

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：10105

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15376

研究課題名(和文) 不受胎牛における生殖器の内視鏡検査による診断法および診断基準の確立

研究課題名(英文) Establishment of diagnostic methods and criteria of fertility by endoscope in repeat breeder cows

研究代表者

羽田 真悟 (Haneda, Shingo)

帯広畜産大学・畜産学部・准教授

研究者番号：40553441

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：観察方法を確立するために、外筒法と内芯法を検討した結果、ステンレスの内芯を用いた人工授精の要領で実施する方法を確立した。子宮内異常のモデルとして分娩後の子宮を観察したところ、液体の貯留がある場合は従来の検査法と所見が一致した。一方で、子宮内膜の穿孔、糜爛、ただれ、白色の粒状隆起、変色などは、内視鏡でのみ発見できる所見であった。不受胎のウシにおいても部分的に変色している症例や、粘膜面が粗造な症例がみられたことから、超音波検査では診断できない子宮内膜の異常をともなう不受胎の個体が一定数いることが示唆され、その診断に内視鏡が有用であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ウシの子宮内を容易に観察できたことから、正常および異常な子宮内膜の肉眼的所見を蓄積することが可能となり、ウシの臨床繁殖学において貴重な情報を収集することができるようになった。実際、現在簡易に実施できる超音波画像検査において検出できない子宮内膜の異常初見を発見することができ、不受胎のウシにおいてもその所見がみられたことから、不受胎の原因の明確化とそれによる対策の正確性を増すことで、ウシの生産性を向上させられることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：In order to establish the observation method, external sleeve and stylet were compared. Then, using stylet, endoscope was introduced into uterus like artificial insemination in cows. If there was fluid accumulation in the uterus, the results were correspondent with ultrasonography in postpartum cows as a model for abnormal uterine status. On the other hand, penetration, erosion, white spots, and discolorment were observed only in endoscopic approach. Also, such findings were recognized in repeat breeder cows, these undetectable findings by ultrasonography might be causes of infertility and the endoscope is one of useful tools to diagnose fertility in cows.

研究分野：臨床繁殖学

キーワード：内視鏡 不受胎牛 リピートブリーダー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

臨床現場での問題として、本学の牛群や酪農家で繁殖検診を行っている、繰り返しの人工授精にもかかわらず受胎しないウシによく遭遇する。超音波検査などの臨床検査で異常が認められるものは、異常に合わせた治療を行う。臨床検査あるいは細胞診、細菌検査など検査室での検査でも異常が認められないものは、そのまま繁殖に供され続けるが、3回人工授精を行っても受胎しないものはリピートブリーダーと呼ばれ、生産性低下の原因となっている。異常が認められない不受胎は、その要因が上記の検査では診断できないものと考えられる。その要因を正しく診断することができれば、ウシへの対策が正しく行えることから、現場でリアルタイムに実施できるより詳細な検査法の開発が求められ、その方法として内視鏡による検査に着目した。

### 2. 研究の目的

本研究の目指すところは内視鏡検査による臨床現場での繁殖障害の迅速診断である。まず、臨床現場で実施可能な内視鏡を用いた生殖器の観察法を確立し、診断モデルを使用して診断基準を作成し、実際の診療で診断可能か症例数を集めて検討する。診断基準の作成のためには正常な状態と異常な状態を分ける必要がある。分娩後の子宮修復は、分娩後の経過日数に依存して状態が良くなっていくため、異常のある状態を観察するモデルとして適しており、定期的に観察することにより診断基準を明らかにできるものとする。また、実際の不妊牛は原因が様々であるが、モデルから得られた子宮内の診断基準を参考に、加えて、現場ではまず検査されることのない生殖器そのものの外観の観察から、臨床現場での内視鏡による不妊牛の診断はどこまで行えるのかを明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### 試験(1) 内視鏡による生殖器の観察方法の確立

観察に用いる内視鏡をウシの生殖器に適用した例はないため、まず観察方法の確立から行った。

##### (1) - 子宮内の観察

・技術的方法の確立：試験には簡易型ポータブル内視鏡である Ambu® aScope™ 3 Slim または Ambu® aScope™ 3 Large を使用した。使用する内視鏡は軟性鏡であり、そのままではウシの複雑な子宮頸管を通すことは難しい。対策としては外筒を用いて子宮頸管を通すか、内視鏡のワーキングチャンネルを利用して支持体を入れ、内視鏡をそのまま通すことが考えられたため、外筒式として Slim (直径 3.8mm)、内芯式として Large (直径 5.8mm) を使用した。

