

研 究

ホルスタイン種経産牛におけるカラードプラ法による
受胎牛選定と超早期妊娠診断

金 澤 朋 美

宮城県農業共済組合 中央家畜診療センター

はじめに

ウシの胚移植 (ET) 技術は、1970年代後半から急速に実用化された¹⁾。近年では、遺伝的改良、希少精液の有効利用および性別別胚の効率的な生産等を目的として広く普及し^{2,3)}、ETは人工授精 (AI) と同様に子牛の生産方法として一般的に行われている。採胚頭数、ET頭数ともに年々増加しており、2014年の農林水産省の統計によると、採胚は14000頭、ETは96000頭で行われている。また、性選別精液の開発・普及により乳用種の後継雌牛が安定的に生産できるようになったことや黒毛和種子牛の販売価格の高騰により、酪農家において黒毛和種牛から生産された胚の移植が増加している。しかしながら、ETの受胎率は1980年代から改善しておらず、凍結胚に比較して受胎率の高い新鮮胚においても約50%である^{4,5)}。特に、未經産牛に比較して経産牛の受胎率が低い^{6,7)}。

妊娠の成立と維持に重要な役割を果たしているプロゲステロン (P_4) は、ヒトをはじめとした多くの哺乳類に広く存在し、主に卵巣の黄体から分泌される。ウシにおいて、妊娠の成立と継続には機能的な黄体が存在し P_4 が維持されることが必要であることから^{8,9)}、黄体機能の障害とそれに伴う子宮内 P_4 濃度の低下が受胎率の低下の原因の1つとして考えられている¹⁰⁾。以前より、ETの受胎に影響する要因の解析が進められ^{5,11-13)}、 P_4 はウシのETにおいても受胎に影響を及ぼす主要な要因であるとされている^{5,13)}。しかしながら、 P_4 の測定には時間と経

費が掛かるため、臨床現場において血中 P_4 濃度を基準とした受胎牛の選定を行うことは困難である。黄体サイズは血中 P_4 濃度と相関しているため¹⁴⁻¹⁶⁾、ET前に直腸検査や超音波診断装置を用いて黄体サイズを計測し、受胎牛の選定基準としている。しかしながら、受胎率の向上に繋がっておらず、現行の受胎牛選定方法には限界があると考えられる。子牛を効率的に生産するため、新たな黄体機能評価方法の確立とETの受胎率の向上が求められている。

黄体は、生体内において最も血管に富んだ組織の1つであり¹⁷⁾、卵巣動脈から分岐するらせん動脈が黄体を取り囲むように血管網を発達させている (図1 A)^{18,19)}。排卵後内卵胞膜から発達した血管が排卵窩へと侵入して血管網を構築し、黄体細胞へ血液を供給する。この血管新生は、黄体細胞で P_4 を合成するために必要な基質の輸送と P_4 を全身循環へ運搬するために必要である²⁰⁾。従って、黄体の血管形成はウシの妊娠成立と維持に必要不可欠であり、血管形成の多寡が黄体機能や妊娠の成否に関与していると考えられる。そのため、近年、新しい黄体機能の評価方法として黄体の血流量が着目されている^{21,22)}。黄体の血流量は超音波カラードプラ法 (CDUS) を用いて測定することができる (図1 B)。CDUSはドプラ効果を利用し血流を視覚化することで、通常のBrightness (B) - モードで得られる組織の断面像に加えて、非侵襲的に血管の評価を行うことができる^{23,24)}。このことから、1990年代からウシやウマにおいて臨床診断技術への応用が試みられてきた^{23,25)}。また、卵巣の血流を描出することができる

ため、排卵前の卵胞や形成期または退行期の黄体の血流動態が研究されてきた^{21,26,27)}。黄体形成期には黄体の成長とともに血流量が増加し^{21,26)}、黄体退行期には一過性の増加とその後に急激な減少が起こることが明らかとなっている²⁷⁾。また、黄体退行期において血中 P_4 濃度の低下は黄体サイズの減少に先行する²¹⁾のに対して、黄体血流量と血中 P_4 濃度の消長は同調していることから、黄体機能の評価方法としての有用性が示唆されている^{21,22)}。しかしながら、現在まで受胎牛におけるET前後の黄体血流量の変化や受胎との関連性は明らかになっておらず、黄体血流量は受胎牛選定の指標として使用されていない。

