ヒト射精液中のトランスアミナーゼ

東京医科歯科大学泌尿器科教室 細 田 和 成
(主任: 横川正之教授)

TRANSAMINASE ACTIVITIES IN THE HUMAN EJACULATE

Kazushige Hosoda

Department of Urology, Tokyo Medical and Dental University School of Medicine, Tokyo

Transaminase activity in human ejaculates was measured by a colorimetric method of Reitman-Frankel. Unspecific enhancement of absorption at 505 m μ was observed by addition of 2,4-dinitrophenylhydrazine to the ejaculate. Therefore, control incubation with corresponding specimen itself appeared indispensable for determination of the enzyme activity in human ejaculate. The activity thus determined was designated as corrected activity (C.A.). Meanwhile, transaminase activity assayed with water blank as usually adopted for the determination of the activity in serum was designated as apparent activity (A.A.) in the present paper. Consequently, A.A. was higher than C.A.

C.A. and A.A. of GOT revealed a significant correlation ($r=0.75$, $p<0.001$) while no correlation was found between both values of GPT. Averages of GOT activity (C.A.) in human ejaculates were

305.6 ± 17.7 R.F. unit/ml ($n=16$) in normospermias,

116.8 ± 12.5 R.F. unit/ml ($n=30$) in oligospermias and

70.9 ± 7.3 R.F. unit/ml ($n=25$) in azospermias (mean $\pm$ S.E.).

While mean GPT activity in the ejaculate was 15.9 ± 2.4 R.F. unit/ml ($n=34$), which was similar to the normal level of serum. Furthermore, GOT activities showed a significant correlation to either sperm concentration (C.A. $r=0.87$ and A.A. $r=0.59$, $p<0.001$) or sperm motility (C.A. $r=0.32$, $p<0.05$). No such a correlation was recognized in GPT activity.

When each ejaculate was separated to seminal plasma and spermatozoa by centrifugation at 100xg for 5 minutes, approximately all GOT activity of each specimen were found to localize in the respective seminal plasma. The suspended spermatozoa in physiological saline contained extremely low GOT activity after washed three times with saline solution, which showed no correlations with the concentration of spermatozoa.

The results above indicate that the major part of GOT activity in human ejaculates would be supplied by the secretion of the seminal tract and not by spermatozoa. The presumption is also supported by the following result in the present study that very low GOT activity in the ejaculate of a castrated adult has obviously increased after androgen administration.

GOT activities in ejaculates were reduced to 44—80% after vasectomy. Therefore, it appears likely that the seminal tract proximal to the vas deference might play an important role in supplying the enzymes in ejaculates. All of accessory sexual organ tissues contained high GOT activities in comparison with those in bladder epithelium or smooth muscular tissue.

In conclusion, since investigations recently reported indicate that spermatogenesis is regulated by androgens as well as FSH, GOT activity in human ejaculates would be a good indicator for clinical evaluation of the quality of the ejaculate.

緒 言

射精液は、副性器からの外分泌液である精漿と精子とから構成されている。このうち精漿は、精子という細胞の代謝を支えているという点で特殊な役割をもっている

と言える。精漿中にはフルクトース、アミノ酸、脂質等が存在し、精子はこれらが種々の酵素の働きで代謝される際のエネルギーを利用している。したがって、射精液が充分な妊孕性を発揮するためには、精子の形成そのも

のが重要であることは言うまでもないが、射精後の精子を生存させ、その活動性を保つ環境をつくり、それを維持する精漿中の諸成分も不可欠と考えられる。この考え方から、妊孕性に富む“射精液の質”の要件を精漿の成分に求める研究がなされてきた。たとえば、射精液中の諸成分のうち、フルクトース¹⁾およびクエン酸濃度²⁾あるいは酸フォスファターゼ活性³⁾は、血中アンドロゲン濃度の変化に応じて消長することが知られており、すでに体内アンドロゲン活性の指標として利用されている。さらに“射精液の質”と関係あるものとしては、アミノ酸の種類とその含有量がある。たとえば、牛射精液中のアミノ酸の種類と量は、動物の性成熟度、年齢および精子濃度と関連して変化する⁴⁾ことが証明されており、ヒト射精中のアミノ酸量も正常の精子濃度を示す例と比較して、乏精子症や無精子症では各アミノ酸とも全体的に減少する傾向にあり、とくにアスパラギン酸とグルタミン酸では有意の差を示し、この2種類のアミノ酸量は精子運動率との間にも有意の関係がある⁵⁾という報告もある。また、射精液中のいろいろな酵素活性についても“射精液の質”との関連が知られている。LDH は、精液量⁶⁾、精子濃度⁷⁾および精子運動率⁸⁾と相関を示し、とくに LDH-V 分画は、無精子症患者の射精液中では乏精子症および正常の精子濃度を示すものの射精液にくらべ高い割合を占め⁶⁾、LDH-X 分画は、正常な射精液中には存在するが、無精子症患者の射精液中には存在しない⁶⁾⁸⁾という。また、LDH はアンドロゲン依存性に変動する⁹⁾という報告もある。この様に射精液中に存在する各種の酵素も“射精液の質”と密接な関係をもっていることが明らかにされている。

今回著者がその活性を測定したトランスアミナーゼは、生体内で α -ケトグルタル酸をアミノ基受容体として、グルタミン酸を生成するアミノ基転移酵素であり、非必須アミノ酸の同化および異化と密接な関係をもっている。とくに GOT は、正常の射精液中には血清中の正常値の約10倍の高濃度で存在しており¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾、またこれと男性ホルモンとの関連性を示唆する報告¹³⁾¹⁴⁾もみられることから、前述の酵素と同様またはそれ以上に“射精液の質”と明らかな関連があるのではないかと想定される。そこで、この研究では“射精液の質”を判定するうえで臨床的にも利用できる検査法であらうという観点から、射精液および副性器中に含まれるトランスアミナーゼ活性を測定し、これと“射精液の質”との関連性の有無を検索した。

