



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Effects of milk osteopontin on the normalization of endometrial epidermal growth factor profile and restoration of fertility in repeat breeder dairy cows [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Hay Mar Kyaw
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15209号
Issue Date	2022-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/87237
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hay_Mar_Kyaw_review.pdf, 審査の要旨



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：Hay Mar Kyaw

審査委員	主査	教授	坪田	敏男
	副査	教授	片桐	成二
	副査	教授	松井	基純
	副査	助教	柳川	洋二郎

学位論文題名

Effects of milk osteopontin on the normalization of endometrial epidermal growth factor

profile and restoration of fertility in repeat breeder dairy cows

（乳由来オステオポンチンが乳用リピートブリーダー牛における
子宮内膜上皮成長因子発現の正常化と受胎性回復に及ぼす効果）

乳牛における繁殖障害は乳房炎と並び酪農業に多大な損失をもたらすことから、その対策にはさまざまなアプローチからの検討が行われている。なかでも、生殖器の器質的な異常、臨床症状および発情周期に異常がみられないにもかかわらず3回以上授精を繰り返しても受胎しないリピートブリーダー（RB）牛の存在は、乳牛1頭あたりの価値が高く、欧米の酪農先進国のようにその対策として長期不受胎牛を淘汰することが困難なわが国の酪農業においては、独自の対策が求められている喫緊の課題である。学位論文提出者の HayMarKyaw 氏は、RB 牛の約 70%にみられる子宮での上皮成長因子（EGF）濃度異常を解消することで受胎性を回復させることを目的に、この異常を解消する効果が報告されていた精漿に含まれるオステオポンチン（OPN）に着目し、OPN を豊富に含む乳汁から OPN を精製して子宮内膜 EGF 濃度異常の解消に対する効果を検討した。

第1章では、イオン交換カラムクロマトグラフィーを用いて乳清タンパク質を分離し、分子量 61、37 および 31 kDa の3つのタンパク質バンド（それぞれバンド I、II および III）が総タンパク質量の 85%を占める分画を得た。また、これら3種のタンパク質をウエスタンブロット法およびアミノ酸質量分析法により解析し、いずれも OPN であることを示した。次いで、この3種の OPN を含む乳汁由来 OPN（mOPN）を RB 牛の腔内に投与したところ、精漿と同程度に子宮内膜 EGF 濃度を正常化し、受胎率を向上させることができた。また、これらの成績は OPN 溶解用リン酸緩衝液（PBS）のみを投与した場合の正常化率および受胎率に比べて高かった。以上の結果から、乳汁由来の mOPN は精漿由来 OPN（29 kDa）とは分子量は異

なるものの、子宮内膜 EGF 濃度異常の解消と受胎性の回復に同等の効果を有することが明らかとなった。一方、乳汁はその入手の容易さから精漿に比べてより実用的な OPN 調製の原材料であるが、乳汁中にはウイルス等の病原体が排泄されるため、乳汁由来の OPN を治療に用いる場合には感染症伝播の潜在的なリスクへの対策が必要と考えられた。

そこで、第 2 章では感染症伝播のリスクを避けつつ mOPN の受胎性回復効果を活用するため、RB 牛個々の乳汁から分離した OPN を用いる治療プロトコルの有効性を検討した。まず、治療用 OPN 調製に必要な乳汁の量を決定するため、泌乳ステージ毎に乳中 OPN 含量を調べた。その結果、正常牛の OPN 含量は初乳で高値を示したが、その後急速に低下したため泌乳初期、中期および後期の 3 ステージ間で差異はみられなかった。また、RB 牛の泌乳中期および後期の乳汁中の OPN 含量は、正常牛の同一ステージと同等であった。一方、3 種の OPN 含量の割合は泌乳ステージおよび牛のタイプ（正常牛と RB 牛）による差異がみられた。正常牛では、泌乳初期および中期にはバンド I および II がバンド III よりも高い割合で含まれていたが、泌乳後期にはその差異はみられなくなった。これに対し、RB 牛では泌乳中期および後期のいずれもバンド I および II の割合がバンド III に比べて高かった。さらに、RB 牛の乳汁から分離できる OPN 量から、治療に用いる mOPN (1 mg) を調製するためには 100 mL の乳汁を必要とすることが分かった。

次いで、RB 牛の乳汁から mOPN を分離し、乳汁を採取した RB 牛自身に投与して子宮内膜 EGF 濃度および受胎性に及ぼす効果を調べた。RB 牛由来 mOPN を投与した場合の EGF 濃度正常化率は、PBS を投与した場合よりも高く、正常牛由来 mOPN を投与した場合と同等であった。一方、RB 牛由来 mOPN 投与後の受胎率は、PBS および正常牛由来 mOPN を投与した場合の中間の値であった。以上の結果から、個々の RB 牛から採取した乳汁由来 OPN を用いる治療プロトコルは、試験規模が小さく明らかな受胎性改善効果を確認できなかったが、子宮内膜 EGF 濃度を高い割合で正常化したことから乳用牛の RB 対策に有用なことが示唆された。

以上のように、本研究により学位論文提出者は、乳汁から調製した OPN を用いて RB 牛の子宮内膜 EGF 濃度異常を解消し、受胎性を回復させる治療法を開発した。また、乳汁由来の OPN 利用に伴う潜在的な感染症伝播のリスクを回避する治療プロトコルの有効性も示した。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Hay Mar Kyaw 氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。