

牛卵胞液の生化学的並びに
生物学的性状に関する研究

和 国 恭 則

牛卵胞液の生化学的並びに
生物学的性状に関する研究

和田恭則

目 次

第 I 章 緒 言

第 II 章 研究材料及方法

1. 研究材料

2. 研究方法

第 III 章 研究成績

1. 卵胞液諸性状について

— 特に血清との比較並びに

検査項目間の相互の関連性について —

1) 肉眼的性状

2) 蛋白質濃度

3) 蛋白分画

4) 免疫電気泳動的解析

5) 尿素態窒素濃度

6) 酸性ムコ多糖体の種類及び濃度

7) Na 濃度

8) K 濃度

9) Mg 濃度

10) K / Na

11) 考察及び小括

2. 卵胞の大きさと卵胞液諸性状について

- 1) 肉眼的性状
- 2) 蛋白質濃度
- 3) 蛋白分画
- 4) 免疫電気泳動的解析
- 5) 尿素態窒素濃度
- 6) 酸性ムコ多糖体濃度
- 7) Na 濃度
- 8) K 濃度
- 9) Mg 濃度
- 10) K / Na
- 11) 考察及び小括

3. 卵胞壁について

- 1) 顆粒膜細胞層
- 2) 内莢膜層
- 3) 外莢膜層
- 4) 考察及び小括

4. 卵胞囊腫牛について

A. 卵胞液諸性状について

— 特に血清との比較 —

- 1) 蛋白質濃度
- 2) 蛋白分画
- 3) 尿素態窒素濃度
- 4) Na濃度
- 5) K濃度
- 6) Mg濃度
- 7) K / Na

B. 子宮頤管粘液性状と卵胞液諸性状について

- 1) 子宮頤管粘液PHと卵胞液諸性状について
- 2) 子宮頤管粘液結晶像と卵胞液諸性状について

C. 考察及び小括

5. in vitro における牛卵胞液の精子運動性に及ぼす影響について

A. 研究材料

B. 研究方法

C. 研究成績

- 1) 精子生存率と生存時間に及ぼす影

響 につ い て

2) 精子活力に及ぼす影響についで

3) 精子凝集性に及ぼす影響についで

4) 精子運動性と卵胞液諸性状についで

て

D. 考察及び小括

6. 牛血清中抗体の卵胞液内移行についで

A. 研究材料

B. 研究方法

C. 研究成績

D. 考察及び小括

7. 牛卵胞液のラット性周期, 妊娠などに

及ぼす影響についで

A. 研究材料

B. 研究方法

C. 研究成績

1) ラット性周期に及ぼす影響についで

て

2) ラット妊娠期間, 分娩状態, 産仔数, 哺乳状態に及ぼす影響についで

D. 考察及ハ小括

第Ⅳ章 考察及ハ総括

第Ⅴ章 結論

謝辭

参考文献

第 I 章 緒 言

近年繁殖生理学領域における研究はめざましく重要な諸現象が次々に解明され、卵巣が雌性機能の中心として重要な意義を持つことは疑う余地がなく、従ってこれに関する種々なる研究が次々に報告されている。

卵巣は下垂体前葉から分泌される性腺刺激ホルモンによってその發育及び機能が支配され、卵巣では卵胞の發育、成熟、排卵、黄体形成などの形態的变化とステロイドホルモンの生成の機能的変化が反覆して行なわれ、卵巣のホルモン生成に関する研究は、ラジオアイソトープの導入以来非常に進歩し、より詳しく解明されてきているが、卵巣の形態学的変化に関しては複雑にして、いまだに問題の残されているのが現状である。

卵胞が發育し排卵をする場合に、卵胞の組織及び卵胞液の変化を伴うものであり、これらの変化は当然複雑な生化学的現象、つまり物質代謝との関係のもとに進行していると考

えられる。そして生体内では排卵された卵は卵胞液とともに卵管に入り、受精は卵管膨大部で行われるということと、卵胞液や卵管分泌液などが受精に有利な環境を提供することが考えられる。

牛については卵胞の発育に伴い内莢膜層に毛細血管の分布が多くなること及び卵胞液の組成が血清成分に類似していること〔10, 52, 82, 84〕などから、血液に由来する滲出液の増量が卵胞の発育に関係するとし、また排卵の直前には卵胞膜の圧潰による内莢膜細胞の著明な鈍鋸歯状の変化が認められること〔133〕から、卵胞膜の変性が直接排卵に関係するものであらうと考えられていた。

その後、家兎による実験で、エバンズブルー液を静脈内注射した後の卵胞液中に出現する色素の検査から、排卵まぢかには血液—卵胞液の隔壁における透過性の増すこと〔147〕が明らかにされている。ついで卵胞の発育に伴い卵胞液の滲透圧が高くなること〔120, 148〕

〕が証明され、透過性及び滲透圧の変化が排卵に関係する可能性を推定し、これにあずかる物質がヒアルロン酸を主とする酸性ムコ多糖体であること〔38, 78, 119, 120, 148, 149〕が報告されている。

また各種酵素に関する研究の進歩に伴い、卵巣における各種酵素の存在が示唆され、卵胞の発育、排卵にそれらが関与していること〔66, 118, 120, 123, 129, 149〕が報告されている。

さらに授精後、精子は卵管に達し、排卵と同時に卵管内に流入する卵胞液と必然的に接触する運命にある以上、卵胞液の精子に対する影響は当然考慮しなければならない問題と考えられる。

これらの点に関して、種々な動物で研究され、卵胞液が精子の運動速度を増し、運動持続時間を延長させること〔6, 36, 47, 59, 93, 99〕、精子の糖代謝、酸素消費を促進させること〔26, 46, 52, 83, 99〕、精子受精

能獲得に有効なこと〔15, 35, 97〕など、卵胞液が従来考えられていた以上に受精に大きな役割を占めていることが考えられる。

今回、著者は以上のような卵胞液の意義に興味を持ち、卵胞液の性状、卵胞液の生成について、卵胞の発育に伴う卵胞壁、卵胞液の変化、卵胞液の精子に及ぼす影響、卵胞液の雌ラットの繁殖生理に及ぼす影響などを目的として研究を行った。

第Ⅱ章 研究材料及び方法

1. 研究材料

本研究に供した動物は、ホルスタイン種の経産牛である。卵胞液は、横浜市食品衛生検査所で屠殺後ただちに卵巢を切除し、卵胞から注射器を用いて採取した。ついで卵巢は10%緩衝ホルマリン溶液にて固定した。血液は屠殺時の放血液を使用した。

また野外材料(卵胞嚢腫牛)は、群馬県勢多郡新里村の一般酪農家で飼養されているホルスタイン種の経産牛で、卵胞液は、卵巢実質内注射器を腔壁を通して卵胞内に穿刺し、吸引して採取した。血液は、同時に頚静脈より採血し研究に供した。

採取した材料は速やかに実験に供し、やむをえず保存する場合は、4℃の冷蔵庫内に保存した。

なお精液及びその他の研究材料については、それぞれの項で述べる。

2. 研究方法

検査項目は卵胞の大きさ（直径），卵胞液の肉眼的性状（色調，透明度），蛋白質濃度（以下 T. P. と略す），蛋白分画，免疫電気泳動的解析，尿素態窒素濃度（以下 B. U. N. と略す），酸性ムコ多糖体濃度（以下 A. M. P. と略す）及び酸性ムコ多糖体の種類とその濃度，Na, K, Mg イオン濃度，卵胞壁の組織像である．血液については，血清中の T. P., 蛋白分画，免疫電気泳動的解析，B. U. N., A. M. P., Na, K, Mg イオン濃度などを測定した．さらに野外材料（卵胞囊腫牛）では，子宮頰管粘液 PH, 結晶像もあわせて観察した．

検査方法

T. P. : エルマ屈折蛋白計（エルマ光学製）

蛋白分画：セルローズ・アセテート膜電気泳動法（以下セ・アセテート膜法と略す），デイスク電気泳動法（以下デイスク法と略す）．

セ・アセテート膜法は電気泳動学会により制定された標準操作法によった。

ディスク法は永井〔73〕の報告に従い、富士理研のディスク電気泳動装置を使用した。

免疫電気泳動的解析：卵胞液中の蛋白質を詳しく観察するために、血清及び卵胞液の抗血清を作製し、寒天免疫電気泳動を行った。

a) 抗血清の作製法〔58, 71, 75, 77, 121, 130〕

イ) 抗牛血清家兔免疫血清

体重 3.0 ~ 4.0 Kg の家兔 4 羽を用い、家兔 1 羽当り、血清 0.5 ml を滅菌生理食塩液 0.5 ml で稀釈し、その 0.5 ml を Freund の完全補助物質 (Difco) の等量と混合してクリーム状にした抗原を第 1 回免疫として家兔臍内数个所に分割注射した。第 2 回免疫として 14 日後に同量抗原を皮下数个所に分割注射した。第 2 回免疫 7 日後に試験採血を行い十分な抗体量が産生されているものについてブースター注射をし、その 5 日後に全採血を実施し、血

清を分離した。

ロ) 抗牛卵胞液家兔免疫血清

抗牛血清家兔免疫血清の作製法に準じ、抗原として用いた卵胞液は、卵胞の大きさを直径 8.0 mm 以下, $8.1 \sim 13.0\text{ mm}$, $13.1 \sim 18.0\text{ mm}$, 18.1 mm 以上に4区分し、各区分それぞれプールしたものである。各区分の卵胞液の免疫は家兔を2羽ずつ用いた。

ハ) 牛血清 $\gamma\text{M-globulin}$ (以下 IgM と略す), $\alpha_2\text{-macroglobulin}$ (以下 $\alpha_2\text{M}$ と略す) の精製 [3, 7, 14, 20, 70, 71, 92] と抗血清の作製法

① 50%飽和硫酸法により血清の塩析を行う

② 塩析後、沈澱物を食塩加磷酸緩衝液に溶解し、食塩加磷酸緩衝液に対して十分透析後、 $0.1\text{ M Tris-HCl saline}$ 緩衝液 (0.2 M の割合で NaCl を加えた, $\text{PH } 8.2$) を用い透析を行う。

③ 透析後、Sephadex G-200で、 0.1 M Tris

— HCl saline 緩衝液を用いゲルろ過を行い、Folin 法〔51, 125〕により蛋白質濃度を測定する。

④ ゲルろ過により得られた第1峰を、ベロナール緩衝液を用い透析を行う。

⑤ 透析後、Pevikon を用いた分離電気泳動〔68, 74, 108〕を行う。

⑥ Pevikon ブロックを 1.0 cm ずつ切り取り、それぞれのブロックより生理食塩液を用い蛋白質を抽出し、Folin 法により蛋白質濃度を測定すると2峰が観察される。

⑦ それぞれを回収して、0.1 M Tris - HCl saline 緩衝液で透析をし、再び Sephadex G-200 でゲルろ過を行い精製する。

⑧ それぞれをコロジオンバックで濃縮し、IgM, λ 2M であることを確認の上、抗血清作製のための抗原とした。

⑨ それぞれの抗血清作製法は抗牛血清家兔免疫血清の作製法に準いた。

h) 寒天免疫電気泳動法

寒天免疫電気泳動法は、GRABAR & WILLIAMS 法〔22〕を原法とする松橋、臼井の方法〔56, 57, 130〕によった。

B. U. N. : ユニグラフ法 (米国ワーナーチルコット製)

A. M. P. 及び酸性ムコ多糖体の種類とその濃度 : A. M. P. は総ウロン酸として、カルバゾール反応〔127〕をもって定量した。なお、酸性ムコ多糖体の種類は電気泳動法〔24, 44, 55, 102, 122〕を用いて定性し、各分画は自動記録濃度計にて算出した。

a) ウロン酸の定量

イ) 前処理

① 被検卵胞液, 血清 1.0 ml 及び盲検として蒸留水 1.0 ml を小試験管にそれぞれ取り, 100°C, 30 分間煮沸後水冷する。

② ついでプロナーゼ 1.0 ~ 2.0 mg (被検液中蛋白質量の約 $\frac{1}{50}$) を加えて混和し, 55°C, 2 時間放置する。

③ 1 N 水酸化ナトリウム溶液を毛細ピペッ

トにて数滴滴下し混和, pH 8.0 にする. その後トルエンを重層し, ガラス玉でふたをし, 55°C にて一昼夜放置する.

④ 10 N 水酸化ナトリウム溶液を毛細ピペットにて1滴滴下し混和後, 37°C にて3時間放置する.

⑤ 50 % トリクロル酢酸 0.25 ml を加え混合後, 4°C , 3時間放置し, ついで遠心沈澱 (3000 回転, 15 分間) をし, 沈澱物を除く.

⑥ 上清に酢酸ナトリウム飽和エタノールを 2.0 ml 加え混和後, 4°C , 2時間放置し, 遠心沈澱 (3000 回転, 15 分間) をし, 上清を除去する. この操作を2回くり返す.

⑦ 蒸留水 0.1 ml を加え混和溶解後, 実験に供す.

ロ) カルバゾール反応

① ホウ砂硫酸 (ホウ砂 0.95 g を濃硫酸 100 ml に溶かす) 2.5 ml を中試験管に分注する.

② 冷水中で蒸留水 0.5 ml を加え, さらに被検液 10 μl を加え混和する.

③ ガラス玉でふたをし、10分間煮沸後水冷する。

④ カルバゾール液（カルバゾール12.5 mgをエタノール10 mlに溶かす）を0.1 ml加え混和後、15分間煮沸（ゆっくりと）し水冷する。

⑤ 10分間室温で放置後、530 m μ で盲検に対して比色する。

⑥ 検量線は、それぞれ1.2, 1.6, 2.0, 2.4 mg/dlの純グルクロン酸溶液を用い作製した。

なお、試薬はすべて特級を用いた。

h) 酸性ムコ多糖体の電気泳動法

セルローズ・アセテート膜電気泳動装置を用い、下記の条件で酸性ムコ多糖体の電気泳動を行った。

準備

支持体 セパラックスは長さ11 cm, 幅6 cmのものを用了。

緩衝液 0.1 M ピリジン-ギ酸 (pH 3.0) 溶液と 0.2 M 酢酸カルシウム溶液の2種

類の緩衝液を用いた。

染色液 0.5% トルイジンブルー溶液 (3% 酢酸溶液にトルイジンブルーを0.5%の割合に溶かす) と 0.5% アルシアンブルー溶液 (3% 酢酸溶液にアルシアンブルーを0.5%の割合に溶かす) の2種類の染色液を用いた。

脱色液 2% 酢酸溶液

標準酸性ムコ多糖体溶液 コンドロイチン硫酸 A, B, C, ヒアルロン酸, ヘパリンをそれぞれ適当量蒸留水に溶かして使用した。

方法

① セパラックスを濾紙上にとり、陰極側とするほうの端から25mmのところに定規をあて、上下両端2mmずつあけて、試料を塗布する幅を8mmとし塗布間を4mmあけるようにプロットする。

② セパラックスを緩衝液中に浸した後、軽く濾紙でふきとり、支持板間へ支持板に直角

に渡し、おさえ板でおさえる。

③ 試料はウロン酸定量で前処理の終わったものを $0.8 \mu\text{l}$ 塗布する。両端に標準酸性ムコ多糖体溶液を同量塗布する。

④ 氷動箱に蓋をして箱を密閉後、緩衝液に 0.1 M ピリジノーギ酸 ($\text{pH } 3.0$) を用いた場合には、 0.5 mA/cm で1時間通電する。 0.2 M 酢酸カルシウムを用いた場合には、 1.0 mA/cm で2時間通電する。

⑤ 通電終了後ただちに 0.5% トルイジンブルー溶液または 0.5% アルシアンブルー溶液で5分間染色する。

⑥ 染色後、 2% 酢酸溶液中で、数回脱色液を変えて洗浄し、脱色をする。

⑦ 濾紙にはさみ乾燥後、デカリソにひたし、自動記録濃度計を用い、スリット幅 $0.2 \times 3 \text{ mm}$, $600 \text{ m}\mu$ で測定する。

Na , K , Mg イオン濃度：原子吸光光度計（東芝ベックマン社製、NF-1B型）。

卵胞壁の組織像：組織片は 10% 緩衝ホルマ

リンで固定，パラフィン包埋し，切片にして
ヘマトキシリン・エオジン染色を行い，鏡検
をした。

なお精液およびその他の研究方法については，
それぞれの項で述べる。

第三章 研究 成績

1. 卵胞液諸性状について

—特に血清との比較並びに

検査項目間の相互の関連性について—

1) 肉眼的性状

血清 172例，卵胞液 531例について，色調及び透明度の肉眼的検査を行った。

色調について，血清では淡黄色～黄色を示し，卵胞液では大部分淡黄白色～淡黄色（459例，86.4%）を示し，その他黄色（29例，5.5%），無色（12例，2.3%），橙色（31例，5.8%）であることが観察された。

透明度について，血清では透明であり，卵胞液では大部分透明（383例，72.1%）で，残りはわずかに混濁（120例，22.6%）もしくは血液の混入（28例，5.3%）が観察された。

卵胞の直径 6.0～20.0 mmの範囲の卵胞液について，その色調別に卵胞液諸性状（T.P., B.U.N., A.M.P., Ch.-A, H.S., H.S./Ch.-

A, Na, K, Mgイオン濃度, K/Na) を検討した結果, 例数は少ないが無色の卵胞液は淡黄白色のものに比べて, T.P. ($P < 0.01$), K 濃度 ($P < 0.05$), K/Na ($P < 0.05$) は低く, Mg 濃度 ($P < 0.05$) は高いことが認められた。また淡黄色の卵胞液は淡黄白色のものに比べて B.U.N. ($P < 0.01$) は低いことが認められた (表 1-1, 1-2)。

2) 蛋白質濃度

血清 171 例の T.P. は $6.55 \sim 11.60 \text{ g/dl}$ (Mean \pm S.D. $8.67 \pm 0.90 \text{ g/dl}$) であり, 卵胞液 515 例では $0.07 \sim 9.38 \text{ g/dl}$ (Mean \pm S.D. $6.57 \pm 1.08 \text{ g/dl}$) で, 両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表 2)。

血清と卵胞液間の T.P. について, その相関関係を検討した結果, $r = 0.485$ ($P < 0.01$) であり, 有意な正の相関関係が認められた (図 1)。

卵胞の大きさを直径 8.0 mm 以下, $8.1 \sim 13.0 \text{ mm}$, $13.1 \sim 18.0 \text{ mm}$, 18.1 mm 以上に 4 区分 (

なお、卵胞の大きさについての区分は、以下特に指示しない場合は全て前述の区分と同様の基準で取り扱う) し、各区分ごとに血清と卵胞液間の T. P. について、その相関関係を検討した結果、それぞれ $r = 0.411$ ($P < 0.01$)、 $r = 0.622$ ($P < 0.01$)、 $r = 0.432$ ($P < 0.01$)、 $r = 0.332$ ($P < 0.01$) であり、有意な正の相関関係が認められた (図 2 ~ 5)。

3) 蛋白分画

セ・アセテート膜法により、セパラックスを用い血清及び卵胞液の電気泳動を行った (図 6)。

血清 172 例の蛋白分画値について、アルブミンは $19.5 \sim 60.2\%$ ($\text{Mean} \pm \text{S. D. } 43.2 \pm 8.4\%$)、 α -グロブリンは $6.0 \sim 19.9\%$ ($\text{Mean} \pm \text{S. D. } 11.7 \pm 2.3\%$)、 β -グロブリンは $6.9 \sim 20.8\%$ ($\text{Mean} \pm \text{S. D. } 11.4 \pm 2.4\%$)、 γ -グロブリンは $18.0 \sim 48.2\%$ ($\text{Mean} \pm \text{S. D. } 30.0 \pm 6.8\%$)、 A/G は $0.242 \sim 1.512$ ($\text{Mean} \pm \text{S. D. } 0.798 \pm 0.262$) であった (表 2)

また卵胞液 238 例の電気泳動では、アルブミン分画に相当する部分に特異的な泳動像が観察され（図 6）、その形状により A, B, C, D, E 型と 5 型に分類した結果、A 型 41 例（17.2%）、B 型 92 例（38.7%）、C 型 57 例（24.0%）、D 型 41 例（17.2%）、E 型 7 例（2.9%）で、最も多く観察された型は B 型であることが認められた（図 7）。

そこで各型別に卵胞液諸性状（T. P., B. U. N., Na, K, Mg イオン濃度, K/Na ）を検討した結果、A 型の卵胞液は B 型のものに比べて Na 濃度（ $P < 0.01$ ）は低く、Mg 濃度（ $P < 0.05$ ）、 K/Na （ $P < 0.05$ ）は高いことが認められた。しかしその他の型と卵胞液中の成分には有意差が認められなかった（表 3）。

永井の報告に従い、血清ディスク法の手技を利用して卵胞液の電気泳動を試みた結果、良好な泳動状態を示し、6 つの大きな蛋白分画が観察された（表 4, 図 8）。

ついで、セ・アセテート膜法によって観察された卵胞液のアルブミン分画に相当する部分の特異的な泳動像の原因究明のため、次の実験を行った。

α) セルローズ・アセテート膜の種類による卵胞液の電気泳動像について

セパラックスを用い卵胞液50例の電気泳動を行った結果、全例、アルブミン分画に相当する部分に特異的な泳動像が観察された。

オキシイドを用い卵胞液50例の電気泳動を行った結果、34例にセパラックスを用いた場合と同様の泳動像が観察され、16例は血清類似の泳動像が観察された。

ザルトリウスを用い卵胞液50例の電気泳動を行った結果、全例にセパラックスを用いた場合と同様の泳動像が観察された。

β) 卵胞液の前処理について

卵胞液に前処理をし、セ・アセテート膜法に従い電気泳動を行った。

卵胞液を等量の蒸留水、生理食塩液、ベロ

ナル緩衝液で稀釈し電気泳動を行ったが、アルブミン分画に相当する部分の特異的な泳動像の改善は観察されなかった。

ついで卵胞液中に鞣丸ヒアルロニダーゼ（持田製薬 K. K., 商品名スプレーゼ）を添加し、泳動像を観察した。

卵胞液 0.1 ml に、鞣丸ヒアルロニダーゼを 20 単位、40 単位、60 単位と添加し、室温にて 30 分間、60 分間放置後、電気泳動を行ったところ、鞣丸ヒアルロニダーゼを 20 単位以上添加し、室温にて 30 分間放置によりアルブミン分画に相当する部分の特異的な泳動像の改善が観察された（図 9）。

ここで卵胞液に鞣丸ヒアルロニダーゼを作用せしめた時、酵素自体蛋白質であるため、泳動分離されたいずれかの分画位に影響を与えていると考えられ、生理食塩液 0.1 ml に 200 単位の鞣丸ヒアルロニダーゼを溶解し電気泳動を行った結果、痕跡程度であることが観察された。

なお、血清に多量のヒアルロン酸を加え電気泳動を行ったところ、卵胞液類似の泳動像が観察された（図9）。

4) 免疫電気泳動の解析

a) 抗牛血清家兔免疫血清と血清、卵胞液の免疫電気泳動の解析

血清及び卵胞の大きさを4区分し、各区分の卵胞液と抗牛血清家兔免疫血清をそれぞれ反応させた結果、卵胞の大きさ18.0 mm以下の各区分の卵胞液で検出されず、血清及び卵胞の大きさ18.1 mm以上の区分の卵胞液で検出された2本の沈降線が観察された。他の検出された沈降線はそれぞれに共通であることが観察された（図10）。

b) 抗牛卵胞液（卵胞の大きさ8.0 mm以下）家兔免疫血清と血清、卵胞液の免疫電気泳動の解析

血清及び卵胞の大きさを4区分し、各区分の卵胞液と抗牛卵胞液（卵胞の大きさ8.0 mm以下）家兔免疫血清をそれぞれ反応させた結

果，血清で検出されず各区分の卵胞液で検出された1本の沈降線が観察された。他の検出された沈降線はそれぞれに共通であることが観察されたが，a) で検出された2本の沈降線はいずれにも観察されなかった(図11)。

c) 抗牛卵胞液(卵胞の大きさ $8.1 \sim 13.0$ mm) 家兔免疫血清と血清，卵胞液の免疫電気泳動的解析

血清及び卵胞の大きさを4区分し，各区分の卵胞液と抗牛卵胞液(卵胞の大きさ $8.1 \sim 13.0$ mm) 家兔免疫血清をそれぞれ反応させた結果，血清で検出されず各区分の卵胞液で検出された1本の沈降線が観察された。他の検出された沈降線はそれぞれに共通であることが観察されたが，a) で検出された2本の沈降線はいずれにも観察されなかった(図12)。

d) 抗牛卵胞液(卵胞の大きさ $13.1 \sim 18.0$ mm) 家兔免疫血清と血清，卵胞液の免疫電気泳動的解析

血清及び卵胞の大きさを4区分し、各区分の卵胞液と抗牛卵胞液（卵胞の大きさ13.1～18.0 mm）家兔免疫血清をそれぞれ反応させた結果、血清で検出されず各区分の卵胞液で検出された1本の沈降線が観察された。他の検出された沈降線はそれぞれに共通であることが観察されたが、a) で検出された2本の沈降線はいずれにも観察されなかった（図13）。

e) 抗牛卵胞液（卵胞の大きさ18.1 mm以上）家兔免疫血清と血清、卵胞液の免疫電気泳動的解析

血清及び卵胞の大きさを4区分し、各区分の卵胞液と抗牛卵胞液（卵胞の大きさ18.1 mm以上）家兔免疫血清をそれぞれ反応させた結果、血清で検出されず、各区分の卵胞液で検出された1本の沈降線が観察された。また卵胞の大きさ18.0 mm以下の各区分の卵胞液で検出されず、血清及び卵胞の大きさ18.1 mm以上の各区分の卵胞液で検出された2本の沈降線

が観察された。他の検出された沈降線はそれぞれに共通であることが観察された（図14）。

f) 抗牛 IgM 家兔免疫血清と血清，卵胞液の免疫電気泳動的解析

前述の a) 及び c) で観察された2本の沈降線は，検出された位置的に IgM と α_2 M と考えられ，IgM， α_2 M を精製し，抗血清を作製し，同定を行った。

血清及び卵胞の大きさを4区分し，各区分の卵胞液と抗牛 IgM 家兔免疫血清をそれぞれ反応させた結果，血清と卵胞の大きさ 18.1 mm 以上の区分の卵胞液に，前述の a) 及び c) で観察された同位置に1本の沈降線が検出されたが，他の区分の卵胞液では検出されなかった（図15）。

g) 抗牛 α_2 M 家兔免疫血清と血清，卵胞液の免疫電気泳動的解析

血清及び卵胞の大きさを4区分し，各区分の卵胞液と抗牛 α_2 M 家兔免疫血清をそれぞれ

反応させた結果，血清と卵胞の大きさ 18.1 mm 以上の区分の卵胞液に，前述の a) 及び e) で観察された同位置に 1 本の沈降線が検出されたが，他の区分の卵胞液では検出されなかった（図 16）。

a) 及び e) で観察された 2 本の沈降線は，f) 及び g) の結果，IgM 及び $\alpha_2\text{M}$ であることが確認された。

5) 尿素態窒素濃度

血清 169 例の B. U. N. は $12.0 \sim 38.5 \text{ mg} / \text{dl}$ (Mean \pm S. D. $22.6 \pm 5.0 \text{ mg} / \text{dl}$) であり，卵胞液 142 例では $10.0 \sim 32.0 \text{ mg} / \text{dl}$ (Mean \pm S. D. $20.6 \pm 4.4 \text{ mg} / \text{dl}$) で，両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた（表 2）。

血清と卵胞液間の B. U. N. について，その相関関係を検討した結果， $r = 0.602$ ($P < 0.01$) であり，有意な正の相関関係が認められた（図 17）。

卵胞の大きさを直径 18.0 mm 以下及び 18.1 mm 以上に 2 区分し，各区分ごとに血清と卵胞液

間の B. U. N. について，その相関関係を検討した結果，それぞれ $r = 0.624$ ($P < 0.01$)， $r = 0.610$ ($P < 0.01$) であり，有意な正の相関関係が認められた（図 18，19）。

6) 酸性ムコ多糖体の種類及び濃度

血清及び卵胞液の酸性ムコ多糖体検出のため，前処理をし，A. M. P. をウロン酸として測定し，セルローズ・アセテート膜電気泳動装置を用い，その種類について検討した結果，血清には分離し得るほどの酸性ムコ多糖体は存在しなかった。しかし卵胞液では多量の酸性ムコ多糖体が検出され，電気泳動法により 2 分画が観察され，陽極側に観察された分画は標準酸性ムコ多糖体溶液のコンドロイチン硫酸 A と同位置で，しかもトルイジンブルー及びアルシアンブルー染色液で染色されることにより，この分画はコンドロイチン硫酸 A であることが確認された。またコンドロイチン硫酸 A より陰極側に観察された分画は，泳動位置，トルイジンブルー及びアルシアンブ

ルー染色液で染色されること、コンドロイチナーゼ ABC 及び筆丸ヒアルロニダーゼなどの酵素により分解されなかったことから、この分画はヘパラン硫酸であることが確認された (図 20-1, 20-2)。

卵胞液 110 例の A.M.P. (ウロン酸として) は $1.95 \sim 33.70 \text{ mg/dl}$ (Mean \pm S.D. $11.18 \pm 5.75 \text{ mg/dl}$) であった (表 2)。

卵胞液 110 例のコンドロイチン硫酸 A 濃度 (ウロン酸として) (以下 Ch.-A と略す) は $1.95 \sim 25.60 \text{ mg/dl}$ (Mean \pm S.D. $8.97 \pm 4.16 \text{ mg/dl}$) であった (表 2)。

卵胞液 110 例のヘパラン硫酸濃度 (ウロン酸として) (以下 H.S. と略す) は $0 \sim 12.37 \text{ mg/dl}$ (Mean \pm S.D. $2.20 \pm 2.29 \text{ mg/dl}$) であった (表 2)。

卵胞液 110 例の H.S. / Ch.-A は $0 \sim 1.165$ (Mean \pm S.D. 0.242 ± 0.205) であった (表 2)。

7) Na 濃度

血清 172 例の Na 濃度は $257.1 \sim 433.2 \text{ mg / dl}$ ($\text{Mean} \pm \text{S. D. } 311.4 \pm 25.1 \text{ mg / dl}$) であり、卵胞液 462 例では $23.5 \sim 498.4 \text{ mg / dl}$ ($\text{Mean} \pm \text{S. D. } 296.2 \pm 45.9 \text{ mg / dl}$) であり、両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表 2)。

血清と卵胞液間の Na 濃度について、その相関関係を検討した結果、 $r = 0.123$ ($P < 0.01$) であり、わずかにあるが有意な正の相関関係が認められた (図 21)。

卵胞の大きさを 4 区分し、各区分ごとに血清と卵胞液間の Na 濃度について、その相関関係を検討した結果、卵胞の大きさ 8.0 mm 以下、 $8.1 \sim 13.0 \text{ mm}$ の区分では有意な相関関係は認められず、卵胞の大きさ $13.1 \sim 18.0 \text{ mm}$ 、 18.1 mm 以上の区分で、それぞれ $r = 0.232$ ($P < 0.05$)、 $r = 0.272$ ($P < 0.05$) と有意な正の相関関係が認められた (図 22 ~ 25)。

8) K 濃度

血清 172 例の K 濃度は $15.69 \sim 52.64 \text{ mg / dl}$ ($\text{Mean} \pm \text{S. D. } 31.02 \pm 6.53 \text{ mg / dl}$) であり

、卵胞液 462例では $6.13 \sim 143.50 \text{ mg / dl}$ (Mean \pm S. D. $48.40 \pm 15.25 \text{ mg / dl}$) で、両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表 2)。

なお、血清と卵胞液間には K 濃度について有意な相関関係は認められなかった (図 26)。

卵胞の大きさを 4 区分し、各区分ごとに血清と卵胞液間の K 濃度について、その相関関係を検討したが、それぞれ有意な相関関係は認められなかった (図 27 ~ 30)。

9) Mg 濃度

血清 172 例の Mg 濃度は $1.673 \sim 3.680 \text{ mg / dl}$ (Mean \pm S. D. $2.721 \pm 0.419 \text{ mg / dl}$) であり、卵胞液 462 例では $1.658 \sim 15.681 \text{ mg / dl}$ (Mean \pm S. D. $3.524 \pm 1.049 \text{ mg / dl}$) で、両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表 2)。

血清と卵胞液間の Mg 濃度について、その相関関係を検討した結果、 $r = 0.165$ ($P < 0.01$) であり、わずかにあるが有意な正の相関

関係が認められた (図 31)。

卵胞の大きさを 4 区分し、各区分ごとに血清と卵胞液間の Mg 濃度について、その相関関係を検討した結果、卵胞の大きさ 8.0 mm 以下の区分では $r = 0.292$ ($P < 0.01$) と有意な正の相関関係が認められたが、卵胞の大きさ 8.1 ~ 13.0 mm, 13.1 ~ 18.0 mm の区分では有意な相関関係は認められなかった。しかし卵胞の大きさ 18.1 mm 以上の区分では $r = 0.392$ ($P < 0.01$) と有意な正の相関関係が認められた (図 32 ~ 35)。

10) K / Na

血清 172 例の K / Na は 0.0605 ~ 0.1793 (Mean \pm S. D. 0.1004 \pm 0.0237) であり、卵胞液 462 例では 0.0631 ~ 0.3891 (Mean \pm S. D. 0.1681 \pm 0.0555) で、両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表 2)。

なお、血清と卵胞液間には K / Na について有意な相関関係は認められなかった (図 36)。

卵胞の大きさを4区分し、各区分ごとに血清と卵胞液間のK/Naについて、その相関関係を検討したが、それぞれ有意な相関関係は認められなかった(図37~40)。

11) 考察及び小括

牛卵胞液の肉眼的性状について、これまで森ら〔65〕の研究があり、卵胞液は淡黄~淡橙色を示す透明液で血清様の粘稠度をもつと報告されているが、著者の成績では、色調は淡黄白色~淡黄色であり、透明度は大部分透明であったが、一部混濁をしているものと観察され、若干の相違が認められた。

著者の成績で、一部無色の卵胞液が観察され、しかも他の色調の卵胞液に比べ、各成分に差が認められた。

無色の卵胞液を持つ卵胞を観察すると、他の色調の卵胞に比べ、卵胞壁は薄く、卵巣実質内へのくい込みがなく、卵巣表面で突出し、正常の卵胞とは区別されるべきものであると考えられ、おそらく卵胞内壁層の発達が悪

く、機能も不良なため、蛋白質の卵胞内への出現が低い結果、他の色調との間に差が生じ、さらにこの様な卵胞液を持つ卵胞の内壁細胞代謝機能がK濃度の低下、Mg濃度の上昇、K/Naの低下により影響され、卵胞の発達及びその卵胞の機能が發揮されない卵胞形態ではないかと考えられる。

牛卵胞液中のT.P.について、これまでCARAVAGLIOS ら〔10〕, ZACHARIAE ら〔147〕, 岩城〔36〕, 森ら, DESTARDINGS ら〔12〕などの研究があり、それぞれ4.46, 5.6~6.1, 5.8, 5.8及び7.08 g/dlであると報告されているが、著者の成績は、DESTARDINGS らの報告よりは低い、他の4者の報告よりは高い値であった。この違いは対象とする卵胞液が必ずしも同質のものではないことに起因していることもあると考えられる。

またCARAVAGLIOS ら, DESTARDINGS らの報告では、卵胞液中のT.P.は血清中のそれに比べ有意に低いことを認めており、著者の成績

も同様であつた。

さらに著者の成績では、血清と卵胞液間の T. P. に有意な正の相関関係を認め、卵胞の大きさを4区分し、各区分ごとに血清と卵胞液間の T. P. の相関関係をみると、やはり有意な正の相関関係が認められたことから、卵胞液中の蛋白質は血清中のそれに由来すると仮定すれば、同一牛の卵胞液中の T. P. は同じでなければならないが、しかし各卵胞により差が認められた点などを考え合わせると、卵胞液中の T. P. は血清中のそれに影響を受けるものの各卵胞の卵胞壁の透過性にも差のあることが考えられる。

牛卵胞液のセルローズ・アセテート膜電気泳動像で、アルブミン分画に相当する部分に血清では観察されない特異的な泳動像が認められたのぐ、いくつかの検討を試みた。

まずヒパラックス、オキソイド、ザルトリウスと3種類のセルローズ・アセテート膜を用い電気泳動を行ったが、支持体の違いによ

る差はほとんど認められなかった。すなわちセルローズ・アセテート膜を用いての卵胞液の電気泳動は、アルブミン分画に相当する部分に特異的な泳動像が現われるものと考えられる。

そこで、この特異的な泳動像が如何なる原因によるのかを検討するため、卵胞液にいくつかの前処理を行い電気泳動を試みた。その結果、卵胞液に筆丸ヒアルロニダーゼを添加し、電気泳動を行ったところ血清類似の泳動像が得られた。また血清にヒアルロン酸を加えて電気泳動を行ったところ、少量のヒアルロン酸を加えても泳動阻害は観察されなかったが、多量のヒアルロン酸を加えると泳動阻害が観察された。これまで畑下〔25〕は、関節液の電気泳動で、特異的な泳動像を観察し、その泳動像の泳離妨害の程度はおのこの粘度の増加とともに高まることを報告している。さらにROGAN〔94〕は粘度とヒアルロン酸の関係を報告し、平良〔28〕は、関節液

中のヒアルロン酸はアルブミンと結合していると報告している。つまり関節液では泳動の分離妨害が、ヒアルロン酸と共存蛋白質の結合によるとされている点、卵胞液の場合と卵胞液中の蛋白質とヒアルロン酸ないし他の酸性ムコ多糖体が結合して存在するため、特異的な泳動像を示すものと考えられる。

さらに10例の卵胞液中に同単位の華丸ヒアルロニダーゼを添加し電気泳動像を観察すると、血精類似の泳動像を示すものとそうでないものが認められ、各卵胞液中の酸性ムコ多糖体ないしその関連物質の濃度に差のあることがうかがえた。

そこで卵胞液のセ・アセテート膜法により観察されたアルブミン分画に相当する部分の特異的な泳動像の形状をA, B, C, D, Eと5型に分類し、各型別に卵胞液諸性状を検討した結果、A型の卵胞液中のNa濃度は、B型のそれと比べ低く、Mg濃度及びK/Naは高いことが認められ、卵胞液の特異的な泳動像

の形状は、なんらかの卵胞の性質を現わしていると考えられる。

卵胞液の免疫電気泳動的解析について、これまで DESTARDINS ら（牛）、SHIVERS ら（豚）〔105〕、MANARANG-PANGAN ら（人）〔53〕、SHALGI ら（人）〔103〕の研究があり、先人はいずれも卵胞液で血清に存在しないフィブリノーゲンを認め報告しているが、著者の成績では、卵胞液中にフィブリノーゲンは観察されなかった。これはおそらく卵胞液を血清採取と同様に遠心沈澱を行ったためと考えられる。

著者の成績で、血清に検出されず卵胞液に検出された1本の沈降線を観察したが、その種類は不明であった。しかし観察された沈降線は卵胞液特有の蛋白質であることが考えられる。

また SHIVERS らは血清で検出され、卵胞液で検出されない2本の沈降線を観察しており、さらに SHALGI らは血清及び卵胞液のアルブ

ミン, トランスフェリン, Ig G, フィブリノーゲン, α_2 M, Ig M, β_1 -リポプロテインなどを測定し, アルブミンのような低分子量の蛋白質は卵胞内に蓄積し, β_1 -リポプロテイン, Ig Mなどの高分子量の蛋白質は卵胞外へ追いつき出されるということより血管-卵胞壁は分子篩のように行動することを報告しているが, 著者の成績では, 血清に存在する高分子量の Ig M 及び α_2 M が卵胞の大きさ 18.0 mm 以下の各区分の卵胞液では観察されず, 卵胞の大きさ 18.1 mm 以上の区分の卵胞液で観察されたもので, 一部卵胞液特有の蛋白質が存在するものの, 大部分血清由来とすれば, むしろ卵胞の大きさ 18.1 mm 以上の卵胞では血管-卵胞壁の透過性に変化をおこし, その選択的透過性を失った結果, 血清中の Ig M, α_2 M などの高分子量の蛋白質が卵胞液中に出現するのではないかと考えられる。

牛卵胞液中の B. U. N. についての報告はないが, 著者の成績で, 卵胞液中の B. U. N. は血清

中のそれに比べ有意に低く，両者間に有意な正の相関関係が認められ，卵胞の大きさに伴う変化が認められなかったこと（後述）より，血清中の尿素態窒素は卵胞壁の毛細血管及び卵胞内壁細胞間を通過して卵胞液中へ移行し，さらに卵胞中の尿素態窒素には卵胞の形態的な発達を制御する因子としての動きはないように考えられる。

卵巣及び卵胞液中の酸性ムコ多糖体についての研究は古くから多数の報告があり，そのなかで JENSEN ら〔38〕は牛の卵胞液から多量に酸性ムコ多糖体を抽出し，これがヒアルロン酸及びコンドロイチン硫酸と微量のヘパリン様物質であることを報告している。また高しう〔120〕は牛の卵巣及び卵胞液より抽出した酸性ムコ多糖体をカラムクロマト法により分別定量したところ，ヒアルロン酸，コンドロイチン硫酸，ヘパリンモノ硫酸，ヘパリン及びケラト硫酸の各種酸性ムコ多糖体が存在することを報告している。しかし著者の成

績で、電気泳動法を用い卵胞液中の酸性ムコ多糖体と分離、定性した結果、検出された酸性ムコ多糖体は2種類で、しかもそれぞれの染色性、泳動位置、酵素消化試験などの検査により、それらはコンドロイチン硫酸A及びヘパラン硫酸であることが観察され、先人の報告とは異なる点が認められた。

なお、酸性ムコ多糖体は血清で検出されず、卵胞液でかなり多量に検出された点、またこれまでの先人の卵巣の組織化学的研究、安田〔139〕、ZACHARIAE〔148〕の³⁵Sを用いたオートラジオグラフィによる報告など、卵胞液中の酸性ムコ多糖体の生成は卵胞壁細胞によるものであると考えられ、牛の細胞より採取した顆粒膜細胞の細胞培養を行い、その培養液から酸性ムコ多糖体の検出を行ったが、著者の行った実験方法では検出できなかった。さらに顆粒膜細胞は自己増殖性を有し、この増殖能が各種ホルモン、特にF.S.H.系のホルモンによって著しく刺激されることより、

顆粒膜細胞の細胞培養の際に妊馬血清性腺刺激ホルモン、絨毛性腺刺激ホルモンなどを加えて細胞培養をし、その培養液中の酸性ムコ多糖体の検出を行つたが、同様に検出できなかった。つまり生体内において顆粒膜細胞は、性腺刺激ホルモンの支配下におかれ、周辺の細胞と協同し、その複雑な条件下でその機能を發揮していると考えられ、それを取り除いた生体外では十分その機能が發揮されなかったためと考えられる。

牛卵胞液中のNa濃度について、これまでLUTWAK-MANN〔52〕、OLDS〔84, 84〕、VANDEMERK〔131〕、岩城、森らなどの研究があり、それぞれ252, 304.0, 304, 312及び317mg/dlであると報告されているが、著者の成績は、LUTWAK-MANNの報告より高いが、他の4者の報告よりは低い値であつた。この違いは対象とする卵胞液が必ずしも同質のものではないことに起因していることもあると考えられる。また検査方法の違いによることも考え

られる。

著者の成績で、卵胞液中のNa濃度は血清中のそれに比べ有意に低く、両者間にわずかではあるが有意な正の相関関係を認め、さらに卵胞の大きさ13.0~18.1mm, 18.1mm以上の区別の血清と卵胞液間のNa濃度にわずかではあるが有意な正の相関関係が認められたことより、卵胞の大きさ13.0mm前後までの卵胞発育過程における卵胞液中のNa濃度は血清中のそれに影響されず、卵胞独自の動きのあることが考えられる。しかし生体膜の水分、電解質の濃度、量、分布の調節は複雑であり不明な点も多く今後の検討をまたねばならない。

牛卵胞液中のK濃度について、これまでLUTWAK-MANN, OLDS, VANDEMERE, 岩城, 森らなどの研究があり、それぞれ32, 36.0, 36, 28.5及び17.5mg/dlであると報告されているが、著者の成績は先人の報告より高い値であった。この違いは対象とする卵胞液が必ずしも同質のものではないことに起因していること

もあると考えられる。

著者の成績で、卵胞液中のK濃度は血清中のそれに比べ有意に高い値であったが、両者間に有意な相関関係は認められなかった。ところが卵胞液中のK濃度は卵胞の大きさに伴い変化をしており（後述）、各卵胞の血管—卵胞壁の膜透過性の卵胞発育に伴う変化のあることが示唆され、卵胞液中のK濃度は血清中のその単純な移動ということではなく、卵胞の発育に伴う変化のあることが考えられる。

一般に、細胞内にKが多く、細胞外液にはNaが多いものであり、細胞膜を介してのNa、Kの移動は複雑な機構によって支配されているが、Kが増加するときNaが減少する相対的な関係のあることが知られている。そこで同一牛の血清及び卵胞液中のK/Naを求め検討した。

著者の成績で、卵胞液中のK/Naは血清のそれに比べ有意に高い値であったが、両者間

に有意な相関関係は認められなかった。ところが卵胞液中の K/Na は卵胞の大きさに伴い変化をしており（後述），前述の卵胞液中の Na 濃度， K 濃度と考えあわせると，卵胞液中のこれら電解質は，各卵胞独自の動きをし，各卵胞液の滲透圧への影響も考えられる。

牛卵胞液中の Mg 濃度について，LUTWAK-MANN は 1.6 mg/dl と報告しており，著者の成績は先人の報告より高い値であった。これは対象とする卵胞液の条件の違い及び検査方法の違いによるものと考えられる。

著者の成績で，卵胞液中の Mg 濃度は血清中のそれに比べ有意に高く，両者間にわずかではあるが有意な正の相関関係を認め，さらに卵胞の大きさ 8.0 mm 以下， 18.1 mm 以上の区分の血清と卵胞液間の Mg 濃度にわずかではあるが有意な正の相関関係が認められたことより，卵胞液中の Mg 濃度は血清中のそれに一時期影響を受けることが考えられる。一般に， Mg は生体内に広く存在し，各種酵素の活性化と

密接な関係を有していると言われており、卵胞の発育過程で、各種酵素が働いていると仮定すれば、卵胞の大きさ $8.1 \sim 18.0 \text{ mm}$ の区間においては卵胞の各種酵素の活性化の動きとともに卵胞液中の Mg 濃度は変化し、血清中のそれに影響を受けず独自の動きをしていることも考えられる。

2. 卵胞の大きさと卵胞液諸性状について
前項の卵胞液諸性状についてのところでも
多少触れたが、卵胞の大きさと関連において
各検査項目別の成績を検討した。

1) 肉眼的性状

卵胞の大きさと卵胞液の色調について、卵
胞の大きさを4区分し、各区分の卵胞液の色
調の割合を検討した結果、卵胞の大きさが大
きくなるのに伴い淡黄白色の卵胞液の割合が
減少し、淡黄色、黄色、橙色の卵胞液の割合
が増加する傾向が認められた ($P < 0.01$) (表
5, 図41)。

2) 蛋白質濃度

卵胞の大きさと卵胞液中の T. P. について検
討したが、有意な相関関係は認められなかつ
た (図42)。

卵胞の大きさを4区分し、各区分の卵胞液
中の T. P. の Mean \pm S. D. を求めると、卵胞の大
きさの小さい区分より順に、それぞれ $6.53 \pm$
 1.26 g / dl , $6.56 \pm 1.01 \text{ g / dl}$, 6.47 ± 1.05

g / dl, 6.66 ± 1.14 g / dl で, 各区分間に有意差は認められなかった (表 6-1)。

3) 蛋白分画

卵胞の大きさと卵胞液の電気泳動像で観察されたアルブミンの型について, 卵胞の大きさを4区分し, 各区分の卵胞液のアルブミンの型の割合を検討した結果, 卵胞の大きさが大きくなるのに伴い A 型の卵胞液の割合が減少し, B 型, D 型の卵胞液の割合が増加する傾向が認められた ($P < 0.01$) (表 7, 図 43)。

4) 免疫電気泳動的解析

卵胞の大きさを4区分し, 各区分の卵胞液と抗牛血清家兔免疫血清及び抗牛卵胞液 (卵胞の大きさ 18.1 mm 以上) 家兔免疫血清をそれぞれ反応させた結果, 卵胞の大きさ 18.0 mm 以下の各区分の卵胞液で検出されず, 卵胞の大きさ 18.1 mm 以上の卵胞液で検出された2本の沈降線が観察された (図 10, 14)。さらに検出された2本の沈降線は IgM 及び $\alpha_2\text{M}$ である

ことが観察された（前述）（図 15, 16）。

なお、抗牛卵胞液（卵胞の大きさ 8.0 mm 以下）家兔免疫血清，抗牛卵胞液（卵胞の大きさ $8.1 \sim 13.0\text{ mm}$ ）家兔免疫血清，抗牛卵胞液（卵胞の大きさ $13.1 \sim 18.0\text{ mm}$ ）家兔免疫血清と卵胞の大きさ各区分の卵胞液のそれぞれの反応では，卵胞の大きさに伴う変化は観察されなかった（図 11, 12, 13）。

5) 尿素態窒素濃度

卵胞の大きさと卵胞液中の B. U. N. について検討したが，有意な相関関係は認められなかった（図 44）。

卵胞の大きさを 4 区分し，各区分の卵胞液中の B. U. N. の Mean \pm S. D. を求めると，卵胞の大きさの小さい区分より順に，それぞれ $17.9 \pm 2.7\text{ mg/dl}$, $20.2 \pm 2.8\text{ mg/dl}$, $20.8 \pm 4.5\text{ mg/dl}$, $20.8 \pm 5.0\text{ mg/dl}$ で，各区分間に有意差は認められなかった（表 6-1）。

6) 酸性ムコ多糖体濃度

卵胞の大きさと卵胞液中の A. M. P. について

、その相関関係を検討した結果、 $r = -0.57$ ($P < 0.01$) であり、有意な負の相関関係が認められた (図45)。

卵胞の大きさを4区分し、各区分の卵胞液中の A. M. P. の Mean \pm S. D. を求めると、卵胞の大きさの小さい区分より順に、それぞれ $15.80 \pm 6.10 \text{ mg/dl}$, $9.45 \pm 3.68 \text{ mg/dl}$, $9.73 \pm 3.01 \text{ mg/dl}$, $8.07 \pm 5.81 \text{ mg/dl}$ で、卵胞の大きさ 8.0 mm 以下の区分の卵胞液中の A. M. P. は、他の区分の卵胞液中のそれに比べて有意 ($P < 0.01$) に高いことが認められた (表6-1)。

