大阪大学医学部, 生化学教室 (主任: 市原教授)
と第1解剖学教室 (主任: 高木教授).
Dept of Biochem. (Director: Prof. ICHIHARA) a. 1st Dept.
of Anat. (Director: Prof. TAKAGI), Med. School, Osaka Univ.

白鼠精細胞に及ぼすアルギニン 及びその誘導体の影響.

Dietary Effects of Arginine and its Derivatives
upon the Germ Cells of Albino-rats.

Haruo MAKINO, Tsukasa HIBINO a. Nobuo KOGA.

巻野 治男, 日比野 司, 古閑 信男

[昭和 28 年 6 月 28 日原稿受付.]

アルギニン (「ア」と略称) 欠乏が精子形成に影響を与えることは, Holt (1944), 平井 (1949) 等によって報告された所である. これに対し, Cannon 等 (1948) は体重増加, 睪丸の重さ等より, 「ア」欠乏はラッテに殆ど影響しないと述べ, 「ア」がラッテにとって可缺であると主張した. この様に「ア」が可缺か不可缺であるかは, 種々論議されているが, 未だ決定されるに至っていない. 然し不可缺アミノ酸であるトリプトファン (Adamstone 等, 1950), メチオニン (山田, 1951); (山田と寺田 1952) の欠乏実験に於ては, 何れも睪丸に萎縮の起ることが報告されている. こゝに於て余等は, 「ア」も睪丸に何らかの影響を与えるであろうと予測し, 著者の一人巻野の体内に於ける「ア」とその誘導体との相互関係を追求する生化学的研究の一部として, 睪丸組織を研究対象としたのが本研究である.

I. 材料と研究方法.

材料として幼若ラッテ (体重約70g) を用い, 之を4群に分けて夫々次の如き食餌を与えた.

- 第1群に「ア」欠乏食,
- 第2群に「ア」欠乏食+「ア」,
- 第3群に「ア」欠乏食+アルギニン酸,
- 第4群に「ア」欠乏食+オルニチン.

而して各群何れも, 飼育期間を8週, 10週と定め, 睪丸組織を Levi, Zenker, Ciacchio, Carnoy 液にて固定, 型の如く処理し, パラフィン切片となし, Heidenhain 鉄ヘマトキシリン, ヘマトキシリンエオジン, シャー

ルラッハロートにて染色した。但し、第3群は10週迄生存するものがないため、8週に於て取材した。尚「ア」欠乏食は生化学教室に於て厳密なる操作の下に銀塩として除去、調製し、欠除せる不可缺アミノ酸は、カゼイン中の含有量と等比に加えた。

II. 自家所見.

ラッテの体重増加は第2群、第4群が徐々に上昇するに拘らず、第1群、第3群では著明な動きを示さない。睪丸は固有の楕円形をなして、前2者では8週、10週共に緊満し、剖面は膨隆するが、後2者に於ては緊満せず、剖面は膨らみを示さない。このことは或程度の萎縮を物語っている。尚その大きさ、重さ共に前2者にありては、8週より10週は大なるに反し、第1群では大差がない。

1. 精子形成.

精子は8週では第2群、第4群共に著明で多数であるが、第1群、第3群はやゝ劣る。10週では第2群は大差ないが、第4群はやゝ減じ、第1群では高度の減少を示している。

表 1.

	第1群 8週	第2群 8週	第3群 8週	第4群 8週	第1群 10週	第2群 10週	第4群 10週
休止核(%)	74.50	71.75	73.26	67.66	83.95	70.34	66.51
分裂核(%)	25.49	28.25	26.73	32.33	16.04	29.65	33.48

次に精子形成は周知の如く、波状の経過をなす故に、精子の多い細精管と、その殆ど見られないものとで、細胞の活動に差があるのは当然である。されば精子形成の程度に就ては、休止核と分裂核との比に求めねばならぬ。これを考慮して各例について細精管10個を選び、百分率をとった。即ち、表1に示す如く、分裂核は第1群、第3群では低位を示し、10週でも第2群、第4群が大差ないのに反して、第1群では著明に減数し、精子形成の減弱を示している。而てその分裂核の見られるのは主に Spermiogonien, Spermiozyten である。尚、各例に於て少数の異常核分裂がみられた。その主なものは、染色体の球状化、融着、配列不整である。

2. 遊離細胞.

