

分娩後の乳牛における血漿中プロジェステロン濃度と超音波診断装置で判定した繁殖機能の回復経過

上村 俊一** 扇 勉**
高橋 雅信** 塚本 達**

乳牛における分娩後の繁殖機能の回復経過を、血漿中プロジェステロン濃度と超音波断層像により観察した。まず、乳牛4頭を供試し超音波断層像による生体内での子宮各部位と、屠殺後摘出した子宮頸管および左右子宮角の中央部を計測した。生体内子宮の超音波断層像は、子宮内膜面と血管層が楕円形の輪郭線として観察され、直径および輪郭線に沿った面積は摘出した子宮の計測値と一致した。次に、乳牛18頭について卵巣機能と子宮の修復状況を観察した。分娩後7日目には、左右卵巣に直径10mm以上の卵胞が存在し、初回排卵は平均19.4日、初回排卵後のプロジェステロン濃度の最高値は7.1ng/mlであった。子宮は、分娩後44.1日に妊娠角と非妊娠角の断面積がほぼ等しくなり修復が観察された。初回排卵までの日数が長いと子宮修復が遅れる傾向にあった。乳牛の分娩後の繁殖機能の回復経過を、血漿中プロジェステロン濃度と超音波断層像の組み合わせで的確に判定できた。

結 言

安定的な酪農経営確立のため、分娩後速やかに生殖器が修復し、適期に人工授精が行われ、100日以内に受胎することが必要である。このためには、分娩後の卵巣機能の回復を促進するとともに子宮の修復状況を的確に診断し、異常があれば早期に処置する必要がある。従来の直腸検査による子宮修復の経過観察では、その精度と情報量が屠殺後に摘出された子宮の形態的観察に比べ限定されたものである^{1,3,6)}。近年、卵巣機能を的確に反映する血漿中や乳汁中のプロジェステロン濃度が酵素免疫法により簡易に測定できるようになり、臨床的にも応用されるようになった^{2,4,11)}。さらにまた、主に人医領域や小動物の診療に用いられてきた超音

波診断装置が、家畜用探触子の開発により家畜繁殖分野でも早期妊娠診断や卵胞発育動態観察に利用されるようになってきた^{7,8,9)}。

そこで本試験は、卵巣機能を評価する血漿中プロジェステロン濃度の測定と生殖器の断層像を得る超音波断層法を組み合わせることにより、分娩後の乳牛における繁殖機能回復の判定の可能性を検討した。

材料と方法

1) 超音波診断装置による生殖器の映像の各部位を実際と比較するため、まず分娩後100日以上経過した乳牛4頭を供試し、生体内の超音波画像を観察した。超音波診断では、直腸検査と同じ要領で直腸内の宿糞を除去後、超音波探触子を直腸内に挿入し子宮頸管、左右子宮角の中央部、及び卵巣の形状を観察した。超音波断層像の描出には、リニア電子走査式超音波診断装置(SSD-630, アロカ社)を使用し、探触子としては7.5MHzのT型術中用(UST-556T-7.5)を用いた。静止画

1990年6月26日受理

* 本報の一部は、第109回日本獣医学会(1990)で発表した。

** 北海道立根釧農業試験場, 086-11 標津郡中標津町

像において識別される輪郭線の距離計測と輪郭線に囲まれた部分の面積を円、または楕円として計測し、さらに画像や計測値はハードコピー(SSZ-330)と一部をビデオ撮影装置により記録し保存した。生体内の断層像を撮った翌日、4頭を屠殺し摘出した子宮を37°Cの生理的食塩水中に浮遊させ、再び子宮の超音波断層像を観察した。子宮は、その後10%ホルマリン液で固定し、水洗後、子宮頸管と左右子宮角について、横断面の各部位を計測した。断面積は、片面が擦り状になったアセテート用紙(Aquabee Acetate Pad 730)でそれぞれの断面を敷き写し、自動面積計(AAM-4, 林電工)により断面積を求めた。