さらに前項で検出、確認されたコンドロイチン硫酸 A 及びヘパラン硫酸についても、卵胞の大きさととの関係について検討した。

卵胞の大きさと卵胞液中の Ch.-A について、その相関関係を検討した結果、 $r = -0.33$ ($P < 0.01$) であり、有意な負の相関関係が認められた (図46)。

卵胞の大きさを4区分し、各区分の卵胞液

中の Ch.-A の Mean \pm S. D. を求めると、卵胞の大きさの小さい区分より順に、それぞれ $11.03 \pm 4.10 \text{ mg/dl}$, $7.58 \pm 2.91 \text{ mg/dl}$, $8.69 \pm 2.96 \text{ mg/dl}$, $7.84 \pm 5.55 \text{ mg/dl}$ で、卵胞の大きさ 8.0 mm 以下の区分の卵胞液中の Ch.-A は、他の区分の卵胞液中のそれと比べて有意 ($P < 0.01$) に高いことが認められた (表 6-1)。

卵胞の大きさと卵胞液中の H. S. について、その相関関係を検討した結果、 $r = -0.730$ ($P < 0.01$) であり、有意な負の相関関係が認められた (図 47)。

卵胞の大きさを 4 区分し、各区分の卵胞液中の H. S. の Mean \pm S. D. を求めると、卵胞の大きさの小さい区分より順に、それぞれ $4.77 \pm 2.23 \text{ mg/dl}$, $1.87 \pm 1.42 \text{ mg/dl}$, $1.05 \pm 0.93 \text{ mg/dl}$, $0.47 \pm 0.79 \text{ mg/dl}$ で、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い、有意 ($P < 0.01$) に卵胞液中の H. S. の減少が認められた (表 6-1)。

卵胞の大きさと卵胞液中の $H.S./Ch.-A$ について、その相関関係を検討した結果、 $r = -0.671$ ($P < 0.01$) であり、有意な負の相関関係が認められた (図48)。

卵胞の大きさを4区分し、各区分の卵胞液中の $H.S./Ch.-A$ の $Mean \pm S.D.$ を求めると、卵胞の大きさの小さい区分より順に、それぞれ 0.448 ± 0.170 , 0.261 ± 0.154 , 0.137 ± 0.115 , 0.072 ± 0.128 で、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い、有意 ($P < 0.01$) に卵胞液中の $H.S./Ch.-A$ の低下が認められた (表6-1)。

7) Na濃度

卵胞の大きさと卵胞液中の Na濃度について、その相関関係を検討した結果、 $r = 0.100$ ($P < 0.05$) であり、わずかながら有意な正の相関関係が認められた (図49)。

卵胞の大きさを4区分し、各区分の卵胞液中の Na濃度の $Mean \pm S.D.$ を求めると、卵胞の大きさの小さい区分より順に、それぞれ 289

.5 \pm 37.7 mg / dl, 293.0 \pm 62.2 mg / dl, 300.0 \pm 35.9 mg / dl, 302.8 \pm 30.8 mg / dl で、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い卵胞液中の Na 濃度は増加しているが、各区分間に有意差は認められなかった（表 6-2）。

8) K 濃度

卵胞の大きさと卵胞液中の K 濃度について、その相関関係を検討した結果、 $r = -0.382$ ($P < 0.01$) であり、有意な負の相関関係が認められた（図 50）。

卵胞の大きさを 4 区分し、各区分の卵胞液中の K 濃度の Mean \pm S.D. を求めると、卵胞の大きさの小さい区分より順に、それぞれ 57.04 \pm 14.04 mg / dl, 50.80 \pm 16.44 mg / dl, 44.07 \pm 11.13 mg / dl, 39.59 \pm 10.26 mg / dl で、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い、有意 ($P < 0.01$) に卵胞液中の K 濃度の減少が認められた（表 6-2）。

9) Mg 濃度

卵胞の大きさと卵胞液中の Mg 濃度について

、その相関関係を検討した結果、 $r = -0.282$ ($P < 0.01$) であり、有意な負の相関関係が認められた (図 51)。

卵胞の大きさを 4 区分し、各区分の卵胞液中の Mg 濃度の Mean \pm S.D. を求めると、卵胞の大きさの小さい区分より順に、それぞれ $3.856 \pm 0.767 \text{ mg/dl}$, $3.645 \pm 1.371 \text{ mg/dl}$, $3.246 \pm 0.566 \text{ mg/dl}$, $3.086 \pm 0.521 \text{ mg/dl}$ で、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い、有意 ($P < 0.01$) に卵胞液中の Mg 濃度の減少が認められた (表 6-2)。

10) K / Na

卵胞の大きさと卵胞液中の K / Na について、その相関関係を検討した結果、 $r = -0.413$ ($P < 0.01$) であり、有意な負の相関関係が認められた (図 52)。

卵胞の大きさを 4 区分し、各区分の卵胞液中の K / Na の Mean \pm S.D. を求めると、卵胞の大きさの小さい区分より順に、それぞれ 0.1996 ± 0.0543 , 0.1773 ± 0.0578 , 0.1477 ± 0.04

07, 0.1312 ± 0.0332 で、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い、有意 ($P < 0.01$) に卵胞液中の K/Na の低下が認められた (表 6-2)。

11) 考察及び小括

卵胞の大きさと牛卵胞液の色調について、これまで森ら〔65〕の研究があり、両者間に明りょうな関係は認められず、正常卵胞と異常卵胞間においてと明らかな差異はなかったと報告しているが、著者の成績では、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い、淡黄白色の卵胞液の割合が減少し、淡黄色、黄色、橙色の卵胞液の割合が増加する傾向が認められた。つまり卵胞の大きさが大きくなるのに伴い卵胞液の着色度が強くなる傾向が認められた。

卵胞の大きさと牛卵胞液中の T. P. について、これまで CARAVAGLIOS ら〔10〕、岩城〔36〕、森らの報告があり、いずれも卵胞の発育に伴う卵胞液中の T. P. の変化は認めておらず、著者の成績でも、卵胞の大きさに伴う卵胞液中の T. P. の変化は認められず、先人の報告

と同様であった。

さらに著者の成績で、B. U. N. についても T. P. と同様の結果が得られ、卵胞液中の尿素窒素には卵胞の発育に関与する因子としての動きはないように考えられる。

卵胞の大きさと牛卵胞液の電気泳動像で観察されたアルブミンの型についての報告はないが、著者の成績で、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い、A 型の卵胞液が減少し、B 型、D 型の卵胞液の割合が増加する傾向が認められた。これはセ・アセテート膜法による卵胞液の電気泳動像で、アルブミン分画に相当する部分の特異的な形状が卵胞液中の A. M. P. に影響されているとすれば、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い卵胞液中の A. M. P. は減少している（後述）ので、卵胞液の電気泳動像で観察されたアルブミンの型に、卵胞の大きさに伴う変化が認められたのではないかと考えられる。

卵胞の大きさと牛卵胞液の免疫電気泳動的

解析で、卵胞液中の蛋白質の由来が血清からの出であるとするれば、排卵までの卵胞の発育過程において、また卵胞の大きさ 18.1 mm 以上の卵胞嚢腫のような異常卵胞において血清中に存在する IgM , $\alpha_2\text{M}$ などの高分子量の蛋白質が卵胞液中に認められるはずであるが、著者の成績では、 IgM , $\alpha_2\text{M}$ が卵胞の大きさ 18.0 mm 以下の各区分の卵胞液で検出されず、卵胞の大きさ 18.1 mm 以上の区分の卵胞液で検出され、 IgM , $\alpha_2\text{M}$ を除いた他の大部分の検出された蛋白質は各区分の卵胞液及び血清で共通に観察されたので、卵胞液中の蛋白質は血清由来であるものの、卵胞の発育過程においては血管—卵胞壁に選択的透過性があり、卵胞の大きさ 18.0 mm 以下の卵胞液中には IgM , $\alpha_2\text{M}$ などの高分子量の蛋白質は出現せず、卵胞の大きさ 18.1 mm 以上の卵胞嚢腫のような異常卵胞ではその血管—卵胞壁の選択的透過性が失われ卵胞液中に IgM , $\alpha_2\text{M}$ などの高分子量の蛋白質が出現するものと考えられる

卵胞の大きさと牛卵胞液中の酸性ムコ多糖体について、これまで JENSEN ら〔38〕は卵胞液中のヒアルロン酸とコンドロイチン硫酸の量的比率が、全卵胞液量 0.25 cc の上下で異るとし、0.25 cc 以下ではヒアルロン酸とコンドロイチン硫酸比が平均 4 : 6、0.25 cc 以上の大きな卵胞では 2 : 8 になると報告し、さらに高山ら〔120〕も卵胞の発育に伴い卵胞液中の A. M. P. が減少し、そのなかで特にヒアルロン酸の量的、質的变化の大きいことを認め報告している。また岡田〔81〕は人の卵胞液を組織化学的方法を用いて検討し、初期及び中期胞状卵胞の卵胞液は P. A. S. 反応、トルイジンブルー及びアルシアンブルー染色で、いずれも陽性であり、後期胞状卵胞の卵胞液ではそれらの染色性はいずれも著しく減弱していることを認めているが、JENSEN ら、ZACHARIAE〔148〕、高山らの報告にある酸性ムコ多糖体の種類の量的比率の推移は検討できなかった。

たと報告している。著者の成績で、卵胞液中の A. M. P. は卵胞の大きさが大きくなるのに伴い急激に減少することが認められ、先人の報告と同様であつた。しかし先人の報告で、卵胞液中の酸性ムコ多糖体でも卵胞の発育に伴う変化の著しいものはヒアルロン酸であることを観察しているが、著者の成績では、卵胞液中の酸性ムコ多糖体を電気泳動法を用い定性したところ、ヒアルロン酸は検出されず、コンドロイチン硫酸 A をヘパラン硫酸が検出され、しかも卵胞の大きさが大きくなるのに伴い、卵胞液中の Ch.-A は急激に減少し、H. S. は徐々に減少することを認め、H. S. / Ch.-A も卵胞の大きさが大きくなるのに伴い低下していることが認められた。卵胞液中の酸性ムコ多糖体の種類は先人の報告と違いがあるものの、それらの量的比率が卵胞の大きさに伴い変化をしていることが認められた点は先人の報告と同様であつた。

上述のごとく卵胞液中の A. M. P., Ch.-A,

H. S., H. S. / Ch. - A が卵胞の大きさに伴い変化をしていることから、それらにかかわる酵素の存在を予想し、いくつかの検索を試みたが、酵素の存在を証明することはできなかった。この点に関しては今後の課題としたい。

卵胞の大きさと牛卵胞液中の Na 濃度について、これまで OLDS ら〔82〕、岩城は卵胞の発育に伴う Na 濃度に一定の傾向は認められなかったと報告しているが、森らは発情期卵胞液中の Na 濃度は他の時期の卵胞液中のそれに比べ減少していることを報告している。しかし著者の成績では、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い卵胞液中の Na 濃度がわずかではあるが増加している傾向が認められた。

卵胞の大きさと牛卵胞液中の K 濃度について、これまで森らは卵胞の発育に伴う K 濃度に一定の傾向は認められなかったと報告しているが、岩城は卵胞の発育に伴う変化として、発情期に近い時期ほど卵胞液中の K 濃度が減少することを報告しており、著者の成績で

も、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い卵胞液中のK濃度が減少している傾向が認められ、岩城の報告と同様であった。

また著者の成績で、卵胞の大きさと卵胞液中のK/Naを検討した結果、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い卵胞液中のK/Naが低下している傾向が認められた。

つまり卵胞液中のNa濃度、K濃度は卵胞の大きさに伴い変化をし、卵胞液の浸透圧、血管—卵胞壁の透過性に影響を及ぼしていることが考えられる。

一般にMg, Caは生体内に広く分布し、両者は生体内にあって、必要に応じて拮抗的あるいは協力的に作用しあうことはよく知られており両者の相互の関係は重要であり、またその作用の一部には、毛細血管及び細胞膜の透過性、諸酵素の賦活、ホルモン合成などがあり、卵胞の発育に伴うこれらイオンの動きと当然示唆されることであり、ゆえに卵胞の大きさに伴う卵胞液中のMg濃度の動きを検討した

結果、卵胞の大きさが大きくなるのに伴い卵胞液中のMg濃度が減少している傾向を認め、卵胞液中のMgと卵胞発育との間になんらかの因果関係の存在する可能性が示唆された。

3. 卵胞壁について

卵胞壁の組織像として、卵胞の顆粒膜細胞層、内・外英膜層の3層の形態を光学顕微鏡で観察した。

1) 顆粒膜細胞層

それぞれの大きさの卵胞を27例観察した結果、直径18.0 mm以下の卵胞の顆粒膜細胞層は、その厚さに多少の差はあるが全般にほぼ正常な重層像が観察された。しかし直径18.1 mm以上の細胞は、それ以下の細胞に比べ、顆粒膜細胞層が扁平もしくは粗鬆となっているものが多く、なかには欠損しているものを観察された。

また2例で、顆粒膜細胞層の表層側に、ヘマトキシリンで平等に濃染した無構造と思われる直径20~60 μ 前後の青黒色の円形物が観察された。

なお、小卵胞（卵胞の大きさ8.0 mm以下）の1例に、核崩壊を呈している所見が観察された。

2) 内莢膜層

直径 18.0 mm 以下の卵胞の内莢膜層は、緊密で層の厚さも適当であるが、直径 18.1 mm 以上の卵胞では、層が扁平で、しかも粗鬆なものが大部分であった。

また直径 13.1 ~ 18.0 mm の卵胞で、顆粒膜細胞層とほとんど接する内莢膜層の表層部に、毛細血管の増生及び充血像が観察された。

なお、直径 18.1 mm 以上の卵胞に、一部内莢膜層の欠損したものが観察された。

3) 外莢膜層

卵胞の大きさに伴う外莢膜層の変化は、顆粒膜細胞層、内莢膜層に比べ、それほど顕著ではなかったが、直径 18.1 mm 以上の卵胞では層の薄い所見が観察された。

その他の所見として、4例に動脈壁の一部硝子様変性が観察された。

4) 考察及び小括

顆粒膜細胞層は、層の厚さに多少の差はあるが全般にはほぼ正常な重層像を示し、顕著な

所見は観察されなかったが非生理的な大卵胞では、正常機能を営んでいる卵胞というより、退行性変化を思わせる所見が認められた。

また卵胞の大きさと直接関係はないと考えられるが、顆粒膜細胞層の表層側に、ヘマトキシリンで平等に濃染した無構造と思われる直径20~60 μ 前後の青黒色の円形物が観察されたが、なにに由来するものか判然としなかった。

内莢膜層でかなり顕著な変化としては、卵胞の発育が旺盛になりつつあると考えられる直径13.1~18.0 mmの卵胞で、顆粒膜細胞層とほとんど接する表層部に、毛細血管の増生及び充血像が観察され、血管を通しての血液と卵胞液の機能的交流が示唆された。

外莢膜層には、それほど顕著な所見は観察されなかった。

さらに動脈壁に一部硝子様変性が観察されたが、卵胞全体に影響を及ぼしているかどうかは不明であった。

なお、P. A. S. 染色，鉄染色による所見では，卵胞の大きさに伴う特別な傾向は観察されなかった（主に間質等を対象に観察）。

4. 卵胞嚢腫牛について

野外において、臨床上卵胞嚢腫と診断されたホルスタイン種の経産牛の卵胞液について、材料を採取（方法は第Ⅱ章，1のとおり）し，血清とあわせて検査を行った。なお，これらの卵胞は，当然のことであるが，すべて直径18.1 mm以上のものである。

A. 卵胞液諸性状について

— 特に血清との比較 —

1) 蛋白質濃度

血清37例のT.P.は5.89 ~ 11.00 g / dl (Mean \pm S.D. 8.17 \pm 0.91 g / dl) であり，卵胞液83例では3.86 ~ 7.00 g / dl (Mean \pm S.D. 5.82 \pm 0.69 g / dl) で，両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表8)。

血清と卵胞液間のT.P.について，その相関関係を検討した結果， $r = 0.382$ ($P < 0.01$) であり，有意な正の相関関係が認められた (図53)。

2) 蛋白分画

セ・アセテート膜法により，セパラックスを用い血清及び卵胞液の電気泳動を行った。その際，卵胞液については前述のごとく，卵胞液中に筆丸ヒアルロニダーゼを加え，アルブミン分画に相当する部分の特異的な泳動像の改善をはかり，蛋白分画値を算出した。

血清37例の蛋白分画値について，アルブミンは32.9～64.2% (Mean \pm S. D. 43.5 \pm 6.0%)， α -グロブリンは4.1～23.5% (Mean \pm S. D. 16.1 \pm 3.5%)， β -グロブリンは6.5～15.8% (Mean \pm S. D. 11.2 \pm 2.6%)， γ -グロブリンは16.3～42.0% (Mean \pm S. D. 29.3 \pm 5.7%)，A/Gは0.490～1.795 (Mean \pm S. D. 0.794 \pm 0.237)であった(表8)。

卵胞液83例の蛋白分画値について，アルブミンは27.8～67.9% (Mean \pm S. D. 48.6 \pm 8.5%)， α -グロブリンは1.6～21.2% (Mean \pm S. D. 10.5 \pm 4.8%)， β -グロブリンは7.6～25.6% (Mean \pm S. D. 13.6 \pm 4.4%)， γ -グロブリンは12.0～40.6% (Mean \pm S. D. 27

.2 ± 6.2 %), A/G は 0.385 ~ 2.119 (Mean ± S.D. 1.000 ± 0.350) であった (表 8)。

卵胞液中のアルブミン, β -グロブリン, A/G は, 血清中のそれに比べ有意 (それぞれ $P < 0.01$, $P < 0.0$, $P < 0.05$) に高かったが, 卵胞液中の α -グロブリンは, 血清中のそれに比べ有意 ($P < 0.01$) に低いことが認められた。なお, γ -グロブリンについては, 両者間に有意差は認められなかった (表 8)。

血清と卵胞液間の各蛋白分画値について, その相関関係を検討した結果, アルブミン ($r = 0.416$, $P < 0.01$), γ -グロブリン ($r = 0.548$, $P < 0.01$) に有意な正の相関関係が認められた (図 54, 57)。しかし α -グロブリン, β -グロブリン, A/G については, 有意な相関関係は認められなかった (図 55, 56, 58)。

3) 尿素態窒素濃度

血清 36 例の B.U.N. は 10.0 ~ 31.0 mg / dl (Me

an \pm S. D. 18.3 ± 6.3 mg / dl) であり, 卵胞液 72 例では $10.0 \sim 32.0$ mg / dl (Mean \pm S. D. 17.5 ± 5.4 mg / dl) で, 両者間に有意差は認められなかった (表 8)。

血清と卵胞液間の B. U. N. について, その相関関係を検討した結果, $r = 0.780$ ($P < 0.01$) であり, 有意な正の相関関係が認められた (図 59)。

4) Na 濃度

血清 36 例の Na 濃度は $234.7 \sim 341.2$ mg / dl (Mean \pm S. D. 315.4 ± 20.0 mg / dl) であり, 卵胞液 80 例では $173.4 \sim 365.6$ mg / dl (Mean \pm S. D. 299.7 ± 34.5 mg / dl) で, 両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表 8)。

なお, 血清と卵胞液間には, Na 濃度について有意な相関関係は認められなかった (図 60)。

5) K 濃度

血清 36 例の K 濃度は $10.12 \sim 46.52$ mg / dl (Mean \pm S. D. 22.35 ± 6.40 mg / dl) であり,

卵胞液 82 例では $8.72 \sim 31.69 \text{ mg / dl}$ (Mean \pm S. D. $18.00 \pm 4.87 \text{ mg / dl}$) で、両者間に有意差 ($p < 0.01$) が認められた (表 8)。

なお、血清と卵胞液間には、K 濃度について有意な相関関係は認められなかった (図 61)。

6) Mg 濃度

血清 37 例の Mg 濃度は、 $1.867 \sim 3.641 \text{ mg / dl}$ (Mean \pm S. D. $2.775 \pm 0.375 \text{ mg / dl}$) であり、卵胞液 82 例では $1.331 \sim 3.750 \text{ mg / dl}$ (Mean \pm S. D. $2.577 \pm 0.446 \text{ mg / dl}$) で、両者間に有意差 ($p < 0.05$) が認められた (表 8)。

血清と卵胞液間の Mg 濃度について、その相関関係を検討した結果、 $r = 0.696$ ($p < 0.01$) であり、有意な正の相関関係が認められた (図 62)。

7) K / Na

血清 35 例の K / Na は $0.0333 \sim 0.1455$ (Mean \pm S. D. 0.0711 ± 0.0202) であり、卵胞液 80 例では $0.0273 \sim 0.1249$ (Mean \pm S. D. $0.0598 \pm 0.$

0161) で、両者間に有意差 ($P < 0.01$) が認められた (表 8)。

なお、血清と卵胞液間には、 K/Na について有意な相関関係は認められなかった (図 63)。

B. 子宮頰管粘液性状と卵胞液諸性状について

1) 子宮頰管粘液 pH と卵胞液諸性状について

子宮頰管粘液 pH を 6.49 以下, 6.50 ~ 7.49, 7.50 以上と 3 区分し, 各区分間の卵胞液諸性状 (T. P., 蛋白分画値, B. U. N., Na, K, Mg イオン濃度, K/Na) を検討した結果, 子宮頰管粘液 pH 6.49 以下の区分のアルブミン, A/G は子宮頰管粘液 pH 6.50 ~ 7.49 の区分のそれに比べ, 有意 (それぞれ $P < 0.05$, $P < 0.01$) に低いことが認められた。しかし他の成分については各区分間に有意差は認められなかった (表 9-1, 9-2)。

なお、子宮頰管粘液 pH と卵胞液諸性状の間

には、有意な相関関係は認められなかった（図 64 ～ 74）。

2) 子宮頰管粘液結晶像と卵胞液諸性状について

子宮頰管粘液結晶像と、無結晶一、結晶の程度の度合により軽度のものから順に I 型、II 型、III 型と 4 区分し、各区分間の卵胞液諸性状（T. P., 蛋白分画値, B. U. N., Na, K, Mg イオン濃度, K / Na ）を検討したが、有意差は認められなかった（表 10-1, 10-2）。

C. 考察及び小括

临床上卵胞嚢腫牛と診断されたホルスタイン種の経産牛について、同一牛の血清と卵胞液の諸性状について検討を加えた。

血清と卵胞液間の T. P. について、卵胞液中の T. P. は血清中のそれに比べ有意に低く、両者間に有意な正の相関関係が認められ、前述の屠場材料で卵胞の大きさ 18.1 mm 以上の区分の血清と卵胞液の成績と略同様の結果が得ら

れた。

血清と卵胞液間の蛋白分画値について、卵胞液中の α -グロブリンは血清中のそれに比べ有意に低く、アルブミン、 β -グロブリン、 A/G は有意に高いことが認められた。著者の成績は、卵胞嚢腫であるため、先人の報告と直接比較はできないが、これまで CARAVAGLIOS ら〔10〕は、牛卵胞液の蛋白分画値は血清のそれに比べ、 α -グロブリン、 γ -グロブリンが低く、アルブミンは高いことを報告し、さらに PEROFF ら(人)〔93〕、岩城〔36〕も同様な報告をしており、アルブミン、 α -グロブリンについては先人の報告と一致した。

また血清と卵胞液間の蛋白分画値の相関関係をみると、アルブミン、 γ -グロブリンに有意な正の相関関係が認められた。

すなわち卵胞液中の蛋白分画は血清のそれに類似し、低分子であるアルブミンの割合が多く、血清と卵胞液間のアルブミンに有意な

正の相関関係が認められたが、卵胞液成分が血清由来であるとすれば、血清成分の卵胞内ろ出が推定された。さらにγグロブリンについては、血清と卵胞液間に有意差が認められず、両者間に有意な正の相関関係が認められたが、同様血清成分の卵胞内ろ出が考えられる。

ところで血清と卵胞液間のγグロブリンに有意差の認められなかった点について、前述のごとく卵胞の大きさ18.0mm以下の卵胞液で、IgM、 α_2 Mなどの高分子量の蛋白質は認められず、卵胞の大きさ18.1mm以上の卵胞液でこれらの蛋白質が認められたが、血管—卵胞壁における選択的透過性の存在が推定されるだけに、卵胞嚢腫では血管—卵胞壁の透過性に変化をきたし、血清中と卵胞液中のγグロブリンに有意差が認められなかったものと考えられる。

血清と卵胞液間のB.U.N.について、両者間に有意差は認められなかったが、有意な正の

相関関係が認められ、前述の屠場材料で卵胞の大きさ $18.1 \mu\text{m}$ 以上の区分の血清と卵胞液の成績と略同様の結果が得られた。

血清と卵胞液間の Na 濃度について、卵胞液中の Na 濃度は血清中のそれに比べ有意に低かったが、両者間に有意な相関関係は認められなかった。さらに K 濃度、 K/Na についても同様であった。

血清と卵胞液間の Mg 濃度について、卵胞液中の Mg 濃度は血清中のそれに比べ有意に低く、両者間に有意な正の相関関係が認められた。

卵胞液中の Na, K, Mg 濃度、 K/Na について、いずれも血清のそれに比べ有意に低く、前述の屠場材料で卵胞の大きさ $18.1 \mu\text{m}$ 以上の区分の血清と卵胞液の成績とは一致しなかったが、これは卵胞液及び血清の採取条件の違いによることが考えられる。すなわち屠殺後の経過時間によって卵胞液中の K 濃度は増加する傾向があるので、生体からの採取と屠体

からの採取ではこのような差異が出てくるものと考えられる。

子宮頸管粘液性状と卵胞液諸性状について、子宮頸管粘液PHが6.49以下の区間と6.50～7.49の区間に、アルブミン、A/Gに有意差を認めたが、その関係については不明であった。しかし子宮—卵巣系の関係については、これまで種々の研究があり、その関連性について報告されているので、子宮の変化が卵胞液諸性状に影響を及ぼすことは考えられ、今後の課題としたい。

5. in vitro における牛卵胞液の精子運動性に及ぼす影響について

A. 研究材料

卵胞液，血清については前述のとおりである。

精液は麻布獣医科大学で飼養中のジャージー種から，人工膣法で採取し，一般性状に異常のないことを確認の上実験に供した。

B. 研究方法

精子浮遊液の作製：精液稀釈用グルコチトラート液で原精液を10倍に稀釈し，1500 r. p. m.，5分間遠心沈澱，洗浄し，さらに同様操作を2回実施し，最終的にグルコチトラート液で原精液を10倍稀釈して，精子浮遊液とした。

精子と卵胞液の接触及び検査法：小試験管に0.5 mlの卵胞液を入れ，毛細ピペットで1滴精子浮遊液を添加，軽く攪拌し，室温（15℃）に静置，経時的にその少量をスライドグラス上に滴下し，加温装置上で鏡検し，精子

生存率，活力，凝集状態を観察し，グルコチトレート液 0.5 ml に精子浮遊液を同様操作したものと対比した。なお，血清についても同様操作を行った。

なお，操作は可能な限り無菌的に行った。

判定のめやす：

生存率 400倍拡大顕微鏡下で，スライドグラス上の精子の生存している割合を観察した。

活力 混合液中の大部分の精子の状態により下記のとおり区分した。

卍 非常に活潑な前進運動を示しているもの。

卍 活潑な前進運動を示しているもの。

卍 適度の前進運動を示しているもの。

十 弱い前進運動を示しているもの。

土 振子運動などを示しているもの。

一 全く運動性のないもの。

凝集 混合液中の大部分の精子の状態により下記のとおり区分した。

卅 多数の精子が頭部を集めた集団が視野全体に観察されるもの。

廿 少数の精子が頭部を集めた集団が視野全体に観察されるもの。

十 少数の精子が頭部を集めた集団が視野に数個観察されるもの。

一 精子が頭部を集めた集団が視野に観察されないもの。

その他卵胞液について、採取卵胞の大きさ、卵胞液の色調、T. P., B. U. N., Na, K, Mgイオン濃度などの測定は前述のとおりである。

C. 研究成績

1) 精子生存率と生存時間に及ぼす影響について

精子生存率について、牛 No. 1 の 3 つの異った卵胞由来の卵胞液について検査した結果、精子浮遊液と混合後 72 時間目では、各卵胞液はそれぞれ 70, 70, 80 % の精子生存率を示し、84 時間目、それぞれ 50, 70, 0 %, 96 時間

目、それぞれ 0, 50, 0%, 108 時間目では、いずれも 0% であることが観察された (表 11, 図 75)。牛 No. 2 の 2 つの異った卵胞由来の卵胞液について検査した結果、精子浮遊液と混合直後の検査で、各卵胞液はそれぞれ 90, 40% の精子生存率を示し、36 時間目では、70, 0% と精子生存率に大きな差が認められた (表 11)。牛 No. 3 の 3 つの異った卵胞由来の卵胞液について検査した結果、精子浮遊液と混合後 72 時間目では、各卵胞液はそれぞれ 80, 70, 40% の精子生存率を示し、84 時間目では、いずれも 0% であることが観察された (表 11)。

牛 No. 1 の血清は、同一牛の卵胞液に比べ、精子浮遊液と混合後 36 時間目では、卵胞液の精子生存率 80% に比べ 60% と低く、以後時間の経過に伴い次第に精子生存率は低下することが観察された (表 11)。牛 No. 2 の血清は、精子浮遊液と混合直後の検査で 90% の精子生存率を示したが、一方同一牛の 2 つの異った

卵胞由来の卵胞液での成績は、各卵胞液はそれぞれ90, 40%であり、36時間目では、血清40%、各卵胞液はそれぞれ70, 0%の精子生存率が観察された(表11)。

以上の成績と精子浮遊液(対照)を比べると、対照では精子浮遊液と混合後24時間を経過すると精子生存率は急激に低下するが、卵胞液では精子浮遊液と混合後ただちに精子生存率の低下するもの、72時間を経過してと精子生存率の低下しないもの、対照と略同様の変化をするものなどが観察された。また血清は対照に比べ、精子生存率は、精子浮遊液と混合後48時間前後まで若干良好な傾向が観察された(表11, 図77)。

精子生存時間について、精子浮遊液と混合後精子の生存している卵胞液は、24時間目、24例中24例(100.0%)、48時間目、24例中23例(95.8%)、72時間目、24例中21例(87.5%)、96時間目、24例中5例(20.8%)、120時間目、24例中0例(0%)であること

が観察された(表12)。つまり卵胞液中の精子生存時間は、各卵胞液により差のあることが認められた。また個々の血清について若干の差があり、卵胞液に比べ、精子生存時間は長いものと観察された(表11)。

以上の成績と精子浮遊液(対照)を比べると、精子生存時間は、卵胞液、血清とともに対照に比べ優れてはいなかった(表11)。

2) 精子活力に及ぼす影響について

精子活力について、牛No.1の3つの異った卵胞由来の卵胞液について検査した結果、精子浮遊液と混合後48時間目では、各卵胞液はそれぞれⅡ, Ⅲ, Ⅱの精子活力を示し、60時間目、それぞれⅠ~Ⅲ, Ⅲ, Ⅲと急激に精子活力の低下が観察された(表11, 図76)。

牛No.2の2つの異った卵胞由来の卵胞液について検査した結果、精子浮遊液と混合後12時間目では、各卵胞液はそれぞれⅢ, Ⅲ~Ⅳの精子活力を示し、24時間目、それぞれⅢ, Ⅲ~Ⅳ, 36時間目、それぞれⅢ, Ⅲと精子活力

に大きな差が認められた(表11)。牛No.3の3つの異った卵胞由来の卵胞液について検査した結果、精子浮遊液と混合後24時間目では、各卵胞液はそれぞれ卅、卅、卅の精子活力を示し、以後時間の経過に伴い次第に精子活力は低下することが観察された(表11)。

牛No.1の血清は、同一牛の卵胞液に比べ、精子浮遊液と混合後48時間目では、卵胞液の精子活力が卅ないし卅であるのに対し土と精子活力に大きな差が認められた(表11)。牛No.2の血清は、精子浮遊液と混合後12時間目では卅の精子活力を示したが、一方同一牛の2つの異った卵胞由来の卵胞液での成績は、各卵胞液はそれぞれ卅、十~卅であり、24時間目では、血清卅、各卵胞液はそれぞれ卅、一~土の精子活力が観察された(表11)。

以上の成績と精子浮遊液(対照)を比べると、対照では精子浮遊液と混合後12時間を経過すると精子活力は急激に低下するが、卵胞液では精子浮遊液と混合後12時間目ですでに

精子活力の低下しているもの、48時間を経過して活力の低下するもの、対照と略同様の変化をするものなどが観察された。また血清は対照に比べ、精子活力は、多少良好な傾向が観察された（表11、図78）。

さらに卵胞液と精子浮遊液の混合直後の検査では、血清及び対照の場合に比べ、卵胞液中の精子活力は良好なものが観察された（表11）。

3) 精子凝集性に及ぼす影響について
血清と精子浮遊液を混合直後ただちに検査すると、血清中の精子は頭部を集め凝集する所見（図79）が全例（7例）観察されたが、その所見の時間の経過に伴う変化は観察されなかった。

卵胞液と精子浮遊液を混合直後ただちに検査すると、全く精子凝集の認められないもの、血清の所見と同様の精子凝集状態のもの、血清の所見より軽度の精子凝集状態のものと3通りの所見が観察され、さらに時間の経過

に伴い精子凝集状態が変化するものも観察された。

表示はしていないが、卵胞液中の精子凝集状態は、各卵胞液により差があり、同一牛の卵胞液でも精子凝集状態に差のあることが認められた。

4) 精子運動性と卵胞液諸性状について

卵胞液と精子浮遊液を混合後24時間目、48時間目の検査で、卵胞液中の精子生存率、活力とともに精子浮遊液（対照）に比べて、良好であるもの（良好）、同程度であるもの（普通）、それ以下であるもの（不良）と3区分し、各区分間の卵胞液諸性状（卵胞の大きさ、T.P., B.U.N., Na, K, Mgイオン濃度、K/Na）について検討したが、有意差は認められなかった（表13）。

卵胞液と精子浮遊液を混合後の精子凝集状態と卵胞液諸性状について検討した。精子凝集状態を検査期間中精子凝集の全く観察され

なかったもの(一), 精子浮遊液と混合直後精子凝集が観察されず, 混合後12時間目以降精子凝集の観察されたもの(一→十≧), 精子浮遊液と混合直後軽度の精子凝集が観察され, 混合後12時間目以降精子凝集程度の大きくなったもの(十→十≧), 精子浮遊液と混合直後から精子凝集程度の大きかったもの(十≧)と4区分し, 各区分間の卵胞液諸性状について検討した結果, 卵胞の大きさ, 卵胞液中のB. U. N., Na, K, Mgイオン濃度, K/Naには, 有意差が認められなかった。しかし卵胞液中のT. P. には, 精子凝集程度による差が認められ, しかも精子凝集程度が大きくなるのに伴い, 卵胞液中のT. P. が高くなる傾向が認められた($P < 0.01$) (表14, 図80)。さらに卵胞液中の精子凝集状態と卵胞液の色調について検討した結果, 精子凝集程度が大きくなるのに伴い, 黄色の卵胞液の割合が増加する傾向が認められた($P < 0.01$) (表15, 図81)。

D. 考察及び小括

受精現象が成立する為には、精子が雌生殖器官内を上昇して、卵管膨大部に至り、排卵された卵子と会合し、同時に卵胞液とを接触する。これら一連の経過に伴うそれぞれの場で精子がどのような影響を受け、どのような対応を示すかについては多くの研究がなされているが、未知な部分を残されている。

著者の実験は、牛卵胞液と精子との相互の関連を、精子運動性に及ぼす影響を中心に観察したものであるが、精子については、雌生殖器官を上行してきた精子ではないので、厳密な意味では、自然の状態における卵子や卵胞液との遭遇とは多少異った形であることは否定できず、考慮の余地を残しているが、一応一般的な方法に準じて実施したものである。

KURZROK ら〔47〕は、人の場合、卵胞液が精子の運動速度を増し、また運動持続時間を延長すると報告しており、以後 PERLOFF ら〔93〕、BALIN〔6〕、岩城〔36〕、松井〔59〕

}, 佐藤〔99〕により同様な報告がなされている。

牛について、OLDSら〔83〕, 岩城の同様な報告があり, RUMJANCEVら〔98〕, OLDSらは発情期の卵胞液は精子の運動性, その他に對し促進的な作用を示すが, 非発情期のものは精子を死滅あるいは凝集させると述べ, 性周期による違いを認めているが, 一方岩城, 松井(人)はこれを認めていない。

著者の成績では, 全ての卵胞液が必ずしも精子の生存率, 活力等に対し, 好条件のものばかりでなく, それぞれの卵胞液は精子に對して, 抑制的あるいは促進的な, なんらかの影響を与えていると考えられる結果を得たが, 今回の卵胞液は屠場材料のため, 正確に発情期のものかどうかの判定には無理があるので, OLDSらのいう性周期による違いについての結論は出せなかった。しかし卵胞の大きさによる一定の傾向は認められなかった。

精子に對する作用因子がどのようなもので

あるかについては、BALIN, 松井, HICKS [26], GROTTJAN ら [23] は、いずれも不明であると報告している。今回精子生存率、活力等に対する卵胞液中の蛋白質、電解質濃度等の影響について検討したが、この範囲内では特別な関係は見い出せなかった。しかし精子凝集現象では、卵胞液中の T.P. の増加に伴い、精子凝集程度の大きくなる傾向が認められた。LINDAHL [50] によれば、牛正常卵胞液中の精子凝集因子は高分子物質、抗凝集因子は低分子物質であろうと報告しているが、高橋(人) [117] はそのような結果を認めていない。著者の成績で、血清については、全てに精子凝集を認め、また血清中の菌体抗体が卵胞液中へ移行することを観察している(後述)ので、卵胞液で精子凝集をおこしたものは、その物質は不明であるが蛋白質あるいはその他の物質、または精子と共通抗原をもつ何らかの抗原に対する抗体等の存在と考えられるかもしれないが、これらが血清中から

卵胞液中へ滲出移行し、精子凝集をおこしている可能性も考えられる。一方表示はしなかったが同一牛の異った卵胞由来の卵胞液について、精子を凝集するものとそうでないものがあるので、卵胞の機能そのものとも関係のあることが示唆された。

卵胞液中の精子凝集状態と卵胞液の色調に関する報告はみあたらないが、著者の成績では、卵胞液中の精子凝集程度が大きくなるのに伴い、黄色の卵胞液の割合が増加する傾向が認められた。このことは前述のごとく、黄色の卵胞液では比較的 T. P. の高い傾向から、そのあたりに原因があるのかともしれない。

6. 牛血清中抗体の卵胞液内移行について
血清中の成分の卵胞液内移行の有無を目的
とし、ブルセラ死菌で免疫した牛の血清及び
卵胞液の凝集価を観察した。

A. 研究材料

牛血清中抗体産生のための抗原はブルセラ
診断用菌液（家衛試）を用いた。

抗原投与牛は麻布獣医科大学で飼養中のホ
ルスタイン種の経産牛（年令約11才，♀，卵
胞嚢腫）を用いた。

B. 研究方法

ブルセラ診断用菌液を遠心沈澱（3000 r. p.
m., 30分間）後，上清を捨て，生理食塩液を
元の液量まで加えた菌液を下記の様に注射し
た。

第1回目は，菌液 3.0 ml を頸静脈内注射し
，以後3～10日間隔で4回，菌液 5.0～8.0
ml を臀筋内注射した。

なお，血清及び卵胞液の採取は，抗原投与
16日前と抗原投与終了後10日目に行い，血清

及び卵胞液のブルセラ試験管内凝集反応は、採取後ただちに行つた。

C. 研究成績

免疫前の血清及び卵胞液は、抗原投与日より16日前に採取し、それぞれブルセラ診断用菌液で試験管内凝集反応を行つたところ、ブルセラ陰性であつた(表16)。

免疫後の血清及び卵胞液は、抗原投与終了後10日目に採取し、それぞれブルセラ診断用菌液で試験管内凝集反応を行つたところ、血清、卵胞液ともにブルセラ陽性であつた。同時に採取した子宮頰管粘液を、生理食塩液中に一昼夜放置し、ついでその抽出液をブルセラ診断用菌液で試験管内凝集反応を行つたところが、ブルセラ陰性であつた(表16)。

なお、免疫後の材料採取時、左右卵巢に卵胞が1個づつ存在し、それぞれの卵胞より卵胞液を採取した。左卵胞液は抗原投与期間中をとおして卵巢に存在していた卵胞より採取したもの、右卵胞液は抗原投与終了後7日目

より卵巣に新しく出来てきた卵胞より採取したもので、同一牛の卵胞液でも、ブルセラ凝集価に若干の差が観察された(表16)。

D. 考察及び小括

一般に抗体の産生部位は網状織内皮系，特にリンパ節が重要な部位とされ，抗体は抗原の接触を受けた動物の血清内に存在し，さらにその他の組織液中にも含まれている。そこで著者は，ブルセラ死菌で牛を免疫し，血清及び卵胞液の凝集価を観察した。その結果，ブルセラ死菌で免疫した牛の血清中及び卵胞液中にブルセラ抗体を認めたが，試験牛が卵胞嚢腫であったために，正常な卵胞壁の機能と異なり，血管—卵胞壁の膜透過性に変化をきたし，高分子量であるIgG, IgMが血清中より卵胞液中へ滲出移行した結果であるとしても，ブルセラ抗体が卵巣で産生されていることは考えられず，血清中のブルセラ抗体が卵胞液中へ滲出移行しているものと考えられ，卵胞液成分の血清由来が考えられる。

なお、同一牛の卵胞液でも、ブルセラ凝集価に若干の差が観察されたことは、それぞれの卵胞の発育時期の違い、さらには各卵胞壁の透過性の違いによるものと考えられる。

7. 牛卵胞液のラット性周期，妊娠などに及ぼす影響について

卵胞液中には種々な成分が存在し，それらの成分のいくつかは卵胞の大きさに伴い変化をしている。そしてさらに受精現象が成立する際に，卵胞液が重要な役割をはたしていることが考えられ，そこで牛卵胞液のラット繁殖生理に及ぼす影響について観察を行った。

A 研究材料

牛卵胞液は，横浜市食品衛生検査所で前述のごとく採取したものを，卵胞の大きさを直径 8.0 mm 以下， $8.1 \sim 13.0\text{ mm}$ ， $13.1 \sim 18.0\text{ mm}$ ， 18.1 mm 以上に4区分し，各区分それぞれプールして実験に供した。

ラットは，麻布獣医科大学家畜臨床繁殖学教室で自家繁殖をした10週令（未経産）のウイスター今道系を用いた。なお，ラットは性周期に異常のないことを確認の上実験に供した。

B. 研究方法

ラットは3匹ずつ5群に分け、卵胞の大きさ8.0 mm以下の卵胞液0.1 mlを7月間隔で3回皮下注射したラットを第I群とした。以下、第II群は卵胞の大きさ8.1~13.0 mmの卵胞液、第III群は卵胞の大きさ13.1~18.0 mmの卵胞液、第IV群は卵胞の大きさ18.1 mm以上の卵胞液を第I群と同様に操作したラットである。なお、生理食塩液を第I群と同様に操作したラットをコントロール群（以下C群と略す）とした。

ラットの性周期の確認は、腔粘液の検査によった。

各ラットは、卵胞液投与終了後の初回の発情前期に交尾を行い、受精の確認、妊娠期間、分娩状態、産仔数、哺乳状態の観察を行った。

C. 研究成績

1) ラット性周期に及ぼす影響について

卵胞液を投与した各群と、C群に比べ、

ラットの腔粘液検査による性周期の違いは観察されなかった（図 82）。

2) ラット妊娠期間，分娩状態，産仔数，哺乳状態に及ぼす影響について
 Ⅲ群—3 に偽妊娠が観察された以外，卵胞液を投与した各群とも，C 群に比べ，ラットの妊娠期間，分娩状態，産仔数，哺乳状態に違いは観察されなかった（表 17）。なお，Ⅲ群—3 は性周期回帰後，交尾させると妊娠し，C 群に比べ，検査項目に違いは観察されなかった（表 17）。

D. 考察及び小括

卵胞液中には，ステロイドホルモンをはじめ種々な成分が存在しており，またそれら成分のいくつかは卵胞の大きさに伴い変化をしている。そしてさらに受精現象が成立する際に，卵胞液が重要な役割を果たしていることが考えられ，そこで牛卵胞液をラットに体外より投与して，ラットの繁殖生理について観察を行ったところ，何ら変化は認められな

った。なお、FERRANDOら〔19〕と同様な実験を行い、牛卵胞液の家兎、ラットの排卵に及ぼす影響を観察しているが、何ら影響は認められなかったと報告している。

著者の実験で、卵胞液の投与方法、投与量等検討する余地はあると考えられるが、卵胞液のような一種の体液が、他の成熟雌動物の繁殖生理に影響を及ぼすことは少ないものと考えられる。

第Ⅳ章 考察及び総括

牛卵胞液の色調について、濃淡の違いはあるが大部分のものは、森ら〔65〕の報告と同様帯黄色であった。しかし一部無色の卵胞液を持つ卵胞が存在し、これらの卵胞を観察すると、卵胞壁は薄く、卵巣実質内へのくい込みがなく、卵巣表面で突出しており、正常の卵胞とは区別されるべきものと考えられ、おそらく卵胞内壁層の発達が悪く、機能も不良なため、卵胞液成分の濃度にもかなりの差が生じたものと考えられる。

牛卵胞液のセルローズ・アセテート膜電気泳動像で、アルブミン分画に相当する部分に血清では観察されない特異的な泳動像が認められたが、これは関節液を電気泳動したときに観察される泳動像とよく似ており、おそらくヒアルロン酸などの酸性ムコ多糖体及びその水解産物による影響と考えられる。この点については、卵胞液に筆丸ヒアルロニダーゼを添加し電気泳動を行った結果、畑下〔25〕

の関節液についての報告と同様，特異的な泳動像の消失や改善が観察されたことから推察される。そこで卵胞液中の酸性ムコ多糖体の検出を行った結果，卵胞液中には多量の酸性ムコ多糖体が存在し，しかも各卵胞液中のA. M. P. に差のあることが認められた。また電気泳動法を用い卵胞液中の酸性ムコ多糖体の種類について定性を行った結果，コンドロイチン硫酸A及びヘパラン硫酸の2種類が確認された。これまでJENSENら〔38〕，高山ら〔120〕，ZACHARIAE〔148〕などは，卵胞液中の酸性ムコ多糖体はヒアルロン酸が主であると報告しているが，著者の成績ではコンドロイチン硫酸Aが主であった。

最近，酸性ムコ多糖体は結合組織を構成する重要な因子として注目を集めており，産婦人科領域でも，卵胞の発育，排卵，受精，着床という現象，妊娠，分娩，腫瘍との関連及び酵素，ホルモンとの関係など新しい分野を開拓しつつある。そのなかで安田〔139〕，ZA

CHARIAE などは卵胞液中の酸性ムコ多糖体の由来を ^{35}S を用いたオートラジオグラフィにより観察し、コンドロイチン硫酸が卵及びその周囲に増加し、卵胞液中にも漸次増加すると報告し、また高山らは牛顆粒膜細胞の細胞培養を行い、その培養ろ液中より酸性ムコ多糖体を検出した結果、酸性ムコ多糖体の合成が顆粒膜細胞で行われることを報告している。著者は牛顆粒膜細胞の細胞培養を行ない、その培養ろ液中より酸性ムコ多糖体の検出を試みたが、著者の行った方法では検出できなかった。

さらに卵胞の発育、排卵などに演ずる酸性ムコ多糖体について、これまで先人は、ヒアルロン酸が主体であり、卵胞の発育に伴いその濃度は急激に減少し、卵胞液の滲透圧に関与して排卵へ導くと報告しているが、著者の成績では、卵胞液中にヒアルロン酸は検出できず、コンドロイチン硫酸A及びヘパラン硫酸の2種類の酸性ムコ多糖体が検出され、し

かもそれらの濃度が卵胞の大きさに伴い、変化をすることが認められ、酸性ムコ多糖体の種類に先人の報告と差はあるものの、それらが卵胞の発育に関与していることはうかがえた。

血清と卵胞液間の各成分の比較では、T. P., B. U. N., Na, K, Mgイオン濃度, K / Naなど大部分のものに有意差が認められ、CARAVAGLIOS ら〔10〕, DESJARDINGS ら〔12〕の報告と似た成績が得られた。

血清と卵胞液間の各成分の相関関係をみると、T. P., B. U. N., Na, Mgイオン濃度に有意な正の相関関係が認められた。

また血清及び卵胞液の免疫電気泳動的解析では、血清で検出されず卵胞液で検出された1本の沈降線並びに血清及び卵胞の大きさ18.1mm以上の区分の卵胞液で検出され、18.0mm以下の各区分の卵胞液で検出されなかった2本の沈降線が観察され、しかもその観察された2本の沈降線は、IgM及び α_2 Mであること

が確認された。なお、他の検出された沈降線は血清、卵胞液とともに共通であった。以上のこと及び血清中の菌体抗体が卵胞液中へ移行することから、卵胞液中の蛋白質は血清に由来しているものと、卵胞液特有のものがあり、さらに各卵胞の血管—卵胞壁には分子量が小さいために起こる単純な物理的拡散ではなく、選択的透過性があるものと考えられる。

卵胞の大きさと卵胞液中の各成分との関係で、有意な正の相関関係が認められたのは、Na濃度、有意な負の相関関係が認められたのは、A.M.P., Ch.-A, H.S., H.S./Ch.-A, K, Mgイオン濃度, K/Naなどであり、そのうち特にA.M.P., H.S., H.S./Ch.-A, K濃度, K/Naの卵胞の大きさに伴う変化は大きかった。A.M.P.については、JENSENら、高山らの報告と同様であったが、Na濃度について森らは発情期には他の時期より低下するとし、著者の成績と逆であった。なお、K濃度については、岩城〔34〕の報告と同様であった。

。このように部分的に違いがあるのは、対象とする卵胞が必ずしも同質のものではないことに起因することもあると考えられるが、いずれにしても卵胞のステージにより、それぞれ差のあることが示された。

また卵胞の大きさと卵胞壁の組織像について、卵胞の発育が旺盛になりつつあると考えられる直径13.1~18.0 mmの卵胞に、顆粒膜細胞層と接する内英膜層の表層部に、毛細血管の増生及び充血像が観察され、血液と卵胞液の機能的交流の存在が示唆された。

さらに卵胞液は、排卵後、精子と必然的に接触する運命にある以上、卵胞液の精子に対する影響は当然考慮しなければならない問題と考えられ、KURZROKら〔47〕が、人の卵胞液は人精子の運動速度を増し、運動持続時間を延長すると報告して以来、多くの研究者がこれを追試している。著者の成績では、それぞれの卵胞液は精子に対して抑制的あるいは促進的な、なんらかの影響を与えていること

が認められた。しかし精子に対する卵胞液の作用因子については、先人の報告と同様不明であった。

著者の成績で、血清では全例に精子凝集現象が観察され、卵胞液では、卵胞液中の T. P. の増加に伴い精子の凝集程度が強くなる傾向が認められ、さらに血清中の菌体抗体が卵胞液中に移行することを観察しているので、精子凝集をおこす物質は不明であるが、蛋白質あるいはその他の物質が血清中から卵胞液中へ滲出移行して精子凝集をおこす可能性と考えられる。さらに同一牛の卵胞液でも、それぞれの卵胞由来により精子凝集現象に差が認められたので、卵胞の機能そのものとも関係のあることが示唆された。

第Ⅴ章 結 論

著者は、卵胞液の性状、卵胞液の生成及び卵胞の發育に伴う卵胞液の変化の有無を知る目的で研究を行い、次の所見を得た。

1. 卵胞液の色調は、一般に帯黄色を示し、無色及び着色卵胞液の含有成分を比べた結果、それらの濃度に著しい差が認められた。

2. 卵胞液中 T. P. は血清中のそれより低く、両者間に有意な正の相関関係が認められた。

3. セ・アセテート膜法で卵胞液の電気泳動を行った結果、アルブミン分画に相当する位置に血清泳動像には観察されない特異的な泳動像が認められ、さらにこの特異的な泳動像は卵胞液中の酸性ムコ多糖体とアルブミンの結合に起因していることがうかがえた。

4. 免疫電気泳動的解析の結果、血清及び卵胞液で検出された沈降線は大部分共通であったが、卵胞液には、血清で検出されなかった1本の沈降線（ある種の蛋白質）が観察さ

れた。また卵胞の大きさが18.1 mm以上の卵胞液には、卵胞の大きさが18.0 mm以下の卵胞液で検出されなかった2本の沈降線 (IgM, α_2 M) が観察された。

5. 卵胞液中 B. U. N. は血清中のそれより低く、両者間に有意な正の相関関係が認められた。

6. 卵胞液中の酸性ムコ多糖体は、コンドロイチン硫酸 A 及びヘパラン硫酸の2種類であり、いずれも卵胞の大きさが大きくなるのに伴いその濃度は減少することが認められた。

7. 卵胞液中 Na 濃度は血清中のそれより低く、卵胞の大きさが13.1 ~ 18.0 mm, 18.1 mm 以上の区分で、両者間に有意な正の相関関係が認められた。

8. 卵胞液中 K 濃度は卵胞の大きさが大きくなるのに伴い減少することが認められた。

9. 卵胞液と血清間の Mg 濃度は、卵胞の大きさが18.0 mm 以下, 18.1 mm 以上の区分で、有意

な正の相関関係が認められた。また卵胞液中のMg濃度は卵胞の大きさが大きくなるのに伴い減少することが認められた。

10. 卵胞液中K / Naは卵胞の大きさが大きくなるのに伴い低下することが認められた。

11. 直径13.1 ~ 18.0 mmの卵胞の内莢膜層で、毛細血管の増生及び充血像が観察された。また直径18.1 mm以上の卵胞の顆粒膜細胞層、内莢膜層は、扁平で粗鬆なものが多く、なかには一部欠損しているものも観察された。

12. 菌体抗体は比較的容易に血清中から卵胞液中に移行することが認められた。

13. 卵胞液性状と子宮頸管粘液性状との間に、著明な点は認められなかったが、一部何らかの関連性のある面も示唆された。

14. 精子運動性に対する卵胞液の影響は、各卵胞液によりかなりの差のあることが認められた。

以上、卵胞液の成からは、血清に由来するものがかなりあるが、その濃度は卵胞自身の機

能によつても影響されることが示唆された。

謝

辞

稿を終わるにあたり、御指導御校閲を賜わ
りました麻布獣医科大家畜臨床繁殖学教室
大地隆温教授、実験に際し、御指導を賜わ
りました紫野正雄助教授、川上静夫講師及び材
料を提供していただいた横浜市食品衛生検査
所増田敬三所長並びに関係各位、群馬県勢多
郡新里村宮原雅教獣医師、また酸性ムコ多糖
体の検出にあたり御指導を賜わりました生化
学工業 K.K. 小倉卓研究員、卵胞壁組織像の鏡
検にあたり御指導を賜わりました麻布獣医科
大家畜内科学教室杉浦邦紀教授、免疫電気
泳動を行うにあたり御協力いただいた同大学
家畜衛生学教室の各位に深謝いたします。

参 考 文 献

- [1] 阿部恒夫, 中野光志(1972). 牛乳中の血清アルブミンおよび免疫グロブリンGの免疫学的定量. 日畜会報, 43, 493~498.
- [2] 天野悦男 (1965). 家兔卵胞卵の体外受精. 日産婦誌, 17, 1091~1098.
- [3] 旭正一, 尾上薫 (1968). 抗原抗体実験法 (I) 抗体の精製法. 代謝, 5, 895~902.
- [4] 青木紀生 (1972). ディスク電気泳動法. 衛生検査, 21, 1061~1066.
- [5] 青木哲雄, 川合忠, 山岸安子, 広中孝作, 村井操, 村井哲朗, 室岡益子, 伊賀元子, 信岡学, 岡本弘, 小西奎子, 寺畑喜朔, 勝田祐年 (1972). 免疫電気泳動法について. 衛生検査, 21, 1013~1019.
- [6] BALIN, H. (1958). Follicular and tubal fluids in the reproductive process. Amer. J. Obst. & Gynec., 76, 30~36.
- [7] BLAKESLEE, D., BUTLER, J. E., and STONE, W. H. (1971). Serumantigens of cattle II. Immunogenetics of two immunoglobulin allotypes. J. Immunol., 107, 227~235.
- [8] BULTER, J. E. (1969). Bovine immunoglobulins a review. J. Dairy Sci., 52, 1895~1909.
- [9] BULTER, J. E., MAXWELL, C. F., PIERCE, C. S., MYLTON, M. B., ASOFISKY, R., and KIDDY, C. A. (1972). Studies on the relative synthesis and distribution of IgA and IgG in various tissues and body fluids of the cow. J. Immunol., 109, 38~46.
- [10] CARAVAGLIOS, R., and CILOTTI, R. (1957). A study of the proteins in the follicular fluid of the cow. J. Endocr., 15, 273~278.
- [11] CERLETTI, P., and ZICHELLA, L. (1961). Nucleotidase, nucleotides, vitamins and coenzymes in the follicular fluids of human ovary. Clin. Chim. Acta., 6, 581~582.

