Hyaluronidase の研究 (第2報)

精液中の該酵素及び特に不妊症との關係について

東京大學醫學部泌尿器科教室 助手 醫學士 齋 藤 豊 一
(主任 市川篤二教授)

STUDY ON HYALURONIDASE (II. REPORT. CONCENTRATION OF THE ENZYME IN SEMEN WITH PARTICULAR REFERENCE TO THE RELATION TO THE STERILITY)

Toyokazu Saito

From the Urology Department, Medical Faculty, University of Tokyo.

(Director: Prof. T. Ichikawa)

緒 言

所謂男子不妊症の原因については、幾多の業績があるが、それにもかゝらず、總ての原因が解決されている譯ではない。Duran-Reynals の発見した睪丸エキス中の Hyaluronidase (Hdase) (或いは Spreading Factors) が, Mc Clean, Rowlands 等により受精の過程に重要な役割を演ずることを発見せられて以來、不妊症の成立にも本酵素が一つの役割を演ずる場合のあることが指摘せられ始めた。

余は帝國臓器株式會社及び持田製藥株式會社の厚意により、人臍帶より分離せる Hyaluron 酸 (H酸) を得、之を基質として精液中の Hdase を定量し、不妊症との關係につき、些かの知見を得たので、こゝに發表する。なお、本論文の要旨は市川教授により第38回日本泌尿器科學會總會 (1950年) に於て發表されたものである。

精液中の Hyaluronidase について

Hdase が男性々器にて產生せられ、精液中に存在することは第1報において述べた。然らば性器中のどの部位にて產生せられるのであるか、又精液のどの成分に存在するのかという問題が生じて来る。1948年 Bergenstal 及び Scott は之等を決定する爲に次の如き興味ある實驗を行つている。

精液を次の諸種の部分 (Fraction) に分類して、各部分の Hdase 活性度を検査したのである。

1. 全精液 (Whole Semen), 排泄せられた精

液 (Ejaculated Semen) そのまゝのものである。

2. 精液漿 (Seminal Plasma), 射精液を3000回轉10分間遠心沈澱して得た上清液。

3. 均質化全精液 (Homogenized Whole Semen), 精液漿を除いた沈澱物に緩衝液を加え、Homogenizer にて均質化し、後に精液漿を混合したもの。

4. 均質化精子 (Homogenized Sperm) 精液漿を熱で不活性化しておいてから、前述の均質化物と混合したもの。即ち、この中には精子の中に含有されている酵素のみが存在していることになる。

5. 全精子 (Whole Sperm), 精液漿を除いた沈澱物に熱で不活性化した精液漿を再び混和し遠心沈澱して得た沈澱物。

其の成績を述べる。

1. 精子数と全精液中の Hdase 活性度との關係: 32例の検査成績を示しているが、大體に於て精子数と Hdase 活性度とは正比例的關係にある。精子の存在しない精液には Hdase は證明されず精子の存在していた精液は悉く Hdase を含有していた。そしてその活性度と射精量、運動性、異常型の出現率、白血球数との間には何の關連も見出されなかつた。

2. 前述の各種の Fraction に分類して得た試料について活性度を検査した結果は第1表の如くなる。

精液漿のKは全精液のKに近似はしているが、大なるものは1例もない。均質化全精液のKは悉く大である。即ち、均質化することにより始めて精子に含有せられていたHdaseが精液漿の方に遊離したのであり、精子そのものがHdaseを含有しているのことが判る。精子に残留する酵素の量、遊離の量等は一定せず、症例により異なるようである。

次に、射精後室温に放置し、一定時間の後にHdaseの活性度を全精液と均質化全精液とについて比較検査した。全精液の場合は始めの2時間には増加の傾向があるが3時間後には殆んど一定の値を示す。均質化全精液については採取後のものも、2時間後に均質化したものも略と同じ値を示した。このことよりHdaseは射精後は精子に於て生産されるのではなく、含有せられていたものが射精後に時間と共に如何なる機構でかは不明であるが、遊離し液體部分に移行するものであることが判る。或る例に於ては80分後の均質化全精液のKは6時間の全精液のKよりも遙かに大きく更に時間を経過することにより一層多量の酵素を遊離し得る能力のあることを示した。

