

受胎牛と不受胎牛の子宮頸管粘液, および 卵巣所見と血中性ステロイド値の関係

上村 俊一¹⁾・佐藤 邦忠・小野 斉・三宅 勝

(帯広畜産大学家畜臨床繁殖学教室)

1977年5月30日受理

Relationships of Cervical Mucus, Ovarian Findings and Serum Reproductive Steroids in Dairy Cows Involving Fertile and Infertile Insemination

Shunichi KAMIMURA*, Kunitada SATO*, Hitoshi ONO* and Masaru MIYAKE*

I. 緒 言

現在, 繁殖障害牛の臨床検査で最も普通に用いられているのは直腸検査法であるが, この技術の修得には長年の経験が必要であり, また直腸検査の所見のみで診断を下すことは時に大きな誤りを犯すことになる。DAWSON²⁾ は, 180頭のウシについて直腸検査後解剖して生殖器を観察したところ, 黄体の11%, 卵胞の44%を誤診したと報告している。したがって, 臨床診断においてはウシの性周期に伴う外部徴候, 陰検査所見などを参考にすることがあるが, これでも完全ではなく, より客観的な診断法の確立が望まれる。

近年, 蛍光測定法^{4,5)}, competitive protein binding 法^{14,17)}, radioimmunoassay 法^{3,9,12)} などによる性ホルモンの微量測定が可能になり, 生体内における性ホルモンの動態が次第に明らかにされてきている。

そこで今回は, 人工授精後妊娠し分娩に至ったウシと, 不妊で発情が回帰したウシについて子宮頸管粘液および卵巣所見と, 血中性ステロイド値の関係がどのようなものであるかを検討したので, その結果を報告する。

II. 材料および方法

試験牛は, 帯広畜産大学附属農場に飼養中のホルスタイン種乳牛15頭で, 分娩後空胎期間

1) Present address: Two-year course in Grassland Farming, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Hokkaido, Japan.

* Department of Veterinary Obstetrics and Gynecology, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Hokkaido, Japan.

Table 1. Materials

Cow no.	Age (years)	No. of calvings	Duration of infertility (days)	No. of A.I.s
405	9	5	324	1
572	6	2	196	5
587	5	2	181	1
620	5	2	176	2
628	5	1	395	6
654	4	1	298	3
708	4	1	144	1
716	4	1	190	4

600	5	3	101	0
608	5	2	56	0
667	5	2	78	0
726	4	1	91	0
745	4	1	108	0
756	4	1	64	0
787	4	2	86	1

が長い (144~395 日) 8 例と、ほぼ生理的空胎期間内 (56~108 日) にある 7 例である。いずれも試験開始前、直腸検査で卵巢、子宮に異常が認められなかったものである。

試験期間は、1975 年 10 月から 1976 年 5 月までの舎飼期で、その間乳牛は約 7,500 m² のバーンヤード内で飼育された。給与飼料の

うち乾牧草はチモン、オーチャドグラスが主体で、一部イタリアンライグラス、ラディノクローバーの混在する 20 kg 梱包、20 個を乾草給与舎で自由採食させた。また、サイレージとしてヘイサイレージを 500 kg (通年給与)、デントコーンサイレージを 1,800 kg (舎飼期のみ)、サイレージ給与舎で搾乳牛、非搾乳牛総計 70 頭に給餌した。濃厚飼料は、ペレット状のニッテン・ヨーデル 16 を搾乳時に 1 頭当たり 3.7 kg 給与した。

試験牛については発情時、頸管粘液の採取、直腸検査と頸静脈からの採血を行い、その後 10、20、21、22、30、40 日目、あるいは発情が回帰するまで同様に検査した。発情牛の発見は、農場職員による雌ウシ同士の乗駕、外陰部からの粘液の漏出、乳量の減少などの観察を参考にしたほか、大部分のウシの背中に発情検知器 (KaMar, Inc.) を張りつけ、発情の確認を行った。血液は、午前 10 時から 12 時までの間に真空採血管により頸静脈から採取し、12 時間室温放置後、血清分離し、ホルモン測定までの間 -20℃ に保存した。なお、試験牛のうち 1 例は、胚芽確認のため、人工授精後 26 日目に解剖に供した。

試験牛は、1 例を除き人工授精を行い、14 例中 3 例が受胎し、残りの 9 例中 4 例は 2 回目

Table 2. Classification

Group	Duration of estrous cycle	No. of cycles
G-1	7- 17	3
G-2	19- 26	13
G-3	41- 77	6
G-4	280-289*	7

*Pregnant

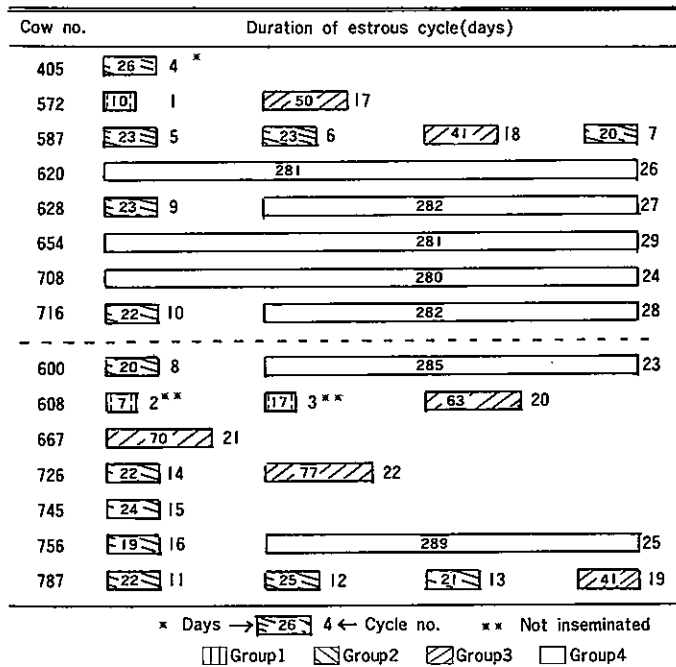


Fig. 1 Classification by the duration of estrous cycle

の人工授精で受胎した。不受胎牛のうち3例はさらに3回目、2例は4回目の人工授精を実施したが、いずれも発情が回帰した。

以上4回の人工授精を通じて、総計29性周期をその発情回帰日数により4群に分類した。この4群を以下の項目について検査した。

検査項目

1. 直腸検査による卵巣所見。
2. 子宮と頸管粘液の肉眼的性状。

Table 3 のような uterine cervical score を用いて検討した。

3. 頸管粘液の結晶形成現象。

三宅²⁰⁾ の報告に従い6型に分類し、検討した。

4. 頸管粘液の pH.

