

12 : ウシの黄体における Biopsy (生体組織検査法) 技術の開発

畜産科学科 生殖科学講座 宮本明夫
生殖科学グループ

メールアドレス akiomiya@obihiro.ac.jp

研究の概要

【目的】 ウシの黄体が自発的に退行するためには、子宮から放出される PGF2 α が必要である。PGF2 α は、黄体が存在する側の卵巣血流の減少を誘導する。私たちはこれまで、黄体退行に先立ち黄体周辺部血流域 (CLBF) が急激に増加することを明らかにしてきた。本実験では、ウシの自発的な黄体退行過程において、黄体内部の血管作動性物質に関する mRNA 発現変動を経時的に調べることを目的とした。そこで、自発的退行中のウシ黄体内組織を経時的に採取するため、カラードップラー超音波画像診断装置を用いて Biopsy (生体組織検査法) の技術開発・確立と評価を行った。

【方法】 フィールド科学センターで飼養しているホルスタイン種雌ウシ (n=5) を用いた。カラードップラー超音波画像診断装置を用い、Day10 (発情日 = Day 0) から 1 日 2 回超音波像と CLBF 像を観察し、同時に尾静脈より採血を行った。期間を、中期黄体期 (Day10-13)、CLBF 増加前 (Day14-16)、CLBF 増加期 (Day17-18)、退行期 (Day19) の 4 期間に分類した。各時期で、経膈超音波プローブを用いて 18G のバイオプシー針を進入させ、微量の黄体組織を採取した。黄体組織はリアルタイム PCR 法を用い、各 mRNA 発現を測定した。

【結果】 全頭で発情 (21.1 \pm 0.7 日) が確認された。正常な日数で黄体退行、発情、排卵が起きたことから、周期中における黄体の頻回微量バイオプシーは有効な手法であることが分かった。また、CLBF 増加期で黄体内エンドセリン-1 (ET-1) とアンギオテンシン変換酵素 (ACE) mRNA 発現が増加し、1-2 日後の退行期でも高値を維持した。さらに、Cyclooxygenase-2 (COX-2)、PGF 合成酵素 (PGFS) mRNA 発現は、退行期で有意に増加した。以上の mRNA 発現の結果は、これまで多数報告されてきた屠場由来黄体組織での mRNA 発現の結果とほぼ一致しており、周期中における黄体の頻回微量バイオプシーの確立が証明されたと考えられる。

