

学 位 論 文 要 約

氏 名 木 村 優 希

題 目 重 軛 馬 に お け る 妊 娠 異 常 の 新 規 診 断 法 確 立 な ら び に 新 生 子 代 謝 異 常 の 評 価 に 関 す る 研 究

ウマは 11 ヶ月の長い妊娠期間を経て分娩に至る動物であるが、早期胚死滅、臍帯捻転、上行性胎盤炎 (Ascending Placentitis : AP) などにより、分娩まで妊娠を維持できないことが多い。しかし、ウマは季節繁殖動物であるため、妊娠喪失が起こった場合、次の繁殖シーズンまで交配することは不可能である。さらに、分娩まで妊娠を維持した場合でも、難産による子馬の死亡や虚弱により、正常子馬を生産できない場合もあり、これらがウマの繁殖において大きな問題となっている。このため、ウマの妊娠成立から分娩に至るまでの生理および病態に関する理解が必要である。軽種馬についての研究は比較的進められている一方で、北海道十勝地方で生産が盛んな重軛馬についての研究は少ない。そこで本研究ではウマの妊娠成立から分娩にかけて、重軛馬を中心に、妊娠中および新生子の異常検出法確立のための基礎および臨床獣医学的な知見を得ることを目的とした。

第 1 章では、アクチビンの受容体 (ActR) - I A/B, II A/B 蛋白の発現を、妊娠したサラブレッドの子宮胎盤組織、子宮内膜杯、黄体について、免疫組織化学的手法を用いて調査した。その結果、ActR の 4 型全てがウマの子宮内膜上皮、子宮腺、栄養膜、子宮平滑筋、子宮内膜杯、黄体において発現していることが判明した。アクチビンは ActR の I 型および II 型が共役することで作用を発揮することから、これらの組織におけるアクチビン作用発現が推察された。アクチビンは他の動物において子宮胎盤組織への着床準備、胚や胎盤、子宮腺の発達、子宮平滑筋の収縮性抑制、栄養膜細胞の子宮内膜への陥入促進、黄体機能抑制に働くが、ウマにおいても同様の作用が発揮されていると推察された。

第 2 章では、妊娠した重軛馬における血漿中アクチビン A 濃度を、妊娠 7 ヶ月 (181-210 日) から 12 ヶ月 (331-360 日) にかけて、ELISA 法により測定した。後産を採取し、3 頭が病理学的に AP と診断され、それ以外の臨床的に健康であった 31 頭を正常群とした。正常群の血中アクチビン A 濃度は妊娠 7 ヶ月 (平均値 ± 標準偏差, 67.24 ± 8.50 pg/ml) から 12 ヶ月 (193.07 ± 1224.80 pg/ml) にかけて増加した ($p < 0.05$)。AP 症例のうち 2 頭が正常群より高値を示したが、これは胎盤における抗炎症反応および妊娠維持機能の亢進により、アクチビン A 産生が増加した結果であると推察された。AP 症例の残りの 1 頭は正常群よりも低値を示したが、アクチビン A が十分に産生・分泌されなかった結果であると推察された。以上のことより、妊娠した重軛馬の血中アクチビン A 濃度は、胎盤の機能や病態に関連して変化し、AP 症例において正常妊娠馬と異なる推移を示すことが明らかになった。

第 3 章では、妊娠した重軛馬において経直腸超音波検査により、子宮胎盤結合厚 (Combined Thickness of the Uterus and Placenta : CTUP) の測定と画像の分析を実施した。後産の病理学的検査の結果 AP と診断された 3 頭を胎盤炎群とした。それ以外の流産、早産、外見上明らかな奇胎妊娠の計 7 頭を異常産群とした。臨床的に健康で、AP でないことが診断された 25 頭を正常群とした。正常群の CTUP は妊娠 7 ヶ月 (中央値 7.08 mm, range