東洋科学 BTB 試験紙で測定し、検討した。

5. Radioimmunoassay による血中性ステロイド値の動態。

Cortisol, progesterone は non-chromato 法, estrogen はエーテル抽出物についてベンゼン:メタノール=85:15 の割合で, Sephadex LH-20 の microcolumn で分離し, radioimmunoassay を行った。Radioimmunoassay は各ステロイドホルモンの抗血清により行い, 方法は牧野氏法^{18,19)} に従った。

Table 3. Uterine cervical score*

Parameter	0	1	2	3
Uterus : elasticity	none	—	slight	moderate
Cervix : volume of mucus	none	scant	dribble	cascade
: status of mucus	none	opaque	—	lucid
: external os	closed (mucosa pale pink)	—	partially open (mucosa pink)	gaping (mucosa hyperemic)

*The score was partly cited from Insler Cervical Score (1974).

6. 頸管粘液性状 (uterine cervical score, 結晶形成像, pH 値) と血中性ステロイド値の ratio からみた受胎牛と不受胎牛の判別。

III. 結 果

1. 直腸検査による卵巣所見

第1群: Cycle No. 1 (No. 1. 以下同じ) では, 発情時両側卵巣に胞状卵胞があり, いずれも2日後に排卵したが黄体の形成は不明瞭で, 10日後に卵胞出現し発情が回帰した。経過観察のため人工授精を実施せず, 5日後に黄体の形成を確認した。No. 2 では, 発情時に人工授精を実施せず, 翌日排卵したが黄体の形成は不明瞭で, 7日後反対側卵巣に卵胞が出現し, 発情が回帰した。No. 3 では, 発情時卵巣触診により卵胞が破裂したので人工授精は実施せず, 翌日同じ卵巣に卵胞出現し再度検査時に破裂した。10日後, 同側卵巣に卵胞出現したが発情徴候なく, 反対側卵巣にやや大型の黄体が認められ, 17日後発情を発現したので人工授精を実施したところ翌日に排卵した。

第2群: 1例を除きいずれも発情の翌日, 2日後に排卵した。No. 9は5日後まで卵胞が存続し, 23日後他側卵巣に卵胞が出現し発情が回帰した。26日後に解剖に供した No. 4は, 子宮内にクリーム状の粘液を入れた化膿性子宮内膜炎であった。

第3群: 全例, 発情の翌日ないし2日後に排卵し黄体の形成が確認された。No. 17は, 30日後に黄体消失したが発情なく, 50日後に卵胞出現し発情が回帰した。No. 18は, 21日後に黄体消失したが発情なく, 41日後に卵胞出現し発情が回帰した。No. 19は, 30日後に発情検知器が赤色化し, 黄体の退行が確認されたが卵胞の存在はなく, 41日後に卵胞出現し発情が回帰した。No. 20は, 40日後まで黄体存続し妊娠と診断されたが, 63日後反対側卵巣に卵胞出現, 発情が回帰した。No. 21は, 30日後に黄体は退行したが発情なく, 70日後反対側卵巣に卵胞出現し発情が回帰した。No. 22は, 30日後両側卵巣に黄体存在し, 40日後両側の黄体

Table 4. Ovarian findings by rectal palpation

Cycle no.	Ovulation	Day	0	Day 10	Day 21	Day 30	Day 40	Estrous cycle
1	2	F,	F	F,	—			10
2	1	F,	—					7
3	2	F,	CL					17

4	2	F,	CL	(CL, CL,	—	(CL, CL,	—	26
5	1	F,	—	CL,	—	—,	F	23
6	1	F,	CL	CL,	—	F,	—	21
7	1	(F, CL,	—	CL,	—	—,	F	20
8	2	F,	—	sCL,	—	F,	—	20
9	5	F,	—	CL,	—	—,	F	23
10	2	(F, F,	—	(CL, CL,	—	(F, CL,	—	22
11	1	F,	—	CL,	—	F,	—	22
12	1	F,	—	CL,	—	CL,	—	25
13	1	F,	—	CL,	—	—,	F	21
14	2	F,	—	CL,	—	—,	F	22
15	1	F,	sF	(CL, CL,	—	F,	—	24
16	1	F,	—	CL,	—	F,	—	19

17	1	(sCL, F,	—	CL,	—	CL,	—	50
18	1	F,	CL	CL,	—	—,	—	41
19	2	F,	—	CL,	—	CL,	sCL,	41
20	1	sF,	CL	CL,	—	(CL, CL,	—	63
21	1	F,	—	CL,	—	CL,	sCL,	70
22	1	F,	—	CL,	—	CL,	CL	77

23	1	F,	—	CL,	—	CL,	—	285
24	1	F,	—	CL,	—	CL,	—	280
25	1	F,	—	CL,	—	CL,	—	289
26	1	F,	—	CL,	—	CL,	—	281
27	1	F,	—	CL,	—	CL,	—	282
28	1	(F, CL,	—	CL,	—	CL,	—	282
29	1	F,	—	CL,	—	CL,	—	281

F : Follicle CL : Corpus luteum
 — : Neither F nor CL was palpated

退行、77日後左側卵巢に卵胞出現し発情が回帰した。

第4群：全例、発情日の翌日に排卵し、黄体を形成順調に妊娠を継続し、人工授精後280～289日後に正常子牛を分娩した。妊娠期間中、妊娠黄体の存在しない片方の卵巢にはほとんど動きが見られなかった。

