漸減し発情後5日目まで観察された。腺腔内分泌物は、発情後2日目から蓄積し始め、4日目から7日目まで多量であったが徐々に減少し、11日目まで認められた。子宮腺細胞の核上空胞は、発情後3日目から7日目までと、16、17日目に観察された。間質細胞の核分裂像は、発情前日から増加し、発情期に極大値を示した後、3日目には見られなくなった。その後、9日目に出現し、12日目までの間は発情周期中で最も多かったが、13日目から急激に減少し、15日目には観察されなくなった。間質細胞の水腫は、発情日において発情周期中で最も高度に認められた後、発情後1日目には減少した。間質細胞の偽脱落膜反応像は、発情後4日目から観察され、5日目から6日目には、広範囲の機能層において著しく増加し、8日目まで認められた。内膜上皮直下の機能層での白血球浸潤は、発情後7日目および8日目においてのみ見られた。子宮出血は、発情日

と発情後1日目においてのみ観察された。内膜上皮細胞の核下空胞は、5日目から6日目においてのみ認められた。

以上の成績から、発情周期に伴って、子宮内膜を構成する細胞は増殖像あるいは分泌像といった形態学的変化を示すことが明らかにされた。

第2章 胚の着床と子宮内膜の形態学的変化

発情から着床に向けての子宮内膜の形態学的変化をリピート・ブリーダー牛（リピート・ブリーダー群）と正常経産牛（対照群）との間で比較検討した。

対照群の発情後1日目および8日目における組織像は、正常牛における組織像（第1章）と一致した。これに対して、リピート・ブリーダー群では、発情後1日目の、子宮腺において、腺細胞の核分裂像は見られず、腺腔内分泌物と核上空胞が著明で明らかな分泌像が観察された。間質細胞では、水腫が認められたが、核分裂像は見られなかった。子宮出血は認められたが、白血球浸潤および内膜上皮細胞の核下空胞は観察されなかった。また、発情後8日目には、腺腔内分泌物が多く、腺細胞の核分裂像は見られなかった。間質細胞の核分裂像および偽脱落膜反応像は、認められなかった。

以上の成績から、リピート・ブリーダー群において、子宮腺細胞および間質細胞の発育の、発情周期に同調しない例のあることが明らかとなり、受胎における子宮内膜の適正な発育の重要性が示唆された。

第3章 発情周期に伴う子宮内膜の insulin-like growth factor-I (IGF-I) および epidermal growth factor (EGF) の局在について

IGF-IとEGFについて、正常牛で、子宮内膜における局在に発情周期に伴う変動があるかどうかを免疫組織化学的に検討し、ついで、リピート・ブリーダー牛の子宮内膜における局在と比較検討した。

正常牛では、発情周期を通して、子宮腺におけるIGF-I陽性細胞は少ないのに対して、内膜上皮および間質では多く観察され、IGF-Iの局在していることが明らかとなった。IGF-I陽性細胞数は、子宮腺では発情期に増加し、内膜上皮および間質においては発情期および黄体中期に増加した。一方、リピート・ブリーダー牛におけるIGF-I陽性細胞数を正常牛と比較すると、発情後1日目には子宮腺および間質で少ない傾向があり、発情後8日目には内膜上皮で少ない傾向があった。

EGF陽性細胞は、正常牛では、発情周期を通して内膜上皮および

子宮腺で非常に少ないのに対して、間質では多く観察され、EGFの局在していることが明らかとなった。内膜上皮および子宮腺におけるEGF陽性細胞は、発情期および黄体後期に増加した。一方、間質におけるEGF陽性細胞は黄体期に多く、発情期には減少した。なお、間質におけるEGF陽性細胞数の極大値を示した時期は、子宮内膜上皮におけるIGF-I陽性細胞数の極大値を示した時期と一致した。一方、リピート・ブリーダー牛では、発情後1日目および8日目の内膜上皮のEGF陽性細胞数は、正常牛に比べて多い傾向があった。

以上の成績から、ウシ子宮内膜におけるIGF-IおよびEGFは子宮腺細胞および間質細胞の増殖に影響を及ぼしていることが示唆された。また、リピート・ブリーダー牛において、正常牛と比べるとIGF-I陽性細胞数の少ない傾向のあったことは、形態学的にも核分裂像のない所見と合致し、IGF-I発現に何らかの障害のあることが考えられた。