被検対象と材料および検査方法

(1) 射精液

昭和39年1月から昭和50年1月の間に、不妊を主訴として当科外来を受診した患者148例、ならびに精管結紮を目的として受診した患者4例、計152例から得たものを用いた。

射精液は4日間の禁欲の後に外来において清潔なガラス容器に用手採取し、以下のように全射精液、精漿および精子浮遊液について検索した。

a) 全射精液

射精液は採取後約30分間室温で液化するのを待ち、総量、精子濃度、精子運動率および奇型率を測定した。残りは密封して採取後3時間以内に -20°C で凍結保存し、凍結後1カ月以内に室温で融解し、氷冷の生理食塩水で5あるいは10倍に稀釈して酵素活性を測定した。

b) 精漿と精子浮遊液

採取後3時間以内の射精液の一部を約 $100\times\text{g}$ で5分間遠心沈澱し、その上清を精漿として用いた。沈澱として得られた精子に精漿と等量の生理食塩水をピペットで吹きつけて再浮遊させ、これを再び遠心沈澱した。この操作で精子洗滌を3回行い、4回目に得られたものを精子浮遊液とした。この操作による精子の破壊は、光学顕微鏡下の観察では認められなかつた。精漿および精子浮遊液とも、分離直後あるいは -20°C で凍結保存後に室温で融解して酵素活性を測定した。

(2) 睪丸および副性器

睪丸組織は、未治療の前立腺癌患者2例より治療の目的で除睪したものを用いた。副性器ならびに膀胱平滑筋および膀胱粘膜は、未治療の膀胱癌患者3例に対して膀胱全摘除術を行つた際に得た組織を用いた。

これらの組織は、摘除直後に必要な量を分離し、 -20°C で凍結保存した。酵素活性測定に際しては、組織を秤量後、凍結の状態で細切し、氷冷の生理食塩水を加えユニバーサルホモジナイザー（日本精機 HA 型、無負荷 $20,000\text{r.p.m.}$ ）でホモジネートし、氷冷のローターを用いて $10,000\times\text{g}$ で20分間遠心沈澱し、その上清を適宜生理食塩水で稀釈して酵素源として用いた。

(3) GOT および GPT 活性測定法

Reitman-Frankel¹⁵⁾の方法を用いた。

a) 試薬の調製および検量線

基質液(GOT ; 2mM α -ケトグルタル酸および 200mM DL-アスパラギン酸を含む 0.1M 磷酸緩衝液、 pH 7.4, GPT ; 2mM α -ケトグルタル酸および 200mM DL-アラ

第1表 検量線作製法

試験管 No.	1	2	3	4
2mM ビルビン酸 (ml)	0	0.1	0.2	0.3
基質液 (ml)	1.0	0.9	0.8	0.7
水 (ml)	0.2	0.2	0.2	0.2
ビルビン酸量 (μM)	0	0.2	0.4	0.6
α-ケトグルタル酸量 (μM)	0.2	1.8	1.6	1.4
酵素活性 (R.F. unit/ml)	GOT	0	24	60
	GPT	0	26	58

各試験管に 2,4-dinitrophenylhydrazine (1 mM/1N-HCl) 1.0 ml を加え、室温に20分放置後、0.4N-NaOH 10ml を加えて発色させ、室温に30分放置後に 505 mμ にて吸光度を測定。No. 2 以下の各試験管の吸光度から No. 1 の試験管の吸光度を差引き、酵素活性を縦軸に、吸光度を横軸にとつて検量線を作製した。

第2表 射精液と 2,4-dinitrophenylhydrazine による非特異的発色

ブラックとして用いた検体	例数	吸光度*** (平均±標準誤差)
射精液*	36	0.20 ± 0.01
生理食塩水**	3	0.15 ± 0.01

t = 2.632, p < 0.05
* : 2倍希釈 ヒト射精液 0.2ml + 生理食塩水 1.0ml
1mM 2,4-dinitrophenylhydrazine の 1N-HCl 溶液 1.0ml を加え、直ちに発色せしめた。
** : 生理食塩水 0.2ml + 基質液 1.0ml を同様にして発色せしめた。
*** : 吸光度測定は 505 mμ で行つた。

ニンを含む 0.1M 磷酸緩衝液, pH 7.4) および基準液 (2mM ビルビン酸を含む 0.1M 磷酸緩衝液, pH 7.4) を調製後冷蔵して30日以内に用いたが、実験の後半では市販の栄研トラスキット (栄研 K.K.) を用いた。

検量線は、第1表の如く 2mM ビルビン酸溶液と基質液 (2mM, α-ケトグルタル酸) との組合せを作製し、各々に 2,4-ジニトロフェニールヒドラジン 1.0ml を加て発色させてその吸光度を測定し、No. 1 の吸光度を No. 2 以下の各々の吸光度から差引いたものを横軸にとり、酵素活性を縦軸にとつて作製した。

b) ヒト射精液の非特異的発色反応

第2表に示す如く、ヒト射精液は 2,4-ジニトロフェニールヒドラジンと反応して対照の生理食塩水に対し 505 mμ において有意な吸光度の増加を示す。このヒト射精液の非特異的発色反応は、第3表に示すように 37℃ で60分間インキュベーションを行つても有意の変化を示さない。また、第4表に示すようにヒト射精液にビルビン酸を加えてインキュベーションを行つても吸光度の変化は

第3表 射精液の非特異的発色に対するインキュベーションの影響

症 例	1	2	3	4
精子濃度 (× 10 ⁷ /ml)	0	2.6	3.6	13.8
インキュベーション (-)	0.10	0.38	0.47	0.24
インキュベーション (+)	0.07	0.41	0.47	0.25