2. 子宮と頸管粘液の肉眼的性状

Fig. 2に示すごとく、発情時では各群とも各項目平均2.0以上を示し、個体間ならびに群間に大きな差異はなかった。10日後では、No. 1, 2は卵胞の存在があり高値を示したが、第

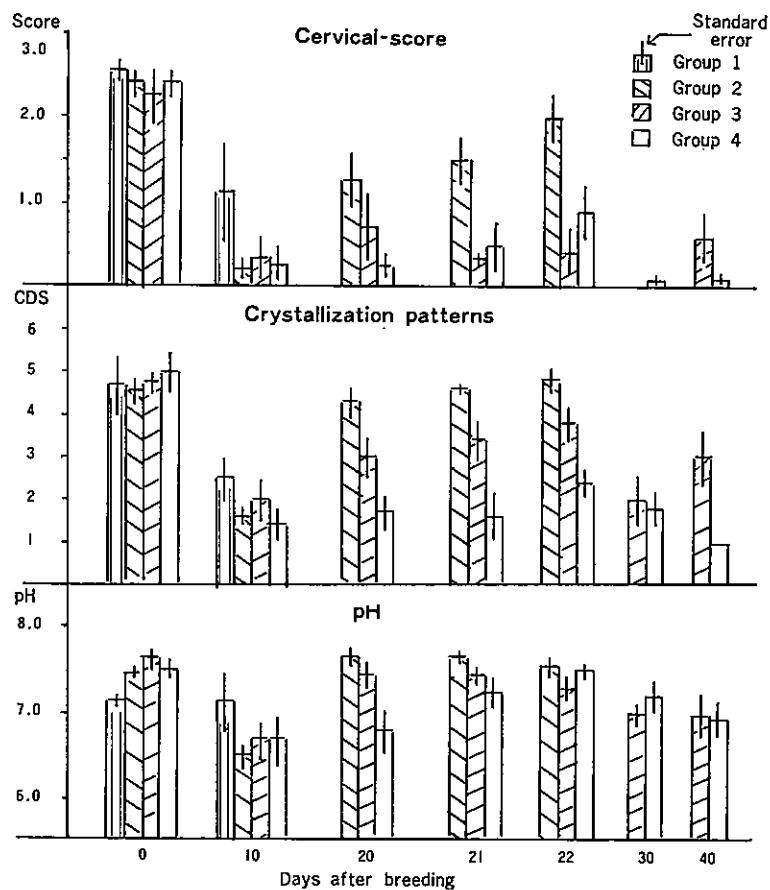


Fig. 2 Cervical score, crystallization patterns and pH

2, 3, 4 群は低値であった。21 日後では、発情が回帰した第 2 群は第 3, 4 群に比べ高値を示したが、発情回帰の遅れた No. 4, 15, 黄体の退行した No. 18 は低値であった。30, 40 日後では、第 3, 4 群とも低値であったが、41 日後に発情が回帰した No. 18, 19 では高値を示した。

3. 頸管粘液の結晶形成現象

発情時には、各群とも 4 型以上を示したが、両側卵巣に卵胞をもつ No. 1 と第 2 群の No. 4, 8 はいずれも 2, 3 型であった。10 日後では各群とも 1 ないし 2 型を示したが、No. 13, 17 は 4 型であった。21 日後では、発情回帰の近い第 2 群は全例 4, 5 型で、第 3, 4 群はそれぞれ 3, 1 型と低い型であった。30, 40 日後では、第 3, 4 群はともに 1 ないし 2 型であったが、30 日後に黄体が消失した No. 17, 41 日後に発情が回帰した No. 19 では、5, 6 型を示した。

4. 頸管粘液の pH

発情時には、第 1 群がやや低値 (7.13 ± 0.10) のほかは高く (7.46 ± 0.10 , 7.62 ± 0.20 , 7.50

±0.20), 10 日後では低値 (6.48±0.20, 6.70±0.20, 6.68±0.30) を示した。21 日後では, 各群とも高値であったが, とくに発情の回帰の近かった第 2 群が高い値を示した (7.66±0.10, 7.44±0.10, 7.24±0.20)。30, 40 日後では, 第 3, 4 群はともにほぼ一定値を示した (第 3 群; 6.97±0.10, 7.00±0.30, 第 4 群; 7.20±0.20, 6.94±0.20)。

5. Radioimmunoassay による血中性ステロイド値の動態

1) Cortisol (F); 第 1 群では, 発情時と 10 日後で個体による変異が大きかったが (19.30±5.10, 15.80±12.60 ng/ml), 3 例とも発情回帰前後に減少する傾向があった。第 2 群では, 10 日後にわずかに上昇し (8.25±1.50 ng/ml), 発情回帰時には再び下降した (7.24±1.40 ng/ml)。第 3 群は, 10 日後やや下降し (6.22±1.90 ng/ml), その後はほぼ一定値で推移したが (5.60~7.05 ng/ml), 40 日後まで黄体が存続した No. 20 は, 発情時から 22 日後まで 9.90~16.30 ng/ml, の範囲で変動し, 30 日以降顕著に下降した (3.50, 4.10 ng/ml)。第 4 群は, 10 日以降 21 日目を除きほぼ一定値で推移したが, 個体間での変異が大きかった。

