

牛の子宮内膜炎における LPS が繁殖に及ぼす影響

○山本直樹¹、西村 亮²、山下泰尚³、森田剛仁⁴、永野昌志⁵

(¹島根県食肉衛生検査所、²鳥取大学・獣医繁殖学、³県立広島大学・動物生殖生理学、⁴鳥取大学・獣医病理学、⁵北海道大学・繁殖学)

牛の子宮内膜炎は分娩後の子宮回復過程で発生し、農場の経営に影響を与える主要な繁殖障害の一つである。その診断には頸管粘液の混濁度に基づき臨床型子宮内膜炎を診断する方法に加え、子宮内に挿入したサイトブラシのスミア中の多形核白血球 (PMN) の割合 (PMN%) に基づき潜在性子宮内膜炎を診断するサイトブラシ法が普及しつつある。子宮内膜炎が卵巣機能に影響を及ぼす機序には不明点が多いが、空胎期間延長や受胎率低下を招くことからリピートブリーダーと診断されている牛には潜在性子宮内膜炎罹患牛が多く含まれると考えられている。また、リポポリサッカライド (LPS) が卵胞のエストラジオール産生や卵母細胞の核成熟に影響を及ぼすと報告されているが、その機序は不明である。本研究では牛の子宮内膜炎由来 LPS が卵巣に及ぼす影響を明らかにするため、と体由来の生殖器を用いて実験を行った。【実験 1】潜在性子宮内膜炎の診断法であるサイトブラシ法、組織学的検査および細菌培養による診断結果を比較した。サイトブラシ法および組織標本で観察される炎症性細胞として PMN および単核細胞の割合 (MNC%) を調べた。頸管粘液検査により臨床型子宮内膜炎を除外し、サイトブラシ法の PMN が 8%以上の牛を潜在性子宮内膜炎と診断した。組織標本の PMN%と比較したところ、サイトブラシ法の PMN%は子宮内膜浅層の PMN 分布と相関したが、MNC%についてはサイトブラシ法と組織学的検査のいずれとも関係しなかった。また、細菌培養結果は PMN%および MNC%いずれとも関係しなかった。このことから、サイトブラシ法は臨床上有用であるものの、すべての子宮内膜炎を診断できるわけではなく、正確な診断には組織検査と細菌培養が必要であると考えられた。【実験 2】頸管粘液検査により臨床型子宮内膜炎を診断した後、子宮体部と左右子宮角それぞれの組織標本作製し各部位の子宮内膜浅層の PMN が 3%以上の部位を潜在性子宮内膜炎、それ以外の部位を正常として、子宮粘膜炎中 LPS 含量との関係を調べた。LPS 含量測定とともに細菌培養も行い、個体ごとの血漿中 LPS 濃度も測定した。臨床型子宮内膜炎および潜在性子宮内膜炎と診断した部位では正常と診断した部位より粘膜炎中 LPS 含量が有意に多く、子宮内膜浅層の PMN%と粘膜炎中 LPS 含量に相関がみられた。細菌培養結果は LPS 含量に影響せず、子宮内膜浅層の MNC%は LPS 含量と相関しなかった。血漿中 LPS 濃度は子宮内膜浅層の PMN%および粘膜炎中の LPS 濃度どちらとも相関しなかった。このことから、粘膜炎中の LPS は子宮の炎症により蓄積し、細菌排除後も炎症の残る牛では子宮粘膜炎中に高濃度の LPS が残留していることが示唆された。

【実験 3】と体卵巣から単離した卵胞を直径ごとに分類し、顆粒層細胞における Toll-like receptor 4 (TLR4) の mRNA 発現を調べた。また、卵巣の組織標本作製し、抗 TLR4 抗体により免疫染色を行った。その結果、TLR4 は顆粒層細胞に局在し、直径 8 mm 以上の卵胞に比べて直径 8 mm 未満の卵胞で mRNA 発現が高いことがわかった。この結果は、潜在性子宮内膜炎牛では、従来考えられている大卵胞における LPS の直接的な卵子への影響よりも、子宮粘膜炎中に残留した LPS が TLR4 を介して発育途上にある卵胞の発育および卵子発生能獲得過程に影響を及ぼしている可能性を示している。今後は、生体内における濃度の LPS 添加下で顆粒層細胞および卵母細胞を培養し、腫瘍壊死因子 (TNF- α) の増加等の経路を介した卵巣機能への影響について検討したい。