更に一方次の実験も行つた。精管切離をうけた人間の精液、(即ち、前立腺液が大部分)、及びHugginsの方法により犬に前立腺瘻を作りそれより得た前立腺液中にはHdaseは全く含有せられなかつた。又前立腺及び睪丸の剔出標本につき検査した所前立腺組織中には含まれず、睪丸組織中には證明せられた。

精液瘤(Spermatocoele)を穿刺して得た液について検査した所、高濃度のHdaseを證明した。この中には多数の精子が含まれていたが、運動性は多くのものに認められなかつた。

以上の成績から判断して彼等は次の如き結論を導き出している。Hdaseは精子から生ずるか、或いは精子と密接に結合しているもので、精液中の酵素量は時間と共に増加するが之は精子内での生産ではなく、精子よりの遊離、移行であろう。第2にHdase生産の部位を確立し得なかつたが、睪丸實質中、或いは少くとも精管より上位の生殖

器官中であることが判る。

第1表

No.	精子数 (単位 100 萬)	K.全 精液	K.精 液漿	K.均質 化全精 液	K.均質 化精子	K.全 精子
29	205	18.2		18.5		
31	154	12.2		13.4		
22	153	10.4	10.3	19.6		
23	145	16.7		23.8		
24	137	7.4	6.6	10.3	2.5	4.4
30	120	7.7		12.5		
21	112	4.6	4.0	7.9		
13	110	8.9	7.7		1.4	
9	107	13.5	11.8			
20	100	5.7	4.6			1.1
26	93	6.9	6.4	7.9	3.1	3.1

余はこのBergental及びScottの実験にヒントを得て、次の実験を行つて見た。性的神経衰弱症の患者について、7日間の禁慾の後に病院にて用手法により精液を得、2分して一方を直ちに3000回轉10分遠沈して精液漿と精子とに分ち精液漿についてはハイエム氏液にて2倍に稀釋し、後述の方法によりて粘度法によりその中のHdase活性度を検査した。精子(沈澱物)は生理的食鹽水約2倍量を加えて、緩徐に混和して後再び3000回轉10分間遠沈、その沈澱物を乳鉢内にて充分に磨碎し等量のハイエム氏液を加えて更に同様の遠沈を、活性度を検査した。2分した残りの精液を室温に放置3時間後同様の検査を行つた。

第2表

	精液漿	精子
直	15.4	5.8
3時間後	18.8	2.8

成績は第2表に示す如くである。精液漿は直後のものが活性度低く、精子は3時間後のものが低くなつてゐる。この実験は精液の量が可成の量が必要となるので(本例は6ccを得て行つた)1例のみしか行ふ機会がないので、之のみにて結論を下すことはもとより出来ないが、射精直後には精子の方に含有されていたHdaseが放置により精液漿の方に遊離したのではないかと考えられる。

不妊症とHyaluronidaseとの關係について

受精に關する新しき見解と共に不妊症とHdaseとの關係に對する問題が提供せられ、更に本酵素

を利用して不妊症の治療に迄及ぼさんとする途が開けて来た。

Michelson, Haman 及び Koets は1年半乃至17年間不妊であつた233例の男子の精液を, Werthessen, Bergman, Greenberg 及び Gargill の記載による粘度計を使用して検査した。現在迄の所, 1 cc 中6000萬以下の精子数では妊娠に不十分であるとされているが, 95例40.8%は6000 萬以上の値を示した。従つて十分な精子数を有しながら不妊である例が可成多いことになる。31例, 13.3%には精子を發見することは出来なかつたが, 17例においては Hdase を證明することが出来た。