- [12] DESJARDINS, C., KIRTON, K. T., and HAFS, H. D. (1966).
Some chemical, immunochemical and electrophoretic
properties of bovin follicular fluid. *J. Reprod.*
Fertil., 11, 237 ~ 244.
- [13] DORFMAN, A. (1958). Studies on the biochemistry of
connective tissue. *Pediatrics*, 22, 576 ~ 589.
- [14] DUNCAN, J. R., WILKJE, B. N., HIESTEND, F., and WINTER, A. J.
(1972). The serum and secretory immunoglobulins of
cattle, characterization and quantitation. *J. Immunol.*,
108, 965 ~ 976.
- [15] EDWARDS, R. G., BAVISTER, B. D., and STEPTOE, P. C. (1969).
Early stages of fertilization in vitro of human
oocytes matured in vitro. *Nature*, 221, 632 ~ 635.
- [16] 遠藤正彦, 吉沢善作 (1970). 兔子宮多糖体代謝と性ホルモン (5).
生化学, 42, 816 ~ 817.
- [17] ENDO, M., and YOSIZAWA, Z. (1973). Hormonal effect on
glycoproteins and glycosaminoglycans in rabbit uteri
Arch. Biochem., 156, 397 ~ 403.
- [18] ESPEY, L. L., and LIPNER, H. (1965). Enzyme-induced
rupture of rabbit graffian follicle. *Amer. J. Physiol.*,
208, 208 ~ 213.
- [19] FERRANDO, G., VILLOUTA, G., GONZALES, E., and
EILER, H. (1974). Effect of bovine follicular fluid
on ovulation in rabbit and rats. *Amer. J. vet. Res.*, 35,
285 ~ 287.
- [20] GELOTTE, B., FLODIN, P., and KILLANDER, J. (1962).
Fractionation of human plasma proteins by gel
filtration and zone electrophoresis or ion-exchange
chromatography. *Arch. Biochem.*, suppl. 1, 319 ~ 326.

- [21] GLASS, L. E. (1963). Transfer of native and foreign serum antigens to oviducal mouse eggs.
Amer. Zoologist., 3, 135~156.
- [22] GRABAR, P., and WILLIAMS, C. A. (1953). Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin.
Biochim. biophys. Acta, 10, 193~194.
- [23] GROTHAN, H. E., DAY, B. N., and MAYER, D. T. (1974). Porcine spermatozoan respiration in the presence of porcine follicular fluid. J. Anim. Sci., 38, 1235~1238.
- [24] 畑隆一郎 (1973). 酸性ムコ多糖の微量分析法. 蛋白質核酸酵素, 18, 843~857.
- [25] 畑下敏行 (1971). 関節液蛋白. 臨床病理, 臨増 12, 89~95.
- [26] HICKS, J. J., PEDRON, N. and ROSADA, A. (1972). Modifications of human spermatozoa glycolysis by cyclic adenosine monophosphate (cAMP), estrogens, and follicular fluid. Fertil. & Steril., 23, 886~893.
- [27] 平岡晃正 (1971). 卵巣機能の形態学的研究. 日本不妊学会誌, 16, 51~63.
- [28] 平良実 (1974). 免疫電気泳動法の定量化の基礎的検討とその整形外科的体液 (関節液, 熱傷浸出液) への応用. 東京医科大学雑誌, 32, 333~350.
- [29] 久本洋文, 下村虎男 (1970). 子宮内膜に於ける酸性 MUCO 多糖体の生化学的研究. 日産婦誌, 22, 913.
- [30] 檜山登, 佐々木照司, 中畑千春 (1973). 血液型活性糖タンパク質 (ABH式および Lewis式) における糖質部分の構造に関する研究. 弘前医学, 25, 167~187.

- [31] 本田昭博 (1965). 卵巣の培養に関する研究 . 日本不妊学会誌 , 10, 25 ~ 37 .
- [32] 本田由美子 (1970). 卵胞ホルモンの血管透過性亢進に対する作用 . 日内分泌誌 , 45, 1607 ~ 1613 .
- [33] 本間惣太 , 須川章夫 (1959). 牛卵胞の発育過程について . 家畜繁殖誌 , 5, 93 ~ 98 .
- [34] 稲垣克彦 , 柳沢勉 (1974). カルシウム . 臨床検査 , 18, 161 ~ 166 .
- [35] 入谷明 (1972). 哺乳動物の卵管および子宮分泌液の生理的意義 — とくに精子を中心として — . 医学のあゆみ , 82, 971 ~ 983 .
- [36] 岩城章 (1959). 卵胞液の諸性状に就いて , 特に血清との比較 . 日本不妊学会誌 , 4, 243 ~ 256 .
- [37] JENSEN, I. K. (1963). Electrophoretic studies of normal bovine and guineapig serum. *Acta. vet. Scand.*, 4, 64 ~ 84 .
- [38] JENSEN, C. E., and ZACHARIAE, F. (1958). Studies on the mechanism of ovulation—Isolation and analysis of acid mucopolysaccharides in bovine follicular fluid. *Acta Endocr.*, 27, 356 ~ 368 .
- [39] 加藤暎一 , 野本保夫 (1971). 輸液の素材としての Na. 最新医学 , 26, 253 ~ 258 .
- [40] 加藤俊 , 薬師寺道明 , 津田裕文 , 下村雅伯 (1969). 産婦人科領域に於ける Muco 多糖類分解酵素 Lysozyme に関する研究 , 主として血清 Lysozyme 活性測定法に関する検討 . 日産婦誌 , 21, 813 .
- [41] 加藤俊 , 薬師寺道明 , 津田裕文 , 下村雅伯 (1970). 産婦人科領域に於ける Muco 多糖類分解酵素 Lysozyme に関する研究 , 特に血清 Lysozyme 活性値の意義 . 日産婦誌 , 22, 949 .

- [42] 川本薫 (1960). 人卵巣血管系に関する研究 . 日本不妊学会誌 , 5, 374 ~ 383 .
- [43] KIEKHOTER, W., HOLMEN, G. J. and PECKHAM, B. (1962). Some chemical characteristics of ovarian and paraovarian cyst fluids. *Obstet. Gynec.*, 20, 471 ~ 483.
- [44] KIMURA, A., and TSURUMI, K. (1969). An improved method for the electrophoretic separation of acid mucopolysaccharide on cellulose acetate sheets. *J. Biochem.*, 65, 303 ~ 304.
- [45] 小泉岳夫, 中村允人 (1975). 結合組織と病気, 3. 腫瘍と酸性ムコ多糖 . 日本臨床, 33, 184 ~ 189.
- [46] 蔵本鄰 (1960). 人精子の解糖作用について . 日本不妊学会誌 , 5, 384 ~ 394.
- [47] KURZROK, P., WILSON, L., and BIRNBERG, C. (1953). Follicular fluid. Its possible role in human fertility and infertility. *Fertil. & Steril.*, 4, 479 ~ 494.
- [48] LEWIS, B. K., and KETCHEL, M. M. (1972). Effects of female reproductive tract secretions on rabbit sperm, I. Release of hyaluronidase in vitro. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 141, 712 ~ 718.
- [49] LEWIS, B. K., and KETCHEL, M. M. (1972). Effects of female reproductive tract secretions on rabbit sperm, II. Control of sperm hyaluronidase release. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 141, 719 ~ 724.
- [50] LINDAHL, P. E. (1966). Sperm agglutinating and anti-agglutinating factors in normal follicular fluid from cattle. *Int. J. Fertil.*, 11, 297 ~ 305.

- [51] LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L., and RANDALL, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. biol. Chem.*, 193, 265~275.
- [52] LUTWAK-MANN, C. (1954). Note on the chemical composition of bovine follicular fluid. *J. agric. Sci.*, 44, 477~480.
- [53] MANARANG-PANGAN, S., and MENGE, A. C. (1971). Immunologic studies on human follicular fluid. *Fertil. & Steril.*, 22, 367~372.
- [54] MANCINI, G., CARBONARA, A. O., and HEREMANS, J. F. (1965). Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochem.*, 2, 235~254.
- [55] 増田博, 七条茂樹, 中島裕而, 今井宏, 武内睦哉 (1975). 小児尿中の酸性ムコ多糖の電気泳動. *生物物理化学*, 19, 82~86.
- [56] 松橋直 (1958). 免疫電気泳動法, GRABAR & WILLIAMS 法. *日新医学*, 45, 162~167.
- [57] 松橋直 (1966). 免疫電気泳動法の手技. *移植*, 1, 168~173.
- [58] 松橋直, 臼井美津子 (1957). Coombs 試験血清の簡単な作り方. *医学と生物学*, 42, 88~92.
- [59] 松井一郎 (1960). 婦人性器分泌液および人体液の精子運動性, 速度及び生存時間に及ぼす影響について. *日本不妊学会誌*, 5, 351~362.
- [60] 松本猛 (1960). 哺乳動物における直視下排卵現象の研究. *日本不妊学会誌*, 5, 341~350.
- [61] 真島喜久司 (1971). 妊娠子宮頸管軟化因子に関する研究, 特に酸性多糖類について. *日産婦誌*, 23, 831~840.
- [62] MCCLEAN, D., and ROWLANDS, I. W. (1942). Role of hyaluronidase in fertilization. *Nature*, 150, 627~628.

- [63] METZ, C. B., SEIQUER, A. C., and CASTRO, A. E. (1972).
Inhibition of the cumulus dispersing and
hyaluronidase activities of sperm by heterologous
and isologous antisperm antibodies. *Proc. Soc. exp. Biol.*
(N.Y.), 140, 776~781.
- [64] 右田俊介 (1970). 免疫電気泳動法による新しい分析法 . 生物物理
化学 , 15, 65~80.
- [65] 森純一 , 藤崎尚徳 , 檜垣繁光 (1966). 牛卵胞液の諸性状について .
畜試報告 , 11, 57~69.
- [66] 森純一 , 檜垣繁光 (1968). 乳牛の卵巣における蛋白分解酵素の変動
について . 畜試報告 , 18, 43~50.
- [67] MOSS, S., WRENN, T. R., and SYKES, J. F. (1954). Some
histological and histochemical observations of the
bovine ovary during the estrus cycle. *Anat. Rec.*, 120,
409~433.
- [68] MÜLLER-EBERHARD, H. J. (1960). A new supporting
medium for preparative electrophoresis. *Scand. J.*
Clin. Lab. Invest., 12, 33~37.
- [69] 村松喬 (1975). 細胞表面糖タンパク質 . 生物科学 , 27, 1~12.
- [70] MURPHY, F. A., AALUND, O., and OSEBOLD, J. W. (1964).
Physical heterogeneity of bovine gamma globulins;
Gamma globulin electrophoretic heterogeneity.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 117, 513~524.
- [71] MURPHY, F. A., OSEBLD, J. W., and AALUND, O. (1965).
Physical heterogeneity of bovine γ -globulins;
Characterization of γ -M and γ -G globulins. *Arch.*
Biochem., 112, 126~136.
- [72] 武藤興紀 (1969). 浸透圧剤の硝子体におよぼす影響について .
日眼会誌 , 73, 2070~2081.

- [73] 永井裕 (1966). ディスク電気泳動法 . 蛋白質核酸酵素 , 11, 818 ~ 823 .
- [74] 中村弘 (1956). 澱粉を支持体とする Zone electrophoresis . 生物物理化学 , 3, 58 ~ 61 .
- [75] 中村弘 , 尾上薫 (1966). 抗体の精製 . 蛋白質核酸酵素 , 臨増 11, 181 ~ 196 .
- [76] 中村正二郎 (1964). ディスク電気泳動法と血清および髄液蛋白質 . 最新医学 , 19, 827 ~ 835 .
- [77] 成内秀雄 , 臼井美津子 , 松橋直 (1968). 免疫拡散法を利用した特異抗血清の作製法について . 生物物理化学 , 13, 260 ~ 261 .
- [78] ODEBLAD, E. (1954). Studies on the physiology of the follicular fluid. Acta. Endocr., 15, 313 ~ 316 .
- [79] 小笠晃 , 中原達夫 , 山内亮 (1961). 卵胞のう腫内容液の性ホルモンについて . 家畜繁殖誌 , 7, 25 ~ 26 .
- [80] 尾形悦郎 (1974). ホルモンの作用と Ca^{++} 代謝 , 臨増 1 , 493 ~ 504 .
- [81] 岡田清 (1965). 卵胞の発育過程に於ける酸性ムコ多糖体の組織化学的研究 . 東京医科大学雑誌 , 23, 109 ~ 148 .
- [82] OLDS, D., and VANDEMARK, N. L. (1957). Composition of luminal fluids in bovine female genitalia. Fertil. & Steril., 8, 345 ~ 354 .
- [83] OLDS, D., and VANDEMARK, N. L. (1957). The behavior of spermatozoa in luminal fluids of bovine female genitalia. Amer. J. vet. Res., 18, 603 ~ 607 .
- [84] OLDS, D., and VANDEMARK, N. L. (1957). Luminal fluids of bovine female genitalia. J. Amer. vet. med. Ass., 131, 555 ~ 556 .

- [85] 大川公康，大川了洸，中川真 (1971). 人の子宮，妊娠子宮及び子宮腫瘍における酸性多糖体の変化．日本不妊学会誌，16, 455.
- [86] 大川公康，大川了洸，中川真 (1972). ヒト子宮の酸性多糖体の生化学的研究．生物物理化学，16, 107～110.
- [87] 大川清，吉川充，越智康仁，伊藤良弥，松信堯，寺島芳輝 (1975). 排卵前後期における人卵巣顆粒膜細胞，内英膜細胞の超微形態学的変化．日産婦誌，27, 47～57.
- [88] 大野丞二，吉田政彦 (1971). カルシウムとマグネシウム．最新医学．26, 265～273.
- [89] 大野丞二，吉田政彦 (1973). Mg 代謝と疾病．臨床科学，9, 815～824.
- [90] 大島正尚，甬立孝一 (1975). 分房乳中の Na, Cl 濃度の増加に伴う牛乳中の血清アルブミンおよび免疫グロブリン濃度の変化について．日畜会報，46, 81～86.
- [91] 大城正道，林基え，岡田政志，森陽 (1973). 成熟婦人性器組織中の酸性ムコ多糖体の定量，結合組織，5, 59.
- [92] PENHALE, W. J., and CHRISTIE, G. (1969). Quantitative studies on bovine immunoglobulins. 1. Adult plasma and colostrum levels. Res. vet. Sci., 10, 493～501.
- [93] PERLOFF, W. H., SCHULTZ, J., FARRIS, E. J., and BALIN, H. (1955). Some aspects of the chemical nature of human ovarian follicular fluid. Fertil. & Steril., 6, 11～17.
- [94] RAGAN, C. (1946). Viscosity of normal human synovial fluid. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 63, 572～575.
- [95] RAJAKOSKI, E. (1960). The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical, and left-right variation. Acta Endocr., suppl. 52, 1～68.

- [96] RONDELL, P. (1964). Follicular pressure and distensibility in ovulation. *Amer. J. Physiol.*, 207, 590~594.
- [97] ROSADO, A., HICKS, J. J., and REYES, A. (1974). Capacitation in vitro of rabbit spermatozoa with cyclic adenosine monophosphate and human follicular fluid. *Fertil. & Steril.*, 25, 821~824.
- [98] RUMJANCEV, N. V., and FLEGMATOV, N. A. (1938). On the influence of secretions of ♀ genital organs on spermatozoa. *Anim. Breed. Abst.*, 6, 254~255.
- [99] 佐藤文彦 (1972). 女性性器分泌液の精子運動, 生存時間, 速度, O_2 up takeに及ぼす影響について. *日産婦誌*, 24, 427~434.
- [100] SCHUETZ, A. W., and ANISOWICZ, A. (1974). Cation and protein composition of ovarian follicular fluid of the pig relation to follicle size. *Biol. Reprod.*, 11, 64~72.
- [101] 瀬野信子 (1968). ムコ多糖の構造と機能, 6. 酵素. 化学の領域, 増 83, 135~152.
- [102] SENO, N., ANNO, K., KONDO, K., NAGASE, S., and SAITO, S. (1970). Improved method for electrophoretic separation and rapid quantitation of isomeric chondroitin sulfates on cellulose acetate strips. *Anal. Biochem.*, 37, 197~202.
- [103] SHALGI, R., KRICER, P., RIMON, A., and PINTO, M. (1973). Proteins of human follicular fluid: The blood-follicle barrier. *Fertil. & Steril.*, 24, 429~434.
- [104] SHALGI, R., KRAICER, P. E., and SOFEROMAN, N. (1972). Gases and electrolytes of human follicular fluid. *J. Reprod. Fertil.*, 28, 335~340.

- [105] SHIVERS, C. A., METZ, C. A., and LUTWAK-MANN, C. (1964). Some properties of pig follicular fluid. *J. Reprod. Fertil.*, 8, 115~120.
- [106] SHORT, R. V. (1962). Steroid concentrations in normal follicular fluid and ovarian cyst fluid from cows. *J. Reprod. Fertil.*, 4, 27~45.
- [107] SHORT, R. V. (1962). Steroid present in the follicular fluid of the cow. *J. Endocr.*, 23, 401~411.
- [108] 紫田泰生 (1965). ゾーン電気泳動による人血清の蛋白の紫外吸光分析. *生物物理化学*, 11, 189~197.
- [109] 品田孝夫 (1973). 卵巣のステロイドホルモン生成とその周期的変化. *ホルモンと臨床*, 21, 49~56.
- [110] SMITH, R. F., and WILLETT, N. P. (1968). Rapid plate method for screening hyaluronidase and chondroitin sulfatase-producing. *Appl. Microbiol.*, 16, 1434~1436.
- [111] 莊進 (1960). 成人卵巣における卵胞の発育と卵胞上皮細胞の分泌機能に関する研究. *日本不妊学会誌*, 5, 117~125.
- [112] STANGROOM, J. E., and WEEVERS, R. G. (1962). Anticoagulant activity of equine follicular fluid. *J. Reprod. Fertil.*, 3, 269~282.
- [113] STEVENS, K. R., HAFS, H. D., and HUNTER, A. G. (1964). Immunochemical and electrophoretic properties of oestrous rabbit uterine fluid protein obtained by uterin ligation. *J. Reprod. Fertil.*, 8, 319~324.
- [114] 杉野信博, 鈴木潤, 竹田洋 (1971). カリウム. *最新医学*, 26, 259~264.
- [115] 鈴木雅洲 (1963). 排卵機転. *日本不妊学会誌*, 8, 174~180.

- [116] 鈴田達男，中川秀子 (1967). 寒天ゲルを用いる免疫電気泳動法の新しい一手技．生物物理化学，13，30～31．
- [117] 高橋美行 (1960). 人精子運動に及ぼす物理的並びに化学的因子の影響に関する実験的研究．日本不妊学会誌，5，264～282．
- [118] 高山精次，谷口好広，深沢幹雄，臼井和哉 (1973). 卵胞液および卵胞壁のプラスミン—インヒビターに関する生化学的研究．第76回日本獣医学会講演要旨，106．
- [119] 高山精次，臼井和哉 (1970). 卵胞の発育及び排卵に関する生化学的研究，I．主として卵胞発育のメカニズム．日獣誌，32学会号，207．
- [120] 高山精次，臼井和哉 (1971). 排卵の生化学的考察 (予報) 家畜生化学研究会報，(3)，31～42．
- [121] 田辺鎮雄，久保隆 (1967). 免疫電気泳動法の抗血清と寒天．生物物理化学，12，41．
- [122] 田中幸男，高園磯子 (1973). 酸性ムコ多糖体，糖タンパク体の臨床的研究法．久留米大学論叢，21，83～103．
- [123] TODD, P. E. E., and TRIKOJUS, V. M. (1960). Purification and properties of adrenal acid proteinase. Biochem. Biophys., 45, 234～242.
- [124] TOLKSDORF, S., MCCREADY, M. H., MCCREADY, D. R., SCHWENK, E., and BLOOMEIEID, N. J. (1949). The turbidimetric assay of hyaluronidase. J. Lab. clin. Med., 34, 74～89.
- [125] 鳥井光雄. (1966). 沈降反応. 蛋白質核酸酵素，別冊 11，1497～1500．
- [126] 都竹理，小室嘉郎，佐治文隆，小川誠，若尾豊一，根来孝夫 (1973). Histocompatibility antigen にたいする抗体の精子運動性に及ぼす影響について．日産婦誌，25，28～34．

- [127] 榎村陽太郎, 椋田知行 (1973). カルバゾール反応による血清中酸性ムコ多糖の微量定量法. 生化学, 45, 30~36.
- [128] 浦壁重治 (1971). 生体膜と体液調節. 最新医学, 26, 302~308.
- [129] 臼井和哉, 高山精次 (1970). 卵胞の發育及び排卵に関する生化学的研究, II. 主として排卵のメカニズムについて. 日獣誌, 32 学会号., 208.
- [130] 臼井美津子, 松橋直 (1970). 免疫電気泳動法. 臨床病理, 臨増 11, 117~131.
- [131] VANDEMARK, N. L. (1958). Spermatozoa in the female genital tract. Int. J. Fertil., 3, 220~230.
- [132] VONKAULLA, K. N., AIKAWA, J. K., and PETTIGREW, J. O. (1958). Concentration in the human ovarian follicular fluid of radioactive tracers and drugs in the blood. Nature, 182, 1238~1239.
- [133] WIMSATT, W. A. (1944). Growth of the ovarian follicle and ovulation in *Myotis lucifugus lucifugus*. Amer. J. Anat., 74, 29~173.
- [134] 山本清 (1972). 生理的金属イオンとホルモン分泌. 医学のあゆみ, 83, 466~467.
- [135] 山内亮 (1970). 目でみる家畜の病気, 43. 牛の卵胞嚢腫(1). 家畜診療, (83), 1.
- [136] 山内亮 (1970). 目でみる家畜の病気, 44. 牛の卵胞嚢腫(2). 家畜診療, (84), 1.
- [137] 山内昭二 (1963). 老令牛卵巢の組織学的研究. 日獣誌, 25, 315~322.
- [138] 山崎一男 (1972). 卵管液の糖蛋白についての研究. 日産婦誌, 24, 1071~1076.

- [139] 安田貢 (1966). 家兔雌性性器におけるムコ多糖類, 特に代謝と組織化学的考察. 日本不妊学会誌, 11, 49~61.
- [140] YATVIN, M. B., and LEATHAM, J. H. (1964). Origin of ovarian cyst fluid: Studies on experimentally induced cysts in the rat. *Endocrinology*, 75, 733~740.
- [141] 吉田文夫 (1961). 牛の子宮頸管粘液の生化学的性状に関する研究. 日本不妊学会誌, 6, 38~52.
- [142] 吉永幸子, 滝川決男 (1968). エストロゲン結合蛋白について. 日内分泌誌, 44, 643~648.
- [143] 吉崎宏 (1973). ムコ多糖実験法 [II], 9. 婦人科領域. 化学の領域, 増 99, 269~280.
- [144] 吉沢善作, 遠藤正彦, 佐藤徳太郎 (1974). 酸性糖タンパクと疾病. 蛋白質核酸酵素, 19, 27~37.
- [145] YOUNGLAI, E. V. (1972). The influence of follicular fluid and plasma on the steroidogenic activity of equine granulosa cells. *J. Reprod. Fertil.*, 28, 95~97.
- [146] YOUNGLAI, E. V. (1972). Effect of mating on follicular fluid steroids in the rabbit. *J. Reprod. Fertil.* 30, 157~159.
- [147] ZACHARIAE, F. (1958). Studies on the mechanism of ovulation. Permeability of the blood-liquor barrier. *Acta Endocr.*, 27, 339~342.
- [148] ZACHARIAE, F. (1959). Acid mucopolysaccharides in the ovary and their rôle in the mechanism of ovulation. *Acta Endocr.*, suppl. 47, 1~62.
- [149] ZACHARIAE, F., and JENSEN, C. E. (1958). Studies on the mechanism of ovulation. (Histochemical and physicochemical investigations on genuine follicular fluids). *Acta Endocr.*, 27, 343~355.

表 1-1 牛の卵胞液色調別にみた卵胞液の化学的性状

検査項目 色調	T.	P. (g/dl)	B.	U. N. (mg/dl)	A. M. P. (mg/dl)	Ch. - A (mg/dl)		H.	S. (mg/dl)	H.S./Ch.-A	
無色 ¹	12 ⁺	3.79 ± 2.77* (73.1)	3	20.0 ± 3.5 (17.5)	—	—	—	—	—	—	—
淡黄白色 ²	26	6.58 ± 0.89 (13.5)	14	23.5 ± 2.5 (10.6)	57 10.86 ± 5.79 (53.3)	57	8.72 ± 3.91 (44.8)	57	2.20 ± 2.50 (113.9)	57	0.247 ± 0.238 (96.4)
淡黄色 ³	29	6.98 ± 0.69 (9.9)	17	19.2 ± 3.2 (16.7)	46 11.32 ± 5.41 (47.7)	46	8.98 ± 3.99 (44.5)	46	2.33 ± 2.05 (87.9)	46	0.256 ± 0.157 (61.3)
黄色 ⁴	22	6.97 ± 0.87 (12.5)	3	17.2 ± 5.4 (31.4)	7 11.88 ± 6.37 (53.6)	7	10.76 ± 6.26 (58.1)	7	1.39 ± 1.44 (104.1)	7	0.147 ± 0.140 (95.2)
七一検定		1 vs 2 ***		2 vs 3 ***							

***: $P < 0.01$

+ : 例数, * : 平均値±標準偏差, (): 変動係数

表 1-2 牛の卵胞液色調別にみた卵胞液の化学的性状

検査項目 色調		Na (mg/dl)	K (mg/dl)	Mg (mg/dl)	K/Na	
無色 ¹	11 ⁺	332.1 ± 33.3 [*] (10.0)	39.35 ± 13.64 (34.7)	6.434 ± 3.702 (57.5)	11	0.1209 ± 0.0481 (39.7)
	25	315.5 ± 26.3 (8.3)	51.71 ± 9.90 (19.1)	3.324 ± 0.512 (15.4)	25	0.1651 ± 0.0372 (22.4)
淡黄色 ²	26	302.5 ± 18.4 (6.1)	52.43 ± 8.50 (16.2)	3.403 ± 0.667 (19.6)	26	0.1742 ± 0.0327 (18.9)
	22	304.5 ± 62.0 (20.4)	45.66 ± 13.99 (30.6)	3.585 ± 0.904 (25.2)	22	0.1498 ± 0.0344 (22.9)
七一検査定			1 vs 2 [*]	1 vs 2 [*]		1 vs 2 [*]

※: P<0.05

+: 例数, * : 平均値 ± 標準偏差, (): 変動係数

表2 牛の血清並びに卵胞液の化学的性状

試料の種類 検査項目	血 清			卵 胞 液			t-検定
	+	*	X				
T. P. (g/dl)	171	8.67 ± 0.90	10.4	515	6.57 ± 1.08	16.4	※※
アルブミン (%)	172	43.2 ± 8.4	19.4	—	—	—	—
α-グロブリン (%)	172	11.7 ± 2.3	19.7	—	—	—	—
β-グロブリン (%)	126	11.4 ± 2.4	21.1	—	—	—	—
γ-グロブリン (%)	125	30.0 ± 6.8	22.7	—	—	—	—
A / G	172	0.798 ± 0.262	32.8	—	—	—	—
B. U. N. (mg/dl)	169	22.6 ± 5.00	22.1	142	20.6 ± 4.4	21.4	※※
A. M. P. (mg/dl)	—	—	—	110	11.18 ± 5.75	51.4	—
Ch. - A (mg/dl)	—	—	—	110	8.97 ± 4.16	46.4	—
H. S. (mg/dl)	—	—	—	110	2.20 ± 2.29	103.9	—
H.S. / Ch.-A	—	—	—	110	0.242 ± 0.205	84.7	—
Na (mg/dl)	172	311.4 ± 25.1	8.1	462	286.2 ± 45.9	15.5	※※
K (mg/dl)	172	31.02 ± 6.53	21.1	462	48.40 ± 15.25	31.5	※※
Mg (mg/dl)	172	2.721 ± 0.419	23.6	462	3.524 ± 1.049	33.0	※※
K / Na	172	0.1004 ± 0.0237	15.4	462	0.1681 ± 0.0555	29.0	※※

※※: P < 0.01

+: 例数, *: 平均値±標準偏差, X: 変動係数

表 3 牛の卵胞液泳動像のアルブミン型別にみた卵胞液の化学的性状

検査項目 アルブミンの型	T.	P. (g/dl)	B.	U. N.(%)	Na (mg/dl)	K (mg/dl)		Mg (mg/dl)	K / Na	
A ¹	31 [†]	6.34 ± 1.72* (27.1)	2	24.3 ± 1.3 (5.3)	285.2 ± 47.9 (16.8)	27	56.81 ± 12.92 (22.7)	3.963 ± 0.685 (17.3)	27	0.1997 ± 0.0380 (19.8)
B ²	27	6.55 ± 0.86 (13.1)	17	22.3 ± 4.3 (19.3)	309.2 ± 22.9 (7.4)	31	51.02 ± 12.01 (23.5)	3.410 ± 0.599 (17.6)	31	0.1668 ± 0.0458 (27.5)
C ³	30	6.82 ± 0.54 (7.9)	11	20.4 ± 5.0 (24.5)	307.4 ± 19.4 (6.3)	29	56.45 ± 15.61 (27.7)	3.346 ± 0.673 (20.1)	29	0.1828 ± 0.0596 (32.6)
D ⁴	33	6.44 ± 0.67 (10.4)	14	19.8 ± 4.1 (20.7)	306.5 ± 26.2 (8.5)	30	49.48 ± 9.12 (18.4)	3.444 ± 0.626 (18.2)	30	0.1622 ± 0.0309 (19.1)
E ⁵	7	6.80 ± 0.69 (10.1)	5	24.1 ± 3.4 (14.1)	327.8 ± 28.2 (8.6)	6	50.18 ± 8.72 (17.4)	3.112 ± 0.568 (18.3)	6	0.1525 ± 0.0185 (12.1)
七-検定					1 vs 2**			1 vs 2*		1 vs 2*

※: P<0.05 ※※: P<0.01

十: 例数, * : 平均値±標準偏差, (): 変動係数

表 4 牛卵胞液のディスク法による蛋白分画の割合

蛋白分画 検体 No	F ₁ (%)	F ₂ (%)	F ₃ (%)	F ₄ (%)	F ₅ (%)	F ₆ (%)
1	46.9	5.6	17.0	2.9	23.0	4.1
2	42.8	6.6	21.3	4.0	16.2	9.1
3	43.9	6.5	18.0	3.2	21.8	6.5
4	38.3	10.4	19.3	2.2	24.5	5.2
5	48.3	6.4	18.6	2.1	21.3	3.0
6	37.3	14.6	17.4	3.4	23.6	3.7
7	32.6	22.7	8.3	3.0	29.9	3.4
8	41.4	13.4	11.4	5.0	27.4	1.4
9	33.9	16.9	6.8	1.4	22.2	8.8

表 5 卵胞の大きさ別にみた牛卵胞液色調の割合

色 調 卵胞の大きさ	無 色	淡 黄 白 色	淡 黄 色	黄 色	橙 色
8.0 _{mm} 以下	3 (2.0)	114 (75.5)	27 (17.9)	4 (2.6)	3 (2.0)
8.1~13.0 _{mm}	7 (3.7)	127 (67.5)	36 (19.0)	9 (4.8)	10 (5.3)
13.1~18.0 _{mm}	1 (0.9)	63 (55.8)	32 (28.3)	7 (6.2)	10 (8.8)
18.1 _{mm} 以上	1 (1.4)	20 (27.8)	35 (48.6)	8 (11.1)	8 (11.1)

$P < 0.01$ (χ^2 -検定)
(): 百分率

表 6-1 卵胞の大きさにみた牛卵胞液の化学的性状

検査項目 卵胞の大きさ	T.	P. (g/dl)	B. U.	N. (mg/dl)	A.	M. P. (mg/dl)	C.R. - A (mg/dl)	H.	S. (mg/dl)	H.S. / C.R. - A
8.0 mm 以下	† 143	6.53 ± 1.26* (19.3)	8	17.9 ± 2.7 (15.1)	32	15.80 ± 6.10 (38.6)	11.03 ± 4.10 (37.1)	32	4.77 ± 2.23 (46.7)	0.448 ± 0.170 (37.9)
8.1 ~ 13.0 mm	187	6.56 ± 1.01 (15.4)	31	20.2 ± 2.8 (13.9)	24	9.45 ± 3.68 (39.0)	7.58 ± 2.91 (38.5)	24	1.87 ± 1.42 (76.0)	0.261 ± 0.154 (59.0)
13.1 ~ 18.0 mm	111	6.47 ± 1.05 (16.2)	62	20.8 ± 4.5 (21.6)	33	9.73 ± 3.01 (31.0)	8.69 ± 2.96 (34.0)	33	1.05 ± 0.93 (89.1)	0.137 ± 0.115 (83.9)
18.1 mm 以上	73	6.66 ± 1.14 (17.1)	41	20.8 ± 5.0 (24.0)	21	8.07 ± 5.81 (71.9)	7.84 ± 5.55 (70.8)	21	0.47 ± 0.79 (166.3)	0.072 ± 0.128 (177.8)
t-検定						1 vs 2, 3, 4**	1 vs 2, 3, 4**	1 vs 2, 3, 4**	2 vs 3, 4**	1 vs 2, 3, 4**

※※: $P < 0.01$

†: 例数, * 平均値 ± 標準偏差, (): 変動係数

表6-2 卵胞の大きさ別にみた牛卵胞液の化学的性状

検査項目 卵胞の大きさ	Na (mg/dl)	K (mg/dl)	Mg (mg/dl)	K / Na
8.0 mm 以下 ¹	289.5 ± 37.7* (13.0)	57.04 ± 14.04 (24.9)	3.856 ± 0.767 (19.9)	0.1996 ± 0.0543 (27.1)
8.1 ~ 13.0 mm ²	293.0 ± 62.2 (21.2)	50.80 ± 16.44 (32.4)	3.645 ± 1.371 (37.6)	0.1773 ± 0.0578 (32.7)
13.1 ~ 18.0 mm ³	300.0 ± 35.9 (12.0)	44.07 ± 11.13 (25.3)	3.246 ± 0.566 (17.4)	0.1447 ± 0.0407 (27.8)
18.1 mm 以上 ⁴	302.8 ± 30.8 (10.2)	39.59 ± 10.26 (25.9)	3.086 ± 0.521 (16.9)	0.1312 ± 0.0332 (25.2)
t - 検定		lvs 2, 3, 4. 2vs 3, 4. 3vs 4	lvs 2, 3, 4. 2vs 3, 4. 3vs 4	lvs 3, 4. 2vs 3, 4.

※※: $p < 0.01$

+: 例数, *: 平均値 ± 標準偏差, (): 変動係数

表7 卵胞の大きさ別にみた牛卵胞液泳動画像のアルブミンの型の割合

アルブミンの型 卵胞の大きさ	A	B	C	D	E
8.0 _{mm} 以下	28(35.4)	24(30.4)	18(22.8)	7(8.9)	2(2.5)
8.1~13.0 _{mm}	12(13.4)	37(40.7)	21(22.1)	19(20.9)	2(2.2)
13.1~18.0 _{mm}	1(2.4)	20(43.4)	14(30.4)	9(21.7)	2(4.3)
18.1 _{mm} 以上	0(0.0)	11(50.0)	4(18.2)	6(27.3)	1(4.3)

P<0.01 (χ²-検定)
(): 百分率

表 8 牛の血清並びに卵胞液の化学的性状（卵胞のう腫牛）

試料の種類 検査項目	血		清		卵 胞 液		t-検 定
	例数	値	例数	値	例数	値	
T. P. (g/ae)	37†	8.17 ± 0.91*	11.1*	83	582 ± 0.69	11.9	**
アルブミン (%)	37	43.5 ± 6.0	13.8	83	48.5 ± 8.5	17.5	**
α-グロブリン (%)	37	16.1 ± 3.5	21.7	83	10.5 ± 4.8	45.7	**
β-グロブリン (%)	37	11.2 ± 2.6	23.2	83	13.6 ± 4.4	32.4	**
γ-グロブリン (%)	37	29.3 ± 5.7	19.5	83	27.2 ± 6.2	22.8	
A / G	37	0.794 ± 0.237	29.8	83	1.000 ± 0.350	35.0	*
B. U. N. (mg/ae)	36	18.3 ± 6.3	38.9	72	17.5 ± 5.4	30.9	
Na (mg/ae)	36	315.4 ± 20.0	6.3	80	299.7 ± 34.5	11.5	**
K (mg/ae)	36	223.5 ± 6.40	28.6	82	18.00 ± 4.87	27.1	**
Mg (mg/ae)	37	2.775 ± 0.375	13.5	82	2.577 ± 0.446	17.3	*
K / Na	35	0.0711 ± 0.0202	28.4	80	0.0598 ± 0.0161	26.9	*

※: P < 0.05 , ※※: P < 0.01
 †: 例数 , * : 平均値 ± 標準偏差 , ×: 変動係数

表 9-1 牛の子宮頸管粘液 pH 別にみた卵胞液の化学的性状 (卵胞のう腫牛)

検査項目 粘液 pH	T.	P. (g/100)	アルブミン (%)		α-グロブリン (%)		β-グロブリン (%)		γ-グロブリン (%)		A / G	
			8	29	8	29	8	29	8	29	8	29
6.49 以下 ¹	8 ⁺	6.05 ± 0.35 [*] (5.8)	40.9 ± 3.3 (8.1)		13.5 ± 2.9 (19.0)		14.5 ± 4.9 (33.8)		31.1 ± 6.9 (22.2)		0.697 ± 0.105 (15.1)	
6.50 ~ 7.49 ²	29	5.81 ± 0.72 (12.4)	47.0 ± 8.2 (17.4)		11.3 ± 5.2 (46.0)		14.6 ± 5.2 (35.6)		27.2 ± 5.7 (21.0)		0.932 ± 0.296 (31.8)	
7.50 以上 ³	5	6.44 ± 0.27 (4.2)	46.6 ± 7.4 (15.9)		10.8 ± 4.4 (40.7)		10.7 ± 1.9 (17.8)		31.7 ± 7.8 (24.6)		0.909 ± 0.255 (28.1)	
t-検定			vs 2 [*]								vs 2 ^{***}	

※: P<0.05, ※※: P<0.01
 +: 例数, *: 平均値 ± 標準偏差, (:): 変動係数

表 9-2 牛の子宮頰管粘液PH別にみた卵胞液の化学的性状（卵胞のう腫牛）

検査項目 粘液PH	B. U. N. (mg/dl)		Na (mg/dl)		K (mg/dl)		Mg (mg/dl)		K / Na	
	+	8	7	299.1 ± 26.9 (9.0)	7	17.25 ± 3.26 (18.9)	7	2.434 ± 0.325 (13.4)	7	0.0557 ± 0.0094 (16.9)
6.49 以下 ¹										
6.50 ~ 7.49 ²	24	18.0 ± 5.9 (32.8)	27	305.7 ± 32.9 (10.8)	29	18.09 ± 2.95 (16.3)	29	2.663 ± 0.516 (19.4)	27	0.0600 ± 0.0160 (26.7)
7.50 以上 ³	2	17.0 ± 0.0 (0.0)	5	320.9 ± 23.2 (7.2)	5	19.21 ± 7.40 (38.5)	5	2.737 ± 0.582 (21.3)	5	0.0608 ± 0.0264 (43.4)
T-検定										

+: 例数, *: 平均値 ± 標準偏差, (): 変動係数

表10-1 牛の子宮頸管粘液結晶像別にみた卵胞液の化学的性状（卵胞のう腫牛）

検査項目 粘液結晶像	T.	P. (g/dl)	アルブミン (%)		α-グロブリン (%)		β-グロブリン (%)		γ-グロブリン (%)		A / G	
—	7	5.89 ± 0.55* (9.3)	7	51.4 ± 9.9 (19.3)	7	7.8 ± 3.4 (43.6)	7	15.7 ± 5.1 (32.5)	7	26.0 ± 5.3 (20.4)	7	1.156 ± 0.467 (40.4)
I	33	5.89 ± 0.75 (12.7)	33	48.8 ± 6.6 (13.5)	33	10.5 ± 4.6 (43.8)	33	14.0 ± 4.4 (31.4)	33	27.1 ± 6.1 (22.5)	33	0.985 ± 0.261 (26.5)
II と III	34	5.69 ± 0.70 (12.3)	34	49.0 ± 8.6 (17.6)	34	10.4 ± 3.5 (33.7)	34	13.5 ± 3.7 (27.4)	34	27.1 ± 6.4 (23.6)	34	1.036 ± 0.340 (32.8)
セー検定												

十：例数，＊：平均値±標準偏差，（ ）：変動係数

表10-2 牛の子宮頸管粘液結晶像別にみた甲胞液の化学的性状 (甲胞のう腫牛)

検査項目 粘液結晶像	B. U. N. (mg/dl)		Na (mg/dl)		K (mg/dl)		Mg (mg/dl)		K / Na	
	例数	平均値 ± 標準偏差 (変動係数)	例数	平均値 ± 標準偏差 (変動係数)	例数	平均値 ± 標準偏差 (変動係数)	例数	平均値 ± 標準偏差 (変動係数)	例数	平均値 ± 標準偏差 (変動係数)
I	1	17.6 ± 5.0* (28.4)	5	305.0 ± 10.1 (3.3)	7	18.69 ± 4.15 (22.2)	7	2878 ± 0.472 (16.4)	5	0.0616 ± 0.0162 (26.3)
	2	16.4 ± 5.3 (32.3)	32	293.1 ± 39.0 (13.3)	32	17.31 ± 4.72 (27.3)	32	2.514 ± 0.462 (18.4)	32	0.0598 ± 0.0186 (31.1)
	3	17.2 ± 5.8 (33.7)	34	309.3 ± 17.3 (5.6)	34	18.25 ± 4.15 (22.7)	34	2.493 ± 0.368 (14.8)	34	0.0584 ± 0.0120 (20.5)
II と III										
t-検定										

+: 例数, *: 平均値 ± 標準偏差, (): 変動係数

表11 牛精子生存率、活力に及ぼす牛卵胞液の影響

牛番号	経過(時間)		0		12		24		36		48		60		72		84		96		108	
	卵胞液	精子	卵胞液	精子	卵胞液	精子	卵胞液	精子	卵胞液	精子	卵胞液	精子	卵胞液	精子	卵胞液	精子	卵胞液	精子	卵胞液	精子	卵胞液	精子
1	1(右)	90	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
	2(右)	90	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
	3(左)	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
2	1(右)	90	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
	2(右)	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
3	1(右)	90	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
	2(右)	90	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
	3(左)	90	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
1	血清	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
2	血清	90	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
精子浮遊液(対照)		90	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70

十：卵胞液を採取した卵巣区分

表12 牛精子生存時間に及ぼす牛卵細胞液の影響

経過(時間) 卵細胞液	0	24	48	72	96	120
精子生存例数 例数	24/24 (100.0)	24/24 (100.0)	23/24 (95.8)	21/24 (87.5)	5/24 (20.8)	0/24 (0)

(): 百分率

表 13 牛の精子状態別にみた卵胞液の化学的性状

検査項目		卵胞直径(mm)	T.	P.(g/dl)	B. U. N.(mg/dl)	Na (mg/dl)	K (mg/dl)	Mg (mg/dl)	K/Na
精子:対照影響	例数								
良	好 ¹	18.8 ± 6.3 [*] (33.5)	6.79 ± 0.80 (11.8)	19.1 ± 4.5 (23.6)	302.4 ± 32.2 (10.6)	43.08 ± 13.44 (31.2)	3.036 ± 0.573 (18.9)	0.1437 ± 0.0459 (31.9)	
	普 ²	16.3 ± 4.0 (24.5)	6.63 ± 0.79 (11.9)	19.8 ± 3.7 (18.7)	313.2 ± 46.1 (14.7)	42.61 ± 10.76 (25.3)	3.261 ± 0.648 (19.9)	0.1358 ± 0.0243 (17.9)	
不	良 ³	16.3 ± 7.7 (47.2)	7.18 ± 0.83 (11.6)	20.3 ± 6.2 (30.5)	318.0 ± 60.0 (18.9)	42.61 ± 11.51 (27.0)	3.404 ± 0.874 (25.7)	0.1345 ± 0.0287 (21.3)	
七一検定									