ウシにおける妊娠診断は、AI後40日以降に直腸検査により胎膜スリップを確認することで行われてきた²⁸⁾。2000年代に入り携帯型超音波診断装置が普及し、AI後25–29日以降に黄体の存在や胎子および胎子心拍の確認に基づいて早期妊娠診断が行われるようになってきている^{29,30)}。しかし、ウシの発情周期は平均21日であるため、現在の早期妊娠診断では不妊であった場合は次の発情を見落とす可能性がある。発情周期の21日より前の妊娠診断（超早期妊娠診断）方法を確立することができれば発情発見率、授精率および受胎率の向上に繋がるものと考えられる。そこで、CDUSを用いて測定した黄体血流量に基づく受胎牛選定法と早期妊娠診断法の有用性を検討することを目的として研究を実施した。

ホルスタイン種受胎牛におけるET前後の 黄体血流量を用いた妊娠予測

供試動物

臨床的に健康で、分娩後50日以上経過し正常な発情周期を有するホルスタイン種経産牛65頭（ 4.21 ± 0.27 歳， 2.50 ± 0.23 産，mean $\pm$ SE）を用いた。供試牛は宮城県内1酪農家のフリーストール牛舎にて乾草および濃厚飼料が混合されたTMRが給与され、自由飲水できる状況で飼養されていた。平均乳量は 28.29 ± 2.42 kg/日（mean $\pm$ SE）であった。ボディコンディションスコア（BCS）はEdmonsonら³¹⁾の方法に基づき発情日に測定し、 3.50 ± 0.08 （mean $\pm$ SE）であった。

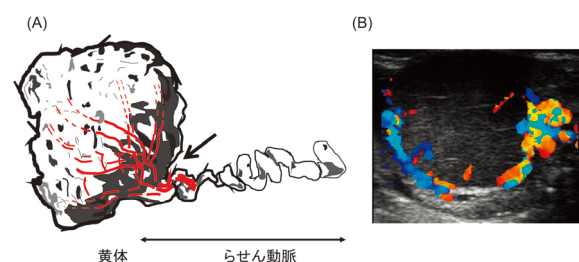


図1. 黄体の血管走行の模式図(A)とカラードプラ画像(B)

↓ 黄体を取り囲むように血管網が構築される。
↓ 血流速度測定部位（らせん動脈の黄体側基部）

試験方法

発情発見日をDay 0 とし、Day 3、5、7 および14に超音波画像診断装置を用いて黄体面積（最大直径での断面積）、黄体内腔面積（最大直径での黄体内腔の断面積）、黄体組織面積（黄体面積と黄体内腔面積の差）、主席卵胞面積（最大直径での断面積）、黄体血流面積（最大直径での血流面積；BFA）およびらせん動脈の黄体側基部の時間平均最大血流速度（TAMV）を測定した（図1 A）。また、超音波検査時に正中尾静脈より採血を行い、血漿 P_4 濃度を測定した。Day 7に黄体直径が20mm以上であることを確認し、58頭のウシに黒毛和種牛の胚を1つ移植した。尚、Day 7の超音波検査および採血はET前に実施した。Day30に超音波画像診断装置を用いて妊娠診断を行い、受胎群（n = 34）と不受胎群（n = 24）に分類し比較検討を行った。

1) 繁殖履歴および胚の種類の比較

年齢、産次数、分娩後日数およびBCSの比較を表1に示した。全ての項目で受胎群と不受胎群において有意な差は認められなかった。また、新鮮胚と凍結融解胚において受胎率に差が認められなかったことから、胚の種類による分類は行わず全てまとめて統計処理を行った。

2) 黄体血流量の推移

BFAの推移を図2 (A)に示した。試験期間中、両群においてBFAは次第に増加し、Day 7 および14において受胎群が不受胎群に比較して有意に高い値を示した（ $P < 0.01$ ）。TAMVの推移を図2 (B)に示し

た。試験期間中、両群ともにTAMVは次第に増加し、Day14においてTAMVは受胎群が不受胎群に比較して有意に高い値を示した ($P < 0.01$)。

表 1. 供試牛の繁殖履歴および使用した胚の種類

項目	Total	受胎群	不受胎群
頭数	58	34	24
年齢	4.21 ± 0.27	4.41 ± 0.35	3.92 ± 0.39
産次数	2.50 ± 0.23	2.65 ± 0.29	2.29 ± 0.36
分娩後日数(日)	131.59 ± 10.80	143.38 ± 16.00	114.88 ± 12.15
BCS	3.23 ± 0.06	3.26 ± 0.09	3.20 ± 0.07
新鮮胚	22	14	8
凍結融解胚	36	20	16

