牛の性周期中における子宮頸管粘液のpHならびに電気伝導度 の変化——生体内測定による検討

森 純一・富塚常夫・広木政昭*・仮屋堯由

(農林水産省畜産試験場・*茨城県大家畜経営センター)

牛の子宮頸管粘液の分泌量^{1,2)} や粘稠度^{1,2)}, 化学成分³⁻⁶⁾, 結晶像^{4,7)}, pH^{4,9-11)}ならびに電気的性状^{12,13)}などは性周期の進行に伴って変化することが知られている。このうち、発情期における分泌量の増加や粘稠度の低下, ならびに結晶像の発現などは牛の発情発見の指標としても利用されている。一方、子宮頸管粘液の pH や電気的性状についても比較的古くから検討が行われてきたが、これらの成績はいずれも粘液を生体外にとり出して測定したものが多く、性状の変化を生体内で直接測定したものは極めて少ない。

勿論、これ迄のように粘液を体外にとり出して測定しても、変化の傾向を把握することは出来るが、粘液を体外にとり出して測定する場合には、時間の経過に伴って、粘液が空気に触れるための変化や水分の蒸散あるいは吸収などがおこり、そのための誤差が加わることが考えられる。したがって、生体内で直接 pH や電気伝導度を測定出来れば、子宮頸管粘液の性状の変化をより正確に把握することが出来る。

近年、科学の進歩発展に伴って、電気的計測機器の性能も著しく改善されてきた。そして、堅牢で操作が簡単であり、生体内の試料を直接測定出来る pH 電極の開発や、微細な電気伝導度の変動を簡易に計測出来る電気伝導度計の製作などが行われ、粘液性状の変化を生体内で直接測定することが可能となってきた。

本実験ではこれらの機器を用いて、牛の生体内子宮頸管粘液 pH の性周期中における変化を明らかにするとともに、当研究室で試作した電極を用いて子宮頸管粘液の電気伝導度を計測し、その変化と粘液 pH 値の関係について検討したので、その結果を報告する。

"In vivo" pH and electric conductivity of cervical mucus of cows during estrous cycle.

MORI, Junichi, Tsuneo TOMIZUKA, Masaaki HIROKI* & Takayoshi KARIYA (National Institute of Animal Industry, Chiba 280 & *Large Animal Management Center, Ibaraki Prefecture 319-23) *Japan. J. Anim. Reprod.* 25 (1), 1979.

材料及び方法

測定に供した材料牛はいずれも農林水産省畜産試験場繋養の肉用牛（黒毛和種及び褐毛和種）57 頭である。これらの材料牛はいずれも正常性周期をくりかえしている健康状態良好のもので、給飼時間ならびに測定時間を除いて放牧場で自由に行動させた。

発情の発見は朝夕 2 回（午前 9 時及び午後 4 時）外部徴候の観察を行い、さらに腰部にヒート・マウント・ディテクター（米国・KAMAR 社製）を貼付し、その赤変の有無によって行った。発情徴候が発見された場合には直腸検査を行い、卵巣ならびに子宮所見から発情を確認した。

性周期の表し方は、発情確認当日を性周期の 0 日 (day 0) とし、日数の経過に伴って 1, 2, 3... 日; -1, -2, -3... 日 (day 1, day 2, day 3...; day -1', day -2, day -3...) として表示した。

pH ならびに電気伝導度の測定は原則として午前 9 時 30 分から行った。

pH 測定にはポータブルのポケット型メーター（西ドイツ・Wissenschaftlich-Technische-Werkstätten 社製、pH 54 型）を用い、食品工業用に考案された複合電極（全研社製、CE-200 B-Ag 型）を接続して使用した（図 1 参照）。実際の測定にあたっては、電極に塩化

Fig. 1. Photograph of the device for measurement of pH.

Fig. 2. Photograph of the device for measurement of electric conductivity.

Fig. 3. Device for measurement of electric conductivity.

