— 研 究 —

乳牛の発情期頸管粘液 pH 値と受胎成績

— 東大牧場における 5 年間の調査 —

浜名克己*・小山徳義・加藤次男・加納康彦

(東京大学農学部付属牧場)

結 論

牛の頸管粘液の性状は、性周期および妊娠期を通じて変化するが¹⁻⁹⁾、とくに発情期には短期間に大きな変化を示す。このうち、結晶形成現象¹⁰⁾、精子受容性¹⁰⁾、比重¹¹⁾、屈折率^{12,13)}、牽糸性¹⁴⁾、吸収スペクトル¹⁵⁾、塩分含量¹⁶⁾、塩分と蛋白の比¹⁷⁾、電気伝導度^{18,19)}などの性質は、授精適期や排卵の指標として用いられ、それぞれ効果が認められている。

頸管粘液の pH も性周期を通じて変化するが、ヒトでは排卵前後の受胎適期にそのアルカリ性をもっとも強くなり、精液 pH と等しくなることが知られており^{20,21)}、これを利用して不妊症の治療²²⁾や避妊法²³⁾の指標に応用されている。

牛ではヒトと逆で、発情期の頸管粘液 pH は 7.0 から 6.45 まで下がり、もっとも酸性となる^{24,25)}。妊娠期を通じての変化は小さく、平均 6.6 であった²⁶⁾。豚でも発情期には pH が 7.2 から 6.3 へと著減する²⁷⁾。

牛の発情期頸管粘液 pH と受胎成績との関連については、永井ら²⁸⁾および小沢²⁹⁾の報告がみられ、pH 6.4~6.8 において受胎率が高いことが示されている。しかしいずれも例数が少なく、また調査期間も短い。

本研究では、ほぼ完全な飼養管理のなされている大学の付属牧場という恵まれた条件を利用して、5 年間にわたる長期観察を行い、頸管粘液 pH の分布状態と受胎成績を、年度、季節、年令、産次について分析し検討した。

* 現所属 宮崎大学農学部

The pH of the bovine cervical mucus at estrus.

HAMANA, Katsumi*, Tokuyoshi OYAMA, Tsuguo KATO & Yasuhiko KANO (Stock Farm of The University of Tokyo, Iwamacho, Ibaraki; *Present address: Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Miyazaki University, Funatsuka, Miyazaki 880)

Jap. J. Animal Reprod. 21 (4), 1976.

研究材料および方法

1970 年 4 月から 1975 年 3 月までの 5 年間にわたつ

Table 1. Number of experimental cows and heifers according to their age at the start (April) of each fiscal year

Age	1970	1971	1972	1973	1974	Total
0	4	5	4	2	1	16
1	6	2	6	5	4	23
2	1	5	2	5	5	18
3	7	1	4	2	2	16
4	2	5	0	3	2	12
5	2	1	5	0	2	10
6	1	2	1	4	0	8
7	0	0	2	1	1	4
8	0	0	0	2	1	3
9	0	0	0	0	1	1
Total	23	21	24	24	19	111

Table 2. Number of experimental cows and heifers according to their times of calving at the start (April) of each fiscal year

Times of Calving	1970	1971	1972	1973	1974	Total
0	13	8	10	8	6	45
1	3	5	3	4	5	20
2	4	3	4	2	1	14
3	2	3	3	5	2	15
4	1	2	2	2	2	9
5	0	0	2	2	2	6
6	0	0	0	1	0	1
7	0	0	0	0	1	1
Total	23	21	24	24	19	111

て、東京大学農学部付属牧場（茨城県岩間町）に飼養されている乳牛を供試した。乳牛は育成を含め常時25～30頭飼育されていたが、そのうち、その年度内に授精した牛の年度当初（4月1日現在）における年令と産次による内訳は Table 1, 2 のとおりである。すなわち各年度における繁殖供用牛の数は19～24頭であり、5年間の延頭数は111頭となる。牛の品種はほとんどすべてがホルスタイン種であり、わずかにジャージー種2頭（延6頭）、ブリティッシュ・フリーゼン種3頭（延7頭）が含まれたが、品種間の差は研究結果に現れなかつたので集計には品種による区別をしなかつた。

発情牛は直腸検査法により成熟卵胞の發育を認めた後、精液注入の直前に頸管粘液の pH を測定した。pH の測定には牛子宮頸管鉗子に東洋科学 BTB 試験紙をはさんで、陰鏡を用い、陰壁に試験紙がふれないよう注意して、直接頸管内に軽く挿入してすばやく比色測定した。なお一発情に2回授精した場合は、2回目の測定値を授精時 pH 値とした。またその後妊娠が確定した場合は、受胎時の pH として取扱った。