BCS: ボディコンディションスコア
mean ± SE

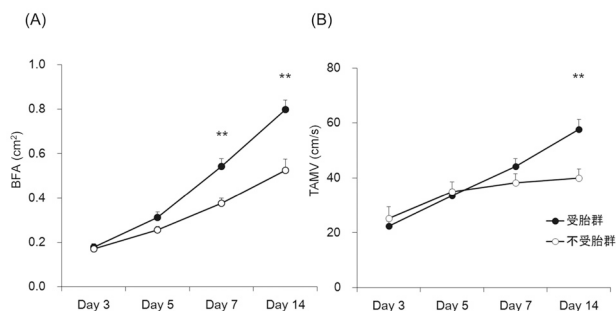


図 2. 黄体血流面積 (BFA; A) と時間平均最大血流速度 (TAMV; B) の推移

● 受胎群 (n = 34), ○ 不受胎群 (n = 24)

mean ± SE

** $P < 0.01$ (Bonferroniの多重比較検定)

3) 黄体面積、主席卵胞面積および血漿 P_4 濃度の推移

受胎群および不受胎群における、黄体面積、黄体組織面積、主席卵胞面積および血漿 P_4 濃度の推移を図 3 に示した。試験期間中次第に増加し、受胎群および不受胎群で有意な差は認められなかった。

4) 黄体血流量による妊娠予測

受胎の成否を従属変数、10因子 (年齢、産歴、分娩後日数、BCS、主席卵胞面積、黄体面積、黄体組織面積、BFA、TAMVおよび血漿 P_4 濃度) を独立変数とした、512通りのロジスティック回帰式を比較し、ベイズ情報量基準が最小のものを表 2 に示した。Day 7 において、BFA のみを予測因子とした単回帰式がその他の単回帰式や重回帰式と比較して最も優

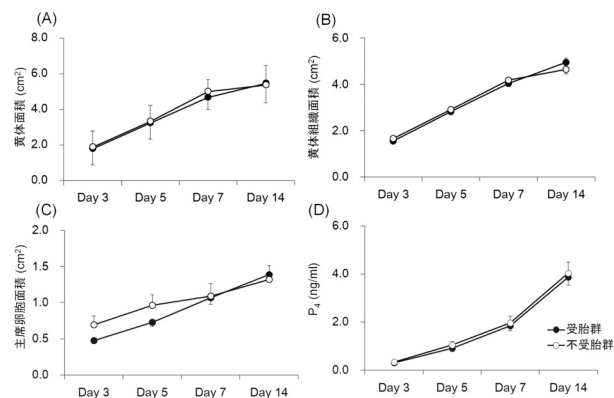


図 3. 黄体面積 (A)、黄体組織面積 (B)、主席卵胞面積 (C) および血漿 P_4 濃度 (D) の推移

● 受胎群 (n = 34), ○ 不受胎群 (n = 24)

mean ± SE

表 2. ベイズ情報量基準が最小であるロジスティック回帰式の係数

	係数	標準誤差	z統計量	P値
(Day 7)				
切片	-3.80	1.23	-3.08	0.002
BFA on Day 7	9.31	2.78	3.35	<0.001
(Day 14)				
切片	-9.09	2.55	-3.57	<0.001
BFA on Day 14	8.05	2.42	3.33	<0.001
TAMV on Day 14	0.0872	0.0276	3.16	0.002

BFA: 黄体血流面積, TAMV: 時間平均最大血流速度

れていた。従来から用いられてきた黄体面積、黄体組織面積および血漿 P_4 濃度は妊娠予測に有用ではなく、Day 7 における P 値はそれぞれ0.458, 0.620および0.715であった。Day14においては、BFA ($P < 0.001$) とTAMV ($P = 0.002$) が優れた妊娠予測因子であることが分かった。従来から用いられてきた黄体面積、黄体組織面積および血漿 P_4 濃度は妊娠予測に有用ではなく、Day14における P 値はそれぞれ0.807, 0.230および0.758であった。Receiver Operating Characteristic (ROC) 解析の結果を図 4 および 5 に示した。Day 7 において、BFAが妊娠予測に最も優れた因子であることが分かった。さらに、Day 7 における妊娠予測のためのカットオフ値の比較を表 3 に示した。BFAのカットオフ値を 0.43cm^2 に設定することで、高い感度 (79.4%) と特異度 (75.0%) を同時に得ることができた。Day14においてもDay 7と同様に単一因子で妊娠予測を行う場