*: 平均値±標準偏差, (): 変動係数
×: 精子浮遊液(対照)との比較

表 14 牛の精子凝集状態別にみた卵胞液の化学的性状

検査項目		卵胞直径(mm)	T.	P. (g/ae)	B. U. N.(mg/ae)	Na (mg/ae)	K (mg/ae)	Mg (mg/ae)	K/Na
精子状態 例数									
—	x ¹	15.4 ± 3.3 [†] (21.4)	6.40 ± 0.74 (11.6)	19.4 ± 4.3 (22.2)	312.4 ± 34.0 (10.9)	43.52 ± 9.70 (22.3)	3.041 ± 0.536 (17.6)	0.1423 ± 0.0369 (25.9)	
	— → + ≥ ²	17.9 ± 5.6 (31.3)	6.76 ± 0.69 (10.2)	21.3 ± 3.5 (16.4)	303.4 ± 23.6 (7.8)	40.16 ± 7.24 (18.0)	3.223 ± 0.469 (14.5)	0.1329 ± 0.0254 (19.1)	
	+ → + ≥ ³	16.3 ± 5.4 (33.1)	7.15 ± 0.40 (5.6)	20.3 ± 2.8 (13.8)	335.6 ± 82.2 (24.5)	48.51 ± 18.55 (38.2)	3.761 ± 1.256 (33.4)	0.1418 ± 0.0317 (22.4)	
	++ ≥ ⁴	19.8 ± 8.0 (40.4)	7.46 ± 0.98 (13.1)	17.8 ± 6.6 (37.1)	304.0 ± 45.6 (15.0)	42.44 ± 14.81 (34.9)	3.135 ± 0.540 (17.2)	0.1395 ± 0.0452 (32.4)	
t-検定			1vs3,4,* 2vs4*						

※: P<0.05, ※※: P<0.01

※: 平均値±標準偏差, (): 変動係数

×: 卵胞液中精子凝集状態

表15 牛の精子凝集状態別にみた卵胞液色調の割合

色調 精子状態	淡黄白色	淡黄色	黄色
—	16(69.6)	6(26.1)	1(4.3)
— — — + ≥	5(27.8)	10(55.6)	3(16.7)
+ — — + ≥	2(22.2)	4(44.4)	3(33.3)
++ ≥	2(16.7)	5(41.7)	5(41.7)

$P < 0.01$ (χ^2 -検定)

×: 卵胞液中精子凝集状態, (): 百分率

表16 ブルセラ死菌で免疫した牛の血清並びに卵胞液の凝集価

稀 体 凝 集 価 数		5	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	37℃ 24時間
免 疫 前	血 清	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	卵 胞 液	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	ブルセラ陽性血清	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	
免 疫 後	血 清	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	37℃ 12時間
	卵胞液(左) ⁺¹	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	
	卵胞液(右) ⁺²	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	
	子宮頸管粘液(X2)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	子宮頸管粘液(X10)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	非免疫牛血清	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	ブルセラ陽性血清	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	

⁺¹: 抗原投与期間中より卵巢に存在していた卵胞から採取したもの
⁺²: 抗原投与終了後7日目より卵巢に新しくできてきた卵胞より採取したもの
 子宮頸管粘液は、ビーズリオの子宮頸管粘液凝集反応に準じて行つたもので (X2) (X10) とあるのは稀釈のもとになつた液で、(X2)は粘液と生食水が等量、(X10)は粘液1と生食水9の割合

表17牛卵胞液のフラット繁殖生理に及ぼす影響について

項 目 投 与 群		妊娠日数	分娩状態	産 仔 数	哺乳状態
I 群	1	20	良 好	14	良 好
	2	20		10	
	3	20		10	
II 群	1	20	良 好	13	良 好
	2	20		8	
	3	20		15	
III 群	1	20	良 好	14	良 好
	2	20		13	
	3	20 偽妊娠*		13	
IV 群	1	20	良 好	12	良 好
	2	20		13	
	3	20		10	
C 群	1	20	良 好	13	良 好
	2	20		12	
	3	20		11	

*: 偽妊娠 性周期回帰後交尾種付妊娠

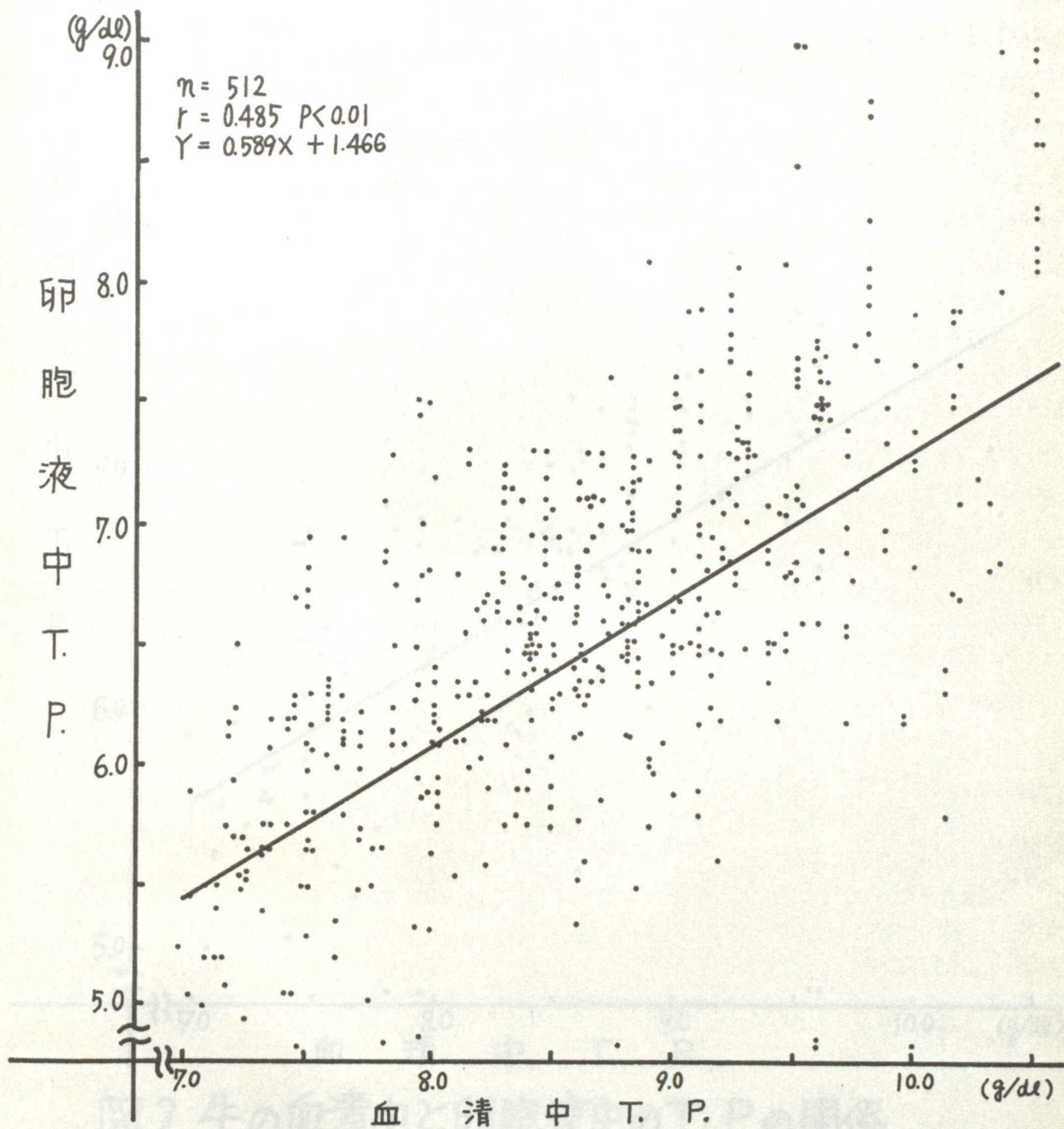


図1 牛の血清中と卵胞液中のT. P.の関係

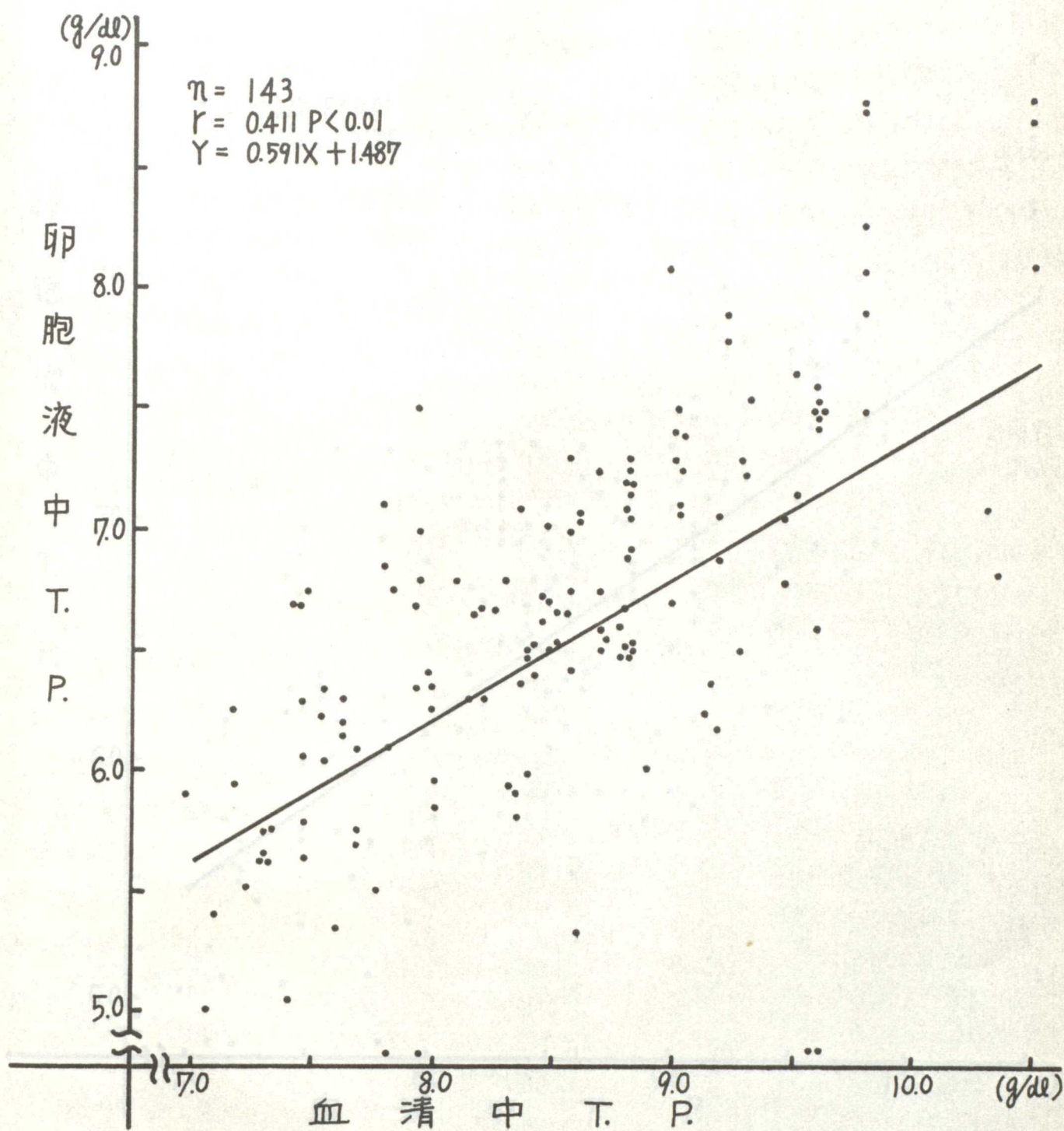


図2 牛の血清中と卵胞液中のT.P.の関係
 (卵胞の大きさ 8.0mm以下)

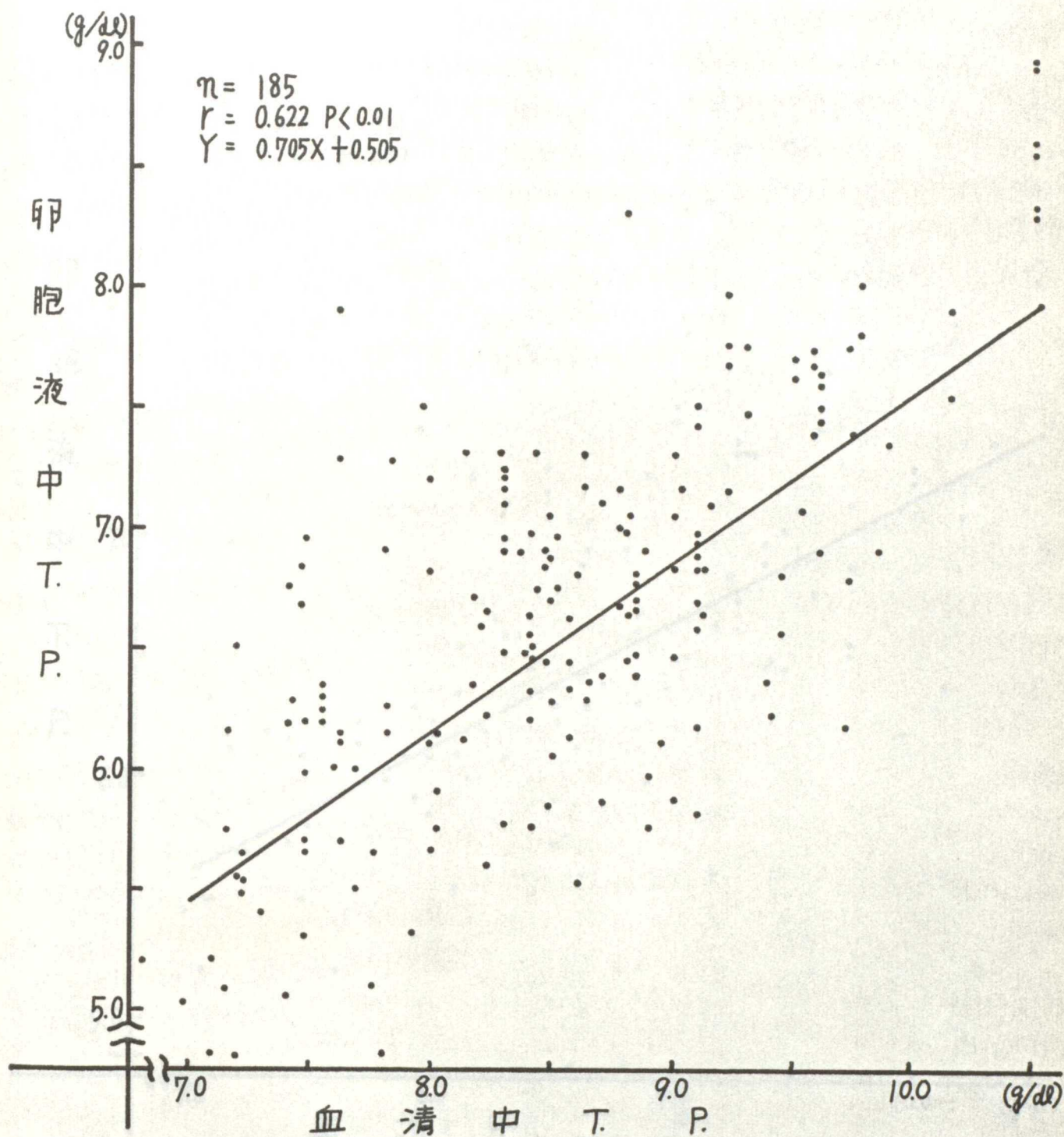


図 3 牛の血清中と卵胞液中の T. P. の関係
 (卵胞の大きさ 8.1 ~ 13.0 mm)

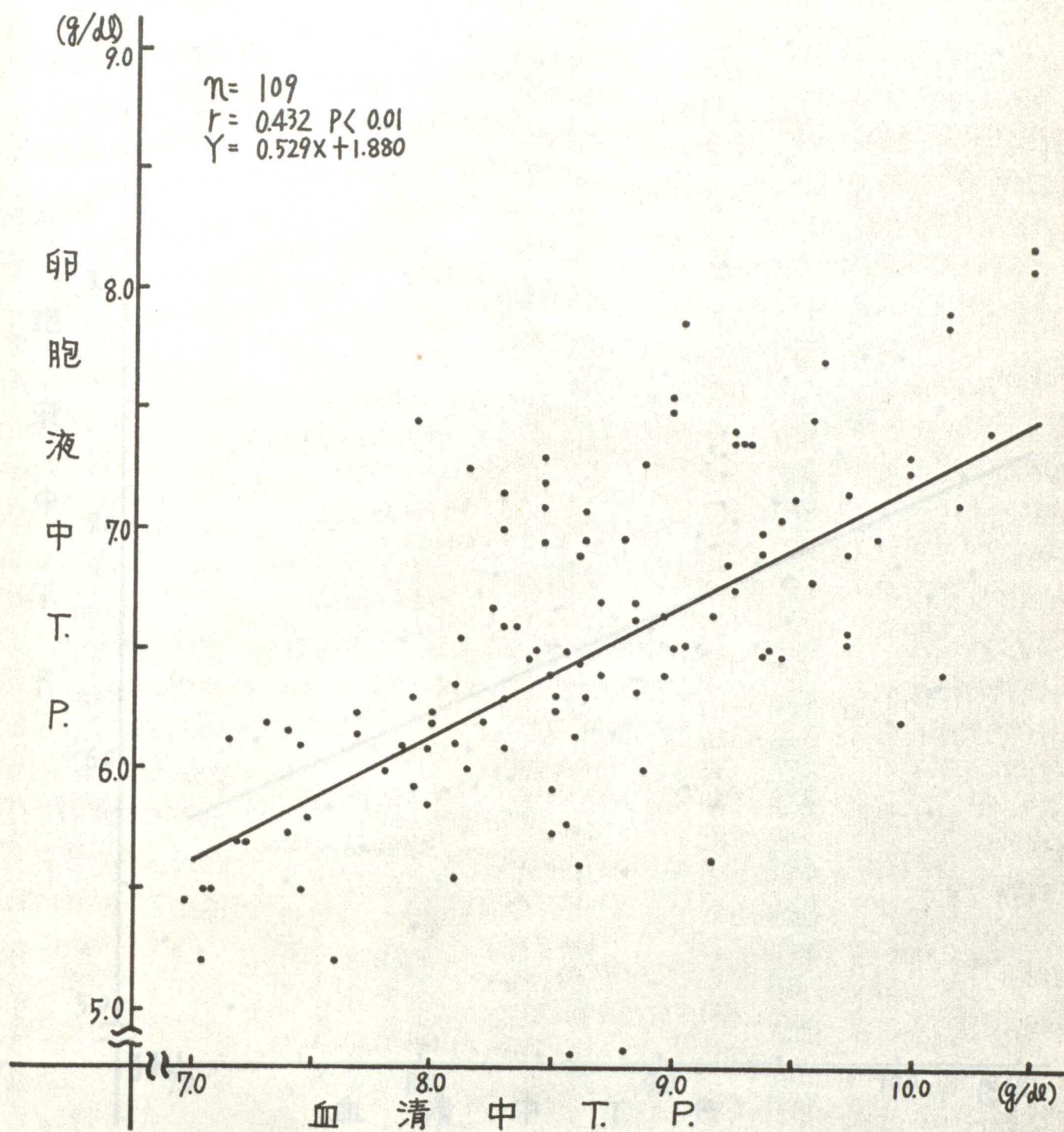


図4 牛の血清中と卵液中の T.P. の関係
 (卵胞の大きさ 13.1~18.0 mm)

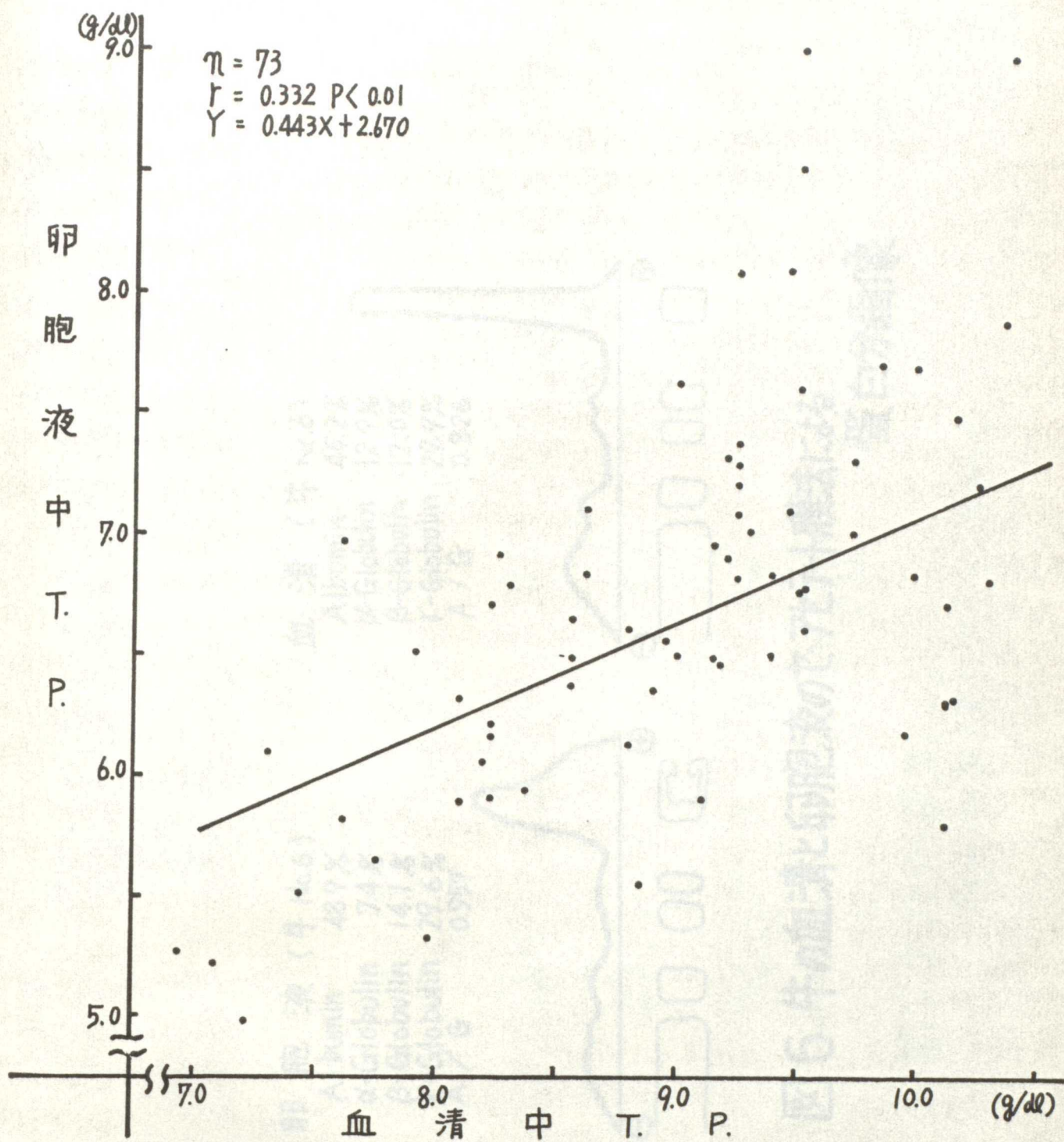
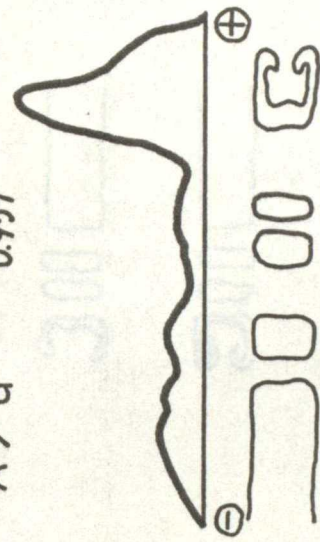


図5 牛の血清中と卵液中の T.P. の関係

(卵胞の大きさ 18.1mm 以上)

卵 胞 液 (牛 No.6)
 Albumin 48.9%
 α -Globulin 7.4%
 β -Globulin 14.1%
 γ -Globulin 29.6%
 A / G 0.957



血 清 (牛 No.6)
 Albumin 45.2%
 α -Globulin 12.9%
 β -Globulin 12.0%
 γ -Globulin 29.9%
 A / G 0.826

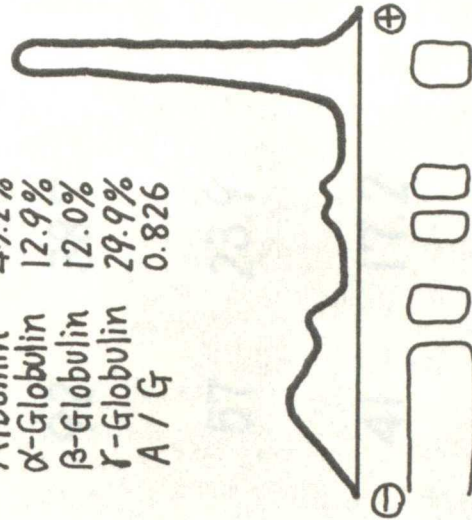


図6 牛の血清と卵胞液のセフェロ膜法による
 蛋白分画像

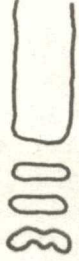

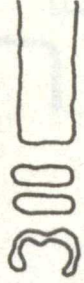
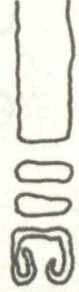

泳動像	型	例数	百分率(%)
⊕	⊖		
	A	41	17.2
	B	92	38.7
	C	57	23.9
	D	41	17.2
	E	7	2.9
計			238 99.9

図7 セ・アセテ膜法による
牛の卵胞液の蛋白成分の泳動像

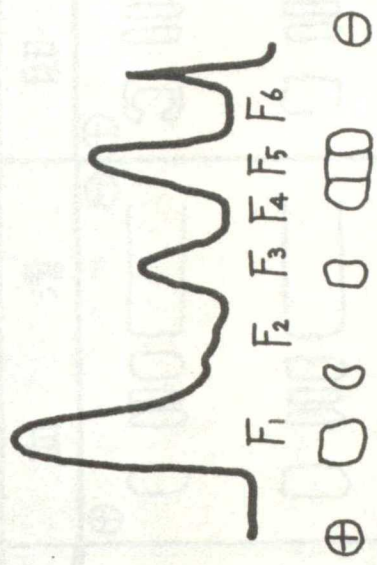


図 8 牛の卵細胞液の
ディスク電気泳動像
(牛 No. 1)

条件	試料	血清	卵胞液
原液	+	+	+
原液 + H-ase (50U)			
原液 + H-acid (2.7mg)			

図9 牛の血清並びに卵胞液の蛋白成分の H-ase, H-acid
 投与によるセ・アセテ-膜電気泳動像の変化について

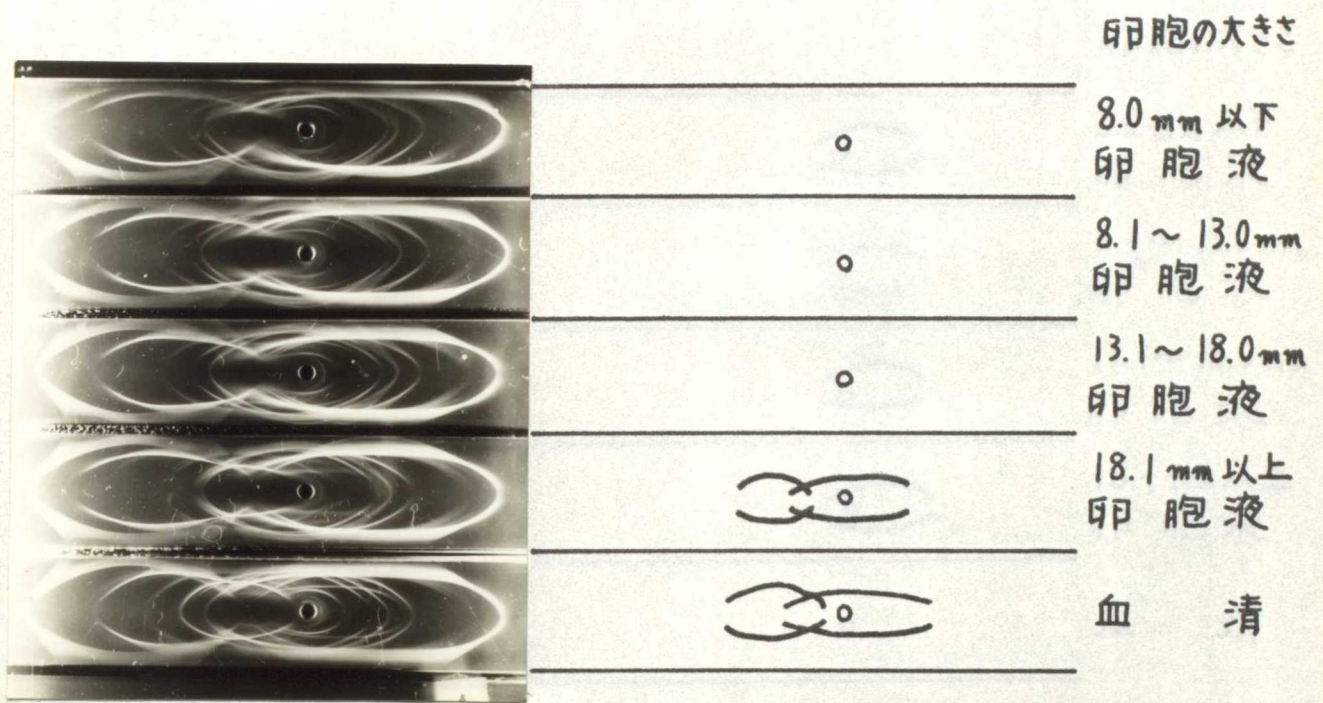


図10 抗牛血清家兔免疫血清と牛の血清
並びに卵胞液の免疫電気泳動像

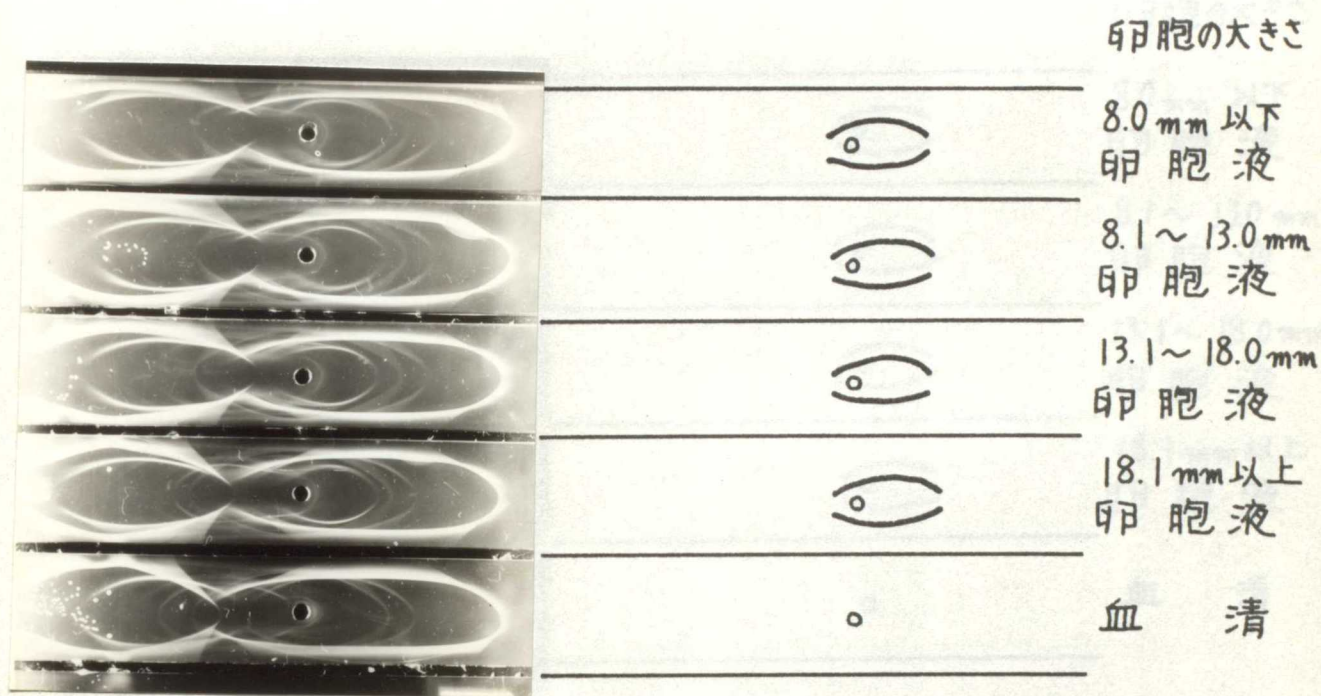


図 11 抗牛卵胞液 (卵胞の大きさ 8.0 mm 以下) 家兎免疫血清と牛の血清
並びに卵胞液の免疫電気泳動像

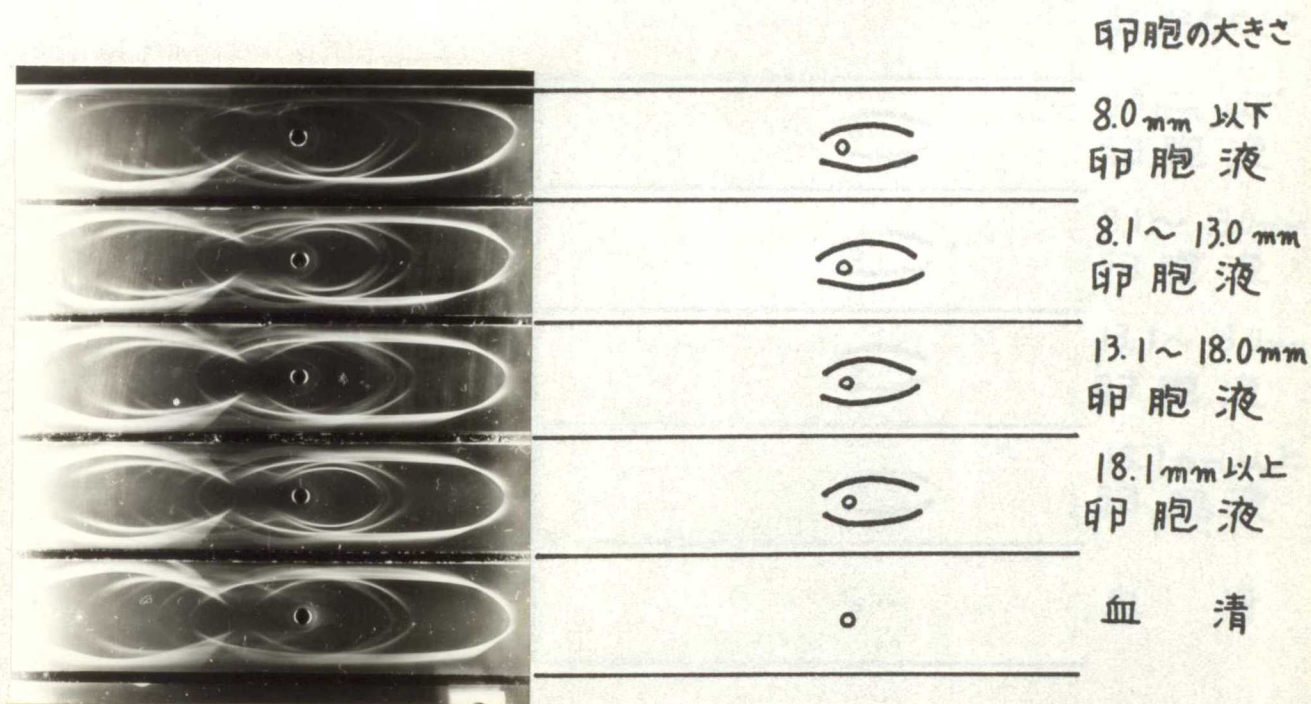


図 12 抗牛卵胞液(卵胞の大きさ 8.1~13.0 mm) 家兔免疫血清と牛の血清
 並びに卵胞液の免疫電気泳動像

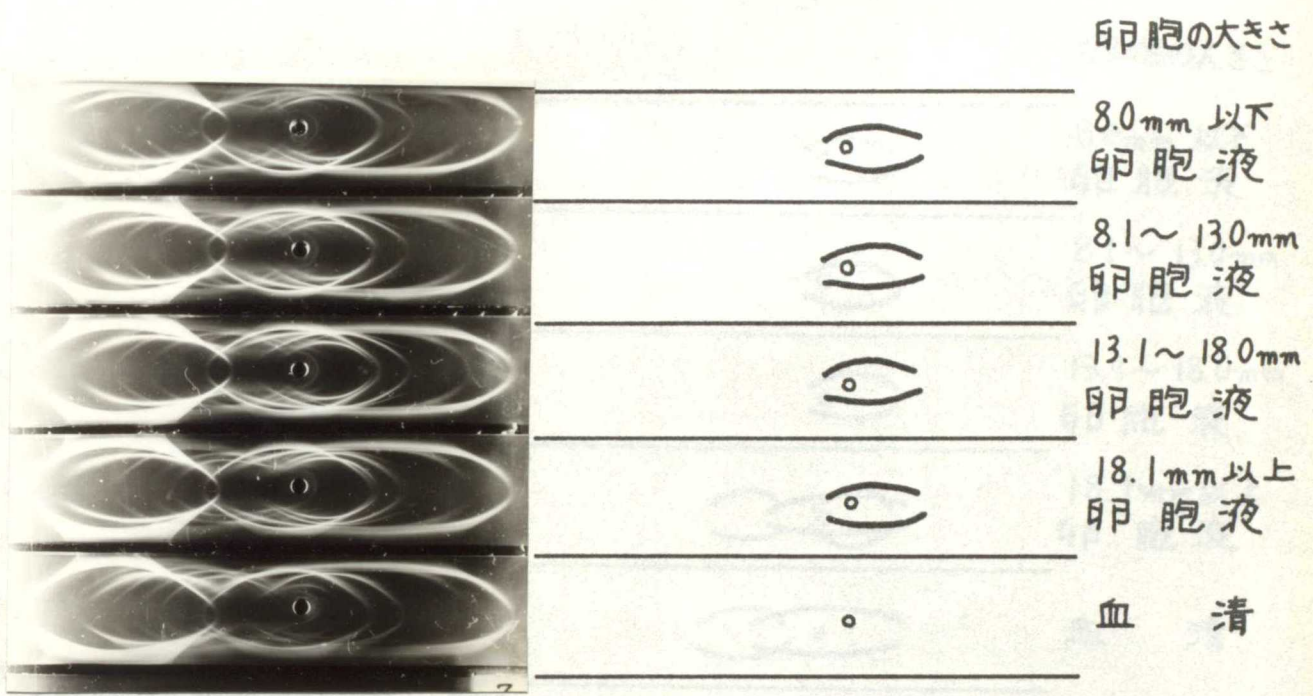


図 13 抗牛卵胞液(卵胞の大きさ13.1~18.0mm)家兔免疫血清と牛の血清
 並びに卵胞液の免疫電気泳動像

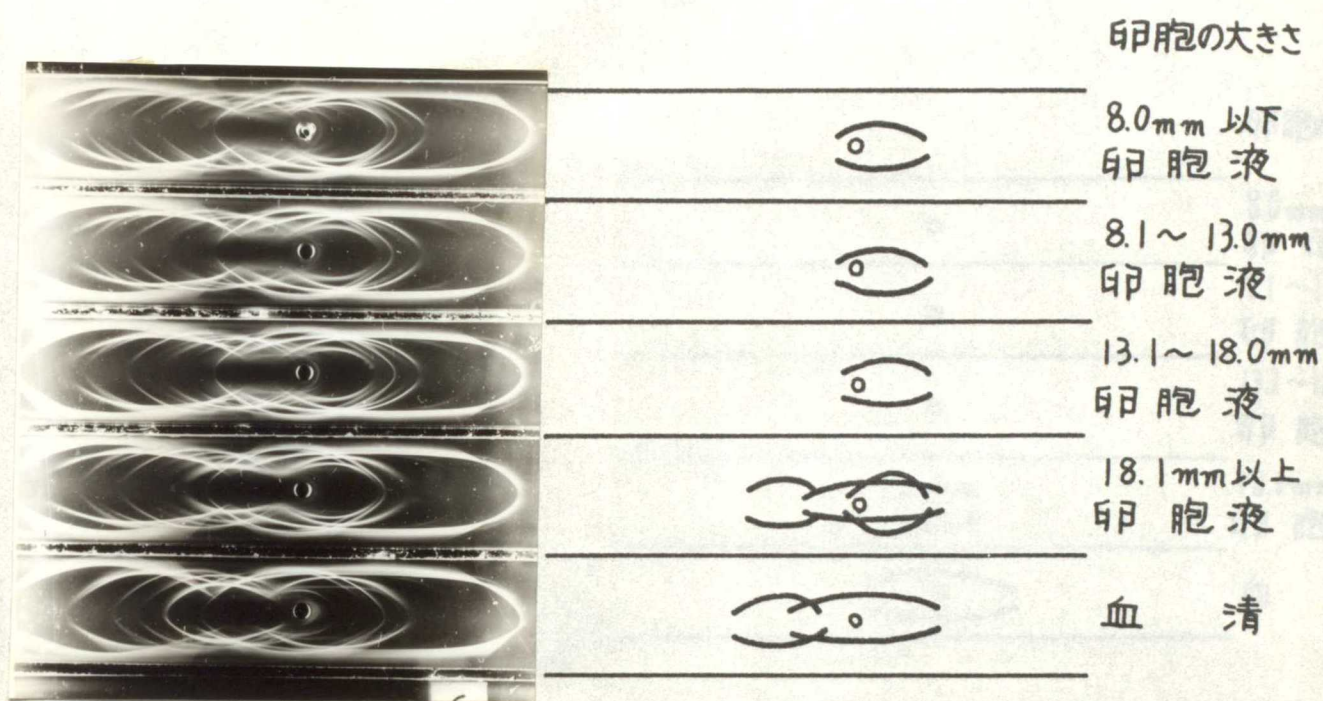


図 14 抗牛卵胞液(卵胞の大きさ 18.1 mm 以上) 家兔免疫血清と牛の血清
並びに卵胞液の免疫電気泳動像

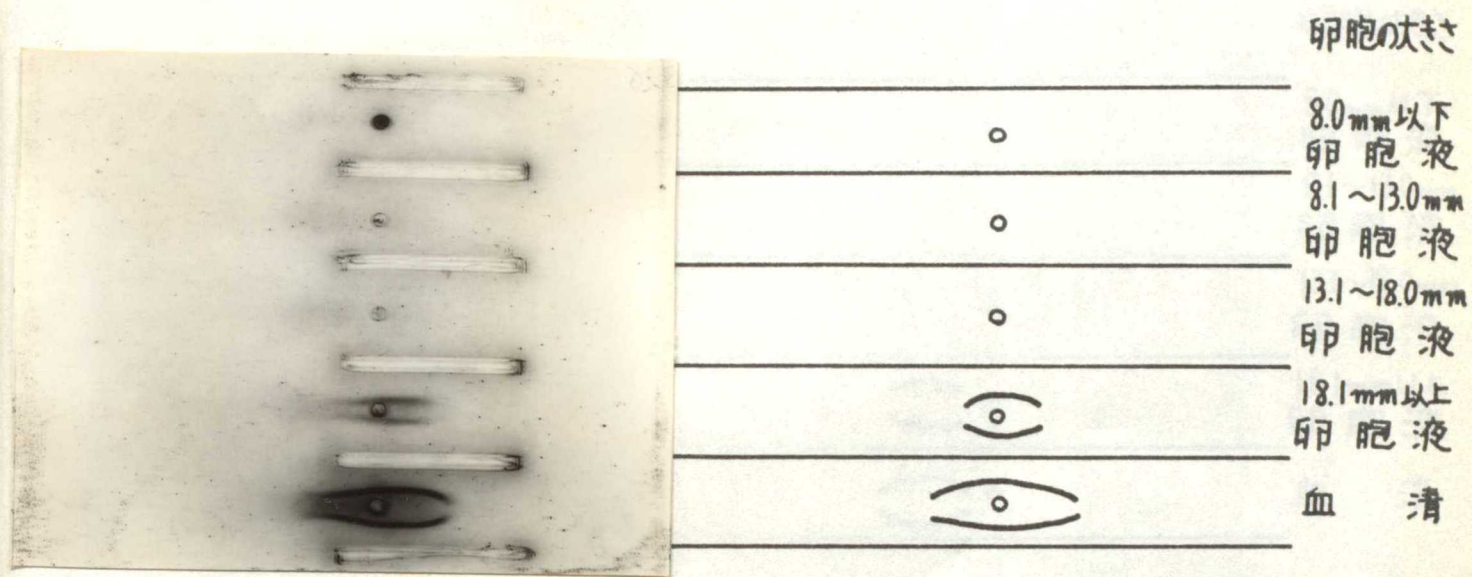
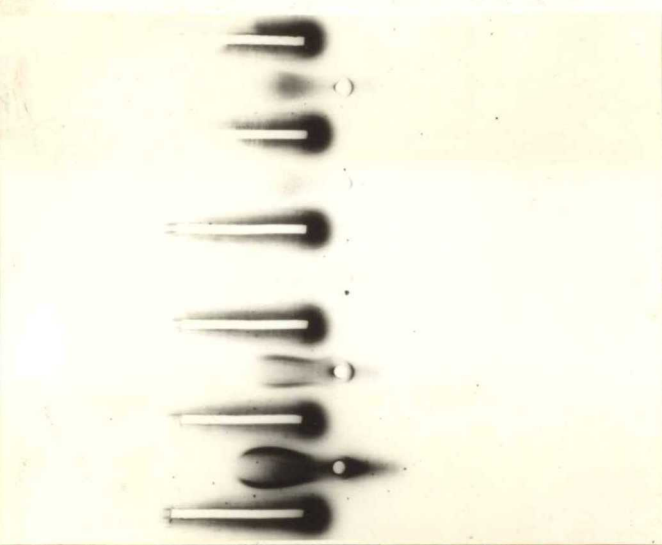


図 15 抗牛 IgM 家兔免疫血清と牛の血清並びに卵胞液の免疫電気泳動像



卵胞の大きさ	
○	8.0mm以下 卵胞液
○	8.1~13.0mm 卵胞液
○	13.1~18.0mm 卵胞液
○	18.1mm以上 卵胞液
○	血清

図 16 抗牛 α_2 M 家兔免疫血清と牛の血清並びに卵胞液の免疫電気泳動像

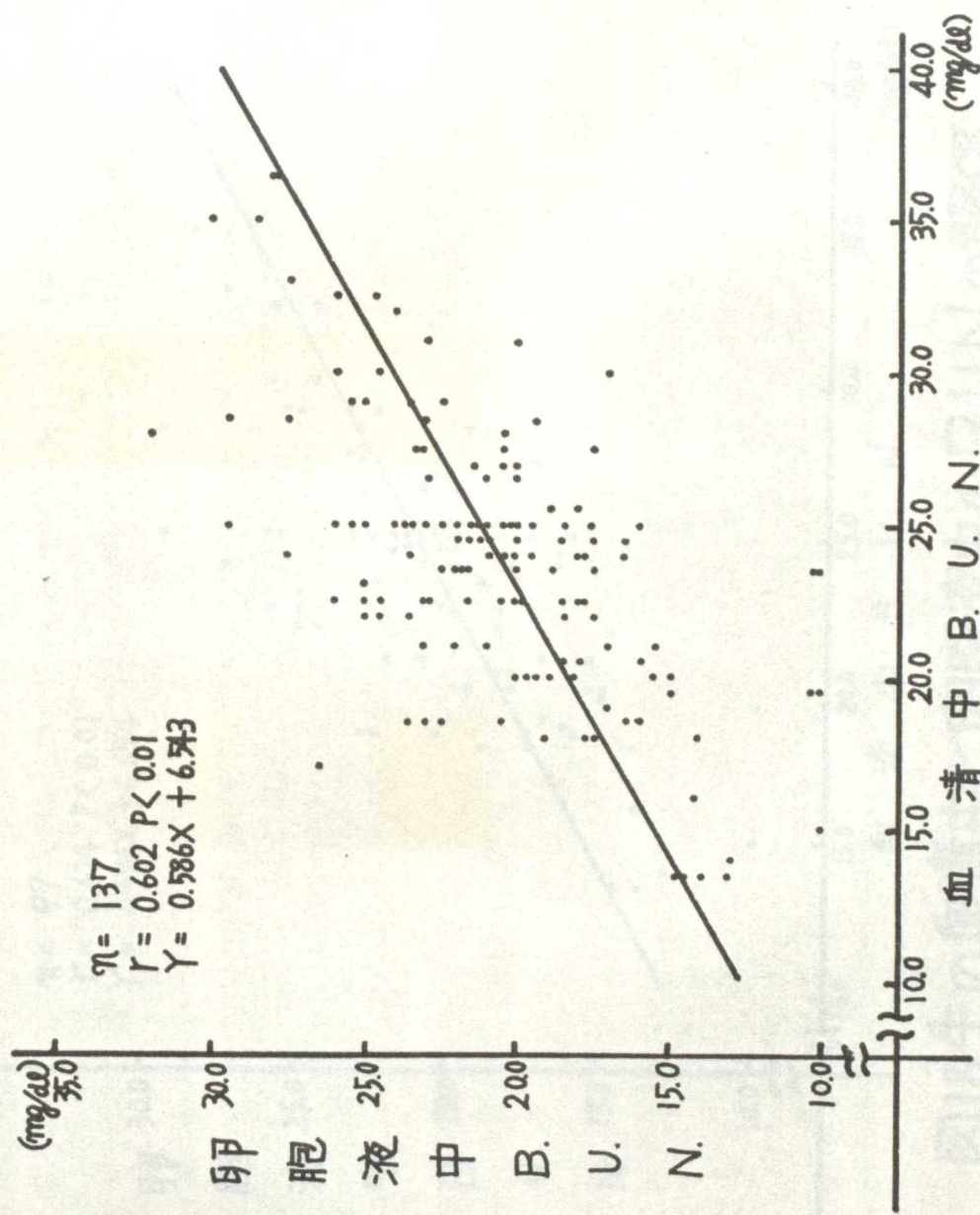


図17 牛の血清中と卵胞液中のB.U.N.の関係

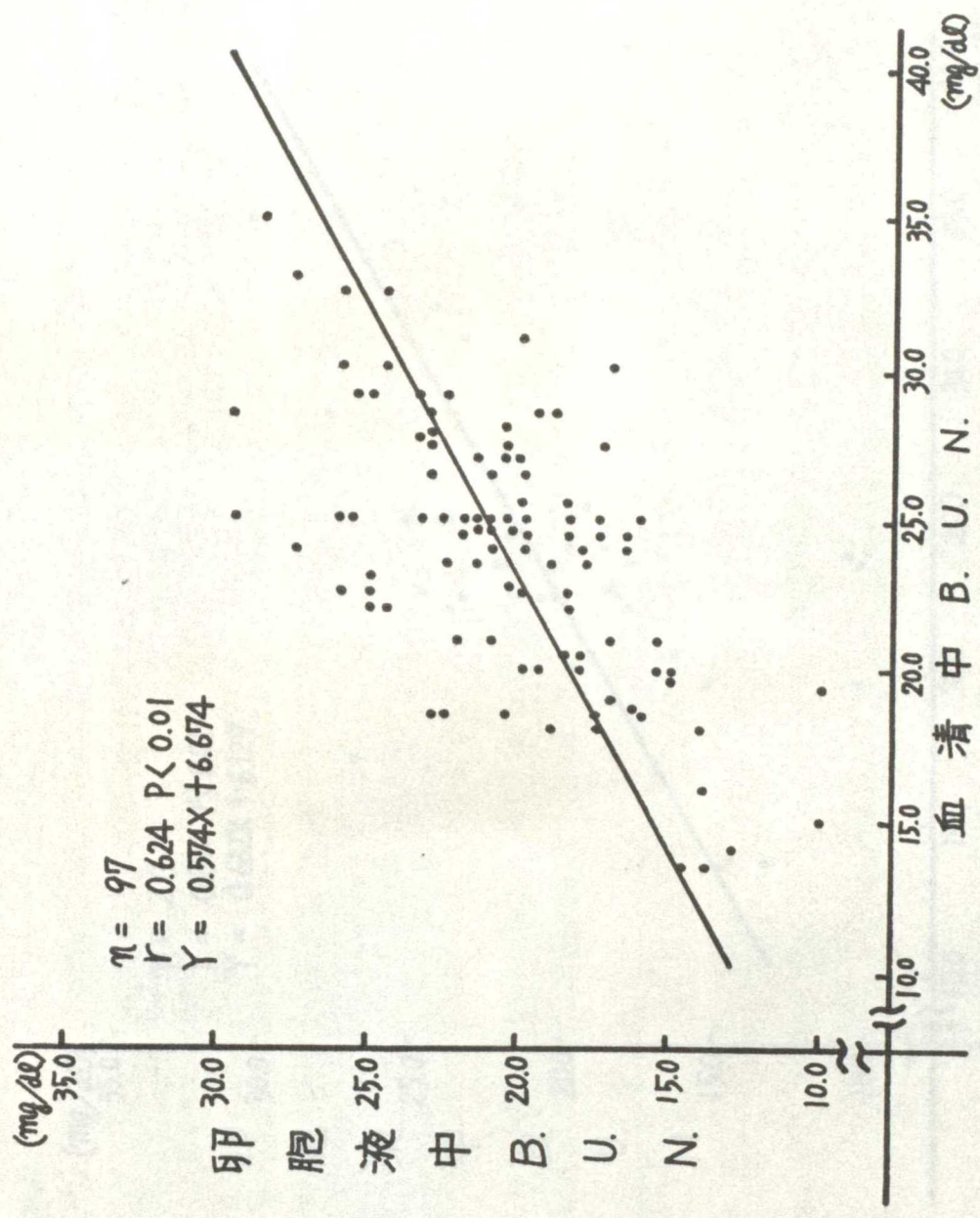


図18 牛の血清中と卵胞液中のB.U.N.の関係
 (卵胞の大きさ 18.0 mm以下)