精子数と Hdase 活性度との關係は大體に於て正比例的關係を示すが, 絶對的なものでないことを認めている。然もこの關係を Hdase の活性度 y (1 cc 中の mg) と, 精子数 x (1 cc 中單位100萬) との對數で表わして, 不妊症の患者の場合には,

$$y^2 = 0.0053x$$

なる式を得, 對照として18例の最近妊娠に成功した健康人の場合には,

$$y^2 = 0.0059x$$

なる式を得ている。即ち, 同一の精子数の場合でも, 不妊症の場合には Hdase の含有量が少いことを證明し得た。この式は x が 6000 萬以下の場合には適當でなく, y は高く得られるという。

更に, 31例中17例に於て, 精液中に精子を發見し得ないにもかゝらず, Hdase を證明し得たがその内5例について睪丸の組織を得て検討した結果, 全例に於て, 完全な變性, 萎縮を證明することは出来なかつた。要するに, 或るものは大體に於て正常な組織であり, 或るものは Sertoli, Leydig の細細の存在, Spermatozoa の存在を確認された。

以上の結果よりして精子のみが Hdase を生産し密接な關係にあるものでないことが判る, Swyer は精液中の Hdase の $\frac{3}{4}$ は精子と密接な關係があるが, 他の部分は精子以外の細胞からのものであるとのべているが, この意見を裏づけし得るものである。睪丸は Hdase を産生する唯一の生殖器官である以上, 射精精液中に本酵素を證明

することは第1に睪丸が完全なる萎縮, 變性を示していないこと, 第2に輸精路中に閉塞のないことを示すものであると述べている。その意味に於て興味のある症例を1例あげている。

症例6. 右側睪丸は癌腫の爲に約3年前に剔除をうけ, その後20回のレ線深部照射による治療をうけた。左側睪丸よりの組織標本には細精管中に Sertoli 細胞のみが残存するのを發見した。精液中には 0.02mg/cc の Hdase が含有されている。即ち, Hdase は一部分, 精子とは無關係に例えば, Sertoli の細胞あたりでも産生されるという證明にもなる。

要するに從來は原因をつきとめ得なかつた不妊症の形に Hdase 含有量不足によるものがあることは推論し得るのであるが, この根據の上に立つて Hdase を與えて不妊症の患者に妊娠を成功させんとする企圖がなされて Morrieard, Kurzrok 等により成功することが出来た。彼等は精液と Hdase とを混じて人工受精を行うか, 或いは排卵期に Hdase を頸管に充填塗附することにより可成の效果をおさめている。

更に最近では Hdase の活性度を低下させる物質が子宮の分泌液にはあるのではないかと考えられ, この方面の研究もなされている。

さて精子数と Hdase との關係については, 大體に於て正比例的關係を示すことは Joel, Eichenberger, Kurzrok, Leonard, Conrad, Werthessen, Bergman, Greenberg, Michelson, Haman, Koets, Bergenstal, Scott, 等の諸氏の等しく認める所である。Kurzrok, Leonard 及び Conrad は1 cc 中1億迄は Hdase は正確に精子数に比例するが, 1億以上では, 比例的上昇は必ずしも見られないと述べている。

Michelson, Haman 及び Koets は233例の多數例についての検査の結果, 精子の證明せられぬ症例に於ても, Hdase の證明せられることのあることを指摘しているが, 精子が存在して, Hdase の含有されない例は経験していない。Joel 及び Eichenberger は, 後者の如き例もあると述べてい

る。

Bergental 及び Scott は、精子の存在する精液は Hdase を含有し、存在しない液には含有されないと報告した。

余は後述する如く、32 例の検査例中に可成の数の精子を證明し乍らも、活性ある Hdase を證明しない不妊症の患者を経験している。

臨床實驗

正常人及び外來患者 32 例について自宅又は病院にて用手法により、精液を清潔な試験管に採集し第 1 報の方法により Hdase の活性度を検査した。(H 酸溶液 1 cc, 緩衝液 1 cc, 精液 Hayem 等量混合液 0.5 cc) 更に 1 cc 中の精子数、1 回の射精量、精子の運動性、採集後 Hayem 氏液を混する迄の時間等の関係をも検討した。表示すれば第 3 表の如くなる。