ビニールのパイプを接続して長さを延長し、腔鏡で腔部を開口したのも電極を挿入して、その先端を子宮外口部の粘液に接触させ、pH の測定を行った。なお、測定の際には、pH 電極内の気泡が先端部に移動しないように電極の角度に留意した。

電気伝導度は土壤用に開発された電気伝導度計（竹村電気製作所製：DM-35 型）に当教室で考案試作した電極をとりつけて測定を行った（図 2 参照）。電極はポリプロピレン樹脂の外套にステンレス・スチール製の感知部を組み込んだもので、その構造は図 3 に示す通りである。測定は pH の場合と同様にして行った。測定結果は電気伝導度の単位 mho で表示すべきであるが、本実験においては生体内測定という特殊性もあるので、メーターの指針の値を伝導度の測定値として表示した。

実験結果

1. pH

本実験を通じての測定結果は 5.8~8.3 にわたって分布していた。性周期中の各日の平均値は図 4 の通りで、

Fig. 4. pH of cervical mucus of cows during estrous cycle.

*: Standard error of the mean.

**: Number of observations.

Fig. 5. Electric conductivity of cervical mucus of cows during estrous cycle.

*: Standard error of the mean.

**: Number of observations.

day 0 ならびに day 1 の平均値が 6.49 (5.8~7.3) 及び 6.52 (5.8~7.4) と他に比較して低い値を示したほかは 6.83~7.40 (6.3~8.3) とこれに比較していずれも高い値を示した。また、day 0 及び day 1 以外の平均

値の間では, day 10 及び day -8 の値が若干低い傾向を示したが, その他では著しい差異が認められなかった。ここで, day 10 及び day -8 の値は, その前後の日の値に比べて統計的に有意の差ではあったが, day 0 及び day 1 の低値に比べるとその差は著しいものではなかった。

2. 電気伝導度

それぞれの測定結果は 0.1~1.8 にわたって分布していた。性周期の各日の平均値を図示すると図 5 の通りで, day -3 辺りから上昇傾向を示し, day 0 に 1.05 (0.5~1.8) と最高の値を示したのち, day 3 にはもとの低値に戻った。これら高値を示した発情前後の以外における平均値は 0.24~0.58 (0.1~1.2) の間を上下し, day 10 及び day -7 に低値を示したほかは著しい差異が認められなかった。

3. 発情期ならびに黄体期における pH と電気伝導度の関係

発情期として day 0 の, また黄体期として day 5~day 13 の牛の個々の測定時における pH 値と電気伝導度の測定値との関係を図示すると図 6 の通りであった。

Fig. 6. Relationship between electric conductivity and pH of bovine cervical mucus at estrus and during diestrus phases.
○, Estrus phase; ●, Diestrus phase (day 5~day 13)

Fig. 7. Ratio of electric conductivity and pH of cervical mucus of cows during estrous cycle.

*: Standard error of the mean.

**: Number of observations.

すなわち, この図から発情期には pH が低下する一方, 電気伝導度は上昇し, 黄体期には pH が上昇する一方, 電気伝導度が低下する傾向が明瞭である。

4. 電気伝導度と pH の比

それぞれの測定時における電気伝導度と pH の比, すなわち [電気伝導度/pH] をとって, 性周期の各日別を示すと図 7 の通りで, day -3 辺りから上昇傾向を示し, day 0 に最高の値を示したのち, day 3 にはもとの値に戻った。

考 察

子宮頸管粘液の pH はこれまで主として体外にとり出したものを, pH 試験紙で測定する方法がとられてきた。しかし, 試験紙による pH 測定の場合には, 子宮頸管粘液が粘稠性の液であるために誤差が大となることは避けられないし, さらに粘液を体外にとり出して測定する場合には粘液が空気に接触するために pH が上昇し, 正確な値が得られないことがこれ迄の研究によって明らかにされている^{8,10,15)}。本実験ではこれらの測定方法にもとづく測定値の変動をさけるために, 生体内における頸管粘液について直接 pH 測定を行ったので, 得られた結果はこれ迄の報告に比べて変化の実態をより正確に示

しているといえよう。これ迄の報告では、発情期に pH の上昇を認めたものや、また逆に pH の低下を認めたものなど^{8,9,11)}その結果は様々であったが、結果の不一致の一因は測定方法の差異にもとづくものと考えられる。

著者ら¹⁶⁾はさきに、屠場材料を用いて雌牛の生殖器道における pH の変化を調べたが、その結果は膣、子宮頸管、子宮、卵管など雌性生殖器道の全域にわたって発情期に pH の低下が認められ、その傾向は本実験の結果と一致するものであった。このような発情期における pH の低下がどのような原因でおこるかは明らかでないが、前述の実験¹⁶⁾で卵巣摘出牛にエストロゲン及びプロジェステロンを投与した場合、エストロゲン投与後に子宮頸管外口部の pH が低下したことから、発情期における pH の低下は増加した血中エストロゲンの作用の結果ではないかと推察される。

