牛卵胞液の性状に関する諸観察

和田 恭 則・紫 野 正 雄

(麻布獣医科大学 家畜臨床繁殖学教室)

哺乳動物の卵胞液については、卵子の生理との関連で多くの報告がなされているが¹⁻⁹⁾、性状および役割については、まだ十分明らかにされているとはいえない。著者らは、牛卵胞液について性状および生成過程をしらべる目的で本実験を行ない、同時に牛血清の性状と比較検討したので、その成績について報告する。

実験材料および方法

1. 実験材料

本実験に供した動物は、ホルスタイン種の経産牛である。卵胞液は、横浜屠場で屠殺後ただちに卵巣を切除し、卵胞から注射器を用いて採取し、血液は屠殺時の放血液を使用した。採取した材料は速やかに実験に供し、やむをえず保存する場合は、4°C の冷蔵庫に保存した。

2. 実験方法

検査項目は卵胞の大きさ、卵胞液の量、肉眼的性状(色調、透明度)、蛋白質濃度(以下 T.P. と略す)、蛋白分画、尿素態窒素濃度(以下 B.U.N. と略す)、および Na, K, Mg イオン濃度である。血液については、血清中の T.P., 蛋白分画, B.U.N. および Na, K, Mg イオン濃度を測定した。

検査方法のうち、T.P. の測定はエルマ屈折蛋白計(エルマ光学製)、蛋白分画はセルロース・アセテート膜電気泳動法によった。

Na, K, Mg イオン濃度の測定は原子吸光光度計(東芝ベックマン社製, NFI-B 型)を使用し、B.U.N. の測定はユニグラフ(米国ワーナー・チルコット製)を使用した。

実験成績

1. 肉眼的性状

卵胞液 531 例について、色調および透明度の肉眼的検

査をおこなった。

色調については、大部分のものが淡黄白色～淡黄色(459 例, 86.4%), を示しその他黄色(29 例, 5.5%), 無色(12 例, 2.3%), 橙色(31 例, 5.8%)であった。

透明度については、大部分のものが透明(389 例, 72.4%)で残りのものはわずかに混濁(120 例, 22.3%)もしくは血液の混入(28 例, 5.2%)が認められた。

卵胞の大きさ 6~20 mm の範囲のものについて卵胞液の色調別にその化学的成分を検討した結果、例数は少ないが無色の卵胞液は、淡黄白色のものに比べて T.P. ($P<0.01$), K 濃度 ($P<0.05$), K/Na ($P<0.05$) は低く, Mg 濃度 ($P<0.05$) は高かった。また淡黄色の卵胞液は淡黄白色のものに比べて B.U.N. ($P<0.01$) は低かった(表 1)。

2. T.P.

採取した血清 171 例の T.P. は 6.55~11.60 g/dl (平均値 8.67 ± 0.90 g/dl) であり、卵胞液 515 例では 0.07~9.38 g/dl (平均値 6.57 ± 1.08 g/dl) で、両者間に有意差 ($P<0.01$) が認められた(表 2)。

血清と卵胞液間の T.P. について、その相関関係を検討した結果、 $r=0.783$ ($P<0.01$) であり、有意な正の相関関係が認められた(図 1)。

卵胞の大きさは直径 8.0 mm 以下, 8.1~13.0 mm, 13.1~18.0 mm, 18.1 mm 以上に 4 区分し、各区分ごとに卵胞液中の T.P. と血清のそれとを比較した結果、それぞれ $r=0.779$ ($P<0.01$), $r=0.696$ ($P<0.01$), $r=0.426$ ($P<0.01$), $r=0.673$ ($P<0.01$) と有意な正の相関関係が認められた。

さらに卵胞液中の T.P. と卵胞の大きさとの関係については、 $r=-0.199$ ($P<0.01$) であり、大きさによりわずかではあるが有意な負の相関関係が認められた(図 2)。

3. 蛋白分画

セルロース・アセテート膜電気泳動法により、セパックスを用い泳動をおこなった。

血清 172 例の場合、アルブミンは 19.5~60.2% (平均値 $43.2\pm8.4\%$)、 α -グロブリンは 6.0~19.9% (平

Observations on certain characteristics of ovarian follicular fluids of cows.

WADA, Yasunori & Masao SINO, (Laboratory of Animal Reproduction, Azabu Veterinary College, Sagamihara-shi 229)

Jap. J. Animal Reprod. 20 (3), 1974.

