牛における液状粘性物質子宮内注入の性周期に及ぼす影響

II. 子宮に対する刺激性

山内 亮・中原 達夫・金田 義宏・乾 純夫

(農林省家畜衛生試験場 中国支場)

子宮剔除あるいは子宮腔への異物挿入が黄体の機能維持に重要な影響を与えることが各種動物において認められているが、このような子宮-卵巣系の性機能支配が如何なる機序によるかについては未だ一致した見解が得られていない。著者ら(1958)¹⁾はさきに牛の子宮内に固形異物を挿入すると性周期が変化することを明らかにし、ついで(1965)²⁾ある種の液状粘性物質を子宮内に注入しても同様の現象が生ずることを認め、牛における子宮-卵巣系調節機構の一端を実証した。

本報告では液状粘性物質を牛の子宮内に注入して 1) これの子宮腔における貯留状況, 2) 子宮粘膜に対する刺激性, 3) 子宮に加えられる異物的刺激の期間と性周期の変化の関係などを検討した。

実験材料および方法

本実験に使用した液状粘性物質は著者ら(1965)²⁾が子宮内注入による性周期の変化について検討した物質と同一の Gelceptor F (G) である。G の子宮内注入は前報(1965)²⁾で述べたように特殊注入器を用いて頸管を通して行なった。実験牛は家畜衛生試験場中国支場に繋養されている黒毛和種およびジャージ種である。なお、G 注入後の子宮粘膜の変化を検討する実験では、場内繋養牛の他に屠場牛を使用した。本実験における性周期の長さは排卵から排卵までの期間とし、性周期の日次は排卵日を「0」として起算した。

1. G の子宮内貯留状況の観察

9 頭 32 例の実験牛について注入された G の子宮内貯留状況を観察した。このうち 16 例には周期の 1 日の発情後期から 6 日の黄体初期の間に G 注入を行ない、他の 16 例には 12 日の黄体開花期から 18 日の黄体後

期にかけてこの処置を行なった。G の注入回数は 2 例は隔日に 5 回(初回注入はそれぞれ 12 日および 13 日)、10 例は 2~4 日の間隔で 2 回(初回注入は 2 日が 5 例、12 日が 2 例、14 日が 3 例)であり、残りの 20 例は 1 回とした。G の注入用量は 1 回 42~137 gm, とした。G の子宮内貯留状況は主として直腸検査によって触診したが、この方法で判断し難い場合には滅菌した金属性カテーテル(直径約 5 mm)の先端を頸管を通して僅かに子宮体部まで挿入して、他端に装着した滅菌注射器を軽く吸引して子宮内容物が回収できるか否かを検討して確認した。なお、この際に子宮内容物が注射器内に吸引されて、貯留の状況が明らかになった場合には速やかにこれを子宮内に再注入した後、静かにカテーテルを抜去した。

2. G の子宮粘膜に対する刺激性の検討

a) G 注入後における頸管粘液の観察

G 42~137 gm, を周期の 1 日, 2 日, 6 日, 12 日および 17~18 日に 1 回注入されたそれぞれ 3~5 頭の実験牛について、注入前後の頸管粘液の性状を肉眼的に観察するとともにタンボンで採取したこの粘液をスライドグラスに塗抹し、風乾後、メタノールで固定し、ギムザ染色を施し、鏡検により細胞成分を検査した。

b) 注入による子宮粘膜の変化の検討

本実験には屠場牛 7 頭および場内繋養牛 5 頭を使用した。屠場牛は G 注入前の腔、直腸検査により卵巣機能、子宮の状態がともに正常と認められたものである。これらのうち 4 頭には黄体初期に、他の 3 頭には黄体開花期にそれぞれ G 67~134 gm を 1 回注入し、注入後 1~9 日の間に屠殺して子宮粘膜の状態を肉眼的ならびに組織学的に検査した。場内繋養牛 5 頭のうち 3 頭は黄体後期に、2 頭は発情前期にそれぞれ G 100~137 gm を 1 回注入し、注入後に発現した初回の発情期に子宮内膜 biopsy を行なって子宮内膜の状態が正常であるか否かを検討した。組織学的検査は常法に従って行ない。組織の固定には 10% の磷酸緩衝液ホルマリンを使用し、厚さ 5 μ の切片として H. E. 染色を施した。

Effect of intrauterine administration of a viscous gel-like substance on the estrous cycle in cattle.
II. Irritating effects of the treatments on the uterus.

