牛の子宮頸管粘液の結晶形成とその卵巣機能障害 の診断・治療における意義

原 田 秀 夫*

(平成元年 4 月 21 日受理)

Crystallization of Uterocervical Mucus in Cattle and Its Significance
in Diagnosis and Treatment of Ovarian Dysfunction

HIDEO HARADA (Agricultural Cooperative Association, Bisei-cho, Okayama 714-14)

SUMMARY

The present studies were conducted to gain further knowledge regarding the relationship between crystal forms of bovine uterocervical mucus and ovarian function.

The properties of uterocervical mucus have been regarded accurately as reflecting the vicissitudes of estrogen (E) and progesterone (P) in the follicular and luteal periods. A crystallization phenomenon in a normal sexual cycle is characterized by specific patterns. The patterns are characteristic of each phase of the ovarian cycle. In ovarian dysfunction, however, such patterns remain mostly obscure.

The pattern of mucus crystallization varies with delicate quantitative fluctuations of these hormones not only in the estrous and nonestrous periods but also during the transitional periods from P-dominant to E-dominant and from E-dominant to P-dominant phases. In this study, changes in crystallization patterns as a reflection of subtle quantitative fluctuations of E and P were investigated in detail. The results verified that the crystallization of uterocervical mucus can be effectively used for the diagnosis of ovarian function in cows.

——— *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 42, 469~475 (1989).

要 約

正常卵巣のものおよび卵巣機能障害の乳牛について、子宮頸管粘液の結晶像を中心とした実験を行った。

正常性周期を繰り返している牛の頸管粘液塗抹標本には、卵巣周期に応じてほぼ一定のパターンで結晶像が出現した。これはエストロゲン (E) とプロゲステロン (P) の比率によるものと考えられるが、卵巣機能障害牛では正常牛のような一定のパターンは認められなかった。しかし、正常牛の性周期中において E と P の比率が変る時期には、結晶像が微妙に変化し、その像は E と P が無統制に分泌されている卵巣機能障害牛に多くみられる像と類似していた。

これらのことから、頸管粘液の結晶像を 7 つの型に分類して、野外材料の結晶像を解析したところ、卵巣の機能面を推察するのに役立つ成績が得られた。

子宮頸管粘液性状は、卵胞期・黄体期に伴うエストロゲン (E) およびプロゲステロン (P) の消長をよく反映するので粘液性状から逆の卵巣のホルモン分泌機能を類推できるはずである。そのため、すでに多くの研究者

によって関連領域の研究がなされており^{1, 2, 3, 4, 6, 7, 9~14)}、卵巣疾患との関連を追求した報告も若干みられるが^{1, 9)}、なお不十分な点が多い。

今回筆者は、E と P の比率の違いによって卵巣機能が頸管粘液、とくに結晶形成現象に反映されることを再確認するとともに、卵巣機能障害にも応用できる価値があるかどうかを知るために、各種の卵巣機能障害について材料を集め検討した。その結果、頸管粘液の結晶形成現象が卵巣機能の診断に十分利用できることを認めたので報告する。

* 岡山県美星町農業協同組合 (小田郡美星町三山 1038)

Key Words: 卵巣周期, 頸管粘液, 結晶像, エストロゲン, プロゲステロン.

1. 材料および方法

1) 供試牛と試験期間

供試牛は岡山県小田郡美星町内の酪農家で飼養されて

いるホルスタイン種雌牛 125 頭 (年齢 6.5 カ月～8 歳)

で、試験期間は 1983 年から 1986 年までの 4 年間である。

2) 粘液の採取

先端に pH 測定用 BTB 試験紙 (東洋科学) を装着したブージを頸管外口部に軽く挿入して付着した粘液を採取し、同時に pH・透明度・粘稠度・牽る性などの性状もあわせて観察した。

3) 塗抹標本の作製および結晶像検査

米粒大の粘液を約 2 cm² の広さになるようにスライドガラスへ塗抹し、室温もしくはわずかに加温する程度で乾燥させた。そして、無染色のまま 30 倍で鏡検した。写真撮影は常時 40 倍で実施した。