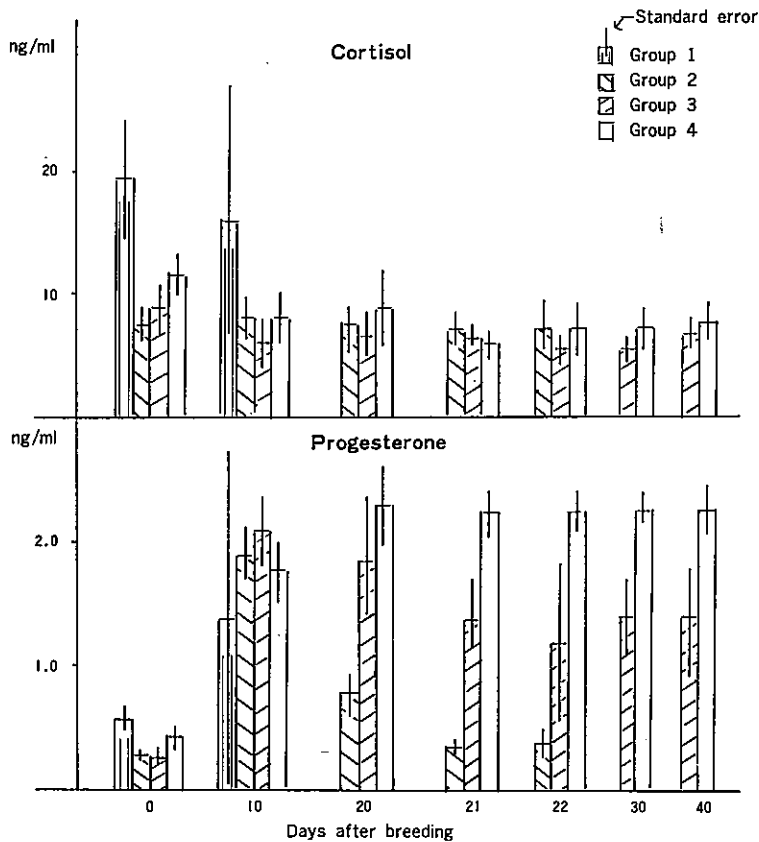


Fig. 3 Serum concentrations of cortisol and progesterone

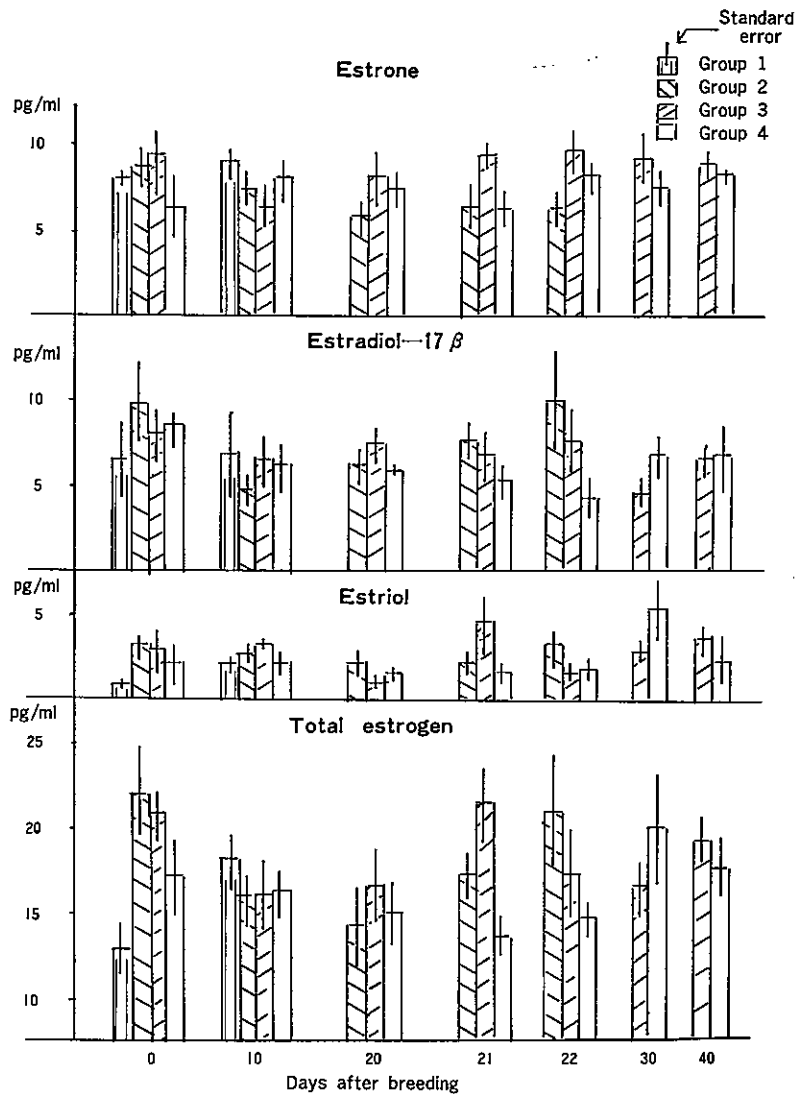


Fig. 4 Serum concentrations of estrogens

2) Progesterone (P); 各群とも発情時低値で、10日後大幅に上昇を示したが、7日、10日後に発情が回帰した No. 1, 2は低値のままであった (0.09, 0.29ng/ml)。20日後発情の回帰が近い第2群は再び下降したが、卵胞の閉鎖した No. 9は10日目、0.98 ng/ml でありながら発情徴候が見られず、23日後に 0.33 ng/ml となり発情が回帰した。第3群は、22日後5例中4例まで1.0 ng/ml 以下となったが発情徴候は見られず、40日後まで黄体が存続した No. 20は一貫して高値で(1.75~4.06 ng/ml), No. 22は30日目まで高値であったが(1.00~3.00ng/ml), 40日後には黄体の退行とともに下降した (0.78 ng/ml)。第4群は、全例同様の動きを示し、10日目以降 2.0 ng/ml 以上の高値であった。

3) Estrogen (E)

i). Estrone (E_1); 第1, 2群では, 性周期による大きな動きは見られず, 個体間の変異が大きかった。第3群では, 30日後で黄体が消失した No. 17, 40日, 30日後まで黄体が存続した No. 20, 22では変動が少なかったが, 他の3例では大きな変動が見られた。第4群では, ほとんど変動が見られなかった。

ii). Estradiol-17 β (E_2); 両側卵巣に卵胞が存在した No. 1では, 発情の翌日に一過性の上昇が見られた (17.73 pg/ml)。第2群では, 発情時に高く (10.09 \pm 2.30 pg/ml), 10日後に低値となり (4.91 \pm 0.60 pg/ml), 次回発情予定日に再び上昇したが (9.95 \pm 2.90 pg/ml), No. 11は, 22日後黄体が存在し, 発情徴候が見られないにもかかわらず異常に高値 (39.10 pg/ml) を示した。第3群では, No. 17, 20, 22の3例は10日後から21日目にかけてやや下降したが (9.03 \rightarrow 6.07 pg/ml), 他の3例は逆に上昇した (4.23 \rightarrow 9.07 pg/ml)。第4群では, 発情時から10日目にかけてわずかに減少後 (8.60 \rightarrow 6.18 pg/ml) ほとんど変化なく推移した。

