雄性機能と Estrogen の関係

VI 雄牛の副生殖腺分泌液におよぼす estradiol benzoate の影響

小笠 晃・杉浦邦紀・飯塚三喜・横木勇逸

(農林省家畜衛生試験場)

前回は合成卵胞ホルモン diethylstilbestrol (DES) の投与によって、雄牛の造精機能が著しく障害されることを報告したが¹⁾、その際、精巣における精子形成に対する影響ばかりでなく、精漿すなわち副性腺からの分泌物の性状にも変化を起させていることを指摘した。

精漿の中には精管より上部の分泌物も混入しているので、今回は天然の卵胞ホルモン estradiol benzoate (Ed) が、精巣および精巣上体を除去した雄牛の副性腺分泌物の性状に対する影響を検討した。精巣を剔出したので、性欲、射精能の減退による材料採取の困難が生じないように考慮して、一定量の testosterone (T) を注射すると

ともに、既知量の androgen に対する estrogen の比率を規制して副性腺に対する両者の拮抗作用をあわせ観察した。

材料および方法

供試動物はホルスタイン種の雄牛 (22~24 カ月令) 4 頭で、これに対して 1 図に示すようにホルモン処置を行なった。すなわち、No. 1 は無処置のまま estradiol benzoate を 6 mg 連日 30 日間皮下注射した。No. 2 は精管結紮を施し、Ed を 1 mg および 2 mg 宛連日 7 日間頸側皮下に投与した。No. 3, 4 は 22 カ月令で去勢

註: ↓解剖日を示す

図 1 雄牛に対するホルモン処置

Relationship between male reproductive function and estrogen.

VI. Effect of estradiol benzoate on the secretion of accessory sex glands in the bull.

OGASA, A., K. SUGIURA, M. IIZUKA & Y. YOKOKI (National Institute of Animal Health, Kodaira, Tokyo) *Jap. J. Animal. Reprod.* **12** (1), 1966.

手術を行なった。すなわち精巣頭端において精索末端部を結紮切断して精巣、精巣上体、および精管の1部を完全に除去した。

手術日より試験期間を通じて testosterone propionate を隔日に皮下注射した。また estradiol benzoate の投与は1日の E:T が 1:2.5, 1:5, 1:10 の割合

になるように 7~10 日間連日投与した。

性欲、射精能の観察、精液検査（射精量、精子活力、精子数、No. 2, 3, 4 も pH、精液緩衝能力、塗抹検査、果糖含量、その他）は慣例の方法に準じたが、No. 3, 4 は射精までの乗駕回数および射精するまでの所要時間を測定した。なお精液採取は 7 日間隔とし、その際 2 回射精させたが、No. 3, 4 は 2 日間隔で採精した。採取直後の精液を 2500 rpm 15 分遠心後上清を分離し、対照牛精漿と Ed 投与牛精漿をそれぞれ互に交換し、セミンで 2 倍に希釈して保存した。また去勢牛については対照牛精液の精漿を分離し、この精子に No. 3, 4 の精漿を注加し希釈することなく原液のまま室温に放置し、2, 5, 8, 24 時間目にそれぞれ運動性を観察する“精漿の交換試験”を行なった。No. 3, 4 は図 1 に示す様に試験終了後解剖し、直ちに精嚢をとりだし、手で軽く圧搾して精嚢貯溜液を採取し、上記同様生物学的検査を行なった。精漿の無機物の測定は前回同様 Na, K は炎光々度計法、Cl は SHARLES-SHARLES 法、Ca は CLARK-COLLIP 法によって測定した。