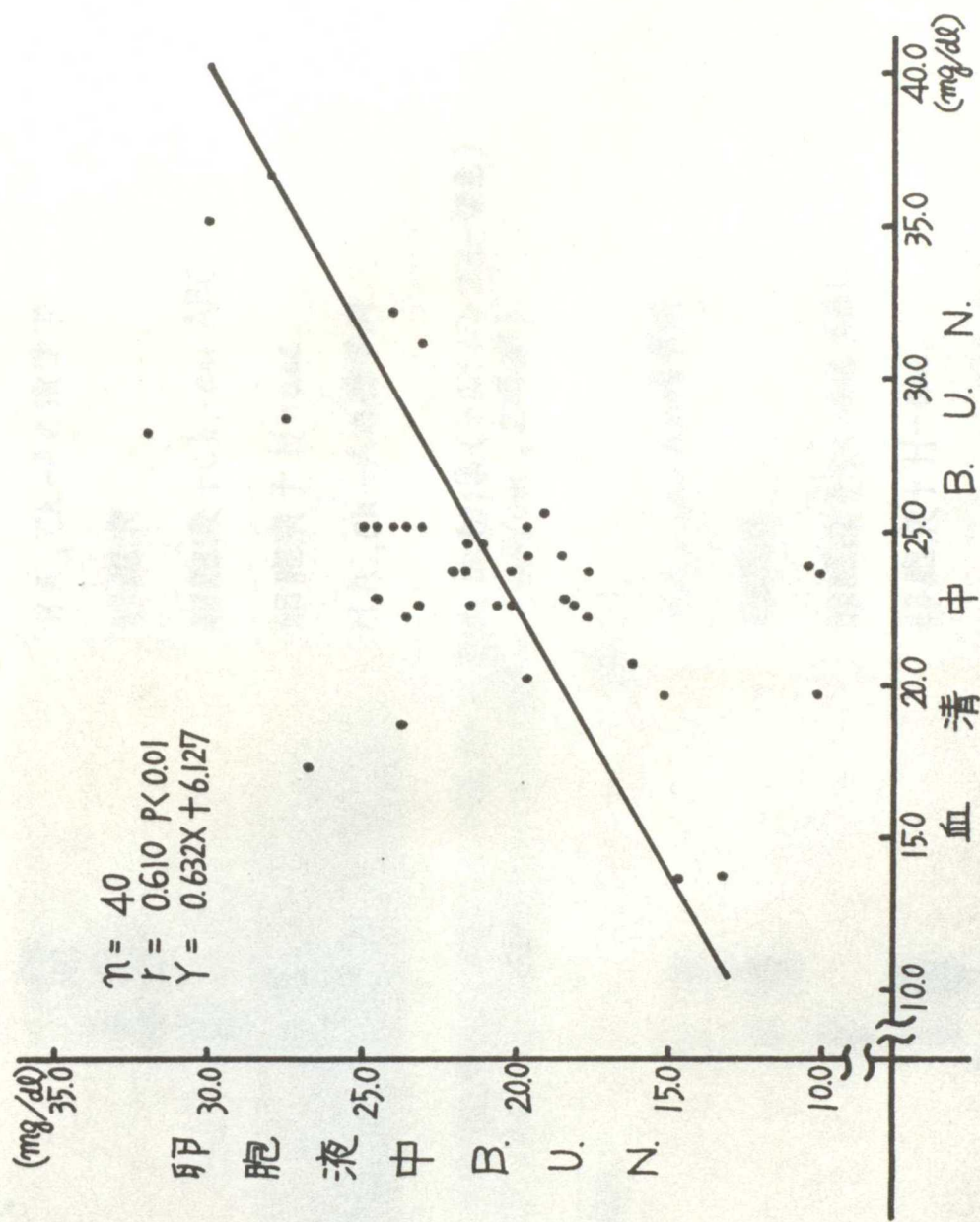


図19 牛の血清中と卵胞液中のB.U.N.の関係
 (卵胞の大きさ 18.1mm以上)

塗布点

⊖

⊕



H.A., Ch.-A の標準液

卵胞液

卵胞液 + Ch.-ase ABC

卵胞液 + H-ase

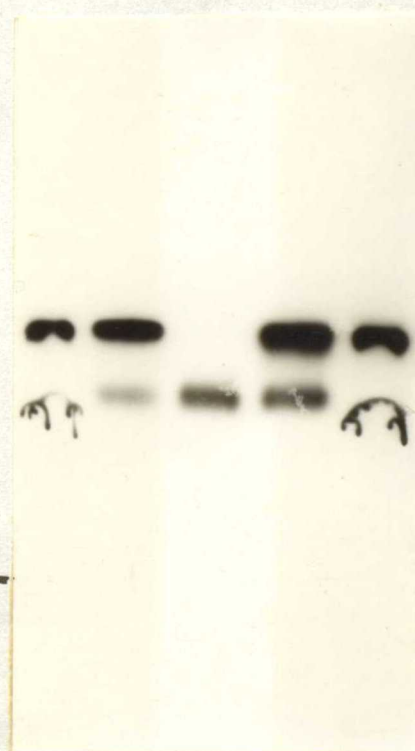
H.A., Ch.-A の標準液

図 20-1 牛卵胞液中の酸性ムコ多糖体の電気泳動像 (トリジンブルー染色)
(セパラックス, 0.2M 酢酸カルシウム溶液, 1mA/cm, 2時間)

塗布点

⊖

⊕



H.A., ch.-A の標準液

卵胞液

卵胞液 + ch.-ase ABC

卵胞液 + H-ase

H.A., ch.-A の標準液

図 20-2 牛卵胞液中の酸性ムコ多糖体の電気泳動像 (アルシアンブルー染色)
(セパラックス, 0.2M 酢酸カルシウム溶液, 1mA/cm, 2時間)

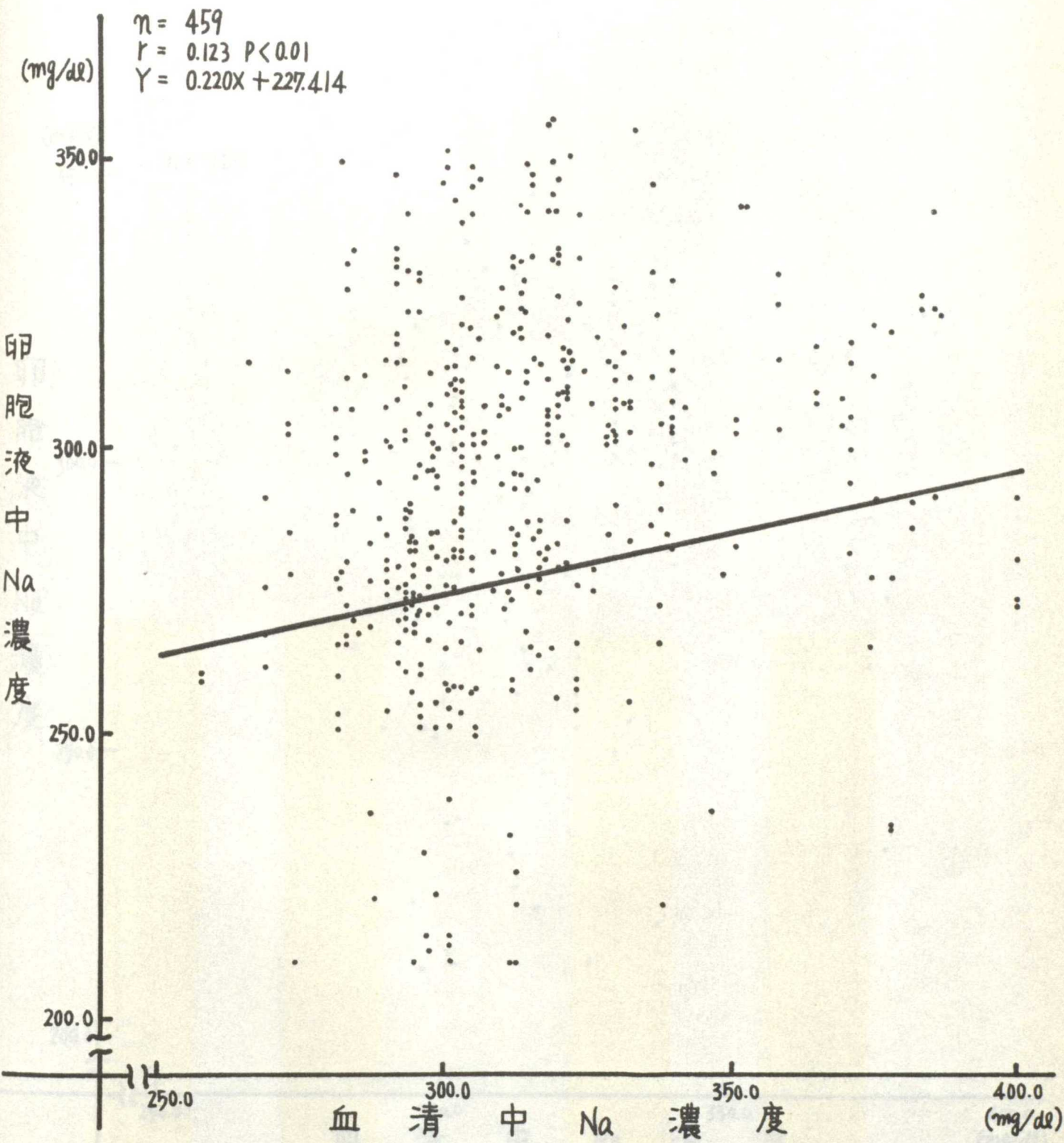


図21 牛の血清中と卵液中のNa濃度の関係

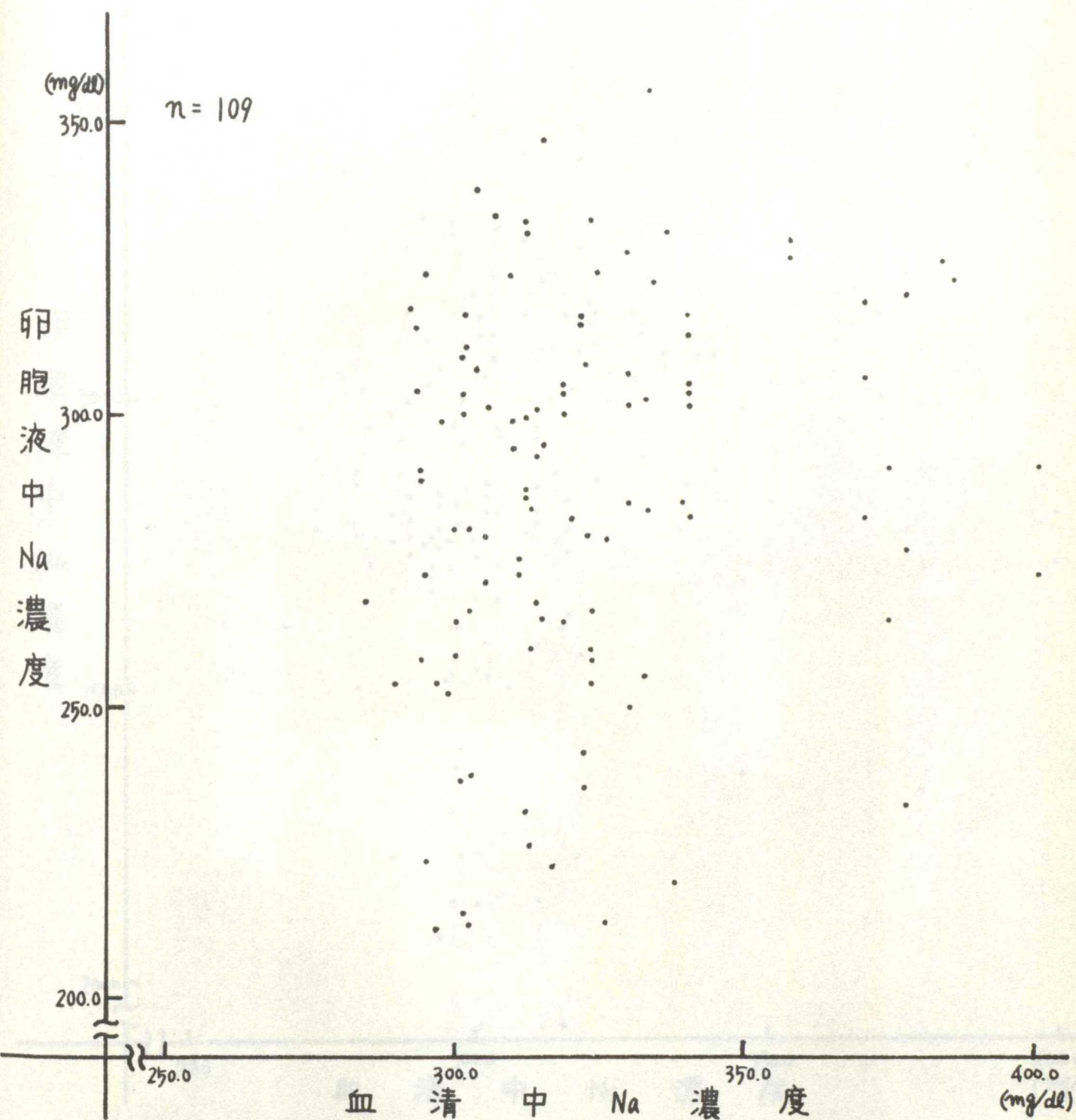


図22 牛の血清中と卵液中のNa濃度の関係
(卵胞の大きさ 8.0 mm 以下)

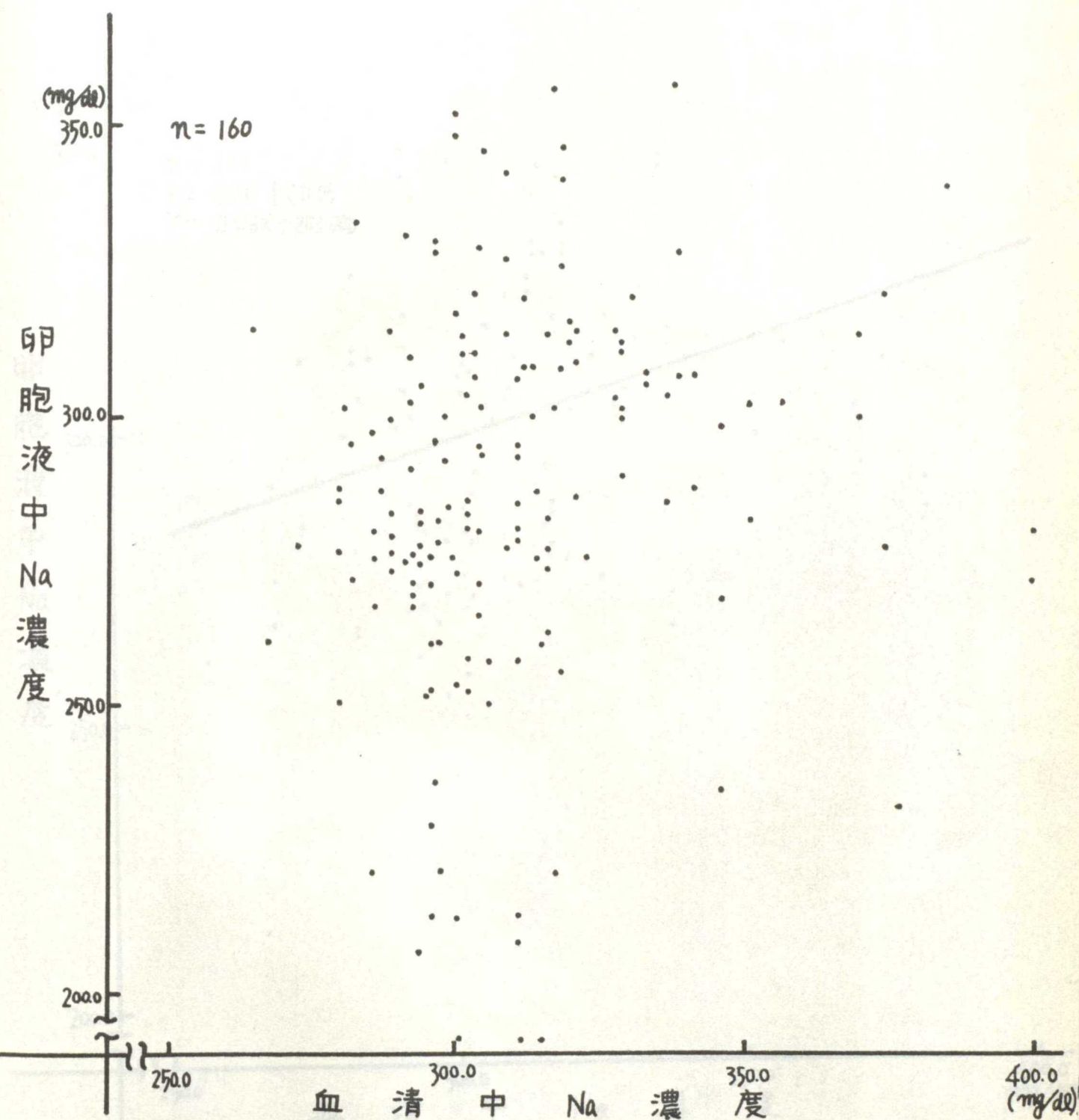


図 23 牛の血清中と卵胞液中のNa濃度の関係
(卵胞の大きさ 8.1~13.0 mm)

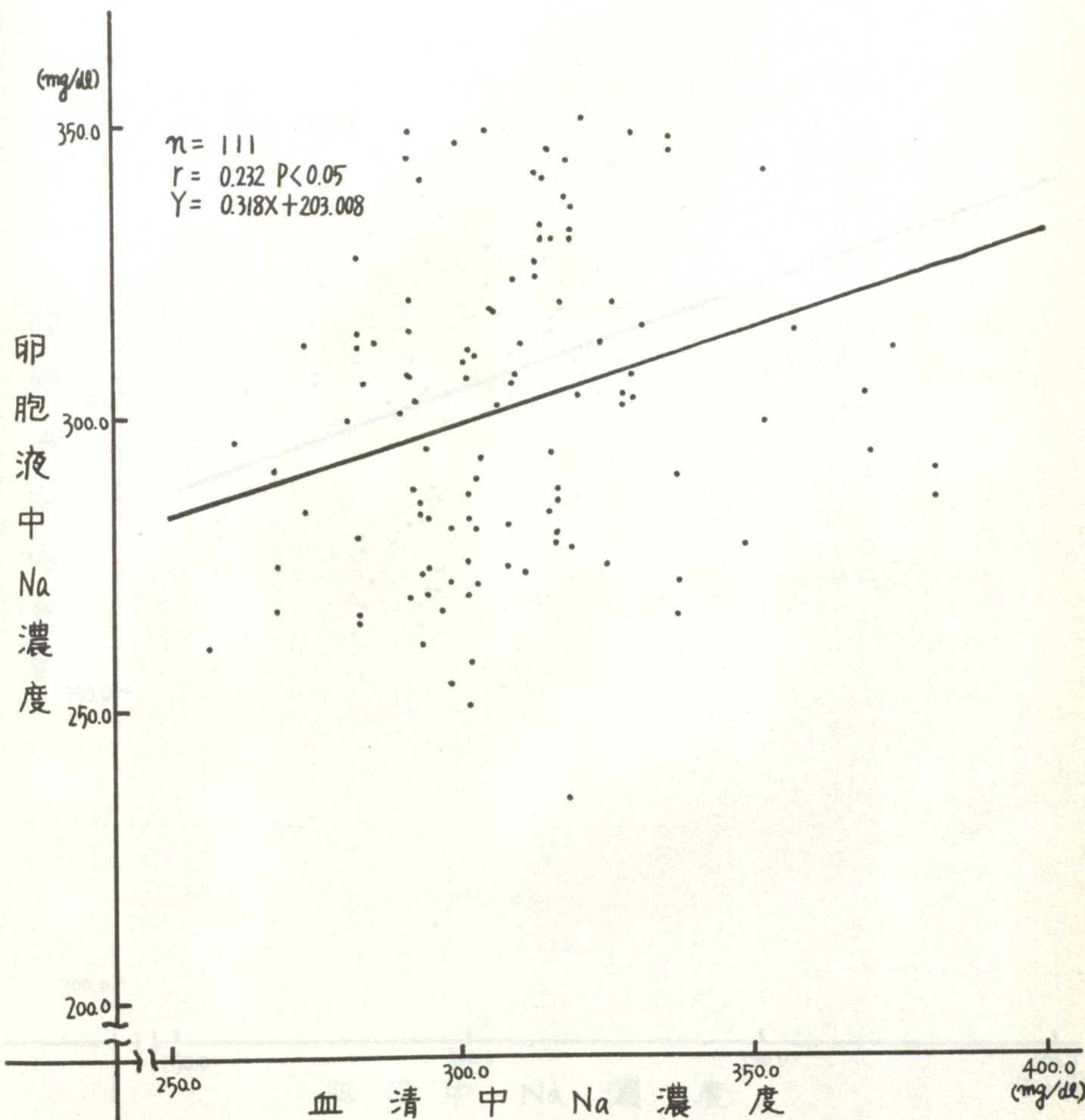


図24 牛の血清中と卵胞液中のNa濃度の関係
(卵胞の大きさ 13.1~18.0 mm)

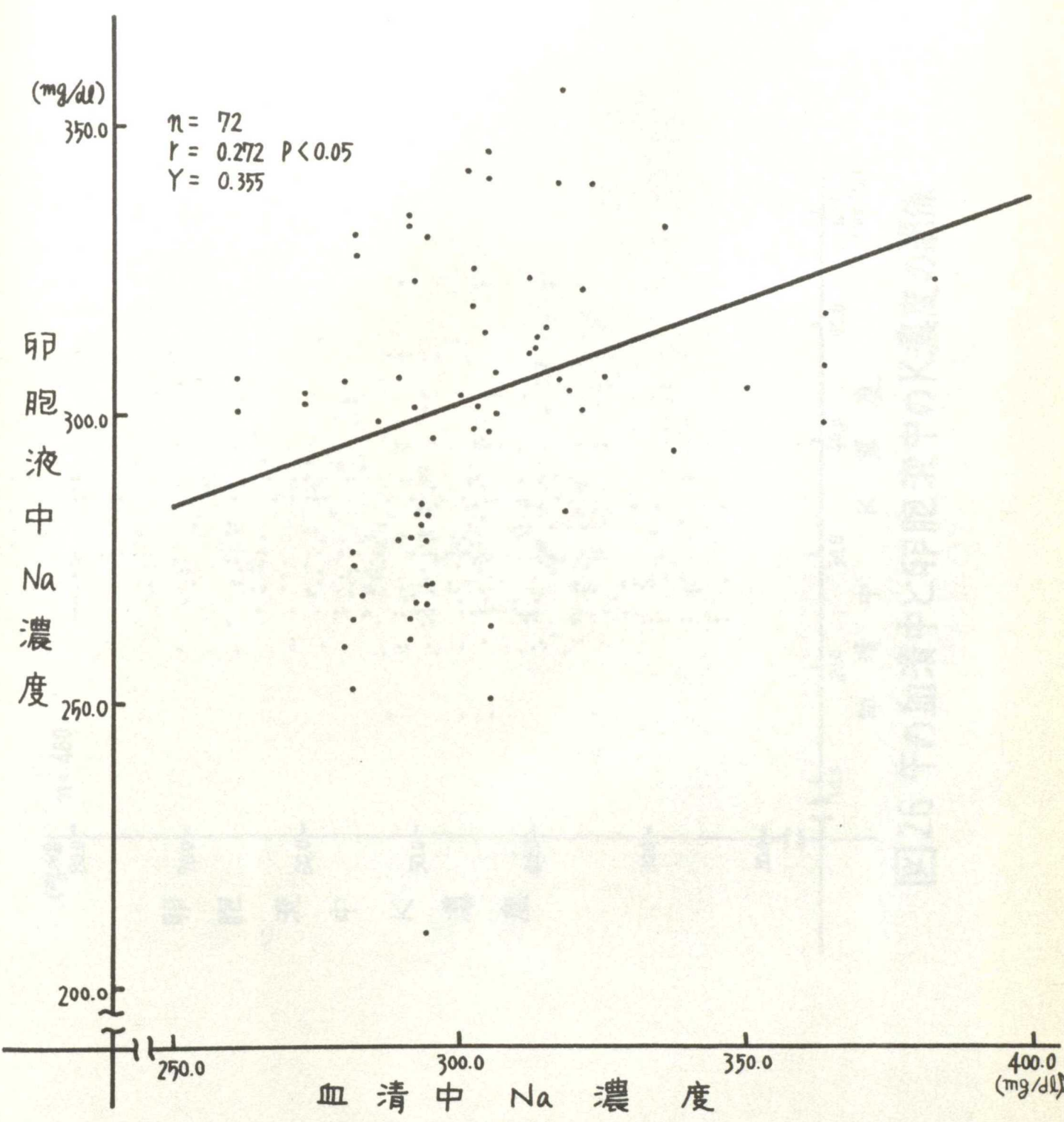


図 25 牛の血清中と卵液中の Na 濃度の関係
(卵胞の大きさ 18.1 mm 以上)

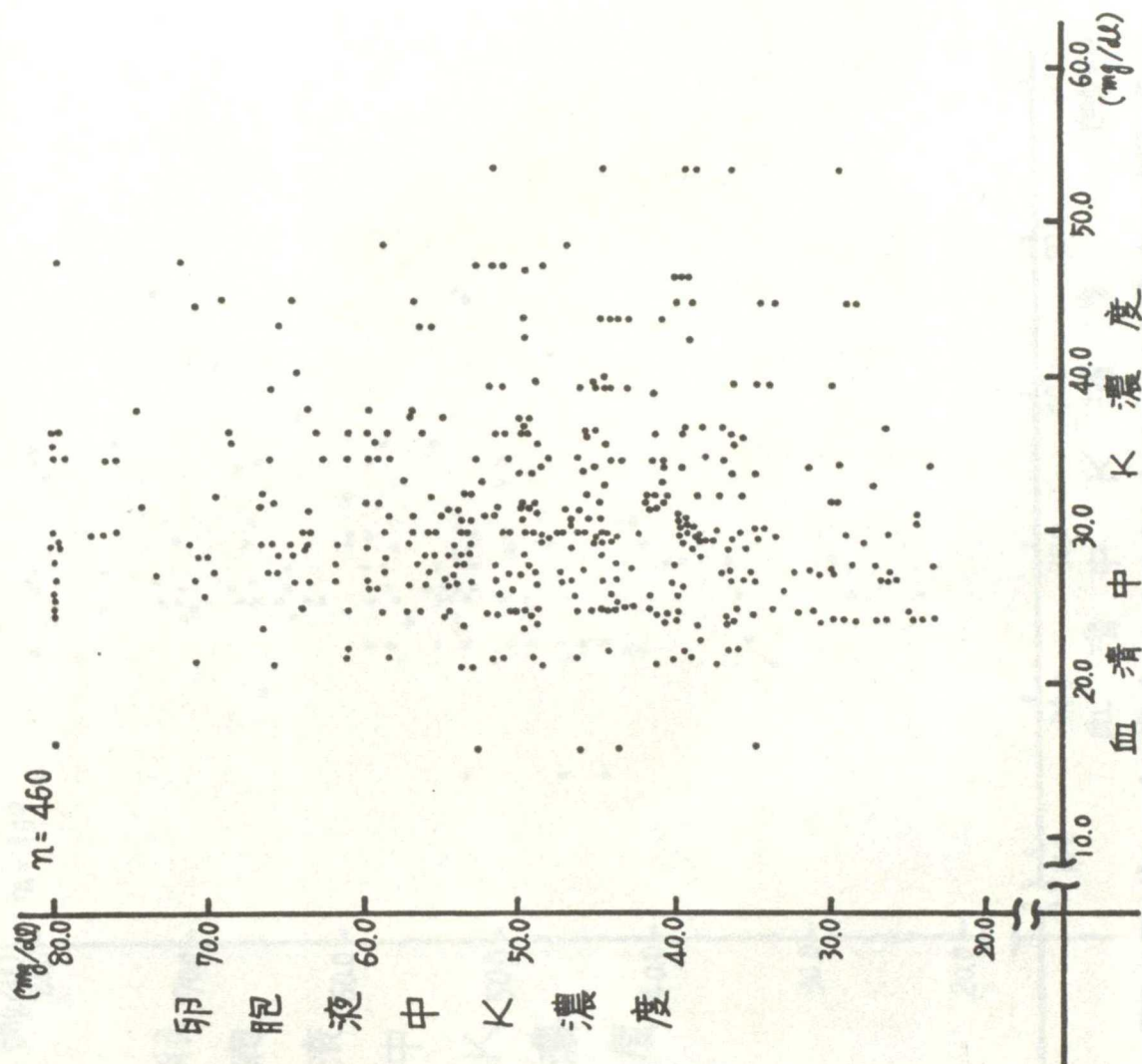


図26 牛の血清中と卵胞液中のK濃度の関係

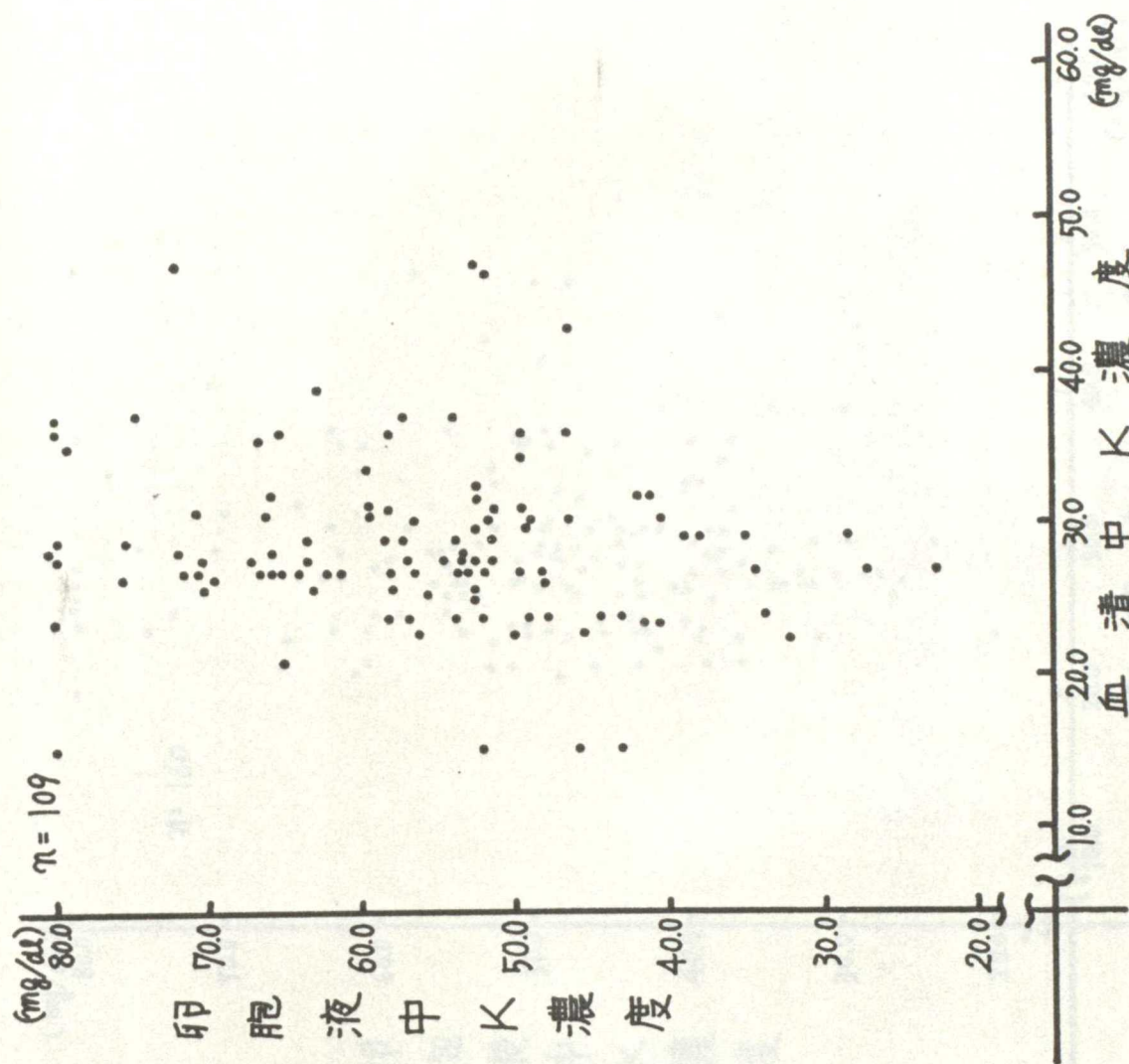


図27 牛の血清中と卵胞液中のK濃度の関係
(卵胞の大きさ 8.0 mm以下)

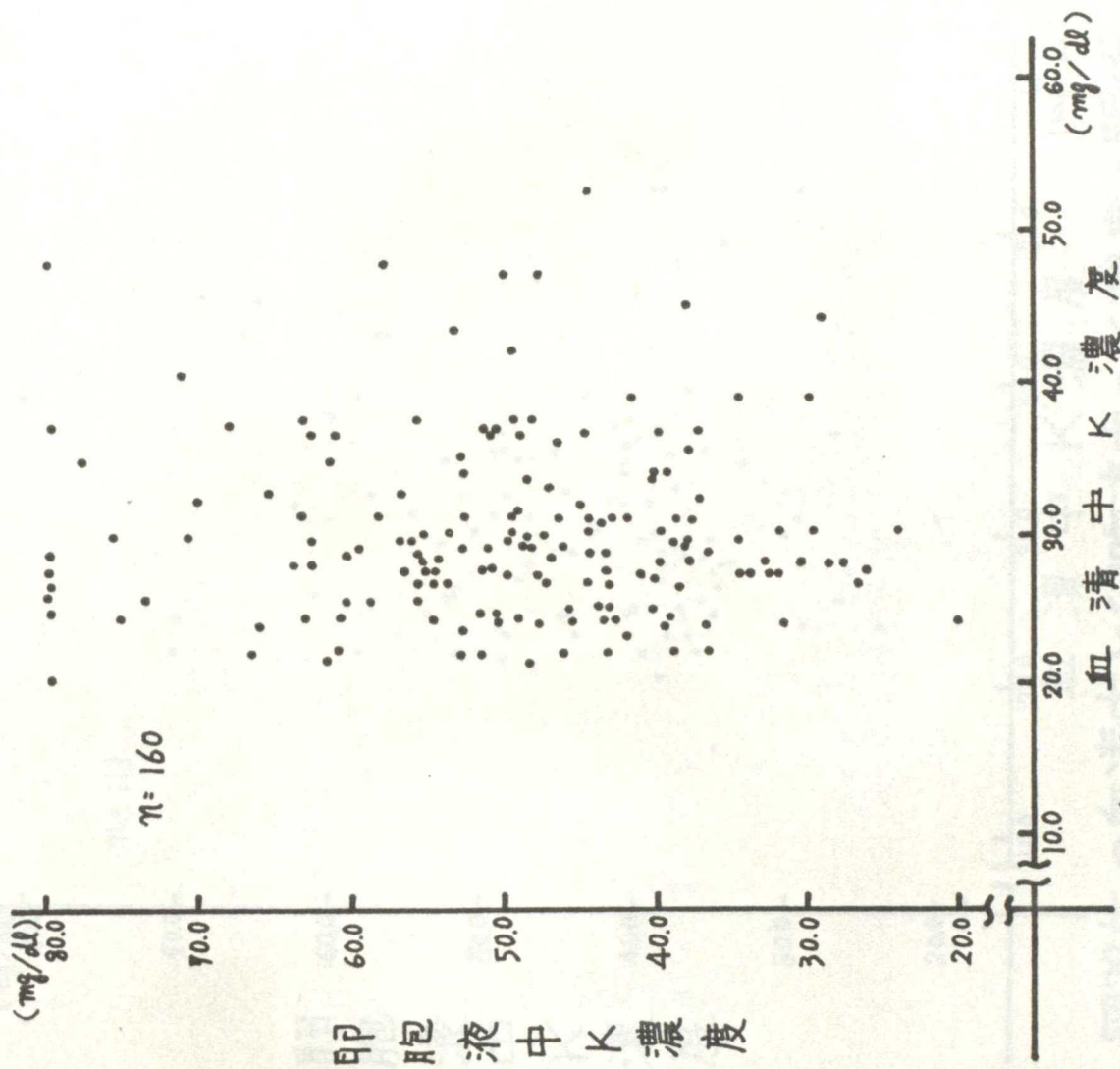


図28牛の血清中と卵胞液中のK濃度の関係
(卵胞の大きさ 8.1~13.0mm)

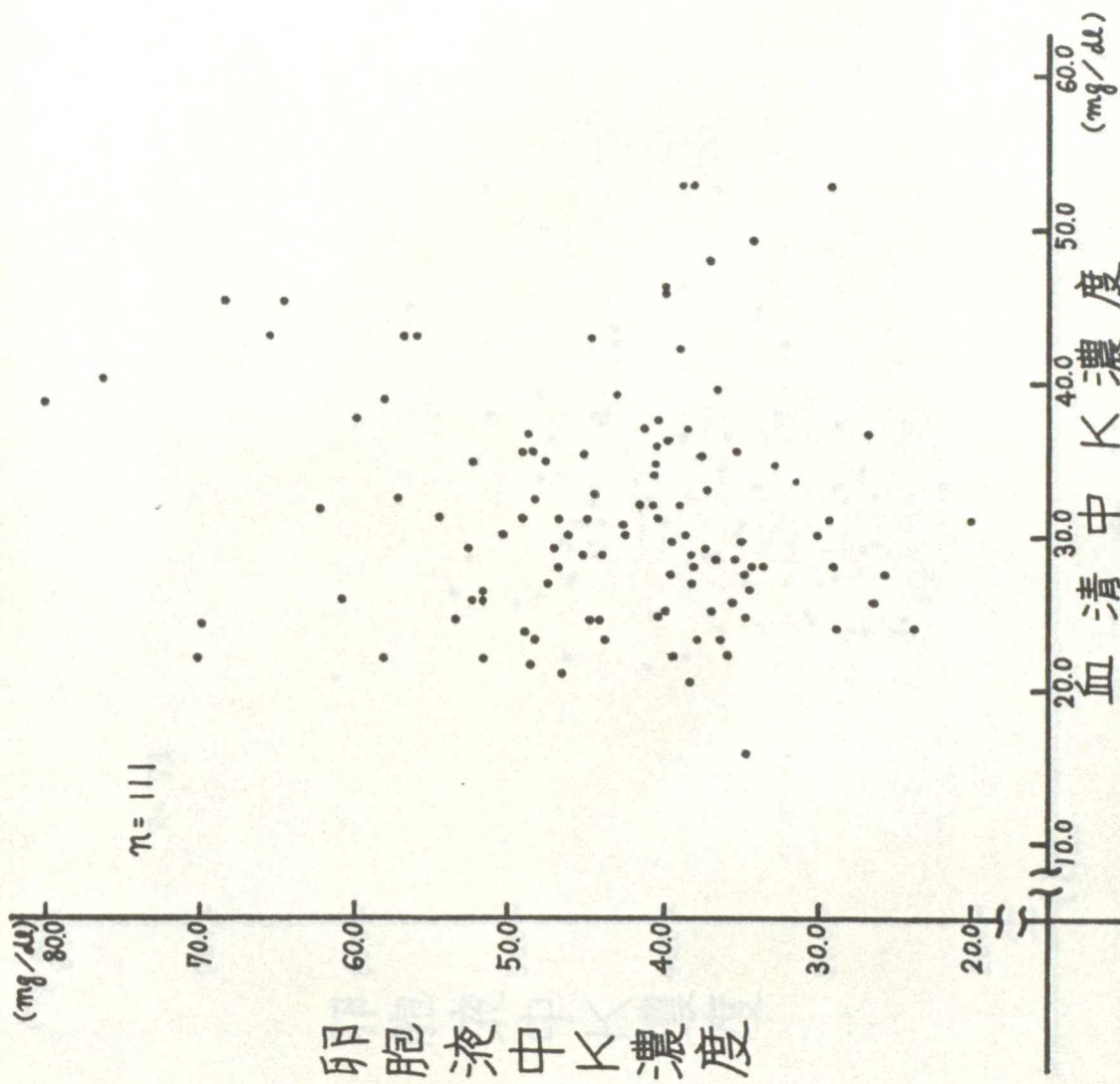


図29牛の血清中と卵胞液中のK濃度の関係
(卵胞の大きさ13.1~18.0mm)

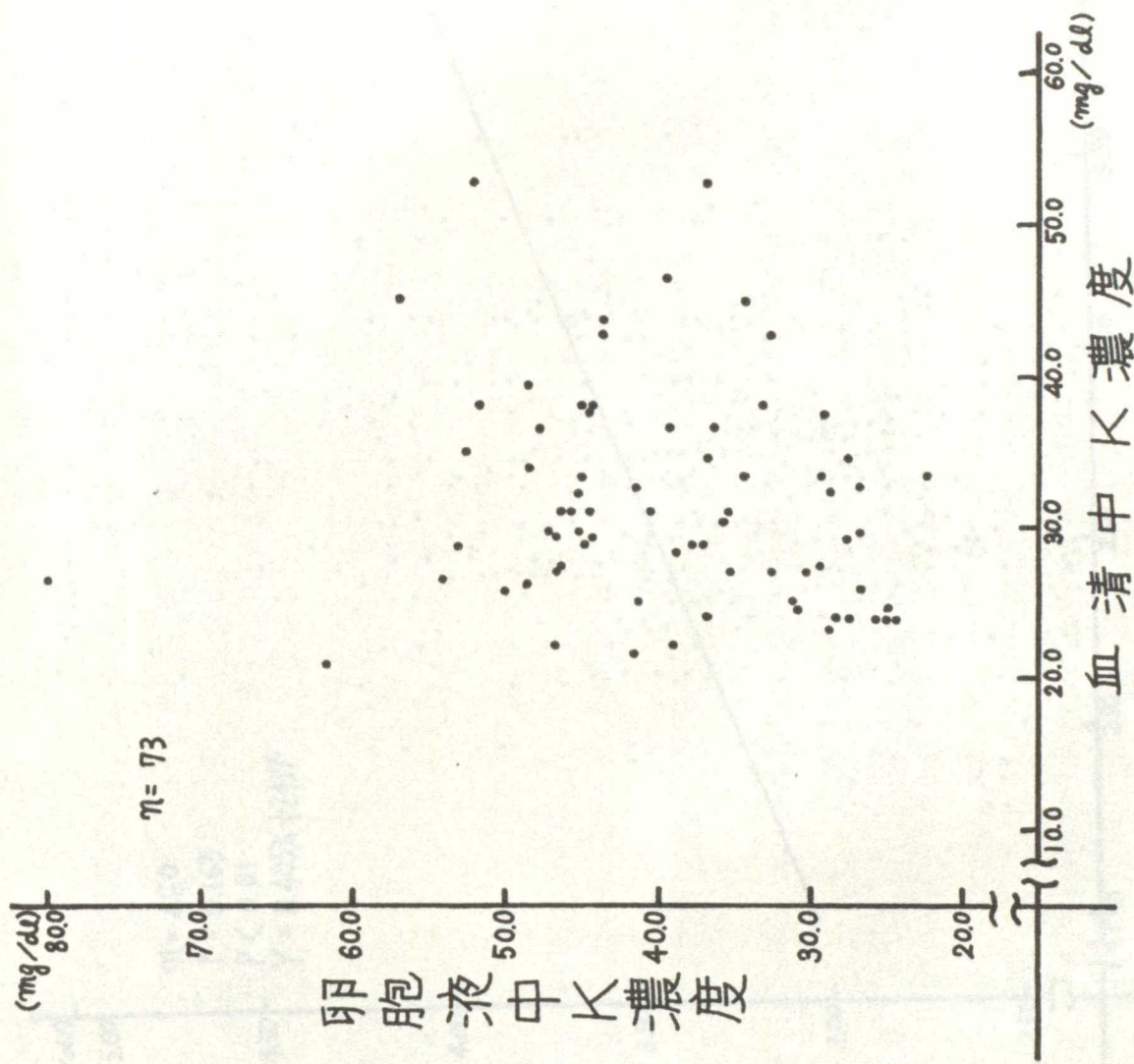


図30牛の血清中と卵胞液中のK濃度の関係
(卵胞の大きさ 18.1mm以上)

