

石川畜試研報
Bull.Ishikawa Pref.List.
Res.Center

ISSN 1347-913X

Bulletin
of the
Ishikawa Prefectural. Agriculture And Forestry Research Center
Livestock Experiment Station
No. 51
March-2026

石川県農林総合研究センター 畜産試験場研究報告

第51号

令和8年3月

石川県農林総合研究センター
畜産試験場

石川県羽咋郡宝達志水町坪山

Ishikawa Prefectural. Agriculture And Forestry Research Center
Livestock Experiment Station
Hodatsushimizu, Ishikawa, Japan

石川県農林総合研究センター畜産試験場研究報告

第 5 1 号

令和 8 年 3 月

目 次

1.	乳用種未経産牛における黄体血流量の受卵牛選定指標としての有用性の検討	1
----	------------------------------------	---

乳用種未經産牛における黄体血流量の 受卵牛選定指標としての有用性の検討

山下佳葉子¹, 長門正志²

¹ 石川県農林総合研究センター畜産試験場

² 石川県北部家畜保健衛生所

Evaluation of Usefulness of Luteal Blood Flow for Selection of Recipients for
Embryo Transfer in Nulliparous Dairy Heifers

Kayoko Yamashita, Masashi Nagato

キーワード：黄体血流，受精卵移植，受卵牛，乳用種未經産牛

要 約

乳用種未經産牛を対象に，黄体血流量の受卵牛選定指標としての有用性を調査した．受精卵移植時の黄体の大きさに関する各項目〔黄体直径，黄体断面積，黄体組織面積（黄体断面積－内腔断面積）〕，黄体血流面積，黄体血流の分布範囲に関する各項目〔黄体血流面積割合〔黄体血流面積／黄体組織面積×100（％）〕，黄体血流周囲割合〔黄体周囲に分布する血流の長さ／黄体周囲の長さ×100（％）〕〕について受胎の予測を目的とした ROC 曲線を作成した結果，黄体血流面積は最も高い曲線下面積（AUC）を示したが，診断能は低く単独での受胎予測指標としては不十分であった．一方で，カットオフ値以上の群では受胎率が高い傾向を示したことから，受卵牛選定の参考指標となる可能性が示唆された．さらに，黄体血流面積と血清生化学検査値との関係を検討した結果，両者の間に関係性は認められず，黄体血流面積は局所的な黄体機能を反映する指標であると考えられた．

I 結 論

受精卵移植技術（ET）は，遺伝的改良効率の向上や希少精液の有効利用を目的として広く普及し，近年では人工授精（AI）と並ぶ子牛の生産方法として一般的に実施されている．特に国内では，黒毛和種の子牛は乳用種や交雑種の子牛と比較して高価格で取引されるため，酪農家において黒毛和牛から生産された受精卵の移植機会が増加している．さらに，暑熱期には卵子の質の低下（AI-Katanani ら 2002）や受精率の

低下（Sartori ら 2001）により AI の受胎率が低下する一方，ET は暑熱の影響を受けにくく，一定の受胎率を確保できる点から利用が推奨されている（Baruselli ら 2011）．しかし，ET の受胎率は依然として約 39～51％にとどまっており（家畜人工授精師協会 2025），受胎率の向上は重要な課題である．

排卵後に卵巣の黄体から分泌されるプロゲステロン（P4）は，妊娠の成立と維持に重要な役割を果たしている．妊娠を維持させるには，機能的な黄体が存在

し、血中 P4 濃度が保たれることが必要である。したがって、黄体機能の障害とそれに伴う血中 P4 濃度の低下は受胎率に影響する要因の1つとして考えられている(Mannら 2001)。しかし、血中 P4 濃度の測定は時間と経費を要することから、現場での受卵牛選定指標として用いることは困難である。このため、従来は血中 P4 濃度と正の相関があるとされる黄体の大きさを直腸検査や超音波検査により評価し、受卵牛を選定してきた(岩田ら 2009, 村上和安達 1994)。しかし、黄体の大きさのみでは受胎予測精度が十分でないことも指摘されている(Choiら 2023, Sipueiraら 2009)。