なお、発情期ほど著しい変化ではなかったが、day 10 及び day -8 に pH 値が若干低下する傾向が認められた。この原因は明らかでないが、この時期には卵巣内で卵胞の発育、消退がくりかえされる時期である¹⁷⁾。血中エストロゲンレベルもこの頃に上昇する例のあることが報告されている¹⁸⁾ので、pH 低下はこのような卵巣におけるエストロゲン分泌の変動を反映したものであるかも知れない。この点についてはさらに検討が必要であろう。

子宮頸管粘液の電気伝導度の変動では、発情期に明瞭な上昇が認められた。さきに高嶺・羽生¹⁹⁾、檜垣・栗井⁷⁾、三宅²⁰⁾らは牛の子宮頸管粘液の結晶形成現象について検討し、発情期に結晶形成現象が出現することを報告している。この結晶形成現象の出現には粘液中の塩化ナトリウム濃度の増加が強く作用していることが知られており^{4,7,20)}、実際に粘液中の塩化物の濃度を測定した高嶺⁴⁾や LAMOND & SHANAHAN⁵⁾の成績でも発情期における塩化物の増加が報告されている。したがって、発情期における子宮頸管粘液の電気伝導度の上昇は、粘液中の塩化物を含む電解質イオンの濃度上昇を反映したものといえよう。また、電気伝導度と逆数の関係になる電気抵抗値については、GARTLAND ら¹³⁾、LEIDLE & STOLLA¹⁴⁾によって報告されているが、本実験の結果もこれらと一致する傾向がみられた。

これら子宮頸管粘液の pH や電気伝導度の変動と血中ホルモンレベルの関係では、発情期前後に大きな変動を示すエストロゲン及び黄体形成ホルモン (LH) などとの関連が考えられる。著者ら²¹⁾はこれまで、性周期中における血中 LH レベルの変動について検討し、その結

Fig. 8. pH and electric conductivity of cervical mucus and serum levels of LH of cows during estrous cycle.

果を報告してきた。これら血中 LH レベルの変化と、子宮頸管粘液の pH ならびに電気伝導度の変化をまとめて図示すると図 8 の通りである。すなわち、血中 LH レベルは発情期に急激に上昇して鋭いピークを形成し、また電気伝導度及び pH もともに上昇または下降して発情期にピークあるいは谷を形成する点で一致した。そして、その頂点はいずれも発情確認当日 (day 0) に出現した。さきに LEIDLE & STOLLA¹⁴⁾は子宮頸管粘液の電気抵抗値の変化と血中 LH レベルの変動との関係について述べ、電気抵抗値の最低値の出現時期は血中 LH レベルの最高値の出現時期と一致すると述べている。著者らの実験では、いずれの測定も原則として 1 日 1 回の測定に限ったので、細かい時間的關係については不明であるが、およそその傾向は LEIDLE & STOLLA¹⁴⁾の報告と一致するものであった。

他方、エストロゲンの血中レベルの変化については、これ迄に多数の報告^{18,22-25)}が見られるが、いずれも発情期の 2~3 日前から上昇傾向を示し、発情期にピークを形成することが報告されている。このような発情期における変動のパターンは pH や電気伝導度の変動の

傾向と極めて類似する変化であり、先述の卵巣摘出牛に対するエストロゲン投与が粘液の pH 低下を招いた事実と考え合わせると、頸管粘液の pH や電気伝導度の変化がエストロゲンの支配をうけている可能性が強い。

要 約

近年性能改善の著しい計測機器を用いて、生体内で牛の子宮頸管粘液の pH ならびに電気伝導度を測定し、性周期中における変化を明らかにした。

性周期を通じての pH の測定値は 5.8~8.3 にわたって分布していた。性周期の各日における pH の平均値は大部分 6.83~7.40 の値を示したが、day 0 及び day 1 には著しく低下し、6.49 および 6.52 の値を示した。day 0 及び day 1 以外では、day 10 及び day -8 に若干低い値を示したが、その変動は day 0 及び day 1 におけるほど著しいものではなかった。

