HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Effect of seminal plasma proteins on the normalization of endometrial epidermal growth factor profile and fertility in repeat breeder dairy cows [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Dagvajamts, BADRAKH
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第14112号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78470
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Dagvajamts_BADRAKH_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：ダグバジャム バドラク

審査委員

主査	教授	片 桐 成 二
副査	教授	木 村 和 弘
副査	教授	坪 田 敏 男
副査	助教	柳 川 洋 二 郎

学位論文題名

Effect of seminal plasma proteins on the normalization of endometrial epidermal growth factor profile and fertility in repeat breeder dairy cows

（精漿タンパク質がリピートブリーダー牛の子宮内膜における上皮成長因子濃度変化および受胎性の正常化に及ぼす効果）

発情周期や生殖器に異常がみられないにもかかわらず、3 回以上交配を繰り返しても受胎しない牛はリピートブリーダー（repeat breeder, RB）牛とよばれ、その存在は酪農経営に大きな経済的損失をもたらす。近年、約 70%の RB 牛において子宮での上皮成長因子（epidermal growth factor, EGF）濃度の発情周期に伴う変化が失われており、この異常の解消が RB 牛の受胎性回復につながることが報告された。またマウスや豚では、精漿は子宮でのサイトカイン・増殖因子ネットワークへの作用を介して子宮機能を調節することが明らかになってきた。そこで本研究では、第 1 章において精漿が RB 牛の子宮における EGF 濃度変化の正常化と受胎性回復に及ぼす効果を調べ、第 2 章においてその活性をもつ精漿中のタンパク質を同定した。

第 1 章では、まず精漿を牛における精液の射出部位である腟深部と EGF 発現異常のみられる子宮内に投与し、子宮での EGF 濃度変化の指標となる発情後 3 日目の EGF 濃度を測定することで精漿の投与部位が子宮での EGF 濃度変化に及ぼす効果を調べた。その結果、精漿は腟内に投与すると EGF 濃度の周期的変化を正常化するが、子宮への投与ではこの効果はみられないことが分かった。ついで、精漿の投与量が RB 牛の子宮における EGF 濃度変化の正常化に及ぼす効果を調べるため、精漿 0.5 ml および 10.0 ml をそれぞれ RB 牛の腟内に投与したところ、EGF 濃度の正常化率に差異はみられなかったが、精漿を 10.0 ml 投与した RB 牛の方が EGF 濃度の周期的変化が回復した後の子宮内膜 EGF 濃度が高かった。一方、0.5 ml の精漿を 10.0 ml に希釈して腟内に投与したところ、EGF 濃度の周期的変化の回復率および回復後の EGF 濃度はいずれも 10.0 ml の精漿を投与した場合と同等であった。これ

らの結果から、精漿 0.5 ml 中には子宮での EGF 濃度変化を正常化する十分な活性が含まれており、投与試料の液量によりその効果に差異の生じることが示唆された。最後に、10.0 ml に希釈した 0.5 ml の精漿を RB 牛に投与して受胎性に及ぼす効果を調べたところ、対照群に比べて子宮内膜 EGF 濃度の正常化率（58.3% vs. 22.6%）および受胎率（44.4% vs. 19.4%）が増加した。また、EGF 濃度変化が正常化した RB 牛では異常が持続した牛に比べて受胎率が高かった（61.9% vs. 20.0%）。以上の結果より、精漿には RB 牛の EGF 濃度変化を正常化する作用があり、この作用が受胎性の回復につながることが示された。

第 2 章では、ゲルクロマトグラフィーおよび 2 次元電気泳動法を用いて精漿中のタンパク質を分離し、RB 牛に投与して発情後 3 日目の子宮内膜 EGF 濃度を調べることで子宮での EGF 濃度変化を正常化し受胎性を回復させる活性をもつタンパク質を同定した。まず、ゲルクロマトグラフィーによりタンパク質を分離したところ、分子量 28,000 以下の領域に高い活性が認められた。この領域のタンパク質を 2 次元電気泳動法によりさらに分離して活性を調べたところ、分子量 16,000-29,000、等電点 5.8-7.0 の領域にその活性が含まれることが分かった。ついで、この領域に含まれる 15 個のタンパク質スポットを液体クロマトグラフィータンデム質量分析装置により解析したところ、受胎性との関連が示唆されていた 4 つのタンパク質（bovine seminal proteins、リポカリン型プロスタグランジン D 合成酵素、トランスフォーミング増殖因子-β_1 およびオステオポンチン）を含む 12 個のタンパク質スポットが同定された。そのうち 4 つはオステオポンチンのアイソフォームであり、その 1 つである分子量 29,000、等電点 6.5-6.9 のアイソフォームは精漿中の含有量に比例して RB 牛の子宮での EGF 濃度を増加させた。以上の結果から、精漿中に含まれるオステオポンチンには RB 牛の子宮において EGF 濃度変化を正常化する作用があり、これが精漿による子宮での EGF 濃度変化の正常化および受胎性の回復に関わるものと考えられた。

本研究の成果は、現在の人工授精による乳牛の繁殖管理では活用されていない精漿による子宮機能調節作用を用いた新たな受胎促進技術につながるものであり、酪農業の経済的損失の抑制によりその発展に寄与すると考えられる。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者ダグバジャム バドラク氏の学位論文は、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学位論文の審査等に合格と認めた。