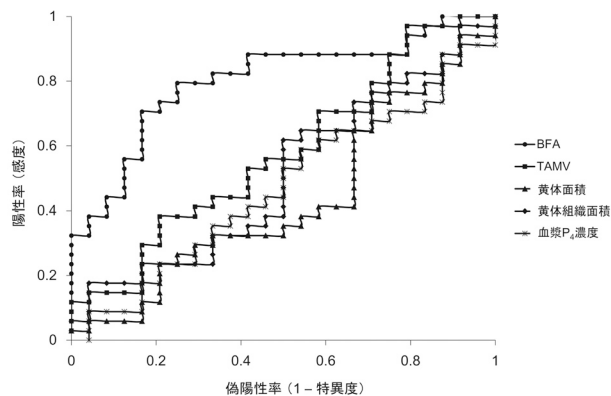


図4. Day7における受胎性予測因子のReceiver Operating Characteristic (ROC) 曲線
BFA: 黄体血流面積, TAMV: 時間平均最大血流速度, P_4 : プロジェステロン

表3. Day7における受胎性予測のためのカットオフ値の比較

	カットオフ値	感度	特異度
BFA (cm ²)	0.43	0.794	0.750
TAMV (cm/s)	41.83	0.533	0.583
黄体面積 (cm ²)	5.12	0.324	0.667
黄体組織面積 (cm ²)	3.86	0.618	0.500
血漿 P_4 濃度 (ng/ml)	1.32	0.588	0.458

BFA: 黄体血流面積, TAMV: 時間平均最大血流速度, P_4 : プロジェステロン

合にはBFAが最も優れた因子であることが分かった。また、ベイズ情報量規準で評価した場合、Day14においては、BFAのみを使用するよりもBFAとTAMVの2因子を考慮した重回帰式による妊娠予測が最も優れていた。Day14における妊娠予測のためのカットオフ値の比較を表4に示した。BFAのカットオフ値を0.56cm²に設定することで、高い感度(88.2%)と特異度(79.2%)を同時に得ることができた。また、BFAとTAMVを組み合わせた場合、ロジスティック回帰式から予測される妊娠確率が60%であるBFA0.63cm²かつTAMV50.60cm/sをカットオフ値に設定することでさらに高い感度(85.3%)と特異度(91.7%)を同時に得ることができた。

本研究では、受胎群と不受胎群においてET前後の黄体と卵胞の形態および黄体血流量の推移を比較した。その結果、Day7において受胎群は不受胎群に比較してBFAが有意に高いことが明らかとなった。その一方で、黄体面積、黄体組織面積、主席卵

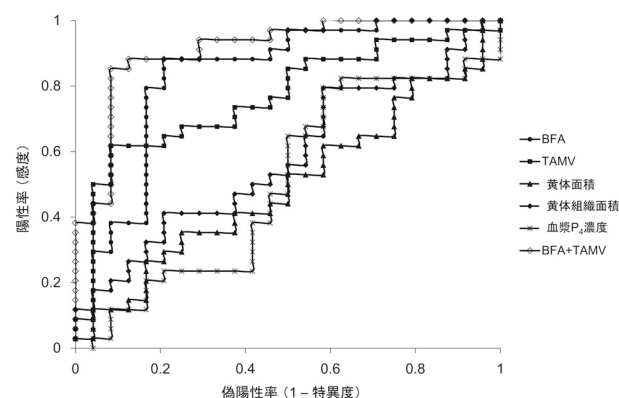


図5. Day14における妊娠診断因子のReceiver Operating Characteristic (ROC) 曲線
BFA: 黄体血流面積, TAMV: 時間平均最大血流速度, P_4 : プロジェステロン

表4. Day14における超早期妊娠診断のためのカットオフ値の比較

	カットオフ値	感度	特異度
BFA + TAMV	0.60 ^a	0.853	0.917
BFA (cm ²)	0.56	0.882	0.792
TAMV (cm/s)	52.8	0.618	0.917
黄体面積 (cm ²)	5.11	0.529	0.500
黄体組織面積 (cm ²)	4.28	0.794	0.417
血漿 P_4 濃度 (ng/ml)	3.21	0.647	0.500

BFA: 黄体血流面積, TAMV: 時間平均最大血流速度, P_4 : プロジェステロン

a: BFA 0.63cm², TAMV 50.6cm/s

胞面積および血漿 P_4 濃度には差が認められなかった。また、ロジスティック回帰分析の結果から、従来から受胎牛の選定に用いられてきた黄体面積、主席卵胞面積や血漿 P_4 濃度ではなく、BFAが受胎に影響を及ぼす因子であることが明らかとなった。また、Day7においてはBFAが妊娠予測に最も有用であり、カットオフ値を0.43cm²に設定することで他の因子に比較して高い感度と特異度を同時に得ることができた。感度は受胎するウシのうち受胎すると判定できる割合、特異度は受胎しないウシのうち受胎しないと判定できる割合であり、感度と特異度がともに高いと精度が高いと言うことができる。従って、CDUSによるBFAの測定は受胎牛の受胎性の評価や受胎牛の選定に有用であると考えられた。