YAMAUCHI, M., T. NAKAHARA, Y. KANEDA & S. INUI
(Chugoku Branch, Natl. Inst. Animal Health, Wadaya-
yama, Hyogo) *Jap. J. Animal Reprod.* 12 (2), 1966.

Table 1. Retention of the gel-like substance (G) in the uterus of the cow.

Cow No.		Intrauterine injection at postestrus—early luteal phase (Days of cycle)															Intrauterine injection at functional—late luteal phase (Days of cycle)															Length of cycle	
Order of cycles		1	3	5	7	9	11	13	15		11	13	15	17	19	21	23	25		Order of cycles		11	13	15	17	19	21	23	25		Length of cycle		
1 — 3	↓	↓	—						20		5 — 11	↓	—	↓	—				20		4 — 11	↓	↓	+	—↓	++	+	+	—		28		
1 — 16	↓	↓	—						8		4 — 13	↓	++	++	++	++	—		23		4 — 12	↓	↓	++	++	++	++	—			26		
3 — 16	↓	↓	—						25		3 — 11	↓	↓	++	++	—			20		1 — 11	↓	↓	+	+	—					20		
4 — 3	↓	↓	—						21		1 — 19	↓	—	—	—				21		3 — 18	↓	↓	—	—	—					22		
1 — 4	↓	↓	—	↓	—				9		9 — 3	↓	+	+	—				22		1 — 21	↓	↓	↓	—↓	—					24		
2 — 2	↓	↓	—	↓	—	+	+	+	10		4 — 20	↓	↓	++	++	—			25		9 — 5	↓	↓	↓	++	++	—	±			25		
3 — 2	↓	↓	—	—	—	—	—	—	12		1 — 25	↓	↓	↓	↓	—			33		4 — 22	↓	↓	↓	↓	±	—				33		
4 — 4	↓	↓	—	—	—	—	—	—	13		4 — 7	↓	—	—	—	—			27		9 — 7	↓	↓	↓	↓	±	±				28		
5 — 3	↓	↓	—	—	—	—	—	—	14		6 — 8	↓	↓	↓	↓	↓	—		20		8 — 8	↓	↓	↓	↓	—	—				20		
3 — 5	↓	↓	±	—					9		8 — 8	↓	↓	↓	↓	↓	—		19												19		
4 — 17	↓	↓	—	—					10																								
5 — 7	↓	↓	—						10																								
2 — 5	↓	↓							14																								
4 — 7	↓	↓							17																								
7 — 7	↓	↓							17																								
8 — 3	↓	↓							14																								
Total	—: 13/16, ±~+: 3/16																Total	—: 6/16, ±~+: 10/17															

↓: Intrauterine injection of G.

Degree of intrauterine retention of G examined by rectal palpation is as follows:

—: Unpalpable, ±: Slightly palpable, ++: Distinctly palpable, ++: Uterus swollen by accumulation of liquid content.

3. Gによって子宮に加えられる刺激の期間と性周期の変化の関係

Gによって子宮に加えられる刺激の期間と性周期の変化の関係を検討する目的で、実験牛の子宮内にGを一旦注入した後、子宮洗浄によってこれを排除した場合の性周期の変化の有無をしらべた。

本実験には5頭6例の牛を使用した。G注入の時期は何れも黄体初期で3例は周期の2日、他の3例は6日である。Gの注入用量は60~140 gmとした。子宮洗浄はG注入後2日目に約800~1,500 mlの滅菌生理食塩液を用いて行なった。G注入後は連日あるいは2~3日の間隔で腔、直腸検査を行ない、子宮内容物の有無、黄体の消長および排卵の状態などを観察して、注入前後の無処置の性周期の長さと比較して、これらの処置により性周期に変化が生ずるか否かを検討した。