近年、超音波画像診断装置のカラードプラ機能を利用した黄体機能評価が注目されており、黄体血流量が多い個体で受胎率が高いことが複数報告されている(金澤 2017, Pugliesiら 2019)。当場の検討においても、乳用種経産牛では血中 P4 濃度や黄体の大きさよりも黄体血流面積が受卵牛選定指標として有用であることが示されている(谷田ら 2020)。

一方で、これらの知見は主に経産牛を対象としたものであり、未経産牛における黄体血流量の受卵牛選定指標としての有用性は十分に検証されていない。未経産牛は泌乳を伴わず、代謝負荷や免疫環境が比較的安定していることから、黄体機能と受胎率の関係は経産牛とは異なる可能性がある。したがって、未経産牛における黄体所見の各項目の意義を明らかにすることは、受卵牛選定精度向上のために重要である。

そこで本研究では、乳用種未経産牛を対象に、受精卵移植時の黄体所見の各項目と受胎率との関係を ROC 解析により検討した。さらに、受卵牛の栄養状態や肝機能などが黄体血流量に及ぼす影響を調査するため、黄体血流面積と血清生化学検査値の関係についても検討した。

II 材料および方法

1. 供試牛

供試牛には、石川県内の公共牧場で飼養する未経産のホルスタイン種 104 頭を用いた。これらの牛は、自然発情または排卵誘起後 7 日目に、直腸検査および

表 1. 試験期間と供試頭数および平均月齢

試験期間		供試頭数 (頭)	平均月齢 (月齢±標準偏差)
2022年	6月-11月	39	14.6 ± 1.11
2023年	6月-10月	34	14.0 ± 0.49
2024年	5月-10月	31	14.7 ± 1.28
計		104	14.4 ± 0.96

超音波画像診断で左右いずれかの卵巣に黄体が1つのみ観察され、生殖器(卵巣・子宮)に異常がみられず、臨床的に健康な状態であった。試験期間、供試頭数および平均月齢を表 1 に示した。

2. 方法

2. 1. 排卵同期化

供試牛はシダーシンク法による排卵同期化処置を実施した。すなわち、任意の黄体期にプロジェステロン膣内徐放製剤(CIDR; シダー1900, ゼエティス・ジャパン, 東京, 日本)を膣内に挿入し、併せて酢酸フェルチレリン(GnRH; フェルチレリン注, フジタ製薬, 東京, 日本)100μgを筋肉内投与し、7日目にCIDRを抜き、同時にd-クロプロステノール(PGF₂α; ダルマジン, 共立製薬, 東京, 日本)150μgを筋肉内投与した。2日後に排卵誘起としてGnRHを100μg筋肉内投与した。当日に自然発情が確認された個体についても同様にGnRHを100μg投与し、排卵を誘起し供試牛とした。

2. 2. 黄体所見の評価

黄体所見の評価は、受精卵移植当日に相当する排卵誘起後 7 日目の黄体の超音波画像を用いた。携帯型超音波画像診断装置(MyLabOne Vet, esaote, マーストリヒト, オランダ)にリニア型プローブ(SV3513, esaote)を接続し、Bモード(10MHz, GAIN70-90%)およびCFMモード(5.0MHz, GAIN50%)を併用し直腸越しに行った。黄体の大きさに関する評価項目として、黄体直径[(長径+短径)/2]、黄体断面積、黄体組織面積(黄体断面積-内腔断面積)を測定した。さらに、黄体血流量に関する評価項目として黄体血流面積を、