4) 結晶像の判定基準

結晶像の判定は、大地⁷⁾に従って大まかには (-)～(≡) までの 4 段階とした。しかし、これだけでは該当しない像も出現するので、正常牛と診断された牛群 (22 例) の性周期に伴う所見と、さらに未成熟牛および卵巣静止や無発情型卵胞囊腫牛等で見られる E、P ともに低レベルと思われるもの等での所見も検討し、7 つの型 (I～VII) に分類した (表 1)。

5) 血中 E および P の測定

分離した血清を用いて、常法に従って RIA 法により、エストラジオール (E₂) と P を一部の牛 (卵巣機能減退牛) で測定した。

6) 供試卵巣疾患牛に対する爾後処置

当初の実験を実施した後は臨床的に治療を施し、卵巣の機能推移と粘液結晶像との関連についても追究した。

2. 成績

1) 正常牛における成績

正常性周期を回帰している健康な 16 カ月齢の牛では、結晶像の出現・消失についての一連の変化が卵巣所見とよく一致していた。とくに今回の試験では、単に標本の中心部が (+) とか (≡) だけ

表 1 各種粘液像の分類

型	粘 液	所 見	EP バランス
I	黄体期：固形分最高。水分最低。粘稠度強く餅状。粘液塊。気泡等の形成が認められる。結晶像 (-)		P 優位
II	黄体退行開始期：標本の大半の部分が黄体期相を呈し、一部に小型の非定形的結晶像形成。像の周辺には顆粒状の細胞 (白血球) が出現する。結晶像 (+)		P 優位であるが E も関与
III	発情直前：外部候候 (-)。頸管外口充血。広範囲に小型の羊歯状および非定形的結晶像形成。結晶像の周辺に雲状または層状の縁を形成する。細胞消失。結晶像 (++)		P より E がやや優位
IV	発情期：水分増加。粘稠度低下。牽る性強い。前期はやや小型で、中後期には大型の定形的結晶像が標本の周辺迄密に配列。結晶像 (≡)		E 優位
V	排卵直後：結晶像縮小退行。発情期に固形分の減少が大きかったものでは像の配列が粗となり、微細構造を欠き、吸湿した標本に近似する。結晶像 (++)		弱い E のみ作用
VI	排卵後 4～5 日：水分減少し、粘稠度上昇するも I 型程ではなく、灰白色糊様を呈す。標本の中心部に、太くて湾曲した非定形的結晶像形成。像の周辺は II 型に近似し細胞も出現する。結晶像 (+～++)		低レベルの E、P が作用
VII	未成熟牛。卵巣静止。無発情型卵胞囊腫で見られる：I 型と II 型の中間所見に近似する。類症鑑別は卵巣所見と照合して行う。結晶像 (-～+)		E、P ともに劣勢

でなく、標本の周辺にもEとPのバランスの変動に伴う微妙な差異が現れることが確認され、また粘液の粘稠度にも明らかな変化が認められた。

2) 卵巣機能障害牛等における成績

(1) 実験的ホルモン異常の場合

正常性周期を回帰している牛の黄体開花期にE₂を15万IU投与して、体内のE、Pバランスを人為的に混乱させたところ、2日目には頸管外口部が充血し、標本には非定形的結晶像と気泡の形成および細胞の出現が認められた(写真1-1,2)。

(2) 野外での卵巣機能障害牛について

① 卵胞囊腫

ア. 無発情型卵胞囊腫

右卵巣には大きな卵胞が触知されるにもかかわらず外部徴候が陰性で、標本にはE、Pともに劣勢な場合にみられるⅦ型の所見が認められた(写真2-1)。卵胞液穿刺排除の後hCG〔プベローゲン(三共ゾーキ)〕を3000IU注射したところ、7日目には卵胞の周辺部が黄体化して、標本の結晶像は陰性となり気泡が認められた(写真2-2)。

イ. 微弱発情型卵胞囊腫

左卵巣にはウズラの卵大の囊腫卵胞を形成しており、粘液中の水分量が異常に多く、標本の一部に極端に線の太い非定形的結晶像が認められた(写真3-1)。LH-Rh-EA(LH-Rh-Ethylamine, コンセラル、武田薬品)200μg投与後12日目には卵胞の周辺部が黄体化したため、右卵巣にも異常卵胞が形成されたため、広範囲にやや線の太い小型の定形的結晶像が形成された(写真3-2)。