また副生殖腺は 10% ホルマリンに固定し、型のごとくパラフィン切片となし、H-E 染色、PAS 染色を施して組織学的に検討した。

実験成績

1. 正常牛に対する estradiol benzoate 投与の影響

射精量は Ed の投与によって減少したが、投与中止後若干回復した。精液の pH は投与中止後僅かにアルカリ性に傾き、緩衝能力も減少の傾向を示したが、大きな変動はみられなかった。精子活力は投与前、最活発な前進運動をするものが平均 62~70% であったが、投与中は平均 43.5% に低下した。しかし投与中止後は漸次投与前値（50~70%）に回復した。精液内果糖含量も DES 投与の場合と同様減少の傾向を示した。精子数は Ed 6 mg 30 日間の投与では、投与前後の平均値に殆んど差がみられなかったが、1 射精当りの総精子数は対照期に比し減少の傾向を示した。精子奇形率は Ed の投与によって増加し、とくに投与開始後 23 日目から 30~50% に達したが、投与中止後すみやかに正常範囲内に復帰した。奇形精子の大部分は DES 投与の場合に認めたと同様 looped tail 精子であった。本牛の精漿と対照牛精漿の交換試験を行なった結果、投与開始後 11 日目、25 日目の精液では著変はみられないが、投与終了翌日および 9 日目の精液について 4 日保存の精子活力を比較した成績では、著しい低下が認められ、Ed 投与牛精漿が精子

表 1. 精漿中の無機質の濃度

牛 No.	E 投与量	無機質	投 与 前	投 期 間 中	投 終 了 後
1	5 mg	Na	124.7 ± 15.0	166.3 ± 34.3	101.3 ± 4.8
		K	86.0 ± 22.4	88.2 ± 25.2	192.0 ± 31.3
		Cl	180.0 ± 25.9	142.0 ± 32.5	203.0 ± 67.4
		Ca	37.1 ± 2.5	56.9 ± 6.3	32.0 ± 7.3
2	1 mg	Na	169.0 ± 30.7	—	167.6 ± 61.3
		K	157.0 ± 19.5	—	172.6 ± 26.6
		Cl	204.0 ± 41.4	—	229.0 ± 39.9
		Ca	26.0 ± 2.9	—	47.1 ± 7.0
	2 mg	Na	203.5 ± 4.1	208.0 ± 23.0	203.8 ± 60.7
		K	181.0 ± 33.6	150.2 ± 13.2	122.0 ± 31.9
		Cl	258.0 ± 74.3	261.0 ± 57.5	272.7 ± 61.1
		Ca	42.8 ± 12.0	40.2 ± 5.7	42.1 ± 7.7
3 *	5 mg	Na	218.3 ± 24.3	223.0 ± 14.7	235.6 ± 40.8
		K	237.0 ± 17.5	172.3 ± 10.0	117.0 ± 17.5
		Cl	184.0 ± 67.4	269.0 ± 57.3	280.6 ± 57.9
		Ca	64.7 ± 16.5	36.0 ± 20.1	46.0 ± 19.4
4 **	10 mg	Na	229.0 ± 28.5	260.7 ± 10.3	226.4 ± 18.0
		K	123.0 ± 18.9	86.0 ± 8.8	95.4 ± 19.4
		Cl	157.7 ± 39.1	248.0 ± 15.9	189.4 ± 8.0
		Ca	72.7 ± 16.5	70.0 ± 15.3	87.2 ± 12.6

註：単位 mg/dl. * E: T=1: 10 ** E: T=1: 5
各数値はその期間の平均値

生存性に対して阻害作用のあることが認められた。

精漿中の Na は Ed の投与によって増加が認められたが、投与中止後減少した。K は投与期間の平均値には投与前と大差がみられなかったが、減少の傾向を示し投与中止後著増した Cl は Ed 投与によって減少し、Ca は増加を示した。

2. 精管結紮牛および去勢牛におよぼす estradiol benzoate の影響

横取法で採取した精管結紮牛の副性器分泌物の性状は、Ed 1mg 投与では精液緩衝能力を除いて変化なく、2mg では射精量が減少し、精漿の pH はアルカリ性となり緩衝能力も減弱した。また果糖量も投与終了後僅かに減少傾向を示した。精漿の交換試験では Ed 1mg 投与による精漿には変化がみられなかったが、2mg 投与後に採取した精漿は精子生存性を低下させる傾向が認められた。

精漿中の Na, K は 1mg 投与では投与前と変化がなかったが、Ca はかなり増加した。Cl の増加は僅少であった。また 2mg 投与の場合には K が減少し、投与中止後も 170, 153, 143, 132, 115, 98, 79 81 mg/dl と日と共に漸次減少した。しかし Ca には変化がみられず Cl の増加も軽微であった。