射精量は試験管の重量を前以て測定しておき、精液の入つたものを再び測定して、その差を以て精液の量とした。

精子数の計算は白血球計算用 メランヂュールを用いて、1% フォルマリン 5% 重曹液 (Belding) にて 10 乃至 20 倍に稀釋して通常の血液中白血球計算法によつて行つた。誤差を出来るかぎり少なくする爲に、常に同じメランヂュールを用いた。

運動性は精液 1 白金耳を載物硝子に取り、デツキグラスにておゝい、中等度擴大にて檢鏡し鏡下の運動性を土から卅迄の 4 階級に分けて記載した。

精子を證明し得なかつた例は 5 例あり、5 例共に Hdase を證明することは出来なかつた。他の 27 例は悉く精子を多少にかゝらず證明し得、同時に 26 例は Hdase も諸種の階級に於て證明せられた。1 例に於てのみ、精子が證明せられたにもかゝらず Hdase を證明し得なかつた(後述)。

精子数と Hdase との関係を圖示すれば、第 1 圖の如くなる。即ち、正確な正比例的關係ではないが、大體に於て精子数の増加は Hdase の増加と一致し、諸家の成績と一致する。1 回の射精量との間には何等の關係をも見出されない。運動性との關係も全くない。

Hdase の活性度が全く證明せられなかつた 5 例の内 2 例は不妊症の症例としてあとに述べる。他の 3 例は 1 例が兩側の結核性副睪丸炎であり、2 例は兩側の淋菌性副睪丸炎に過去に於て罹患している。其結果精子の通過障礙がある爲に精子が證明せられないのであるが、同時に Hdase も證明せられなかつた。睪丸以外の性器に於て、Hdase は產生せられないという事實の根據となり得る症例と思われる。

第 3 表

No.	年 齡	數 單位 (100 萬 1 cc)	K	量 (g)	運 動 性	採取 後時 間	備 考
1	34	164.6	30.2	3.0	±	3	不妊症
2	34	162.6	13.6	3.5	卅	1	正常
3	44	157.2	22.2	1.8	卅	直後	精液漏
4	25	143.3	17.1	2.0	卅	1	正常
5	22	131.2	10.0	1.2	卅	直後	性的神經衰弱症
6	39	123.1	16.2	1.5	+	直後	性的神經衰弱症
7	29	117.4	15.1	1.2	卅	直後	正常
8	28	107.2	24.1	2.5	卅	1	性的神經衰弱症
9	36	101.2	22.8	1.5	卅	直後	精液瘤
10	26	93.7	11.2	2.3	卅	1	正常
11	35	82.6	4.8	1.0	±	直後	不妊症
12	38	81.6	16.4	2.3	卅	1	正常
13	29	77.4	8.3	4.6	±	直後	血精液症
14	28	66.4	11.3	3.7	卅	1	正常
15	21	65.4	8.6	5.0	卅	4	正常
16	29	55.2	3.0	2.0	卅	直後	不妊症
17	26	54.2	4.3	2.5	卅	1	正常
18	31	47.0	8.1	3.1	卅	1	正常
19	27	31.9	5.8	5.5	卅	1	正常
20	40	29.2	4.5	1.5	卅	30'	不妊症
21	26	27.4	6.2	2.7	+	2	性的神經衰弱症
22	28	25.6	9.9	1.3	卅	1	正常
23	30	20.2	0	1.2	卅	3	不妊症
24	29	18.2	1.2	4.0	+	1	性的神經衰弱症
25	22	9.8	0.6	2.3	+	4	性的神經衰弱症
26	22	2.7	4.4	2.0	±	1	性的神經衰弱症
27	37	2.5	0.8	4.0	±	3	不妊症
28	38	0	0	4.2		直後	不妊症
29	36	0	0	4.5		直後	不妊症
30	32	0	0	1.2		1	兩側結核性 副睪丸炎
31	24	0	0	1.5		4	兩側淋菌性副 睪丸炎(治療)
32	33	0	0	2.4		直後	同上