ウ. 発情型卵胞囊腫

右卵巣に母指頭大の囊腫卵胞を形成して、非常に強い外部徴候を表し、多量の粘液を分泌。標本には広範囲に小型の定形的結晶像を形成するが、像の周辺が不鮮明で雲状の縁が認められた(写真4-1)。hCG700IUを卵

胞に注射の後、16日目には閉鎖黄体が触知され、標本にはⅠ型の所見が認められた(写真4-2)。20日目には良発情が回帰して、標本の全域に紋様を表わす鮮明な結晶像が形成され、この時の授精で受胎した(写真4-3)。

② 黄体囊腫

左卵巣には黄体囊腫が触知され、標本にⅥ型の所見が認められた(写真5-1)。PGF_{2α}(パナセランF液、第一製薬)6mg子宮内注入の後3日目には発情が回帰し、Ⅳ型に匹敵する定形的結晶像が形成されたが、像を構成する線が非常に細く(写真5-2)、受胎したのは次の発情である。

写真 1-1 E₂15万IU筋注

写真 1-2 (2日目)

写真 2-1 (0日)

写真 2-2 (7日目)

写真 3-1 (0日)

写真 3-2 (12日目)

写真 4-1 (0日)

写真 4-2 (16日目)

写真 4-3 (20日目)

写真 5-1 (0日)

写真 5-2 (3日目)

写真 6-1 (0日)

写真 6-2 (3日目)

発情開始 (0日) → → 排卵 (6日目)

写真 7-1 (4日目)

写真 8-1 (0日)

写真 8-2 (4日目)

写真 8-3 (7日目)

写真 9-1 (0日)

写真 9-2 (6日目)

写真 10-1 (0日)

写真 10-2 (3日目)

③ 卵巣静止

卵巣には卵胞、黄体ともに触知されず、結晶像も陰性でⅦ型の所見が認められた(写真6-1)。PMSG(セロトロピン, 帝国臓器) 1000 IU 筋注の後3日目には卵胞が触知され、標本には小型の定形的結晶像が出現して、Ⅲ型とⅣ型の中間所見に移行した(写真6-2)。hCG 1500 IU 筋注の後排卵し、18日間の黄体期を経て2回目の発情が回帰した。

④ 持続性発情

発情開始後4日を経過してもなお排卵に至らず、微弱な発情徴候を継続しているもの。標本には、一部に定形的結晶像が形成されて、Ⅲ型に近似の所見が認められた(写真7-1)。

⑤ 黄体形成不全

発情徴候が比較的明瞭で、大型の結晶像を形成するが、像の微細構造ならびに周辺の部分が不鮮明である(写真8-1)。4日目でもなお外陰部が弛緩し、黄体が触知されずⅢ型に類似の所見を認めた(写真8-2)。7日目には早くも2回目の発情が回帰したが、像は小型で線もやや太く、その周辺部はⅢ型に近似していた(写真8-3)。

⑥ 囊腫様黄体

発情徴候は明瞭で大型の結晶像が形成されたが、粘液中の水分が多すぎるためか像の配列密度が低かった(写真9-1)。LH-Rh-EA 100 μ g 筋注の翌日には排卵したが、6日目の卵巣に囊腫様黄体が形成された。結晶像は(+)でⅥ型よりもややE優位の所見を表した(写真9-2)。

⑦ 黄体遺残症

右卵巣には大きな永久黄体が触知され、結晶像は(-)でⅠ型の所見が認められた(写真10-1)。PGF $_{2\alpha}$ 6 mg 子宮内注入の後3日目には黄体が退行して、明瞭な発情を表わした。標本にはやや小型ではあるがⅣ型に近似の定形的結晶像を形成した(写真10-2)。

