不妊牛におけるヒアルロニダーゼ応用時の子宮 頸管粘液の精子受容性及び pH について

高嶺 浩 ・ 渡辺 彰

(東京農工大学農学部家畜生理学研究室・三重県一志家畜保健衛生所)

不妊牛に対してヒアルロニダーゼを適用した成績については既に報告^{1,2)}しているが、適用前後における子宮頸管粘液の精子受容性及び pH の変化を検べ、その奏効機序を明かにしようと試みた。

1. 試験方法

(1) 実施期間及び場所：1955 年 2 月より 12 月まで三重県一志郡下において行つた。

(2) 適用法及び使用製剤：生殖器に異状を認めず良発情を回帰しているもの及び鈍性発情牛で、既往 4 回以上の授精が不受胎に終つており、発情時の頸管粘液の精子受容性の乏しいものを対象とし、第 1 群においては 1 授精に当り 4,000~20,000 単位を 1~2 cc の生理的食塩水溶液 (pH 6.0) とし、授精直前ないし 30 分前に頸管内に 1 回注入し、第 2 群においては 5,000 或いは 10,000 単位を同様な溶液とし、15 分の間隔をおいて 2~3 回合計 15,000 単位を注入し、いずれも適用後の授精を行つた。

使用製剤としてはスプレーゼ (持田製薬) を用いた。

第 1 表 Hyaluronidase 適用後の精子受容性と受胎率

授精時の 精子受容性	例数	受胎 頭数	受胎率
++	36	20	55.6
+	18	4	22.2
— ~ ±	18	0	—
計	72	24	24/32 頭

(3) 精子受容性の検査法及び pH の測定法：適用の前後において頸管粘液の精子受容性の検査及び pH の測定を行つたが、その検査法は高嶺³⁾が既に発表してい

る方法によつたもので、判定の基準は次のようなものである。

検査板 (血球計算盤を応用) 上のカバーガラス下において、精液と接触させた頸管粘液中への精子の侵入、侵入精子の生存及び運動性を観察 (約 15 分間) する。

⊕ 界面の全般或いは 1 部より精子が粘液中に活潑に深く侵入し、侵入精子の過半数に活潑な前進運動を認めるもの

⊕ 侵入精子少く、また侵入度浅く、侵入精子の過半数が運動微弱なもの

— 界面より精子の侵入がみられないか、侵入精子が悉く速かに運動性を失うもの

pH の測定法は、子宮頸管内に東洋濾紙の M. R. 紙又は B. T. B. 紙の 1 片を器具を用いて挿入し、その部の粘液に接着させて直ちに比色測定した。

2. 試験成績及び考察

(1) 精子受容性と受胎率：適用前 (—) 若くは (±) の程度のものに適用した結果は第 1 表にみられるように依然 (—~±) のものでは受胎せず、(⊕) 若くは (+) の程度に変化し、精子の通過に妨げのない性状となつたものが受胎できることを示している。

(2) 精子受容性の变化と適用法及び適用量：両群を通じ、最初に 4,000~5,000 単位を適用した後の精子受容性は、第 2 表にみられるように 47 例中 38 例は (—~±) に留まり好転したもの少く、10,000, 15,000~20,000 単位に増量した場合には 1/2 以上が好転した。一方 10,000 単位の適用に当り、5,000 単位宛 2 回に分割して行つた例では 2/3 に好転がみられ、更に 5,000 単位の累加適用を行つた例ではすべて (+~⊕) に変化し、(⊕) に好転した割合も最も多い。このことは、高単位の適用に当り、1 回に注入するよりも、分割して 2~3 回を多回適用した場合の方が精子受容性を好転させる上に効果的と認められる。

(3) 精子受容性の变化の機序：in vitro における実験が未だ完了していないので、結論を下し得る段階に達していないが、ヒアルロニダーゼによつて頸管粘液中の多

Sperm receptivity and pH of cervical mucus in infertile cows with hyaluronidase administration. TAKAMINE, H. & A. WATANABE (Veter. Physiol., Agric., Tokyo Univer. of Agric. & Technol., & Ichishi Livestock Hygiene Service Center, Mie Pref.) *Jap. J. Animal Reprod.* 2, (1).