iii). Estriol (E_3); 第1, 2群では, 個体間の変異が大きく周期性は明らかでなかった。第3群では, No. 18, 19が21日後に一過性の上昇をみたが (6.30, 11.20 pg/ml), 他の4例では, 大きな変動は見られなかった。第4群では, No. 27が30日後一過性に上昇 (12.20 pg/ml) を示したほかはほぼ一定値で推移した。

iv). Total estrogen; 第1, 2群では, 黄体期低値で次回発情予定日に高値を示し, 第3群では No. 17, 20, 22でほとんど変動が見られなかったが, 他の3例では20, 22日後に高値 (28.10, 29.50, 24.30 pg/ml) を示した。第4群では, 大きな変動は見られずほぼ一定値であったが, 30日目にやや上昇を示した (20.10 \pm 3.10 pg/ml)。

4) 血中性ステロイド値の ratio

i). E: P 比; 第1群では, 発情時より10日目が高値を示したが (11.26), 他の3群ではいずれも極端に低値を示した (0.92, 0.83, 0.97)。以後, 次回発情予定日に再び高値を示したが, No. 20, 22および第4群ではいずれも低値のままであり, 第3群の残りの4例は21, 22日目に一過性に高値を示した (4.53, 6.78, 2.78, 3.28)。

ii). E: F 比; 第1, 3ならびに4群は, 発情時より10日目が高値を示したが (3.40, 4.01, 2.98), 第2群は逆に低値となり (2.32), 21, 22日目にやや高値を示した (2.84, 3.07)。第3群で No. 20, 22は低値で経過したが (1.3 \sim 1.8, 1.4 \sim 4.7), No. 20は30日目に高値 (5.3) を示し, 他の4例は20日から22日目にかけて高値を示した (4.6, 5.3, 8.4, 16.2)。第4群は, 10日目以後はほぼ同じ値を維持した (2.54 \sim 3.10)。

iii). F: P 比; 発情時から10日目にかけて第2, 3, 4群では極端に低値を示したが (4.60, 3.00, 4.50), 第2, 3群では, 20日から22日目にかけて再び高値を示した (18.70, 9.93)。40日目まで黄体が存続した No. 20と第4群は10日目以後も低値を維持した (1.64 \sim 6.37, 2.70 \sim 4.50)。

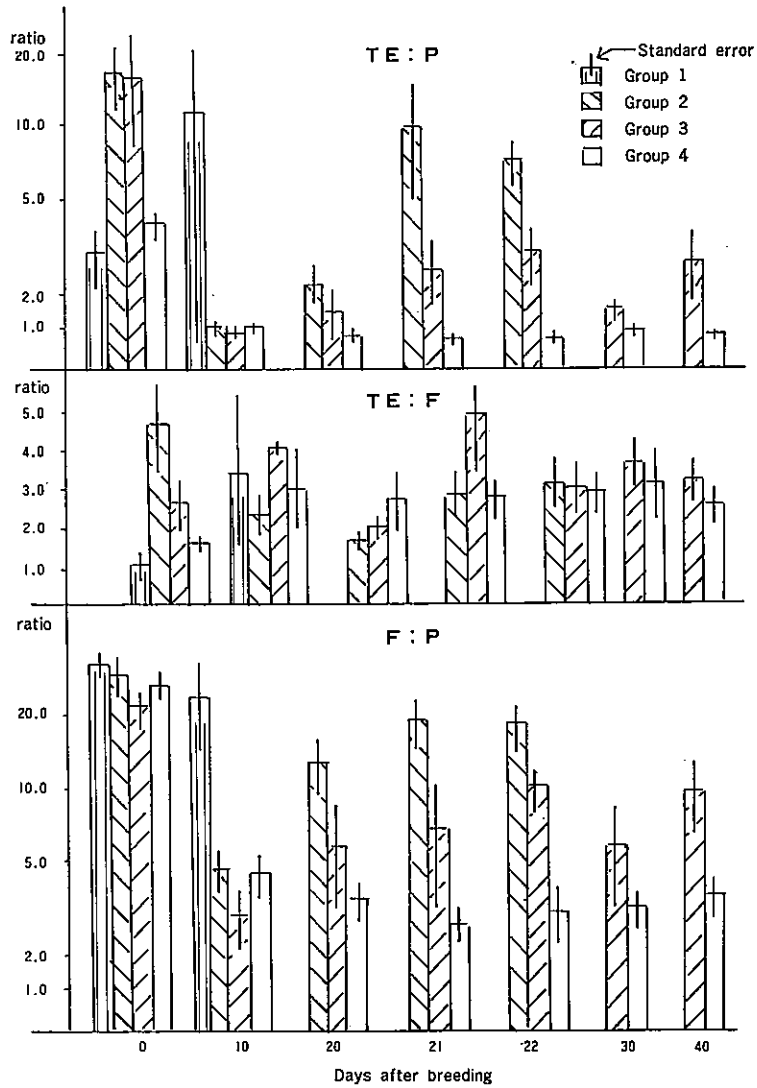


Fig. 5 Ratio of serum steroids

6. 頸管粘液性状 (uterine cervical score, 結晶形成像, pH 値) と血中性ステロイド値の ratio からみた受胎牛と不受胎牛の判別

Fig. 6 のように頸管粘液性状を縦軸, 性ステロイド値の ratio を横軸にとり, 各検査日において受胎例 (第4群) の範囲にはいる不受胎例 (第1, 2および3群) の割合を検討し, その結果を Table 5 に示した。