・観察方法の確立：左右どちらかの子宮角内を内面全体を映しつつ進み、関心のある領域はその都度丁寧に観察した。終わったら子宮体部まで戻り、逆側の子宮角を同様に観察した。子宮内の評価では、貯留物の性状や子宮小丘の大きさ、子宮内膜の色調、充血具合などを観察した。

##### (1) - 生殖器外観の観察

生殖器外観の観察は、経膣で骨盤腔内に内視鏡を導入する方法を検討した。経膣で骨盤腔内に器具を挿入する操作には卵巣割去法があり、これは膣深部を数 cm 切開し、そこから器具を挿入して作業する方法である。内視鏡を挿入するための穿孔(あるいは切開)は卵巣割去法より小さくて済むため(1cm 以下)、この手法に準じて観察を実施することを検討した。

#### 試験(2) 子宮内の異常モデルの観察と評価

##### 分娩後の子宮修復の観察と評価

分娩後の子宮修復過程では、老廃物の排出、細菌感染、子宮内膜の炎症反応といった異常な状態から子宮が正常な状態に戻っていくため、子宮の異常を観察するのに適したモデルとなる。内視鏡検査では、試験(1) - に準じて行い、従来の検査法である超音波による観察や、サイトブラシで採取した材料による細胞診および細菌感染の状況と合わせて解析した。内視鏡による肉眼的所見とその他の検査結果との関連性から、内視鏡による生殖器の診断の学術的根拠となる詳細なデータを得る。

#### 試験(3) 不妊牛の原因の診断

リピートブリーダーのウシに対し、内視鏡検査の有用性を検討するために、学内および検診先の牛群で臨床データを集めた。試験(2)同様に、子宮内に内視鏡を挿入して子宮内を観察するとともに、従来の検査と合わせて解析を行い、子宮内の状態を評価した。試験(2)で得られた情報と生殖器外観の肉眼的所見をもとに診断、および治療を行い、内視鏡検査の有用性を評価する。

#### 4. 研究成果

##### 試験(1) 内視鏡による生殖器の観察方法の確立

###### (1) - 子宮内の観察

外筒式では、プラスチック製の外筒を作製して使用してみたところ、子宮内への挿入は可能であったが、外径が大きくなることから挿入の難易度があがることと、頸管通過後に外筒を手前に引いたときに、その長さの分だけ子宮内に挿入できない部分が出てしまい、子宮深部の観察が阻害された。内芯式では、内視鏡の構造上内腔が直線ではなかったが、弾性のあるステンレスの内芯を用いたところ挿入が可能であり、人工授精の要領で内視鏡を子宮内に導入後に内芯を抜いて観察することができた。したがって、内視鏡の子宮内への挿入は内芯式を採用することとした。

###### (1) - 生殖器外貌の観察

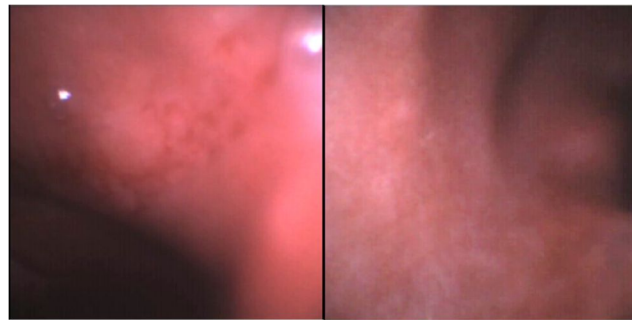
腔壁の切開創を通過させるときにカメラ部に血液が付着するのを防ぐため、スクリー式のカニューレを使用することを検討中である。

##### 試験(2) 子宮内の異常モデルの観察と評価

各検査において異常がなく順調に子宮が修復した例では、粘膜表面が滑らかに見え、色調も一様であったことから、これを正常な基準とした(図1)。

超音波画像において貯留液が確認された例では、透明な液体あるいは膿性の液体が確認でき、液体の貯留に加えその色調の情報を得ることができた(図2)。

超音波画像では異常が認められず、また、その他の検査においても異常所見が認められなかったが、内視鏡検査によって粘膜面に变色、点状出血、糜爛、白点ただれ、穿孔など様々な異常が認められた例が確認された(図3)。