糖類が分解され低分子化するため粘液の物理学および生理学的性状が変化することは当然考えられる。この点について KURZROK ら⁴⁾ は早くより人精液中に婦人の頸管粘液を溶解する酵素の存在することを立証している。然し、高嶺及び吉田⁵⁾ の牛頸管粘液中より分離した多糖類の組成分析の結果では、ヒアルロン酸及びコンドロイチン硫酸はその主部を占めるものではないので、頸管粘液の分解過程にはヒアルロニダーゼ → ヒアルロン酸、コンドロイチナーゼ → コンドロイチン硫酸、以外の酵素系の関与することも考えられる。

また、精子受容性(一)の粘液について *in vitro* においてヒアルロニダーゼ消化を行いながら精子受容性の变化を追求したところ、(十〜廿)に変化する例がないでもないが、消化によつて粘度は低下しても精子受容性は

第2表 Hyaluronidase の適用法及び適用量と精子受容性の变化

適用法及び 適用量	適用後の精子受容性			計
	一〜十	+	++	
一回適用 4,000〜 5,000 単位	38	4	5	47
10,000 "	8	3	5	16
15,000〜 20,000 "	2	3	4	9
小 計	48	10	14	72
分割適用 10,000 (5,000 × 2)	10	14	6	30
15,000 (5,000 × 3 or 5,000 + 10,000)		6	14	20
小 計	10	20	20	50
合 計	58	30	34	122

変化しない例も相当みうけられる。それで、精子受容性の变化の原因を単なる粘液の酵素消化による分解のみに帰することは困難である。

一方、生体内においては、ヒアルロニダーゼの適用によつて前述のような精子受容性の变化が起ることは、適用したヒアルロニダーゼは単に頸管粘液を生化学的に分解するだけでなく、むしろ頸管の腺、粘膜組織に作用して、この部の透過性を高めることによつて粘液の分泌機能に影響を及ぼし、2次的に精子受容性を变化させるのではないかとも思われる。然し乍ら、この点については裏付となるべき基礎実験例が少いので、未だ推察の域を出ない。

(4) 適用前後の pH の変化：適用前後における pH の分布状態は第3表に示す通りである。即ち、72 例にお

いて、変化のなかつたもの 12 例、下降したもの 7 例、上昇したもの 53 例で、とりわけ 0.2 だけ上昇したものが 50 例 (69%) を占めている。

なお、受胎との関連をみると、受胎例 24 例中 23 例は適用後 pH の上昇した場合に受胎しており、pH が変動しない 12 例では 1 頭受胎し、下降した 7 例では全然受胎をみていない。

よつて、結果としては、ヒアルロニダーゼの適用により pH が上昇した場合が受胎に好影響をもたらしたといえるが、この変動範囲は、変動しなかつたもの及び下降したものの分布範囲 (6.2〜7.0) ととも合致しているの。特に受胎不適 pH 域から至適 pH 域に移動したということにはならない。なお、適用溶液は pH 6.0 であるのでこの注入液による直接の変化とは考えられない。

第3表 Hyaluronidase 適用による頸管粘液の pH の変動と受胎との関連

適用前後	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	計
6.0		/				/
6.2		12 ₍₅₎				12
6.4	/	5	16 ₍₆₎	2		24
6.6		2	3	15 ₍₁₀₎		20
6.8			/	4 ₍₁₎	7 ₍₂₎	12
7.0				3		3
計	/	20 ₍₅₎	20 ₍₆₎	24 ₍₁₁₎	7 ₍₂₎	72 ₍₂₄₎

() は受胎内頭数

從つて、pH の値そのものよりも、適用に当つて pH の上昇的变化を伴つた現象と受胎との関連があるかのように考えられる。換言すればヒアルロニダーゼの適用局所における滲透因子の作用が頸管部の粘液分泌機能に影響を及ぼし、粘液の分解と相俟つて精子受容性及び pH の変化をもたらすのではなからうか。

本研究の一部は、文部省科学研究助成補助金の補助によるものであり、詳細については第 41 回日本獣医学会において発表の予定である。(1956. 4. 5. 受付)

参考文献

- 1) 高嶺(浩)・樋口(三)・小野寺(強)・後藤(寿)：畜産の研究 8, 147, 1954.
- 2) 高嶺(浩)・渡辺(彰)：日獣会誌. 8, 19, 1955.
- 3) 高嶺(浩)・羽生(章)：医学と生物学 16, 203, 1950.
- 4) KURZROK, R. & E. G. MILLER : *Am. J. Obstet. & Gynecol.* 15, 56, 1928.
- 5) 高嶺(浩)・吉田(文)：本誌 1, 23, 及 135, 1955.