検体 0.2ml に 1.0ml の生理食塩水を加え、直ちにあるいは 37℃, 60分のインキュベーションの後に、2・4-dinitrophenylhydrazine を加えて発色せしめ吸光度を測定した。他の条件については第2表参照。

第4表 射精液によるビルビン酸の乳酸への変換の可能性の検討

症 例	1	2	3	4
精子濃度 (× 10 ⁷ /ml)	0	2.6	3.6	13.8
インキュベーション (-)	0.63	0.70	0.71	0.65
インキュベーション (+)	0.62	0.74	0.69	0.63

検体 0.2ml に 2mM ビルビン酸 1.0ml を加え、直ちにあるいはインキュベーション後に 2・4-dinitrophenylhydrazine を加えて発色せしめ吸光度を測定した。同様の操作を生理食塩水 0.2ml を用いて行つた場合の吸光度は、0.55 であつた。他の条件については、第2,3表参照。

認められないことから、ここで用いた条件下では、ビルビン酸がヒト射精液によつて乳酸に変換される可能性はない。

c) ヒト射精液中の GOT および GPT 活性測定法ならびにその表示

上述のごとく、ヒト射精液中には、2,4-ジニトロフェニールヒドラジンと反応してヒドラゾンを生成すると推定される物質が含まれるため、ヒト射精液中の GOT および GPT 活性測定に際しては、血清の場合と異り、各検体ごとにその検体を用いた対照を置く必要がある。そこで、ヒト射精液中の GOT および GPT 活性測定は、第1図に示したような操作で行つた。以下、血清の場合と同様にして測定した活性値を Apparent Activity (A.A. と略す)、射精液自身を加えた対照を置いて求めた活性値を Corrected Activity (C.A. と略す) と呼ぶことにする。

なお、Karmen¹⁶⁾ は酵素活性の単位を 340mμ において吸光度 0.001/min. の変化をもつて 1 Karmen 単位としている。ここでは、この変法である Reitman-Frankel¹⁵⁾ 法を用いて酵素活性を測定したので Reitman-Frankel 単位で表示したが、この単位は Karmen 単位と同等のものと考えてよい。また酵素活性値は、被検液 1ml 中に

第1図 ヒト射精液中のトランスアミナーゼ活性測定法

X-B₁ あるいは X-B₂ の値を Reitman-Frankel 法にしたがい、0.2mM ピルビン酸溶液を用いた検量曲線により Reitman-Frankel 単位に換算する。X-B₁ および X-B₂ から求めた値を各々 Corrected Activity (C.A.), Apparent Activity (A.A.) とした。

含まれる活性をもつて示した。

d) 組織中の GOT および GPT 活性測定法ならびにその表示

組織中の GOT および GPT 活性測定に際しては、ヒト射精液にみられるような非特異的発色は認められなかつたが、ヒト射精液の場合と同様に検体自身を対照に置いて測定し、組織 1g 中に含まれる活性をもつて示した。

e) 組織より調製した酵素溶液中に含まれる蛋白量の定量

蛋白の定量は、Lowry ら¹⁷⁾の方法で測定し、検量線は牛アルブミン溶液を用いて作製した。

検索成績

(1) C.A. および A.A. の相関性

a) GOT

第2図に示す如く、A.A. 値が検量線の範囲をこえた24検体を除く132検体のC.A. 値とA.A. 値は、互いに極めて高い相関を示した ($p < 0.001$)。また血清中の GOT 活性の正常値に比べ高値を示した。

b) GPT

C.A. 値と A.A. 値との間には、有意の相関は認められず (第3図)、C.A. 値は 15.9 ± 2.4 R.F. unit/ml ($M \pm S.E.$, $n=34$) で、血清中の正常値の範囲内であつた。

(2) 精子濃度と GOT および GPT 活性

第4図 a. b. に示すように、GOT の C.A. および A.A. 値は、ともに精子濃度との間に有意の相関を示した (ともに $p < 0.001$)。しかし、精子濃度に対する相関

第2図 ヒト射精液中の C.A. と A.A. との関係 (GOT)

C.A. と A.A. とは高い相関 ($p < 0.001$) を示す。〜線外の検体の測定値は、A.A. 測定時検量曲線の範囲をこえた24検体のもので、回帰直線および相関係数の計算からは除外してある。

第3図 ヒト射精液中の C.A. と A.A. との関係 (GPT)

C.A. と A.A. とは、相関を示さない ($p > 0.05$)。

は、C.A. 値の方が A.A. 値よりも高い。第5表は、臨床的に用いられる精子濃度の区分にしたがつて症例を4群に分け、各々の群の C.A. 値 (総例71例) および A.A. 値 (総例86例) の平均値を求めたものであるが、やはり精子濃度と GOT 活性値との相関性を裏づけている。また、その平均値はいずれも血清中 GOT 活性の正常値よりもはるかに高い値を示している。

一方、第5図に示すように精子濃度と GPT 活性値 (C.A. 値) との間には、有意の相関は認められなかつ

第5表 精子濃度と GOT 活性

精子濃度 (×10 ⁷ /ml)		>6	6> >4	4> >0	0
GOT 活性 (R. F. unit/ml)	A. A.	385.1 ± 22.5 ^a n = 7	291.3 ± 82.0 ^{ab} n = 3	237.7 ± 12.4 ^b n = 36	185.2 ± 12.9 ^c n = 40
	C. A.	305.0 ± 17.7 ^a n = 16	236.5 ± 59.5 ^a n = 4	98.4 ± 6.4 n = 26	70.9 ± 7.3 ^c n = 25

射精液を精子濃度によつて分類し、各群ごとにその GOT 活性の平均±標準誤差を示した。数値に附記した、a,b,c、が異なる場合その平均値は互いに有意差 (p<0.05) であることを示す。

第4図a 無処置患者の射精液中の GOT 活性と精子濃度 (G.A と精子濃度)