P_4 は黄体細胞より分泌され、着床に向けた子宮環境の調整に重要な役割を持ち³²⁾、胚の生存に必要

不可欠である^{33,34)}。P₄の生成や全身循環への放出には黄体の血管形成が必要であり^{17,20)}、黄体のある卵巢と同側の卵管や子宮角のP₄濃度は対側に比較して高いことが知られている^{35,36)}。つまり、生体内でP₄は一定の濃度で分布しておらず、全身循環に乗らず血管を介して卵巢と子宮間で局所循環するP₄が存在すると考えられている^{35,36)}。本研究では、受胎群と不受胎群において血漿P₄濃度に差が認められなかったが、受胎群における黄体の高い血管形成つまり活発な血流が、黄体への栄養やP₄の基質の供給量を増加し、局所循環を介して黄体側の子宮角のP₄濃度を増加させるのではないかと考えた。従って、黄体側つまり胚を移植する子宮角のP₄濃度が増加することで胚の生存や着床が改善したと推測した。

受胎群と不受胎群の黄体面積、黄体組織面積および血漿P₄濃度に差が認められなかった。過去の報告から、ホルスタイン種経産牛のDay 7の黄体は直径19-28mmであり^{37,38)}、黄体退行期を除いて黄体面積は血漿P₄濃度を反映しているとされている¹⁵⁾。本研究では、Day 7における黄体直径が20mm以上のウシにETを行った。そのため、黄体面積、黄体組織面積および血漿P₄濃度の推移に差が認められなかったと考えられた。また、主席卵胞面積についても受胎群と不受胎群で差が認められず、ロジスティック回帰分析の結果からも主席卵胞面積は受胎に影響しないことが示された。ET時の主席卵胞面積と受胎性に関しては様々な報告がなされている^{5,39,40)}。主席卵胞面積や血漿エストラジオール(E₂)濃度が受胎率に影響を及ぼし、主席卵胞面積が大きく血漿E₂濃度が高いと受胎率が低下するという報告^{5,39)}と受胎に影響を与えないとする報告もある⁴⁰⁾。通常、ウシの発情周期において卵巢内では2-3回の卵胞群の発育が観察され、それぞれの卵胞群から排卵に至らない卵胞が1-2個発育する^{41,42)}。つまり、発情周期を通じて黄体に共存する卵胞が観察される⁴¹⁾。また、発情から6-7日後に第1卵胞波主席卵胞の直径は12.0-15.0mmに達し、それに伴い血中E₂濃度も上昇する^{41,43)}。従って、ET時に直径10mm前後の主席卵胞が共存することは正常であり、Day 7の黄体直径が20mm以上の牛を受

胚牛として選択した場合、主席卵胞面積は受胎に影響せず受胎性予測には有用ではないことが示された。

Day14において、受胎群は不受胎群に比較してBFAとTAMVが有意に高いことが明らかとなった。また、黄体面積や血漿P₄濃度と比較してBFAとTAMVが妊娠予測に有用であり、ロジスティック回帰式から予測される妊娠確率が60%であるBFA 0.63cm²かつTAMV50.60cm/sをカットオフ値に設定することで最も高い感度(85.3%)と特異度(91.7%)を同時に得ることができた。従って、CDUSによるBFAとTAMVの測定は受胎牛の超早期妊娠診断に有用であると考えられた。ET後の黄体の豊富な血管形成や黄体に血液を供給しているらせん動脈の高速な血流が受胎に強い影響を及ぼしているものと推測した。受胎群においてDay14におけるBFAとTAMVが高い原因として、Day 7において血管形成の多い黄体がその後も安定して血管形成を増加したことが考えられる。また、Interferon tau (IFN τ)のような胚からのシグナルによって血流量が増加した可能性もある。ヒツジにおいて妊娠12日目以前、ウシにおいては13日から14日目に子宮から胚を除去すると黄体が退行し発情が回帰するが、13日目以降の除去では黄体の寿命が延長される⁴⁴⁾。また、ヒツジに妊娠14日から16日目のヒツジ胚抽出物を子宮内投与すると、黄体の退行が抑制される⁴⁵⁾。これらのことから、この時期が母体の妊娠認識時期とされ、胚の栄養膜細胞から産生されるIFN τ が妊娠認識物質として同定された⁴⁵⁻⁴⁹⁾。IFN τ とそのmRNA (IFNT) は後期桑実胚から初期胚盤胞の時期から検出され^{47,50)}、妊娠牛においてはDay14-15からIFNT mRNA量とIFN τ 産生量が劇的に増加する^{51,52)}。しかし、胚が子宮に接着を開始する(妊娠18から20日頃)とその産生は減少する^{53,54)}。その作用は、着床前後の卵巢機能の制御、胚の発育や伸長、子宮内膜の機能の調節である⁵²⁾。妊娠認識時期に子宮内にIFN τ が存在することで、子宮内膜上皮上のオキシトシンレセプターの発現が抑制され、黄体退行が阻害される^{55,56)}。Day14はIFN τ 産生量が急増する時期であることから、受胎群における黄体の豊富な血管形成と高速な血流は胚から産生されたIFN τ による影響もあると推測された。この活発な血流が、

