

## 【研究紹介】

## 超音波画像診断による牛の子宮修復評価の試み

小山 毅

北海道立総合研究機構 農業研究本部 根釧農業試験場 (〒086-1135 標津郡中標津町旭ヶ丘7番地)

近年の乳牛における受胎率の低下は世界的な傾向であり、酪農経営上大きな問題になっている。繁殖成績低下の要因として卵巣疾患と同様に問題視されているのが子宮疾患である。子宮疾患は受胎率の低下、初回授精の遅延、分娩間隔の延長(表1)、廃用牛の増加に関与しているとされる。

牛の分娩直後の子宮は著しく大きく、大量の悪露がたまっている。しかし、子宮に病態がなければ、修復は急速に進む。一般的に悪露の排出は分娩後20日、子宮角の幅が3~4cm以内に収縮するのは分娩後30日、そして子

宮頸の幅が5cm以下に収縮するのは分娩後40日までといわれている。また牛では分娩直後の子宮からさまざまな細菌が検出されるが、子宮の収縮に伴って悪露と一緒に体外へ排出される。しかし分娩後50日では20%前後の子宮から細菌が検出され<sup>[2]</sup>(図1)、子宮の修復がスムーズに進行しなければ、子宮内膜炎を発症するとされている。

子宮修復遅延または子宮内膜炎を早期に発見するため、分娩後に定期的な子宮状態のモニターを行うことが重要になる。子宮の状態を評価する一般臨床検査としては、腔検査、直腸検査、子宮頸管粘液性状(粘液)検査、診断的子宮洗浄、細菌検査、子宮内膜組織検査、超音波検査などがある。これらの検査には長所と短所がある。腔検査、粘液検査、直腸検査は簡易であるが、さまざまな病態を区別することができない。一方、診断的子宮洗浄、細菌検査や組織検査は手法がやや煩雑で、かつ速やかに診断できない。

最近、産業動物の臨床分野では携帯可能な超音波画像診断装置(エコー)が普及している。この機器は現場で非侵襲的に実施することができ、客観的なデータを共有しやすい(図2)。

現在、牛の分娩後の子宮修復を客観的に評価する統一的なガイドラインは存在しない。そこで、我々の研究グ

表1 子宮内膜炎が乳牛の繁殖成績に与える影響

	子宮内膜炎牛* (n=21)	正常牛 (n=168)
初回授精日(日)	77.7	79.6
初回授精受胎率(%)	14.2 <sup>a</sup>	32.1 <sup>b</sup>
受胎に要したAI回数(回)	2.9 <sup>a</sup>	2.3 <sup>b</sup>
空胎日数(回)	147 <sup>a</sup>	122 <sup>b</sup>

異文字間に有意差あり(P<0.05)

\*子宮内膜炎:分娩後28~41に好中球%が8%を超えた場合 Barlundら(2008)<sup>[1]</sup>

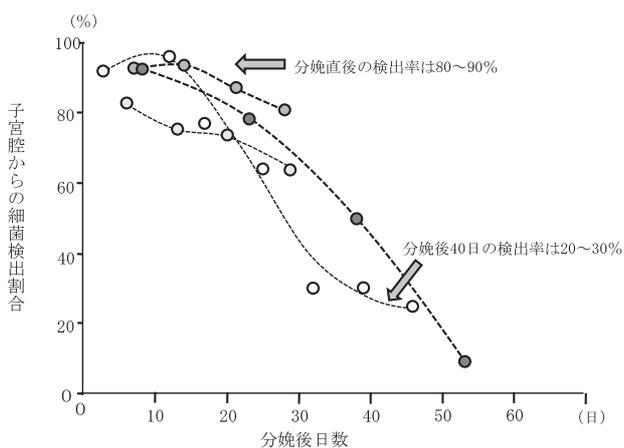


図1 牛の分娩後の子宮腔からの細菌検出率

Elliottら(1968)<sup>[3]</sup>、Griffinら(1974)<sup>[4]</sup>、Sheldonら(2002)<sup>[5]</sup>、Williamら(2005)<sup>[6]</sup>一部改変

