雌アジアゾウにおける発情周期中の 腔前庭粘膜面の肉眼的変化

土井 守¹⁾, 山田朋美¹⁾, 寺園美奈子¹⁾, 和田晴太郎²⁾, 秋久成人²⁾, 坂本英房²⁾, 濱崎 勤²⁾
柳本 博²⁾, 中野和彦²⁾, 松岡賢司²⁾, 伊藤 淳²⁾, 岩橋宣明²⁾, 水野章裕²⁾, 楠 比呂志³⁾

1) 岐阜大学農学部生物資源生産学科 〒501-1193 岐阜県岐阜市柳戸 1-1

2) 京都市動物園 〒606-8333 京都府京都市左京区岡崎法勝寺町

3) 神戸大学農学部附属農場 〒675-2103 兵庫県加西市鶉野町 1348

(2001.8.23 受付, 2001.10.24 受理)

Macroscopic Changes in the Mucous Membrane of Vaginal Vestibule during the Estrous Cycle of Female Asian Elephant

Osamu DOI¹⁾, Tomomi YAMADA¹⁾, Minako TERAZONO¹⁾, Seitaro WADA²⁾, Narito AKIHISA²⁾,
Hidefusa SAKAMOTO²⁾, Tsutomu HAMAZAKI²⁾, Hiroshi YANAGIMOTO²⁾, Kazuhiko NAKANO²⁾,
Kenji MATSUOKA²⁾, Atsushi ITO²⁾, Nobuaki IWAHASHI²⁾, Akihiro MIZUNO²⁾, Hiroshi KUSUNOKI³⁾

1) Division of Biological Resources and Production, Faculty of Agriculture, Gifu University, Gifu 501-1193, Japan

2) Kyoto Municipal Zoo, Sakyo-ku, Kyoto 606-8333, Japan

3) Experimental Farm, Faculty of Agriculture, Kobe University, Hyogo 675-2103, Japan

ABSTRACT. This study attempted to clarify the relationship between macroscopic observation of the vaginal vestibule and changes in the blood progesterone level during the estrous cycle of female Asian elephants. Clear congestion was observed extensively on the mucous membrane of the vaginal vestibule when progesterone was at its lowest level. As the level increased, sporadic erythema and swelling as well as papules were observed near the congested area close to the vulva. However, the trend that congestion on the mucous membrane was alleviated as the blood progesterone level dropped was also noted.

Key Words: Asian elephant, vaginal vestibule, progesterone

Jpn. J. Zoo Wildl. Med. 6(2) : 55-59, 2001

飼育下でゾウの発情期を判定する方法には、血中のホルモン濃度の測定 [1-3] や行動の観察 [4] などがある。ゾウの発情周期は、血液中の性ステロイドホルモン濃度の測定結果から、15~17 週間であることが既に証明されている [1-3]。また、雌雄同居させて飼育している施設では、尿テストなどの種々の行動の変化を観察するなど、雌ゾウの発情時期を確実にとらえる方法が検討されている。しかし、成熟した雄ゾウには、1 年のうち数ヶ月間ムストと呼ばれる粗暴になる時期があり [4]、飼育する上で大きな問題点を

抱えているため、雌雄ともに飼育している施設は少ない。飼育下でゾウを繁殖させるためには、雌雄ともに飼育している施設において、まず自然に繁殖を試みる必要があるが、必ずしも相互の相性や年齢が合わないことなどから、日本においては出産例が極めて少ない。そこで、数少ない飼育下の雄ゾウから精液を採取して保存を検討する一方で、雌ゾウの発情周期を容易に判定できる方法の確立が望まれている。そこで、我々は血中のプロゲステロン濃度の変動をもとに腔前庭スミアにおける脱落細胞像の観察を行った結

果、黄体期以外の時期での大型角化細胞の増加が明らかとなり、腔前庭スメアの細胞像の変化から発情周期を決定できる可能性を示唆した [5]。さらに本研究では、よく調教が行き届いた雌アジアゾウを用いて、各個体の発情周期中における腔前庭粘膜面の充血などの肉眼的変化を観察することにより、血中のプロジェステロン濃度変化との関係を明らかにしようとした。