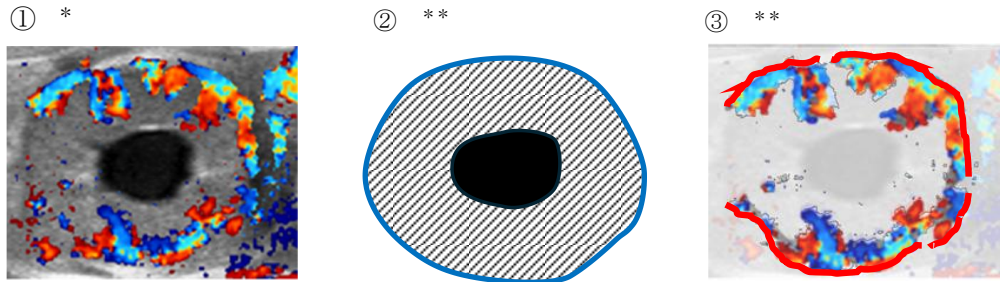


図. 黄体周囲に観察される黄体血流(①)および黄体所見の評価項目(②、③)(①の画像を例とした場合)

* カラーで示された部分が血流を示す

** : 黄体組織面積 : 黄体内腔面積 : 黄体血流面積(cm²)

黄体断面積(cm²) = 黄体組織面積 + 黄体内腔面積

黄体血流面積割合(%) = 黄体血流面積 / 黄体組織面積 × 100

黄体血流周囲割合(%) = 黄体周囲に分布する血流の長さ(赤線) / 黄体周囲の長さ(青線) × 100

黄体血流の分布範囲に関する評価項目として、黄体血流面積割合[黄体血流面積/黄体組織面積×100(%)]および黄体血流周囲割合[黄体血流周囲長/黄体周囲長×100(%)]を測定・算出した。これらすべての項目は、黄体断面積が最大と思われる断面で静止画像を撮影し、撮影画像を超音波診断装置から抽出してパソコンに取り込んだ後、カラー表示された血流部分の面積を、画像解析ソフト ImageJ(NIH, メリーランド, 米国)を用いて算出した(図)。

2. 3. 血液採取および血清生化学検査

排卵誘起または自然発情後 7 日目の黄体を観察した後、供試牛の尾静脈または頸静脈から真空採血管(ベノJECT II ;テルモ, 東京, 日本)に血液を採取した。採取した血液は、遠心分離(4℃, 3,000rpm, 30 分間)を行い、血清を分離した。血清は生化学検査に供するまで-80℃で保存した。血清生化学検査には、移動式ディスクリット方式臨床化学自動分析装置(ビオリス 30i;ビオリスメディカル, 東京, 日本)を用いた。検査項目は、栄養学的指標として総タンパク質(TP), アルブミン(ALB), 血中アルブミン・グロブリン比(A/G), 血中尿素態窒素(BUN), 総コレステロール(T-cho), 血中カルシウム濃度(Ca), 血中リン濃度(IP), 肝機能の指標として、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ

(GOT), γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ(γ-GTP)をそれぞれ測定した。

2. 4. 受精卵移植および妊娠鑑定

排卵誘起または自然発情後 7 日目の黄体所見の観察および採血を行う前に、供試牛に対し市販の凍結体内受精卵を黄体側子宮角の深部に 1 卵移植した。受精卵の融解および移植は、農場および受精卵供給元の定める方法に準じて行った。

供試牛は、発情後約 40 日目に、胎膜スリップ法により妊娠鑑定を行った。

2. 5. 統計処理

受胎の有無を目的変数、黄体所見の各評価項目を説明変数として ROC 解析を行った。縦軸に感度を、横軸に 1-特異度を取った ROC 曲線を作成し、曲線下面積(AUC)を算出した。AUC の 95%信頼区間に 0.5 を含まない場合を有意なモデルと判定し、診断能を有すると判断した。カットオフ値は、感度 1・特異度 1 の点からの距離が最小となる ROC 曲線上の点を選定し、カットオフ値以上を陽性と判定して、その感度および特異度を算出した。また、供試牛をカットオフ値以上と未満の群に分類し、両群の受胎率を算出した。受胎率の比較にはフィッシャーの正確確率検定を用いた。