\*図上のプロットは各論文で報告のあった分娩後の子宮腔からの細菌検出率



図2 超音波画像診断装置で撮影した牛の子宮の断層像

⇒子宮腔の貯留物

子宮の断層像は背側から撮影した

連絡責任者: 小山 毅 (北海道立総合研究機構根釧農業試験場)

TEL: 0153-72-2042 FAX: 0153-73-5329 E-mail: koyama-takeshi@hro.or.jp

ループでは2009年から3年間、乳牛の分娩後の子宮を定期的にエコー等で検査することにより、その修復程度の評価と子宮内膜炎の診断に用いる判定基準の作成に取り組んでいるので、現在までの成果の概要を紹介する。

### 試験方法

試験には、根釧農業試験場で飼養しているホルスタイン種経産牛70頭（初産31頭、経産39頭）を供試した。これら供試牛にはグラスサイレージ主体のTMR飼料が給与され、年間の平均泌乳量は約8,500kgであった。供試牛は分娩後50日から人工授精を開始した。人工授精を行うための発情観察は4回/日、30分/回実施され、補助的にテールペイント、歩数計などを使用した。

エコー検査と膣検査は分娩後10日から初回授精開始まで10日間隔で行った。子宮内膜細胞（エンドサイト）検査は分娩後30、40および50日に実施した（図3）。なお、分娩後50日目までは食欲不振を伴う産褥性子宮炎以外は子宮に対する治療を行わなかった。周産期の異常（乳房炎を含む）には適切な治療を行い、卵巣疾患は分娩後50

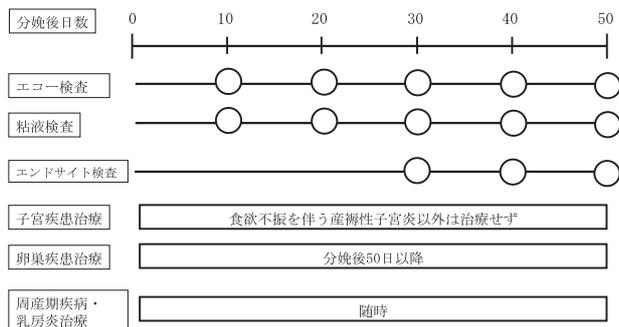


図3 牛の分娩後の子宮修復を評価する各種検査と治療のプロトコール

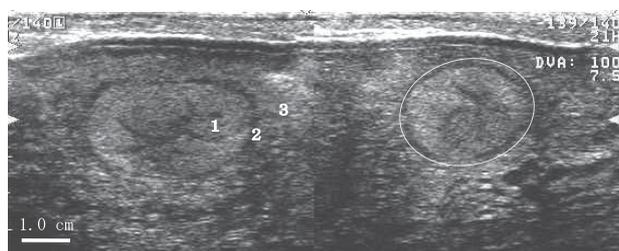


図4 牛の左右子宮角幅および子宮内膜横断面積の計測方法

- 1：子宮内膜
- 2：内膜最外側の子宮腺と輪筋層最内側の血管が合わさった像<sup>[7]</sup>
- 3：子宮筋層

注1 子宮角幅は子宮帆付近を横断計測した。  
 注2 右図の点線サークルは左図の2に該当し、その内側を計測した。  
 子宮の断層像は背側から撮影した

日以降にホルモン製剤投与を行った。

### 1. 子宮

- (1) エコー検査
  - 1) 左右子宮角幅および横断面積（図4）
  - 2) 子宮内膜の腫脹の有無（図5）
  - 3) 子宮腔貯留物の有無（図6）
- (2) 粘液検査
- (3) エンドサイト検査

### 2. 卵巣

- (1) エコー検査
  - 両卵巣構造物の有無および大きさ
- (2) 血中プロゲステロン（P<sub>4</sub>）濃度の測定（2回/週）

### 3. 繁殖成績調査

- (1) 分娩後、初回発情発現までの日数
- (2) 初回排卵までの日数
- (3) 初回授精までの日数
- (4) 初回授精受胎率
- (5) 受胎に要した人工授精（AI）回数
- (6) 分娩から受胎までの日数（空胎日数）