黄体への栄養や P_4 の基質の供給を増加させ、 P_4 産生と分泌の増加をもたらしたのではないかと考えた。しかし、受胎群と不受胎群でDay14の血漿 P_4 濃度に有意な差は認められなかった。黄体のある卵巣と同側の卵管や子宮角の P_4 濃度は対側に比較して高く、卵巣と子宮間で局所循環する P_4 が存在すると考えられている^{35,36)}。従って、活発な血管形成に伴う P_4 の産生と分泌の増加は、末梢血中の P_4 濃度には影響を与えないが、黄体と同側の子宮角内の P_4 濃度を増加させるのではないかと考えられた。さらに、母体の P_4 濃度は胚の発育と胚からのIFN τ 産生に影響を与え、母体の P_4 濃度が高いとIFN τ の産生が増加することが示唆されている⁵⁷⁾。従って、子宮内の P_4 濃度が高いことが胚の発育を促し、IFN τ 産生量が増加し、さらに胚の発育と着床に適した環境となったのではないかと推測された。

近年、携帯型超音波診断装置を用いたAI後25–29日以降の早期妊娠診断が一般的に行われている^{29,30)}。さらに、CDUSを用いた早期妊娠診断が試みられている^{58,59)}。AI後20および21日において、受胎牛では不受胎牛に比較して黄体血流量が多く、黄体血流量の視覚的評価は早期妊娠診断、特に不受胎牛の摘発に有用であると報告されている⁵⁸⁾。その一方で、受胎牛については受胎牛のDay19におけるBFAが不受胎牛に比較して高いが、BFA単独では感度と特異度が低いため早期妊娠診断には不十分であると報告されている⁵⁹⁾。本研究では、Day14における妊娠予測精度の比較を行うためにROC解析を行った。その結果、BFAとTAMVの2因子を考慮した重回帰式による妊娠予測が最も優れていた。また、ロジスティック回帰式から予測される妊娠確率が60%であるBFA0.63cm²かつTAMV50.60cm/sをカットオフ値に設定することで最も高い感度と特異度を同時に得ることができた。これらのことから、Day14における妊娠予測にはBFAとTAMVを組み合わせる方法が最適であると考えられた。従って、Day14にBFA単独ではなくBFAとTAMVを評価することで、過去の報告よりも早期で尚且つ精度の高い超早期妊娠診断が可能となることが明らかとなった。

以上のことから、CDUSを用いて Day 7 および14の黄体血流量を評価することは受胎牛の選定と超早

期妊娠診断に有用であると考えられた。また、従来の方法より早期で尚且つ次回発情周期以前に妊娠診断を行うことで、不受胎牛の次回の発情発見率およびAI率またはET率の向上に繋がるものと考えられた。