各群とも、程度に差はあるが、精細胞の配列がやゝ乱れ、細胞の間隙が広くなると共に、内腔に遊離細胞が出現する。

即ち、表2にみる如く、8週に於ては第2群、第4群共に細胞の配列ややゝ乱れ、遊離細胞は僅に認められるに過ぎず、その程度は後者の方がやゝ

表 2.

	第1群 8週	第2群 8週	第3群 8週	第4群 8週	第1群 10週	第2群 10週	第4群 10週
遊離細胞	++	±	++	+	+++	+	+
Spermiozyten の遊離	++	±	++	+	+++	+	+
多核細胞	有	無	有	無	有	無	無

備考; ± 非常に少い, + 少い, ++ やゝ多い, +++ 多い.

多い. 第1群, 第3群では配列の乱れた細精管が増数し, 遊離細胞も多数みられる. 10週では第2群, 第4群は大差なく, やゝ増加がみられるのみに反し, 第1群は非常に多い.

尚, 遊離細胞は主に Spermotiden, Präspemiden であるが, この他ごく少数の Spermiozyten の遊離が第2群, 第4群に於て認められる. 然るに比較的多数の Spermiozyten の遊離が第1群, 第3群でみられ, 特に10週に於て著しい. これら遊離細胞の中には退化形をなすもの, 又, 分裂を行いつゝあるものが混在する.

3. 多核細胞 (表2).

第1群, 第3群に於て, しばしば 2—7 の核の多核細胞がみられる. これら多核細胞は内腔に近い所にみられるもの, 又内腔中に遊離しているものがあり, 且多核の中1核が分裂を行いつゝあると思われるものもある. その核の形をみるに, Spermotiden と同形のものが多く, 又これと Spermiozyten 類似形との混合形も少数みられる.

4. Ciaccio 陽性 Lipoid.

細精管の基底膜及び内腔に近く, 滴状の Ciaccio 陽性物質がみられる. これは Levi 固定標本で褐色に染まるものと分布が一致するので, 恐らく狭義の Lipoid と思われる.

その出現は精子の多い細精管と少いものとで差異を示し, 前者では内腔に近く多く, 基底膜に近い所は少い. これに反し, 後者では基底膜に近く多く, 内腔に近く少い. これらはいづれも細胞間隙に多く, 細胞内にみられるのは極めて稀である.

次に各群に於ける分布並に性状は表3の如く, 第4群最も多く, 第3群, 第1群がこれに次ぎ, 第2群は最も少い. 且8週より10週にかけて更に増大する. 而して分布は精子の多い細精管では内腔より基底膜に, 少い細精管に於ては基底膜より内腔に向って広がる. 尚, 性状はその数的差に拘らず, 一般に精子の多い細精管も少い細精管も, 基底膜に近いものは大滴状で, 内腔に近いものは小滴状である.

表 3.

		第1群 8週		第2群 8週		第3群 8週		第4群 8週		第1群 10週		第2群 10週		第4群 10週	
		S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
Spermio- zyten層	性 状	ヤ・大	大	ヤ・大	大	ヤ・大	ヤ・大	ヤ・大	大	ヤ・大	大	ヤ・大	大	小	大
	分 布	+	+	+	+	+	+++	+	++	+	+++	+	++	++	+++
Sperma- totiden層	性 状		小			小	小	小	ヤ・大		大	小	小	小	小
	分 布		+			+	+	+	+		+++	+	+	++	+++
Präse- miden層	性 状		小			小	小	小	小	小	小			小	小
	分 布	++		++		++		++		++	+	+++		++	++

備考: S 精子の多い精細管, N 精子の少ない精細管; + 少い, ++ やゝ多い, +++ 多い.

5. 其 の 他.

精細胞のミトコンドリアは飼育期間及び食餌による差異は余り認められない. 即ち, ミトコンドリアは小顆粒状で細胞質内に一様に散在しているか, 又は核周囲, 就中一方に偏して塊を形成するかの如く存在している.

尚退化形と思われる細胞の変性像がみられた. これは Spermiozyten や Spermatotiden より変性したもので, 特に Spermiozyten よりのものが多く, 各群とも8週で既にみられ, 10週でやや増数する. 中でも第1群, 第3群では非常に多く, 第2群, 第4群では少数しか認められない.