実験成績

1. Gの子宮内貯留状況

注入したGの子宮内貯留状況は、液状物質がかなり大量に貯留して子宮が波動性を示すものを(++)、明らかに

触知されるものを(+), 僅かにその存在が感じられる程度のもを(+), 全くその存在が感じられないものを(—)として表1に示した。注入後1~2日におけるGの子宮内貯留状況を注入時期別に比較すると、周期の1~2日および5~6日の発情後期から黄体初期にかけて注入された16例においては(+)が2例、(±)が1例で子宮内にGの存在しているものは少なかったが、これに較べて周期の12~18日の黄体開花期から黄体後期にかけて注入された16例においては(++)が5例、(+)が3例、(±)が2例であり、子宮内にGの貯留しているものがかなり多数認められた。とくに黄体開花期に隔日あるいは3日の間隔で2回の注入を受けた牛No. 4(第11周期), No. 4(第20周期)およびNo. 9(第5周期)では2回目の注入後において、また隔日5回の連続注入を受けたNo. 4(第13周期), No. 3(第12周期)においては子宮壁は弛緩し、子宮は著しく膨満して、子宮角の太さが約2.5~3.0 指巾となり波動性を示し、あたかも妊娠40日前後あるいは子宮蓄膿症のように触知された。しかし、その後、黄体が退行して卵胞の発育が認められる時期にはこれらの膨満した子宮は急激

Table 2. Responses of the cervical mucus following intrauterine injection of G.

Collection Features		Time of injection and No. of cow																			
of samples	of cervical mucus	Day-1			Day-2				Day-6				Day-12				Day-17 & 18				
		1	3	4	1	3	4	5	2	4	7	8	1	1	3	9	1	4	6	8	9
Just before treatment	Gross	B	C	C	B	B	B	B	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
	Microscopic																				
	N. L.	2	—	—	2	1	—	3	3	1	—	(1)	1	1	1	—	1	—	—	—	—
	E. L.	—	—	—	1	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1-3 days after treatment	Gross	C	W ₁	W ₂	W ₃	W ₃	W ₃	W ₃	C	W ₂	W ₁	W ₂	W ₃	W ₁	C	W ₃	W ₃	C	W ₁	C	C
	Microscopic																				
	N. L.	3	1	3	4	3	2	2	(4)	(4)	3	3	2	3	(3)	2	3	2	3	2	—
	E. L.	1	(2)	2	(1)	—	(2)	(1)	1	1	—	(1)	—	—	—	(1)	(2)	—	—	—	(2)
First estrus following treatment	Gross	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C				C	
	Microscopic																				
	N. L.	—	—	—	3	1	1	—	—	(3)	—	2	—	—	—	2				—	
	E. L.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				—	

a) C: Clear, B: Bloody (Nenstruation), W₃: Containing a little amount of grey parts, W₂: Cloudy, W₃: Greyish white.

b) N.L.: Neutrophil leucocyte, E.L.: Eosinophil leucocyte, Nos. 4-1 represent the number of leucocytes per field ($\times 1,000$); i.e. 4: ∞ , 3: many, 2: <10 , 1: a few cells in 10-20 fields, —: non of leucocytes was found. ( ): Leucocytes were found partially.

に減少してG注入前とほぼ同様の形状に復した。上述のようにGの子宮内貯留状況が注入時期によりかなり異なり、黄体開花期から黄体後期にかけては比較的長時間にわたり貯留されるが、発情後期から黄体初期にかけては貯留される時間が短いのは頸管の緊縮の状態、子宮の収縮運動の差違によるものと考えられる。なお、発情後期～黄体初期に注入された例では全般に子宮壁は厚くて弾力に富み、あたかも発情期の子宮のように感じられるものが多かったが、黄体開花期から連続注入を受けた例では子宮壁は弛緩し、かつ菲薄に感じられた。

2. Gの子宮粘膜に対する刺激性

a) G注入後における頸管粘液の変化

G注入前後の頸管粘液の性状を検討して表2に示すような成績が得られた。G注入後1～3日の間における粘液中には注入時期を問わず肉眼的に殆んど全例において程度の差はあるが白濁物の混入が認められ、顕微鏡的検査では多数の好中球および上皮細胞ならびに少数なが

ら好酸球が認められた。しかしながらG注入後の初回の発情期には、多量に分泌される頸管粘液は肉眼的に透明で正常発情牛におけるそれと殆んど差違なく、顕微鏡的には少数の上皮細胞が認められたが、好中球は16例中6例にごく僅か散見されただけであった。

b) G注入による子宮粘膜の変化

注入後1～9日目に屠殺して観察した子宮粘液の所見は表3に示す通りであった。子宮腔には黄体初期に処置した4例のうち2例および黄体開花期に処置した3例のすべてにおいて、注入したGの量よりはるかに多い105～330 gm. の油臭のある乳白色絮状凝固物を混入する黄褐色～茶褐色の液状物質が貯留していることが認められた。粘膜面は正常と認められる1例(S-4)を除いて表面は何れも粗糙で、色調は淡黄褐色～茶褐色を呈し、さらに5例においてはかなり強い浮腫が認められた。子宮粘膜の組織学的所見としては表層上皮の剝離、退行変性、白血球の浸潤、固有層の壊死、欠損、血管充

Table 3. Effects of intrauterine injection of G on the bovine endometrium.