引用文献

- 1) 高橋芳幸:胚移植. 中尾敏彦, 津曲茂久, 片桐成二 編. 獣医繁殖学, 第4版 pp.236~248. 文永堂出版, 東京 (2012)
- 2) Baruselli PS, et al. : Superovulation and embryo transfer in Bos indicus cattle. Theriogenology, 65, 77-88 (2006)
- 3) Takahashi M, et al. : Improvement of superovulatory response and pregnancy rate after transfer of embryos recovered from Japanese Black cows fed rumen bypass polyunsaturated fatty acids. J. Vet. Med. Sci, 75, 1485-1490 (2013)
- 4) Hasler JF : Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rate in cattle. Theriogenology. 56, 1401-1415 (2001)
- 5) Nishigai M, et al : The relationship of blood progesterone and estrogen concentrations on the day before and the day of frozen-thawed embryo transfer to pregnancy rate in Japanese black beef cattle. J. Reprod. Dev, 46, 235-243 (2000)
- 6) Smith AK, et al.: Norgestomet implants, plasma progesterone concentrations and embryo transfer pregnancy rates in cattle. Vet. Rec, 139, 187-191 (1996)
- 7) Sreenan JM. and Diskin MG : Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. Theriogenology, 27, 99-113 (1987)
- 8) Mann GE and Lamming GE : The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. Reprod. Domest. Anim, 34, 269-274 (1999)
- 9) Parr MH, et al. : Relationship between pregnancy per artificial insemination and early luteal concentrations of progesterone and establishment of repeatability estimates for these traits in Holstein-Friesian heifers. J. Dairy. Sci, 95, 2390-2396 (2012)
- 10) Mann GE and Lamming GE : Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. Reproduction, 121, 175-180 (2001)
- 11) Chagas e Silva J, et al. : Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. Theriogenology, 58, 51-59 (2002)
- 12) Hasler JF, et al. : Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfers. J. Reprod. Fertil, 58, 71-77 (1980)
- 13) Remsen LG, et al : Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. Theriogenology, 18, 365-372 (1982)
- 14) Assey RJ, et al. : Corpus luteum size and plasma progesterone levels in cattle after cloprostenol-induced luteolysis. Theriogenology, 39, 1321-1330 (1993)

- 15) Kastelic JP, et al. : Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*, 33, 1269-1278 (1990)
- 16) Ribadu AY, et al. : Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet. Rec*, 35, 452-457 (1994)
- 17) Wiltbank MC, et al. : Relationship between blood flow and steroidogenesis in the rabbit corpus luteum. *J. Reprod. Fertil*, 84, 513-520 (1988)
- 18) Lamond DR and Drost M : Blood supply to the bovine ovary. *J. Anim. Sci*, 38, 106-112 (1974)
- 19) Yamada O, et al. : Microvascular changes in the bovine corpus luteum during pregnancy. *J. Vet. Med. Sci*, 57, 75-79 (1995)
- 20) Carr BR, et al. : The role of lipoproteins in the regulation of progesterone secretion by the human corpus luteum. *Fertil. Steril*, 38, 303-311 (1982)
- 21) Herzog K, et al. : Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. *Theriogenology*, 73, 691-697 (2010)
- 22) Miyazaki T, et al. : Power and colour Doppler ultrasonography for the evaluation of the vasculature of the human corpus luteum. *Hum. Reprod*, 13, 2836-2841 (1998)
- 23) Matsui M and Miyamoto A : Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: Practical use for reproductive management in the cow. *Vet. J*, 181, 232-240 (2009)
- 24) Singh J, et al. : Promise of new imaging technologies for assessing ovarian function. *Anim. Reprod. Sci*, 78, 371-399 (2003)
- 25) Bollwein H, et al. : Transrectal color Doppler sonography of the A. uterina in cyclic mares. *Theriogenology*, 49, 1483-1488 (1998)
- 26) Acosta TJ, et al. : Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction*, 125, 759-767 (2003)
- 27) Acosta TJ, et al. : Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F₂ α injection in the cow. *Biol. Reprod*, 66, 651-658 (2002)
- 28) Vaillancourt D, et al. : Correlation between pregnancy diagnosis by membrane slip and embryonic mortality. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 175, 466-468 (1979)
- 29) Hanzen C and Delsaux B : Use of transrectal B-mode ultrasound imaging in bovine pregnancy diagnosis. *Vet. Rec*, 121, 200-202 (1987)
- 30) Taverne MA, et al. : Pregnancy diagnosis in cows with linear-array real-time ultrasound scanning: a preliminary note. *Vet. Q*, 7, 164-270 (1985)
- 31) Edmonson AJ, et al. : A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci*, 72, 68-78 (1989)
- 32) Forde N, et al. : Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle : Effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. *Biol. Reprod*, 84, 266-278 (2011)
- 33) Diskin MG, et al. : Embryo death in cattle: an update. *Reprod. Fertil. Dev*, 24, 244-251 (2011)
- 34) Morris D and Diskin M : Effect of progesterone on embryo survival. *Animal*, 2, 1112-1119 (2008)
- 35) Weems CW, et al. : Distribution of progesterone to the uterus and associated vasculature of cattle. *Endocrinol. Japan*, 35, 625-630 (1988)
- 36) Wijayagunawardane MP, et al. : Oviductal progesterone concentration and its spatial distribution in cyclic and early pregnant cows. *Theriogenology*, 46, 1149-1158 (1996)
- 37) McDougall S and Rhodes FM : Detection of a corpus luteum in apparently anoestrous cows by manual palpation, transrectal ultrasonography and plasma progesterone concentration. *N Z Vet. J*, 47, 47-52 (1999)
- 38) Wathes DC, et al. : Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cows. *Theriogenology*, 68, S232-S241. (2007)
- 39) Mann GE, et al. : Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. *Anim. Reprod. Sci*, 37, 121-131 (1995)
- 40) Murakami T and Adachi Y : The adaptability as recipients for ET in cows with the coexistences of corpus luteum and follicle, and cystic corpus luteum. *J. Reprod. Dev*, 40, 81-86 (1994)
- 41) Savio JD, et al. : Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil*, 83, 663-671 (1988)
- 42) Sirois J and Fortune JE : Ovarian follicular dynamics during the estrus cycle in heifers monitored by real - time ultrasonography. *Biol. Reprod*, 39, 308-317 (1988)
- 43) Badinga L, et al. : Endocrine and ovarian response associated with the first-wave dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod*, 47, 871-883 (1992)
- 44) Moor RM and Rowson LEA : Influence of the embryo and uterus on luteal function in the sheep. *Nature*, 201, 522-523 (1964)
- 45) Martal J, et al : Trophoblastin, an antiluteolytic protein present in early pregnancy in sheep. *J. Reprod. Fertil*, 56, 63-73 (1979)
- 46) Godkin JD, et al. : Purification and properties of a major, low molecular weight protein released by the trophoblast of sheep blastocysts at day 13-21. *J. Reprod. Fertil*, 65, 141-150 (1982)
- 47) Kubisch HM, et al : Relationship between age of blastocyst formation and interferon-tau secretion by in vitro-derived bovine embryos. *Mol. Reprod. Dev*, 49, 254-260 (1998)
- 48) Roberts RM, et al : Interferons as hormones of pregnancy. *Endocr. Rev*, 13, 432-452 (1992)
- 49) Spencer TE, et al. : Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim. Reprod. Sci*, 82-83, 537-550 (2004)
- 50) Imakawa K, et al. : Interferon-like sequence of ovine trophoblast protein secreted by embryonic trophectoderm. *Nature*, 330, 377-379 (1987)