精巢および精索上体を剔出した雄牛では（ホルモン処置は 1 図参照）50~100 mg の testosterone の隔日投与により性欲、射精能は正常に維持され、去勢前と差がみられなかった。Ed の投与によって射精に至るまでの乗駕回数は増加の傾向を示した。すなわち false mount が多く、容易に射精しなかった。

射精量については、去勢後 Ed 投与前の期間 No. 3 は去勢前より若干低値であったが、No. 4 は去勢前後に大差がみられなかった。

Ed の投与によって、No. 4 の射精量は減少の傾向を

註：本文末尾参照
図 2 精漿交換による保存試験（生存率）

示したが、No. 3 は変化がないか、あるいは若干減少した。pH は去勢によってアルカリ性となり、かつ Ed 投与後はさらにアルカリ性が強くなる傾向を示した。また緩衝能力も減弱する傾向が認められた。精漿中の果糖含量は Ed 投与後減少し、今迄の成績と一致する所見が得られた。しかし試験末期 No. 4 は Ed のみ 5mg 隔日投与にもかかわらず、No. 3 より高値を示した。

精漿の交換試験は交換後原液のまま室温に保存し、2, 5, 8, 24 時間目に検査した。

その結果は図 2 に示すとおりであった。Ed 投与末期の精漿は正常精子の運動性を低下させ、その生存時間を

表 2. 副性器の組織所見

	No. 3	No. 4
精 囊 腺		
腺 胞 拡 張	—~+	±~+
上皮細胞増殖 (扁平多層化)	—~++	—~++
PAS 顆 粒	—~±	±
前 立 腺		
腺 胞 拡 張	—~++	—~++
上 皮 増 殖	—	—~±
PAS 顆 粒	+~++	—~++
尿 道 拡 張	±	+
上 皮 増 殖	±	(PAS 陽性の) 漿液を入れる + (伸 長)
PAS 顆 粒	—~+	—~++
充 出 血	—	++
え 死	—	+
尿 道 球 腺		
腺 胞 拡 張	—~+	+~++
上 皮 増 殖	±	±
PAS 顆 粒	—~+	+~++
排 泄 管 拡 張	±	(内腔には滴) 状 ~ 絮 状
上 皮 増 殖	±~+	±
PAS 顆 粒	+	±
		(内腔に絮状物充満)
精管膨大部		
内 顆 拡 張	±~+	± (少量の漿液)
上 皮 増 殖	—~±	—~±
PAS 顆 粒	—	±
腺 胞 拡 張	+	+
上 皮 増 殖	—~+	—~±
PAS 顆 粒	—~±	±~+

短縮させた。しかし、それぞれの牛の精囊液の性状を比較検討した場合 No. 3 の精囊液を加えた精子は対照牛精子の活力よりも優れ、極めて活発であったが、No. 4 は対照よりも低い運動性を示した。しかし No. 4 の精漿を添加した精子より遙かに活発な活力を保持していた。

なお精漿交換による精子活力の検査時、とくに注目されたことは Ed 投与末期の射精液に強い精子凝集を示すことが観察された。

精漿中の無機物について、Ed の投与により Na は増加の傾向を示し、K は減少した。Cl は No. 2 同様増加し、Ca はあまり変化がみられなかったが、やや減少傾向を示した。

副生殖腺の組織所見

解剖前 testosterone のみ投与した No. 3 と、Ed のみ投与した No. 4 の副生殖腺の組織所見は、表 2 に示したごとく、精囊、精管膨大部などには著変を認めないが、No. 4 は No. 3 に比較して前立腺部の尿道粘膜の充出血、之死、分泌物充満、尿道球腺の腺泡拡張、上皮細胞の PAS 陽性顆粒の増加、腺泡および排泄管内腔の分泌増加などの所見がやや著明であった。

