— 研 究 —

牛の発情期頸管粘液における精子受容性及び
結晶形成現象と粘液組成の関係について

高 嶺 浩・吉 田 文 男

(東京農工大学農学部家畜生理学研究室)

頸管粘液は発情期においてその精子受容性 (SR) 及び塗抹乾燥標本における結晶形成現象 (CDS) 共に高度の発現を呈するものが多いが、正常な発情と見做されている場合の頸管粘液にもこの両現象の発現状況が区々である例の存在することは既に報告¹⁾した通りである。

CDS の発現と粘液組成の関係についてはさきに発表²⁾した³⁾が、その後 SR の発現状況をも併せて検討を加えたのでその成績について報告する。

実験材料及び方法

頸管粘液は本学及び本学周辺地区において人工授精の対象とされた乳牛から採取した。

SR 及び CDS の検査方法は既報¹⁾の通りである。なお分析に当り Mucin clot としたものは、頸管粘液に 2% 醋酸酸性下で ethanol を加えたときに生ずる沈澱物であつて、粘液中の高粘性物質がすべて回収されたものである³⁾。

実験成績

1. 両現象の発現と組成成分の関係

頸管粘液組成として、固形分、NaCl、Mucin clot の含量並びに NaCl が固形分中に占める比率及び NaCl と Mucin clot の含有比について測定を行つた。供試例を (1) SR, CDS 共に高度 (卅〜卅) の群、(2) SR は低調 (十〜一) であるが CDS は高度の群、(3) SR, CDS 共に低調の群、に別けそれぞれの測定値を集計したものが第 1 表である。なお、SR は高度であるが CDS は低調な発現状況を示す例は稀であつて、その粘液組成について分析する試料が得られなかつた。

第 1 表に示す各群の平均値を比較すると、固形分含量は各群相互の間に有意の差が認められるが、NaCl 含量については (1) 群と (2) 群との間にだけ差が認められ、(1)、

第 1 表 発情期頸管粘液における精子受容性 (SR) 及び結晶形成現象 (CDS) と頸管粘液組成

SR	CDS	Solid (%)	NaCl (%)	NaCl / Solid × 100	Mucin clot (%)	NaCl / Mucin clot
卅〜卅	卅〜卅	1.27	0.825	66.13	0.139	2.70
十〜一	卅〜卅	1.55	0.867	56.19	0.567	1.58
十〜一	+	1.93	0.854	46.24	0.638	1.29

(2) 群と (3) 群との間には差が認められない。Mucin clot 含量については (1) 群と (2)、(3) 群との間には差が認められるが、(2)、(3) 群の間には差が認められない。

これらの点から、SR 及び CDS の発現と組成成分との関係について、まず固形分含量の差による発現状況の相違が認められ、固形分含量が多い群では両現象共に低調でその少い群では両現象共に高度の発現がみられ、その中間の含量群では CDS は高度であるが SR は低調という発現傾向がみられる。さらに、SR, CDS それぞれについて発現の高低と組成との関係をみると、SR については固形分含量の差の他 Mucin clot 含量の差によることが認められ、NaCl 含量の差も一部関係しており、CDS についてはその発現の高低は NaCl 及び Mucin clot 含量の差によるものではなく、専ら固形分含量と NaCl が固形分中に占める比率の差が関係している。

2. NaCl 及び固形分含量との関係

第 1 表に集計した供試例について各試料毎の NaCl 及び固形分含量並びに NaCl が固形分中に占める比率と両現象の発現状況との関係を示すと第 1 図の通りである。

第 1 図によれば、CDS の発現高度の例は固形分含量 1.85% 以下であるが、この範囲には CDS, SR 共に低調例 10 例中の 4 例が含まれている。NaCl が固形分中に占める比率の面からみれば、49% を境としてそれを越える域には CDS 高度例の中 1 例を除く全例が含まれ、それ以下の域には CDS, SR 共に低調例 10 例中の 8 例が含まれている。

また、CDS の発現高度域において、さらに固形分含量 1.5% 以下の域において SR も同時に高度の発現例の全例が含まれ、NaCl/Solid が凡そ 57% 以上の域とほぼ

Studies on the relations among sperm receptivity, crystallization phenomena and composition of estrous cervical mucus in the cow. TAKAMINE, H. & F. YOSHIDA (Vet. Physiol., Fac. Agric., Tokyo Univ. of Agric. & Technol.) *Jap. J. Animal Reprod.* 6 (4).