回帰直線 A および B は、それぞれ無精子症を除いた場合と全症例を含めた場合のものを示す。A についても、B についても GOT 活性値と精子濃度との間には、有意の相関 (p<0.001) が認められる。

た。

(3) 精子運動率と GOT および GPT 活性

GOT 活性値 (C.A. 値) についてのみ、精子運動率との間に有意の相関が認められ (第6図 a, p<0.02), GPT 活性値 (C.A. 値) と精子運動率との間には相関は認められなかつた (第6図 b)。

第4図b 無処置患者の射精液中の GOT 活性と精子濃度との関係 (A.A と精子濃度)

回帰直線 A および B については、第4図a の脚注を参照。A、B 両者とも GOT 活性値 (A.A) と精子濃度との間には、有意の相関が認められる。なお、～外の検線体の測定値については、第4図a の脚注を参照。

(4) 射精液中での GOT 活性の局在

第6表に示す如く、新鮮な射精液を遠心沈澱すると、一回の分離で射精液中の GOT 活性 (C.A.) の大部分は、上清の精漿中に移行する。全射精液中および精漿中の各々の GOT 活性値 (C.A. 値) の関係をみると、両者は近似の値をとり、両者の間には極めて高い相関が認

第5図 無処置患者の射精液中の GPT 活性 (C.A) と精子濃度との関係

回帰直線 A および B については、第4図aの脚注を参照。Aについても、Bについても GPT 活性値 (C.A) と精子濃度との間には、有意の相関は認められない ($p>0.05$)。

められた ($p<0.001$, 第7図)。また、精子の洗滌を3回くり返すと、精子洗滌液中の GOT 活性はほとんど認められなくなる (第6表)。そこで精子洗滌を3回くり返した後に作製した精子浮遊液について GOT 活性を調

第6表 全射精液、精漿および精子洗滌液中の GOT 活性 (C.A : R.F. unit/ml)

全射精液	精漿	第1回洗滌液	第2回洗滌液	第3回洗滌液
120	86	6	0	3
304	304	12	0	1
188	190	0	4	1
128	98	8	0	3

全射精液を $100 \times g$ で5分間遠心沈澱し、沈澱として得られた精子を精漿と等量の生理食塩水中に浮遊せしめる。これを遠心沈澱して得られた上清を第1回洗滌液とした。同様の操作をくり返し第2、第3回洗滌液を得た。

べたが (第7表)、精子濃度に関係なく極めて低い活性しか検出できなかったし、精子濃度と GOT 活性値との間にも有意の相関は認められなかった。

(5) 精管結紮術前後における射精液中の GOT 活性
精管結紮術を行つた4例を対象に手術前後の射精液について GOT 活性値を測定すると、第8表に示すように、術後では術前の44~80%の活性値しか認められず、有意に減少している ($p<0.001$)。

(6) 睪丸および副性器の組織中の GOT および GPT 活性

第9表、第10表に睪丸、精管、精管膨大部、精囊、前立腺、膀胱平滑筋および膀胱粘膜の組織中の GOT および GPT 活性値を示した。GOT 活性値は、組織重量あたりでみると、睪丸および副性器では膀胱平滑筋および

第6図 無処置患者の射精液中のトランスアミナーゼ活性 (C.A) と精子運動率との関係 (a : GOT b : GPT)

GOT 活性値については、精子運動率との間に有意の相関 ($p<0.02$) が認められるが、GPT 活性値では、有意の相関は認められない ($p>0.05$)。

第7図 射精液中の GOT の局在—全射精液および精漿中の GOT 活性 (C.A.) —

両者の GOT 活性値の間には、有意の相関(p<0.001)が認められる。

第7表 精子浮遊液中の GOT 活性 (C.A.) と精子濃度

精子濃度 (× 10 ⁵ /ml)	精子浮遊液中の GOT 活性値 (R.F. unit/ml)
6	4
40	4
64	6
231	6
600	0
650	16
750	12

第6表の成績にもつき、精子を3回洗滌したのち生理食塩水中に再浮遊せしめ GOT 活性を測定した。精子濃度と精子浮遊液中の GOT 活性値との間には、有意の相関は認められない。

第8表 精管結紮術前後の射精液中の GOT 活性値 (C.A.)

症 例	GOT (R.F. unit/ml)	
	術 前	術 後
1	585	465
2	280	125
3	295	180
4	240	106

射精液は、術後4週以上経過してから4日間禁欲した後採取し、検鏡で無精子であることを確認した。術前、術後での GOT 活性値の間には有意の減少が認められる (p<0.001)。

膀胱粘膜にくらべ高い活性値を示し、特に精管膨大部では著しく高い活性を示した。蛋白あたりの活性値でも、組織重量あたりの活性値と同様に睾丸および副性器では膀胱平滑筋および膀胱粘膜にくらべて高値を示し、膀胱平滑筋の活性値に対する比率では、組織重量あたりの場合よりも高い比率を示した。また、GPT 活性値も組織重量あたりでも、蛋白あたりでも、睾丸を除き副性器では膀胱平滑筋および膀胱粘膜よりも高い活性値を示した。

(7) 除睾患者の射精液中の GOT 活性と男性ホルモン投与による変化

第9表 睾丸および副性器の組織中の GOT 活性値

症例	睾丸	精管	精管膨大部	精囊	前立腺	膀胱平滑筋	膀胱粘膜
1	1560* (35.4)**						
2	3200 (64.0)						
3			4500 (—)	1990 (—)	3620 (82.3)	1480 (30.2)	920 (—)
4		2000 (74.1)	4500 (236.8)	1650 (59.0)	2750 (64.3)	920 (18.0)	
5			3750 (81.5)	2250 (50.0)	2250 (50.9)		

