

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 14 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580457

研究課題名(和文)ウシ子宮内膜炎の発症機序解明と子宮内マイコプラズマ感染との関連に関する研究

研究課題名(英文) Etiology of endometritis and its relation with intrauterine infection of Mycoplasma spp

研究代表者

大澤 健司(Osawa, Takeshi)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：90302059

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：肉用牛における子宮内膜炎症度およびマイコプラズマの生殖器内感染の実態を明らかにするため採材した結果、炎症度は黒毛和種では分娩後3～4週にかけて有意な減少が見られた。この傾向は特に授乳群で顕著であった。分娩後の各時期において黒毛和種はホルスタイン種と比較して有意に低かった。また、1頭の子宮内膜からM. bovisが分離された。【考察】黒毛和種牛では乳用牛より子宮修復は早く完了するものの、授乳刺激が子宮内環境の清浄化に重要な役割を果たすことが明らかになった。また、マイコプラズマの子宮内感染率は高くないものの、子宮内への感染経路や受胎性に及ぼす影響について今後明らかにしていく必要がある。

研究成果の概要(英文)：To clarify changes in polymorphoneutrophils percent (PMN%) in the endometrium in postpartum suckled and non-suckled Japanese black cows, and to elucidate prevalence of mycoplasma infection in the uterus in the cows, endometrial cytology samples were collected using a small brush from postpartum cows. PMN% decreased significantly from 3 to 4 weeks postpartum, particularly in suckled cows. PMN% in Japanese black cows was lower than that in Holstein cows during the postpartum period. M. bovis was isolated from the uterus in one of the samples dairy cows. In conclusion, PMN% decreased as the postpartum period progressed, and suckling may affect changes in PMN% in early postpartum Japanese black cows. Although the prevalence of mycoplasma infection in the uterus seemed not to be high, the route of infection and its effect on fertility in the cows should be investigated in future.

研究分野：獣医臨床繁殖学

キーワード：牛 子宮内膜炎 マイコプラズマ 細胞診

1. 研究開始当初の背景

牛における分娩後の子宮修復は、その後の受胎性に関わる重要な事象であり、子宮修復に問題のある個体を早期にかつ的確に発見し対策することが現場で求められている。乳牛においては正常分娩後においても子宮内膜では炎症と細菌感染が起こり、子宮修復過程において炎症は鎮まり細菌は排除されることが知られているものの、肉用牛では不明である。また、吸乳刺激が分娩後の卵巣機能の回復を遅延させることが知られているが、子宮内膜における生理的炎症や感染からの回復に及ぼす影響に関する報告は見当たらない。近年、子宮内膜における多形核好中球 (Polymorphonuclear neutrophils; PMN) の浸潤率 (PMN%) をモニターする手法が確立され、PMN%を炎症の指標とすることで子宮内環境の客観的な評価が可能なが乳牛では明らかにされつつあるが、肉用牛では報告がない。

一方、我々は東北の複数の乳牛群における分娩後経産牛の子宮内から *Mycoplasma bovis* を分離し、難産との関連、および子宮内膜炎との関連を示してきたが、国内の他地域や肉用牛群におけるマイコプラズマの生殖器内感染の有無や実態については全く不明である。

2. 研究の目的

そこで今回、(1) 肉用牛における子宮炎症度や細菌感染率の生理的な推移やそれらに及ぼす要因を明らかにするとともに、(2) マイコプラズマの生殖器内感染の実態を解明する目的で研究を実施した。

3. 研究の方法

(1) 黒毛和種牛の分娩後の子宮内膜における生理的炎症と感染の推移について

宮崎県内の2農場で飼養されている黒毛和種経産牛計 93 頭と、対照群として同一農場にて飼養されているホルスタイン種経産牛 8

頭を供試した。同一個体の分娩後 2 週 (2W) から 6 週 (6W) の各週 (黒毛和種) あるいは 3W から 9W の隔週 (ホルスタイン種) でサイトブラシを用いて子宮内膜スミアを採取、PMN%を算出した。同時に子宮内膜から一般細菌(好気性、嫌気性)の分離を試みた。また、VMS (Score 0~4) を同様の採材間隔で記録した。なお黒毛和種牛では分娩後 2~3 カ月まで授乳を行う授乳群 33 頭と、分娩後早期に子牛を離乳させ人工哺育を行う早期離乳群 60 頭の群間における PMN%、VMS および細菌感染の推移を比較した。

