

氏名(本(国)籍)	木村優希(富山県)		
主指導教員氏名	帯広畜産大学 教授 南保泰雄		
学位の種類	博士(獣医学)		
学位記番号	獣医博甲第517号		
学位授与年月日	平成30年9月21日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻		
研究指導を受けた大学	帯広畜産大学		
学位論文題目	重軌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		
審査委員	主査	帯広畜産大学 教授	佐々木 基 樹
	副査	帯広畜産大学 教授	南保泰雄
	副査	岩手大学 教授	高橋 透
	副査	東京農工大学 教授	渡辺 元
	副査	岐阜大学 教授	村瀬 哲磨

学位論文の内容の要旨

馬の妊娠期には、早期胚死滅、臍帯捻転、上行性胎盤炎(Ascending Placentitis: AP)などが多発し、分娩まで妊娠を維持できないことが多い。また、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、生産性の低下を招く大きな問題となっている。そこで本研究では、北海道十勝地方で生産が盛んな重軌馬を中心に、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て研究を実施した。

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型全てが馬の子宮内膜上皮、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することから、これらの組織における局所的なアクチビン作用発現が示唆された。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、馬においても同様の作用が発揮されている可能性が示唆された。

第2章では、妊娠した重軌馬における血漿中アクチビンA濃度を、妊娠7~12ヶ月にかけて、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±8.50pg/ml)から12ヶ月(193.07±1224.80pg/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、妊娠した重軌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示唆された。

第 3 章では、妊娠した重軌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 7.08mm, 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。これは重軌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) であつたのに対し、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、重軌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 章では難産が重軌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。出生後の重軌馬の子 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。難産による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ており、血中アクチビン A 濃度の測定は重軌馬の上行性胎盤炎検出に有用であると考えられた。また、重軌馬の子宮胎盤厚は軽種馬よりも大きく、この測定は重軌馬の 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。これらの知見は、重軌馬の生産性向上に有用な診断法確立のための基礎的知見となるものと考えられた。

審査結果の要旨

馬は、早期胚死滅、臍帯捻転、上行性胎盤炎 (Ascending Placentitis : AP) などにより流産が多いことが知られている。また、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る。軽種馬についての研究は比較的進められているが、北海道十勝地方で生産が盛んな重挽馬についての研究は少ない。そこで本研究では重挽馬を中心に、雌馬の妊娠期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型全てが馬の子宮内膜上皮、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。アクチビンはこれらの組織において、胚や胎盤、子宮腺の発達、栄養膜細胞の子宮内膜への陥入促進などに作用しているものと推察された。

第2章では、妊娠重挽馬における血漿中アクチビン A 濃度を ELISA 法により測定し、病理学的に AP と診断された3頭と比較した。正常群の血中アクチビン A 濃度は妊娠末期にかけて増加した。AP 症例には一環した増減は認められなかった。妊娠重挽馬の末梢血中には、血中アクチビン A が高濃度に存在し、胎盤の機能や病態に関連して変化していることが示唆された。

第3章では、妊娠した重挽馬において経直腸超音波検査により、子宮胎盤結合厚 (CTUP) の測定と画像の分析を実施し、後産の病理学的検査により AP と診断された3頭、およびそれ以外の異常を示した計7頭と比較した。正常群の CTUP は末期にかけて増加し、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。また、子宮胎盤剥離様所見の発生、子宮胎盤組織の2層化において、胎盤炎、異常産との関連が確認され、臨床診断上有用な検査方法となりうることが示唆された。

第4章では、難産により出生した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正常群と比較して検索した。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、重炭酸イオン濃度、総二酸化炭素、ベースエクセスおよび有意に高いアニオンギャップ、血清中乳酸濃度が示され、乳酸性代謝性アシドーシスが確認された。

本研究を通じて、重挽馬妊娠雌馬および新生子に関して、生産管理上問題となっている妊娠異常ならびに新生子代謝異常の評価に関する有用な知見を明らかにした。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Effects of dystocia on blood gas parameters, acid-base balance and serum lactate concentration in heavy draft newborn foals

著者名：Kimura, Y., Aoki, T., Chiba, A. and Nambo, Y.

学術雑誌名：Journal of Equine Science

卷・号・頁・発行年：28 (1) : 27-30, 2017

- 2) 題目：Combined thickness of the uterus and placenta and ultrasonographic examinations of uteroplacental tissues in normal pregnancy, placentitis, and abnormal parturitions in heavy draft horses

著者名：Kimura, Y., Haneda, S., Aoki, T., Furuoka, H., Miki, W., Fukumoto, N., Matsui, M. and Nambo, Y.

学術雑誌名：Journal of Equine Science

卷・号・頁・発行年：29 (1) : 1-8, 2018

- 3) 題目：Expression of activin receptors in the equine uteroplacental tissue: An immunohistochemical analysis

著者名：Kimura, Y., Sasaki, M., Watanabe, K., Dhakal, P., Sato, F., Taya, K. and Nambo, Y.

学術雑誌名：Journal of Equine Science

卷・号・頁・発行年：29 (2) : 33-37, 2018

既発表学術論文

- 1) 題目：Hematological and biochemical features of postpartum fever in the heavy draft mare

著者名：Aoki, T., Kimura, Y., Oya, A., Chiba, A., Ishii, M. and Nambo, Y.

学術雑誌名：Journal of Equine Science

卷・号・頁・発行年：27(1) : 13-16, 2016

- 2) 題目：Effects of a single use of the GnRH analog buserelin on the induction of ovulation and endocrine profiles in heavy draft mares

著者名：Miki, W., Oniyama, H., Takeda, N., Kimura, Y., Haneda, S., Matsui, M., Taya, K. and Nambo, Y.

学術雑誌名：Journal of Equine Science

卷・号・頁・発行年：27 (4) : 149-156, 2016