

学位論文題名

Characteristics of reproductive physiology during
conception period and maintenance of pregnancy in
Hokkaido sika deer (*Cervus nippon yesoensis*)

(エゾシカ(*Cervus nippon yesoensis*)の受胎と
妊娠維持における繁殖生理学的特徴の解明)

学位論文内容の要旨

受胎日の遅延はシカ類の繁殖成功度に悪影響を与える。そのため、適切な時期に受胎し、妊娠を維持することは繁殖成功を高める重要な要因となる。そこで本研究では、受胎時期と妊娠維持の時期に注目した。ニホンジカにおいては、卵巢動態やホルモン濃度の変化などの基本的な繁殖生理学的情報が欠けているため、どのような生理的要因が受胎時期に影響を与えているかは不明である。そこで本研究では、受胎時期と妊娠維持の時期周辺の基礎的な生理状態および生理機構の特徴について検討した。

第1章では、非発情期から発情期への移行期における卵巢動態とホルモン濃度変化の特徴を明らかにすることを目的とした。8頭の飼育個体を用い、卵胞や黄体の動態、ステロイドホルモン濃度の変化を初回発情周期中とその前後の期間で比較した。発情開始以前から初回発情までは7個体を、初回発情から発情周期3～6回分の期間は3個体を実験に用いた。2～3日間隔で経直腸による超音波画像診断と血中プロジェステロンおよびエストラジオール17 β 濃度測定を行った。その結果、全ての個体において初回の発情以前に発情を伴わない排卵がみられた。また、それに続く一過性の黄体形成と、低濃度のプロジェステロン濃度の上昇が1回以上観察された。プロジェステロンは発情を引き起こす因子であるため、一過性のプロジェステロンによる感作は、発情期の開始に寄与していると推察された。また、発情周期中には主に2ないし3回の卵胞発育波が観察された。さらに、発情時には子宮頸管粘液の結晶化が観察され、発情の指標となることが示唆された。

第2章では、受胎時期と妊娠初期における卵巢動態とホルモン濃度変化の特徴を明らかにし、妊娠しているニホンジカにおいて特徴的に見られる複数の黄体の起源と形成時期を明らかにし、その存在意義を検討することを目的とした。6頭の飼育個体を用いて受胎から妊娠初期までの卵胞と黄体の動態およびステロイドホルモン濃度の変化を2～3日間隔で調べた。その結果、初回の発情で妊娠した

個体3頭において2つの黄体が形成された。2つ目の黄体は、発情に伴う排卵の後に出現した最初の卵胞発育波の主席卵胞が起源であり、これがエストロジェンの上昇と共に排卵し、黄体を形成した。一方、2回目の発情で妊娠した個体3頭では、発情後の主席卵胞は排卵せず、黄体は1つしか形成されなかった。そのため、2つ目の黄体は発情期初回の発情で受胎した場合に形成されることが示唆された。また、黄体の数によってプロジェステロン濃度に差が認められなかったため、2つ目の黄体は1つ目の黄体のみでは不十分なプロジェステロンの分泌を補助することで、初回発情での妊娠の維持に寄与していると推察された。

第3章では、妊娠初期における胎子の成長を明らかにし、正確な胎齢推定を可能にすることを目的とした。5頭の飼育個体を用い、妊娠59～61日まで2～3日間隔で経直腸超音波画像診断により胎子の成長を観察した。妊娠20～26日までに、全ての個体において胎子が確認された。胎子の直頭殿長、曲頭殿長、頭長、胸深、心拍数を計測した結果、両頭殿長の対数を取った値とその他の計測値は直線的な増加を示した。胎齢推定式を算出した結果、直頭殿長が最も早期から計測可能で、高い相関を示すことが明らかとなった。したがって、直頭殿長を計測することで、正確に妊娠初期の胎齢が推定できることが判明した。

第4章では、妊娠期間中の子宮におけるプロジェステロンとエストロジェンの作用部位の変化を推定することを目的とした。複数黄体を持つ24の死体から得られた子宮組織を用いて、発情直後から妊娠末期までのエストロジェン受容体 α (ER α)とプロジェステロン受容体(PR)の発現を免疫組織化学的に調べた。胎齢は第3章の結果と既存の方法をもとに推定した。その結果、ER α およびPRが妊娠25日まで確認され、他の家畜反芻動物と比較すると、受胎後も遅い時期まで発現していることが明らかとなった。したがって、ニホンジカでは妊娠25日程度まで、プロジェステロンのみならずエストロジェンが作用していることが示唆された。

本研究では、非発情期から発情期、受胎から妊娠初期までの卵胞や黄体の動態と血中ステロイドホルモン変化、さらに妊娠個体の子宮におけるステロイドホルモン受容体の分布から、これまで情報の少なかったニホンジカの発情期への移行期、受胎時期や妊娠初期における繁殖生理学的特徴を明らかにした。また、妊娠初期の正確な胎齢推定の方法を確立したことにより、今後野外で得られたサンプルの有効活用を可能にした。

学位論文審査の要旨

主査	教授	坪田 敏男
副査	教授	高橋 芳幸
副査	教授	鈴木 正嗣
副査	准教授	片桐 成二

学位論文題名

Characteristics of reproductive physiology during conception period and maintenance of pregnancy in Hokkaido sika deer (*Cervus nippon yessoensis*)

(エゾシカ (*Cervus nippon yessoensis*) の受胎と
妊娠維持における繁殖生理学的特徴の解明)

論文提出者は、エゾシカの繁殖成功度に影響を与える受胎と妊娠維持の時期に着目し、これまでに情報の少ないエゾシカにおける基礎的な繁殖生理学的特徴を明らかにすることを目的として研究を行った。

まず、非発情期から発情期への移行期における卵胞および黄体の動態を超音波画像診断装置で調べ、繁殖期初回の発情の前に発情を伴わない排卵、それに続く黄体形成と一過性で低濃度の血中プロジェステロン濃度の上昇がみられることを明らかにした。

また、妊娠エゾシカについても超音波画像診断により複数の黄体の起源と形成時期について検討し、2つ目の黄体は繁殖期初回の発情で妊娠した場合にみられ、発情に伴う排卵の後にみられる最初の卵胞発育波の主席卵胞が排卵して形成されることを明らかにした。

ついで、妊娠初期における正確な胎齢推定を可能にするために、超音波画像診断により胎子の成長を観察し、胎子は妊娠20～26日に最初に映像化され、妊娠61日目までは直頭殿長の測定により胎齢推定が最も正確に行えることを明らかにした。

さらに、妊娠個体の子宮組織におけるエストロゲン受容体 α (ER α)とプロジェステロン受容体(PR)の妊娠期間における発現を調べ、ER α は他の反芻動物よりも遅い時期である妊娠25日目まで子宮内膜間質で発現していること、またPRは子宮内膜間質および子宮筋層では妊娠期間を通して発現していることが明らかとなった。

本研究により、エゾシカにおける受胎と妊娠維持に関わる基礎的な繁殖生理学

的特徴が明らかとなった。よって、審査委員一同は、上記博士論文提出者柳川洋二郎氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。