

氏名	浜 夏樹
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第3920号
学位授与の日付	平成21年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Study on Urinary Concentrations of Estrone-3-glucuronide and Pregnanediol-3-glucuronide in Different Reproductive Status in Giant Panda (<i>Ailuropoda melanoleuca</i>) (ジャイアントパンダにおける異なる繁殖生理状態での尿中エストロン-3- グルクロニドとプレグナンジオール-3-グルクロニド濃度に関する研究)
論文審査委員	教授 奥田 潔 教授 近藤 康博 准教授 アコスタ アヤラ トマス

学位論文内容の要旨

ジャイアントパンダなどの希少動物の飼育下繁殖を実行するに当たっては、性ホルモンの動態を把握する必要がある。このホルモンの測定は、尿などの動物に苦痛を与えずに採取できる検査検体を用い、エンザイムイムノアッセイ（酵素免疫測定法）のような動物園の現場でも容易に利用できるものでなければならない。そこで本研究では、1頭のメスのジャイアントパンダについて、自然交配や人工授精の適期を確定するための酵素免疫測定法による尿中エストロングルクロニド(E1G)の迅速測定系と、自然交配あるいは人工授精後の繁殖性を評価するための尿中プレグナンジオールグルクロニド(PdG)の測定系を作製し、その実用性を評価し、さらに人工授精の実施と人工授精後の繁殖性のモニタリングに適応した。

作製されたE1Gの迅速測定系は、約3時間で結果が得られ、測定の再現性が良好（測定内変動係数：5.2%、測定間変動係数：15.4%）で、尿を添加した標準物の曲線と添加しない標準曲線の平行性が高く、高濃度のE1Gを含む検体を連続希釈して測定した容量反応曲線と標準曲線の平行性が保たれ、さらに同一検体を用いてラジオイムノアッセイ法で測定された尿中エストロンとの相関も極めて高く（相関係数：0.934）、実用的なシステムとして活用できることが確認された。またPdGの測定系は、測定の再現性が良好（測定内変動係数：6.1%、測定間変動係数：16.3%）で、高濃度のPdGを含む検体を連続希釈して測定した容量反応曲線と標準曲線の平行性が保たれ、さらに同一検体を用いてガスクロマトグラフ法で測定された尿中PdGとの相関も高く（相関係数：0.836）、排卵後の卵巣機能のモニタリングに実用的なシステムとして活用できることが確認された。

完成したE1G測定系により人工授精の適期を探り人工授精を実施し、その後の繁殖性をPdG測定系によりモニタリングした。人工授精は、E1G測定系で測定された同個体の過去の平均的なE1Gの変動の傾向から推測されたE1Gピーク日を含み3日連続実施された。その結果、2007年8月12日に死産が認められ、人工授精の成功が確認された。以上のことから尿中E1Gをモニターすることによりジャイアントパンダの受精適期を知ること可能であることが実証された。

本研究で確立されたE1GおよびPdG測定系は、ジャイアントパンダのみならず多くの希少動物の繁殖生理の解明と飼育下における繁殖に役立つことが示唆された。

論文審査結果の要旨

本論文は、希少動物であるジャイアントパンダの飼育下繁殖のために重要な排卵日の予測と排卵後の生殖状態のモニタリングを動物園（現場）で迅速に実行するために、エンザイムイムノアッセイ（EIA）法を用いた尿中エストロングルクロニド（E1G）とプレグナンジオールグルクロニド（PdG）の測定系を開発し、それを実際の繁殖に応用した成果をまとめたものである。

1) 排卵日の予測法としてEIAによる迅速なE1G測定系を開発した。開発された測定系は測定内変動係数が5.2%、測定間変動係数が15.4%と再現性が高かった。E1G濃度が測定限界値以下のジャイアントパンダ尿を標準曲線へ添加した試験では、尿を添加した標準曲線と添加しない標準曲線との並行性が保たれ、尿添加の影響の少ない測定系であることが確認された。高濃度のE1Gを含むジャイアントパンダ尿を段階希釈して得られた曲線と標準曲線との並行性が保たれていたことから、本測定系がジャイアントパンダの尿中E1Gを的確に捉えていることが確認された。本測定系に要する時間は約3時間で、臨床現場で用いる迅速測定系である。

2) 自然交配や人工授精後の生殖状態をモニタリングするためにEIAによるPdG測定系を開発した。開発された測定系は測定内変動係数が6.1%、測定間変動係数が16.3%と再現性が高かった。高濃度のPdGを含むジャイアントパンダ尿を段階希釈して得られた曲線と標準曲線との並行性が保たれ、本測定系がジャイアントパンダの尿中PdGを的確に捉えていることが確認された。

3) 開発されたE1G測定系を用いて2001年から2006年までの6年間における発情期のE1Gの変動と発情行動（プレゼンティング）との関係を調べたところ、本研究に用いたメスはE1Gのピークの翌日にプレゼンティングを開始すること、さらにピーク時のE1G濃度とプレゼンティングの頻度や持続期間の間に相関がないことが判明した。また6年間の平均的なE1G動態を調査から、E1Gがピークを迎える一日前に30 ng/Crmgの値を超えることが判明した。そこで2007年の発情期にE1Gが30 ng/Crmgを超えた翌日から3日間連続で人工授精をおこない妊娠させることに成功した。

以上の研究によって開発された E1G ならびに PdG の測定系は、それぞれジャイアントパンダの排卵日の予測ならびに排卵後の卵巣機能のモニタリングに活用できることが実証された。この研究で確立された E1G および PdG 測定系はジャイアントパンダのみならず多くの希少動物の繁殖生理の解明と飼育下における繁殖に役立つと考えられ、本学位審査会では、上記の成果をまとめた本論文の内容および参考文献を総合的に審査し、本論文が博士学位（学術）の学位に値するものと判断した。