5年間に約300回の授精をおこなったが、そのうち約60回については pH の測定をしなかつたので対象から除外した。従って正確な受胎率を求めることはできない。なお pH を測定した例でも、子宮洗滌その他の治療をして授精をしなかつた例も対象から除いた。

研究結果

授精時に pH を測定した総数は242例であり、そのうち受胎したものの総数は82例である。これらの内訳は Fig. 1 に示されている。すなわち頸管粘液 pH は6.0から7.8にわたって広く分布したが、そのうち pH 6.8 がもっとも多く83例（全体の34%）で、ついで pH 6.6 が56例（23%）、pH 6.4 が48例（20%）と、3者で全体の77%を占めている。これに対し pH 7.4 以上はわずか4例（2%）にすぎない。授精時 pH の総平均値とその標準偏差は 6.69 ± 0.28 である。

受胎数のもっとも多くかったのは pH 6.8 で25例（30%）であるが、pH 6.6 も多く23例（28%）となった。ついで pH 6.4 が14例（17%）、pH 7.0 が11例（13%）となり、この4者で全体の88%を占めた。pH 7.4 以上では受胎例がない。pH 7.6 を示した3例のうち、2例は尿腔で、他の1例と pH 7.8 の1例は、いずれも未経産牛であった。受胎時 pH の総平均値と標準偏差は 6.66 ± 0.26 である。

Fig. 2 は年度および季節における変化を示している。

Fig. 1. The pH distribution of bovine cervical mucus in the estrus (white bar) and number of conception (black bar).

各年度における授精数と受胎数は、その時の飼育頭数、年令、妊不妊の状態、繁殖障害などにより異なる。頸管粘液 pH 値の傾向をみると、1970 および 1971 年度において、授精数受胎数とももっとも多かったのは pH 6.8 であるが、1972 年度では授精数は pH 6.8 のものが他よりやや多く、受胎数は pH 6.6 や pH 7.0 より少なく、pH 6.4 と同様となっている。1973 年度ではその逆で、授精数は pH 6.4 がもっとも多いが、受胎数は pH 6.8 で他よりわずかに多い。さらに1974年度では pH 6.8 における授精数は pH 6.4 や pH 6.6 より少なく、受胎数については、わずか1例のみであった。

季節的变化は春は授精数合計 46（うち受胎数 12、以下同じ）、夏 49（15）、秋 65（24）、冬 82（31）となり、季節間においてかなり差が認められた。pH の変化の傾向をみると、春は授精時、受胎時とも pH 6.8, 6.6, 6.4, 6.2 の順になっている。これに対し夏では相対的に pH 6.4 を示す例が多く、pH 6.6 は少ない。秋には pH 6.8 について多いのは pH 6.6 で、pH 6.4 は著減した。冬は pH 6.8, 6.4, 6.6 の順であるがいずれも多い。

Fig. 3 は授精時年令による pH の変化を表している。各年令における例数に差があるので数値の直接の比較は

Fig. 2. The pH distribution of bovine estrous cervical mucus according to the fiscal year and seasonal variation.

Fig. 3. The pH distribution of bovine estrous cervical mucus according to the age.

Fig. 4. The pH distribution of bovine estrous cervical mucus according to the times of calving.

できないが、傾向としては各年令とも pH 6.8, 6.6, 6.4 の3者が多い。しかし1才では pH 7.0 や pH 7.2 を示した例がかなり多く、受胎数も pH 7.0 において特に多い。2才以上では pH 7.0 以上は授精数も少なく、受胎数はさらに少ない。

Fig. 4 は授精時の産次数によって pH の変化を分類したものである。これも Fig. 3 と同じく、産次数の少ないものほど例数が多い。未経産牛(0産)では pH 6.8 がもっとも多いが、それについて pH 7.0 が授精数、受胎数とも多く、授精時に pH 7.2 を示した例の多いことも特徴である。1産以降は pH 7.0 以上を示す例は減少し、かわって pH 6.6 を示すものが1産～3産にわたって多くなり、4産以降は pH 6.4 が相対的に増加している。

考 察

頸管粘液は、ポケット型の pH メーターを用いて、頸管内に直接挿入して測定する方法がもっとも正確である。SCHILLING ら^{24,25)}は、この方法で頸管内、腔中央部、腔後部の3カ所の pH を発情の前後を通じて経時的に測定したところ、その変化のパターンはいずれも同様であったが、最低値を示した発情終了時すなわち排卵直