性周期を通じての電気伝導度の測定値は 0.1~1.8 にわたって分布していた。性周期の各日における平均値は、day -3 辺りから上昇傾向を示し、day 0 に 1.05 と最高の値を示したのち、day 3 にはもとの低値に戻った。これら高値を示した発情前後の日以外における平均値は 0.24~0.58 の間を上下し、day 10 及び day -7 に低値を示したほかは著しい差異が認められなかった。

このほか、性周期中における電気伝導度と pH の比の変化についても検討を行った。

以上の結果から、牛の子宮頸管粘液では、pH も電気伝導度も発情日前後に急激な変化を示し、発情日には pH が低下する一方、電気伝導度が急上昇する傾向が明らかとなった。

(1978. 7. 15 受付)

文 献

- 1) HAMMOND, J.: "The Physiology of Reproduction in the Cow", University Press, Cambridge, 1927.

- 2) COLE, H. H.: *Amer. J. Anat.* **46**, 261, 1930.
- 3) 高嶺(浩): 日獣会誌 **14**, 482, 1952.
- 4) 高嶺(浩): 東京農工大学農学部学術報告 (4), **1**, 1961.
- 5) LAMOND, D. R. & A. G. SHANAHAN: *Biol. Reprod.* **1**, 335, 1969.
- 6) HAMANA, K., A. A. EL-BANNA & E. S. E. HAFEZ: *Cornell Vet.* **61**, 104, 1971.
- 7) 檜垣(繁)・栗井(好): 農技研報告 G 7, **51**, 1953.
- 8) 高嶺(浩)・羽生(章): 東京農工大学農学部学術報告 (1), **21**, 1950.
- 9) 山内(亮)・芦田(浄)・三船(亮): 日獣会誌 **15** (別), **170**, 1954.
- 10) 渡辺(彰)・高嶺(浩): 日獣会誌 **8**, 327, 1955.
- 11) SCHILLING, E. & J. ZUST: *J. Reprod. Fertil.* **15**, 307, 1968.
- 12) 佐藤(幸): 本誌 **15**, **8**, 1969.
- 13) GARTLAND, P., J. SCHIAVO, C. E. HALL, R. H. FOOTE & N. R. SCOTT: *J. Dairy Sci.* **59**, 982, 1976.
- 14) LEIDLE, W. & R. STOLLA: *Theriogenology* **6**, 237, 1976.
- 15) ROARK, D. B. & H. A. HERMAN: *Bull. Mo. agr. Exp. Stn.* (455), **1** 1950.
- 16) 森(純)・檜垣(繁): 日獣会誌 **27** (別), 492, 1965.
- 17) RAJAKOSKI, E.: *Acta Endocrinol.* **52** Suppl., **1**, 1960.
- 18) HENRICKS, D. M. J. F. DICKEY, J. R. HILL & W. E. JOHNSTON: *Endocrinology* **90**, 1336, 1972.
- 19) 高嶺(浩)・羽生(章): 医学と生物学 **16**, 203, 1950.
- 20) 三宅(勝): 本誌 **1**, 143, 1955.
- 21) 森(純)・正木(淳)・細田(達)・若林(克): 繁殖研究会口演 (本誌 **17** (別), **50**, 1971.)
- 22) HENRICKS, D. M., J. F. DICKEY & J. R. HILL: *Endocrinology* **89**, 1350, 1971.
- 23) GLENCROSS, R. G., I. B. MUNRO, B. E. SENIOR & G. S. POPE: *Acta Endocrinol.* **73**, 374, 1973.
- 24) HILARY DOBSON & P. D. G. DEAN: *J. Endocr.* **61**, 479, 1974.
- 25) 百目鬼(郁)・中原(達): 本誌 **23**, **29**, 1977.

Summary

The pH and the electric conductivity of the bovine cervical mucus during estrous cycle were measured *in vivo* by a pocket-type pH meter and a handy type electric conductivity meter, respectively.

The pH values fluctuated during the estrous cycle. Mean values from day -10 to day -1 and day 2 to day 11 ranged between 6.83 and 7.40. On day 0 and day 1, the pH fell to 6.49 and 6.52, respectively. The minimal pH was observed on day 0 (the day of estrus).

The electric conductivity values also fluctuated during the estrous cycle. On day -3, the electric conductivity values began to rise. The maximal value (1.05) appeared on day 0 (the day of estrus), followed by rapid decrease to basal levels. Levels from day -10 to day -4 and from day 3 to day 11 ranged between 0.24 and 0.58.

The changes of the ratio of the electric conductivity to the pH during estrous cycle were also investigated.