考 察

去勢牛に少量の estradiol dipropionate を testosterone と併用すると、精囊に対して僅かに協力作用を示し、精液中果糖含量が増加することはすでに知られている²⁾。また先に著者も DES の投与によって精液中果糖含量が漸次増量し投与中止後激減することを報告し、その際、DES の投与量によってこれと体内 androgen が協力作用と抑制作用の両方を現わすことを述べたが¹⁾、今回の実験で去勢牛に E:T を 1:10 から 1:2.5 の割合で投与した場合は、一般に精漿中果糖含量は減少の傾向を示したので、このような E と T の比率では E による抑制作用が強く現われるものと考えられる。また同一牛について一定間隔をおき、2 回反復して実験を行なったためか、1 回目の実験の方が 2 回目よりも抑制作用が強かった。その理由については明らかでない。また精管結紮牛に 2 mg の Ed を 7 日間投与した例では、投与期間中はやや増加し、中止後減少した。しかし、1 mg では明瞭な変動は認められなかった。

精漿の交換による異常精液の正常精子に対する影響について観察した報告は極めて少なく、精囊別出牛の精子に対する正常牛精漿の添加や精子活力あるいは生存性を検討する目的で精液を混合したり、あるいは交換してい

る報告が 1~2 みられる^{3,4,5)}。また坂倉 (1963)⁶⁾ は人の精液検査法の 1 つとして精液交換を記載している。著者は既に 1962 年本実験に関連して精漿交換による成績を発表したが、今回の精漿交換試験ではいずれも正常精子の運動性を明らかに阻害し生存時間を短縮したが、その物質は精管膨大部、前立腺、精囊腺や、とくに組織学的に変化の認められた尿道球腺、あるいは尿道腺などの分泌物中にも存在するようである。これらの副生殖腺に対する estrogen の作用は、造精機能に対するよりも、生産された精子に対してその活力の減弱や尾部奇形の発現という点で重大な意義を有するものと考えられる。実際問題として野外の種雄牛の血中にみられる高濃度の estrogen は⁷⁾、精子形成阻害作用が誘起される時期よりも、かなり早期に副生殖腺機能に対して影響することは明らかであり、すでに生産された精子は精路において悪影響を受けるものと考えられる。

牛精液はアルカリ側よりは、酸性側でよく緩衝されるが、ANDERSON⁸⁾ は緩衝能力と精子の活力が 70% 以上保持されている時間との関係を調べ、この運動を 24 時間以上持続した精液はすべて良好な、かなり一定した緩衝能力を持ち、運動性の著しく低下したものは、極めて貧弱な緩衝能しかないことを認めている。著者らの成績も Ed の投与により pH はアルカリ性に傾き、とくに去勢牛についての実験では緩衝能の減弱と精子運動性の低下がほぼ一致して認められた。しかし No. 4 の後半においては緩衝能 (pH の減少 2.00 以内) はそれほど低下しなかったもので、さらに別の要因も関与していることを考慮しなければならない。

従来精漿成分の無機物についての分析成績は多数みられるが⁹⁾、それらは主として正常精液についての測定数値であり、特に estrogen の雄牛副生殖腺分泌液に対する影響についての報告は見あたらない。著者らの Ed 投与牛精漿についての無機物の測定結果は DES を投与した場合の成績とほぼ一致しており、Na/K の比率もほぼ 2 あるいは 2 以上となっている。研究者により多少の差はあるが、正常牛ではほぼ 1、高くても 1.6 以下である。CRABO (1964)¹⁰⁾ は正常牛の精巢網から精巢上体尾部までを 6 つに区分して、epididymal plasma 中の Na, K の濃度を測定したが、Na/K は精巢網の 8.3 から精巢上体尾部の 1.2 まで、次第に低くなることが報告されている。勿論 estrogen を投与した場合には該部のこれら無機物の濃度に著しい変化を示すと考えられるが、去勢牛の実験では精巢上体よりも以降の副生殖腺の透過性が亢進し、分泌物の滲透圧にも異常が起っているのではな

ろうか、一方 pH 5.8~6.6 の範囲では精子は高張よりも低張の方に対して敏感であり、アルカリ性の液ではそれが逆転するので^{11,12)} Ed の作用により生じた異常環境は、精子代謝能の低下や精子形態を変化させ、精子運動性、生存性を減弱させているものと考察される。