前における比較では、それぞれ平均 pH 値が 6.45, 6.97, 7.34 と外陰部に近づくにつれて高くなり、さらに頸管部の粘液を体外にとりだして測定すると、0.6～0.7の上昇を示したと報告している。この体外での測定による pH の上昇は、空気に触れるためで、HAMANA ら⁸⁾も認めており、頸管粘液の正確な pH を反映しない。これらの点から、pH 試験紙を用いる場合は、腔壁に触れることなく、直接頸管内の粘液に付着させることが重要で、かつ迅速な比色測定が要求される。

永井ら²⁸⁾は、54頭の授精時頸管粘液 pH を測定したところ、pH は 5.8 から 7.2 にわたって分布したが、そのうち pH 6.4, 6.6, 6.8 の3者で全体の 82% を占め、受胎成績は pH 6.6 (全体の 33%) でもっとも良く、pH 6.4(30%), pH 6.8(14%), pH 6.2(10%), pH 7.0(10%) とつづく。また小沢の報告²⁹⁾では、95頭中 pH は 6.2～8.2 を示したが、pH 6.8, 6.6, 7.0, 6.4 の4者が多く、全体の 88% を占めた。受胎成績も pH 6.8 (37%) でもっとも良く、pH 6.6 (32%), pH 6.4 (15%), pH 7.0 (13%) の順となった。さらに奥田ら³⁰⁾は 92 頭の発情粘液 pH を測定した結果、pH は 6.0 から 8.0 の範囲に分布し、そのうち 6.8 から 7.2 の値を示したものが全体の 83% であったと述べ、pH 7.0 がとくに多く、受胎率も pH

7.0 で 82% と高値を示したと報告している。奥田らの成績は本研究の結果よりやや pH 域が高い。しかし前 2 者の報告は本研究の結果と極めて良く一致した成績を示している。すなわち、授精時においては pH 6.4~pH 7.0 を示す例が大部分を占め、また受胎数もこれらにおいて多いが、とくに pH 6.6 では顕著である。一方受胎率については、本研究では全授精例の約 1/5 が pH 測定されなかったため、正確に求められなかったが、傾向としては pH 6.0 から 7.0 の間であれば大差ないものと推測される。

本研究では発情が正常に認められ、直腸検査により成熟卵胞が存在し、授精可能と判断された例のみを対象としたので、臨床的に容易に認められた卵巣や子宮の異常を含む繁殖障害例は除かれている。中島ら³¹⁾は子宮内感染があると発情時の頸管粘液 pH は 7.8 以上と高値を示し、低受胎になると述べているが、本研究ではこれらの場合は授精をしなかったため、pH 測定値も対象から除かれている。それにもかかわらず、実際には、3 回以上授精しても受胎しないいわゆるリピート・ブリーダー牛がかなり認められた。リピート・ブリーダーの原因には多くの因子が考えられるが³²⁾、そのうちでも本研究の場合は、潜在性子宮内膜炎、ホルモン失調、頸管粘液精子受容性不良、受精卵着床障害、精液精子不良、胚の早期死滅、免疫、遺伝、栄養障害、卵管閉塞などが考えられる。一般にリピート・ブリーダー牛においては、発情そのものは正常に示され、頸管粘液の pH も 6.7 ± 0.8 となり、正常牛との間に差を示さないことが報告されている³³⁾。従って本研究中に含まれたリピート・ブリーダー例も、頸管粘液 pH の上からは正常牛と区別なく、同じ範囲に入ったものと考えられる。EL-NAGGAR ら³³⁾はまた、牽糸性を示さない水様性粘液では、pH は有意に高く、 7.3 ± 0.5 であったと述べているが、本研究で認められた pH 7.6 の 2 例は尿腔で、頸管粘液も水様であったことから、この傾向に一致している。

年度による比較では、1970年度は pH 6.8 がもっとも多くを占めたが、年とともに減少して、ピークは pH のより酸性側にずれ、1974年度では pH 6.4 が多くを占めた。このように年によってその分布はことなるので、永井ら²⁸⁾、小沢²⁹⁾、奥田ら³⁰⁾のように 5 カ月以内の短期間の調査では正確なことが言えない。しかし pH 6.4~7.0 が主体をなすことには変わりがない。