### 4. 統計処理

平均値間の差の検定はt検定を行った。初回授精受胎率の検定はカイ二乗検定を行った。有意水準はP<0.05とした。

子宮内膜スコア	
スコア0	スコア1
腫脹なし ヒダとヒダが密着 ヒダは先鋭	腫脹あり ヒダの間に隙間あり ヒダ先端は鈍
判定基準	

図5 牛の子宮内膜の腫脹スコアとその模式図

子宮腔の貯留物スコア			
スコア0	スコア1	スコア2	スコア3
エコージェニックラインなし	小エコージェニック	強エコージェニックライン	吹雪状貯留物が多量に存在
判定基準			

図6 牛の分娩後の子宮腔の貯留物スコアとその模式図

## 子宮修復過程の評価方法

分娩後の子宮には多量の悪露が存在し、回復に伴って貯留物は消失する。その過程で内膜炎を発症すると修復のための組織変性がおこる。また肥大していた子宮は妊娠以前の大きさに戻る。そこで、分娩後の子宮修復の評価を下記のように区分して行った。

### 1. 子宮角幅と横断面積の計測

子宮帆付近の両子宮角幅とリング状の低輝度エコー像内側の横断面積を計測した。

### 2. 子宮内膜の腫脹スコア

子宮角背側および腹側の超音波断層像を観察し、内膜の形状を以下のとおり区分した。

0：腫脹なし 1：腫脹あり

### 3. 子宮腔の貯留物スコア

子宮角背側および腹側の超音波断層像を観察し、腔内の貯留物を以下のように区分した。

0：エコージェニックラインなしまたは小エコージェニックラインが散見される。

1：強い連続したエコージェニックライン

2：多量の吹雪状貯留物

なお、発情期にみられる以下の子宮断層像所見とは区分する必要がある。発情期には①内膜の動脈から遊出する血液成分（血漿）により子宮内膜は浮腫様の状態を呈する、②子宮腔に存在する粘液のエコーフリー領域が映像化される。いっぽう、修復期の子宮内膜には①子宮内膜の腫脹、②子宮腔の吹雪状、あるいは高輝度エコーラインが映像化される。

### 4. 粘液スコア

腔検査によって、腔内の貯留物を以下のように区分した。スコア3までは Williams ら<sup>[6]</sup>の方法を用いた。

0：膿なし、透明またはすりガラス状粘液、1：わずかに膿片混入、2：1より多く膿が混ざるが粘液の50%以下、3：膿が粘液の50%以上、4：腐敗臭または膿臭の粘液

### 5. エンドサイト検査

子宮内膜細胞は婦人科用サイトブラシを用いて頸管経由で子宮腔から採取した。検体はスライドガラス上に塗抹し、メタノールで固定後ライトおよびギムザ染色を行った。顕微鏡下（10×40）の子宮内膜細胞と混在する多形核白血球（PMN）を合計500個カウントし、細胞数から PMN 割合を算出した（図7）。