3) 発情時の結晶像と妊孕性

無処置群における発情時の標本には、いずれも大型で(++)のⅣ型に属する所見が認められ、比較的直線で構成される鮮明な像が多かった(写真11-1~3)。これらはいずれもこの時の授精で受胎した。いっぽう、卵巣囊腫や黄体遺残症の治療後の初回発情や、卵胞が未成熟のために発情期間中にAPG(前葉性性腺刺激ホルモン、ヒポホリン, 帝国臓器)やLH-Rh-EAを投与したものの結晶像は、(++)程度でも無処置群に比べて像が短小、斑紋様、曲線的で線が細いこと、鮮明さを欠く等、微妙な点で差異を示した。

4) APGおよびLH-Rh-EA投与による粘液性状の変化

卵巣静止の1例にPMSG 600 IUを筋注した後の発情では、結晶像が(++)でⅢ型程度の所見がみられたが(写真13-1)、ついでLH-Rh-EA 200 μ gを筋注したところ、5時間後には粘液分泌量が増加して結晶像も(++)でⅣ型の鮮明な所見が認められた(写真13-2)。

外部徴候が中程度で、結晶像は(++)のⅢ型をみた排卵障害の1例に(写真14-1)、APG 200 KEを静注し

たところ、5時間後には定形的な羊歯状の像が形成され、IV型に属する所見が認められた(写真14-2)。

5) 妊娠牛における粘液像

右卵巢に大きな黄体が触知された妊娠20日目の粘液標本では、一部に線の太い非定形的結晶像がみられたが

(写真15-1)、26日目の標本にもごく一部に非定形的結晶像が形成された。その他の箇所は粘液塊や気泡が混在し、黄体期の様相がみられた(写真15-2)。30日目の標本もほとんどの領域はI型であるが、ごく一部に非定形的結晶像が形成された(写真15-3)。63日目の標

表2 血清中E₂, P濃度と結晶像, 卵巢所見との関係

	牛. No.	E ₂ pg/ml	P ng/ml	結 晶 像	卵 巢 所 見 (直 検)
1 回 目	58	< 10	0.85	黄体期像 (I型)	左右とも大部分卵巢実質
	60	< 10	< 0.10	Ⅱ～Ⅲ, やや 疎(Ⅲ型)	右中卵胞1 および小黄体組織 1. 左実質のみ
	61	< 10	0.48	黄体期様 (I型)	左卵巢黄体あり。右卵巢実質の み
2 回 目	58	< 10	< 0.10	黄体期様 (Ⅶ型)	左右とも実質のみ
	60	< 10	0.75	Ⅱ, ただし疎 (Ⅱ型)	左卵巢中卵胞1, 右卵巢黄体1.

無処置群

写真11-1, 牛NO.1

写真11-2, 牛NO.20

写真11-3 牛NO.25

処置群

写真12-1 牛NO.31

写真12-2 牛NO.63

写真12-3 牛NO.37

写真13-1

写真13-2

写真14-1

写真14-2

写真15-1 妊娠20日

写真15-2 妊娠26日

写真15-3 妊娠30日

写真15-4 妊娠63日

本は結晶形成（－）で、粘液塊と気泡のみが認められて完全なⅠ型を示した（写真15-4）。

6) 卵巣機能減退牛における血清 E_2 , P 測定成績

血清中の E_2 および P 濃度と卵巣所見および結晶像の関係は、表-2のとおりである。 E_2 値は、いずれも 10 pg/ml 以下を示しており、その数値は測定範囲外で不明であった。P 値については全て機能的黄体の最低値である 1 ng/ml 以下であった。P 値がある程度高いもののうち、No. 58, No. 61 の 1 回目は、黄体期像を示したが、No. 60 の 2 回目では僅かに結晶像が出現した。いっぽう P 値が 0.1 ng/ml 以下と低い No. 60 の 1 回目と No. 58 の 2 回目の結晶像は、前者が明瞭な結晶形を呈したのに対して、後者は黄体期様の像を示した。

3. 考察ならびに総括

通常生殖器に必要な変化を生ぜしめるのは支配系の末端における E と P であり、両ホルモンの影響をある指標によって判定できれば関連して卵巣機能も推察できる。子宮頸管粘液の分泌ならびにその組成は卵巣から分泌される E と P の支配下にあり、その主たる成分は NaCl, ムチンおよび水で、粘液中におけるこれらの成分の含有比の変化によっていろいろな結晶像が現われる^{2,7-9,12-14)}。