表 1. 色調別にみた牛卵胞液の化学的性状

検査項目	T. P. (g/dl)		BUN (mg/dl)		Na (mg/dl)		K (mg/dl)		Mg (mg/dl)		K/Na	
	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)
色調												
無色 ¹	12	3.79±2.77 (73.1)	3	20.0±3.5 (17.5)	11	332.1±33.3 (10.0)	11	39.35±13.64 (34.7)	11	6.434±3.702 (57.5)	11	0.1209±0.048 (39.7)
淡黄白色 ²	26	6.58±0.89 (13.5)	14	23.5±2.5 (10.6)	25	315.5±26.3 (8.3)	25	51.71±9.90 (19.1)	25	3.324±0.5118 (15.4)	25	0.1651±0.037 (22.4)
淡黄色 ³	29	6.98±0.69 (9.9)	17	19.2±3.2 (16.7)	26	302.5±18.4 (6.1)	26	52.43±8.50 (16.2)	26	3.403±0.667 (19.6)	26	0.1742±0.033 (18.9)
黄色 ⁴	22	6.97±0.87 (12.5)	3	17.2±5.4 (31.4)	22	304.5±62.0 (20.4)	22	45.66±13.99 (30.6)	22	3.585±0.904 (25.2)	22	0.1498±0.0343 (22.9)
t-検定		2 vs 1**		2 vs 3**				2 vs 1*		2 vs 1*		2 vs 1*

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

表 2. 牛の血清並びに卵胞液の化学的性状

試料の種類		血		清		卵		液	t-検定
		例数	平均値±標準偏差	変動係数	例数	平均値±標準偏差	変動係数		
T. P. (g/dl)	171	8.67 ± 0.90	10.4	515	6.57 ± 1.08	16.4	**		
BUN (mg/dl)	169	22.6 ± 5.00	22.1	142	20.6 ± 4.4	21.4	**		
Na (mg/dl)	172	311.4 ± 25.1	8.1	462	296.2 ± 45.9	15.5	**		
K (mg/dl)	172	31.02 ± 6.53	21.1	462	48.40 ± 15.25	31.5	**		
Mg (mg/dl)	172	2.721 ± 0.419	23.6	462	3.524 ± 1.049	33.0	**		
K/Na	172	0.1004± 0.0237	15.4	462	0.1681± 0.0555	29.0	**		
アルブミン (%)	172	43.2 ± 8.4	19.4						
α-グロブリン (%)	172	11.7 ± 2.3	19.7						
β-グロブリン (%)	126	11.4 ± 2.4	21.1						
γ-グロブリン (%)	125	30.0 ± 6.8	22.7						
A/G	172	0.798 ± 0.262	32.8						

** $P < 0.01$

図 1. 牛の血清中と卵胞液中の T.P. の関係

図 2. 卵胞の大きさと牛卵胞液中 T.P. の関係

均值 $11.7 \pm 2.3\%$), β -グロブリンは $6.9 \sim 20.8\%$ (平均値 $11.4 \pm 2.4\%$), γ -グロブリンは $18.0 \sim 48.2\%$ (平均値 $30.0 \pm 6.8\%$), A/G は $0.242 \sim 1.512$ (平均値 $0.798 \pm$

泳動像	型	n	百分率 (%)
	A	41	17.2
	B	92	38.7
	C	57	24.0
	D	41	17.2
	E	7	2.9
		計 238	100.0

図 3. セルロース・アセート膜電気泳動法による牛卵胞液の蛋白成分の泳動像

図 4. 卵胞の大きさ別にみた牛卵胞液泳動像のアルブミンの型の割合

0.262 であった (表 2)。

また卵胞液 238 例の泳動では、アルブミン分画に相当する部分に特異的な泳動像がみられ、その形状により A, B, C, D, E 型と分類した結果、A 型 41 例 (17.2%), B 型 92 例 (38.7%), C 型 57 例 (24.0%), D 型 41 例 (17.2%), E 型 7 例 (2.9%) で、最も多くみられた型は B 型であった (図 3)。

各型別に卵胞液の化学的成分について検討した結果、B 型に比べて A 型の Na 濃度 ($P < 0.01$) は低く、Mg 濃度 ($P < 0.05$), K/Na ($P < 0.05$) は高かった。その他の成分については有意差は認められなかった (表 4)。