2) 次に、分娩後の生殖器の修復状況を観察するため、2産から5産の正常分娩した乳牛18頭を供試し、分娩後7日目より原則として週2回直腸検査と採血を行いながら、子宮と卵巣の超音波断層像を得た。血漿中のプロジェステロン濃度は、マイクロプレート固相法EIAキット(オプチェック, デンカ製薬)により平子ら²⁾の方法に準じて測定した。超音波断層法では、分娩後20日目頃までは有効視野幅が64mmで周波数が5MHzのI型術中用探触子を用い、その後は有効視野幅が38mmで周波数が7.5MHzのT型高分解能術中用探触子で観察した。子宮は、前産次の妊娠角と非妊娠角の直径、及び断面積がほぼ等しくなり、骨

盤腔に収まり正常位置に戻った時期を修復完了と判断した。

結 果

1) 生体内における子宮角中央部の超音波断層像はFig.1に示すように、2本の楕円の輪郭線に囲まれた部分として観察された。一方、生理的食塩水中に浮遊した状態の子宮の超音波断層像には、Fig.2に示すように3本の輪郭線が認められた。

Table 1には生体内と摘出子宮の超音波断層像における断面積、さらに摘出子宮角の最外層の横断面、円形の血管層および子宮内膜面の断面積を示した。摘出子宮の超音波断層法による外側輪郭線に沿った面積は、摘出子宮を直接測定した子宮角断面積の値とほぼ一致していた。また、超音波断層法による生体子宮の外側輪郭線と摘出子宮の中間輪郭線に囲まれた部分の断面積は、ホルマリン液で固定した血管層横断面の値にほぼ等しかった。超音波断層法による生体内と摘出子宮の内側の輪郭線の断面積は、ホルマリン液で固定した内膜横断面の値によく一致した。従って、生体内における子宮の超音波断層像による外側輪郭線は、子宮の血管層を表わしており、内側輪郭線は子宮内膜面に相当していることが判明した。

2) 超音波断層像による卵巣所見では、卵胞はエコーの少ない黒い円あるいは楕円形の画像として

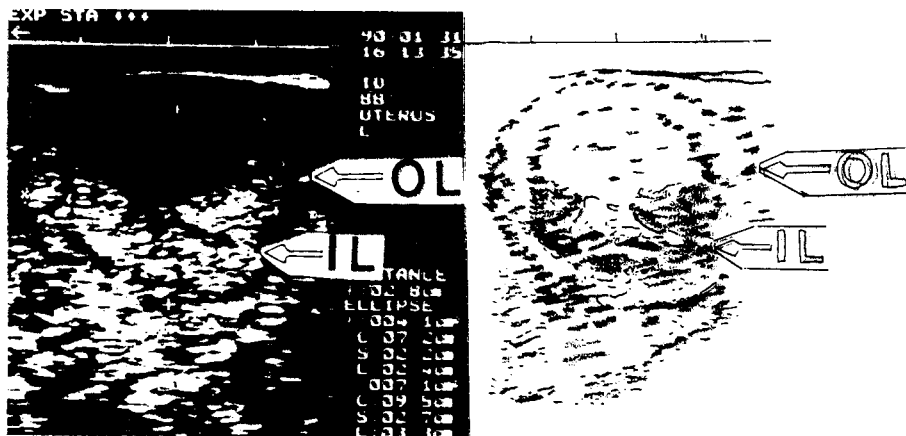


Fig. 1 Ultrasound image of uterine horn in situ. Two elliptical lines are recognized. Arrows indicate as follows, OL : Outer line. IL : Inner line.