* : R.F. unit/g wet tissue, ** : R.F. unit/mg protein
症例については本文の被検対象参照。

第10表 睾丸および副性器の組織中の GPT 活性値

症例	睾丸	精管	精管膨大部	精囊	前立腺	膀胱平滑筋	膀胱粘膜
1	240* (5.5)**						
2	180 (5.6)						
3			520 (—)	430 (—)	360 (8.2)	230 (4.7)	170 (—)
4		350 (12.9)	375 (19.7)	375 (13.3)	350 (8.0)	220 (4.4)	
5			250 (5.4)	350 (7.8)	375 (7.0)		

*, **, および症例については、第9表参照。

第8図 除睾患者 (29才) の射精液中の GOT 活性に対する男性ホルモン投与の効果

X ; Testosterone enantate 投与直前の射精液中の GOT 活性値

XX ; Testosterone enantate 投与翌日の射精液中の GOT_翌活性値

偶発的事故のため、止むを得ず除臍された正常男子について調べた結果は、第8図に示すように、射精液中の GOT 活性値 (A.A. 値) は極めて低いが、テストステロン・エナンテートを投与すると著明な増加がみられた。しかし、正常レベルには至らなかった。

考 按

第Ⅲ章に記載した各種の検索成績をもとに、以下の項目について若干の考察を試みることにする。

(1) 測定法の検討

ケト酸は糖代謝の中間代謝産物で、血清や組織中には普通存在しない。しかし、精子が糖代謝を行う¹⁸⁾ことからすれば、ヒト射精液中にケト酸が存在する可能性があり、事実ピルビン酸が存在するという報告¹⁹⁾がある。

そこで第2表に示すように、射精液 0.1ml (2倍稀釈液 0.2ml) を直ちに発色させると、その吸光度は 505m μ で 0.20 ± 0.01 (M $\pm$ S.E. n=36) であり、基質液 (2mM α -ケトグルタル酸溶液) 1.0ml を同様にして発色させた際の 505m μ における吸光度 0.15 ± 0.01 (M $\pm$ S.E. n=3) に対して、有意の差が認められた ($p < 0.05$)。したがって、ヒト射精液中にはヒドラジンと反応してヒドラゾンを生成する物質 (ケト酸) が含まれることがわかる。このケト酸の種類は不明であり、またケト酸の種類によつてヒドラゾンの生成速度も異なるので²⁰⁾、射精液中の実際の濃度も定め難い。

一方、射精液中のこのケト酸の濃度がトランスアミナーゼ活性測定の際のインキュベーションによつて変動するとか、基質から生成されたケト酸が、インキュベーション中に更に代謝されたりする可能性もあるので、第3表および第4表に示した実験を行つたが、これらの可能性は否定された。

したがって、血清の場合には水を対照として吸光度を測定しているが、ヒト射精液の場合には、水の代りに各検体ごとにその検体を対照にとることによつて実際のトランスアミナーゼ活性を測定できると結論された。

(2) C.A. と A.A. との関係

GOT の C.A. と A.A. とは、第2図の如く $r = 0.75$ で有意の相関を示している ($p < 0.001$)。これは射精液中の GOT 活性がもともと高いので、射精液中に存在するケト酸の吸光度に対する影響が少いためと考えられる。このように、C.A. と A.A. とは有意の相関を示すので、臨床上 GOT 活性の消長をみるうえでは A.A. を便宜上用いることも可能といえる。従来文献では、射精液中の GOT、GPT 活性測定法は単に血清の場合に準ず

るという記載しかないものが大部分^{10) 11) 12) 13)}である。しかし、これらの値は本論文での A.A. 値にほぼ一致するので、精子濃度との関係、ホルモンによる影響などの成績については、これらの文献も引用した。GPT の C.A. と A.A. との間には、第3図に示すように、有意の相関は認められなかった。これは、射精液中の GPT 活性がもともと低いので、射精液中に存在するケト酸の吸光度が全体の吸光度の大部分を占めたためと考えられる。したがって、GPT 活性については C.A. 値についてのみ検討した。

(3) GOT および GPT 活性値

全症例の射精液中のトランスアミナーゼ活性値を平均すると次のような値であつた (平均 $\pm$ 標準誤差)。

GOT ; C.A. 142.0 ± 12.7 R.F.unit/ml n=71

A.A. 224.9 ± 10.4 R.F.unit/ml n=86

GPT ; C.A. 15.9 ± 2.4 R.F.unit/ml n=34

これら射精液中のトランスアミナーゼ活性値の平均を血清の場合の正常値 (GOT : 40 R.F.unit/ml 以下, GPT : 35 R.F.unit/ml 以下) と比較すると、GOT では C.A. で約3.5倍、A.A. で約6倍と高値を示すのに対し、GPT では血清の場合の正常値の範囲内の活性値を示している。

これらの症例のうち、精子濃度が 6×10^7 /ml 以上の16例についての平均値は、GOT では C.A. で 305.6 ± 17.7 R.F. unit/ml, A.A. で 385.1 ± 22.5 R.F. unit/ml であり、日本人の射精液中の GOT 活性値の正常値は、この水準にあると想定される。この値は Povoa and Villela¹⁰⁾ の 365 ± 170 R.F. unit/ml (10例), Searcy et al.¹¹⁾ の 346 R.F. unit/ml (10例) (ともに補正についての記載がなく、本論文の A.A. 値に相当すると思われる)、あるいは Eliasson²¹⁾ の 321 ± 85 R.F. unit/ml (417例, Sigma-Frankel unit/ml は、R.F. unit/ml にほぼ等しい) という平均値に近い。しかし、Joël and Herzberg²²⁾ の 122.6 ± 59.7 R.F. unit/ml という値とは少々異なる。

一方、GPT (C.A. 値) の精子濃度 6×10^7 /ml 以上の8例の平均値は 21.5 ± 4.2 R.F. unit/ml で Eliasson²¹⁾ のだした40例の平均値 30 ± 3.15 R.F. unit/ml に近い。