さらに卵胞の大きさと各型の関係についてみると、卵胞の大きさが大きくなるに従い A 型は減少し、B 型、D 型は増加の傾向を示した (図 4)。

表 3. 卵胞の大きさ別にみた牛卵胞液の化学的性状

検査項目 卵胞直径	T. P. (g/dl)		BUN (mg/dl)		Na (mg/dl)		K (mg/dl)		Mg (mg/dl)		K/Na (mg/dl)	
	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)
8.0 mm 以下	143	6.53±1.26 (19.3)	8	17.9±2.7 (15.1)	109	289.5±37.7 (13.0)	109	57.04±14.04 (24.9)	109	3.856±0.767 (19.9)	109	0.1996±0.0543 (27.1)
8.1~13.0 mm	187	6.56±1.01 (15.4)	31	20.2±2.8 (13.9)	167	293.0±62.2 (21.2)	167	50.80±16.44 (32.4)	167	3.645±1.371 (37.6)	167	0.1773±0.0578 (32.7)
13.1~18.0 mm	111	6.47±1.05 (16.2)	62	20.8±4.5 (21.6)	112	300.0±35.9 (12.0)	112	44.07±11.13 (25.3)	112	3.246±0.566 (17.4)	112	0.1477±0.0407 (27.8)
18.1 mm 以上	73	6.66±1.14 (17.1)	41	20.8±5.0 (24.0)	73	302.8±30.8 (10.2)	73	39.59±10.26 (25.9)	73	3.086±0.521 (16.9)	73	0.1312±0.0332 (25.2)
t-検 定							2 vs. 1, 3, 4**		2 vs. 1, 3, 4**		2 vs. 3, 4**	

** $P < 0.01$

表 4. 牛卵胞液泳動像のアルブミンの型別にみた卵胞液の化学的性状

検査項目 アルブミンの型	T. P. (g/dl)		BUN (mg/dl)		Na (mg/dl)		K (mg/dl)		Mg (mg/dl)		K/Na (mg/dl)	
	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)	例数	平均値±標準偏差 (変動係数)
A	31	6.34±1.72 (27.1)	2	24.3±1.3 (5.3)	27	285.2±47.9 (16.8)	27	56.81±12.92 (22.7)	27	3.963±0.685 (17.3)	27	0.1997±0.0390 (19.8)
B	27	6.55±0.86 (13.1)	17	22.3±4.3 (19.3)	31	309.2±22.9 (7.4)	31	51.02±12.01 (23.5)	31	3.410±0.599 (17.6)	31	0.1668±0.0458 (27.5)
C	30	6.82±0.54 (7.9)	11	20.4±5.0 (24.5)	29	307.4±19.4 (6.3)	29	56.45±15.61 (27.7)	29	3.346±0.673 (20.1)	29	0.1828±0.0596 (32.6)
D	33	6.44±0.67 (10.4)	14	19.8±4.1 (20.7)	30	306.5±26.2 (8.5)	30	49.48±9.12 (18.4)	30	3.444±0.626 (18.2)	30	0.1622±0.0309 (19.1)
E	7	6.80±0.69 (10.1)	5	24.1±3.4 (14.1)	6	327.8±28.2 (8.6)	6	50.18±8.72 (17.4)	6	3.112±0.568 (18.3)	6	0.1525±0.0185 (12.1)
t-検 定					B vs A**			B vs A*		B vs A*		B vs A*

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

4. B. U. N.

血清 169 例の B. U. N. は、 $12.0 \sim 38.5 \text{ mg/dl}$ (平均値 $22.6 \pm 5.00 \text{ mg/dl}$) であり、卵胞液 142 例では、 $10.0 \sim 32.0 \text{ mg/dl}$ (平均値 $20.6 \pm 4.4 \text{ mg/dl}$) で、両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表 2)。

血清と卵胞液間の B. U. N. について、その相関関係を検討した結果、 $r = 0.583$ ($P < 0.01$) であり、有意な正の相関関係が認められた (図 5)。

卵胞の大きさを 18.0 mm 以下および 18.1 mm 以上に 2 区分し、各区分ごとに卵胞液中 B. U. N. と血清のそれとを比較した結果、それぞれ $r = 0.616$ ($P < 0.01$)、 $r = 0.486$ ($P < 0.01$) と有意な正の相関関係が認められた。

なお卵胞液中の B. U. N. と卵胞の大きさとの間には、特別な関係は認められなかった (表 3)。

5. Na 濃度

血清 172 例の Na 濃度は、 $257.1 \sim 433.2 \text{ mg/dl}$ (平均値 $311.4 \pm 25.1 \text{ mg/dl}$) であり、卵胞液 462 例では、 $23.5 \sim 498.4 \text{ mg/dl}$ (平均値 $296.2 \pm 45.9 \text{ mg/dl}$) で、両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表 2)。

血清と卵胞液間の Na 濃度について、その相関関係を検討した結果、 $r = 0.148$ ($P < 0.01$) であり、わずかなはあるが有意な正の相関関係が認められた。