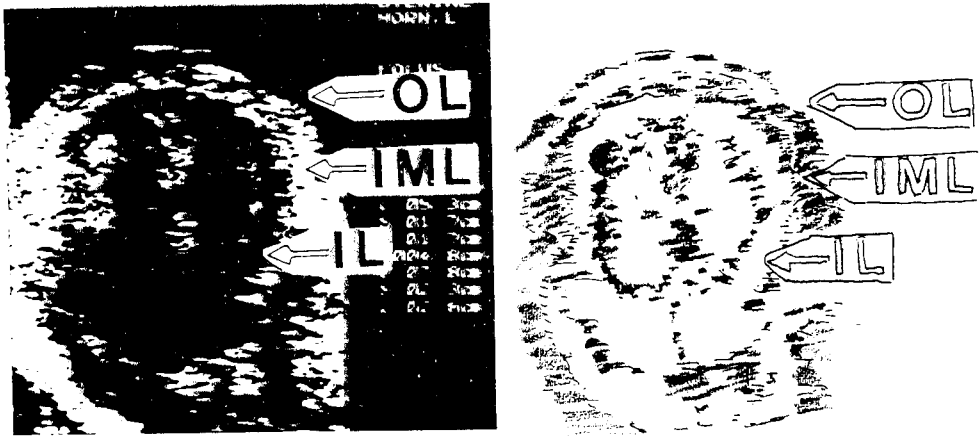


Fig. 2 Ultrasound image of removed uterus which was soaked in the physiological saline. Three elliptical lines are recognized. Arrows indicate as follows, OL : Outer line. IML : Intermediate line. IL : Inner line.

Table. 1 Cross sectional area of cervix and the middle part of the uterine horns measured by ultrasonography in situ, ultrasonography for the removed uterus in the physiological saline, and the removed uterus.

	Cross sectional area of each line (cm ²)		
	Cervix	Left horn	Right horn
Ultrasonography of uterus in situ ¹⁾		mean±S.D.	
Outer line	7.9±1.7	5.8±1.9	5.1±1.1
Inner line	4.6±1.3	3.3±1.0	3.1±0.6
Ultrasonography of removed uterus ²⁾			
Outer line		9.2±0.7	8.2±1.8
Intermediate line	6.7±1.6	5.6±0.9	5.7±0.7
Inner line	3.6±1.2	3.1±0.6	3.1±0.6
Removed uterus			
Outer surface		9.3±0.7	8.5±1.8
Stratum vasculare	7.4±0.7	5.8±2.3	4.9±0.8
Endometrium	2.9±0.8	2.9±0.3	3.1±0.6

Four cows were examined and each cervix and bilateral uterine horns were measured.

1) See Figure 1. 2) See Figure 2.

表現され、直径がおよそ2 mm以上のもものでは数や形態が確認できた。また、黄体はエコーの強いほぼ楕円形の画像として表現され、発育時期の違いによりエコーレベルの低いものから、高く周囲の卵巣実質との境が不明瞭なものまでさまざまであった。分娩後の経日的変化では、7日目には供試した18頭のいずれにも直径が10 mm以上の卵胞像がみられ、うち10頭は左右の卵巣に卵胞が存

在した。これらの卵胞は、15頭では排卵し、2頭では囊腫卵胞となり1頭では退行した。初回排卵までの平均日数は分娩後19.4±4.6日、第2回排卵は41.0±7.6日、第3回排卵は63.4±11.4日で、初回排卵時の排卵角は前産次の妊娠角と反対側が14頭、同側が1頭、左右卵巣での同時排卵が3頭であった(Table 2.)。血漿中プロジェステロン濃度は、初回排卵後11.3±4.9日目に7.1±2.2

ng/ml のピークを示し、第2回排卵後 11.7±3.2 日目に 7.8±2.4 ng/ml のピークを、第3回排卵後 22.0±13.2 日目に 8.3±5.9 ng/ml のピークを示した。

Table 2 Days required from calving to ovulation, first estrus, first service, uterine involution and conception, and peak levels of plasma progesterone after first, second and third ovulations.

	Days postpartum		Progesterone levels
	days	ng/ml	
First ovulation	19.4 ± 4.6	7.1 ± 2.2	
Second ovulation	41.0 ± 7.6	7.8 ± 2.4	
Third ovulation	63.4 ± 11.4	8.3 ± 5.9	
First estrus	31.1 ± 11.8		
First service	62.7 ± 12.8		
Uterine involution	44.1 ± 6.8		
Conception	98.1 ± 39.8		

Mean values ± S. D.