第1図 発情期頸管粘液における精子受容性及び結晶形成の発現と頸管粘液組成 NaCl と Solid の関係
合致する。なお、この域において NaCl 含量が 0.88% を超える 7 例中 SR 高度例は 1 例のみで、これ以下の 14 例中に SR 低調例は僅か 1 例をみるに過ぎない。

これらのことから、CDS の発現高度を呈するには NaCl が固形分の凡そ過半を占めれば足りるが、SR の発現も高度であるにはさらに NaCl は固形分の 57% 以上を占め、且つ NaCl 濃度が 0.88% 以下という組成であることが判明した。

3. Mucin clot 及び NaCl 含量との関係

頸管粘液の固形分中 NaCl 以外の成分は大部分糖蛋白質であることは既に報告⁴⁾したが、この高粘性物質を回収した Mucin clot 含量と NaCl 含量を SR 及び CDS との関係について各試料の測定値毎に図示したものが第2図である。

第2図にみられるように、Mucin clot 含量は CDS の発現状況と特に関連は認められないが、Mucin clot 含

第2図 発情期頸管粘液における精子受容性 (SR) 及び結晶形成現象 (CDS) と頸管粘液組成 NaCl と Mucin Clot の関係

量の低い場合に SR の高度の発現が認められ、凡そ 0.45% 以下では 15 例中 13 例 (87%) が CDS, SR 共に高度の発現を呈しており、両現象の発現共に高度の 14 例中の 13 例が含まれており、0.45% 以上の 13 例には両現象共に高度の発現例は 1 例のみで、CDS のみ高度の発現例 10 例中の 8 例が含まれている。

また、Mucin clot 含量 0.4% 以下の域では全例が両現象共に高度の発現例で、その 14 例中の 11 例 (79%) を占めている。

前節においては固形分含量の多い (>1.85%) 例は SR, CDS 両現象共に低調であるとの所見で、本節においても Mucin clot 含量の高い域には両現象共に高度の発現例をみないのであるが、固形分含量と Mucin clot 含量とは必ずしも比例せず、固形分含量は特に多くない (1.5~1.85%) もので Mucin clot 含量の高い場合があるので、Mucin clot 含量の高い例で CDS の発現高度の例を生ずるものと解せられる。

なお、第2図にみられるように SR の発現状況は NaCl/Mucin clot 値の大きい場合に高度となつていることが認められるが、これは第1表にみられる通り発情期頸管粘液における NaCl 含量の開きは 0.75~0.96% の間であるが、Mucin clot 含量には 0.1~0.85% の開きがあり、既述の如く SR 高度群においては NaCl 含量は他群よりも低い、Mucin clot 含量についても最低の群であるので NaCl/Mucin clot 値は当然高値を示すことになる。そして、Mucin clot 含量の低い粘液においては NaCl 含量も一般に低く 0.85% を超える例はないが、Mucin clot 含量 0.4% 以上に達すると NaCl の含量如何に拘らず SR は低調となるが、Mucin clot 含量 0.4~0.5% の間では NaCl 含量が 0.88% 以下であれば SR は高度の発現を呈することができるので、NaCl/Mucin clot 1.5~2.1 の間には両現象共に高度例と CDS のみ高度の例が混在することになる。

このようなことから、頸管粘液中の Mucin clot 含量は CDS よりむしろ SR の発現に影響を及ぼし、0.5% 以下において両現象共に高度の発現を呈するのであるが、この場合も NaCl 含量が前節に示す如く高きに失すると (>0.88%) CDS の発現は高度で SR は低調という例を生じ、Mucin clot 0.4% 以下の例には NaCl 含量の過大なものがなく両現象共に高度の発現を呈していることが認められる。

4. NaCl 及び Mucin clot 含量の変化処理と精子受容性の変化

CDS (■) で、SR (一) ~ (十) の発現を呈する頸管粘液 5 例について、稀釈、透析又は NaCl の添加などの処

第2表 発情期頸管粘液の NaCl 及び Mucin clot 含量の変化処理と精子受容性
(under line を附した数値は非正常域の値を示す)