No. of cow Injection of G Stage ^{a)}	S-4	S-5	A-24	A-39	S-3	S-6	A-25
Dose (gm.)	E.L.	E.L.	E.L.	E.L.	F.L.	F.L.	F.L.
Autopsy ^{b)}	67	129	78	74	126	134	95
	2	2	1	9	1	3	4
Gross findings							
Uterine content (gm.)	—	230	150	+	330	197	105
Mucosa							
Hyperemia	—	+	+	—	+	+	+
Edema	—	+++	+++	+++	+++	++	+
Microscopic findings							
Epithelium							
Desquamation	—	+++	+++	++	++++	—	+
Leucocyte	—	++	+++	++	++++	—	—
Reparation	+++	++	—	+	—	+++	—
Lamina propria							
Hyperemia, edema	+	+	++	++	++++	+	++
Erosion	—	—	+++	—	++++	++	—
Proliferation	++	++	++	+	+	+++	++
Leucocytes							
N.	+	+	+	++	+++	+	+
E.	—	+	+	—	+	++	—
L.	—	+	+	—	—	+	—
Inflammatory reactions	—	—	+	+	+	+	—

a) E.L.: Early luteal phase, F.L.: Functional luteal phase

b) Days after the treatment.

c) N.: Neutrophil, E.: Eosinophil, L.: Lymphocyte.

盈およびこれに伴う水腫性変化, 増殖性変化および白血球の浸潤などがみられるところから炎症性変化と判定されたものが 7 例中 4 例あった。しかし, これらの炎症性変化は何れも子宮粘膜の浅部に局限して子宮腺には変化が及んでいないことが注目され, 表層上皮にかなり著明な修復反応が始まっているものがあることが認められた。また, 5 頭の牛について G 注入後に発現した発情期における子宮粘膜の状態を biopsy によって検査した結果, 全て正常であることが認められた。以上の子宮粘膜の所見は上述の頸管粘液の変化と一致しているものと認められた。

これらの成績から G は牛の子宮粘膜に対して刺激性があり, これの子宮内注入により子宮粘膜には一過性に炎症性変化が生ずるが, 次の発情期までには正常に復することが認められた。

3. G によって子宮に加えられる刺激の期間と性周期の変化の関係

黄体初期に G を注入して 2 日後に子宮洗浄を行ない内容物を排除した場合の性周期は 図 1 に示した通りである。すなわち, G 注入から排卵までの日数は周期の 2

日に注入を受けたものでは 6~10 日 (平均 7.7 日), 6 日に注入を受けたものは 8~12 日 (平均 9.7 日) であった。また, G 注入時の性周期の長さは周期の 2 日に注入を受けたものでは 8~12 日 (平均 9.7 日), 6 日に注入を受けたものでは 14~18 日 (平均 15.7 日) であり, これらの注入前後の性周期それぞれ 20~22 日 (平均 21.3 日) と較べて明らかに短縮していることが認められた。この結果から, 少なくとも黄体初期に G の沉入を受けたものはその後 2 日目に子宮内容物を子宮洗浄により排除しても性周期は短縮され, この際の性周期の長さは前報 (1965)²⁾ の黄体初期注入例のそれらと変らないものと認められた。

回収された子宮洗浄液は何れも肉眼的に透明で, ごく少量の微細白濁物の混入が認められた。このことは, 子宮洗浄実施前に注入された G の大部分はすでに子宮内に存在していなかったことを示すものである。この所見は屠場牛において注入した G がかなり大量に子宮内に貯留していた事実と矛盾しているようであるが, 本実験に使用した牛は過去に何れも数回以上の子宮に対する処置を受けているので, このため頸管がやや弛緩しており, 注入した G が容易に腔内に排出されたのでなかろうかと考えられる。