分娩後の経過日数に伴う生体内子宮の超音波断層像では、子宮頸管の外側の輪郭線の直径が分娩後1週目は 6.9±1.5 cm だったが、5週目では 4.1±1.5 cm と縮小した。妊娠子宮角と非妊娠角の直径も分娩後急速に縮小し、6週目でほぼ等しくなった。超音波断層像で得られたこれらの計測値 (Y) と、直腸検査による直径の (X) には、

子宮頸管で $Y_1 = 0.785 + 0.789 X$ ($R^2 = 0.956$),

妊娠角で $Y_2 = 0.623 + 0.816 X$ ($R^2 = 0.982$) の直線回帰式が得られ、高い相関関係が認められた (Fig. 3)。しかし、超音波断層法による子宮角の直径は直腸検査による直径に比べて小さかった。

子宮内膜の断面積は、分娩後7日目に前産次の妊娠角で 25.9±17.2 cm², 非妊娠角で 17.2±4.8 cm² であったが分娩後40日目ではそれぞれ 3.9±1.3 cm², 3.1±0.9 cm² へと収縮し、6週目以降左右子宮角の断面積がほぼ等しくなり子宮修復が完了したものと推察された (Fig. 4)。

超音波断層法により観察された分娩後7週までの妊娠子宮角の直径 (A) 及び妊娠角 (B) と非妊娠角 (C) の内膜断面積の推移は、分娩後の経過週数 (X) を自然対数変換し、3次までの直交多項式に当てはめると以下の式で示された。

$$A = 7.555 + 0.008 \ln X - 3.584 (\ln X)^2 + 1.232 (\ln X)^3 \quad (R^2 = 0.994)$$

$$B = 26.148 - 7.981 \ln X - 12.168 (\ln X)^2 + 5.330 (\ln X)^3 \quad (R^2 = 0.993)$$

$$C = 16.854 - 14.853 \ln X + 4.958 (\ln X)^2 - 0.493 (\ln X)^3 \quad (R^2 = 0.973)$$

妊娠角と非妊娠角の内膜断面積の差をみると分

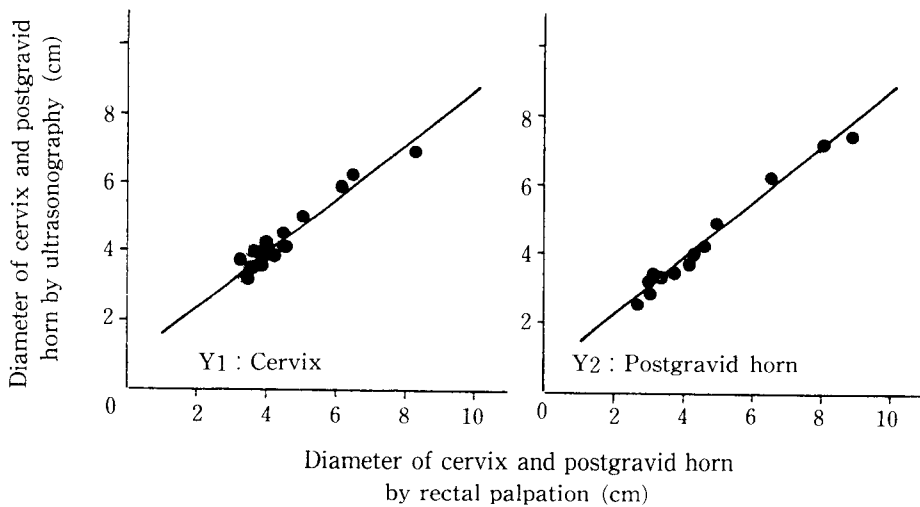


Fig. 3 The relationships between diameters of cervix and postgravid horn measured by rectal palpation and ultrasonography.

$$Y_1 = 0.785 + 0.789 X \quad (R^2 = 0.956) \quad Y_2 = 0.623 + 0.816 X \quad (R^2 = 0.982)$$