表 2. 各評価項目の受胎を予測内容とした ROC 曲線の AUC とカットオフ値を基準とした感度および特異度

評価項目 (単位)	AUC (95%信頼区間)	カットオフ値	感度	特異度
黄体血流面積 (cm ²)	0.54 (0.43 - 0.65)	0.70	0.24	0.91
黄体血流面積割合 (%)	0.53 (0.42 - 0.65)	25.40	0.28	0.48
黄体血流周囲割合 (%)	0.53 (0.42 - 0.64)	31.70	0.64	0.48
黄体直径 (cm)	0.51 (0.40 - 0.61)	1.84	0.70	0.41
黄体断面積 (cm ²)	0.51 (0.40 - 0.62)	2.20	0.86	0.30
黄体組織面積 (cm ²)	0.51 (0.39 - 0.62)	2.20	0.80	0.37

統計解析は、R (R Foundation for Statistical Computing, ウィーン, オーストリア) のグラフィカルユーザーインターフェースである EZR (埼玉医療センター, 自治医科大学, 埼玉, 日本) ver.1.54 を用いて実施した (Kanda 2013), 有意水準は $p < 0.05$, $p < 0.1$ を傾向ありとした。

黄体血流面積と血清生化学検査値との関係を検討するため、黄体血流面積について得られたカットオフ値 0.702cm^2 を基準として、供試牛をカットオフ値以上群 (High 群) および未満群 (Low 群) の 2 群に分類し、両群の各項目の測定値を比較した。測定値はすべて平均値 ± 標準偏差で記載した。統計処理は EZR ver.1.54 を用いて実施し、有意水準は $p < 0.05$, $p < 0.1$ を傾向ありとした。

Ⅲ 結果

1. ROC 解析による黄体所見の受胎予測能の検討

黄体所見の各評価項目について、受胎を目的変数として ROC 曲線を作成し、AUC を算出した結果、黄体血流面積、黄体血流面積割合、黄体血流周囲割合、黄体直径、黄体断面積および黄体組織面積の AUC はそれぞれ 0.54, 0.53, 0.53, 0.51, 0.51 および 0.51

であり、いずれも 0.6 未満であった。また、95%信頼区間はいずれも 0.5 を含んでいたことから、各評価項目の受胎予測における診断能は低く、受胎・不受胎を有効に判別できなかった。さらに、感度および特異度のバランスも不良であり、単独での実用的な予測指標とはならなかった。(表 2)。

また、供試牛を表 2 で示した各項目のカットオフ値以上と未満の 2 群に分類し受胎率を比較したところ、黄体血流面積、黄体血流面積割合、黄体断面積および黄体組織面積では、それぞれカットオフ値以上の群の受胎率 (70.6%, 66.7%, 53.1%, および 54.1%) がカットオフ値未満の群 (43.7%, 43.4%, 30.4%, および 33.3%) に比べて高い傾向を示した ($p < 0.1$)。一方、黄体血流周囲割合 (53.3% および 40.9%) および黄体直径 (52.2% および 40.5%) では受胎率に有意な差は認められなかった (表 3)。

2. 黄体血流面積と血清生化学検査値の比較

黄体血流面積のカットオフ値 (0.702cm^2) を基準として分類した High 群および Low 群の血清生化学検査

表 3. 各評価項目の受胎を予測内容とした ROC 曲線のカットオフ値を基準とした受胎率

評価項目 (単位)	カットオフ値		受胎頭数	不受胎頭数	受胎率
黄体血流面積 (cm ²)	0.70	以上	12	5	70.6% a
		未満	38	49	43.7% b
黄体血流面積割合 (%)	25.40	以上	14	7	66.7% a
		未満	36	47	43.4% b
黄体血流周囲割合 (%)	31.70	以上	32	28	53.3%
		未満	18	26	40.9%
黄体直径 (cm)	1.84	以上	35	32	52.2%
		未満	15	22	40.5%
黄体断面積 (cm ²)	2.20	以上	43	38	53.1% a
		未満	7	16	30.4% b
黄体組織面積 (cm ²)	2.20	以上	40	34	54.1% a
		未満	10	20	33.3% b

※ a, b : 異符号間で傾向あり (p<0.1)