季節との関係では、春夏秋冬の順で、授精数、受胎数、受胎率とも高くなる傾向が明瞭に示された。統計的には 5 年間という長期にわたって同一集団を調査したの

で、季節の区別なくほぼ同じように例数が分散してよいと考えられる。このことは牛では順調にいけば約 1 年の周期で分娩がくりかえされるため、たまたま同じ季節に例数が片よったとも考えられるが、本研究の場合は受胎率が低く、むしろ 12 カ月 1 産を通した牛はほとんどいなかった。この現象には夏期不妊症 (summer sterility) の影響がもっとも強く関与していると考えられる。すなわち、夏期には発情数も少なく受胎率も低下している。秋になっても茨城県では 9 月の残暑がきびしいので、その影響が残る。冬期は授精にとってもっとも良い時期で、受胎率も向上する。春における低値は、3 月 4 月がなお寒さの残ることから、夏期不妊症の直接の影響とは考えられない。しかし間接的には、冬期 3 カ月の間になりの牛が受胎し、春には対象牛そのものの数が減少したため授精数が減少したこと、また受胎率の低下はいわゆる問題牛がもちこされたためと考えられる。

頸管粘液の季節的变化は、pH 6.4, 6.6, 6.8 の 3 者が主体をなすが、秋期では pH 6.4 よりも pH 7.0 の方が授精数、受胎数とも多く認められた。この現象は個体差に由来したものと思われる。

年令および産次との関係でみると、対象牛として若令牛および産次の少ないものが多いのは、成牛の導入がなかったためである。いずれも pH 6.4, 6.6, 6.8 の 3 者が主となっているが、特徴としては 1 才で pH 7.0 を示す例がかなり多く、未經産牛でも同じ傾向が認められた。

年令が高くなって対象頭数が減少する主な要因は、乳牛の場合不受胎による淘汰である。このことと年令、産次別の授精数、受胎数の結果から、本牧場では授精時において 5 才、4 産 (分娩時では 6 才、5 産となる) まだが、いわゆる生産年令としてもっとも効率がよく、それ以上のものは授精数も少なく、受胎率も低下するので淘汰されていく傾向が認められた。

一発情期にさらにこまかく経時的に頸管粘液 pH の変化を調べ、受胎との関連を追求していくことが今後の課題である。またリピート・ブリーダーのような潜在性の繁殖障害に対しては、授精時における頸管粘液 pH の測定に加えて、何らかの簡易な検査方法が開発されるならば、受胎率の向上につながることであろう。

要 約

東京大学付属牧場に飼養されている乳牛を対象として、発情期、授精直前の頸管粘液 pH を 5 年間にわたって測定した。その結果、授精時 pH の測定回数は延 24

例となり、そのうち 82 例が受胎した。

頸管粘液 pH は 6.0~7.8 にわたって分布したが、授精時 pH は 6.8 がもっとも多く、6.6, 6.4, 7.0 の順となった。pH 7.4 以上はわずか 4 例である。授精時 pH の総平均は 6.69 ± 0.28 となった。受胎時 pH 値は 6.8 と 6.6 がいずれも多く、pH 6.4 と 7.0 がこれにつき、総平均は $pH 6.66 \pm 0.26$ となった。

年度や季節によって pH の分布に多少の差を生じたが、いずれも pH 6.4~7.0 が主であった。年令および産次数との関係では、未經産牛で pH 7.0 を示した例が、授精時、受胎時とも相対的に多く、授精時 pH が 7.2 を示した例も多いのが特徴であった。1 産~3 産にわたっては pH 6.6 が多くなり、4 産以降は pH 6.4 が増加した。

本論文の要旨は昭和 50 年度日本臨床獣医学会（九州地区、長崎）において発表した。

(1975. 5. 28 受付)