考 察

各種動物において子宮内に異物を挿入すると性周期が変化することが認められている。著者ら (1958)¹⁾, HANSEL ら (1960)³⁾ は牛において, MOORE ら (1953)⁴⁾, NALBANDOV ら (1955)⁵⁾, INSKEEP ら (1962)⁶⁾ は羊において, MOORE (1961)⁷⁾, DONOVAN (1961)⁸⁾, 大地ら (1963)⁹⁾ はモルモットにおいて固形異物を挿入して, また著者ら (1965)⁹⁾ は牛においてある種の液状粘性物質を注入して, それぞれ処置時の性周期が変化することを認めている。

子宮内への異物挿入による子宮一卵巣系の性機能支配の機序について MOORE ら (1953)⁴⁾, NALBANDOV ら (1955)⁵⁾ は羊において MOORE (1961)⁷⁾ はモルモットにおいて, 子宮内に異物を挿入した際の刺激は神経を介して下垂体に作用して前葉の性腺刺激ホルモンの分泌に変化を与えるのであろうと推察している。HANSEL ら (1960)³⁾ は多分子宮腔の拡張が原因となり前葉の luteotropic hormone の分泌が抑制されるのであろうと述べている。前報²⁾ に述べたように粘性物質 G を黄体初期に牛の子宮内に注入すると性周期は短縮するが, 今回の実験では G を黄体初期に注入して 2 日後に子宮洗浄によって子宮内容物を完全に排除しても性周期は同様に短縮することが

Fig. 1 Effect of excluding uterine contents following intrauterine injection of G on estrous cycle length

認められた。このことから、G 注入による性周期の変化が子宮腔の拡張に基因するとするならば、性周期に変比もたらすための異物的刺激の感作は少なくとも黄体初期においては 2 日以内の短期間でも有効であるといえることができる。このことは MOORE ら (1953)⁴⁾、NALBANDOV ら (1955)⁵⁾の主張のごとく異物的刺激が神経を介して下垂体に作用するとするならば、たとえ刺激の感作期間が短かくても、一旦この刺激の伝達を受けた性中枢あるいは下垂体前葉はこれを契機として可逆的な活動を開始するというを示すものと考えられる。牛において子宮に機械的刺激を与えると oxytocin の分泌が促進され¹⁰⁾、また黄体初期に oxytocin を連続注射すると性周期が短縮されることが認められている¹¹⁾。牛の子宮に G を注入した場合、子宮腔拡張という機械的刺激によるか、またはこの異物を排出するために子宮運動を高めようとする合目的な生体反応によって体内の oxytocin level が高まり、これに oxytocin の産生、放出を促がそうとする性中枢の神経支配も関連して、これらによって性周期の変化がもたらされる可能性も考えられぬであろうか。

本研究において性周期の何れの時期に G を注入しても頸管粘液中にはかなり多数の好中球ならびに少数ながら好酸球の出現がみられ、さらに子宮粘膜の組織学的検査の結果、G 注入により子宮粘膜には一過性の炎症性変化が生ずることが明らかにされたことから、G の子宮内注入による性周期の変調は単に子宮腔の拡張という異物的刺激だけでなく、子宮粘膜に炎症性変化を惹き起す薬的刺激が関与しているのではないかと考えられる。

牛^{12,13)}、豚¹⁴⁾、羊¹³⁾、モルモット¹⁵⁻¹⁷⁾などの自然排卵動物における黄体あるいはラット^{18,10)}、家兎²⁰⁾などにおける偽妊娠黄体の寿命が子宮剔除により延長されること、またモルモット²¹⁾、ラット^{18,19)}、家兎²⁰⁾などにおいて子宮を剔除した後にこれを自家移植するかあるいは子宮粘膜の磨碎懸濁液を投与すると黄体の存続期間が短縮されることなどから、子宮粘膜に luteolytic の物質の存在が示唆されている。また、DUNCAN (1961)²²⁾は *in vitro* における豚の黄体組織の progesterone 合成能は培養液中に黄体開花期の豚の子宮粘膜の抽出物を添加すると高まるが、黄体退行期のものでは低下することから、子宮粘膜では作用が相反する luteotropic な物質と luteolytic な物質とが産生される可能性を示している。本実験において、G 注入により子宮内膜に炎症性変化が生じたことは、黄体の寿命に関与している子宮内膜のこのような機能が一時的に破壊され、このため性周期に変化がもたらされる可能性も考えられる。