検査例中の不妊症の症例について、考察を加えて見たい。不妊を主訴として訪れた患者の内、精液の検査を行うことの出来たのは 9 例である。各症例毎に簡単に述べる。

第 1 例、林某、34 歳、1948 年 4 月に結婚以來全然妊娠を見ない。妻は當大學婦人科にて正常と診斷された。陰性所見は凡て省略するが、目下肺浸潤といわれ安静療養中である。自宅にて精液を採取、約 3 時間後

に Hayem 氏液に混じて、4 時間氷室に放置して後に、Hdase を検した。精子数は 164,6000、半減時 $R_0=331$ 秒、活性度 $K=30.2$ 、精子数、活性度ともに検査例中、最大であるが、精子の運動性は非常に不活潑である。持参せる精液については、精子の大部分が尾部を動かすか、僅かに移動するのみであり、其後病院にて採取し、直後に検したるものにてても $3/4$ は活潑な運動を示さず不妊の原因はこの運動性にあると思われる。

第1圖

・ は不妊症々例

第11例、高山某、35歳、昭和17年に結婚、以来全く不妊、妻は當婦人科にて、軽度の子宮發育不全あるも妊娠には差支えなしと診断されている。病院にて精液を採取、直ちに實驗に供した。射精量 1.0g、精子数 82,600,000、半減時 $R_0=2100$ 秒、Hdase 活性度 4.8 で、精子数に比して、Kは小である。(第1圖参照)。又運動性も第1例程ではないが不活潑で、頭部、尾部を動かすのみで、全く運動性を示さぬものも $1/2$ は認められた。不妊の原因として、第1に Hdase の精子数に比しての減少、第2に精子運動性の不活潑、第3に妻の子宮發育不全があげられる。

第16例、佐々木某、29歳、昭和24年2月結婚、以後不妊妻は某開業産婦人科醫により正常と診断された。24年暮より本年初頭にかけて時折 Defekations prostaticorrhoe を見たという。病院にて採取、直後に検査、精子数 55,200,000、半減時 $R_0=3340$ 秒、活性度 $K=3.0$ 、運動性

は良好である。精子数は稍々少いが、それにも増して活性度は小である。然し、不妊期間は1年以内であるから不妊症の診断そのものにも疑義があり、不妊の原因を活性度のみを求めることは不當であるかも知れない。

第20例、岡本某、40歳。左側睾丸が著明に萎縮してゐる。原因は不明であるが、多分、先天性のものと思われる。25歳にして結婚、27歳、29歳の時に夫々健康な子女を得たが、以後不妊であるという。妻は右卵管に閉塞ありと某婦人科にて診断せられている。病院にて採取、30分後に Hayem 氏液と混じ、検査に供した。精子数 29,200,000、半減時 $R_0=2200$ 秒、活性度 $K=4.5$ 、運動性は良好である。精子数、活性度共に、稍々小であるが、精子缺乏症とは言い得ず、10年も前ではあるが舉子2人があることより、絶對的の不妊症とは言い得ない。第23例、井關某、37歳、30歳にして、結婚、以後不妊妻は某開業醫にて正常と診断されている。妻の訴えによれば、性慾、勃起力共に弱いようであるという。自宅にて採取し、3時間後に検査、精子数 2,500,000にて精子缺乏症であり、半減時に3時間も要し活性度も 0.8 で著明に低い。

第28例、福村某、38歳、28歳にして結婚、以後不妊、兩側睾丸が軽度に萎縮し、柔軟である。性慾は普通なりという。萎縮の原因は不明、妻は正常。精液中には精子も、Hdase も全然證明し得なかつた。

第29例、黒田某、36歳、32歳にして結婚、以後不妊、26歳の時、兩側睾丸部に打撲をうけ腫脹したことがあるという。兩側副睾丸尾部に強靱な結節がある。昨年11月、兩側の Epididymovasostomie をうけた。射精量は 4.5g で多量であるが、遠沈した沈渣にも精子は存在せず。Hdase も全く證明出来なかつた。