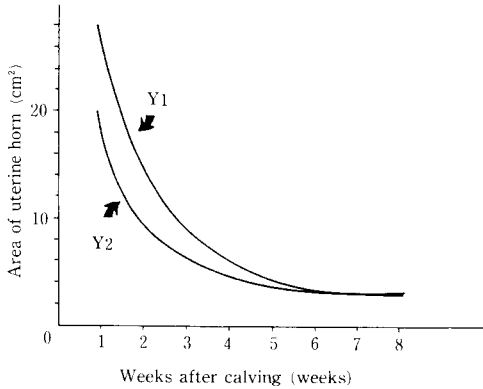


Fig. 4 Involuntary regression curves on areas of uterine horn measured by ultrasonography.

Y1 : Postgravid horn Y2 : Nonpostgravid horn

$$Y1 = 26.148 - 7.981 \ln X - 12.168 (\ln X)^2 + 5.330 (\ln X)^3$$

($R^2 = 0.993$)

$$Y2 = 16.854 - 14.853 \ln X + 4.958 (\ln X)^2 - 0.493 (\ln X)^3$$

($R^2 = 0.973$)

lnx : A number of weeks after calving was transformed into natural logarithms.

娩後 8 cm² 以上あったものが、40 日以降では 1 cm² 以下に収束した。これを初回排卵が 20 日以内にあった 9 頭、20～25 日の 6 頭、25 日以降の 3 頭に分けて検討すると、両子宮角の断面積の差は分娩後 20 日目でそれぞれ 3.3±2.3 cm², 4.1±3.1 cm², 5.4±1.9 cm² で、30 日目では 1.3±1.1 cm², 1.6±1.1 cm², 2.7±1.0 cm² となった (Table 3)。両子宮角の断面積がほぼ等しくなり子宮が修復したと考えられる日数は、それぞれ 42.8±7.1 日、44.7±6.6 日、55.7±10.5 日で初回排卵の早いものほど子宮回復までの日数が短くなった。

考 察

乳牛の繁殖を効率的にするため、分娩後の生殖器の修復と卵巣機能の回復状況を的確に知る必要がある。これを手軽に、しかも乳牛に苦痛を与えず、かつ必要な精度を持って判定する手法が望まれている。超音波断層法は、生体のままでは困難であった性周期における微小卵胞を含めた総卵胞数の把握、排卵までの卵胞発育過程、排卵後の黄体形成状況、極めて早期の妊娠診断、受胎と子宮の関係などを観察することができ⁸⁾、また生体に対し非侵襲性であることから繁殖分野において非常に有効な診断法になるものと考えられている。今回の超音波断層像において、生体内における子宮は、2つの楕円の輪郭線に囲まれたエコーレベルの低い円筒形あるいは楕円形として映像化された。しかし、生理的食塩水中に浮遊させた摘出子宮の超音波断層像では、子宮角全体の輪郭が3つの楕円の線として観察された。これについて Okano and Tomizuka⁶⁾ は、牛における生体内の子宮の超音波断層像で子宮筋層と子宮外膜をそのまま識別することは困難であり、居在家³⁾ も同様の報告をしている。今回の実験でも、生体内で子宮血管層や子宮内膜の横断面は識別されたが、子宮筋層と外膜の識別はできなかった。超音波断層像による子宮角中央部の血管層や子宮内膜の断面積は、生体内と摘出子宮での計測値がよく一致した。子宮頸管においてもほぼ同様であったが、子宮内膜の断面積は生体内の測定値が大きかった。これは、子宮頸管粘膜は輪状ヒダになっており、生体内では探触子を前後にスライドさせ最大面積をとったが、摘出臓器ではヒダが締まった部

Table. 3 Areas differences between postgravid horn and post nongravid horn grouped by the interval from calving to first ovulation.