正常性周期を回帰している成牛では、外部徴候、卵巣所見、粘液性状の3つが一体となった動きを示し、性周期の各時期における E, P のバランスによる微妙な差異が粘液像には明確に反映された。今回これらの所見を整理してⅠ～Ⅶ型に区分し、卵巣のホルモン分泌機能を推測する基準として応用することを試みた。その結果、卵巣機能障害においても粘液像を詳細に解析することにより、その時点での卵巣のホルモンの動態をほぼ正確に知ることが可能であり、さらに連続観察することでその動きについても把握することができた。

また、囊腫卵胞の閉鎖黄体化の判定にあたり、血中 P 値と直腸検査結果を比較した成績では、直腸検査による黄体化の判定精度が 50% 程度にしか過ぎなかったと報告されているが⁵⁾、粘液所見では標本に結晶像の退行が見られるようになれば順調な経過を辿っていると判断され、これに引き続きⅠ型の所見が認められれば完全に黄体化したものと判定できる。さらに無発情型の卵胞囊腫と黄体囊腫の鑑別に際しても、粘液所見では無発情型卵胞囊腫の場合には結晶形成が（－）でⅦ型を表わし、黄体囊腫では結晶形成が（＋）でⅥ型に類似する一見卵胞囊腫様の所見が観察され、治療経過の把握や類症鑑別を的確に行うことが可能となる。

LH の分泌と結晶像との間には直接の関係がないために、檜垣²⁾の報告と同様に排卵を示唆する特異的な所見は現われないが、高度の結晶像を表わすものは排卵およ

びそれにつづく黄体の形成が円滑である。

発情期の結晶像と妊孕性の関係では、標本の全域に大型で微細構造に至るまで鮮明な定形的結像を密に形成したものは、受胎率がきわめて高かった。卵胞発育不全、卵胞囊腫、黄体遺残等の卵巣疾患のものでも、順調な治療経過を経て迎えた発情では、像の形がいくぶん多様化の傾向を表わしているが、正常牛のそれに匹敵する像が形成され、受胎性も良好であった。

黄体開花期に E_2 を投与して人為的にホルモン異常をおこさせた結果、卵巣機能障害と同様の粘液像が得られ、卵巣機能障害を粘液所見で判定しようとする試みは適切と考えられた。

卵胞発育不全に HL-Rh-EA あるいは APG を投与した結果、数時間後に粘液像の著しい好転（E 優位像）が見られたことから、ホルモン剤に対する卵巣の反応性も粘液像によってうかがうことが可能と考えられた。

妊娠牛の粘液所見からは檜垣²⁾や高嶺⁹⁾らと同様に、妊娠牛特有の所見は得られなかったが、標本の全体像は常に P 優位の所見であった。したがって、授精後もし不受胎ならば、次回発情の回帰が予定される頃に前後 2 回程度の検査を行い、P 優位の所見の有無を確認することにより、妊娠診断の補助的手段として十分利用可能な術技であると考えられる。

卵巣機能減退牛の血清中の E_2 と P の測定で、 E_2 値がきわめて低い上に P 値が同程度のものでも、個体によっては結晶像が陽性を示すものと黄体期像を示すものとが存在した。このことは、牛によって両ホルモンに対する標的部位（この場合は頸管）での反応性に個体差があるため、粘液を検査することにより、その牛自身が今どちらのホルモンの支配下にあるのかをより確実に判定することができる利点がある。

以上の結果から、子宮頸管粘液の諸性状、とくに結晶形成現像を詳細に解析して卵巣の内分泌の状態を推察しようとする試みは、適切な方法であることが認められた。そしてこの粘液所見と直腸検査による卵巣所見を照合することによって、形態的診断に加え機能的にも診断が可能となり、治療方針確立に際しての的確な指針にすることが可能と考えられた。さらに、処置後の卵巣の反応および経過についても、正確にしかも早期に把握することができ、繁殖障害の診療をより合理的に行うことが可能と考えられた。