5.68-11.27mm) から 12 ヶ月 (中央値 13.31mm, range 7.44-16.31mm) にかけて増加し ($p < 0.05$), その値は軽種馬における過去の報告よりも高値を示した。これは重種馬の胎盤が大きいためであると推察された。正常群の上位 25%の個体が含まれる第 3 四分位 (妊娠 7 ヶ月 7.54mm, 妊娠 12 ヶ月 15.19mm) より大きい CTUP を示した個体は胎盤炎群 100% (3/3 頭), 異常群 86% (6/7 頭) であり, 胎盤炎および異常産においては CTUP が増加することが推察された。胎盤剥離様所見の発生は, 正常群 20% (5/25 頭) であったのに対し, 胎盤炎群では 67% (2/3 頭), 異常産群では 29% (2/7 頭) であり, 胎盤炎との関与が推察された。子宮胎盤組織の凹凸は全群に一般に確認され, 重種馬の一般的な所見であると考えられた。子宮胎盤組織の 2 層化 (子宮と胎盤が識別可能な状態) は正常群 32% (8/25 頭), 胎盤炎群 33% (1/3 頭), 異常産群 43% (3/7 頭) において確認され, 正常群の 1 頭を除いて妊娠 10 ヶ月以降に確認されたことから, 胎盤発達を反映していると考えられた。

第 4 章では難産が重種馬新生子の血液酸塩基平衡および血清乳酸濃度に与える影響について調査した。重種馬の子 35 頭の頸静脈より, 出生直後, 出生後 1 時間, 12 時間, 1 日に採血した。分娩第 2 期が 30 分未満かつ 1~2 人による軽度牽引を実施した 22 頭を正常産群, 分娩第 2 期が 30 分以上かつ 3 人以上あるいは助産器使用による強度牽引を実施した 13 頭を難産群とした。出生直後に難産群において正常産群よりも有意に低い pH ($p < 0.01$), 重炭酸イオン濃度 ($p < 0.01$), 総二酸化炭素 ($p < 0.05$), ベースエクセス ($p < 0.01$) および有意に高いアニオンギャップ ($p < 0.05$), 血清中乳酸濃度が示され ($p < 0.01$), 乳酸性代謝性アシドーシスが確認された。90mmHg 以上の二酸化炭素分圧は, 難産群では 3 頭に確認されたが, 正常群では確認されず, 難産群における高炭酸ガス血症のリスクが示唆された。難産中の胎子圧迫や胎盤剥離により, 胎子胎盤組織が低還流および低酸素状態に陥っていたと推察された。

以上のことから, 妊娠維持に重要なアクチビン は妊娠馬の子宮胎盤組織および黄体に受容体蛋白が発現し, 作用を発揮しており, 血中アクチビン A 濃度の測定は重種馬の上行性胎盤炎検出に有用であると考えられた。また, 重種馬の子宮胎盤厚は軽種馬よりも大きく, この測定は重種馬の AP および異常産検出に有用であると推察され, 難産は子馬に乳酸性代謝性アシドーシスを発生させることが判明した。

学 位 論 文 要 約

氏 名 KIMURA, Yuki

題 目 Studies on Diagnosis for Abnormal Pregnancy and Evaluation for Neonatal Metabolic Disorders in Heavy Draft Horses
(重挽馬における妊娠異常の新規診断法確立ならびに新生子代謝異常の評価法に関する研究)

In horse reproduction, pregnancy loss occurs in 20% of pregnancy, and the main cause is ascending placentitis (AP). If dams can labor, dystocia and neonatal death and weakness can occur. Therefore, studies about horse pregnancy and parturition from view of physiology and pathology are necessary. In light horse breeds, studies about them are progressed, however studies in heavy draft horses, most of which are bred in Tokachi, Hokkaido, are little. Hence this study aimed to obtain basic and clinical veterinary knowledge for pregnancy and newborn abnormality.

The first study aimed to localize activin receptors (ActRs) I A/B and II A/B using immunohistochemistry in the uteroplacental tissues, endometrial cup (EC), and corpora lutea (CL) in pregnant thoroughbred mares. All four isoforms of ActR expressed in the endometrial epithelium, uterine glands, trophoblasts, myometrium, EC, and CL. Both of ActR - I and II are necessary for expression of activin effects, hence, it was suggested that activin play roles on these tissues. In other animals, activin roles, such as regulation of trophoblast implantation, invasion, and development, development of uterine glands and placenta, myometrial tocolysis, and inhabitation of CL effects, are known, and same effects in horses were speculated.