Group	Ovulation period	Areas differences on Days postpartum			Uterine involution	Progesterone levels
		20day	30day	40day		
First ovulation :	days	...	cm ²	...	days	ng/ml
<20d.	15.4±2.2	3.3±2.3	1.3±1.1	0.8±0.6	42.8±7.1	6.4±2.9
-25d.	22.8±1.2	4.1±3.1	1.6±1.1	0.6±1.0	44.7±6.6	8.0±1.2
>25d.	26.7±0.5	5.4±1.9	2.7±1.0	0.6±0.3	55.7±10.5	9.8±3.7

There were 8 cows in < 20 days group, 6 cows in 21 - 25 days group and 3 cows in > 25 days group. Mean values ± S. D.

A twin pregnant cow was excluded from the statistics.

位もあったためと思われる。

一方、分娩後の子宮修復過程における直腸検査法と超音波断層法による測定値との間には高い相関関係が示されたが ($P < 0.001$)、直腸検査では子宮角全体を計測するのに対し、超音波断層法で得られる画像は子宮血管層の直径のため計測値がやや小さくなった。超音波断層法による分娩後の子宮修復過程の観察で、子宮腔の空洞はエコーの少ない画像として、また悪露は子宮腔内に存在する微細なエコーの多い画像としてとらえられた。分娩後の子宮修復について、Gier and Marion¹⁾は屠畜材料を用いて検討した結果、妊娠子宮角の直径は分娩後1日目には39 cmであったものが、5日目には約1/2に、15日目には約1/4の大きさにまで急激に修復することを報告している。同一個体を直腸検査と超音波断層法により経日的に観察した今回の結果も、類似の修復過程を示したが、妊娠子宮角の直径と断面積は、Okano and Tomizuka⁶⁾の子宮角中央部での計測値より分娩直後でやや大きかった。これは、今回の超音波断層法による計測が、探触子を子宮角上で前後にスライドさせ断面が最大となる位置を映像化したためと思われる。

分娩後の卵巣機能は、初回排卵後血漿中のプロゲステロン濃度が上昇し、次回排卵に向け低下し、その後再び上昇するという正常性周期を繰り返す場合に回復したものと判定した。通常、初回排卵後に形成される黄体は血漿中プロゲステロン濃度が低いなどホルモン産生機能が弱く、また性周期も短い傾向にある⁵⁾。今回の実験でも、初回排卵後の血漿中プロゲステロン濃度のピークは7.1 ng/ml、第2回目の排卵後が7.8 ng/ml、第3回目の排卵後が8.3 ng/mlであり、排卵を重ねるに連れ上昇した。超音波断層像において、黄体は通常排卵3日目頃にエコーの少ない楕円形の画像として捉えられ、しかもこの時期に血漿中のプロゲステロン濃度が上昇した。Pierson and Ginther⁷⁾は、排卵前後の卵巣を5 MHzの術中用探触子で毎日観察し、黄体は平均して排卵後3日目より断層像が現われ、6日目に最大長径を示し、次回排卵の4日前より退行し始めると述べている。エコーの強い黄体組織の内部に数mmから15mm程度のエコーの少ない中心腔を持つ嚢腫様黄体は、排卵後10日目頃までのものに散見され、中

心腔はその後自然に消失することから、Sprecher et al.¹¹⁾も述べているように病的なものではないと思われる。超音波断層像における黄体の形状と、乳汁中プロゲステロン濃度の関係では、黄体の直径が15 mm以上なら乳汁中の濃度が5.0 ng/ml以上になるという報告がある¹⁰⁾。今回、黄体の形状と血漿中プロゲステロン濃度には一定の関係はみられなかったが、今後超音波診断装置に画像解析装置などを組み合わせることにより形態学的な面と内分泌学的な数量化の面での検討が可能と思われる。

今回得られた子宮修復までの日数は、過去の報告^{1,3,6)}とほぼ一致しており、また初回排卵が早いと子宮修復が早くなり分娩後の機能回復における卵巣と子宮の運動性がうかがわれた。

以上の結果、生殖器の修復過程を超音波断層法により、また卵巣機能の回復状況を血漿中プロゲステロン濃度の測定により詳細に観察でき、両者を組み合わせることにより乳牛の分娩後の繁殖機能の回復状況を正確に判定することができた。