1) 頸管粘液性状と E:P 比

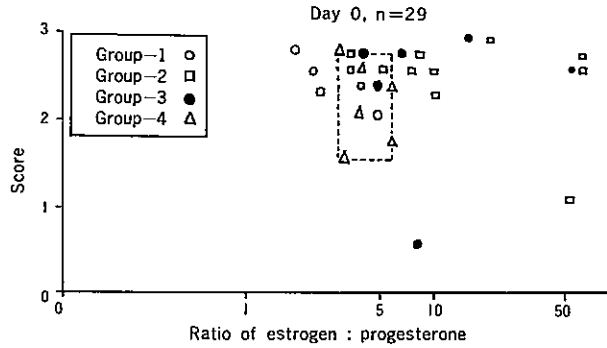


Fig. 6 Correlation between Score and E : P

Table 5. Correlation between the condition of cervical mucus and the ratio of reproductive steroids

Ratio*	Day	Score	Crystallization pattern	PH
E : P	0	31.8	23.8	30.0
	10	42.9	40.0	50.0
	20	15.4	7.7	15.4
	21	6.3	7.1	7.1
	22	0	0	0
	30	50.0	50.0	33.3
	40	50.0	0	33.3
E : F	0	28.6	19.1	25.0
	10	70.0	70.0	75.0
	20	38.5	30.8	23.1
	21	37.5	21.4	35.7
	22	33.3	0	38.5
	30	83.3	66.7	66.7
	40	50.0	1.7	16.7
F : P	0	40.9	28.6	30.0
	10	68.4	55.0	60.0
	20	15.4	7.7	15.4
	21	12.5	21.4	21.4
	22	16.7	0	15.4
	30	83.3	66.7	66.7
	40	33.3	0	16.7

*E : P=estrogen : progesterone

E : F=estrogen : cortisol

F : P=cortisol : progesterone

受胎例では, 10日目以後 score の減少, 結晶形成現象の陰性化, pH の中性~弱酸性化と E : P 比の減少があり, 不受胎例では, 次回発情予定日に score の上昇, 結晶形成現象の陽性化が見られたが, pH には特定の傾向がなく, E : P 比が上昇した。22日目では三つの頸

管粘液性状と、40日目では結晶形成現象と E:P 比で受胎例と不受胎例を完全に判別できた。

2) 頸管粘液性状と E:F 比

受胎例の E:F 比は、発情時より10日目が高値を示し、以後ほぼ一定値で推移したが、不受胎例では変動が大きかった。22日目では、結晶形成現象と E:F 比で受胎例と不受胎例を完全に判別できた。

3) 頸管粘液性状と F:P 比

F:P 比は、受胎例では10日目以後常に低値で推移したが、不受胎例では次回発情予定日に上昇した。22, 40日では、結晶形成現象と F:P 比で受胎例と不受胎例を完全に判別できた。

IV. 考 察

WISHART²⁷⁾ は、211頭のウシについて発情回帰日数をしらべたところ、90%が18~24日(平均22±3.5日)であったと報じている。今回の結果では、総計29性周期中3例が短周期(7~17日)、6例が長周期(41~77日)を示し、それらの卵巣所見は黄体形成不全2例、黄体と卵胞の共存1例、黄体は退行したが卵胞の発育がない5例、40日目まで卵巣に黄体が存続し妊娠と診断された1例であった。

ウシの性周期に伴う副生殖器の変化については数多くの研究がなされているが、今回、子宮と頸管粘液性状について、医学において用いられている INSLER (1974) の Cervical score¹⁵⁾ を用い検討した結果、その変化を極めて客観的にとらえることができた。すなわち、発情予定日が迫り卵巣に胞状卵胞が触診されるようになると2.0以上の高い score を示し、黄体期には低値を示した。しかし、人工授精の結果、受胎した例と不受胎となった例の発情時における score での差異、あるいは不受胎でありながら発情を見せない例と受胎した例の早期判別にはこの score のみでは不十分で、さらに調査項目を加えるか、あるいは score を細分化する必要性を感じた。

頸管粘液の結晶形成現象については、多くの報告^{1,20)} があり発情期には定型的結晶像の出現が見られ、黄体期や妊娠期には結晶像は見られないと述べている。今回の成績もこれとほぼ同様の結果を示したが、受胎例の中には次回発情予定日に非定型的結晶像の出現するものも見られた。芦田¹⁾ は、黄体初期に黄体と卵胞が共存するウシでは結晶形成陽性像を示すものが多く、かつこのような状態は Repeat breeder に多く見られるとしている。今回も不受胎例の中には黄体が存在しながら定型的結晶像を示す2例、逆に卵胞が存在するにもかかわらず結晶像が見られなかった4例があった。

頸管粘液の pH について山内²⁸⁾ は、発情期ないし発情後期に高く平均7.2~7.3で、黄体期には平均6.7と低い値を示すと報じている。今回の結果もこれと同様の傾向にあったが、不

受胎例の中には黄体期、次回発情予定日に異常な高値を示した3例があり、これは中島ら²¹⁾が子宮内感染、尿墮などの場合に高値を示すと述べている例に似ていた。

ウシの性周期中の血中 cortisol 値について RANDEL ら²²⁾は、発情時受胎牛は不受胎牛の3倍以上の高値を示すとし、GIMENEZ ら¹¹⁾は発情期に高く、黄体期に低くなると述べている。一方、ERB ら⁷⁾は発情日の平均は7.6 ng/ml で周期性変動は見られないと報じている。今回の結果も発情期に高く、黄体期に低い傾向を示し、受胎例では10日目以後低値で安定していたが、不受胎例では黄体期に高値を示したり、次回発情予定日に異常な高値を示した例があった。

血中 progesterone 値についても多くの報告^{3,4,6)}があり、発情期に低値で黄体期に高値となり、妊娠すればそのまま高値を持続すると述べている。今回も同様の傾向を示したが、黄体期の測定値は他の報告に比べやや低かった。これは ROBERTSON²⁴⁾が述べているように個体差、採血日、測定方法による違いや、DONALDSON ら⁶⁾が報告しているように8日目以後一時的に血中 progesterone 値が低下するという事実によるものと思われる、今後採血回数、採血日などを考慮して実施する必要がある。