G の連続注入を受けて子宮が膨満した牛において黄体の退行が遅延する傾向がみられたが、この黄体は永久黄体のように長期間にわたって存続しなかった。ANDERSON ら (1962)¹²⁾ は牛において両方の子宮角、卵管の約半分を剔除した後に発情を示さなかったものでは子宮体部に液状物が貯留して膨満していたことから、子宮に対する機械的刺激が黄体退行の契機となる子宮組織の機能を抑制しているのではなかろうかと推察している。子宮蓄膿症のように重症の子宮内膜炎が長期間継続して子宮が inactive の状態になった場合には子宮粘膜の luteolytic の機能も失われ、たまたま卵巢に存在していた黄体は退行することなく永久黄体の型をとることが考えられるが、G 注入による場合は粘膜の修復が比較的速やかであるため、黄体の退行はいくぶん遅延する程度になったのではなかろうかと推察される。

結 論

液状粘性物質 G を牛の子宮内に注入して G の子宮に対する刺激作用と性周期の変化の関係について検討して次の成績が得られた。

- 1) 子宮内に注入された G の子宮内貯留期間は黄体初期にはきわめて短い、黄体開花期～黄体後期にはかなり長く子宮内に貯留し、子宮が膨満するものがある。しかし注入後の初回発情期には膨満した子宮も縮少し注入前の形状に復した。
- 2) G の子宮内注入により子宮内膜には一過性の炎症性変化が生ずるが、次の発情期には正常に復することが認められた。
- 3) 性周期に変化をもたらし G 注入による刺激の感作は少なくとも黄体初期のものでは、2 日以内の短期間でも有効であることが認められた。

終りに臨み、液状粘性物質 Gelceptor F を御提供戴いたエーザイ株式会社に心から謝意を表します。本稿の概要は第 55 回日本獣医学会 (1963 年 4 月) において報告した。
(1966. 7. 1 受付)

文 献

- 1) 山内 (亮)・中原 (達): 本誌. **3**, 121, 1958. 2) 山内 (亮)・中原 (達)・金田 (義): 本誌. **11**, 54, 1965.
- 3) HANSEL, W. & W.C. WAGNER: *J. Dairy Sci.* **43**, 796, 1960. 4) MOORE, W.W. & A.V. NALBANDOV: *Endocrinol.* **53**, 1, 1953. 5) NALBANDOV, A.V., W.W. MOORE & H.W. NORTON: *Endocrinol.* **56** 225, 1955.

- 6) INSKEEP, E.K., M.M. OLOUFA, B.E. HOWLAND, A. L. POPE & L.E. CASIDA: *J. Animal Sci.* **21**, 331, 1962. 7) MOORE, W.W.: *The Physiologist.* **4**, 76, 1961. 8) DONOVAN B.T.: *J. Reprod. Fertility.* **2**, 508, 1961. 9) 大地(隆)・円山(八)・山内(亮): 農林省家畜衛生試験場研究報告. **No. 47**, 51, 1963. 10) HAYS, R. L. & N. L. VANDEMARK: *Endocrinol.* **52**, 634, 1953. 11) ARMSTRONG, D.T. & W. HANSEL: *J. Dairy Sci.* **42**, 533, 1959. 12) ANDERSON, L.L., F.C. NEAL & R.M. MELAMPY: *Am. J. Vet. Res.* **23**, 794, 1962. 13) WILTBANK, J.N. & L.E. CASIDA: *J. Animal Sci.* **15**, 134, 1956. 14) ANDERSON, L.L., R.L. BUTCHER & R.M. MELAMPY: *Endocrinol.* **69**, 571, 1961. 15) LOEB, L.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **20**, 441, 1923. 16) ROWLAND, I.W.: *J. Reprod. Fertility* **2**, 341, 1961. 17) BUTCHER, R.L., K.Y. CHU & R.M. MELAMPY: *Endocrinol.* **71**, 810, 1962. 18) HECHTER, O., M. FRAENKEL M.LEV & S. SOSKIN: *Endocrinol.* **26**, 680, 1940. 19) BRADBURY, J.T. W.E. BROWN & L.A. CRAY: *Recent Prog. Hormone Res.* **5**, 151, 1950. 20) CHU, J.P., C.C. LEE & S.S. YOU: *J. Endocrinol.* **4**, 392, 1946. 21) BUTCHER, R.L., K.Y. CHU & R.M. MELAMPY: *Endocrinol.* **70**, 442, 1962. 22) Duncan, G.W., A.M. BOWERMAN, L.L. ANDERSON, W.R. HEARN & R.M. MELAMPY: *Endocrinol.* **68**, 199, 1961.