謝 辞 本文の校閲を賜った農林水産省畜産試験場繁殖第二研究室百目鬼郁男室長、並びに根釧農試国井輝男場長に深甚なる謝意を表する。

引用文献

- 1) Gier, H. T.; Marion, G. B. "Uterus of the cow after parturition: Involutional changes". *Amer. J. Vet. Res.* **29**, 83-96 (1968).
- 2) Hirako, M.; Kariya, T.; Domeki, I. "Use of microtitre plate enzyme immunoassay kit for direct determination of progesterone in bovine blood plasma". *Jpn. J. Anim. reprod.* **33**, 134-139 (1987). (in Japanese with English summary).
- 3) Izaike, Y.; Suzuki, O.; Shimada, K.; Kosugiyama, M. "Ultrasonographic observation of postpartum uterine involution in beef cows". *Jpn. J. Anim. Prod.* **35**, 54-59 (1989). (in Japanese with English summary).
- 4) Nebel, R.L.; Altomose, D.L.; Munkittrick, T. W.; Sprecher, D. J.; McGilliard, M. L. "Comparisons of eight commercial on-farm milk progesterone tests". *Theriogenology.* **31**, 753-

- 764(1989).
- 5) Noakes, D. E. "The normal genital organs". Fertility & infertility in veterinary practice. Laing, J.A. ; Brinley Morgan, W.J. ; Wagner, W. C. ed. (4th edition). Bailliere Tindall, London, 1988, p. 21-28.
 - 6) Okano, A. ; Tomizuka, T. "Ultrasonic observation of postpartum uterine involution in the cow". Theriogenology. **27**, 369-376(1987).
 - 7) Pierson, R.A. ; Ginther, O. J. "Ultrasonography of the bovine ovary". Theriogenology. **21**, 495-504(1984).
 - 8) Pierson, R.A. ; Kastelic, J.P. ; Ginther, O. J. "Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses". Theriogenology. **29**, 3-20(1988).
 - 9) Reeves, J. J. ; Rantanen, N.W. ; Hauser, M. "Transrectal real-time ultrasound scanning of the cow reproductive tract". Theriogenology. **21**, 485-494(1984).
 - 10) Sprecher, D.J. ; Nebel, R.L. ; Whitman, S.S. "The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transrectal ultrasonography for the determination of bovine luteal status". Theriogenology. **31**, 1165-1172 (1989).
 - 11) Sprecher, D.J. ; Nebel, R.L. ; Whittier, W. D. "Predictive value of palpation per rectum vs milk and serum progesterone levels for the diagnosis of bovine follicular and luteal cysts". Theriogenology. **30**, 701-710(1988).

Postpartum Recovery of Reproductive Functions Confirmed by Plasma Progesterone and Ultrasound Scanner in Cows

Shunichi KAMIMURA, Tsutomu OHGI, Masanobu TAKAHASHI
and Tatsushi TSUKAMOTO

Summary

In order to investigate postpartum recovery of reproductive functions in cows, the validity of plasma progesterone and a linear-array ultrasound scanner with a 7.5 MHz rectal transducer was determined. In the ultrasound images of uterus in situ, two elliptical lines indicated the cross section of endometrium and stratum vasculare. The ultrasonographic values of cross sectional diameter and area of uterine horn agreed well with the values measured for the removed uterus. In ovarian findings, there were follicles with a diameter of at least 10 mm on 7 days postpartum. Average interval from parturition to the first ovulation was 19.4 ± 4.6 days, followed with a peak level of plasma progesterone at 7.1 ± 2.2 ng/ml. Plasma level of progesterone could accurately trace the postpartum recovery of ovarian function. Involutional changes of uterine diameter and cross sectional area were clearly observed by ultrasonography. From calving to uterine involution, it required 44.1 ± 6.8 days. Cows with delayed first ovulation required longer days to complete uterine involution. The result indicated that the combination of plasma progesterone assay and linear-array ultrasonographic observation was judged effective for confirming postpartum recovery of reproductive functions in cows.