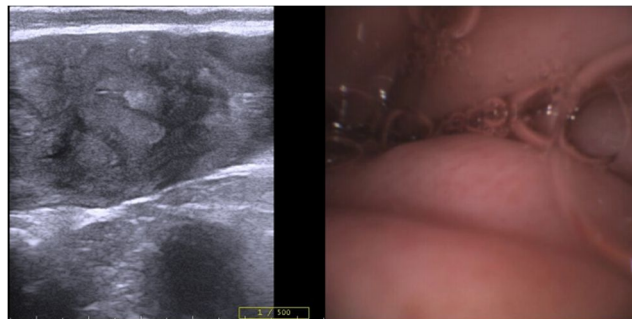
分娩後30日 → 分娩後60日

図1 順調に修復した子宮内膜

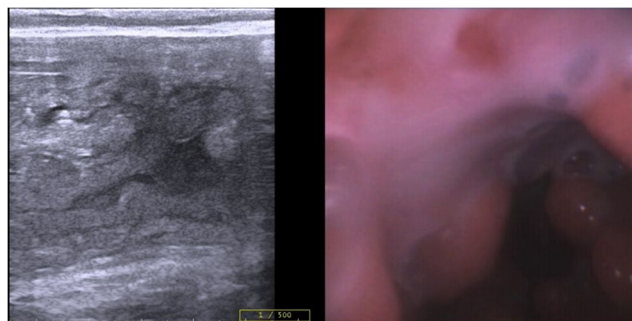
##### 試験(3) 不妊牛の原因の診断

リピートブリーダーのウシに対し、試験(2)同様に検査を行ったところ、超音波画像およびその他の検査において異常が認められないが、内視鏡検査によって变色や白点が認められた例が存在した。

以上の結果より、現在実施されている検査では異常がないと診断される例において、内視鏡検査によって異常が確認されることが明らかになり、内視鏡検査の有用性が示された。観察された異常がそれぞれどういう状態にあるのかは、子宮内膜バイオプシーにより組織学的に解析する必要がある。また、現在実施中である生殖器外貌の観察を加えることにより、卵巣と卵管の癒着など解剖学的に異常を生じている例も発見することができ、今まで不明だった不受胎のウシの原因が診断可能となる。正確な診断は、適切な処置を行うまでの時間を短縮することができるので、それに伴う受胎までの時間の短縮から生産性の改善が期待できる。

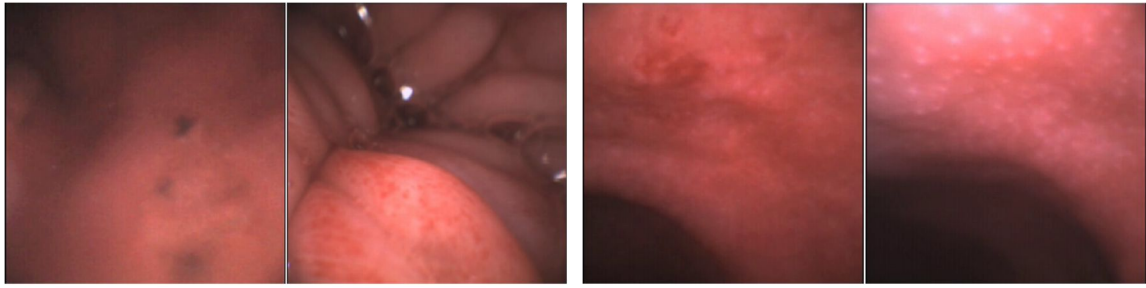


貯留した粘液



貯留した膿汁

図2 子宮に貯留が認められた例

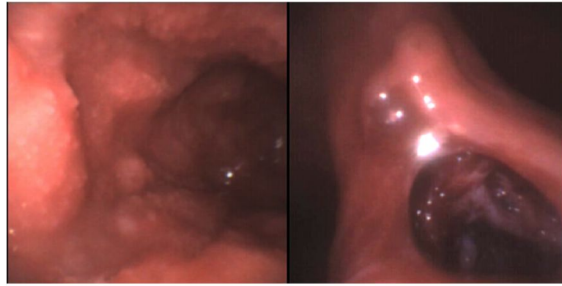


変色

点状出血

糜爛

白点



粘膜のただれ

内膜に穴

図3 粘膜に異常が認められた例

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 羽田真悟
2. 発表標題 ポータブル内視鏡によるウシの子宮内観察方法の検討
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----