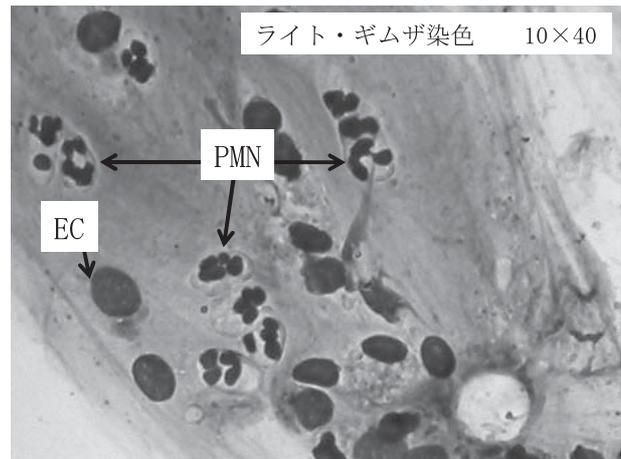


図7 牛の子宮内膜細胞と混在する多形核白血球  
子宮腔からの検体は婦人科用サイトブラシを用いて採取した  
EC：子宮粘膜上皮細胞  
PMN：多形核白血球

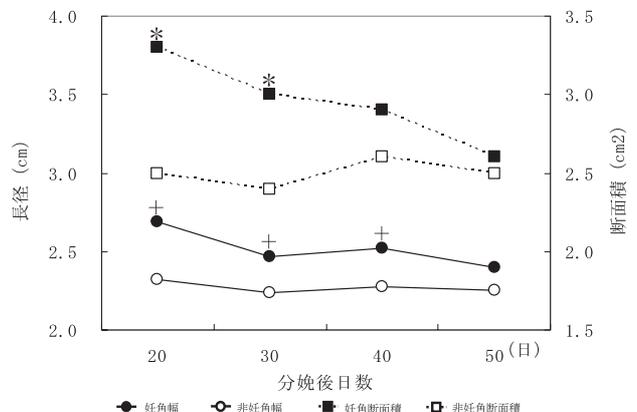


図8 牛の分娩後の子宮角幅と横断面積の変化  
\*：非妊角断面積と有意差あり ( $p < 0.05$ )  
+：非妊角長径と有意差あり ( $p < 0.05$ )

## 各検査項目の推移

### 1. 子宮角幅と子宮角横断面積

分娩後40日までは妊角幅と非妊角幅の間に有意差が認められた（図8、 $P < 0.05$ ）。また、分娩後30日までの妊角と非妊角の横断面積の間にも有意差が認められた（ $P < 0.05$ ）。

### 2. 子宮内膜の腫脹スコア

分娩後10日はすべてのスコアが1であった。分娩後20日もスコア1の割合は約70%であったが、分娩後30日には急速な減少を示し、分娩後50日に約15%まで減少した（図9）。