卵胞の大きさを T. P. の場合と同様に 4 区分し、各区分ごとに卵胞液中 Na 濃度と血清のそれとを比較した結果、卵胞の大きさ 8.0 mm 以下では、 $r = 0.154$ ($P < 0.01$) であり、有意な正の相関関係が認められた。

図 5. 牛の血清中と卵胞液中の B. U. N. の関係

しかし卵胞の大きさ $8.1 \sim 13.0 \text{ mm}$ では相関関係は認められなかった。卵胞の大きさ $13.1 \sim 18.0 \text{ mm}$ では、 $r = 0.230$ ($P < 0.05$)、 18.1 mm 以上では、 $r = 0.373$ ($P < 0.01$) と有意な正の相関関係が認められた。

さらに卵胞液中の Na 濃度と卵胞の大きさとの関係については、 $r = 0.361$ ($P < 0.01$) であり、有意な正の相関関係が認められた。

6. K 濃度

血清 172 例の K 濃度は、 $15.69 \sim 52.64 \text{ mg/dl}$ (平均値 $31.02 \pm 6.53 \text{ mg/dl}$) であり、卵胞液 462 例では、 $6.13 \sim 143.50 \text{ mg/dl}$ (平均値 $48.40 \pm 15.25 \text{ mg/dl}$) で、両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表 2)。

なお血清と卵胞液間には K 濃度について相関関係は認められなかった。

卵胞の大きさを T. P. の場合と同様に 4 区分し、各区分ごとに卵胞液中 K 濃度と血清のそれとを比較した結果、卵胞の大きさ 8.0 mm 以下では、 $r = 0.277$ ($P < 0.01$) であり、有意な正の相関関係が認められたが、他の区分においては有意な相関関係は認められなかった。

さらに卵胞液中の K 濃度と卵胞の大きさとの関係については、 $r = -0.627$ ($P < 0.01$) であり、有意な負の相関関係が認められた (表 3, 図 6)。

7. K/Na

血清 172 例の K/Na についてみると、 $0.0605 \sim 0.1793$ (平均値 0.1004 ± 0.0237) であり、卵胞液 462

図 6. 卵胞の大きさと牛卵胞液中 K 濃度の関係

例では、 $0.0631 \sim 0.3891$ (平均値 0.1681 ± 0.0555) で、両者間に有意差 ($P < 0.001$) が認められた (表 2)。

なお血清と卵胞液間には K/Na について相関関係は認められなかった。

卵胞の大きさを T. P. の場合と同様に 4 区分し、各区分ごとに卵胞液の K/Na と血清のそれとを比較検討したが、それぞれ相関関係は認められなかった。

さらに卵胞液の K/Na と卵胞の大きさとの関係を検討した結果、 $r = -0.745$ ($P < 0.01$) であり、有意な負の相関関係が認められた。

8. Mg 濃度

血清 172 例の Mg 濃度についてみると、 $1.673 \sim 3.680$ mg/dl (平均値 2.721 ± 0.419 mg/dl) であり、卵胞液 462 例では、 $1.658 \sim 15.681$ mg/dl (平均値 3.524 ± 1.049 mg/dl) で、両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表 2)。

血清と卵胞液間の Mg 濃度について、その相関関係を検討した結果、 $r = 0.265$ ($P < 0.01$) であり、有意な正の相関関係が認められた。

卵胞の大きさを T. P. の場合と同様に 4 区分し各区分ごとに卵胞液中 Mg 濃度と血清のそれとを比較した結果、それぞれ $r = 0.357$ ($P < 0.01$)、 $r = 0.212$ ($P < 0.01$)、 $r = 0.198$ ($P < 0.05$)、 $r = 0.394$ ($P < 0.01$) と有意な正の相関関係が認められた。

さらに卵胞液中の Mg 濃度と卵胞の大きさとの関係を検討した結果、 $r = -0.380$ ($P < 0.01$) であり、有意な負の相関関係が認められた。

考 察

今回の試料は屠場材料のため、性周期を基準にした卵胞液の性状を論ずることは無理なため、卵胞の大きさということを一応の基準にした。そのため、同じ大きさの卵胞でも多少違った由来のものが含まれていると思われる。

牛卵胞液の色調について、濃淡の違いはあるが大部分のものは、森ら¹⁾の報告と同じく帯黄色であったが、一部無色の卵胞液をもつものが存在し、これらの卵胞壁は薄く、卵巣実質内へのくい込みがなく、卵巣表面で突出し、正常のものとは区別されるべきものと考えられ、おそらく卵胞内壁層の発達が悪く、機能も不良なため、卵胞液成分の濃度にもかなりの差が生じたものではないかと思われる。