表 4. 黄体血流面積で 2 群に分けた場合の血清生化学検査結果の平均値の比較

		TP	ALB	A/G	BUN	GOT
High群	平均	7.1	3.7	1.1	12.1	73.1
	標準偏差	± 0.52	± 0.42	± 0.18	± 2.34	± 10.66
Low群	平均	7.3	3.8	1.1	12.6	72.2
	標準偏差	± 0.63	± 0.54	± 0.38	± 3.66	± 21.22

		r-GTP	T-Cho	Ca	IP	TG
High群	平均	19.5	102.1	8.8	8.3	24.5
	標準偏差	± 4.60	± 14.61	± 0.97	± 0.68	± 5.21
Low群	平均	27.4	99.0	9.0	8.5	25.6
	標準偏差	± 66.30	± 19.93	± 0.96	± 0.86	± 7.11

* 黄体血流面積 (0.702 cm²) を基準として 2 群に分類した場合に、基準値以上の群を High 群、基準値未満の群を Low 群とした。

値を比較した結果、いずれの項目も適正範囲内であり、両群の間に有意差は認められなかった(表4)。

IV 考 察

本研究では、乳用種末経産牛を対象に、黄体の大きさに関する各項目および黄体血流の分布範囲に関

する各項目の受胎予測能を ROC 解析により評価した結果、AUC は 0.51～0.54 と低値であり、いずれも受胎の有無を十分に予測する診断能は認められなかった。さらに、感度および特異度のバランスも不良であり、各評価項目単独では実用的な受胎予測指標とはならなかった。また、黄体直径についても受胎との関連性は

認められず、乳用種経産牛および未經産牛を含む集団を対象とした研究において、黄体の大きさのみでは受胎予測が困難であるとする報告 (Choi ら 2023, Siqueira ら 2009)と一致した。

一方、黄体血流面積、黄体血流面積割合、黄体断面積および黄体組織面積では、カットオフ値以上の群の受胎率がカットオフ値未満の群より高い傾向を示した。特に黄体血流面積では、カットオフ値以上の群の受胎率は 70.6%であったことから、黄体の発達や血流状態が良好な個体ほど受胎しやすい可能性が示唆された。黄体血流量の受胎予測指標としての有用性はこれまでも報告されており、Tanida ら(2023)は、乳用種経産牛において、黄体血流量が豊富な個体で受胎率が高いことを示している。本研究でも同様に、黄体血流面積が大きい群で受胎率が高い傾向を認めた。

さらに、黄体血流面積のカットオフ値を基準として分類した High 群と Low 群の栄養状態および肝機能を比較した結果、各血清生化学検査値に差は認められなかった。このことから、黄体血流量は血清生化学検査により把握できる全身代謝の状態よりも局所的な黄体機能を反映する可能性が示唆された。黄体血流量は黄体組織への栄養供給や血管発達の程度を反映すると考えられており、本研究の結果は黄体の機能的状態を評価する指標として黄体血流量が有用である可能性を支持するものと考えられた。

本研究のように、未經産牛のみを対象として黄体血流量と受胎率の関係を検討した報告は限られている。これは、繁殖成績の低下が問題となりやすい経産牛に研究対象が偏っていることに加え、未經産牛では代謝負荷や免疫変動が小さく、生理状態が比較的安定であるため、多くの個体で黄体血流量が妊娠維持に必要な水準を満たしている可能性がある。このため、黄体血流量の個体差が受胎率の差として顕在化しにくく、結果として統計的有意差が得られにくいと考えられる。

以上より、本研究は未經産牛において黄体血流量が受胎率に影響する可能性が示唆されたものの、黄体所見の各項目のみを用いて受胎性を評価することは困難であることが明らかとなった。特に黄体血流面

積は黄体局所の機能を反映している可能性が示唆された一方で、受胎予測における診断能は十分でなかったことから、今後は、黄体血流評価について黄体所見の複数の項目を組み合わせた評価指標の標準化を進めるとともに、血中 P4 濃度、子宮血流、発情徴候などの繁殖関連因子も組み合わせた評価モデルを構築し、受卵牛選定精度の向上を図る必要がある。