### 3. 子宮腔の貯留物スコア

分娩後10日では、大半がスコア2であった。分娩後20日はスコア2および1の割合が急速に減少し、分娩後50日に約20%になった（図10）。

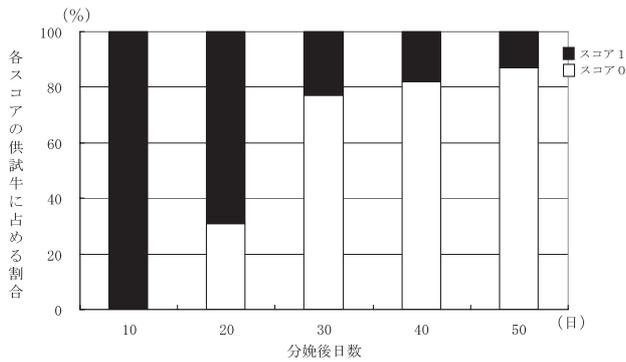


図9 牛の分娩後の子宮内膜の腫脹スコアの変化

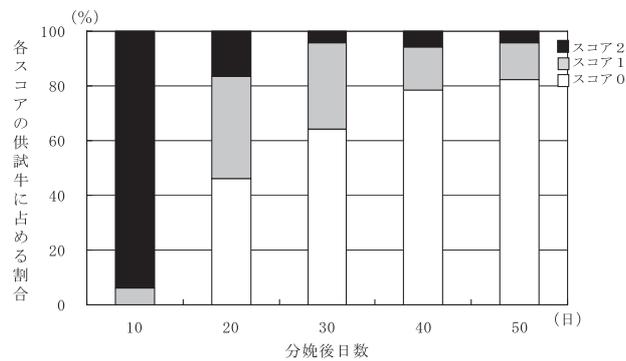


図10 牛の分娩後の子宮腔の貯留物スコアの変化

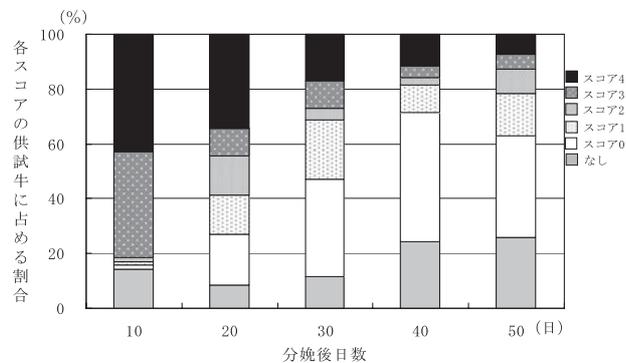


図11 牛の分娩後の粘液スコアの変化

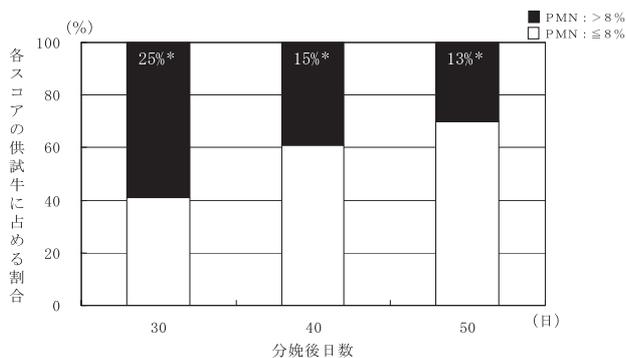


図12 牛の分娩後の子宮腔多形核白血球割合の変化  
PMN：多形核白血球 \*：各検査日の平均PMN出現率

#### 4. 粘液スコア

分娩後10日では子宮頸管粘液の約80%に膿の混在が認められた。頸管粘液の清浄化は子宮内膜の腫脹スコアおよび子宮腔の貯留物スコアの減少と比べ、遅れる傾向があった(図11)。

#### 5. 子宮腔 PMN 割合

分娩後30日では、約60%の牛でPMN割合が8%を超えていたが、分娩後50日には約30%まで減少した(図12)。

以上の結果から、子宮内膜の修復、子宮腔貯留物の排泄は分娩後30日前後にはほぼ終了し、また子宮頸管粘液の清浄化および子宮角の収縮も分娩後40日前後で終了することから、分娩後40日頃には多くの牛で子宮回復が完了すると考えられた。

### 検査結果をどう判断するか

牛では分娩後40~50日までが子宮修復期間であるため、その間の各期によって検査項目の結果が持つ意味合いは違うと思われる。例えば、分娩後20日前後の子宮腔には貯留物が存在し、子宮頸管粘液に膿が混入することは当然であり、これらの事象はその後の繁殖成績に影響しないかもしれない。しかし、子宮修復が完了したと判断される分娩後40日、あるいは50日以降にそのような状態が認められると、繁殖成績に影響することは必定である。また Barlund ら<sup>[1]</sup>は PMN 出現度が8%を超えると繁殖成績に影響があると報告している。

そこで本研究では、分娩後30、40および50日における各検査項目の結果とその後の繁殖成績との関連を検討した。検査項目のうち、子宮内膜の腫脹スコアは0と1、子宮腔の貯留物スコアは0と1以上そして粘液スコアは0と1以上で区分し、各々の初回授精受胎率と空胎日数を比較した。

#### 1. 子宮内膜の腫脹スコア

分娩後のどの時期においても子宮内膜の腫脹スコア1では繁殖成績が低下した(表2、図13、図14)。

#### 2. 子宮腔の貯留物スコア

分娩後30日の子宮腔の貯留物スコア対比では相違を認めなかったが、分娩後40日および50日ではスコア1以上の牛の繁殖成績が低下した(表3、図13、図14)。

#### 3. 粘液スコア

分娩後30日では粘液スコア1以上の牛の繁殖成績は低下したが、それ以外の時期では繁殖成績に影響は認められなかった(表4)。

以上の結果から、分娩後30日は子宮内膜の腫脹スコアと粘液スコア、それ以降は子宮内膜の腫脹スコア、ある

表2 乳牛の分娩後の各検査日の子宮内膜の腫脹スコアが初回授精受胎率および空胎日数に及ぼす影響

分娩後の検査日	初回授精受胎率 (%)		空胎日数 (日)	
	子宮内膜スコア		子宮内膜スコア	
	0	1	0	1
30日	43 <sup>a</sup>	14 <sup>b</sup>	98	112
40日	42 <sup>a</sup>	11 <sup>b</sup>	99	116
50日	39 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	99	130