In second study, plasma activin A was measured in pregnant heavy draft horses by ELISA from 7 to 12 months of pregnancy. Placentas after parturition was pathologically examined, and 3 mares were diagnosed as AP. Thirty-one mares, which were without placentitis and clinically healthy, were in the normal group. Activin A concentration in the normal group was increased as pregnancy progressed from 7 months (median 67.5pg/ml, range 54.4-76.1) to 12 months (median 177.2pg/ml, range 106.3-318.1) of pregnancy ($p < 0.05$). Activin A concentration in two of AP mares were higher than the normal group, and increased activin A production due to the acceleration of placental anti-inflammatory reaction and pregnancy maintenance mechanism were considered as the reason. Activin A concentration of the one of AP mares was lower than the normal group, and decreased production and secretion was considered as the reason. Based on these results, it was inferred that blood activin A concentration in pregnant heavy draft horses changes with placental function and pathology, and it is different from the normal pattern in AP mares.

In the third study, the combined thickness of the uterus and placenta (CTUP) and ultrasonographic images of uteroplacental tissues were investigated in 35 pregnant heavy draft horses from 7 to 12 months of pregnancy. The mares were divided into three groups: those pathologically diagnosed as placentitis (placentitis group, n=3); those who had abortion, premature birth, or fetal malformation (abnormal group, n=7); and those who had no abnormal findings and clinically healthy (normal group, n=25). In the normal group, CTUP increased as pregnancy

progressed from 7 months (median, 7.08 mm; range, 5.68–11.27) to 12 months of pregnancy (13.31 mm; 7.44–16.31 mm) ($p < 0.05$) and was higher than those reported previously in light horse breeds; large placentas of heavy draft horses may explain this high CTUP values. Values of CTUP greater than the 75th percentile of the normal group from 7 months (7.54 mm) to 12 months of pregnancy (15.19 mm) were detected in 100% of the placentitis group (3/3) and in 86% of the abnormal group (6/7), and it was suggested that CTUP increased in placentitis and abnormal parturition in heavy draft horses. Ultrasonographic images of placental separation were obtained in 67% of the placentitis group (2/3), 29% of the abnormal group (2/7), and 20% of the normal group (5/25), and relation with placentitis was considered. Ultrasonographic images showing uteroplacental roughness were observed even in the normal group, and this should be common in heavy draft horse. Uteroplacental distinguishability, i.e. clear border line could be seen between these tissues, occurred in 32% of the normal group (1/3), 67% of the placentitis group (6/7), and 43% of the abnormal group (3/7), and this should reflect placental development because this image observed after 10 months of pregnancy exclude one of these mares. These findings suggest that increased CTUP and placental separation would reflect placentitis and abnormal pregnancies and may help to detect them in heavy draft horses.

In the last study, the effects of dystocia on blood acid-base balance and serum lactate concentration in heavy draft newborn foals were investigated. Venous blood samples were collected from 35 foals at 0 hr (within 5 minutes), 1 hr, 12 hr, and 1 day after birth. Normal birth was defined as labor < 30 min without strong fetal traction ($n = 22$), and dystocia was defined as prolonged labor > 30 min with strong fetal traction ($n = 13$). The dystocia group, showed lower pH ($p < 0.01$), bicarbonate ($p < 0.01$), total carbon dioxide ($p < 0.05$), and base excess ($p < 0.01$), and higher anion gap ($p < 0.05$) and lactate ($p < 0.01$) at 0 hr. Remarkably high pCO₂ values (> 90 mmHg) were observed in three foals in the dystocia group but in none of the foals in the normal birth group at 0 hr. These results suggest that dystocia results in lactic acidosis and may be related to respiratory distress. Fetal compression and placental separation may have resulted in decreased fetoplacental perfusion and hypoxia.

Based on these results, following things were clarified by this study. First, activin receptors were expressed in the utero placental tissues and CL in horses, and activin, which is important hormone for maintenance of pregnancy, would express actions on these tissues. Second, measuring blood activin concentration in pregnant heavy draft horses can be useful method to detect AP. Third, CTUP values in heavy draft horses were higher than that in light horse breeds, and ultrasonographical examination for measuring CTUP and detecting placental separation would be useful to detect AP and abnormal pregnancy in heavy draft horses. Finally, dystocia caused lactic acidosis in neonatal foals. However, the number of horses used in this study was few, so further investigation with more horses and clinical cases are necessary for the development of reproduction in heavy draft horses.