(2) 子宮内マイコプラズマ感染との関連について

宮崎県内の 4 乳牛群、2 肉牛群の計 169 頭から延べ 406 検体の子宮内膜スミアを採取、専用培地にて培養後に PCR にて 7 種のマイコプラズマ (*Mycoplasma bovis*, *M. arginini*, *M. bovis genitalium*, *M. californicum*, *M. bovirhinis*, *M. alkalescens*, and *M. canadense*) の検出を試みた。なお、供試牛群のうちの 1 乳牛群はマイコプラズマ性乳房炎多発牛群であった。

4. 研究成果

(1) 黒毛和種牛の分娩後の子宮内膜における生理的炎症と感染の推移について

PMN%は黒毛和種では 3W から 4W にかけて有意な減少が見られた後に低値を示したのに対し、ホルスタイン種では 7W 以降で有意な減少が見られた。VMS についても黒毛和種では 3W 以降、ホルスタイン種では 7W 以降にスコアの有意な減少を示した。PMN%、VMS とともに分娩後の各時期において黒毛和種はホルスタイン種と比較して有意に低かった。細菌分離率は黒毛和種が 2~3W (50%) から 4~6W (20~30%) にかけて減少したのに対し、ホルスタイン種では分娩後 9W まで 50~63%で推移した。期間を通した平均細菌

分離率は黒毛和種が 34%、ホルスタイン種が 57% でいずれの群からも主要細菌として *Staphylococcus spp.*、*E. coli*、*Acinetobacter spp.*、*Trueperella pyogenes* などが確認された。また、黒毛和種では細菌感染陽性検体は陰性検体と比較して PMN%、VMS とともに有意に高かった。授乳群と早期離乳群の群間において PMN%、VMS は減少傾向を示したものの、PMN%は授乳群で 3W に、VMS は 2W、4W、6W に有意に高かった。細菌分離率は両群ともに 3W までは約 50% の高値を示したが、その後 6W にかけて授乳群では 13.3% に、また早期離乳群では 27.3% に減少した。

黒毛和種はホルスタイン種と比較して分娩後のより早い段階において子宮環境が清浄化することが明らかとなった。また、授乳では分娩後早期の子宮内膜における細菌感染に対する防御機構がより強く働く結果、その後の細菌感染率が低下することが示唆された。

結論として、黒毛和種牛では乳用牛より子宮修復は早く完了するものの、授乳刺激が子宮内環境の清浄化に重要な役割を果たすことが子宮内膜細胞診の結果からも証明された。

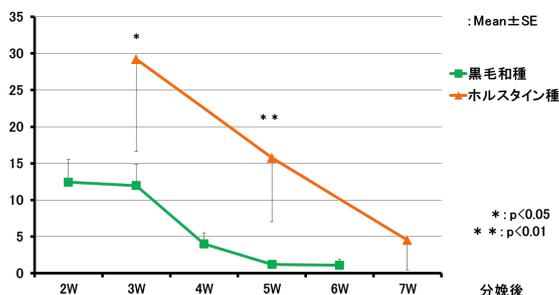


図 1 .ホルスタイン種牛および黒毛和種牛における分娩後の子宮内膜 PMN% 推移の比較

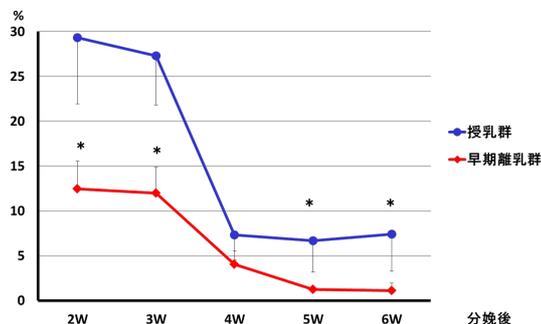


図 2 .黒毛和種の授乳群および早期離乳群における分娩後の子宮内膜 PMN% 推移の比較

(* 各週における群間比較 : P < 0.05)

(2) 子宮内マイコプラズマ感染との関連について

169 頭中、子宮内膜からマイコプラズマが分離されたのは 1 頭のみであった。分離された種は *M. bovis* のみであり、この 1 頭からは 2 か月後に *M. bovis* が再度分離されたものの、その後消失した。なお、同一牛群において乳頭や乳汁、鼻腔から *M. bovis* や *M. arginini* が異なる個体から分離されたものの、子宮内膜から *M. bovis* が分離された本個体において、採取した他の部位からマイコプラズマは分離されなかった。また、本個体は分娩後 158 日に受胎した。

以前の私たちの研究では 7.4% の個体の子宮内膜から *M. bovis genitalium* が分離され、陽性個体は最終分娩での難産と分娩後の子宮内膜炎との関連が見出されたが、本研究の結果より、地域によっては *M. bovis genitalium* 他、マイコプラズマが分離されない牛群も多いことが明らかとなった。しかしながら本研究においてマイコプラズマ性乳房炎多発牛群の個体の子宮内膜から *M. bovis* が分離されたことは興味深く、感染経路や受胎性に及ぼす影響等について今後も研究を推進する必要がある。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 22 件)

Ghanem, E. M., Tezuka, E., Devkota, B., Izaïke, Y., Osawa, T. Persistence of uterine bacterial infection, and associations with endometritis and ovarian function in postpartum dairy cows. J. Reprod. Dev., 査読有, in press.