スコア0：腫脹なし  
 スコア1：腫脹あり  
 \* 異文字間に有意差あり (p<0.05)

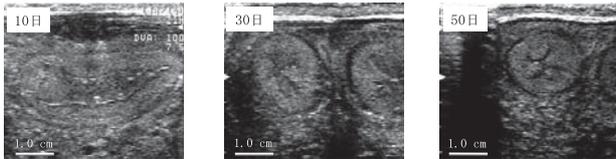


図13 乳牛の分娩後の子宮正常修復の超音波画像

10日：内膜腫脹スコア1、貯留物スコア2  
 30日：内膜腫脹スコア0、貯留物スコア0  
 50日：内膜腫脹スコア0、貯留物スコア0  
 子宮の断層像は背側から撮影した

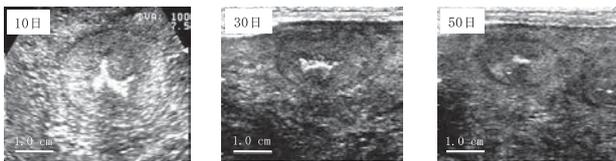


図14 乳牛の分娩後の子宮修復遅延の超音波画像

10日：内膜腫脹スコア1、貯留物スコア1  
 30日：内膜腫脹スコア1、貯留物スコア1  
 50日：内膜腫脹スコア0、貯留物スコア1  
 子宮の断層像は背側から撮影した

表3 乳牛の分娩後の各検査日の子宮腔の貯留物スコアが初回授精受胎率および空胎日数に及ぼす影響

分娩後の検査日	初回授精受胎率 (%)		空胎日数 (日)	
	貯留物スコア		貯留物スコア	
	0	1以上	0	1以上
30日	38	28	96	112
40日	36	27	94 <sup>a</sup>	129 <sup>b</sup>
50日	39 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	97 <sup>a</sup>	128 <sup>b</sup>

スコア0：エコージェニックラインなし、細かいラインが散見  
 スコア1：強いエコージェニックライン  
 スコア2：多量の吹雪状貯留物  
 \* 異文字間に有意差あり (p<0.05)

いは子宮腔の貯留物スコアを注視する必要がある。

子宮の治療はいつ判断すべきか

牛の分娩後の子宮修復が完了する時期は周産期の異常、免疫能、栄養摂取などにより異なる。子宮の修復遅延と判断される牛には速やかな治療を行いたい、早すぎる治療には不要なものまで含まれるかもしれない。そこで、分娩後加療しなくても授精開始前には修復が完了している牛、逆に授精開始日(本研究では分娩後50日)に至っ

表4 乳牛の分娩後の各検査日の粘液スコアが初回授精受胎率および空胎日数に及ぼす影響

分娩後の検査日	初回授精受胎率 (%)		空胎日数 (日)	
	粘液スコア		粘液スコア	
	0 or なし	1以上	0 or なし	1以上
30日	36	32	88 <sup>a</sup>	112 <sup>b</sup>
40日	34	35	99	108
50日	36	31	98	108

スコア0：透明またはすりガラス状粘液、膿なし  
 スコア1以上：粘液中に膿混入、わずかに膿片(1)、粘液の50%以下を膿が占める(2)、50%以上が膿、あるいは血様悪露(3)、腐敗臭または膿臭あり(4)  
 \* 異文字間に有意差あり (p<0.05)