(4) 射精液の質とトランスアミナーゼ活性

射精液の質を判定する指標として、精子濃度および精子運動率は最も重要なものである。この2つの指標と射精液中の GOT あるいは GPT 活性値との相関をみると、GPT 活性値については何等相関を認めなかった (第5図および第6図 b)。しかし、GOT 活性値と精子濃度との間には有意の相関が認められた ($p < 0.01$, 第4

図 a, b), この射精液中の GOT 活性値と精子濃度との相関は、我々²³⁾もすでに報告しているが、ヒト^{10) 11) 12) 13) 22)}についても牛^{24) 25) 26)}についても認められている。

また、第 6 図 a. に示したように、精子運動率と射精液中の GOT 活性値 (C.A. 値) との間にも有意の相関が認められたが ($p < 0.002$), これは牛²⁵⁾でも認められている。

(5) GOT 活性の局在 (射精液, 精漿, 組織)

全射精液を低速の遠心沈澱で精子と精漿とに分け、各々の GOT 活性値を測定してみると、全射精液中の GOT 活性値と精漿中の GOT 活性値は互いに近似の値を示す (第 6 表および第 7 図). これに反して、3 回の精子洗滌によって精漿の影響を取り除いたと考えられる精子浮遊液の GOT 活性値は極めて低く、全射精液中のそのほぼ 1/20~1/30 であった (第 7 表). また、無精子症患者でもその射精液中の GOT 活性値がかなり高い値を示す例もある (第 4 図). 以上の成績は、ヒト射精液中の GOT 活性は主に精漿中に存在しており、精子に由来するものではないことを示している。

一方、牛の射精液についてはヒトとは異なる知見が報告されている。すなわち、牛射精液を精漿と精子とに分けると、両者はほぼ同等の GOT 活性を示す²⁵⁾。さらに精漿中の GOT 活性値は、ヒトの場合と同じく精子濃度と有意の相関を示すが、精子由来の GOT 活性は、精子の破壊によって遊出し、その単位容積あたりの活性値は精漿中のそれよりも高い²⁴⁾という。また射精液を高速遠心沈澱あるいは凍結して精子を破壊すると、射精液中の GOT 活性は精子破壊の程度に応じて増伸する²⁶⁾という。したがって、射精液中の GOT 活性の局在については、種差があるものと想定される。

上述のごとく、ヒト射精液中の GOT は主に精漿中に存在する。精漿は主として前立腺分泌液および精囊分泌液から成り、これに少量の副睾丸分泌液、尿道分泌液あるいは睾丸網からの分泌液が混じったものと考えられる。精管結紮術後の射精液中の GOT 活性が、術前のその 44~80% に減少することからすると、精管より近位* すなわち副睾丸あるいは睾丸網からの分泌液中には非常に高濃度の GOT が含まれていると想定される。ヒト副睾丸の分泌液について直接測定した成績はないが、牛の副睾丸液を採取して GOT 活性を測定する

と、高い活性が認められる²⁷⁾。また、ホルスタイン種の牛の副睾丸の 3/4 を切除して断端を結紮すると、その射精液中に検出される GOT 活性は、術前の 1/30~1/40 になる²⁸⁾という。精管より遠位の副性器からの分泌液に含まれる GOT の局在についての検索は、本実験では行わなかったが、射精直後には寒天状の精囊分泌液と液状である前立腺分泌液を冷却遠沈して分離し、各々の GOT 活性を測定すると後者に高い活性が認められている²⁹⁾。また、分画射精法によつて射精液を 3 分して各々の GOT 活性を調べると、前立腺分泌液に相当する部分に最も高い活性を認めた²⁹⁾という。射精液中で前立腺分泌液が占める割合を考えると、精管より遠位の副性器に由来する GOT の分泌源としては、ヒトでは前立腺が大きな役割を演じているものと考えられる。

睾丸および副性器である前立腺、精囊、精管、精管膨大部などの組織中の GOT 活性をみると、いずれの組織でも対照として測定した膀胱平滑筋および膀胱粘膜よりも高濃度に GOT を含むことは明らかである。特に精管膨大部および前立腺に GOT 活性が高値に認められることは、前述の前立腺分泌液が高い GOT 活性を示すという成績^{28) 29)}を裏づけるものといえる。また、前立腺組織中に GOT が多く含まれることは、ラット³⁰⁾、イヌ³²⁾、ヒト³²⁾でも知られている。

(6) GOT 活性とホルモン依存性

このように射精液中の GOT 活性のかなりの部分が副性器に由来するとすれば、この GOT 活性は男性ホルモン依存性であることが想定される。実際、第 8 図に示したごとく、性成熟後に除睾術を受けた男子の射精液中の GOT 活性は、テストステロン・エンタート投与によつて増強するし、精路の閉塞性病変による無精子症患者の射精液中の GOT 活性は高い値を示す¹³⁾ということも、射精液中の GOT 活性は男性ホルモン依存性に消長することを示唆している。また、ラットの前立腺前葉、精囊組織中の GOT 活性は、男性ホルモン依存性である¹⁴⁾という事実も、射精液中の GOT 活性が男性ホルモン依存性に消長することの 1 つの傍証であろう。

以上述べたように、射精液中の GOT 活性が精子濃度とよく相関し、しかも男性ホルモン依存性に消長するという知見は、ヒト造精機能障害に FSH のみならず LH-テストステロン生成系が関係していることを示唆している。実際、FSH レベルが乏精子症、無精子症の患者で高値をとること^{33) 34) 35) 36) 37) 38) 39) 41) 42)}はよく知られているが、造精機能障害があると FSH のみならず LH