III. 考 察.

「ア」欠乏の際, Holt (1944) は「少くとも2週以内に」, 平井 (1949) は「3週より4週にかけて睪丸に萎縮が起る」と述べている. 又, Adamstone (1950) はトリプトファン, 山田 (1951), 山田と寺田 (1952) はメチオニンを用いて睪丸萎縮をみ, 特に山田は, 萎縮の基準に於て「遊離細胞の出現は萎縮のごく初期に於てみられる変化である」と述べている.

本実験では8週にて遊離細胞の少数が出現するにすぎないことよりみて, 萎縮のごく初期の変化であって, Holt, 平井等の如き強度の萎縮像がみられなかった. 又「ア」を添加した第2群に於ても遊離細胞がみられたことより, この際, 「ア」は睪丸に大なる影響を与えなかったことが知られる.

精子形成の低下, 遊離細胞及び多核細胞の出現よりみれば, 変化の度の

強いのは第1群, 第3群で, 第4群之に次ぎ, 第2群は最も軽度である. このことはアルギニン酸が「ア」の誘導体でありながら, 「ア」合成に与らないことを意味し, 又オルニチンは少なくとも一部が「ア」に転化したことを示すものと考えられる.

生理学的な Ciaccio 陽性物質の分布は, 西田 (1952) により詳細に示されているが, 余等の実験に於て第4群が最も多いことは, その代謝過程に於て一部が停滯したものと思われ, 上述の異常且萎縮的变化と平行して増強するものと思われる. この Ciaccio 陽性物質はその飼育期間と共に, 又第2群に比し他の群が増大していることは, 平井の所見に一致する.

次に精子形成に関して平井は「最も影響を受けるのは精子組織形成期で, 成長期及び成熟期之に次ぐ」と報告している. 余等の所見で精子の多い細精管に於て退化像と思われる変性細胞が多くみられること, 而も変性細胞は *Spermiozyten* の変性と考えられ, *Spermiozyten* の遊離が多くなるにつれて増すこと, 及び山田と寺田の「細胞の退化は *Spe miozyten* に起源を求めうる」とのべていることより考えれば, 最も影響をうけるのは寧ろ成長期ではなかろうか.

尚, 退化像には種々の過程がみられるが, *Pyknose* を起した細胞の多いことから, *Karyorhexis* はその一過程であって, 核は *Pyknose* を経て *Karyorhexis* に移行, 退化してゆくものと考えられる.

更に多核細胞の成因について異常核分裂説と融合説とあるが, 牧野 (1946—1952) が「異常核分裂は早晚退化するものである」とのべていること, 又本実験でみられた異常核分裂中, 退化形と思われる染色体の球状化が多いこと, 及び *Spermiozyten* と *Spermatotiden* の両者の核が混在している多核細胞が存することから, 多核細胞の成因には, 分裂の逆行, 無糸分裂, 細胞質の不分離等が考えられるが, 融合も強い意味をもっていると思われる.

要するに, 「ア」欠乏時の睪丸変化がトリプトファン, メチオニンのそれに比し弱いことは, 前者に於て後者と異なり, 窒素平衡が維持される点から見ても, 一般体蛋白合成は体内力源代謝と共に著明なる障害を受けず, 唯, 「ア」を量的に要求する特殊蛋白合成のみ障害される結果と考えられる.

IV. 結 語.

以上の余等の得た所見を次の各項に纏めることが出来る.

1. 精子形成は第2群 (「ア」欠乏食+「ア」), 第4群 (「ア」欠乏食+オルニチン) に比し, 第1群 (「ア」欠乏食), 第3群 (「ア」欠乏食+アルギニン

酸)では弱っている。この減弱は第1群(「ア」欠乏食)の10週に於て極めて著明に現れる。

2. 遊離細胞は第2群(「ア」欠乏食+「ア」), 第4群(「ア」欠乏食+オルニチン)では少数しか出現しないが, 第1群(「ア」欠乏食), 第3群(「ア」欠乏食+アルギニン酸)では多数みられる。10週では第1群(「ア」欠乏食)の増数は最も著しい, 尚, 遊離細胞中, Spermiozytenの遊離は第1群(「ア」欠乏食), 第3群(「ア」欠乏食+アルギニン酸)に甚だしく, 第2群(「ア」欠乏食+「ア」), 第4群(「ア」欠乏食+オルニチン)では僅少である。

3. 多核細胞は第1群(「ア」欠乏食), 第3群(「ア」欠乏食+アルギニン酸)にのみ出現し, その核は Sprmatoiden 型のものが多く, 稀に Spermotoiden と Spermiozyten の混合型とみられるものがある。