文 献

- 1) ROARK, O.B. & H.A. HERMAN: *Missouri Univ. Agric. Exp. Sta. Res. Bull.*, (455), **55**, 1950.
- 2) 檜垣 (繁)・栗井 (好): 農技研報, G-7, 51, 1953.
- 3) OLDS, D. & N. L. VANDEMARK: *Am. J. vet. Res.* **17**, 587, 1957.
- 4) GUAY, P.: *Can. vet. J.*, **7**, 169, 1966.
- 5) GUAY, P.: *Can. vet. J.*, **7**, 199, 1966.
- 6) BAKSAI-HORVATH, E.: *Acta Vet. Acad. Sci. Hungaricae*, **17**, 45, 1967.
- 7) BAKSAI-HORVATH, E. & M. A. EL-NAGGAR: *Acta Vet. Acad. Sci. Hungaricae*, **21**, 165, 1971.
- 8) HAMANA, K., A. A. EL-BANNA & E. S. E. HAFEZ: *Cornell vet.*, **61**, 104, 1971.
- 9) BHUSHANA RAO, K. S. P., E. V. ROOST, P. L. MASSON, J. F. HEREMANS & F. ANDRE: *Biochim. biophys. Acta*, **317**, 286, 1973.
- 10) 高嶺 (浩): 東京農工大農報, (4), 1, 1961.
- 11) 杉崎 (克): 家畜診療, (86), 42, 1970.
- 12) 春日 (稔): 畜産の研究, **26**, 1274, 1972.
- 13) 春日 (稔)・坪倉 (貫)・竹下 (誠)・三成 (淳)・岩本 (功)・奥原 (茂)・土江 (米)・田辺 (甚): 家畜衛生情報 (牛の衛生), p. 32, 1974.
- 14) SCOTT BLAIR, G.W., S. J. FOLLEY, F. H. MALPRESS & F. M. V. COPPEN: *Biochem. J.*, **35**, 1039, 1941.
- 15) CHOUDHURY, P. N. R. & M. N. RAZDAN: *Zootec. Vet.*, **22**, 273, 1967.
- 16) BISHOP, E. J. B., D. A. MACDONALD & D. W. W. Q. SMITH: *Proc. S. Afr. Soc. Anim. Prod.*, **8**, 2071, 1969.
- 17) LAMOND, D. R. & A. G. SHANAHAN: *Biol. Reprod.*, **1**, 335, 1969.
- 18) 佐藤 (幸): 家畜繁殖誌, **15**, 8, 1969.
- 19) SOPELJNIK, V. M.: *Anim. Breed. Abstr.*, **39**, 492, 1969.
- 20) BRECKENRIDGE, M. A. B., D. P. PEDERSON & W. T. POMMERENKE: *Fert. Steril.*, **1**, 427, 1950.
- 21) MARCUS, S. L. & C. C. MARCUS: *Obstet. Gynec. Survey*, **18**, 749, 1963.
- 22) STEVENSON, C. S.: *Fert. Steril.*, **9**, 407, 1958.
- 23) MOGHISSI, K. S. & C. MARKS: *Fert. Steril.*, **22**, 424, 1971.
- 24) SCHILLING, E. & J. ZUST: *Zuchthyg.*, **2**, 156, 1967.
- 25) SCHILLING, E. & J. ZUST: *J. Reprod. Fert.*, **15**, 307, 1968.
- 26) EL-NAGGAR, M. A. & E. BAKSAI-HORVATH: *Acta Vet. Acad. Sci. Hungaricae*, **21**, 245, 1971.
- 27) SCHILLING, E. & W. ROSTEL: *Dt. Tierarztl. Wschr.*, **71**, 429, 1964.
- 28) 永井 (吉)・坂部 (肇)・堀家 (守): 獣畜新報, (208), 20, 1957.
- 29) 小沢 (隆): 家畜診療, (78), 17, 1969.
- 30) 奥田 (勝)・本田 (一): 家畜診療, (117), 29, 1973.
- 31) 中島 (迪)・吉田 (康)・木場 (伊): 家畜診療, (26), 11, 1961.
- 32) 山内 (亮): 新家畜繁殖講座 III 実際編, 朝倉書店 p. 83, 1970.
- 33) EL-NAGGAR, M. A. & E. BAKSAI-HORVATH: *Acta Vet. Acad. Sci. Hungaricae*, **22**, 31, 1972.

Summary

The pH of the bovine cervical mucus was determined with pH test strip introduced into the cervical canal immediately before insemination in the estrous stage. For 5 years, 82 of the 242 cases examined became pregnant. The pH in the estrous stage were distributed widely from pH 6.0 to pH 7.8. The cases with pH 6.8 were most frequent and then pH 6.6, pH 6.4 and pH 7.0 followed it in this order of frequency. The average of the pH values was $\text{pH } 6.69 \pm 0.28$. The pH of the mucus in which the cow became pregnant were distributed from pH 6.0 to pH 7.2. The cases with pH 6.8 and pH 6.6 were equally frequent and then pH 6.4 and pH 7.0 followed them. The average was $\text{pH } 6.66 \pm 0.26$.

According to the fiscal year or season, the pattern of the pH distribution showed some variation. However, the cases with pH 6.4 to pH 7.0 were always predominant. In relation to the age or the times of calving, the cases with pH 7.0 and pH 7.2 were relatively many in the heifers. There were found in relatively many cases in which the pH showed 6.6 after first to third times of parturition, and 6.4 above 4th parturition.