* 精子移送の方向にしたがって、ある部分より上流をそれより近位下流をそれより遠位と表現した。

も高値をとり^{32) 34) 39) 41) 42)}、テストステロン値は低下する^{34) 37) 40) 42)}という報告もある。したがって、造精機能障害患者における射精液中の GOT 活性の低下は、間脳一下垂体—性腺系の乱れの総合的な現れということができよう。

まとめ

射精液の質を判定する指標の1つとして、ヒト射精液中のトランスアミナーゼ活性値を Reitman-Frankel 法によつて測定し、その成績を検討した結果は、以下のようによつてまとめることができる。

(1) ヒト射精液中には、2,4-ジニトロフェニールヒドラジンと非特異的発色反応を呈する物質が存在する。したがって、ヒト射精液中のトランスアミナーゼ活性測定に際しては、血清の場合と異り各検体ごとにその検体自身を対照として置く必要がある。この様にして求めた活性値を Corrected Activity (C.A.) と呼び、血清の場合と同様にして測定した値を Apparent Activity (A.A.) と呼ぶことにした。

ヒト射精液中のトランスアミナーゼ活性値は、次のような値を示した。

GOT ; C.A. 142.0 ± 12.7 R.F.unit/ml $n=71$

A.A. 224.9 ± 10.4 R.F.unit/ml $n=86$

GPT ; C.A. 15.9 ± 2.4 R.F.unit/ml $n=31$

GOT は、血清の正常値の約4倍の高値をとるが、GPT は血清の正常値のレベルにある。A.A. は C.A. にくらべて当然高値をとるが、GOT では両者の間に極めて高い相関が認められた ($p < 0.001$)。これに反して、GPT の場合には A.A. と C.A. との間には相関は認められず、射精液中の GPT 活性が低いために射精液中の非特異的発色反応の吸光度が大きく影響していることを示した。

(2) 射精液の質とトランスアミナーゼ活性値との関係をみると、GOT は精子濃度と C.A., A.A. とも有意の相関を示し (ともに $p < 0.001$)、精子運動率とは C.A. のみが有意の相関を示した ($p < 0.02$)。GPT では、精子濃度、精子運動率の両者とも相関を示さなかつた。

(3) 全射精液を遠心沈澱して精漿と精子とに分離し、各々の GOT 活性を調べると、全射精液および精漿中の活性値はほぼ近似の値を示し、極めて高い相関を示した ($p < 0.001$)。一方、精子を生理食塩水で3回洗滌して精漿の影響を取り除いた後に作製した精子浮遊液中の GOT 活性は、極めて低い値しか示さず、精子濃度とも何等相関を認めなかつた。したがって、ヒト射精液中

の GOT 活性は、主として精漿中に局在していると考えられた。

精管結紮術の前後で射精液中の GOT 活性を測定すると、術後での活性値は術前の44~80%に減少している。即ち、精管より近位の精路分泌液は高濃度に GOT を含むが、精管より遠位の副性器からの分泌液に GOT の過半が由来していると想定された。

また、睾丸および副性器の組織中の GOT 活性は、対照とした膀胱平滑筋および膀胱粘膜にくらべ高値を示し、そのうちでも精管膨大部および前立腺に特に高い活性が認められた。

(4) 性成熟後に両側除睾丸をうけた男子では、射精液中の GOT 活性値は極めて低かつたが、アンドロゲン投与によつて活性値の増加がみられた。

(5) このように、射精液中の GOT 活性は造精機能とよく相関する反面、男性ホルモン依存性にその活性の消長がみられる。これは、造精機能に対して FSH のみならず LH-アンドロゲン産生系というライディッシュ細胞機能も深く関連しているという最近の知見を裏づけるとともに、ヒト射精液中の GOT 活性は射精液の質を総合的に評価するのに有用な指標の1つとして臨床的に用いることを示している。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲をいただいた恩師落合京一郎教授、横川正之教授ならびに御指導、御協力いただいた大島博幸講師に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Mann, T. and Parsons, U.: Studies on the metabolism of semen. *Biochem. J.*, **46**, 440—450, 1950.
- 2) Humphrey, G.F. and Mann, T.: Studies on the metabolism of semen. *Bioch. J.*, **44**, 97—105, 1949.
- 3) Raboch, J. and Homolka, J.: Acid phosphatases in the ejaculate of men with disturbances of somatosexual development. *Fertil. & Steril.*, **12**, 368—374, 1961.
- 4) Hopwood, M.L. and Gassner, F.X.: The free amino acids of bovine semen. *Fertil. & Steril.*, **13**, 290—303, 1962.
- 5) 吉田英機, 今村一男, 赤坂 裕, 佐藤永雄, 飯島武, 甲斐祥生: 男子不妊症の研究. 人精液中の遊離アミノ酸 (第1報), 日本不妊会誌, **17**, 84, 1972.
- 6) Ishibe, T., Matsuki, S. and Nihira, H.: Relationship between lactic dehydrogenase activity and other enzyme activities of human

