

## 平成23年度 成績概要書

研究課題コード： 6101-674611 (公募型研究)

### 1. 研究成果

- 1) 研究成果名：牛の分娩誘起が胎盤節のアポトーシスの発生に及ぼす影響  
(予算課題名：クローン受胎牛の分娩遅延と分娩誘起法の研究:胎子性コルチゾルからのアプローチ(H21-23))
- 2) キーワード：アポトーシス、胎盤停滞、分娩誘起
- 3) 成果の要約：プロスタグランジン  $F_{2\alpha}$  やデキサメサゾンによる誘起分娩では、胎盤節の遺伝子発現量の変化や栄養膜二核細胞の減少が誘導されず、胎盤節の成熟不足が胎盤停滞の一要因と考えられた。しかし、アポトーシス細胞量の解析からはデキサメサゾンが胎盤節の成熟誘導因子であると示唆されたため、今後投与量等の検討が必要である。

### 2. 研究機関名

- 1) 担当機関・部・グループ・担当者名：畜試・基盤研究部・畜産工学 G・平山博樹
- 2) 共同研究機関(協力機関)：(農業生物資源研究所)

3. 研究期間：平成21~23年度 (2009~2011年度)

### 4. 研究概要

#### 1) 研究の背景

胎盤停滞は分娩後の繁殖性を低下させるが、その発生機序は解明されていない。また、分娩誘起は牛の管理労力の低減や難産の防止に有効な技術であるが、高い頻度で胎盤停滞が発生する。近年、アポトーシスによって分娩前後の胎盤節の細胞構成や機能に変化が起こることが明らかとなり、このような胎盤節の成熟に異常があると胎盤停滞が発生する要因となると考えられている。

#### 2) 研究の目的

胎盤停滞の発生機序の解明と低減技術の開発を目指し、誘起分娩と自然分娩による分娩時の胎盤節におけるアポトーシスの違いを解析する。

### 5. 研究方法

- ・ねらい：分娩誘起が分娩時の血中ホルモン濃度および胎盤節のアポトーシスに及ぼす影響を解析する。
- ・試験項目等：分娩方法は、自然分娩(SP)、デキサメサゾン(デキサメサゾン注、20mg)を筋肉内投与した翌日にプロスタグランジン(PG)  $F_{2\alpha}$  (プロナルゴン F、25mg) およびエストリオール(ホーリン、20mg)を筋肉内投与する誘起分娩(DEX) および  $PGF_{2\alpha}$  とエストリオールを筋肉内投与する誘起分娩(PG)の3種類とした。血漿試料(SP 5頭、DEX 5頭およびPG 5頭)は分娩予定日の4および2週間前、分娩前( $PGF_{2\alpha}$ 投与日あるいは自然分娩の2日前)および分娩時に採取し、プロジェステロンおよびエストラジオール  $17\beta$  濃度をEIA法で測定した。胎盤節試料は、血液を採取した個体とは別の供試牛から分娩直後に採取した(SP 4頭、PG 4頭およびDEX 5頭)。胎盤節におけるアポトーシス抑制(BCL2A1)および亢進(BAX および CASP3) 遺伝子の mRNA 発現量をリアルタイム RT-PCR法で解析した。胎盤節における栄養膜二核細胞の数はヘマトキシリン・エオジン染色した組織像から測定した。胎盤節におけるアポトーシス細胞はTUNEL法で検出した。

### 6. 研究の成果

- 1) 誘起分娩では、分娩時に血漿プロジェステロン濃度が低下し、血漿エストラジオール  $17\beta$  濃度が上昇していたことから、分娩の進行に重要な黄体退行と胎盤におけるエストロゲン合成は自然分娩と差がなかった(図1)。
- 2) 分娩誘起による分娩時の胎盤節では、アポトーシス亢進遺伝子(BAX)に対する抑制遺伝子(BCL2A1)の発現量比が高く、アポトーシスが起こりにくい状態であった(図2)。アポトーシスにおけるDNAの断片化に必要なCASP3の発現量は変化しなかった。
- 3) 分娩誘起による分娩時の胎盤節では、自然分娩において発生する栄養膜二核細胞の減少がみられず、胎盤節の成熟を誘導できていないと考えられた(図3)。
- 4) 誘起分娩では遺伝子発現量の変化や栄養膜二核細胞の減少がみられなかったが、デキサメサゾンを用いた誘起分娩では胎盤節のアポトーシスが誘導された(図4)。これらから、グルココルチコイドによる感作がアポトーシスの発生に関与し、本試験で用いた投与量のデキサメサゾンは主に栄養膜二核細胞以外の細胞のアポトーシスを誘導することが示唆された。