Uematsu, M., Sasaki, Y., Kitahara, G., Sameshima, H., Osawa, T. (2013) Risk factors for stillbirth and dystocia in Japanese Black cattle. Vet. J., 査読有, 198: 212-216.

Tsuboi, T., Osawa, T., Hirata, T-I., Kawashima, K., Kimura, K., Haritani, M. (2013) Experimental infection of pregnant cows with noncytopathogenic bovine viral diarrhoea virus between days 26 and 50 postbreeding. Res. Vet. Sci., 査読有, 94: 803-805.

Ghanem, E. M., Higuchi, H., Tezuka, E., Ito, H., Devkota, B., Izaïke, Y., Osawa, T. (2013) Mycoplasma infection in the uterus of early postpartum dairy cows and its relation to dystocia and endometritis. Theriogenology, 査読有, 79: 180-185.

大澤健司, 2013 年, 潜在性子宮内膜炎と低受胎. 日本胚移植学雑誌. 35 (3): 91-95.

[学会発表](計 38 件)

Mido, S., Nabenishi, H., Kuroki, M., Sakaguchi, K., Murata, N., Sadawy Rawy, M., Kitahara, G., Osawa, T. Postpartum changes in endometrial environment in Japanese Black cows, 9th International Ruminant Reproduction Symposium, 25-29 August, 2014. Obihiro.

竹田真弓, 前田洋佑, 大塚浩通, 大澤健司. 潜在性ケトーシス罹患牛の分娩前後における免疫動態. 平成 25 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会 2014 年 2 月 22 日. 千葉市.

三堂祥吾, 鍋西 久, 重永あゆみ, 中原高士, 村田 望, Sadawy Rawy Mohamed, M., 北原 豪, 大澤健司. 肉牛および乳牛の分娩後における子宮内膜スメア中の多形核好中球浸潤率 (PMN%) と細菌分離との関係. 第 156 回日本獣医学会学術集会. 2013 年 9 月 22 日. 岐阜市.

Osawa, T., Ghanem, M., Higuchi, H., Tezuka, E., Ito, H., Bhuminand, D., Izaïke, Y. Isolation of mycoplasma species from the uterus of early postpartum dairy cows with and without endometritis and its association with dystocia. 17th International Congress on

Animal Reproduction, July, 2012. Vancouver.

大澤健司, モハメド・E・ガネム, 樋口豪紀, 手塚恵理沙, 伊藤瑛基, プミナンド デブコタ, 居在家義昭. 分娩後の乳牛における *Mycoplasma bovis* 子宮内感染と難産および子宮内膜炎との関係. 第 39 回日本マイコプラズマ学会. 2012 年 5 月 24 日~25 日. 盛岡.

[図書](計 3 件)

Manuel Fernandez Sanchez(著), 大澤健司(訳), 2015 年, 「臨床獣医師のための牛の繁殖と超音波アトラス - 発情周期のステージ別の観察と繁殖検診 - 」. 緑書房.

Osawa, T. 2013 年, International perspectives on the impacts of reproductive technologies on food production in Asia. In: Current and Future Reproductive Technologies and World Food Production. Lamb, G. Cliff; DiLorenzo, Nicolas (Eds.) pp. 213-228. Springer.

大澤健司 (分担執筆), 2013 年, . 繁殖 4. 繁殖の人為的調節 B. 発情, 排卵の同期化. 牛病学 第 3 版. 明石博臣ら (編). pp. 112-117. 近代出版.

[その他]

ホームページ等

<http://www.agr.miyazaki-u.ac.jp/~vet/rinpan/job.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大澤 健司 (OSAWA, Takeshi)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号: 90302059

(2) 研究分担者

樋口 豪紀 (HIGUCHI, Hidetoshi)

酪農学園大学・獣医学部・教授

研究者番号: 00305905

大塚 浩通 (OTSUKA, Hiromichi)

酪農学園大学・獣医学部・准教授

研究者番号: 40327458

北原 豪 (KITAHARA, Go)

宮崎大学・農学部・助教

研究者番号: 90523415