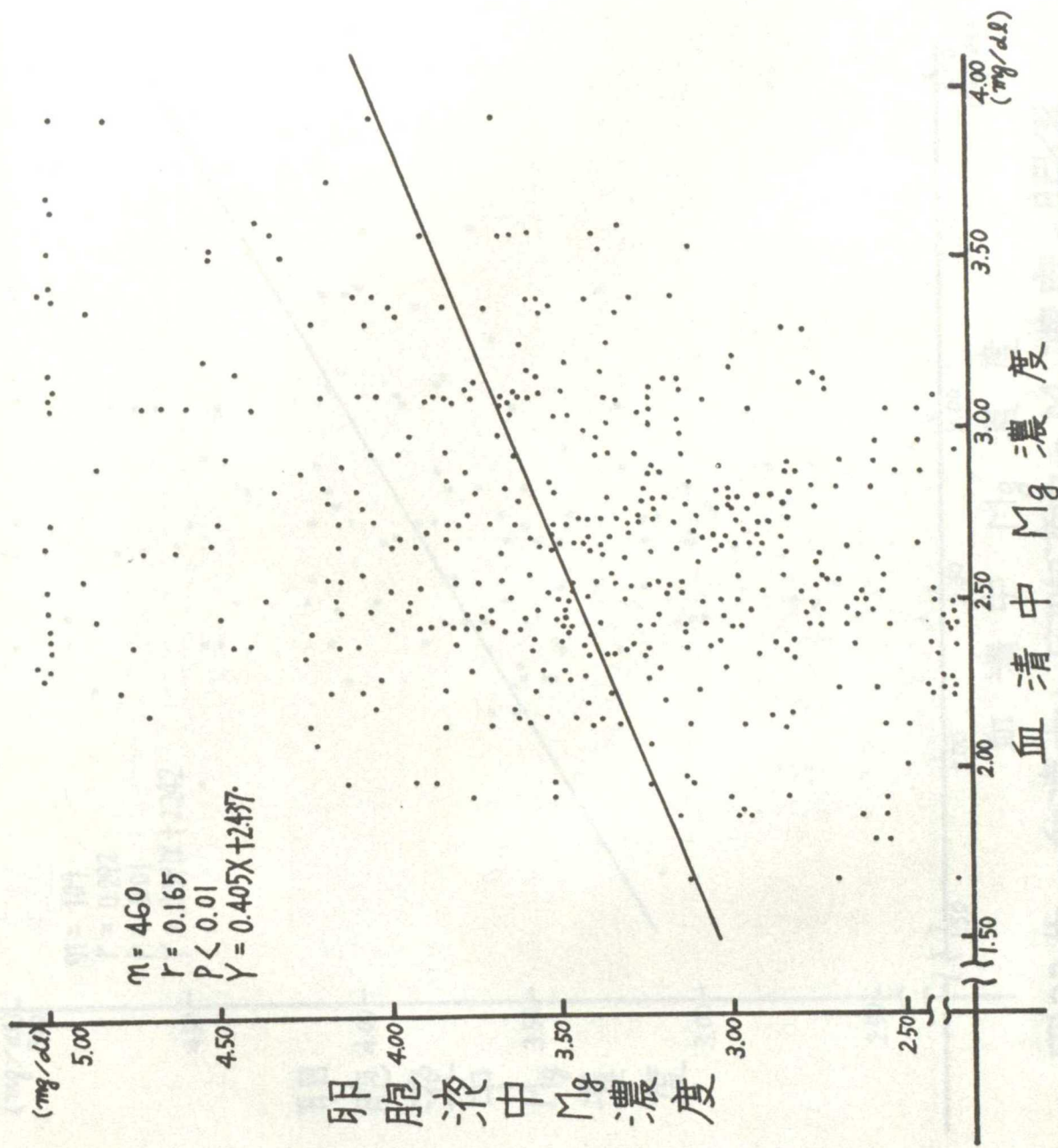


図31 牛の血清中と卵胞液中のMg濃度の関係

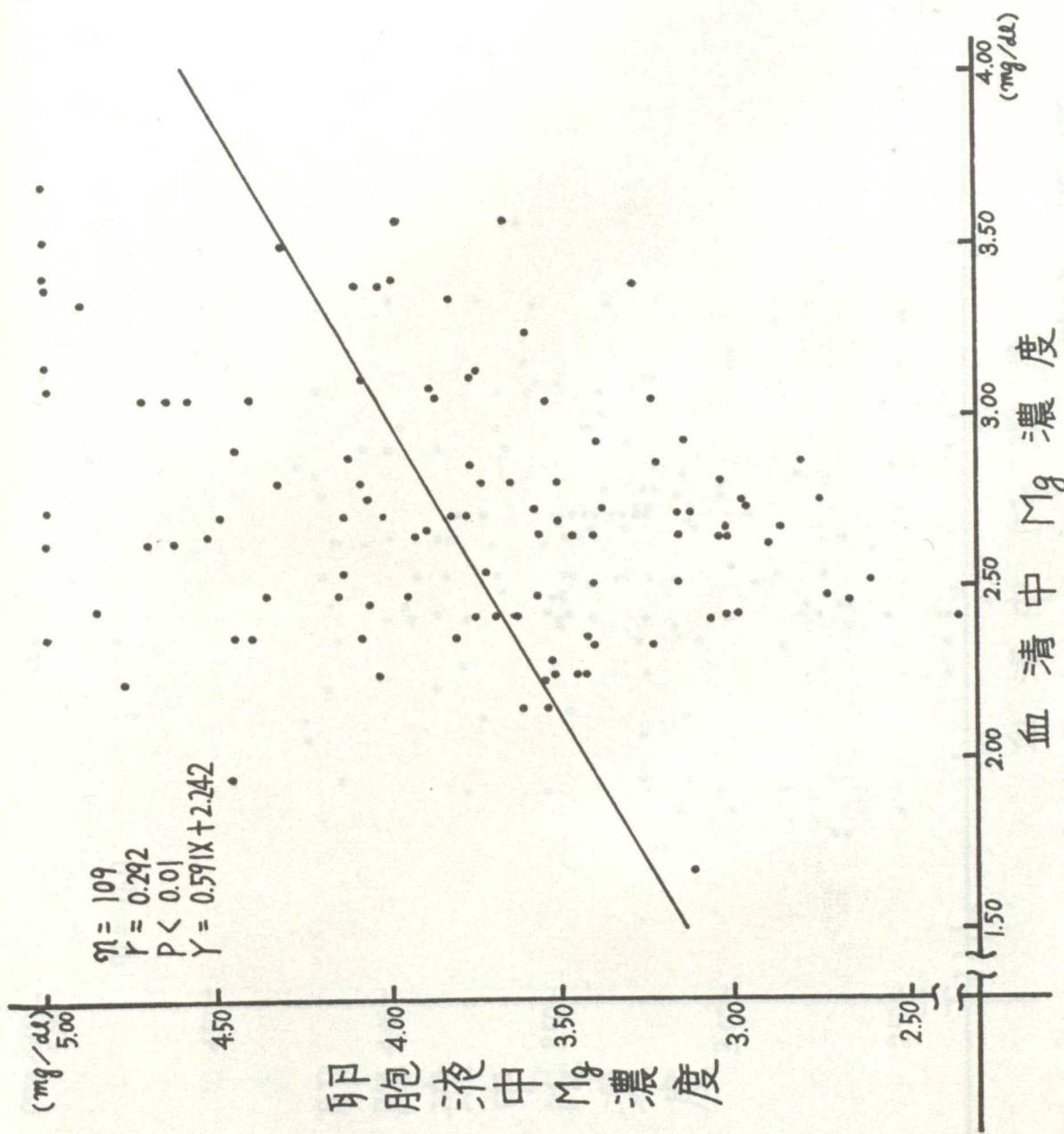


図32 牛の血清中と卵胞液中のMg濃度の関係
(卵胞の大きさ 8.0mm以下)

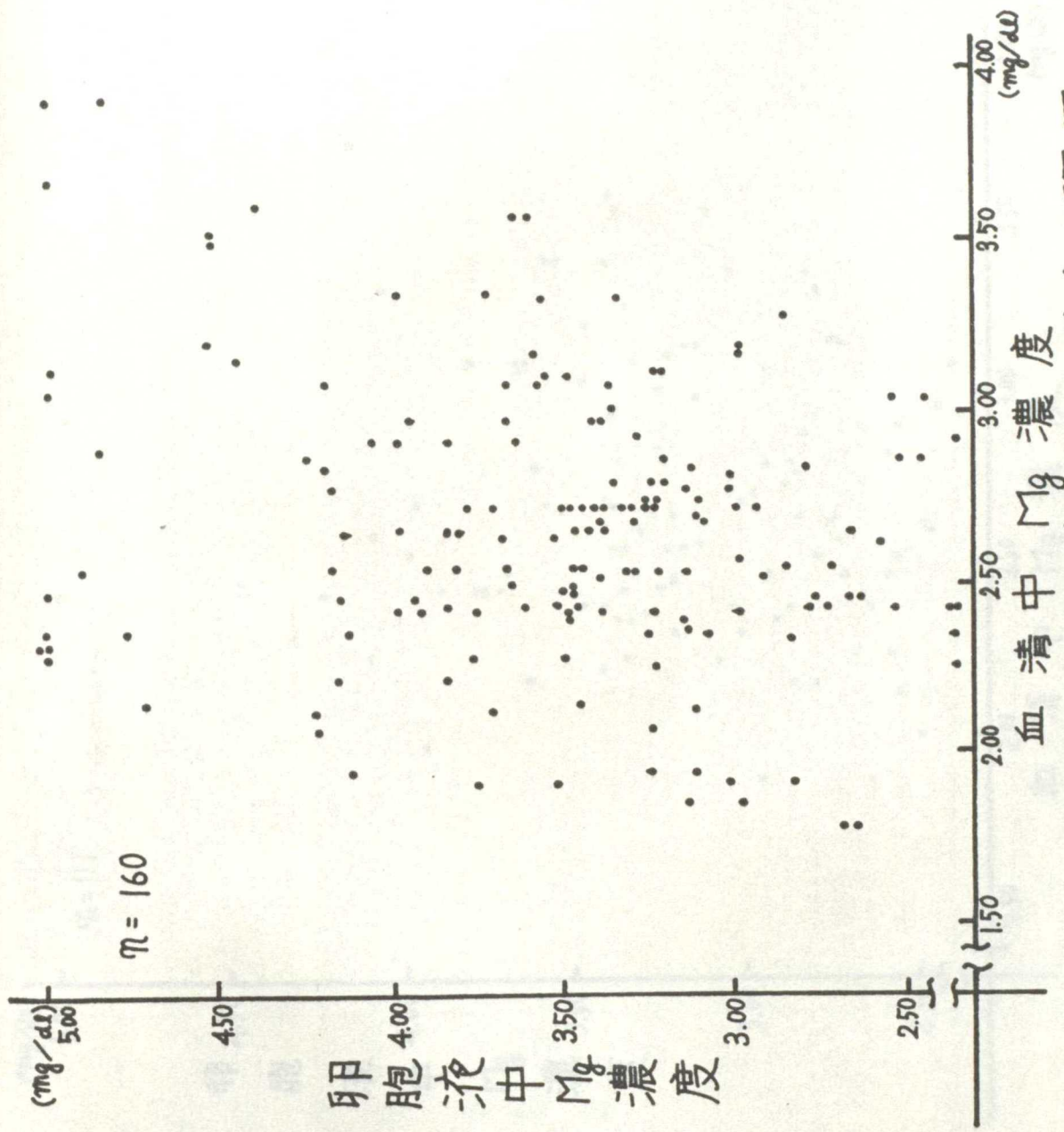


図33牛の血清中と卵胞液中のMg濃度の関係
(卵胞の大きさ 8.1 ~ 13.0 mm)

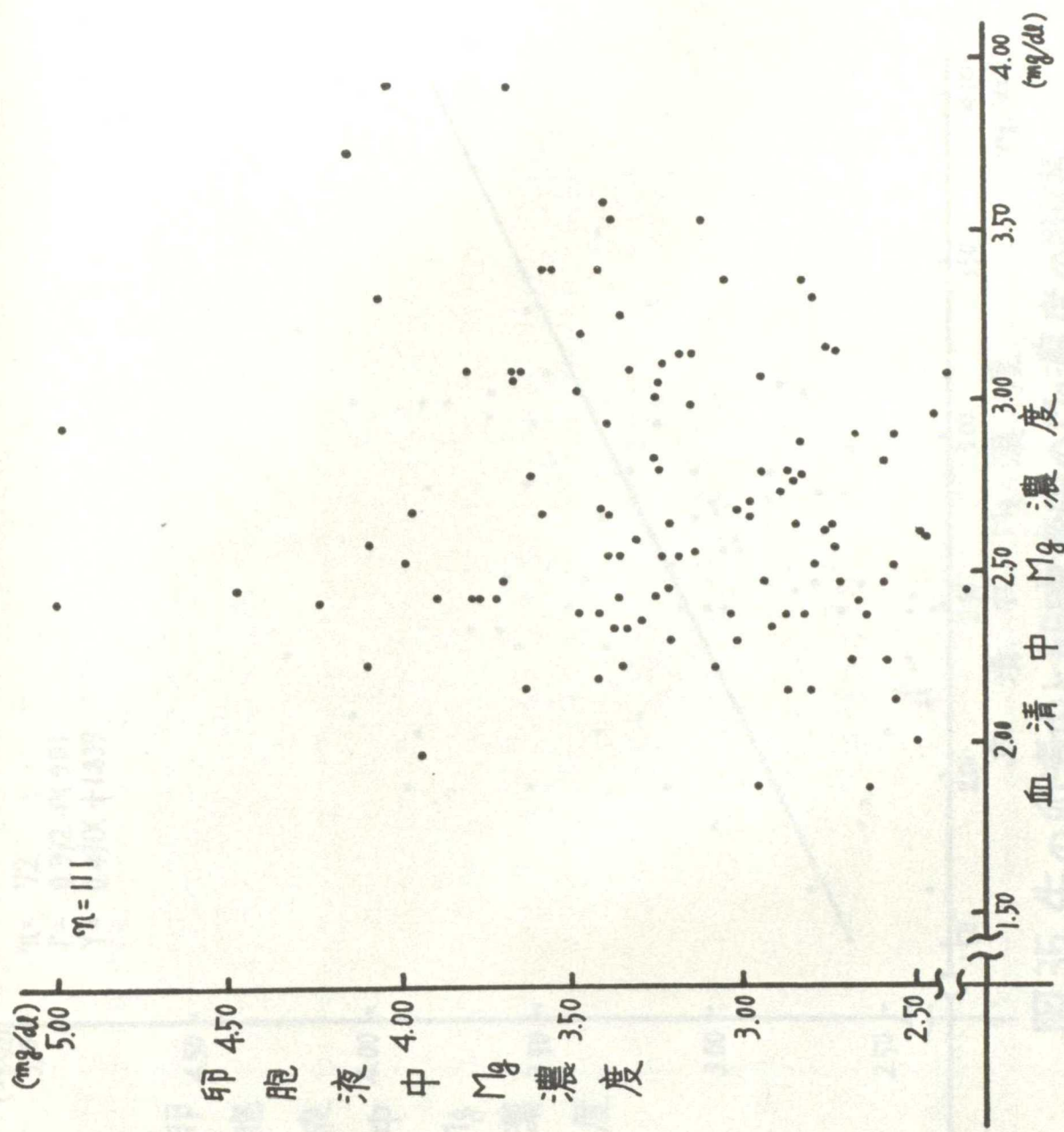


図34 牛の血清中と卵胞液中のMg濃度の関係
(卵胞の大きさ 13.1~18.0 mm)

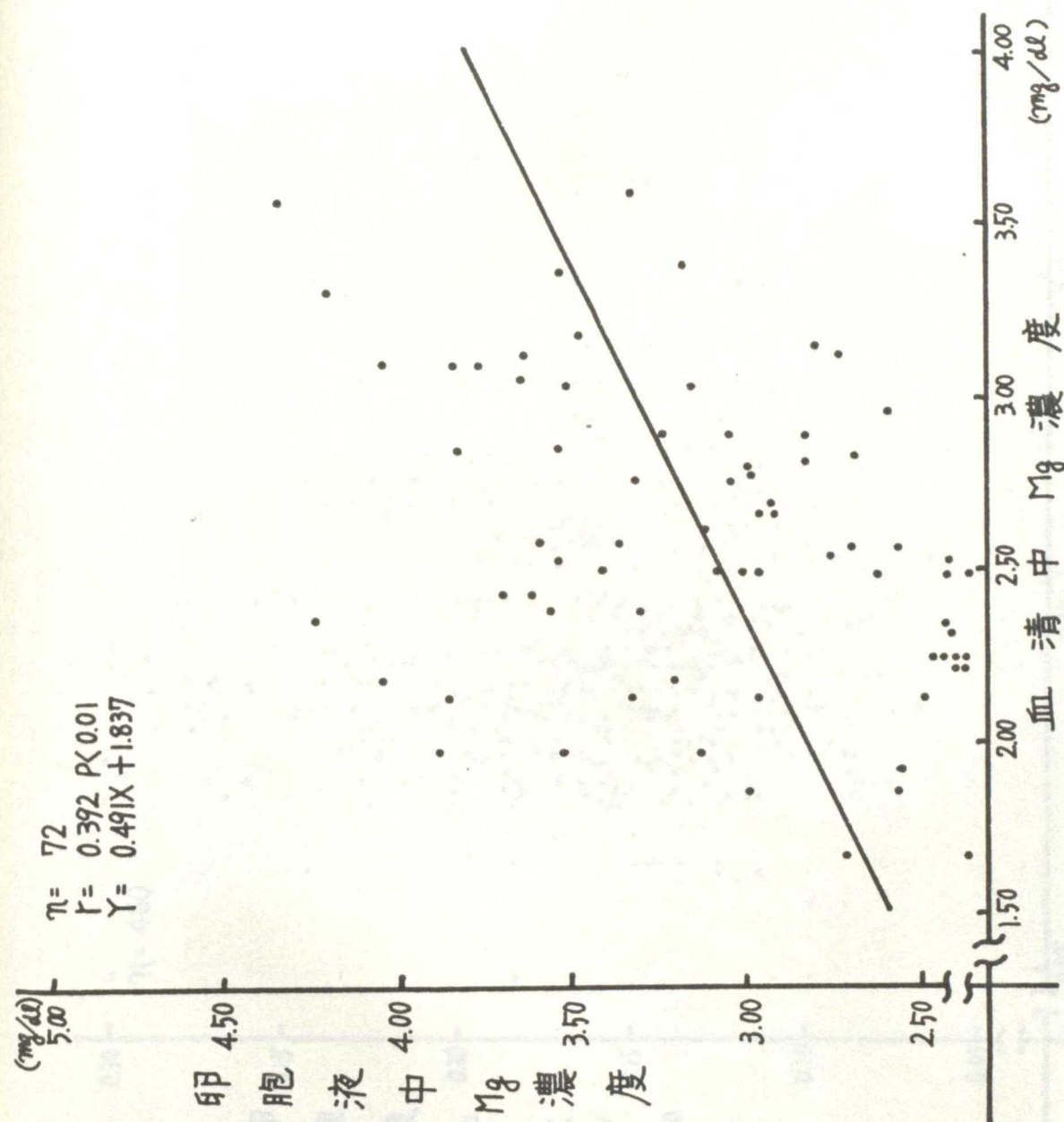


図35 牛の血清中と卵胞液中のMg濃度の関係
 (卵胞の大きさ 18.1mm以上)

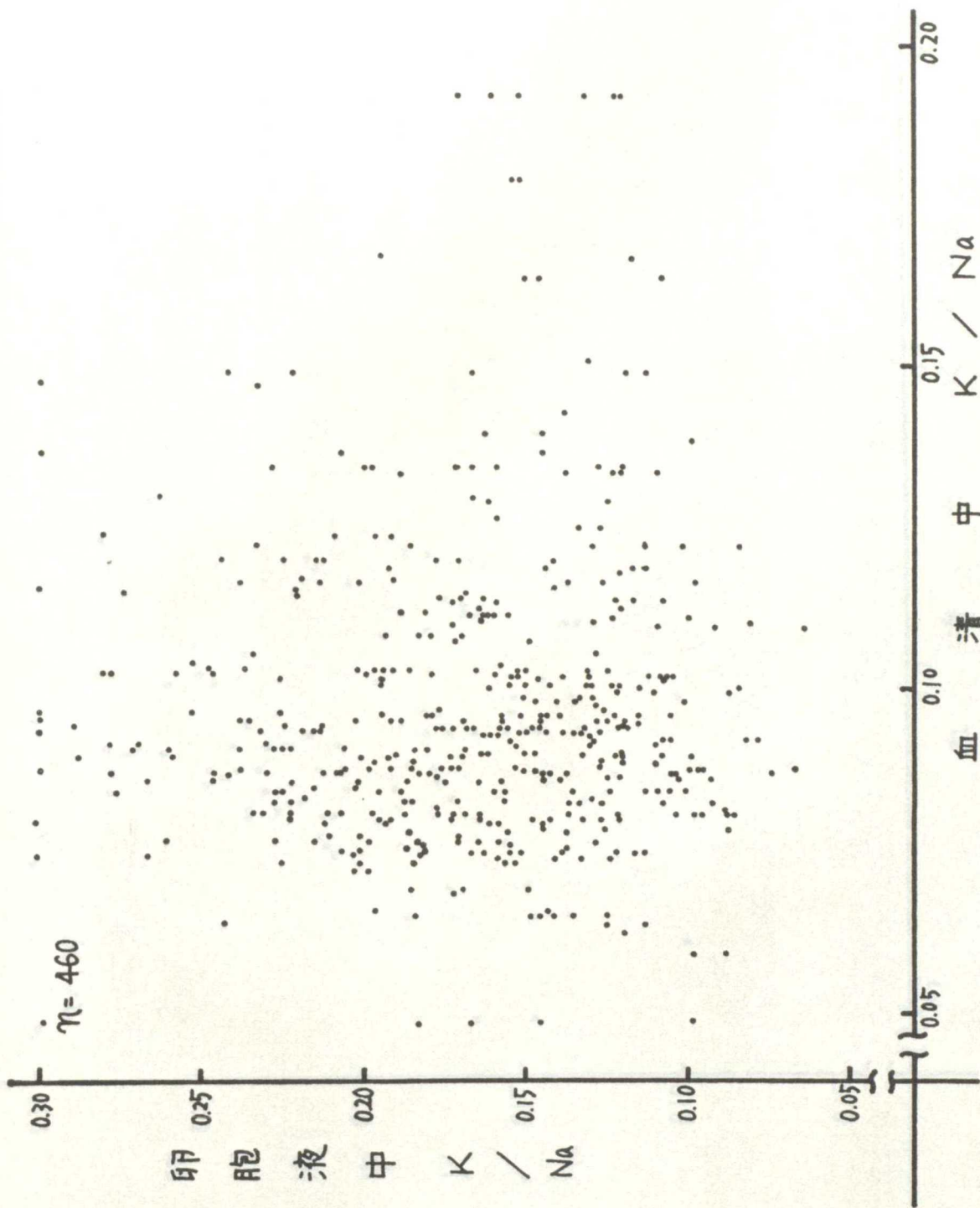


図36 牛の血清中と卵液中の K/Na の関係

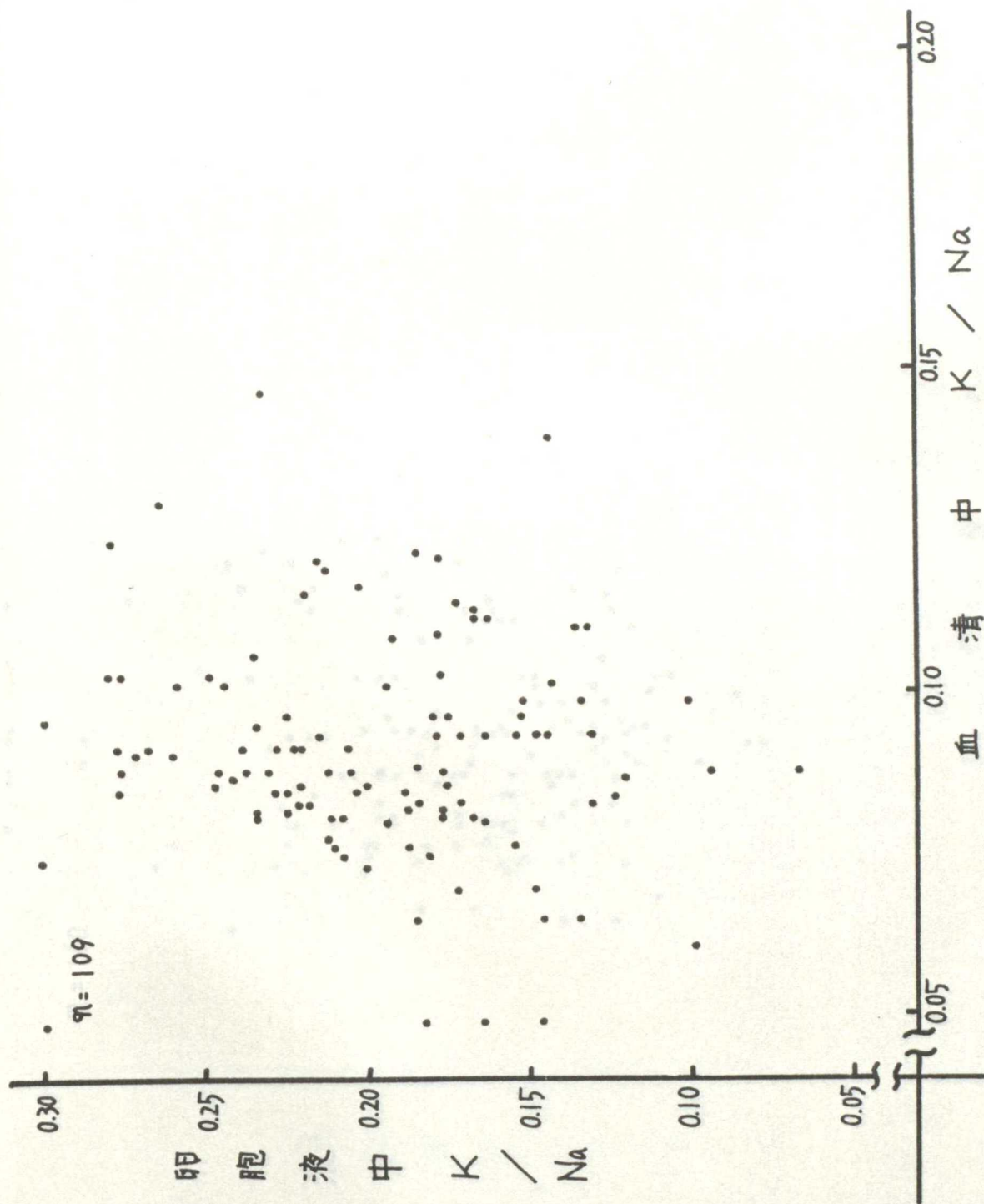


図37 牛の血清中と卵液中の K/Na の関係
(卵胞の大きさ 8.0 mm 以下)

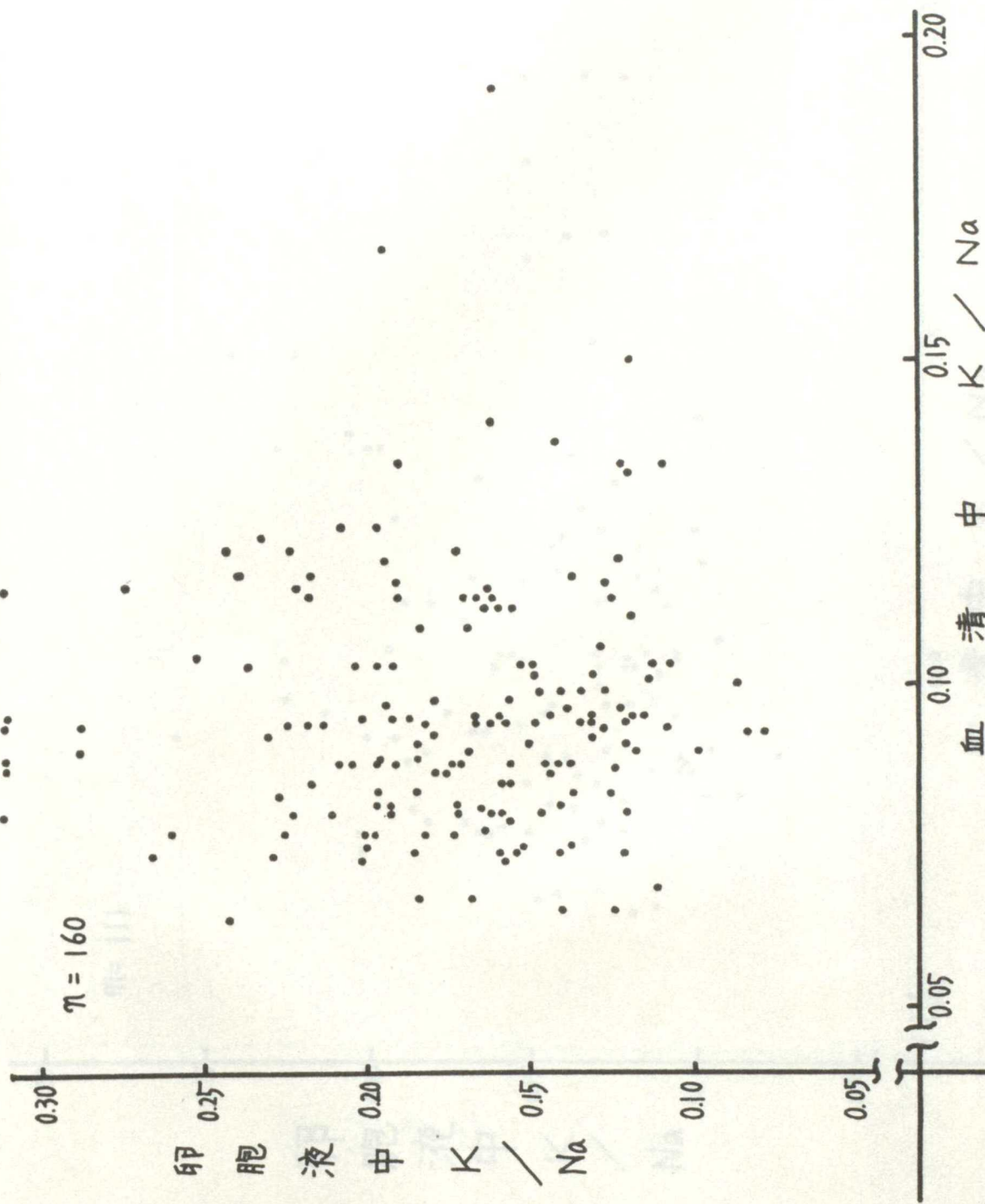


図38 牛の血清中と卵細胞液中のK/Naの関係

(卵細胞の大きさ 8.1~13.0 mm)

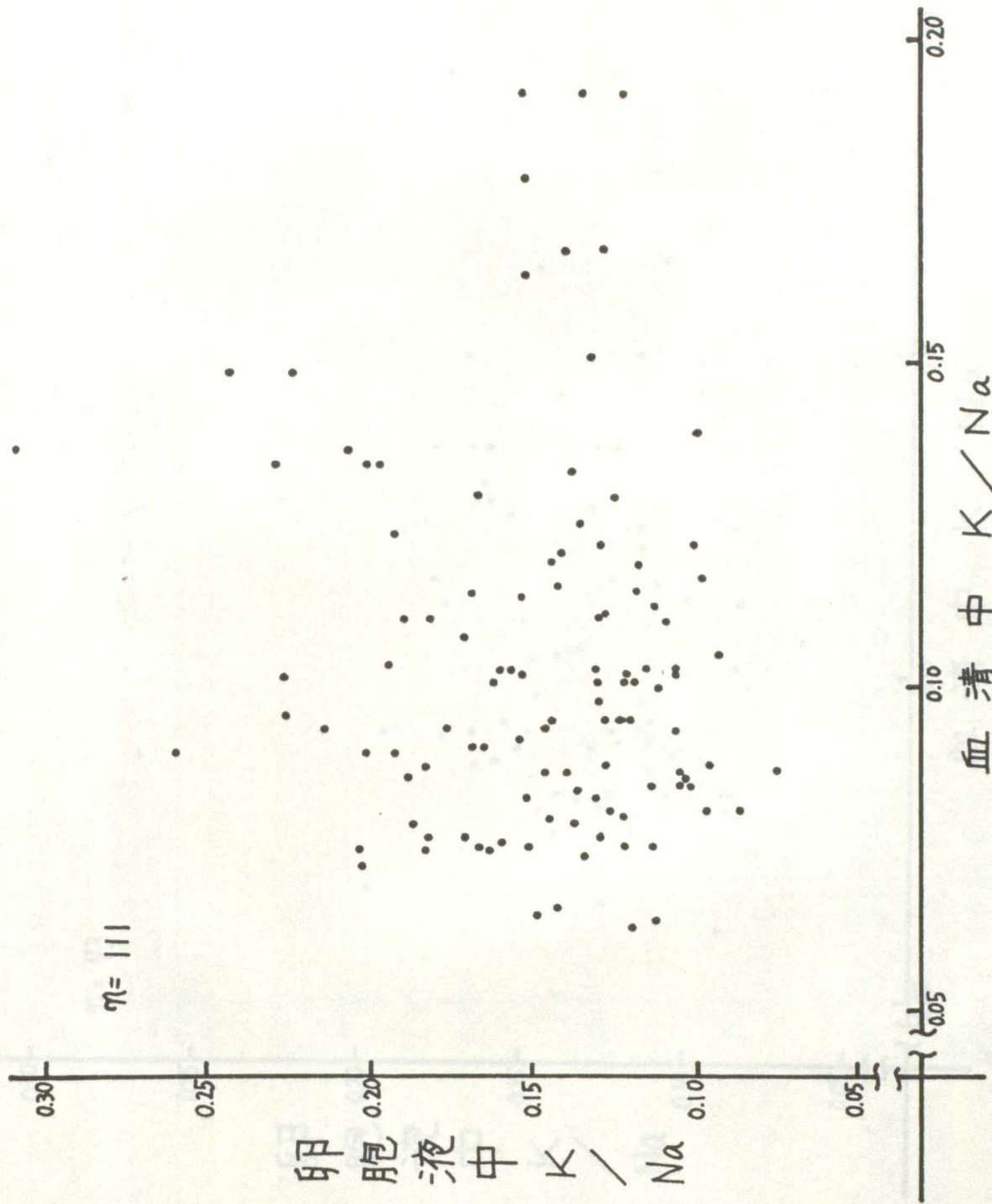


図39牛の血清中と卵胞液中のK/Naの関係

(卵胞の大きさ 13.1 ~ 18.0 mm)

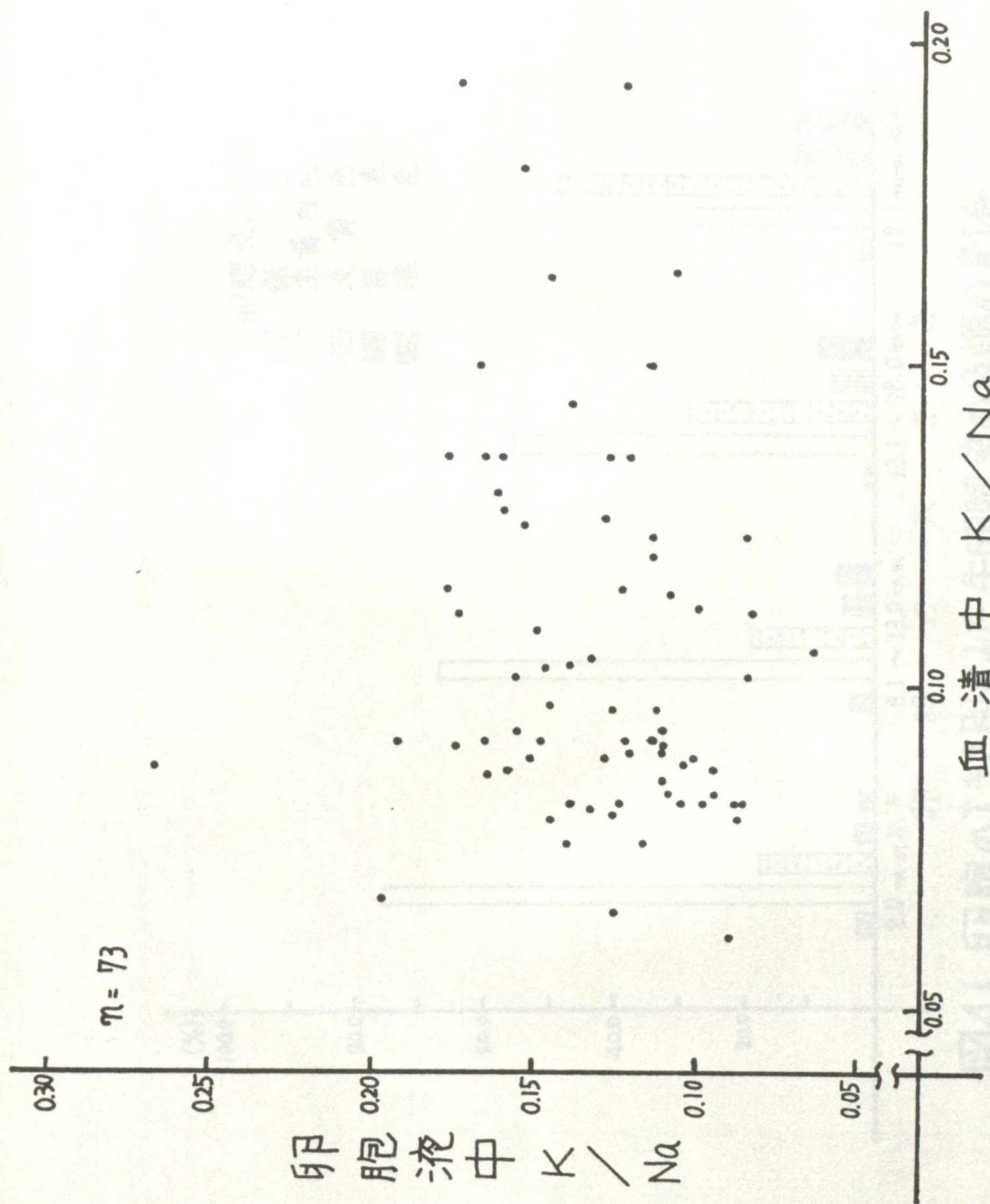


図40 牛の血清中と卵液中のK/Naの関係

(卵胞の大きさ 18.1 mm以上)

