

平成 27年 1月 29日

学 長 殿

主 査 清水 隆

学位論文審査の要旨及び結果並びに最終試験の  
結果について（報告）

平成26年 12月 12日付けで依頼されました下記の者の学位論文審査  
の要旨及び結果並びに最終試験の結果を別紙のとおり報告いたします。

記

専 攻 畜産衛生学専攻（博士後期課程）

氏 名 真方 文絵

(別紙1)

学位論文審査の結果の要旨	
専攻	畜産衛生学専攻 (博士後期課程)
氏名	真方 文絵
審査委員署名	主査 清水 隆 副査 宮本 明夫 副査 口田 圭吾 副査 耕野 拓一 副査 松井 基純
題目	乳牛における炎症性子宮疾患由来エンドトキシンによる 卵巣機能障害に関する研究
審査結果の要旨 (1,000字程度)	
<p>分娩後の乳牛では子宮への細菌感染が認められ、子宮炎や子宮内膜炎など炎症性子宮疾患を発症する。炎症性子宮疾患の乳牛においては、繁殖性が低下している。特に、卵胞から分泌される血中エストラジオール濃度の低下や排卵遅延など卵巣機能に関わる機能が低下している。本研究では、感染細菌から放出されるエンドトキシンであるリポポリサッカリド (LPS) に着目し、卵胞発育に伴うステロイドホルモン産生および免疫細胞機構におけるLPSの影響について、検討した。</p> <p>研究課題1では、子宮に炎症がみられる子宮炎牛を用いて、分娩前後の血中LPS濃度および白血球数の推移を経時的に解析した。その結果、子宮炎牛の血中LPS濃度は、分娩後の8週までの長い期間にわたり高い値で推移していること、好中球数は分娩早期に減少すること、リンパ球に一種であるCD8陽性細胞数が分娩後長期にわたり高い値で推移していることが明らかとなった。これらの結果は、LPSが白血球に影響していることを示していることから、好中球の機能の一つである活性酸素産生能について調べた。その結果、活性酸素産生能が分娩後に増加することが示された。これらのことから、血中のLPSは白血球数に影響</p>	

するとともにその機能にも影響するが示された。

研究課題2では、食肉処理場由来の卵巣および子宮を用いて、子宮の炎症度合と卵胞液中LPS濃度および卵胞機能との関連性を調べた。子宮の炎症は、肉眼的かつ組織学的に評価した。卵胞液中にLPSが存在することが示されたが、子宮の炎症度合とは関係ないことが示された。卵胞液中LPS濃度についてみると、LPS濃度の高い卵胞とLPS濃度の低い卵胞が存在していた。特に、卵胞液中のLPS濃度が高い卵胞では卵胞液中エストロジオール濃度の減少およびエストロジオール産生に関与するP450アロマトラーゼ遺伝子の発現が減少していることが明らかとなった。これに加え、アポトーシスに関連するカスパーゼ3遺伝子の発現が増加していることが分かった。これらのことから、卵胞液中に存在するLPSが卵胞を構成している細胞の機能を減退させていることが推察された。卵胞の中には生殖細胞である卵母細胞が存在している。そこで、卵母細胞の成熟および胚発生能に及ぼすLPSの影響について体外成熟培養法を用いて検証した結果、LPSは卵母細胞の核成熟を阻害すること、ミトコンドリアの細胞質拡散の阻害およびミトコンドリア膜電位差の低下(細胞質成熟阻害)を引き起こすことが示された。さらに、LPS存在下で成熟した卵母細胞の受精能および胚発生能をみてみたところ、卵割率の低下および胚盤胞期胚への発生率の低下が示された。

本研究の結果から、子宮の炎症による卵巣機能の低下には、免疫応答の長期的な変動、すなわち分娩後のリンパ球数の高推移および好中球の機能亢進の関与、および卵胞液中に存在するLPSが卵胞構成細胞の機能低下や卵母細胞の受精能および胚発生能の低下などが要因となっている可能性が示された。

以上について、審査委員全員一致で本論文が帯広畜産大学大学院畜産学研究科博士後期課程の学位論文として十分価値があると認めた。

#### 学位論文の基礎となる学術論文

- 1) 題 目 Comparison of bacterial endotoxin lipopolysaccharide concentrations in the blood, ovarian follicular fluid and uterine fluid: A clinical case of bovine metritis  
著者名 Magata F, Ishida Y, Miyamoto A, Furuoka H, Inokuma H, Shimizu T  
学術雑誌名 The Journal of Veterinary Medical Science  
(巻・号・頁) (77巻・1号・81-84頁)  
発行年月 2015年 1月
- 2) 題 目 Lipopolysaccharide in ovarian follicular fluid influences the steroid production in large follicles of dairy cows  
著者名 Magata F, Horiuchi M, Echizenya R, Miura R, Chiba S, Matsui M, Miyamoto A, Kobayashi Y, Shimizu T  
学術雑誌名 Animal Reproduction Science  
(巻・号・頁) (144巻・1-2号・6-13頁)  
発行年月 2014年 4月

(別紙2)

最終試験の結果の要旨	
専攻	畜産衛生学専攻（博士後期課程）
氏名	真方 文絵
審査委員署名	主査 清水 隆 副査 宮本 明夫 副査 口田 圭吾 副査 耕野 拓一 副査 松井 基純
実施年月日	平成27年 1月 14日
試験方法 (該当のものを○で 囲むこと)	<input checked="" type="radio"/> 口頭・筆記
要 旨	
<p>主査および副査の5名は、学位申請者に対し、研究棟I号館E2502において、学位申請者本人に口頭発表による学位論文内容の説明を行わせ、その内容について質疑応答を行った。また、関連する専門知識について口頭により試問を行った。</p> <p>その結果、学位申請者が帯広畜産大学大学院畜産衛生学専攻博士後期課程の修了者としてふさわしい学力および見識を有すると判断し、博士（畜産衛生学）の学位を授与するに値すると判断した。</p>	