



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Mechanisms causing reduced fertility under heat stress in relation to uterine environment and oocyte developmental competence in dairy cows [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	河野, 光平
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15508号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/89911">https://hdl.handle.net/2115/89911</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Kohei_Kawano_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：河野 光平

審査委員	主査 教授	坪田 敏男
	副査 教授	片桐 成二
	副査 准教授	山口 聡一郎
	副査 准教授	柳川 洋二郎

### 学位論文題名

Mechanisms causing reduced fertility under heat stress in relation to uterine environment  
and oocyte developmental competence in dairy cows

(乳牛の子宮環境と卵母細胞の発生能に関連した暑熱ストレス下での  
受胎性低下のメカニズム)

乳牛の繁殖成績の低迷、とりわけ夏季の暑熱ストレスによる乳牛の受胎率低下は酪農経営の健全性に関わる重要な問題である。暑熱による受胎性低下のメカニズムは多岐にわたるが、暑熱による体温上昇が高温に感受性の高い卵子および受精直後の初期胚の発生能を低下させて早期胚死滅を増加させる機序が重要とされる。このため、高体温に抵抗性となる胚盤胞期胚を子宮内へ移植する胚移植が夏場の受胎率向上に有効とされるが、暑熱期には胚移植による受胎率も低下する。そこで申請者は、暑熱期における胚移植の受胎性低下には母体側すなわち子宮の機能異常が関わると考え、第1章では牛において受胎性の指標とされる子宮内膜での上皮成長因子 (Epidermal growth factor: EGF) 濃度異常と暑熱期の受胎性低下の関係を調べた。

第1章では、まず北海道および九州において飼養されているホルスタイン種泌乳牛 365 頭を用い、6月～9月（暑熱期）および10月～1月（対照期）に子宮での EGF 濃度を調べてその異常の発生率を比較した。その結果、いずれの地域でも暑熱期の EGF 濃度異常の発生率が高く ( $P < 0.05$ )、暑熱期に EGF 濃度異常を示す牛の割合は北海道および九州で対照期のそれぞれ2倍および3倍に増加した。次に、暑熱期の九州でホルスタイン種泌乳牛 79 頭を用い、発情日および EGF 濃度により受胎性を診断する発情後3日目の直腸温度と EGF 濃度異常の発生率の関係を調べた。試験牛の一部 (67 頭) には、発情後7日目に胚移植を行って受胎性を評価した。その結果、発情後3日目の直腸温度によらず、発情日の直腸温度が高い ( $\geq 39.5^{\circ}\text{C}$ ) 牛では、EGF 濃度異常の発生頻度が高く (64.1 vs. 30.0%,  $P < 0.05$ )、胚移植による受胎率は低かった (26.7 vs. 51.4%,  $P < 0.05$ )。以上の結果から、暑熱による発情日の体温上昇が子宮内膜での EGF 濃度異常を介して受胎率を低下させることが明らかとなった。

一方、人工授精による受胎率の低下は、牛への暑熱の影響が和らぐ秋季においても継続することが知られている。申請者は、秋季には夏季の暑熱ストレスによって発育中に負の影響を受けた卵胞由来の卵子が排卵するため排卵した卵子の発生能が低く、受胎性が低下すると考えて、第2章では暑熱が小卵胞内卵子の発育および発生能に及ぼす効果を調べた。

第2章では、まず初期胞状卵胞 (直径 0.5-1 mm) に由来する卵子-卵丘-顆粒層細胞複合体 (oocyte-cumulus-granulosa complexes: OCGCs) の体外発育培養系 (in vitro growth: IVG) を用いて、暑熱が小卵胞由来 OCGCs の機能および発生能に及ぼす効果を調べた。その結果、暑熱環境下の乳牛の体温変化を模した温度条件 (38.5°C: 5 h, 39.5°C: 5 h, 40.5°C: 5 h, 39.5°C: 9 h) で 12 日間培養した暑熱群では、卵子の核成熟率、受精後の卵割率、顆粒層細胞のステロイドホルモン産生能、卵子中の活性酸素種量および卵子と卵丘との細胞間結合の程度はいずれも対照群と同等であったが、卵子の発育率および胚盤胞への発生率が低下した ( $P < 0.05$ )。また、暑熱群では、培養後の卵子中の還元型グルタチオン (reduced glutathione: GSH) 量も低下していた ( $P < 0.05$ )。次いで、GSH の合成を促進するシステインを培地に添加し、暑熱負荷をかけた卵子の発育、発生能および GSH 量を調べたところ、システインの添加によって卵子中の GSH 量が増加し、卵子の発育と胚盤胞への発生率が改善された (27.9 vs. 6.1%,  $P < 0.05$ )。以上の結果から夏季の暑熱ストレスは、発育中の卵胞内卵子の GSH 量を減少させることで冷涼な秋季に排卵する卵子の発育および発生能を低下させ、受胎率を低下させると考えられた。

以上のように、本研究において申請者は夏季の暑熱ストレスが乳牛において子宮内膜機能の異常を引き起こし、暑熱期の受胎率改善に有効とされる胚移植による受胎率も低下させることを示した。さらに、夏季の暑熱ストレスは卵子中の GSH の枯渇を介して、秋季に排卵する卵子の発育および発生能を低下させることで暑熱の軽減した秋季にも受胎率を低下させる可能性を示した。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 河野 光平 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。