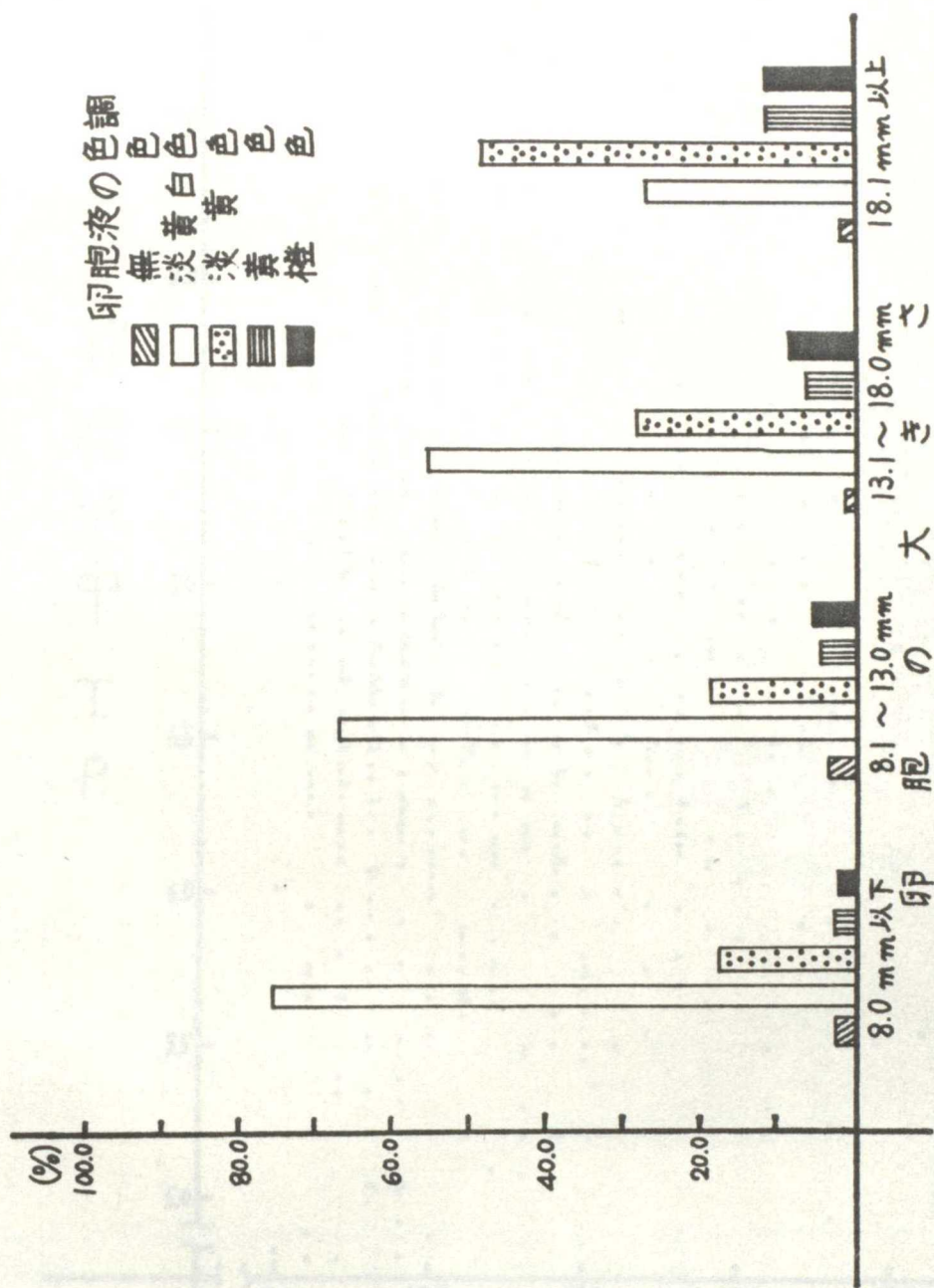


図41 卵胞の大きさにみた牛卵胞液の色調の割合

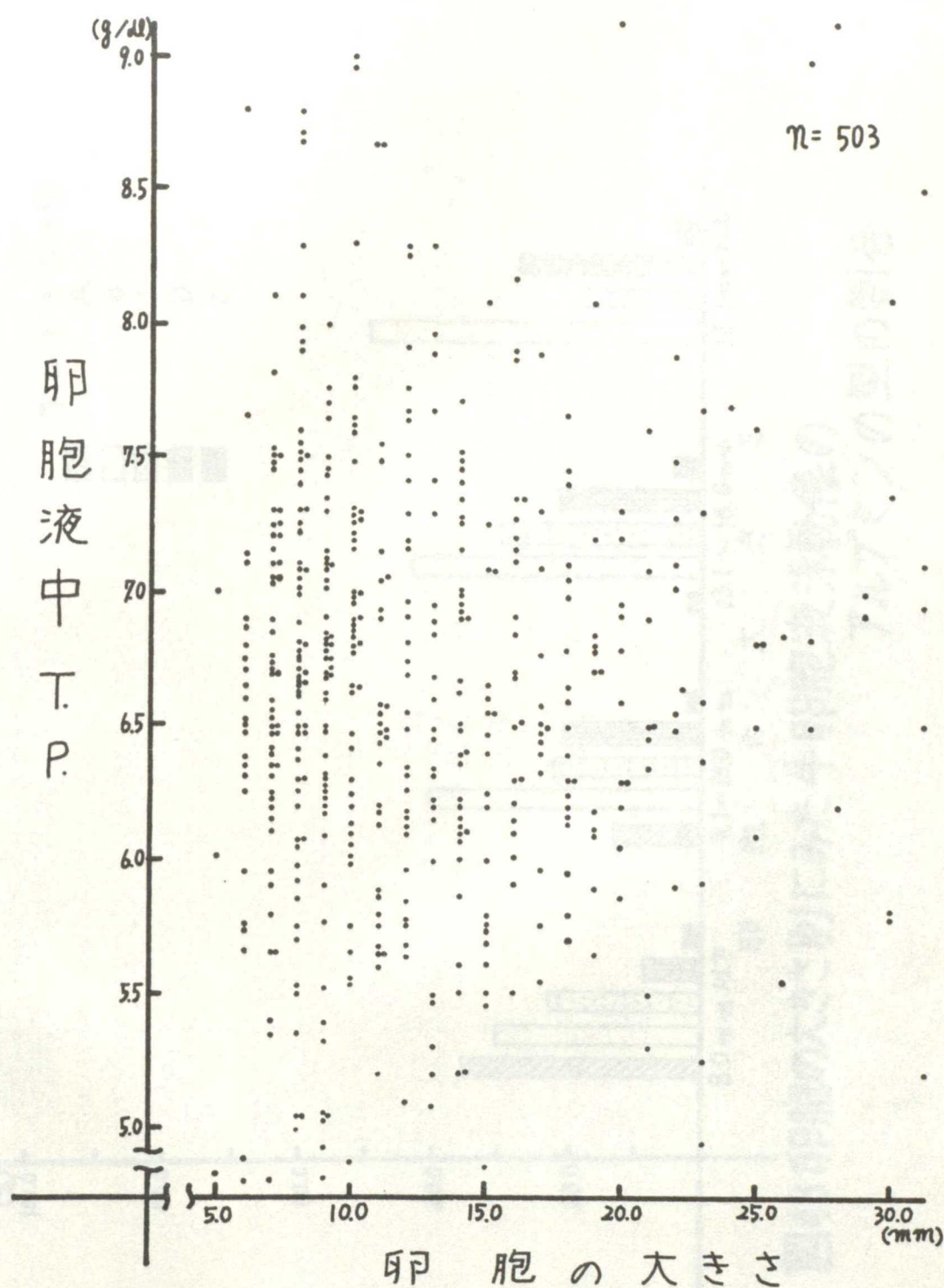


図42牛の卵胞の大きさと卵液中T.P.の関係

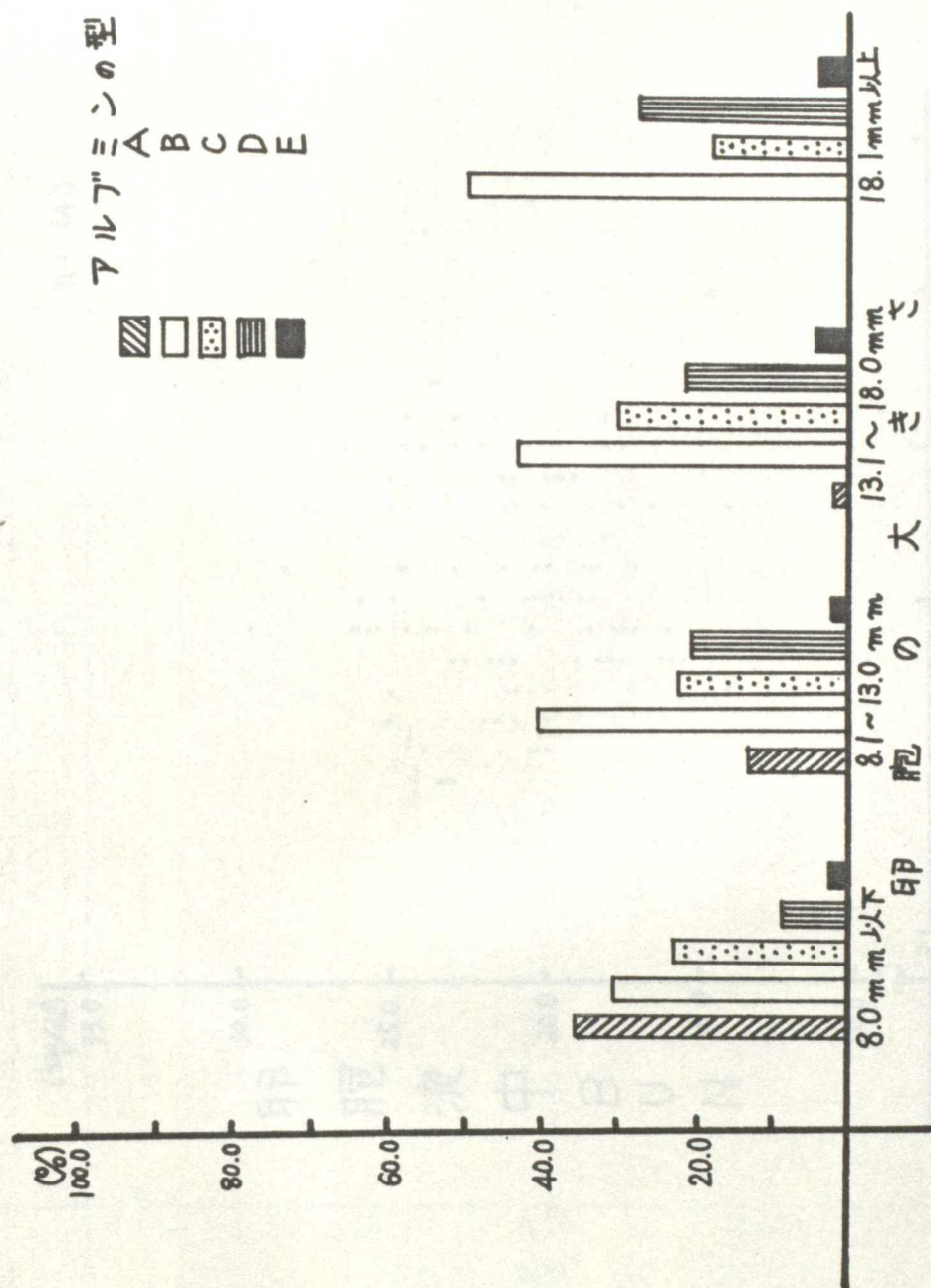


図43 卵胞の大きさに別にした牛卵胞液泳動像のアルブミンの型の割合

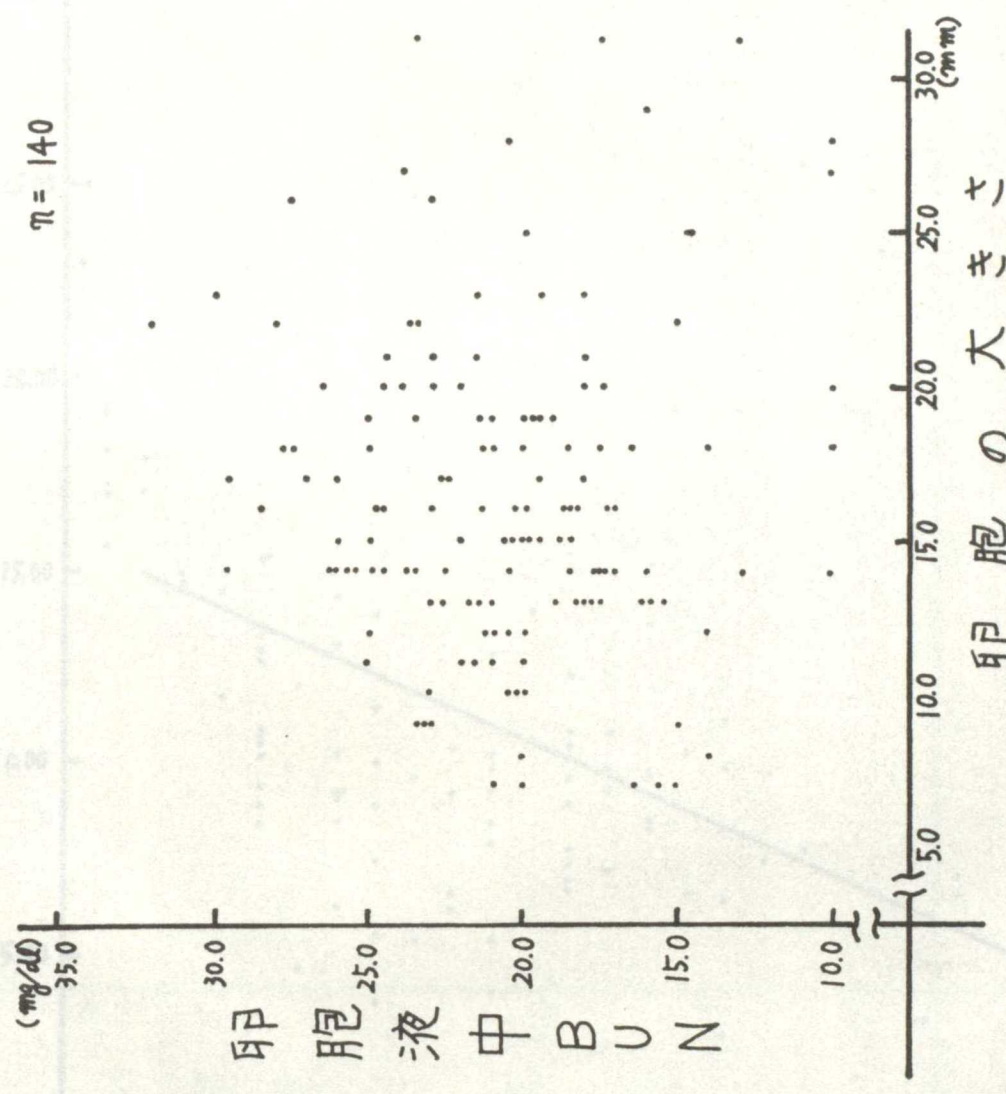


図44牛の卵胞の大きさと卵胞液中BUNの関係

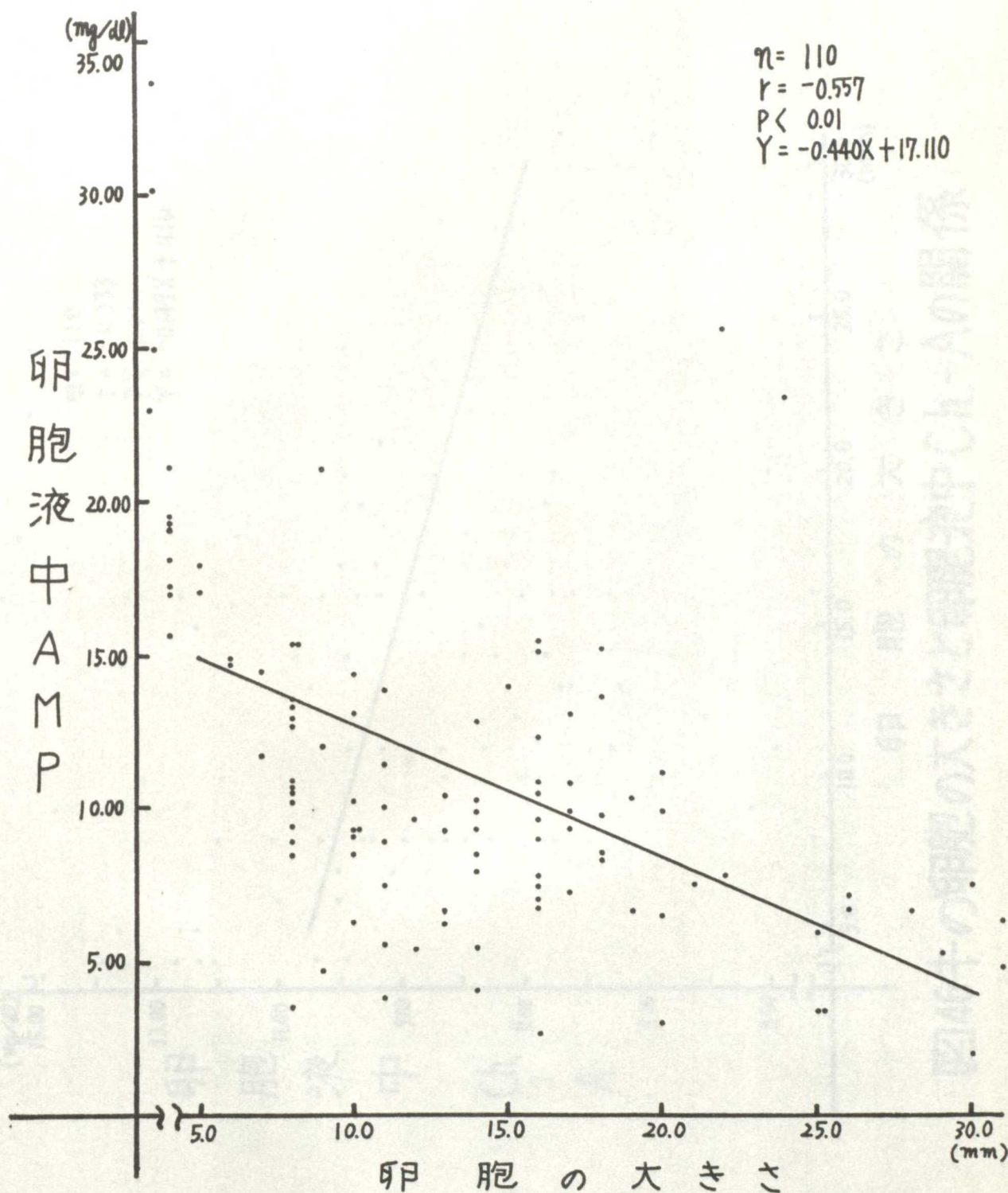


図45 牛の卵胞の大きさと卵胞液中AMPの関係

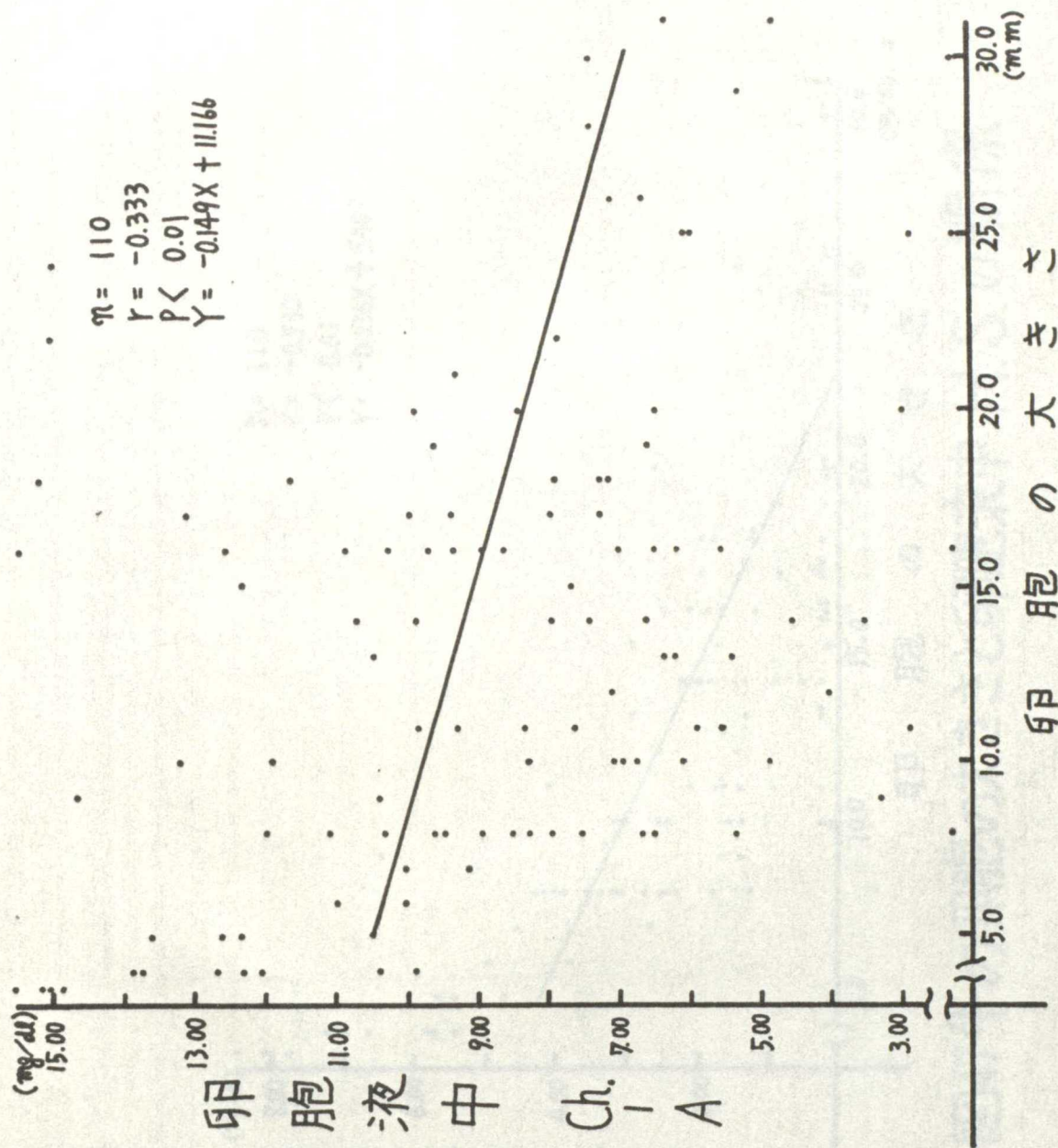
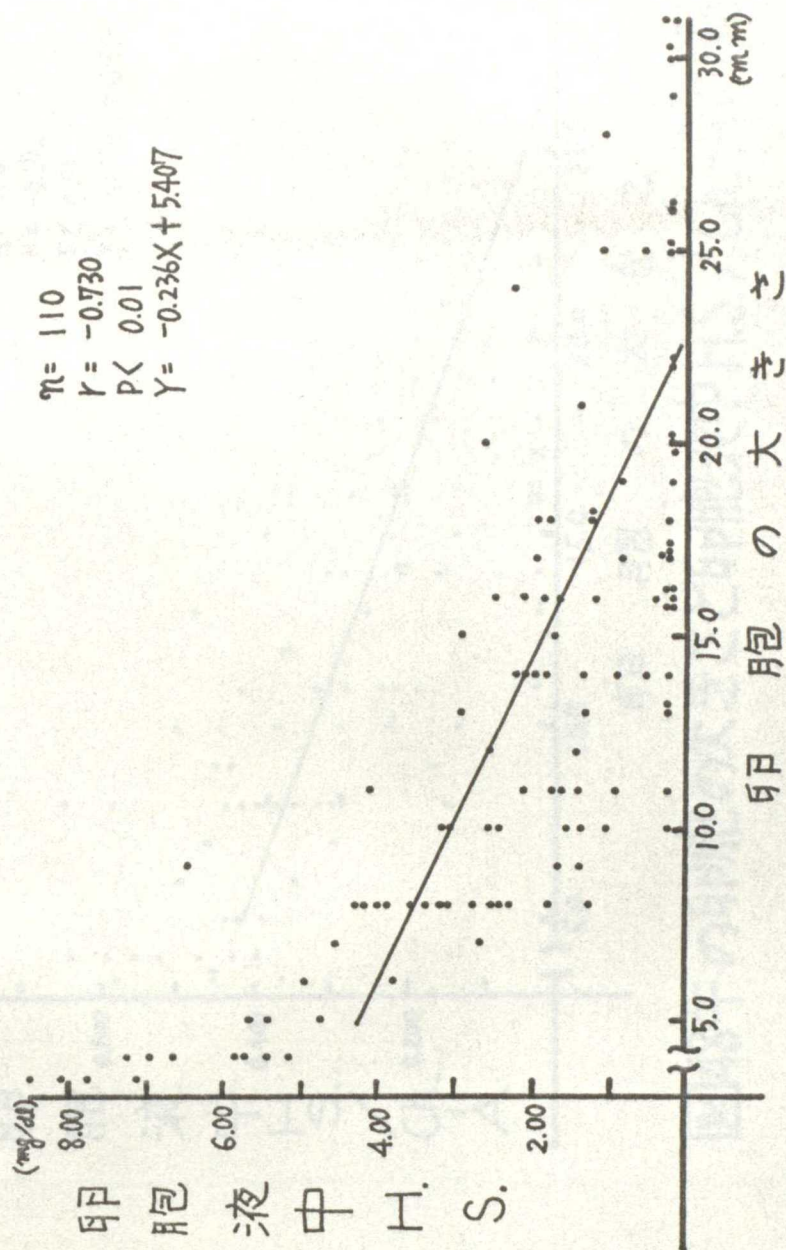


図46牛の卵胞の大きさと卵胞液中Chl.-Aの関係



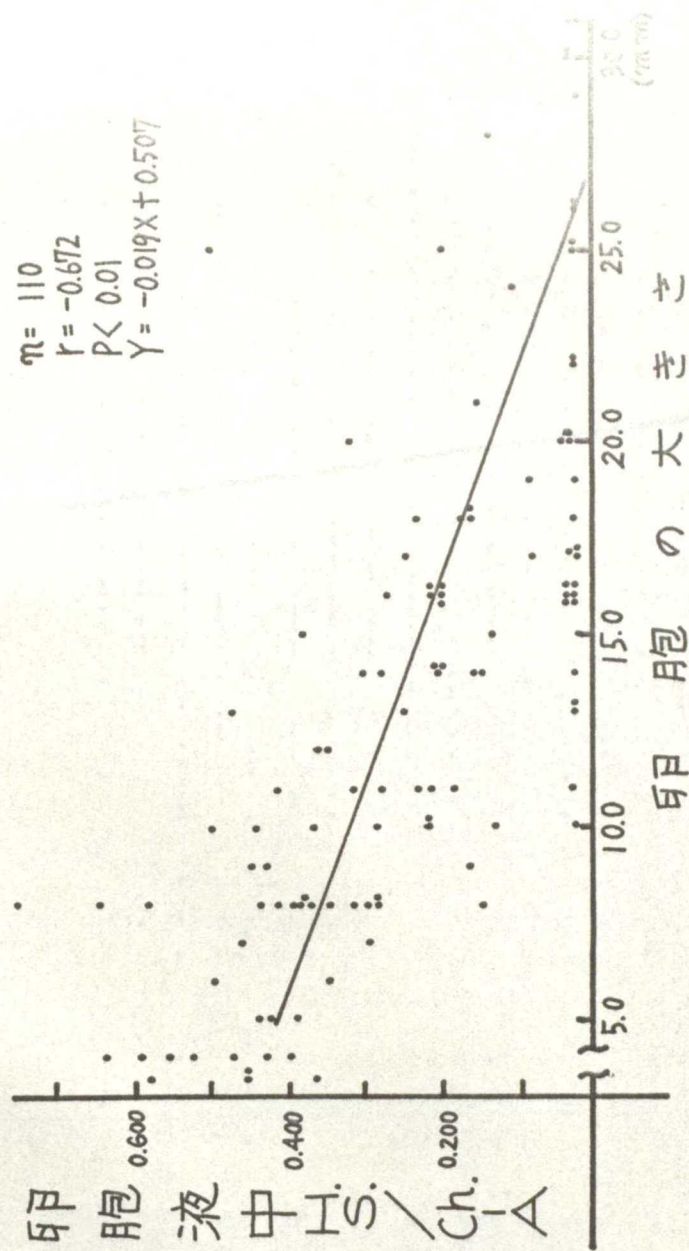


図48牛の卵胞の大きさと卵胞液中H.S./Ch.-Aの関係

(mg/dl)

$n = 463$

$r = 0.100 \quad P < 0.05$

$Y = 0.821X + 284.694$

卵
胞
液
中
Na
濃
度

350.0

300.0

250.0

200.0

5.0

10.0

15.0

20.0

25.0

30.0

卵 胞 の 大 き さ

(mm)

図49 牛の卵胞の大きさと卵胞液中Na濃度の関係

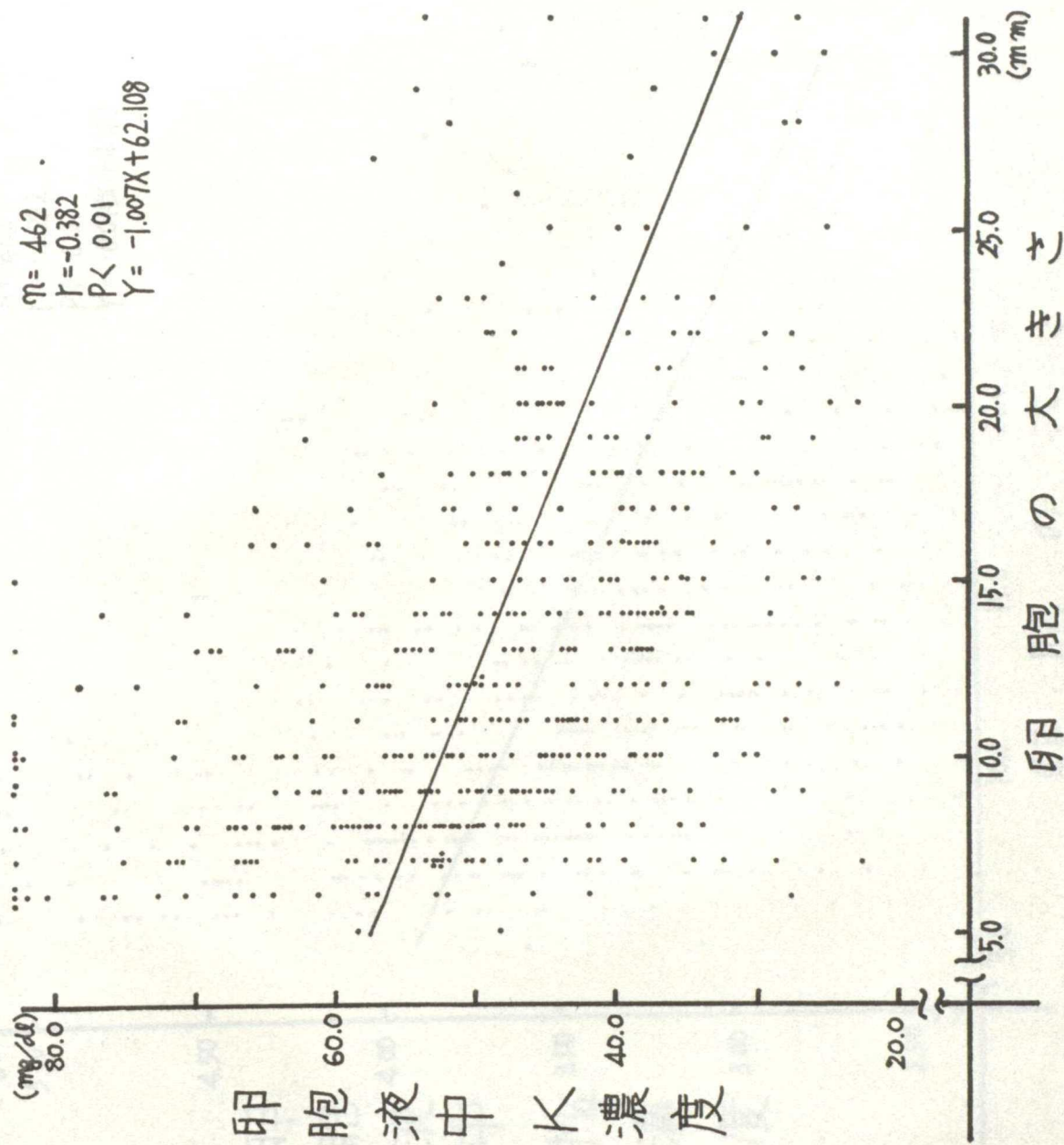


図50牛の卵胞の大きさと卵胞液中K濃度の関係

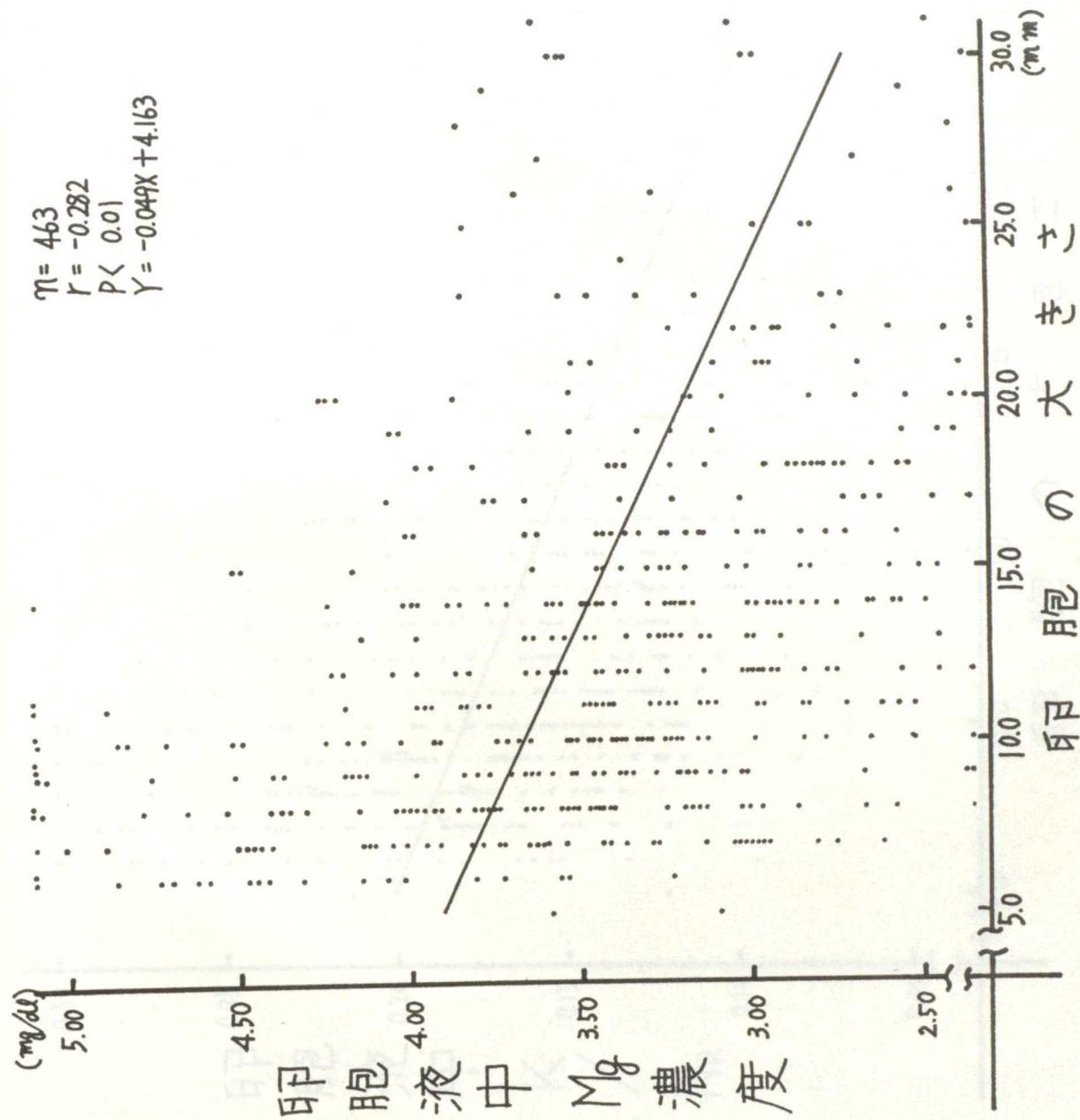


図51牛の卵胞の大きさと卵胞液中Mg濃度の関係

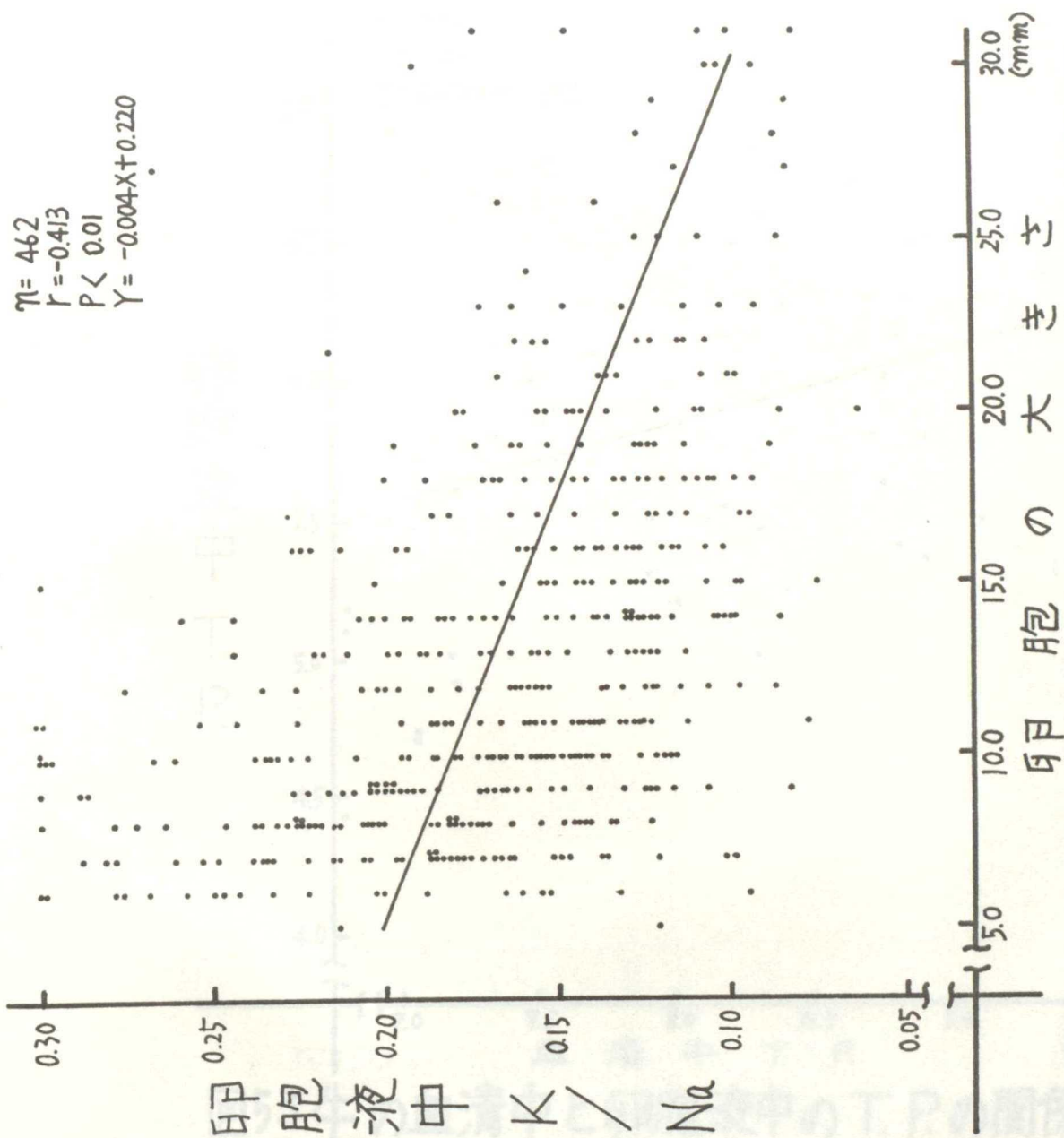


図52 牛の卵胞の大きさと卵胞液中 K / Na の関係

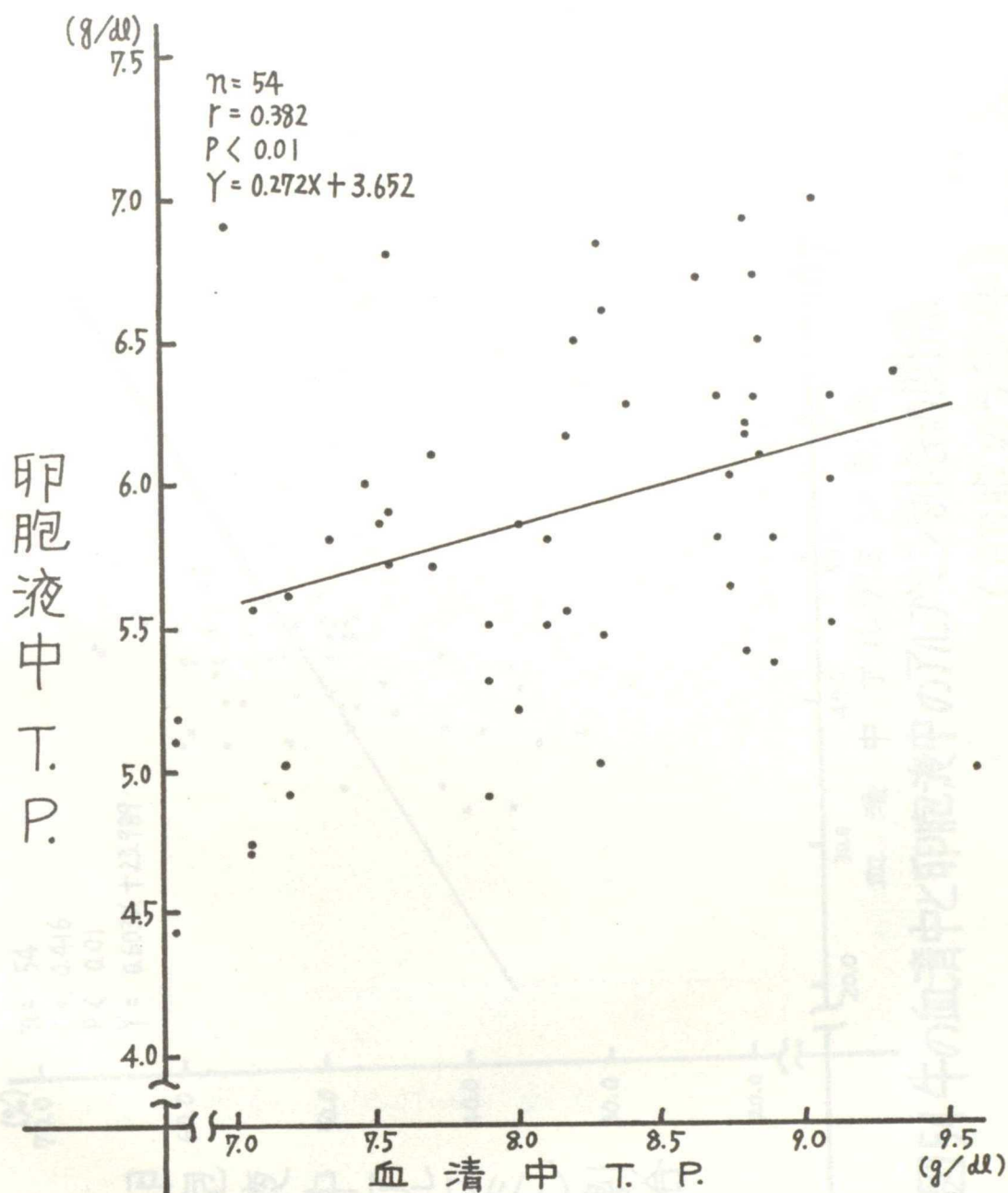


図53 牛の血清中と卵液中の T. P. の関係
(卵胞のう腫牛)

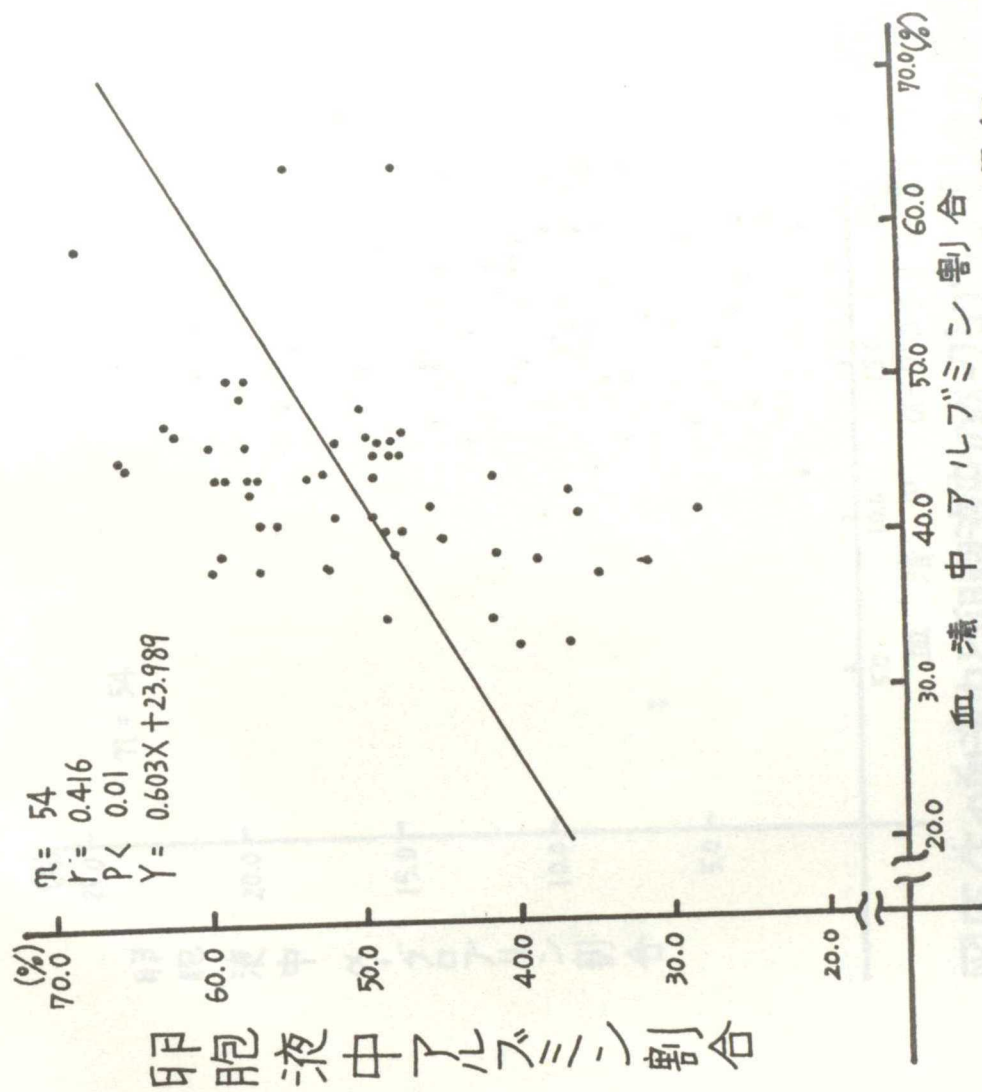


図54 牛の血清中と卵胞液中のアルブミン割合の関係
(卵胞のう腫牛)

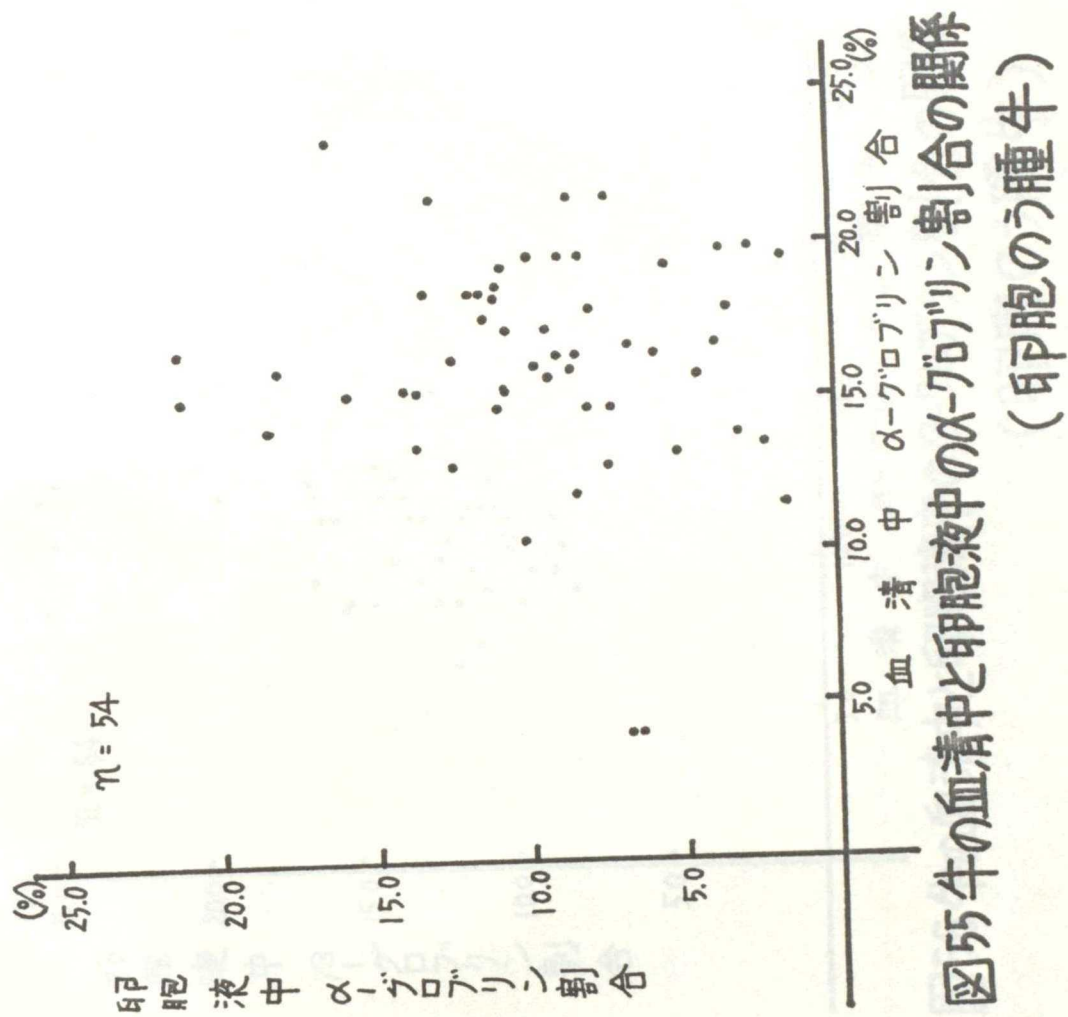


図55 牛の血清中と卵胞液中のα-2グロブリン割合の関係
 (卵胞のう腫牛)

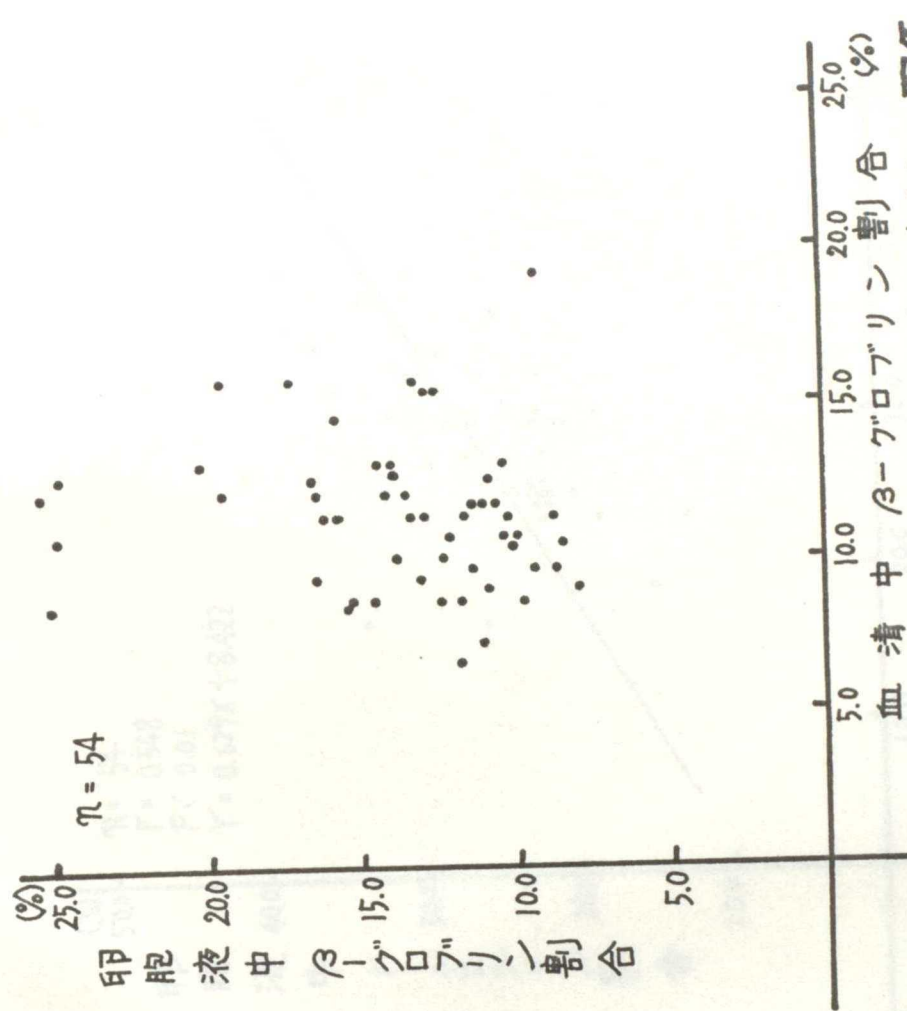


図56 牛の血清中と卵胞液中のβ-グロブリン割合の関係
(卵胞のう腫牛)

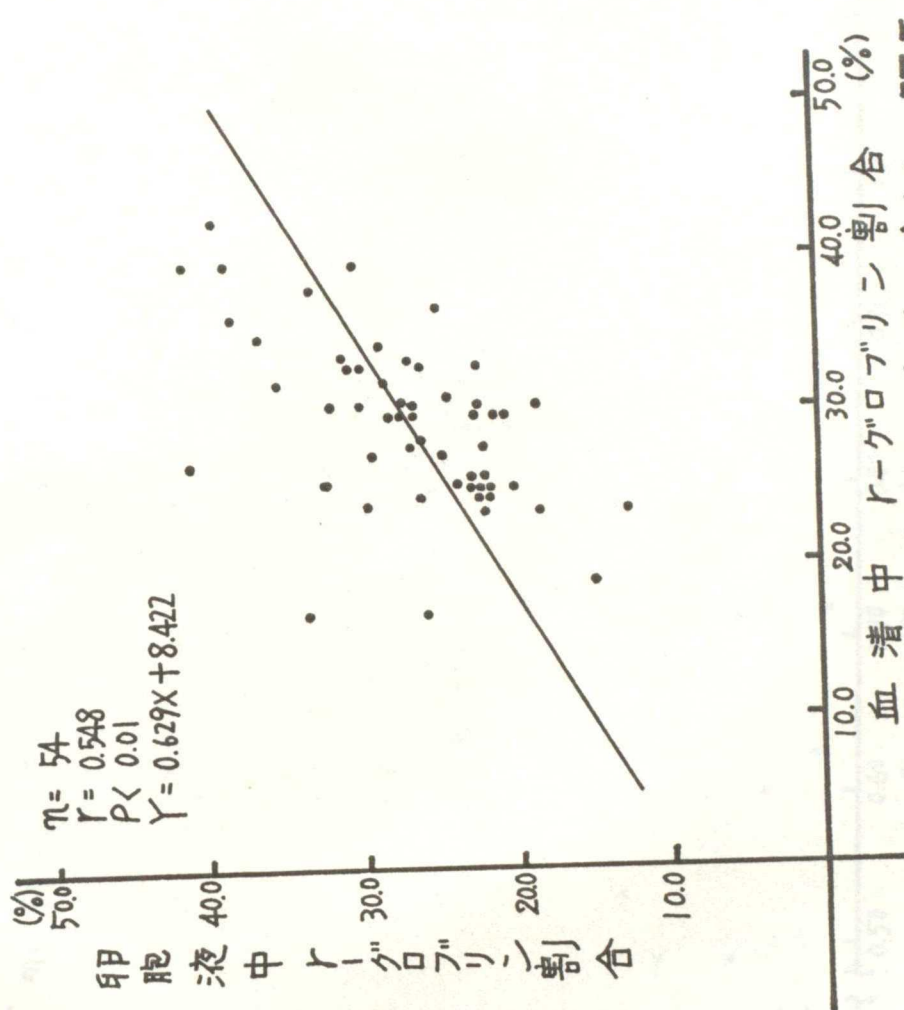


図57 牛の血清中と卵胞液中のレグロブリン割合の関係
(卵胞のう腫牛)

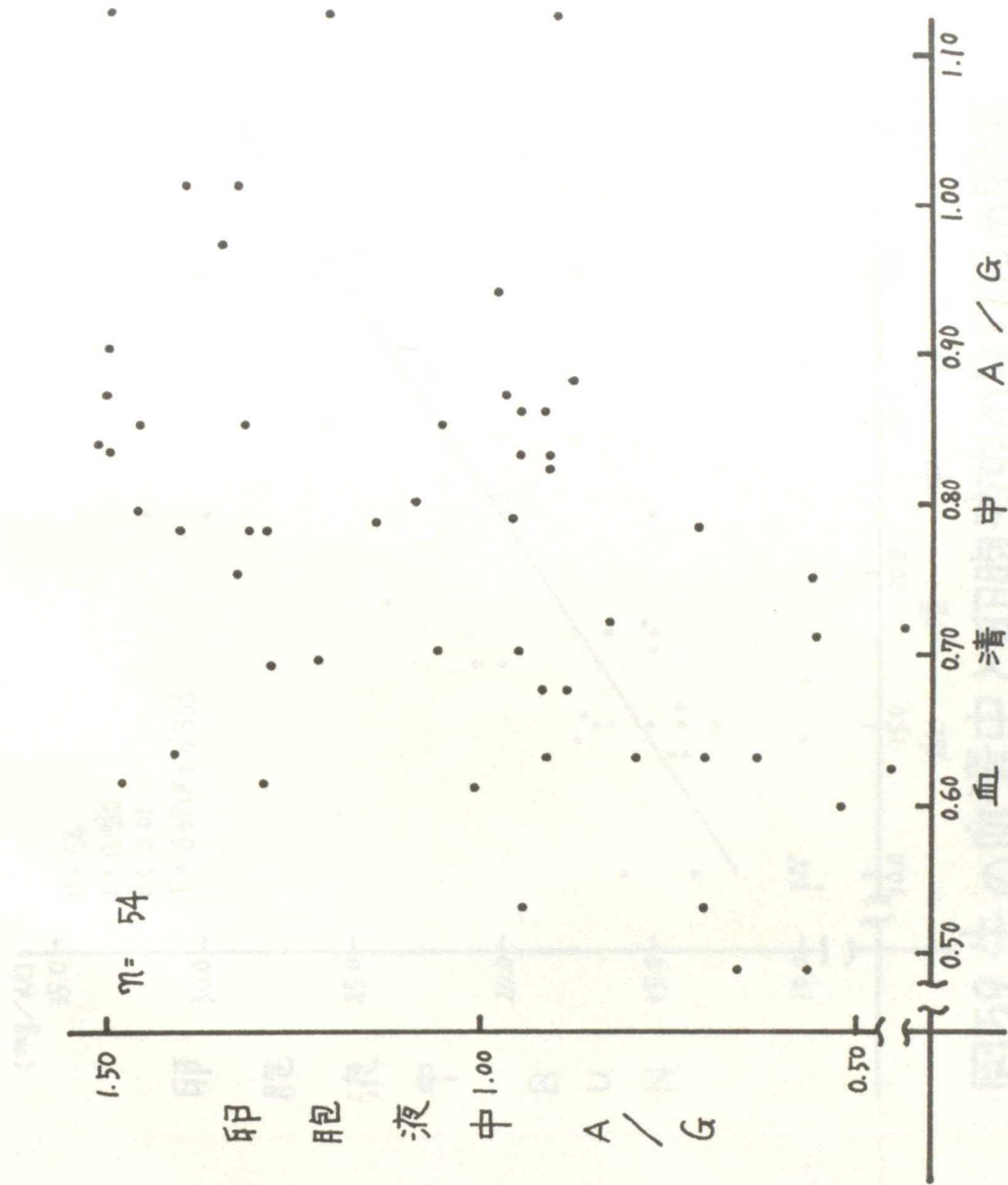


図58 牛の血清中と卵液中のA/Gの関係
(卵胞のう腫牛)

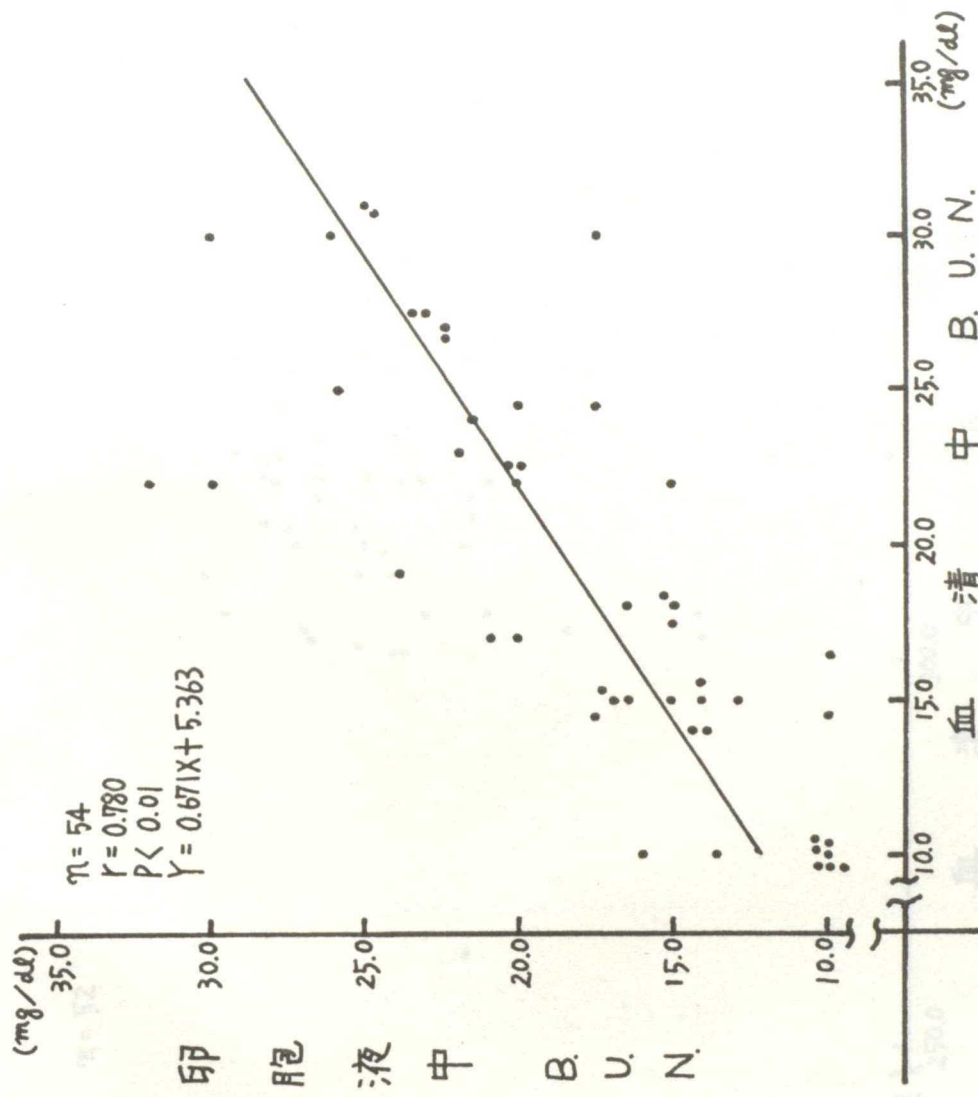


図59 牛の血清中と卵胞液中のB.U.N.の関係
 (卵胞のう腫牛)