引用文献

- 1) 芦田浄美：家畜繁殖誌，7，80～84（1961）。
- 2) 檜垣繁光，菅 徹行：家畜繁殖学—最近の歩み，家畜繁殖研究会編，200～215，文永堂，東京（1957）。
- 3) 上村俊一，佐藤邦忠，小野 斉，ほか：帯大研報，10，601～616（1977）。

- 4) 三宅 勝：家畜繁殖誌，1，4，143～144（1955）。
- 5) 中尾敏彦：獣医界，121（1982）。
- 6) 大地隆温：家畜人工授精，81，22～23（1980）。
- 7) 大地隆温：家畜の臨床検査，高橋 貢・板垣 博編，395～408，医歯薬出版，東京（1974）。
- 8) 佐藤正光，菅原七郎，正木淳二：家畜繁殖誌，27，6～11（1981）。
- 9) 高嶺 浩：日獣会誌，18，37～42（1965）。
- 10) 高嶺 浩，渡辺 彰：家畜繁殖誌，4，111～112（1958）。
- 11) 高嶺 浩，渡辺 彰：家畜繁殖誌，4，109～110（1958）。
- 12) 高嶺 浩，吉田文男，渡辺寿一：家畜繁殖誌，4，119～120（1958）。
- 13) 高嶺 浩，吉田文男：家畜繁殖誌，6，143～146（1961）。
- 14) 高嶺 浩，山内 亮：家畜繁殖学—最近の歩み，家畜繁殖研究会編，288～289，文永堂，東京（1978）。

フィリップス連続注射器30ml

PHILLIPS SEMI AUTOMATIC INJECTOR

大改良されて新発売（リピーターMK III） オーストラリア製

●特長

1. シリンダーが外筒・内筒一体化された樹脂製で、根元がシリンダーカバーにネジこむ方式です。
2. 吸子ロッドが作業中、元に戻らない様に本体上部におくりづめをつけました
3. 針基の交換は先端の針基のみで脱着できます

●規格

容 量／30ml

分注量／1ml，2ml，3ml，4ml，5ml

針 基／5基

附属品／10基

●旧リピーターの部品は15種類共通部品です。カタログご請求下さい。

発売元

株式会社

オクムラ

〒183 東京都府中市栄町 3-30-9

TEL.(0423)66-0133(代) FAX.(0423)33-0609

■鶏用各種ワクチン

- ニューカッスル病TCND乾燥予防液
- ニューカッスル病不活化予防液
- ニューカッスル病生ウイルス予防液(B1株)
- ND-IC混合不活化ワクチン
- 鶏伝染性コリザ2価ワクチン「北研」
- コリザワクチン「北研」
- コリザワクチン「北研」C型
- 穿刺用液状鶏痘予防液
- 穿刺用鶏痘乾燥予防液

■鶏診断用製剤

- ニューカッスル病ウイルス赤血球凝集素「北研」
- MS急速凝集反応用菌液
- グルタルアルデヒド固定鶏赤血球浮遊液「北研」
- HpgC型HA抗原「北研」
- Hpg-A型(HA-I型)HA抗原「北研」

■豚用各種ワクチン

- 豚Hpn 2 型ワクチン「北研」
- TGE生ワクチン豚用「北研」
- ARワクチン(豚ポルデテラ感染症予防液)
- 豚丹毒生ワクチン「北研」
- 豚コレラ生ウイルス乾燥予防液
- 日本脳炎生ウイルスワクチン(1ml用)

■豚診断用製剤

- 豚Hpn 2 型CF抗原「北研」
- AR抗原「北研」
- AR抗原参考抗血清「北研」
- Bb. I 相菌免疫家兔血清

●印は要指示医薬品

■動物用消毒剤 動物用医薬品

「北研」ゼットコンク

北里製薬株式会社

〒108 東京都港区白金5丁目9-1 ☎03(444)6161(代)

大阪支店 ☎06(202)7658(代) 東北出張所 ☎0236(45)0111(代)

北里の 鶏・豚用製剤

TO- 31

1989.2

製造 北里研究所(社団法人)

販売 北里薬品産業株式会社

本社 〒108 東京都港区白金5丁目9-1 ☎03(444)6161(代)

大阪支店 ☎06(202)7658(代) 東北出張所 ☎0236(45)0111(代)