この実験では、京都市動物園で飼育されている雌2頭(実験開始時推定年齢13歳と23歳)を使用した。採血は、ゾウが立位の状態で後肢内側の伏在静脈から1週間間隔で合計65週間行った。また、採血と同時に、ゾウの後肢間に開口する外陰部を手によって広げ、腔前庭部における粘膜面の状態を写真撮影した。また、血液は室温で約20分間静置した後、3000 rpmで15分間遠心分離することにより血清を採取し、測定に使用するまで -80°C 下で凍結して保存した。凍結保存された血清は、融解後直ちに0.1~0.2 mlを小試験管に分注した。ステロイドホルモンの抽出のために、各々の試験管内に3~4倍量のエチルエーテルを入れ混合した後静置し、 -60°C 下で血清層を凍結し、傾斜法によって上層のエーテル層を別の試験管に移した。この操作を4回繰り返した後、 40°C の温湯中でエーテルを揮発させた。その後、測定用試料を減圧下で10分間吸引した後、試験管内に1%牛血清アルブミン-リン酸緩衝液0.2 mlを入れて混和した。これを測定用試料とした。ラジオイムノアッセイ法は、中村ら [6] の方法に従って行われた。また、使用したプロジェステロン抗体の各種のステロイドホルモンに対する交叉率は、Doiら [7] の報告で示されている。なお、放射能の測定には、液体シンチレーションカウンター(Tri-Carb 2500 TR, Packard USA)を用いた。

今回調査したアジアゾウ2頭における血清中プロジェステロン濃度の変動と、採血時に同時に撮影した腔前庭粘膜面の写真の一例を、図1, 2および3に示した。アジアゾウの血中プロジェステロン濃度は、 $0.10 \pm 0 \sim 2.06 \pm 0.31 \text{ ng/ml}$ の範囲内を14~17週間で顕著に変動していた。血中プロジェステロン濃度が最も低い時期の腔前庭粘膜面では、明らかに広範囲の充血が認められ、わずかな出血を伴う場合も認められた。その後、血中プロジェステロン濃度の上昇開始時期から上昇後ピークに達するまで、プロジェステロン濃度が低い時期に認められた充血部より外陰部側に多くの紅斑や腫脹が散在し、なかには丘疹も認められた。ま

た、血中プロジェステロン濃度が減少するにつれて、粘膜面に認められた充血部位が狭くなる例ならびに充血や紅斑部位の色調が緩和する例が観察された。しかし、実験に供した両個体間または同一個体においても観察した時期などによって、充血部の広がりや腫脹の隆起傾向などが若干異なることも観察された。これらのことからアジアゾウ2頭計6回の発情周期について検討した結果、両者の雌ゾウともに血中プロジェステロン濃度の変動に従って、腔前庭粘膜面における様相が顕著に変化することが明らかとなった。

ゾウの発情周期の長さは、血中性ステロイド濃度の測定結果から15~17週間であると報告されている[1,2]。とくにアジアゾウの発情周期について詳細に調べた報告では、血中プロジェステロン濃度の変化から 16.8 ± 0.6 週間であると報告されている [3]。本実験結果もほぼ同様に、血中プロジェステロン濃度が14~17週間で顕著に変動してい

図1 雌アジアゾウの発情周期中における血中プロジェステロン濃度の変化(n=4~6)

図の下番号と矢印は、図2と3で示した写真の番号と撮影した時期を示す。

アジアゾウの腔前庭粘膜面の肉眼的変化

図2 雌アジアゾウの発情周期中における腔前庭粘膜面の肉眼的変化(個体A)

C: 充血, S: 腫脹, E: 紅斑, P: 丘疹

た。血中のホルモン濃度を測定することにより発情時期を決定することができるが、それには特殊な機器を必要とする上、時間を要する。そこで飼育施設でのゾウの行動調査を行うことにより、これまでにゾウの発情時期を見出す方法が検討されてきた。雄ゾウが雌の発情を調べる代表的な行動として、尿テストが古くから知られている [4]。尿テストとは、雄が雌の外陰部に鼻先を挿入して直ちに自分の口に入れる行動であり、雄はその行動により雌のある種の

フェロモン様物質を感知して発情を認知するものと考えられている。この尿テストの陽性率が高まる時期と排卵時期がほぼ一致することが、血中のプロジェステロン濃度の変化から明らかにされている [1]。しかし、日本ではほとんどの施設で雌のみを飼育していることから、雄の精液採取や保存の研究を一方で行うとともに、雌のみ飼育している施設においても的確に発情を判定できる方法の検索が必要である。そこで、我々は雌アジアゾウの腔前庭スメアを血