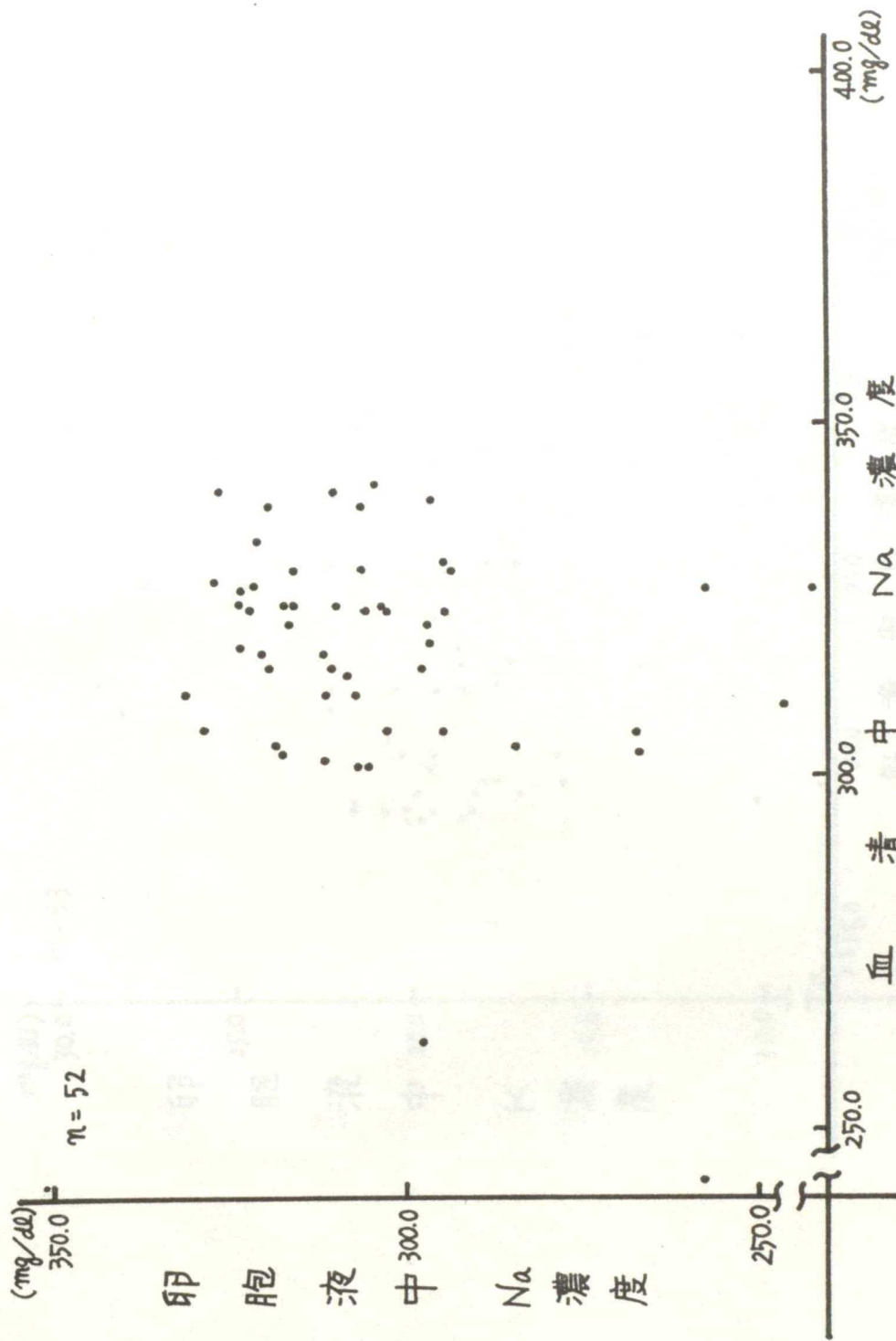


図60 牛の血清中と卵胞液中のNa濃度の関係
(卵胞のう腫牛)

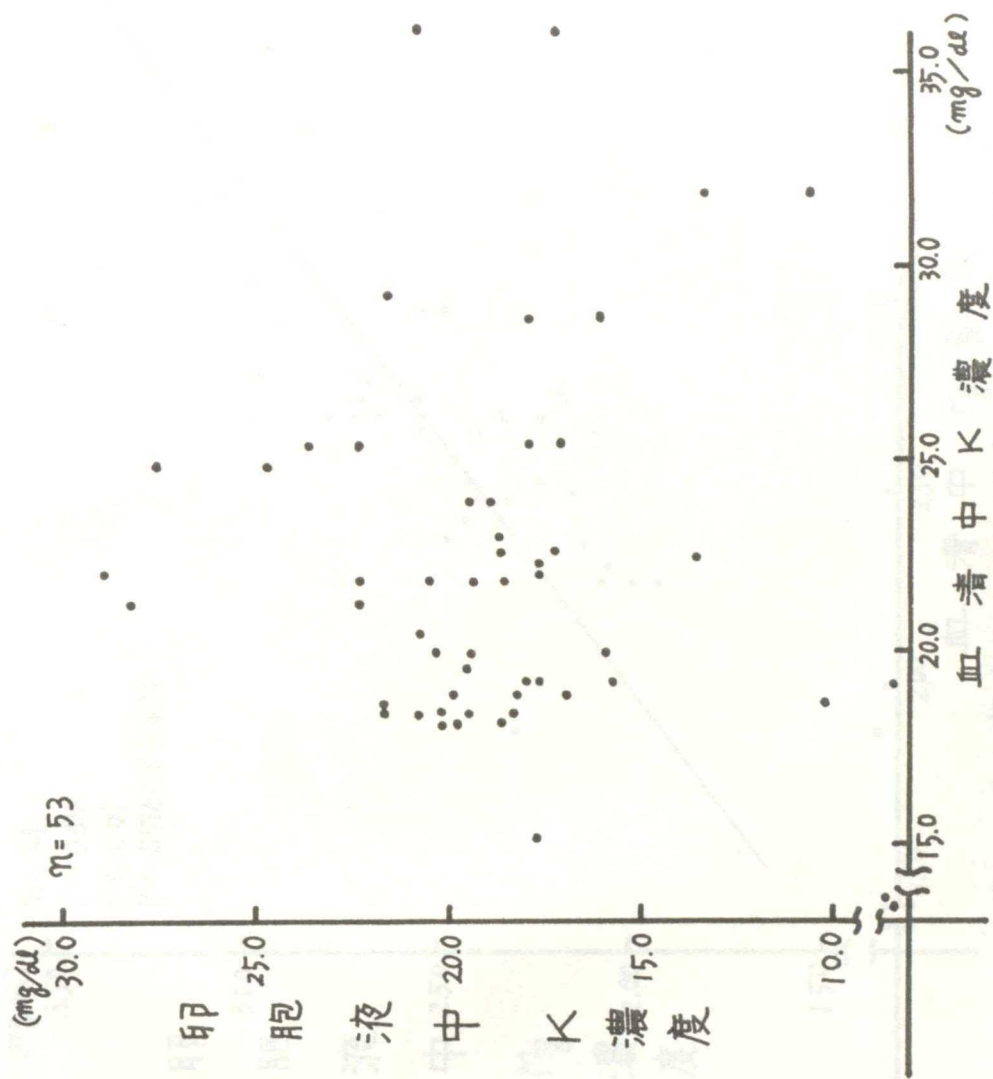


図61 牛の血清中と卵胞液中のK濃度の関係
(卵胞のう腫牛)

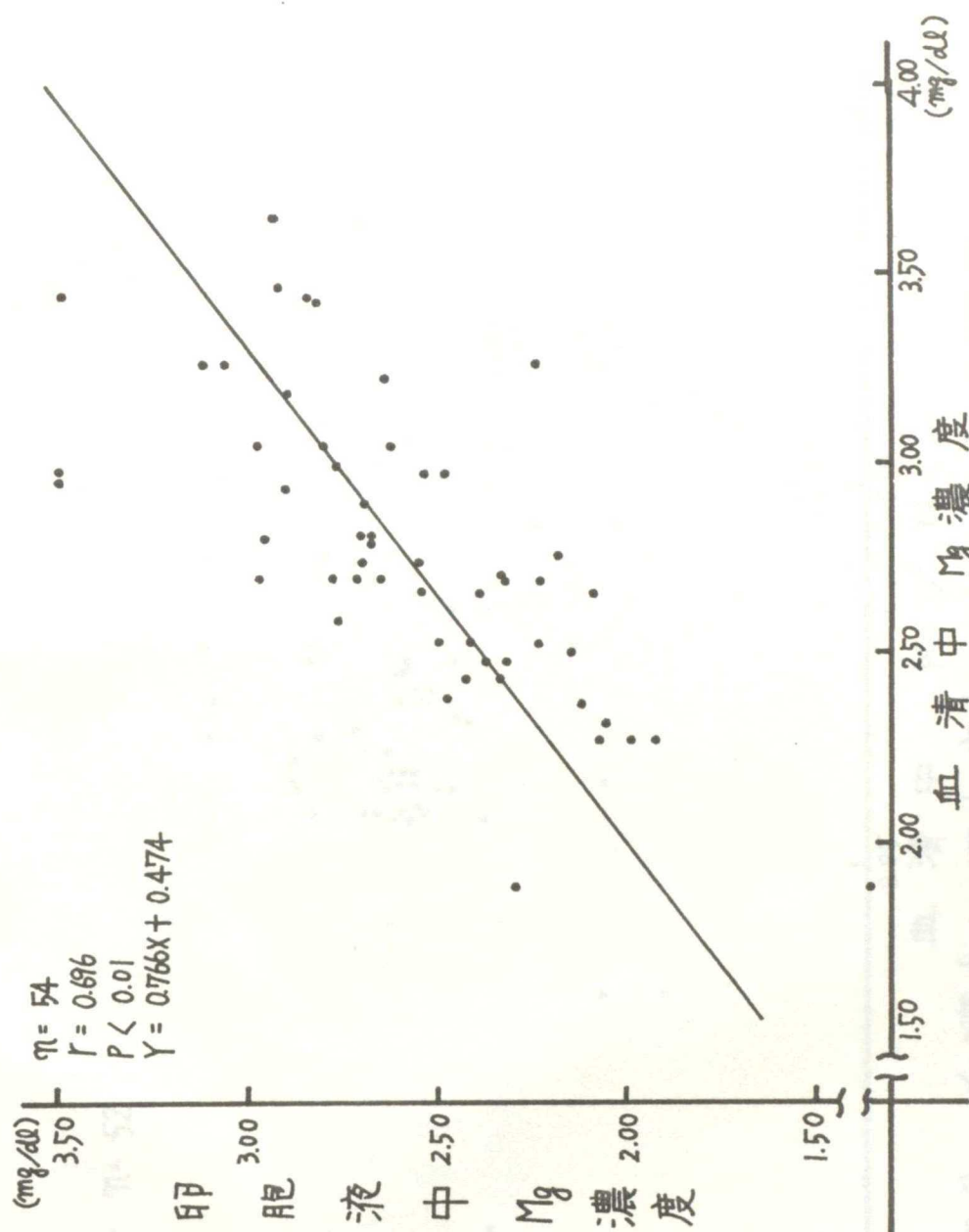
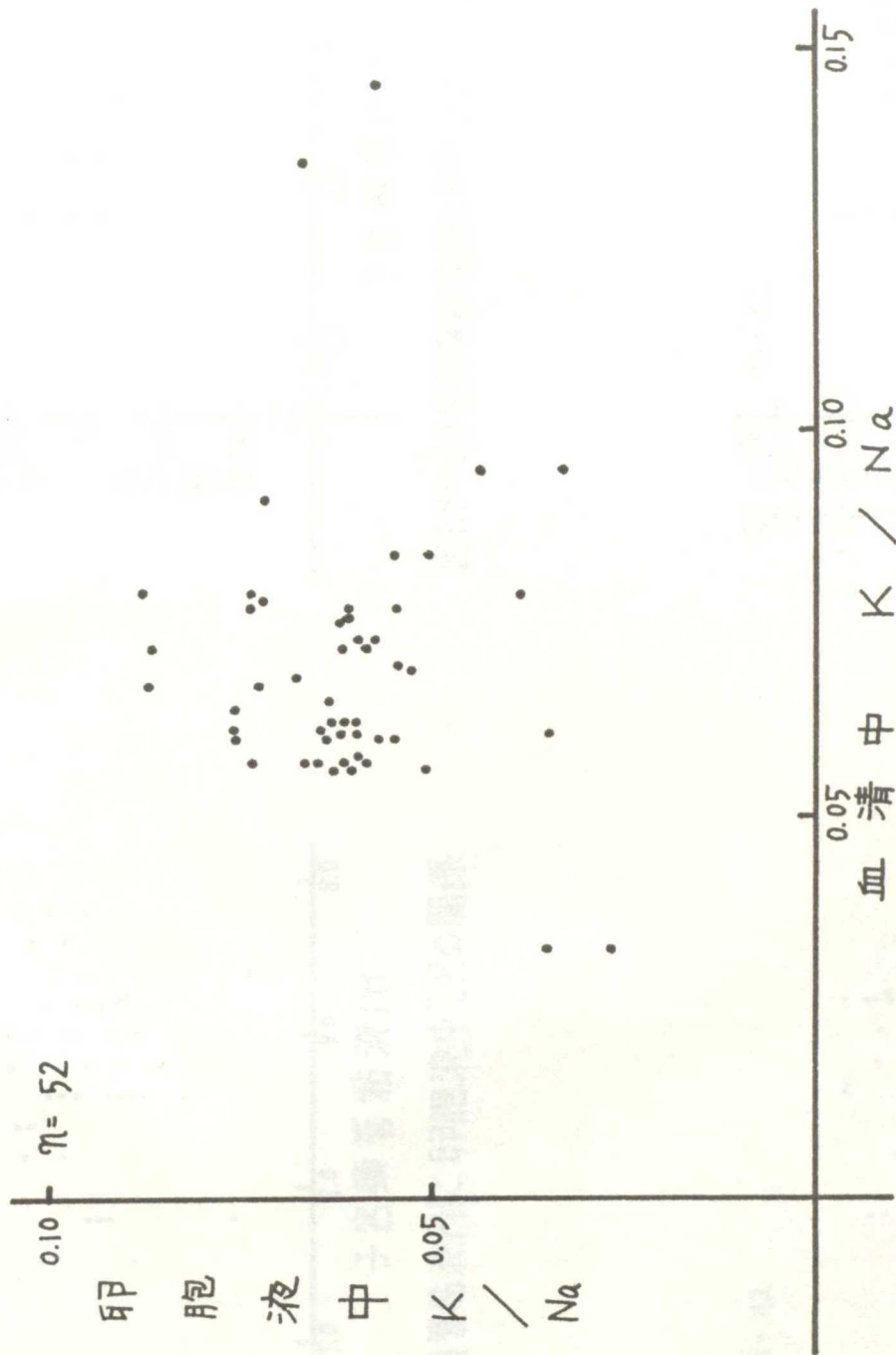


図62 牛の血清中と卵胞液中のMg濃度の関係
 (卵胞のう腫牛)



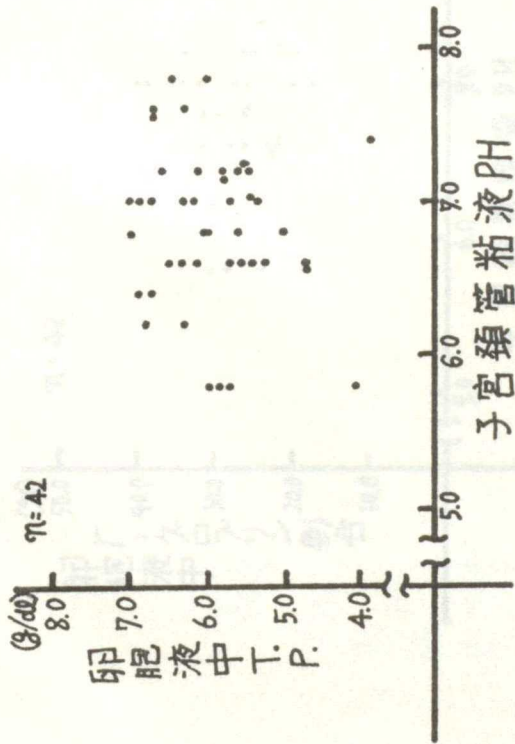


図64牛の子宮頸管粘液PHと卵胞液中T.P.の関係

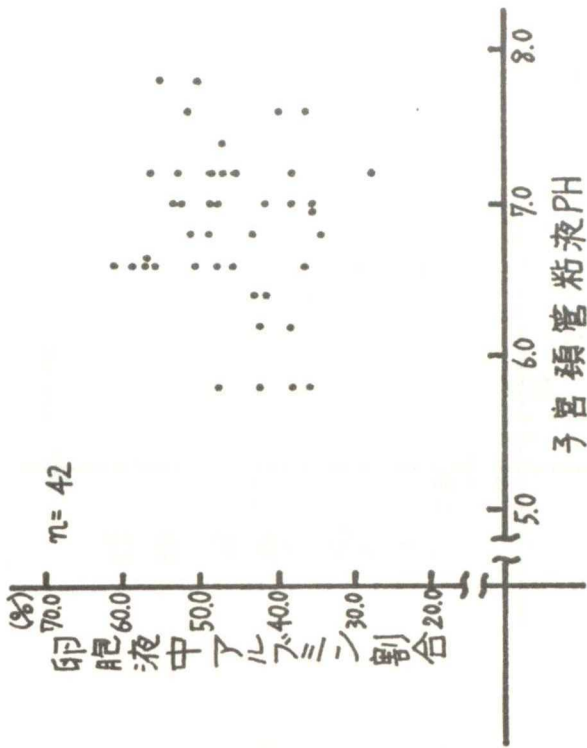


図65牛の子宮頸管粘液PHと卵胞液中アルブミン割合の関係

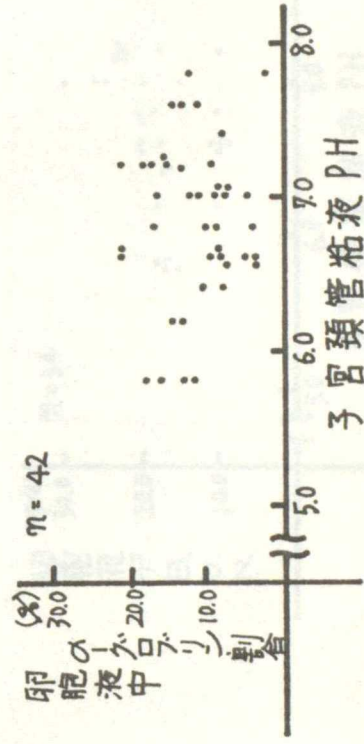


図66牛の子宮頸管粘液PHと卵胞液中グロブリン割合の関係

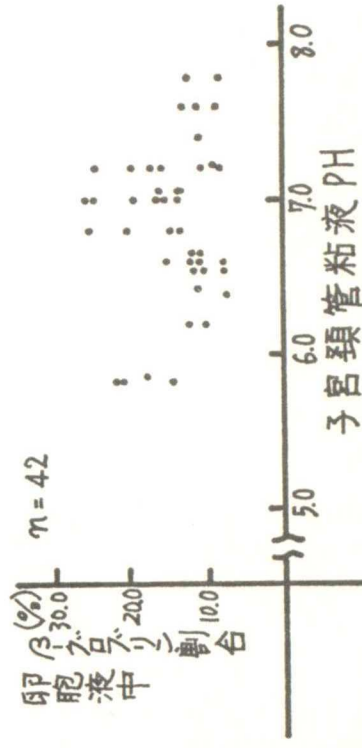


図67牛の子宮頸管粘液PHと卵胞液中グロブリン割合の関係

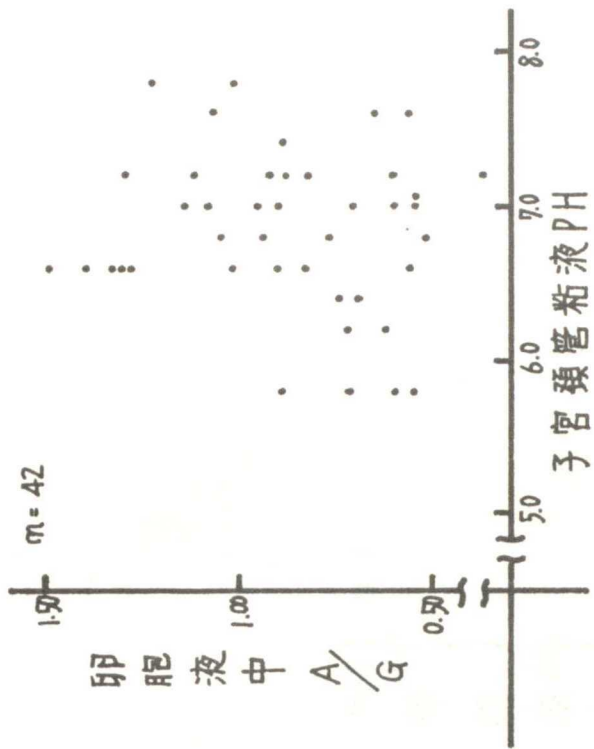


図69牛の子宮頸管粘液PHと卵胞液中A/Gの関係

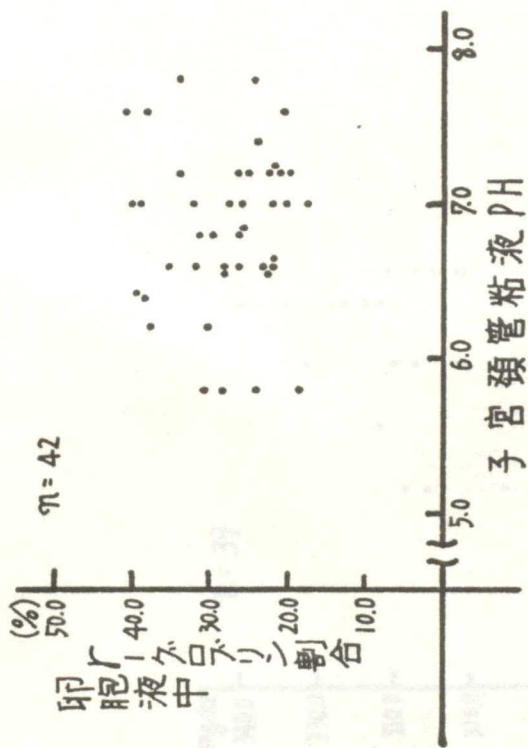


図68牛の子宮頸管粘液PHと卵胞液中プロゲステロン割合の関係

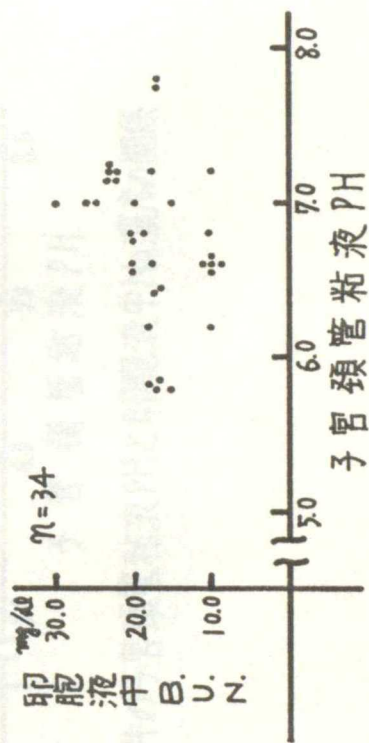


図70牛の子宮頸管粘液PHと卵胞液中B.U.N.の関係

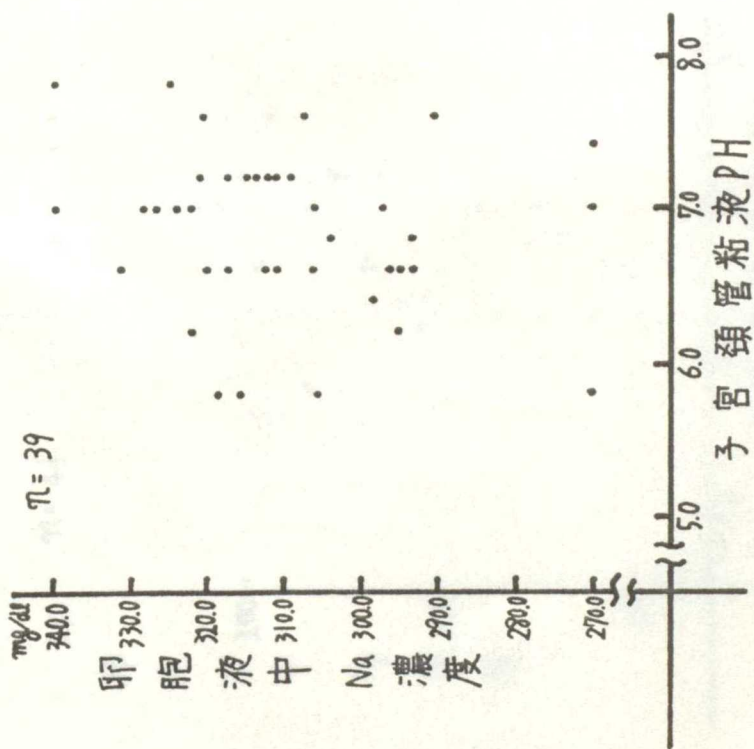


図71 牛の子宮頸管粘液液PHと卵胞液中Na濃度の関係

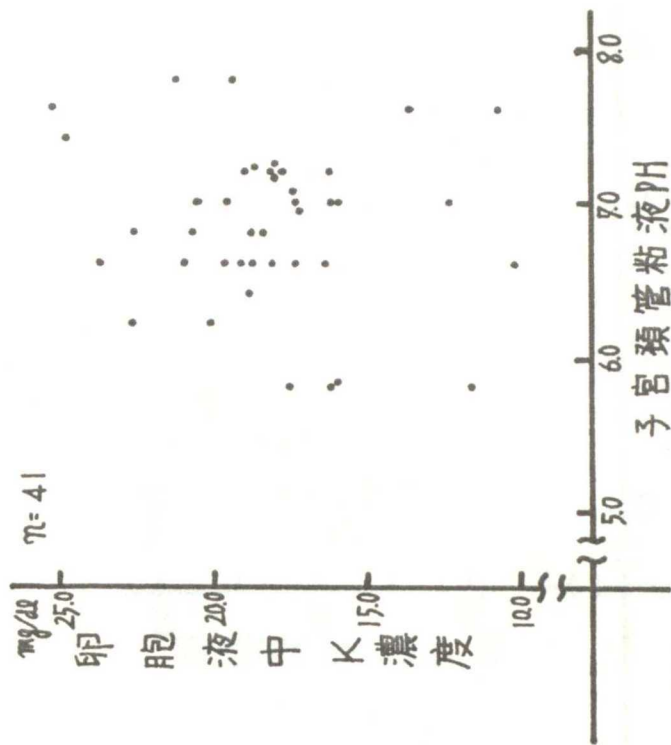


図72 牛の子宮頸管粘液液PHと卵胞液中K濃度の関係

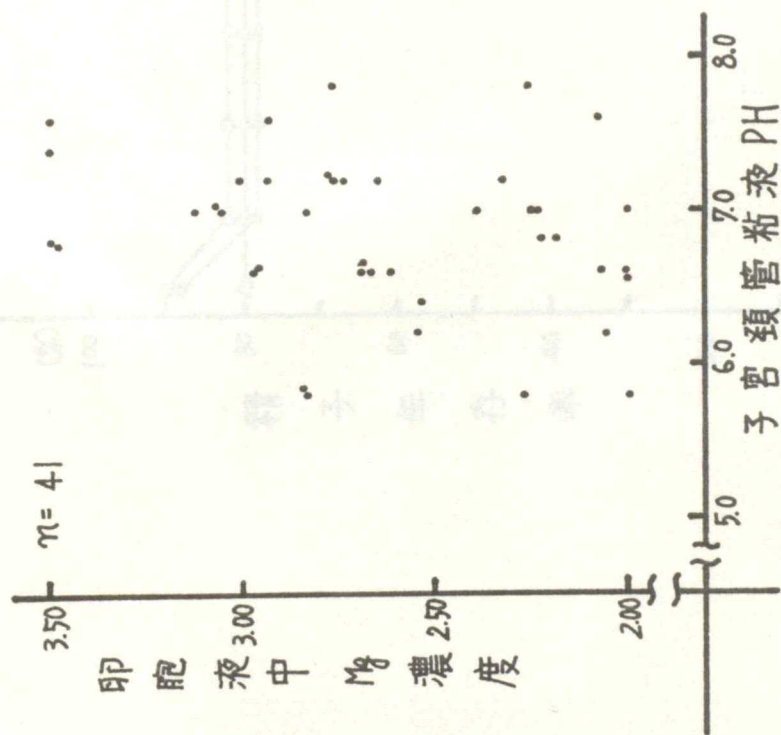


図73 牛の子宮頸管粘液PHと卵液中Mg濃度の関係

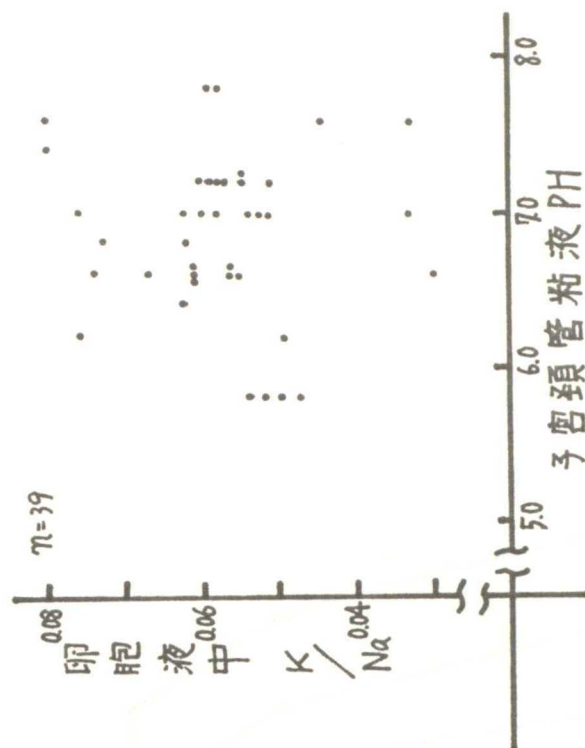


図74 牛の子宮頸管粘液PHと卵液中K/Naの関係

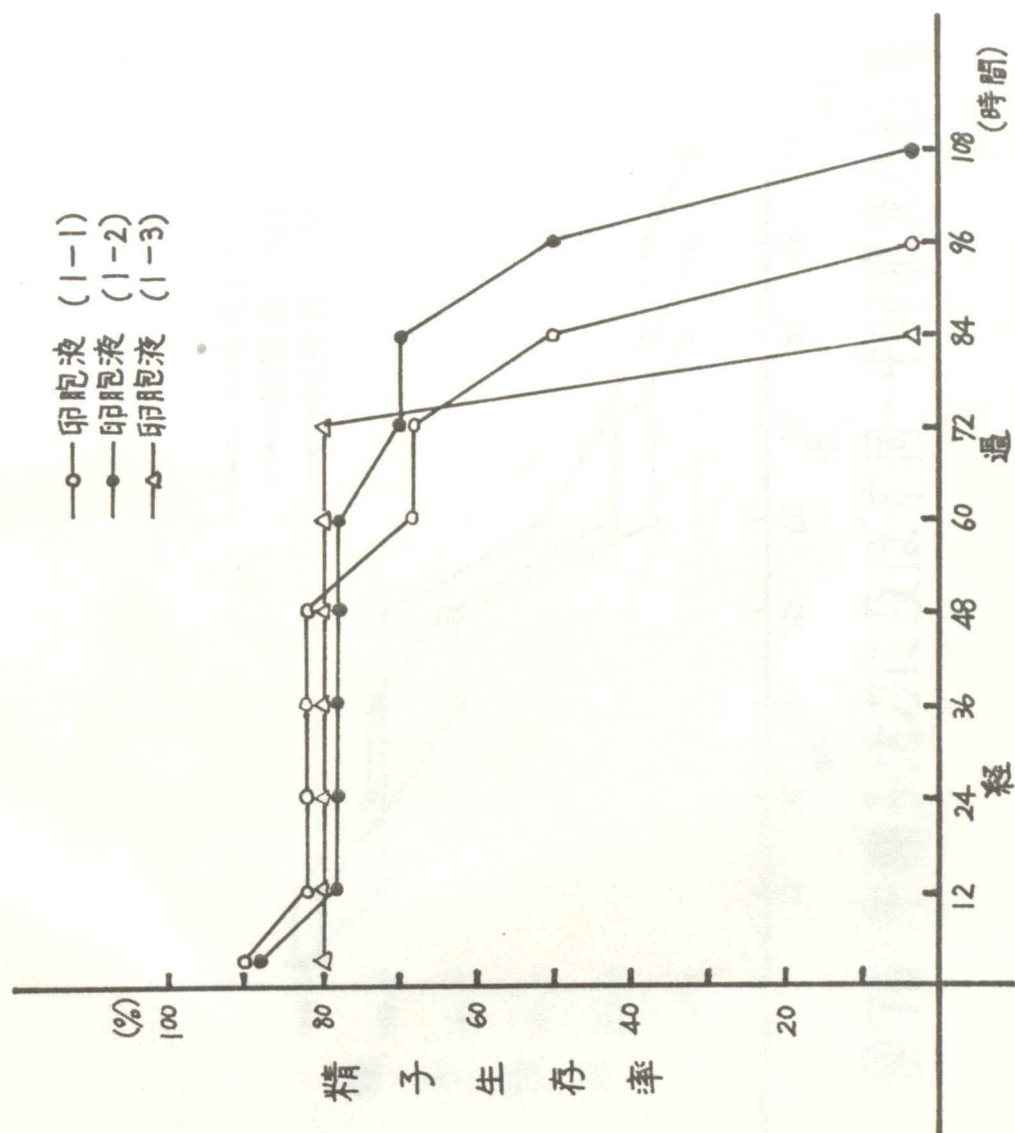


図75 牛精子生存率に及ぼす同一牛卵胞液の影響

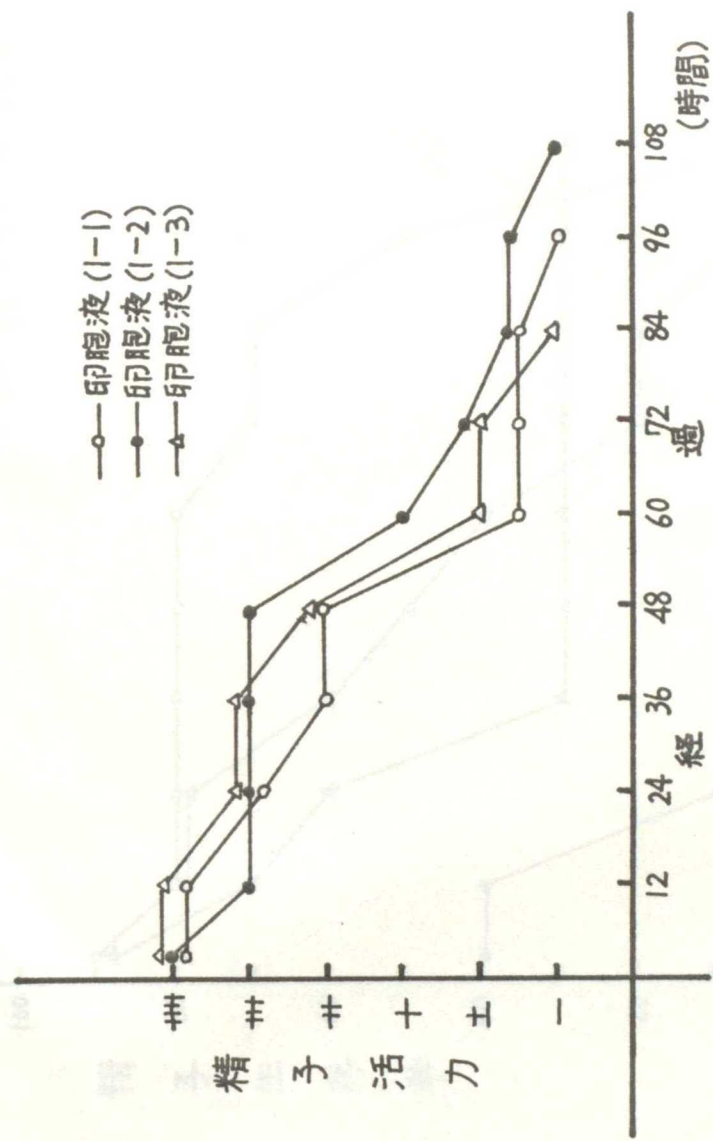


図76 牛精子活力に及ぼす同一牛卵胞液の影響

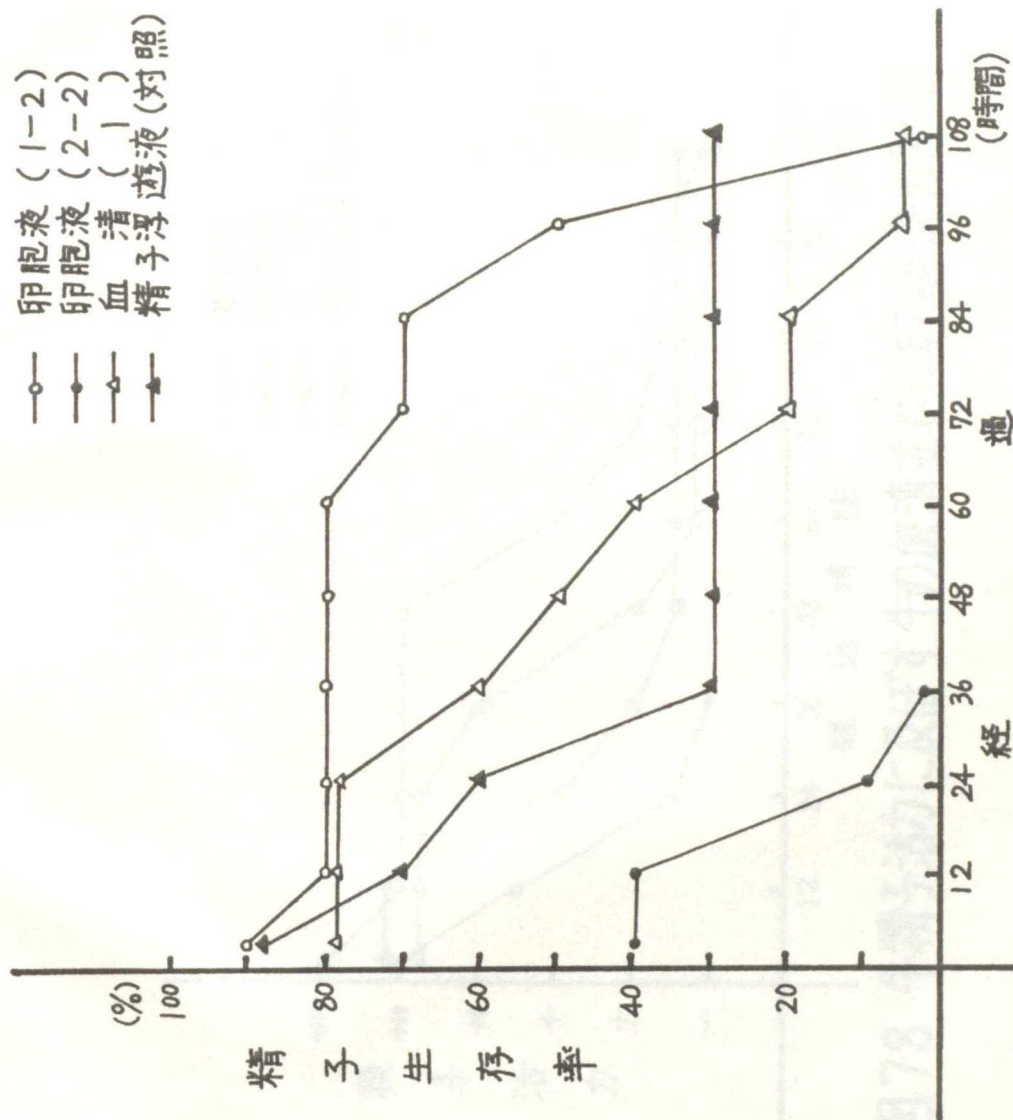


図77 牛精子生存率に及ぼす牛の血清並びに卵胞液の影響

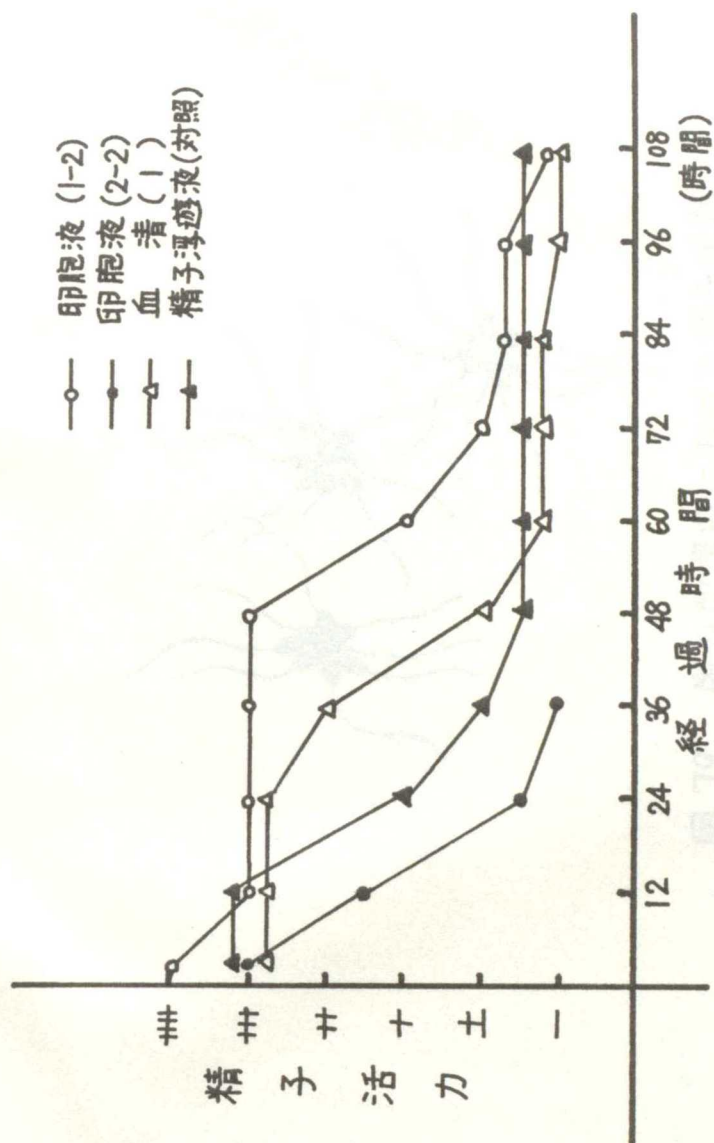


図78 牛精子活力に及ぼす牛の血清並びに卵胞液の影響



図 79 牛の血清中における精子状態

図 80 牛の精子凝集状態と

卵胞液中との関係

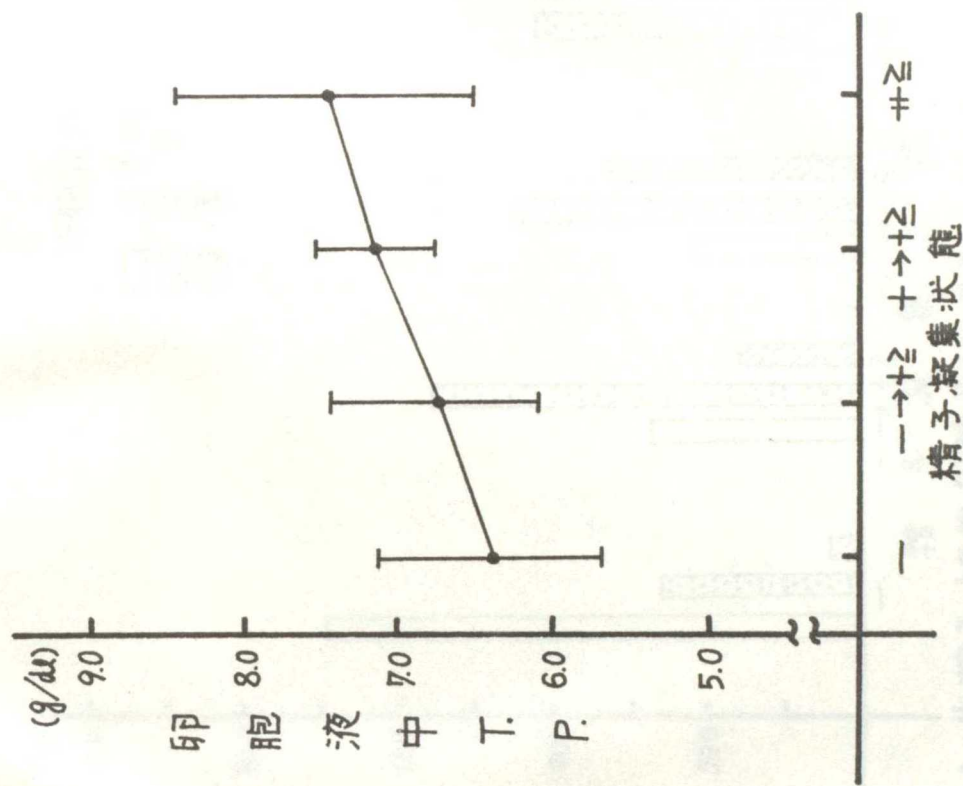


図80 牛の精子凝集状態と
卵液中T.P.の関係

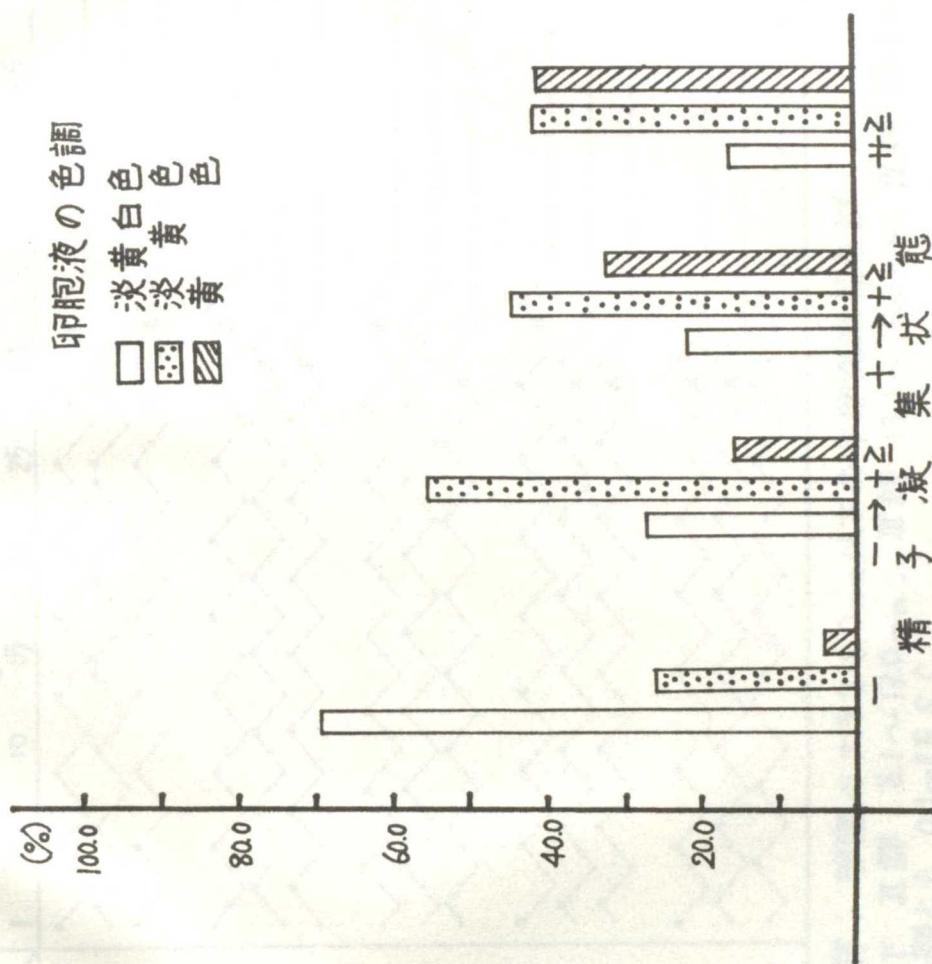
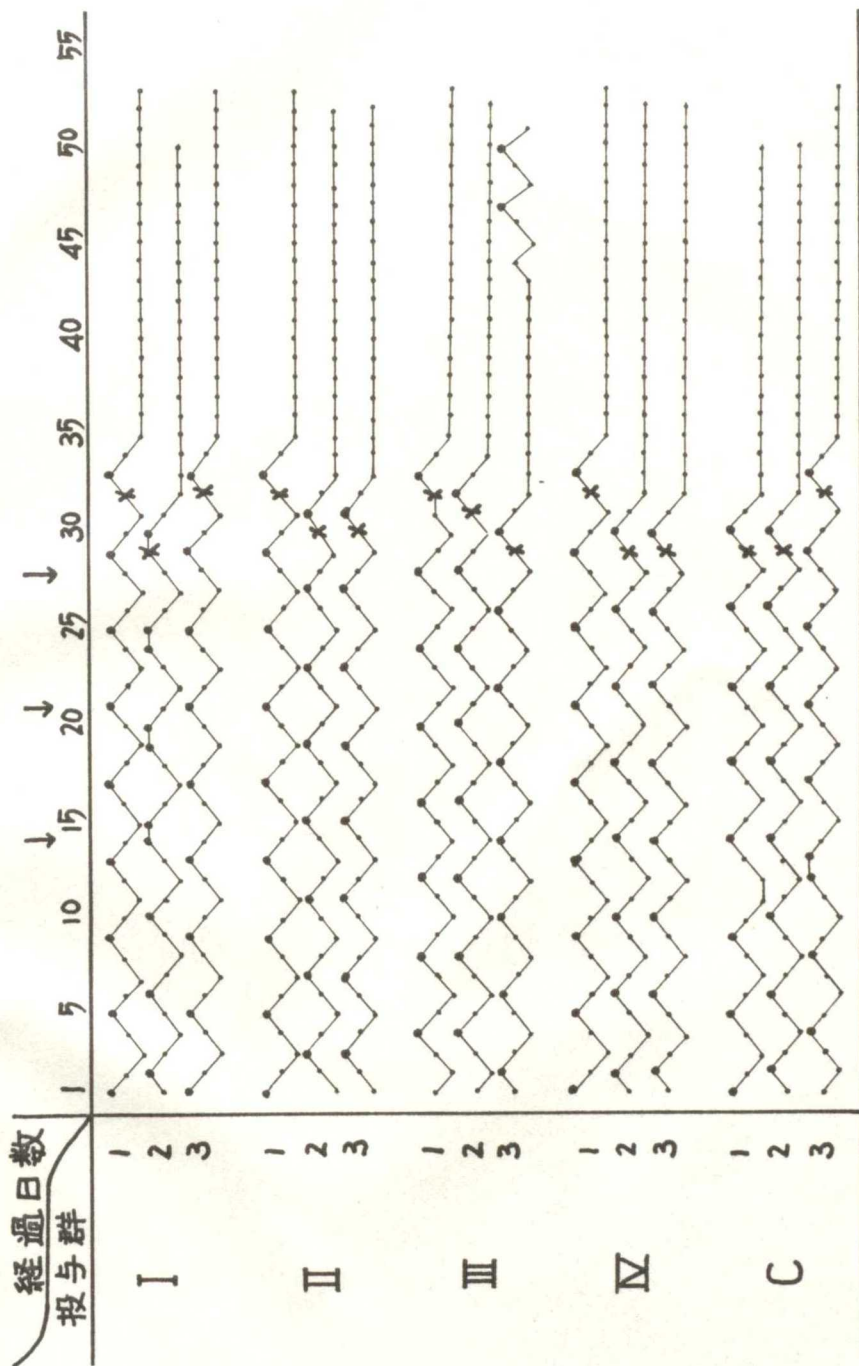


図81 牛精子凝集状態別にみた牛卵胞液の色調の割合



I群: 卵胞の大きさ8.0mm以下の牛卵胞液投与群
 以下 II群: 8.1~13.0mm, III群: 13.1~18.0mm, IV群: 18.1mm以上, C群: 生食水,
 各群とも0.1mlをS.C.
 ↓: 卵胞液投与日 X: 交尾
 III群-3: 偽妊娠 性周期回帰後交尾妊娠,

図82 牛卵胞液のラット性周期に及ぼす影響