第4章 子宮内膜不全牛における polyvinyl-pyrrolidone iodine製剤 (PVP-I) 子宮内注入の受胎率に及ぼす影響

子宮内膜の発育に異常の認められたリピート・ブリーダー牛の子宮内にPVP-Iを注入し、直後に回帰する発情周期において、その子宮内膜がどのように変化するかを組織学的に検討した後、子宮内膜の発育に異常のあることの疑われるウシに対してPVP-Iを投与し、受胎率が向上するかどうかを従来法であるPGF_{2α}投与と比較検討した。

発情後1日目、正常な無処置牛（対照群）では子宮腺細胞および間質細胞の核分裂像が見られたのに対して、PVP-I子宮内注入（PVP-I）群ではどちらの細胞においても核分裂像は観察されなかった。このPVP-I群の組織像は、子宮腺に関しては、正常牛の発情後6日目から8日目における組織像と一致し、間質に関しては、発情後1日目から3日目における組織像と一致していた。発情後8日目には、両群ともに腺腔内分泌物が多く、子宮腺細胞の核分裂像は認められなかった。間質細胞の核分裂像は、両群ともわずかであった。しかし、偽脱落膜反応像は、対照群では見られたのに、PVP-I群では認められなかった。これらの結果から、PVP-I群の子宮腺の組織像は、正常牛の発情後9日目から10日目における組織像と一致し、間質の組織像は、正常牛の発情後8日目から13日目における組織像に類似していた。

薬剤投与後初回発情での受胎率は、人工授精が投与後21日以内に実施された場合、両群間の受胎率に有意差はみられなかったが（36 vs 25%、 $P=0.35$ ）、21日以降に人工授精された場合を含めるとPVP-I群においてPGF_{2α}群よりも高い傾向が認められた（46 vs 25%、

P<0.06)。受胎に要した授精回数は、PVP-I群およびPGF_{2α}群でそれぞれ、1.5±0.7回および1.5±0.6回とほぼ同じであった。

以上の成績から、子宮内膜の周期的発育に異常のあるウシに対して、PVP-Iを子宮内に注入すると、表層部の再生に伴って内膜組織は形態学的に修復されることが示唆された。また、子宮内膜の周期的発育に異常のあることが疑われるウシに対して、PVP-Iを子宮内に注入すると、受胎率の向上しうることが明らかとなった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 金 川 弘 司
副 査 教 授 板 倉 智 敏
副 査 教 授 岩 永 敏 彦
副 査 助 教 授 奥 田 潔 (岡山大学)

学 位 論 文 題 名

ウシにおける子宮内膜の組織学的変化と 受胎性との関係に関する研究

本研究では、ウシ子宮内膜の変化と受胎性との関係を組織学的に解析することを目的として、まず、正常に発情を繰り返すウシの子宮内膜を組織学的に検討した。検討項目は、子宮腺細胞の核分裂像・核上空胞、腺腔内分泌物、間質細胞の核分裂像・水腫・偽脱落膜反応像、内膜上皮直下の機能層での白血球浸潤、子宮出血および上皮細胞の核下空胞である。その結果、発情周期に伴って、子宮内膜を構成する細胞は増殖像あるいは分泌像といった形態学的変化を示すことが明らかにされた。次に、発情から着床に向けての子宮内膜の形態学的変化をリピート・ブリーダー (RB)牛と正常牛との間で比較検討したところ、RB牛において、子宮腺細胞および間質細胞の発育が、発情周期に同調しない例のあることが明らかとなった。そこで、発情周期に伴う子宮内膜増殖の機序を明らかにする目的で、正常牛およびRB牛の子宮内膜におけるinsulin-like growth factor-I (IGF-I)とepidermal growth factor (EGF)の局在を免疫組織化学的に比較検討した。その結果、IGF-IおよびEGFはウシ子宮内膜の増殖に影響を及ぼしていること、RB牛において、IGF-I発現に何らかの障害のあることが分かった。さらに、実用的な子宮内膜の修復法としてRB牛へのpolyvinyl-pyrrolidone iodine (PVP-I)製剤子宮内注入の効果を検討したところ、内膜組織が形態学的に修復されることに伴って受胎率の向上することが分かった。これらの実験結果より、ウシ子宮内膜の発情周期に伴う形態学的変化およびRB牛における内膜の形態学的異常を初めて明らかにし、また、その発生機序の一端として細胞増殖因子の発現に障害のあることを明らかにした。さらに、内膜を修復することにより、より高い受胎率の得られることも実証した。

これらの成果は、ウシ子宮疾患の診断技術を向上し、畜産および胚-母胎関係研

究の発展に貢献するところが大きい。よって、審査員一同は、大谷新太郎氏が博士（獣医学）の学位を受ける資格を有するものと認めた。