Summary

In the previous report, we investigated the effects of intrauterine injection of a viscous gel-like substance on the life span of the corpus luteum in the cow. The intrauterine treatment at early luteal phase caused an early regression of the corpus luteum and shortened the cycle length significantly. On the contrary, the treatment at late luteal phase delayed the regression of the corpus luteum and lengthened the cycle. The purpose of the present experiments is to investigate the relation between the irritating effects of the intrauterine injection of the viscous gel-like substance on the endometrium and the modification of the cycle length in the cow. The viscous gel-like substance was "Gelceptor F" (G) which was same as in the previous report.

Three experiments were performed to determine 1) the retention of G in the uterus of the treated cow, 2) the irritating effects of the treatment on the bovine endometrium and 3) the effective period of the uterine irritation for modifying the cycle length of the cow.

The cows used in the present experiments were almost same as in the previous report. Dose of G was 42-137 gm. per injection. The day on which ovulation occurred was considered as day 0 of the cycle. The results obtained were as follows.

1) The retention of G in the uterus of the treated cow. The retention of in G the uterus was verified by rectal palpation on 32 cycles of 9 cows in which intrauterine injections of G had been performed 1 to 5 times. The results are shown in Table 1. In only 3 of 16 cases treated during postestrus and in early luteal phase, liquid contents in the uterus were palpable for a few days after the treatment. After treatment during functional luteal phase and late luteal phase, uterine contents were palpable for 2 to 3 days in 10 of 16 cases. In 5 of the latter cases the uterus was swollen as in the case of pyometra or pregnancy. However, the swollen uterus involuted rapidly as the corpus luteum began to degenerate. From these results it was concluded that the retention of G in the uterus depended upon the stage at which the intrauterine injection was performed, the retention period being longer in animals treated at postestrus-early luteal phase.

2) The irritating effects of the treatment on the bovine endometrium.

A. Responses of cervical mucus following the treatment.: On 20 estrous cycles included in experi-

ment 1, cervical mucus samples collected before and after the treatment were examined macroscopically and microscopically. The microscopical examination was performed on the mucus smear stained with Giemsa. The results are shown in Table 2. For 1 to 3 days after the treatment, the cervical mucus became cloudy or greyish white and a large number of neutrophil leucocytes and epithelial cells and a small number of eosinophil leucocytes appeared in most of the cases. However, cervical mucus became clear again in the following estrous period.

B. Effects of the treatment on the endometrium.: The endometrium of seven beef cows slaughtered 1 to 9 days after the intrauterine treatment was examined macroscopically. In an additional 5 cases, the endometrium at the first post-treatment estrus was also examined histologically by endometrial biopsy. The results are shown in Table 3. In five of the seven animals, 105 to 330 gm. of brownish liquid were recovered from the uterine cavity. The volume of the uterine contents recovered was greater than the quantity of G injected. The surface of the endometrium was rough and brownish in colour in six of the animals. Marked edema was also observed in the endometrium of five animals. Endometritis was found four of the seven animals. However, the endometritis was limited to the surface area of the endometrium only. The uterine glands appeared normal in all cases. In five animals in which endometrial biopsies were carried out at the post-treatment estrous period, endometritis was not found in any of them. These results indicated that G was irritative to the bovine endometrium, and endometritis occurred temporarily by injecting G into the uterus but it disappeared by the time the animal returned to estrus.

3) The effective period of the uterine irritation for modifying the estrous cycle length of the cow.

On day 2 or 6, 60 to 140 gm. of G were injected into the uterus of each of six beef cows. Two days after the treatment, uterine contents were removed by uterine irrigation with 800 to 1,500 ml. of sterilized saline and the effects on length of estrous cycles were noted. The results are shown in Fig. 4. In all six cows the estrous cycles were shortened as in the cases in the previous report. These results suggested that the uterine irritation for a short period of less than 2 days, at least in early luteal phase, might effectively modified the bovine estrous cycle.