- 51) Ealy AD, et al : Polymorphic forms of expressed bovine interferon-tau genes: relative transcript abundance during early placental development, promoter sequences of genes and biological activity of protein products. Endocrinology, 142, 2906-2915 (2001)
- 52) Ealy AD and Yang QE : Control of interferon-tau expression during early pregnancy in ruminants. Am. J. Reprod. Immunol, 61, 95-106 (2009)
- 53) Hernandez-Ledezma JJ, et al: Expression of bovine trophoblast interferon in conceptuses derived by in vitro techniques. Biol. Reprod, 47, 374-380 (1992)
- 54) Farin CE, et al. : Expression of trophoblastic interferon genes in sheep and cattle. Biol. Reprod, 43, 210-218 (1990)
- 55) Bartol FF, et al. : Characterization of proteins produced in vitro by periattachment bovine conceptuses. Biol. Reprod, 32, 681-693 (1985)
- 56) Roberts RM : Interferon-tau and pregnancy. J. Interferon Cytokine Res, 16, 271-273 (1996)
- 57) Kerbler TL, et al. : Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. Theriogenology, 47, 703-714 (1997)
- 58) Siqueira LGB, et al. : Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination. J. Dairy. Sci, 96, 6461-6472 (2013)
- 59) Utt MD, et al. : The evaluation of corpus luteum blood flow using color-flow Doppler ultrasound for early pregnancy diagnosis in bovine embryo recipients. Theriogenology, 71, 707-715 (2009)

平成29年度新春講演会並びに 平成30年新春の集い

☆新春講演会☆

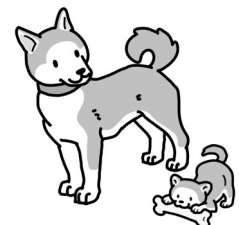
日 時 : 平成30年 1 月28日 (日) 15 : 00～

場 所 : 仙台国際ホテル

演 題 : One Health の取り組みと期待

講 師 : 公益社団法人日本獣医師会

副会長 酒井 健夫 氏



☆新春の集い☆

日 時 : 平成30年 1 月28日 (日) 17 : 00～19 : 00

場 所 : 仙台国際ホテル