図3 雌アジアゾウの発情周期中における腔前庭粘膜面の肉眼的変化(個体B)
C: 充血, S: 腫脹, E: 紅斑, P: 丘疹

中のプロゲステロン濃度の変化とともに長期間観察した結果、発情期を中心に大型の角化細胞の出現率が高まることを報告した [5]。さらに本研究の結果から、雌アジアゾウの場合も血中プロゲステロン濃度の低い時期から上昇前の時期にかけて発情と排卵が起こっているものと考えら

れるため、腔前庭粘膜面において充血が認められる時期が発情期と考えられた。また、その外陰部側に腫脹や丘疹が認められはじめる時期が発情後期と推察した。このような観察を行うためにはゾウの後肢間に人間が入ることになるため、実施するにあたってはゾウがよく調教されているこ

アジアゾウの腔前庭粘膜面の肉眼的変化

とが必須となる。しかし、直接飼育法で飼育され調教がよく施されている施設であれば、先に報告した腔前庭スメアの細胞像の観察 [5] とともに外陰部を反転して粘膜面を肉眼的に観察することによって、アジアゾウ個体の発情期を容易に確認することができるものと考えられた。

要 約

本研究では、雌アジアゾウの発情周期中における腔前庭粘膜面の肉眼的変化と血中プロジェステロン濃度の変化との関係を明らかにしようとした。血中プロジェステロン濃度が最も低い時期の腔前庭粘膜面では明らかに広範囲の充血が認められたが、血中プロジェステロン濃度の上昇に伴い外陰部に近い充血部の周辺に紅斑や腫脹が散在し丘疹も観察された。しかし、血中プロジェステロン濃度が減少するにつれて粘膜面の充血が緩和する傾向があった。

キーワード：アジアゾウ、腔前庭、プロジェステロン

謝 辞

本稿作成に際し多大なご助言を賜った日本大学生物資源科学部の村田浩一先生に深く感謝いたします。

引用文献

1. Hess DL, Schmidt AM, Schmidt MJ. 1983. Reproductive cycle

of the Asian elephant (*Elephas maximus*) in captivity. *Biol Reprod* 28: 767-773.

2. Brannian JD, Griffin F, Papkoff H, Terranova PF. 1988. Short and long phases of progesterone secretion during the oestrous cycle of the African elephant (*Loxodonta africana*). *J Reprod Fertil* 84: 357-365.
3. Taya K, Komura H, Kondoh M, Ogawa Y, Nakada K, Watanabe G, Sasamoto S, Tanabe K, Saito K, Tajima H, Narushima E. 1991. Concentrations of progesterone, testosterone and estradiol-17 β in the serum during the estrous cycle of Asian elephant (*Elephas maximus*). *Zoo Biology* 10: 299-307.
4. Jainudeen MR, Katongole CB, Short RV. 1972. Plasma testosterone levels in relation on musth and sexual activity in the male Asian elephant, *Elephas maximus*. *J Reprod Fert* 29: 99-103.
5. Doi O, Komatsumoto M, Terazono M, Wada S, Akihisa N, Sakamoto H, Hamasaki T, Yanagimoto H, Nakano K, Matsuoka K, Ito A, Kusunoki H, Nakamura T. 2000. Exfoliative cytology in vaginal vestibule of female Asian elephants: Relation to circulating progesterone concentrations. *Zoolog. Sci* 17: 1303-1309.
6. 中村孝雄, 正殿誠秀, 田名部雄一. 1974. ラジオイムノアッセイによる動物組織および体液中のエストラジオールおよびプロジェステロンの微量定量法. 岐阜大農研報 36: 319-328.
7. Doi O, Kusunoki H, Sato T, Kawakami S, Fukuoka T, Okuda K, Ito O, Saito E, Hayashi T, Hase T, Kamiyoshi M. 2001. Serum progesterone and estradiol-17 β concentrations, and lapaloscopic observations of the ovary in the cheetah (*Acinonyx jubatus*) with pregnant mare serum gonadotropin and human chorionic gonadotropin treatments. *J. Vet. Med. Sci* in press.