さらに Ed 投与末期における去勢牛の精漿は、かなり強い精子凝集性を示したので、これらの作用も精子生存性の低下と何らかの関係を有するものと思われる。

要 約

正常牛、精管結紮牛、去勢牛について estradiol benzoate を投与し、それらの牛の精漿におよぼす影響を検討し次の結果を得た。

1. 正常牛に estradiol 6 mg 30 日間投与した場合の精液性状は、DES を投与した時と全く同じように精液量の減少、精子活力の減弱、精子数の軽度の減少、奇形率の増加（主として looped tail）などの所見が得られた。また精漿の交換試験では明らかに正常精子の運動性を減弱させた。

2. 精管結紮牛に estradiol を 1~2 mg 連日 7 日間投与して採取した精漿の性状は、投与期間が短かいために影響は軽度であったが、2 mg 投与では射精量の減少、精液緩衝能力の低下を認め、本牛精漿を添加した正常精子の生存性は低下した。

3. 去勢牛に試験期間 50~100 mg の testosterone を隔日に注射し、これに estradiol を 5~10 mg 連日 7~10 日間投与し、1 日の E:T が 1:2.5~1:10 の割合になるようにした場合の精漿も前記同様、pH はアルカリ性に強く傾き、緩衝能力の減弱、果糖量の減少などが認められた。精漿の交換試験においても Ed 投与末期および中止後の精漿は精子に対して阻害作用を呈した。

4. これらの雄牛の精漿中無機質の濃度は、estradiol

の投与によって Na の増加、K の減少、Cl は正常牛は減少、他は増加、Ca については正常牛は増加したが、他は著変がみられなかった。

5. 試験終了時に解剖して採取した副性器の組織所見では、末期 testosterone のみ投与の No. 3 と、estradiol のみ投与の No. 4 の間に若干の差が認められ、estrogen の影響が強かった No. 4 では、前立腺部尿道のえ死、分泌物充満、尿道球腺の腺胞および排泄管内腔の分泌増加などの所見が得られた。

以上のことから estragen が精巣における精子形成障害を起す以前のかかなり早期に、副生殖腺の分泌物の性状に異常を誘起し、それが生産された精子に対して悪影響をおよぼすものと考えられる。

稿を終るに当り御指導、御校閲を賜りました中国支場長山内博士に深謝致します。また実験の遂行に御指導と研究の便宜をお計り下さった日獣大教授星博士、日大教授須川博士に感謝します。

(1966, 1, 14 受付)

文 献

- 1) 小笠 (晃), 須川 (章), 松山 (茂): 本誌 8, 85, 1962.
- 2) GASSNER, F.X., HILL, & SULZBERGER, L.: *Fert. Ster.* 3, 121, 1952.
- 3) HESS, E.A., LUDWICK, T.M., RICKARD, H.E. & ELY, F.: *Fert. Ster.* 9, 238, 1958.
- 4) DOTT, H.M. & WALTON, A.: *J. Agric. Sci.* 50, 267, 1958.
- 5) MARDEN, W. & WERTHESEN, N.T.: *Fert. Ster.* 7, 508, 1956.
- 6) 坂倉 (啓): ホと臨床 11, 35, 1963.
- 7) 小笠 (晃), 須川 (章), 松山 (茂): 日獣誌 26, (学会号) 528, 1964.
- 8) ANDERSON, J.: *J. Agric. Sci.* 36, 260, 1946.
- 9) CRAGLE, R.G., SALISBURY, G.W. & VANDEMARK, N.L.: *J. Dairy Sci.* 41, 1267 1958.
- 10) CRABO, B. & GUSTAFSSON, B.: *J. Reprod. Fertil.* 7, 337, 1946.
- 11) EMMENS, C.W.: *J. Physiol.* 107, 129, 1948.
- 12) DREVIUS, L.O.: *Nature* 197, 1123, 1963.

図 2 註 O=精漿交換前正常牛精子生存率

S.V.=精囊圧出液

1~3 回目=T 50 mg 隔日投与

4~6 回目=ET 投与

7~10 回目=E または T のみ投与