

#### 4. Project Panda & Marine Mammals (PP & PMM) (パンダ&海棲哺乳類人工繁殖プロジェクト)

##### 「腔細胞診によるジャイアントパンダの排卵日の予測について」

○下川英子・兼光秀泰・太田宜伯\*・大山裕二郎・  
山田亜紀子#・河野 隆・浜 夏樹・楠 比呂志\*

(神戸市立王子動物園・#現;神戸市西衛生監視事務所・\*神戸大学大学院農学研究科)

【はじめに】神戸市立王子動物園で飼育中の雌のジャイアントパンダ1頭について、2006年から2008年の3発情期間中の腔細胞診検査を実施し、人工授精(AI)適期を推測した。より詳細に排卵日を推定するために、ジャイアントパンダにおける変法パバニコロウ染色を用いた腔細胞診検査(Durrantら, 2002)を実施した。腔垢に出現した扁平上皮細胞のうち染色形態により好塩基性細胞、好酸性細胞、角化細胞の3種類の細胞に分類しその細胞周期を尿中エストロジェン(エストロングルクロニド: E1G)検査による排卵推定日と比較したところ、良好な結果が得られた。同時に腔粘膜の採材部位の相違による角化率の比較も行ったのであわせて報告する。

【材料と方法】2006年3月25~4月2日(4/19・10は採材不可)、2007年3月16日~25日、2008年4月20日、24日~5月1日(25・29日は採材不可)に、トレーニングされた雌1頭(1995年生)の腔粘膜内に生理食塩水に浸した市販の綿棒を2~3cm挿入し腔垢を採材した。即座に3枚のスライドガラス上に塗抹し95%エタノール固定を30分以上行った。変法パバニコロウ染色後、光学顕微鏡100倍野でスライド1枚につき計500個以上の扁平上皮細胞を観察し、好塩基性に染まる有核の好塩基性細胞、好酸性に染まる有核の好酸性細胞、核が消失した角化細胞の百分比を求めた。

調査期間中に採取された蓄尿(17:00~翌9:00)について、Hamaら(印刷中)の方法でエンザイムイムノアッセイによるE1G濃度を測定した。

採材部位の比較は2007、2008年の麻酔下でのAI時のみ実施した。綿棒の挿入深度が1cm、3cm、6cm(2007年のみ)、3cmローリング(挿入後綿棒を1回転させる2008年のみ)と外陰部を反転させ軽く触れるソフトタッチ、強く押し付けるハードタッチ(2008年のみ)の計6部位を実施し、それぞれの角化率を比較した。

【結果】E1G濃度のピークの翌日を排卵日と仮定した場合、2006、2007年においては排卵日の7日前に優位な細胞が好塩基性細胞から好酸性細胞にシフト(1st cross)し、2006~2008年において排卵日の3日前に腔垢中に出現する優位な細胞が好酸性細胞から角化細胞にシフトする(2nd cross)ことが観察された。

ソフト・ハードタッチの2方法が綿棒挿入した4方法より角化率が高い傾向を示した。

【考察】1st cross、2nd crossともに、当園の個体はDurrantらが報告したサンディエゴのジャイアントパンダの平均値とは1日のズレがみられた。これは個体差等の相違によるものかもしれないが、3発情期において同じ結果となったことから、2009年以降の排卵予測に有効な検査法であると思われる。しかし採材が困難で、腔粘膜の採材部位によって角化率に相違が見られる。また飼育係の危険を伴うことから、その代替法としてマーキング尿中に排出される細胞より排卵日が推測できるか現在検査試行中である。