牛卵胞液の電気泳動像で、アルブミン分画に相当する部分に血清ではみられない特異的な泳動像が現われた

が、これらは関節液を泳動したときにみられる泳動像とよく似ており、おそらくヒアルロン酸などの酸性粘液多糖体およびその水解産物などの影響と考えられる²⁾。この点については、著者らも別の実験で卵胞液にヒアルロニダーゼを加えたのち泳動した結果、関節液についての実験結果³⁾と同様、特異的な泳動像の消失や改善がみられたことから推察される。

血清中の各成分との比較では、T. P., B. U. N., Na 濃度、K 濃度、Mg 濃度、K/Na など、大部分のものに有意差が認められ、CARAVAGLIOS ら⁴⁾、DESJARDINGS ら⁵⁾の報告と似た成績が得られた。

血清との相関関係では、T. P., B. U. N., Na 濃度、Mg 濃度、小卵胞中の K 濃度に正の相関関係が認められた。

つぎに卵胞の大きさと卵胞液中の化学的成分との関係で、正の相関関係が認められたのは、Na 濃度、負の相関関係は T. P., K 濃度、K/Na, Mg 濃度などであり、これらについての他の報告で、岩城⁶⁾、森ら¹⁾は卵胞の発育に伴う変化は認められなかったとし、Na 濃度について、OLDS⁷⁾、森ら¹⁾は発情期には他の時期より低下するとし、著者らとは反対の成績を報告している。K 濃度については、岩城⁶⁾の報告は著者らと一致している。このように部分的な違いがあるのは、対象とする卵胞が必ずしも同質のものではないことに起因することもあると思われるが、いずれにしても卵胞のステージにより、それぞれ差のあることが示されている。卵胞液の泳動像の特異性を示すものも、大きい卵胞では少なくなる傾向が認められた。また小卵胞中の K 濃度のように一定範囲の大きさの卵胞液だけに血清との間に有意の相関関係がみられるものもあり、これらは卵胞の発育過程における選択的な機能に差のあることを示唆している。

要 約

卵胞液性状について、色調を観察するとともに蛋白分画、尿素態窒素および無機イオン濃度を測定し、次の結果を得た。

1. 卵胞液の色調は、一般に淡黄白色～淡黄色を示し、無色および着色卵胞液を比べた場合、含有成分の濃度が著しく異なることを認めた。
2. 卵胞液中 T. P. は血清中のそれより低く、両者間に正の相関関係を認めた。
3. 卵胞液を電気泳動でしらべた結果、アルブミン分画に相当する位置に血清泳動像にはみられない特異的な泳動像を認めた。

4. 卵胞液中 B.U.N. は血清中のそれより低く、両者間に正の相関関係を認めた。

5. 卵胞液中 Na 濃度は血清中のそれより低い値を示すことを認めた。

6. 卵胞液中 K 濃度は卵胞の大きさに伴い低下することを認めた。

7. 卵胞液 K/Na は卵胞の大きさに伴い低下することを認めた。

8. 卵胞液中 Mg 濃度と血清中のそれとの間には正の相関関係を認め、また卵胞液中 Mg 濃度は卵胞の大きさに伴い低下する傾向を認めた。

9. 卵胞液の成分は、血清に由来するものがあるが、その濃度は卵胞自身の機能によっても影響されることが示唆された。

稿を終わるにあたり、御指導御校閲を賜りました大地隆温教授および材料を提供していただいた横浜市食品衛生検査所増田所長並びに関係各位に深謝いたします。

(1974. 5. 13 受付)

文 献

- 1) 森 (純)・藤崎 (尚)・檜垣 (繁): 畜試報告, (11) 57, 1966.
- 2) 高山 (精)・白井 (和): 日獣学誌, **32**, (学会号) 207, 1970.
- 3) 畑下 (敏): 臨床病理, **12**, (臨時増刊) 89, 1971.
- 4) CARAVAGLIOS, R. & R. CILOTTI: *J. Endocrinol.*, **15**, 273, 1957.
- 5) DESJARDINS, C., K. T. KIRTON & H. D. HAFS: *J. Reprod. Fertil.*, **11**, 237, 1966.
- 6) 岩城 (章): 日本不妊学会誌, **4**, 61, 1959.
- 7) OLDS, D. & N. L. VANDEMARK: *Fertil. & Steril.*, **8**, 345, 1957.
- 8) LUTWAK-MANN, C.: *J. Agric. Sci.*, **44**, 447, 1954.
- 9) 白井 (和)・高山 (精): 日獣学誌, **32**, (学会号) 208, 1970.