V 謝 辞

本研究の実施にあたり、供試牛の提供、受精卵移植および妊娠鑑定にご協力いただいた一般社団法人石川県農業開発公社富来放牧場の関係者各位に深く感謝申し上げます。

VI 参考文献

- Al-Katanani, Y.M., Paula Lopes, F.F., and Hansen, P.J. (2002). Effect of season and sex posture to heatstress on oocyte competence in Holsteincows. *Journal of Dairy Science*, 85, 390-396.
- Baruselli, P.S., Ferreira, R.M., Sales, J.N., Gimenes, L.U.SáFilho, M.F., Martins, C.M., Rodrigues, C.A., and Bó, G.A.(2011). Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle. *Theriogenology*, 76, 1583-1593.
- Choi, W., Ro, Y., Choe, E., Hong, L., Lee, W., and Kim, D.(2023).Evaluation of corpus luteum and plasma progesterone the day before embryo transfer as an index for recipient selection in dairy cows. *Veterinary Sciences*, 10(4), 262.
- Goncalves, L.M., Burato, S., Walker, M.B., Smith, M., Neira L., Clements, G., Morgan, S., Cooke, F.R., Fontes, P.L.P.(2025). Impact of luteal blood perfusion and expression of estrus on pregnancy rates of Bos taurus embryo recipient sex posed to fixed-time embryo transfer. *Animal Reproduction Science*, 274.

- Kanda Y.(2013). Investigation of the free lyavail
ableeasy-to-uses of tware‘EZR’ for medical
statistics. *Bone Marrow Transplantation*, 48,
452-458.
- Mann, G.E., and Lamming, G.E.(2001). Relationship
between maternal endocrine environment, early
embryo development and inhibition of the
luteolytic mechanism in cows.*Reproduction*,
121, 175-180.
- Pugliesi, G., Melo, G.D., Silva, J.B., Carvalhêdo,
A.S., Lopes, E., SiqueiraFilho, E., Silva, L.A.,
and Binelli, M.(2019). Use of color-Doppler
ultrasonography for selection of recipients in
timed-embryo transfer programs in beef
cattle. *Theriogenology*, 135, 73-79.
- Sartori, R., Fricke, P.M., Ferreira, J.C., Ginther,
O.J., and Wiltbank, M.C.(2001). Follicular
deviation and acquisition of ovulatory capacity in
bovine follicles. *BiologyofReproduction*, 65,
1403-1409.
- Siqueira, L.G.B., Torres, C.A.A., Souza, E.D.,
MonteiroJr., P.L.J., Arashiro, E.K.N.,
Camargo, L.S.A., Fernandes, C.A.C., and
Viana, J.H.M.(2009). Relationship between
corpus luteum characteristics and fertility in
cattle. *Theriogenology*, 72(7), 949-958.
- Tanida, T., Mukono, I., Nakahashi, M., Miyano, D.,
Miyazawa, K., Yanagawa, Y., Katagiri, S.,
(2023). The value of evaluating luteal bloodflow
on the day of embryo transfer for ecipients
election in Holstein lactating dairycows.
Japanese Journal of VeterinaryResearch, 71, 3,
72-81.
- 岩田尚孝, 牛島仁, 後藤太一, 砂川政広, 平田統一,
鬼頭武資, 古舘誠(2009) 受精卵移植技術実践
マニュアル Q&A 集. 社団法人家畜改良事業団
家畜バイオテクセンター.
- 金澤朋美(2017)乳牛におけるカラードプラ法による受
胚牛選定と超早期妊娠診断. 産業動物臨床医
学雑誌, 8(2), 51-66.
- 谷田孝志, 向野逸郎(2020) 乳用種泌乳牛における
黄体血流量の受卵牛選定指標としての有用性の
検討.石川県農林総合研究センター畜産試験場
研究報告, 49.
- 村上司, 安達善則(1994)牛の胚移植における黄体と
卵胞の共存例の適応性. *Journal of Reproduction
and Development*, 40, j81-j86.
- 一般社団法人日本家畜人工授精師協会(2025)
全国規模の受胎率調査.
<https://aiaj.lin.gr.jp/3/tyosa.html>