4. Ciaccio 陽性 Lipoid は第4群(「ア」欠乏食+オルニチン)に於て最も多く且分布も広い。次いで第3群(「ア」欠乏食+アルギニン酸), 第1群(「ア」欠乏食), 第2群(「ア」欠乏食+「ア」)の順で10週には更に増大する。

5. 第1群(「ア」欠乏食)及び第3群(「ア」欠乏食+アルギニン酸)は類似の萎縮的経過を辿り, 変化の度最も強く, 第4群(「ア」欠乏食+オルニチン)之に次ぎ, 第2群(「ア」欠乏食+「ア」)は最も軽い。

擧筆するに当り, 終始御懇篤な御指導を賜った恩師高木教授, 市原教授, 内田助教授, 奈良医大山田助教授, 市立医大高木助教授に深謝致します。

Authors' Abstract.

In the case of arginine deficiency or the same, supplemented with arginic acid, the formation of sperma decreases in comparison with arginine deficiency plus arginine or plus ornithine. The decrease is at its maximum after ten weeks of arginine deficiency.

Some free germ cells occur in the case of arginine deficiency plus arginine or plus ornithine, but occur more frequently in the case of arginine deficiency or the same, supplemented with arginic acid. These cells are most abundant after ten weeks of arginine deficiency. Of all free cells the isolation of spermioocytes is more frequent in the case of arginine deficiency or the same, supplemented with arginic acid than in the case of arginine deficiency plus arginine or plus ornithine.

Multinuclear cells are found in the cases of the arginine deficiency and the same, supplemented with arginic acid, and most of their nuclear appearances are that of spermatid with some exceptions where they are of the mixed type of spermatid and spermioocyte.

CIACCIO's lipid distributed in seminiferous tubules can be found most remarkably in the arginine deficiency supplemented with ornithine, secondly more abundant in arginine deficiency plus arginic acid, thirdly in arginine

deficiency, and the least in the arginine deficiency plus arginine. With this order the distribution of CIACCIO's lipid increases to a higher degree after ten weeks of dietary breeding.

If we consider these cytological changes as an atropic change according to the former author (YAMADA et al. 1950), cases of arginine deficiency and the same supplemented with arginic acid both undergo a similar course of atrophy to higher histological changes. In the case of arginine deficiency plus ornithine this was found to be somewhat slight, and the changes of arginine deficiency can be recovered by the dietarily supplemental use of arginine.

文 献.

- Adamstone, F. B.: Tryptophan deficiency in the rat. Arch. Path. 49 (1950).
 — Frazier, L. E., R. W. Wissler, R. L. Woolridge & P. R. Connon: J. Nutrit. 33 (1947). (医学のあゆみ引用) — 平井久男: 精細胞に及ぼすアルギニンの影響 (演説). 大阪医学会 (1949, 9月). — Holt, L. E. Jr. & A. A. Albanese: Tr. A. M. physicians 58 (1944). (医学のあゆみ引用) — 牧野佐二郎: 異種移殖をした吉田肉腫に於ける染色体研究. 癌. 42 (1951). — 西田隆雄: 睪丸組織内脂質の性状. 科学 22 (1952). — 山田正興: メチオニン欠乏時の睪丸萎縮 (演説). 第23回日本遺伝学会総会 (1951). — 山田正興と寺田二郎: メチオニン欠乏時の睪丸萎縮 (演説). 第24回日本遺伝学会総会 (1952).

附 図 説 明.

- 図1. 第1群 (「ア」欠乏食), 8週. やゝ遊離細胞を認む. 70×
 図2. 第2群 (「ア」欠乏食+「ア」), 8週. 変化を認めず. 70×
 図3. 第3群 (「ア」欠乏食+アルギニン酸), 8週. 遊離細胞を認む. 70×
 図4. 第4群 (「ア」欠乏食+オルニチン), 8週. 殆ど遊離細胞を認めず. 70×
 図5. 第1群 (「ア」欠乏食), 10週. 遊離細胞多数を認む. 70×
 図6. 第4群 (「ア」欠乏食+オルニチン), 10週. やゝ遊離細胞を認む. 70×
 図7. 第1群 (「ア」欠乏食), 10週. Spermiozyten, Spermatotiden の遊離を認む. 尙, 分裂中のものを認む. 250×
 図8. 第3群 (「ア」欠乏食+アルギニン酸), 8週. 内腔に遊離しつゝある多核細胞 (4核) を認む. 250×