第23例、佐藤某、30歳、昭和23年1月に結婚、以後不妊、妻は某開業産婦人科醫にて正常といわれている。昭和11年、淋疾に罹患、應召中であつたので、軍醫により治療され、全治と診断されたことがある。結婚後4月の時に、妻が帶下が増加したので、開業醫に診を乞うた所子宮内膜炎と診断されたが、帶下中に鏡検では淋菌陰性なりといわれ、其際、患者も諸種の誘發方法をうけたが陰性に終つたという。

性器に異常なく、尿も清澄で異常物を認めない。外來にて精液を採取、直ちに検査に供した。精子数 2,023,000、運動性は非常に良好であり、白血球等の出現はない。Hdase を検査した所、全くその活性度は證明せられない。即ち $t=120$ 分(7200秒)に至るも、 t_1 は實驗1の t_0 と

差がなかつた。1,000,000を以て、精子缺乏症との境界とするならば、正常に分類すべきものであり、多いとは云い得ないが、此程度の數を以てして、妊娠に成功しておる例も多數あり運動性も活潑であることをも考えると、Hyaluronidase を含有しない爲の不妊症と考えられる例である。

考 按

睪丸若しくは、副睪丸の疾患、或いは原因の不明なるものでも、精液中に精子を發見し得なかつたものは論外として、32例の検査例中27例に精子を證明した。その内6例が不妊症と診斷されている。残りの21例中、第2, 3, 4, 7, 9, 12, 15, 19, 22例の9例は、既往歴により1年乃至5年以内に妊娠に成功している。この群を對照として、精子數, K, 精子數對Kの比等の算術平均を比較すると、第4表の如くなる。數においても、Kにおいても、比においても、對照例が2倍近く、若しくはそれ以上大である。

従つて、Hyaluronidase の不足による、不妊症例の存在を決定し得るのではあるまいか、特に第22例には精子數の正常に近く存するにもかかわらず、Hyaluronidase の活性度は證明されず、然も

この例は、全2年間不妊である。この症例は、かゝる推論に有力なる根據となり得るのではないだろうか。

第4表

	精 子 數	K	K: 精子數
不妊症例(6例平均)	59.1	7.22	0.122
對 照 例(9例平均)	99.6	24.44	0.245

結 論

1. 人精液の Hyaluronidase を定量し、精子數と Hyaluronidase の活性度とは大體に於て比例する事を知り、之が男子不妊症との關係を検討した。

2. 不妊症の症例は、對照に比して、活性度少く、1例には精子の存するにもかかわらず Hyaluronidase を證明し得なかつた。

3. 従つて、Hyaluronidase 不足による不妊症の型があることを推論し得る。

市川教授の御指導御校閲に對し深く感謝の意を表する。

文 獻

一括して續報にのせる。

Hyaluronidase の 研 究 (第3報)

抑制因子特に炎症と血中抑制因子との關係について

東京大學醫學部泌尿器科教室 助手 醫學士 齋 藤 豊 一
(主任 市川篤二教授)

STUDY ON HYALURONIDASE (III. REPORT. INHIBITOR, A FACTOR OF INHIBITING THE ENZYME WITH PARTICULAR REFERENCE TO RELATIONSHIP BETWEEN THE INFLAMMATION AND THE INHIBITOR IN THE BLOOD.)

Toyokazu Saito

From the Urology Department, Medical Faculty, University of Tokyo.

(Director: Prof. T. Ichikawa)

(本論文の要旨は第167回日本泌尿器科學會東京地方會に於て發表した。)

Hyaluronidase 抑制因子について

Duran-Reynals は睪丸抽出液で家兎を免疫して得た血清に痘苗及び睪丸抽出液を加えて皮内に注

射すると、炎症の進展は痘苗のみを注射した時と變化のない事、更に Hdase を靜脈内に注射すると速かに破壊されることを發見した。即ち Hdase