- seminal plasma. Hiroshima Journal of Medical Sciences., **20**, 215—222, 1971.
- 7) MacLeod, J. and Wroblewski, F.: Lactic dehydrogenase activity in human semen. *Proc. Exp. Biol. Med.*, **99**, 265—267, 1958.
 - 8) Moon, K.H. and Bunge, R.G.: Lactate dehydrogenase isozyme patterns in pre- and postvasectomy seminal plasma. *Invest. Urol.*, **6**, 223—226, 1968.
 - 9) Grayhack, J.T. and Kropp, K.: Changes with aging in prostatic fluid.: Citric acid, acid phosphatase and lactic dehydrogenase concentration in man., *Transactions American Association of Genito-Urinary Surgeons.*, **56**, 6—11, 1964.
 - 10) Povia, H. and Villela, G.G.: Transaminase in seminal plasma of man. *Experimentia.*, **16**, 199, 1960.
 - 11) Searcy, R.L., Craig, R.G. and Bergquist, L.M.: Levels of transaminases in human seminal plasma. *Lancet.*, **1**, 1413, 1962.
 - 12) Povia, H.: Transaminases in human semen. *Invest. Urol.*, **2**, 1—6, 1964.
 - 13) 志田圭三, 島崎 淳, 古谷信雄, 田谷元佑: 男子不妊症の精液内化学成分の研究. 日本不妊会誌, **16**, 217—223, 1971.
 - 14) Awapara, J.: The influence of sex hormones on the transaminases of the accessory sex organs of the male rats. *Endocrinology*, **51**, 75—79, 1952.
 - 15) Reitman, S. and Frankel, S.: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Path.*, **28**, 56—63, 1957.
 - 16) Karmen, A.: A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxalacetic transaminase in human blood serum. *J. Clin. Invest.*, **34**, 131—133, 1955.
 - 17) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Faar, A.L. and Randall, R.J.: Proteoin measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265—275, 1951.
 - 18) Mann, T.: The biochemistry of semen of the male reproductive tract. p. 266—272, Methuen & Co. Ltd., 1960.
 - 19) Rhodes, J.B. and Williams-Ashman, H.G.: Oxidizing enzymes in human seminal plasma. *Med. Exp.*, **3**, 123—134, 1960.
 - 20) 香月裕彦 編: 生化学の領域における 光電比色法. 各 11, 95—104, 1959, 南江堂.
 - 21) Eliasson, R.: Transaminase in human semen. *J. Reprod. Fertil.*, **14**, 387—392, 1967.
 - 22) Joel, C.A. and Herzberg, M.: Glutamic-oxalacetic transaminase in human semen and reproductive organs. *J. Reprod. Fertil.*, **10**, 185—188, 1965.
 - 23) 大島博幸: 精液中のトランスアミナーゼについて. 日本不妊会誌, **11**, 85—86, 1966.
 - 24) Flipse, R.J.: Metabolism of bovine semen. IX. Glutamic-oxalacetic and glutamic-pyruvic transaminase activities. *J. Dairy Sci.*, **43**, 773—776, 1960.
 - 25) Roussel, J.D. and Stallcup, O.T.: Parallelism between semen characteristics and glutamic-oxalacetic transaminase, and glutamic-pyruvic transaminase activities. *J. Dairy Sci.*, **48**, 1684—1687, 1965.
 - 26) Pace, M.M. and Graham, E.F.: The release of glutamic oxalacetic transaminase from spermatozoa as a test method of assessing semen quality and fertility. *Biology of Reproduction.*, **3**, 140—146, 1970.
 - 27) Stallcup, O.T., Brown, C.J. and Cole, W.T.: Lactic dehydrogenase and transaminases in bovine epididymal fluid. *J. Reprod. Fertil.*, **15**, 317—319, 1968.
 - 28) 志田圭三, 島崎 淳: 雌性副性器の生化学的検討. 日本不妊会誌, **16**, 92, 1971.
 - 29) 石川博義, 東福寺英之: 分画射精法による射精液中酵素活性について. 日泌尿会誌, **62**, 792, 1971.
 - 30) Awapara, J. and Seal, B.: Distribution of transaminases in rat organs. *J. Biol. Chem.*, **194**, 497—502, 1952.
 - 31) Barron, E.S.G. and Huggins, C.: The metabolism of the prostate.: Transamination and citric acid. *J. Urol.*, **55**: 385—390, 1946.
 - 32) Wide, L. and Kjessler, B.: Urinary excretion of interstitial cell stimulating hormone and sperm concentration in 219 males. *Acta Endocrinologica.*, **62**, 299—305, 1969.
 - 33) Johnsen, S.G.: The stage of spermatogenesis involved in the testicularhypophyseal feedback mechanism in man. *Acta Endocrinologica.*, **64**, 193—210, 1970.
 - 34) Rosen, S.W. and Weintraub, B.D.: Monotropic increase of serum FSH correlated with low sperm count in young men with idiopathic oligospermia and aspermia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **32**, 410—416, 1971.
 - 35) Leonard, J.M., Leach, R.B., Couture, M. and Paulsen, C.A.: Plasma and urinary follicle-stimulating hormone levels in oligospermia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **34**, 209—214, 1972.
 - 36) Franchimont, P., Millet, D., Vendrely, E.,

- Letawe, J., Legros, J.J. and Netter, A.: Relationship between spermatogenesis and serum gonadotropin levels in azoospermia and oligospermia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **34**, 1003—1008, 1972.
- 37) DeKretser, D.M., Burger, H.G., Fortune, D., Hudson, B., Long, A.R., Paulsen, C.A. and Taft, H.G.P.: Hormonal, histological and chromosomal studies in adult males with testicular disorder. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **35**, 392—401, 1972.
- 38) DeKretser, D.M., Burger, H.G. and Hudson, B.: The relationship between germinal cells and serum FSH levels in males with infertility. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **38**, 787—793, 1974.
- 39) Hunter, W.M., Edmond, P., Watson, G.S. and McLean, N.: Plasma LH and FSH levels in subfertile men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **39**, 740—749, 1974.
- 40) Lawrence, D.M. and Swyer, G.I.M.: Plasma testosterone and testosterone binding affinities in men with impotence, oligospermia, azoospermia, and hypogonadism. *Brit. Med. J.*, **1**, 349—351, 1974.
- 41) Christiansen, P.: Studies on the relationship between spermatogenesis and urinary levels of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in oligospermic men. *Acta Endocrinologica.*, **78**, 192—208, 1975.
- 42) Purvis, K., Brenner, P.F., Landgren, B.M., Cekan, Z. and Diczfalussy, E.: Indices of gonadal function in the human male. I. Plasma levels of unconjugated steroids and gonadotrophins under normal and pathological conditions. *Clin. Endocrinol.*, **4**, 237—246, 1975.

(1978年11月9日受付)