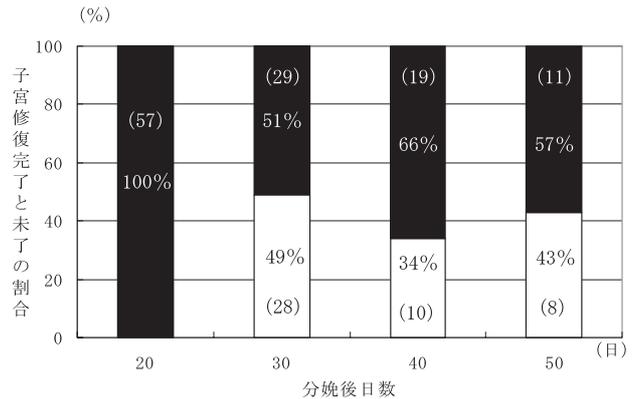


図15 乳牛の分娩後における子宮修復完了と未了判定の変化

分娩後50日までに11頭/57頭(19%)は子宮修復が完了しなかった。( ) 頭数

ても修復が完了せず、治療を要する牛はどの程度存在するかを解明する必要がある。

今回、供試した70頭のうち、分娩後20日に子宮内膜の腫脹スコアが1、または子宮腔の貯留物スコアが1以上の57頭について調査した。分娩後30、40および50日の子宮内膜の腫脹スコア0と子宮腔の貯留物スコア0を修復完了と判定し、どちらかのスコアが1以上であれば修復未了とした。そして、前回の検査日では修復未了であったが、次の検査日にどの程度修復が完了するか、また分娩後50日の修復未了割合を調べた。

その結果、分娩後30日では51% (29/57頭) が修復未了であった。分娩後40日では、前回修復未了と判定された29頭のうち、66% (19/29頭) が依然修復未了であった。分娩後50日では、前回修復未了であった19頭のうち、57% (11/19頭) が修復未了と判定された。分娩後50日までに19% (11/57頭) の牛で子宮が修復していなかった(図15)。

以上の結果より、分娩後20日、30日および40日ではそれぞれ約80%、約60%、約40%の牛で治療が不要であると考えられた。したがって、乳牛の分娩後の無駄な子宮

内膜炎の治療を少しでも減らすには、分娩後40日までは修復経過を慎重に見守ることが妥当と考えられる。

## ま と め

今回、我々の研究グループは乳牛の分娩後の子宮を定期的にエコーによる検査を行いながら、その修復程度の評価と子宮内膜炎の判定基準について検討した。

その結果、以下の判定基準が得られた。

1. 子宮内膜の修復、子宮腔貯留物の排泄は分娩後30日前後にはほぼ終了する。また子宮頸管粘液の清浄化および子宮角の収縮も分娩後40日前後で終了することから、分娩後40日頃には多くの牛で子宮修復が完了する。
2. 分娩後30日には子宮内膜の腫脹スコアと粘液スコア、それ以降は子宮内膜の腫脹スコア、あるいは子宮腔の貯留物スコアに注視する必要がある。
3. 子宮に対する治療は食欲不振を伴う産褥性子宮炎を除き、分娩後40日程度までは推移を見守るべきである。

牛の子宮腔の観察には軟性内視鏡を用いなければならず、未だルーチン化していない。エコーによる検査では子宮の断層像は得られるが、組織の病態はよく分からない。この問題を解決するため今後もエコー検査と各種病理検査を平行して行い、両者の結果の関連を精査し、より信頼度が高い画像診断のガイドラインを作成していく予定である。なお本研究の最終的な成果は平成23年度北海道農業試験会議（成績会議）に提出する予定である（平成24年1月開催）。

## 引用文献

- [1] Barlund CS, Carruthers TD, Waldner CL, Palmer CW. : A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* 69 : 714-723 (2008)
- [2] Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Shuberth HJ. : Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol Reprod.* 81 : 1025-1032 (2009)
- [3] Elliott L, McMahon KJ, Marion GB. Uterus of the cow after parturition : bacterial content. *Am J Vet Res.* 29 (1) : 77-81 (1968)
- [4] Griffin JF, Hartigan PJ, Numm WR. Non-specific uterine infection and bovine fertility. I. Infection patterns and endometritis during the first seven weeks post-partum. *Theriogenology* 1 (3) : 91-106 (1974)
- [5] Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Pfeiffer DU, Dobson H. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction* 123 : 837-845 (2002)
- [6] Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GC, Noakes DE, Dobson H, Sheldon IM. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology* 63 : 102-117 (2005)
- [7] 遠藤裕之、太田恭輔、澤向 豊. 牛子宮角の超音波横断画像と組織構造の比較. *JVM* 53 (2) : 111-115 (2000)

[1] Barlund CS, Carruthers TD, Waldner CL, Palmer