<具体的データ>

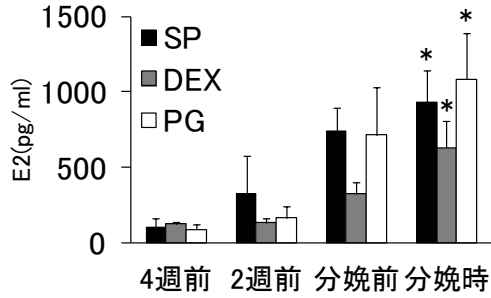


図1 血漿エストロジオール 17β 濃度  
4 および 2 週前: 分娩予定日から起算  
分娩前: SP は分娩の 2 日前、DEX および PG は  
PGF<sub>2α</sub> 投与日  
\*: 4 週前に比較して有意差あり (p<0.05)

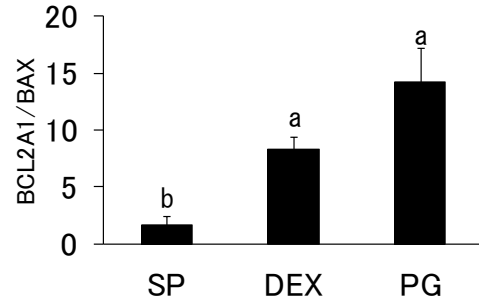


図2 母胎盤におけるアポトーシス抑制遺伝子  
(BCL2A1)と亢進遺伝子(BAX)の発現量比  
異文字間で有意差あり (p<0.05)

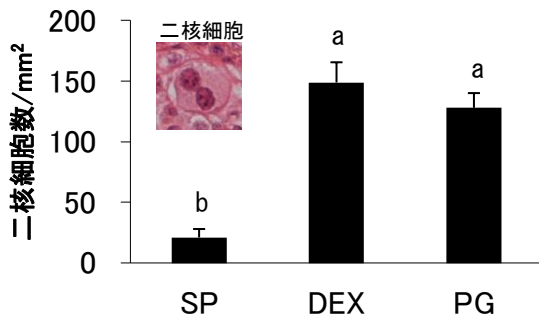


図3 分娩時胎盤節における栄養膜二核  
細胞数  
異文字間で有意差あり (p<0.05)

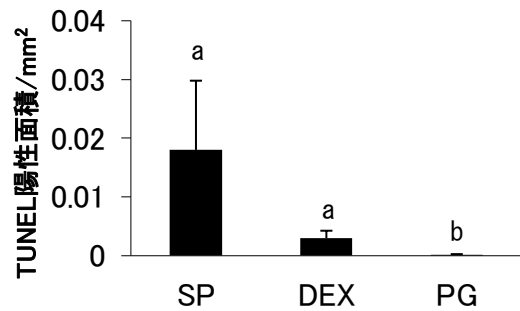


図4 分娩時胎盤節におけるアポトーシス細胞量  
の割合  
異文字間で有意差あり (p<0.05)

【用語】

- 胎盤節の成熟: 分娩前後にアポトーシスが起り母胎盤の上皮細胞や胎子胎盤の栄養膜二核細胞が減少すること。また、コラーゲン等の構造蛋白質の分解あるいは構成変化が起こること。これらは胎子胎盤が剥離して排出されるために必要な変化であると考えられている。
- アポトーシス: 細胞死の一種で、自発的な細胞の死滅を指す。分娩時の胎盤節ではアポトーシスが発生し、組織の機能の変化や胎子胎盤の剥離を促すと考えられている。
- グルココルチコイド: 副腎皮質で生産されるコルチゾール等を含むステロイドホルモンの一グループ。胎子が生産するコルチゾールは分娩開始の引き金と考えられている。抗炎症薬であるデキサメサゾン、コルチゾールと同様の効果を有する代表的な合成ステロイドホルモン。グルココルチコイドは組織によってアポトーシスを誘導または抑制することが知られている。

7. 成果の活用策

1) 成果の活用面と留意点

- (1) 本試験の成果は胎盤停滞を低減するための技術開発に利用できる。
- (2) 本試験は、文部科学省科学研究費補助金により実施したものである。

2) 残された問題とその対応

胎盤節のアポトーシス発生機構の解明とアポトーシスを誘導できる分娩誘起法の開発