ウシの血中、乳汁中の progesterone 値による早期妊娠診断が報告されているが³⁾、POPE ら²²⁾は授精後20ないし21日目の血中 progesterone 値が1.5 ng/ml 以上では妊娠と診断し、これと授精後70日目での直腸検査との相違は早期の胎芽死による場合が多いとした。これを今回の測定値で検討してみると、妊娠した群は全例確実に診断されるが、発情回帰が遅れた群のうち2例は妊娠と診断された。このうち1例は、40日目まで黄体が存続し直腸検査で妊娠と診断されており、それ以降に胎芽死が起こったものと推測された。

血中 estrogen 値について WETTERMAN ら²⁶⁾は、estradiol-17 β は発情時に高値でその後やや下降し、妊娠初期では6.2~8.6 pg/ml の範囲内にあり、40日目11.1 pg/ml と高値を示す以外ほとんど変動がなかったと述べている。今回の結果では、estrone は性周期による変動が受胎例では少なく、不受胎例で大きくなり、estradiol-17 β は発情期高値、黄体期低値を示し、不受胎例では次回発情予定日に高値となった。Estrinol は低値で周期性の変化は認められなかった。Estrinol について百目鬼ら²⁵⁾は蛍光法で測定した場合血中には検出できなかったとし、ERB ら⁷⁾は尿中で、藺守¹⁶⁾は血中でそれぞれ測定しているが、今回の実験では estrinol に特異性の高い抗血清 Estrinol-6-oxime-BSA を用い、30,000倍にまで高倍稀釈を行い測定したので、他のステロイドとの交差反応はほとんど見られなかった。ERB ら⁶⁾は、受胎牛は不受胎牛より終始高い血中 estrogen 値を示し、発情期20~60 pg/ml でその後も20 pg/ml 以上であると述べているが、RANDEL ら²³⁾は発情時から9日目までの尿中 estrogen 値は不受胎牛が受胎牛より高い傾向にあると報告している。今回 total estrogen 値は、発情時不受胎牛が受胎牛より高い測定値であったが、30日目では逆に受胎牛が高値となった。

GARVERICK ら¹⁴⁾ は、標的臓器においてホルモンがその機能を営むための有効量は他のホルモンとの関係で決定されると述べている。HENRICKS ら¹⁵⁾ も同様の観点から progesterone : estrogen 比でウシの性周期を検討し、その比率が受胎牛では6日目以後常に不受胎牛より高値にあったと述べている。今回 estrogen : progesterone 比を検討し、その比率は発情時高く、黄体期に低値となり、受胎例では低値のまま授精後20日ないし21日目で不受胎例との間に明瞭な差異を生じた。Cortisol と他のホルモンとの関係を検討した例は少ないが、今回 estrogen : cortisol 比は受胎例ではほとんど一定していたが、不受胎例では大きな変動が見られ、cortisol : progesterone 比は受胎例では10日目以後低値を示し、不受胎例では progesterone 値の減少により高値となった。今回、早期の胎芽死が疑われた例では22日目まで受胎例と同様の血中性ステロイド値の変動を示していたが、30日目 cortisol 値と progesterone 値の大幅な減少があったため estrogen : progesterone 比、cortisol : progesterone 比の減少、estrogen : cortisol 比の顕著な上昇が見られた。Progesterone 生成については卵巣以外の、とくに副腎由来のものが示唆されているが、今回の例は30日目の直腸検査で黄体の変化は認められなかったことから、生体内の他の部分に変化が起こり、そのため血中 cortisol 値、progesterone 値が減少し妊娠が停止したものと思われる。

ウシの外部的発情徴候、頸管粘液の性状などは estrogen と progesterone の割合により変化するとされるが、今回 estrogen : progesterone 比が減少すると受胎例では子宮と頸管粘液性状の score が減少し、結晶形成現象の陰性化および pH が中性から弱酸性へ偏る傾向がみられた。また、このことは cortisol : progesterone 比の場合についても同様であったが、estrogen : cortisol 比では明瞭でなかった。

以上のごとく、頸管粘液性状と血中性ステロイド値の ratio は、受胎牛と不受胎牛の早期判別に役立つものと考えられる。

V. 結 語

1. 受胎例では、子宮と頸管粘液性状の score の減少、頸管粘液の結晶形成現象の陰性化ならびに pH 値の中性ないし弱酸性化が目立ち、不受胎例では次回発情予定日に score の上昇、定型的結晶像の出現がみられたが、pH 値には一定の傾向はなかった。

2. 血中性ステロイド値の ratio では、受胎例で estrogen : progesterone 比、cortisol : progesterone 比が低値で、estrogen : cortisol 比の変動が少なく、不受胎例では次回発情予定日に estrogen : progesterone 比、cortisol : progesterone 比が高値で、estrogen : cortisol 比の大きな変動がみられた。

3. 頸管粘液性状と血中性ステロイド値には関連性がみられ、とくに頸管粘液の結晶形成現象と estrogen : progesterone 比が一致した。

4. 頸管粘液性状と血中性ステロイド値の ratio で, 受胎例と不受胎例の早期判別が可能である。

文 献

- 1) 芦田浄美 (1958): 乳牛の交配後に於ける Progesterone 給与による受胎促進法, 家畜繁殖誌, 43, 73-75.
- 2) DAWSON, F. L. M. (1975): Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of ovarian function in the cow. *Vet. Rec.*, 96, 218-220.
- 3) DOBSON, H., MIDMER, S.E. and FITZPATRICK, R.J. (1975): Relationship between progesterone concentrations in milk and plasma during the bovine oestrus. *Vet. Rec.*, 96, 222-223.
- 4) 百目鬼郁男・中原達夫・山内 亮 (1974): 性周期における牛末梢血中 progesterone の螢光測定, 家畜繁殖誌, 20, 71-75.
- 5) 百目鬼郁男・中原達夫・山内 亮 (1974): 性周期における牛末梢血中遊離 estrogen の螢光測定, 家畜繁殖誌, 20, 76-80.
- 6) DONALDSON, L. E., BASSETT, J. M. and THORBURN, G. D. (1970): Peripheral plasma progesterone concentration of cows during puberty, oestrous cycles, pregnancy and lactation, and the results of under-nutrition or exogenous oxytocin on progesterone concentration. *J. Endocrinol.*, 48, 599-614.
- 7) ERB, R. E., ESTERGREEN, V. L., GOMES, W. R., PLOTKA, E. D. and FROST, O. L. (1968): Progesterone levels in corpora lutea and progesterone in ovarian venous and jugular vein blood plasma of the pregnant bovine. *J. Dairy Sci.*, 51, 401-410.
- 8) ERB, R. E., GARVERLICK, H.A., BROWN, B.L. and CALLAHAN, C. L. (1976): Profiles of reproductive hormones associated with fertile and nonfertile inseminations of dairy cows. *Theriogenology*, 5, 227-242.
- 9) GARTLAND, P., SCHIAVO, J., HALL, C. E., FOOTE, R. H. and SCOTT, N. R. (1976): Detection of estrus in dairy cows by electrical measurements of vaginal mucus and by milk progesterone. *J. Dairy Sci.*, 59, 982-985.
- 10) GARVERICK, H. A., ERB, R. E., NISWENDER, G. D. and CALLAHAN, C. J. (1971): Reproductive steroids in the bovine. III. Changes during the estrous cycle. *J. Anim. Sci.*, 32, 946-956.
- 11) GIMENEZ, T., ENDER, M. L. und HOFFMANN, B. (1974): Bestimmung von Glucocorticoiden im Blut vom Rind in Beziehung zur Gelbkörperfunktion des physiologischen Brunstzyklus und bei exogener Glucocorticoidzufuhr. *Dtsch. Tierärztl. wschr.*, 81, 33-37.
- 12) GINTHER, O. J., NUTI L., WENTWORTH, B. C. and TYLER, W. J. (1974): Progesterone concentration in milk and blood during pregnancy in cows. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 146, 354-357.
- 13) HENRICKS, D. M., DICKEY, J. F., HILL J. R. and JOHNSTON, W. E. (1972): Plasma estrogen and progesterone levels after mating, during late pregnancy and postpartum in cows. *Endocrinology*, 90, 1336-1342.
- 14) HENRICKS, D. M., LAMOND, D. R., HILL, J. R. and DICKEY, J. F. (1971): Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifer. *J. Anim. Sci.*, 33, 450-454.
- 15) 五十嵐正雄 (1974): Insler の Cervical score. 内分泌疾患の診断: ホルモンと臨床, '74. 増刊特集号 223.
- 16) 藺守龍雄 (1975): ウシの分娩前後の内分泌的背景について, 家畜繁殖誌, 20, 5-9.
- 17) KING, G. L., HURNIK, J. F. and ROBERTSON, H. A. (1976): Ovarian function and estrus in dairy cows during early lactation. *J. Anim. Sci.*, 41, 688-692.
- 18) 牧野拓雄 (1973): 性ステロイドホルモンの Radioimmunoassay, 日内分泌誌, 48, 629-646.

- 19) 牧野拓雄・神戸川明 (1973): Radioimmunoassay による血中 cortisol の測定, 日内分泌誌, 49, 1927-1305.
- 20) 三宅 勝 (1955): 家畜生殖器粘液の結晶形成に関する研究, 第1報, 健康乳牛の頸管粘液における所見, 家畜繁殖誌, 1, 143-144.
- 21) 中島 迪・吉田康幸・木場伊佐美 (1961): いわゆる低受胎牛で頸管粘液が高い pH を示す牛に対する排卵後の薬液注入について, 家畜診療, 26, 11-13.
- 22) POPE, G. S. and HODGSON JONES, L. S. (1975): Use of plasma progesterone levels in an assessment of embryonic loss in dairy cattle. *Vet. Rec.*, 15, 154.
- 23) RANDEL, R. D., GARVERICK, H. A., ERB, R. E. and CALLAHAN, C. J. (1971): Reproductive steroids in the bovine. IV. Urinary estrogen excretion rates from 0 to 9 days after breeding in fertile and nonfertile cows. *J. Anim. Sci.*, 32, 1183-1189.
- 24) ROBERTSON, H. A. (1972): Sequential changes in plasma progesterone in the cow during the estrous cycle, pregnancy at parturition and post-partum. *J. Anim. Sci.*, 52, 645-658.
- 25) WAGNER, R. E. STROHBEHN, R. E. and HARRIS, P. A. (1972): ACTH, corticoids and luteal function in heifers. *J. Anim. Sci.*, 35, 789-793.
- 26) WETTEMAN, R. P. and HAFS, H. D. (1973): LH, prolactin, estradiol and progesterone in blood serum during early pregnancy. *J. Anim. Sci.*, 36, 51-56.
- 27) WISHART, D. F. (1972): Observations on the oestrous cycle of the Friesian heifer. *Vet. Rec.*, 90, 595-597.
- 28) 山内 亮 (1976): 繁殖機能検査, 牛の臨床検査法, 第3刷, 中村良一・米村寿男・須藤恒二共編, 豊文協, 東京, 14-8.

Summary

Cervical mucus and blood samples of cows were collected and rectal palpation was done on day 0, 10, 20, 21, 22, 30 and 40 after breeding. From a total of 29 estrous cycles in fifteen cows, nine returned to estrus 1 to 3 times. Three returned to estrus in 17 days, 13 in 19 to 26 days and 6 in 41 to 77 days, while 7 became pregnant.

The condition of the uterine and cervical mucus of cows was determined by cervical score. Crystallization patterns of cervical mucus were classified into 6 types, pH of cervical mucus was determined with pH test strip and serum concentrations were measured by radioimmunoassay.

Results obtained were summarized as follows:

1. The uterine-cervical score and crystallization patterns of cervical mucus decreased and the pH of cervical mucus varied from slightly acid to neutral in fertile cows. Increased score and extent of crystallization patterns were observed in infertile cows, but pH varied greatly from acid to neutral.

2. E: P and F: P ratio decreased while E: F ratio was stable in fertile cows.

3. Variation of score, crystallization patterns and pH were related to the ratio of serum steroids. Increased crystallization patterns were highly reflected in the E: P ratio.

4. Fertile and infertile cows can be identified by the correlations obtained among the scores of uterine and cervical conditions, crystallization patterns, pH of cervical mucus and also the serum steroids ratio.