供 試 材 料		1	2	3	4	5	6
頸管 粘液の 原性状	精子受容性	+	+	+	—	+	++
	結晶形成現象	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	Solid %	1.530	1.515	1.405	1.666	1.487	
	NaCl %	0.828	0.883	0.913	0.856	0.899	0.836
	Mucin clot %	0.534	0.759	0.450	0.743	0.468	0.328
処 理 と 精 子 受 容 性	NaCl 濃度固有のまま	SR MC	SR MC	SR MC	SR MC	SR MC	
	Mucin clot 1/1.2	+ 0.443					
	同 1/1.5	++ 0.356	+ 0.506	+ 0.375			
	同 1/2		++ 0.379		++ 0.372	++ 0.234	
	同 1/3				卅 0.247		
	Mucin clot 濃度固有のまま			NaCl			SR NaCl
	NaCl 濃度を増減			+ 0.80			+ 1.00
				卅 0.80			+ 0.95
							卅 0.86
							++ 0.70
							+ 0.60
	Mucin clot 及び NaCl 濃度を共に増減	+ { NaCl 0.95 MC 0.356 }	+ { NaCl 0.94 MC 0.379 }	++ { NaCl 0.85 MC 0.375 NaCl 0.86 MC 0.225 }		卅 { NaCl 0.85 MC 0.234 }

第3図 NaCl 及び Mucin Clot 濃度の変化処理と精子受容性 (SR)

理を行い, *in vitro* において NaCl 及び Mucin clot 濃度的一方又は双方を増減し, 粘液組成の変化と SR の変化の関係を探索した。その成績は第2表及び第3図の通りである。

本図表にみられるように, 原性状として SR (+) 又は (—) で, その NaCl 又は Mucin clot 含量が前項の SR (卅~++) 群の値の分布域外にある場合に, その値が SR 高度域 (NaCl < 0.88%, Mucin clot < 0.5%) に入るよ

う補正の処理を施した場合には SR が高度に転じている。さらに原粘液において Mucin clot 含量が高く, NaCl 含量は SR 正常域にあつたものに対し, Mucin clot 含量は SR 高度域に下げ, 一方 NaCl 含量を 0.9% 以上に上げた場合には SR は低調であることも認められた。

また, 原性状は SR (++) を示し, NaCl, Mucin clot 含量共に SR 高度域にある試料について, Mucin clot 含量はそのまま NaCl 含量を増減した場合, 0.9% を超えた場合と 0.6% に下げた場合には何れも SR は (+) に低調化することが認められた。

以上の実験成績から, 頸管粘液の SR の高低は頸管粘液組成殊に NaCl 及び Mucin clot 含量の調整によって左右されることが判明した。

論 議

頸管粘液における CDS の成因については, 婦人科学領域において RYDBERG⁵⁾ は結晶の本態は NaCl 結晶であることを発見し, 石田⁶⁾ は粘液中の Cl 量と結晶形成の程度が平行すると報じ, 豊島⁷⁾ は CDS の周期変化は NaCl と粘液膠質との含有比の変動によるものとし, 五

十嵐⁹⁾は粘液乾燥成分中の Na 濃度が結晶形成と最も密接に平行することを立証し、結晶の排列は粘液中の Mucin 或いは Mucopolysaccharides などのコロイドの作用によるものと結論している。獣医学領域において檜垣¹⁰⁾は結晶の模様は Mucin 存在の程度にもよるが、食塩含量と乾燥条件なども同時に強く影響するといひ、透析実験の結果から食塩含量によつて相違した発現をしているものであると推定している。

これら結晶形成機序に関する論点について、著者ら²⁾は粘液中の高粘性物質の濃度が一定の場合は結晶形成の程度は NaCl 濃度によつて左右されるが、NaCl 濃度そのものが結晶形成の発現程度を支配するファクターではなく、全固形分中に占める NaCl の比率が重要な因子であることを立証した。この点については、第 1 図にもみられるように NaCl 濃度 0.75~0.90% の範囲においては CDS の発現は NaCl 濃度とは無関係で、NaCl が全固形分の凡そ過半を占めているか否かによつて CDS の発現に高低を生じていると認められるのである。これは恐らく NaCl の晶出に当り個々の晶質が排列する際、溶液の膠質状態が連晶の形成に影響するためであろうと考えられる。

頸管粘液性状と精子受容性の関係については、物理的性状との関係は早くより注目されており、性周期に伴う粘液の性状変化と関連して排卵期において増量し、水様となり粘稠度の低い時に SR が高まることが報告されている^{10~13)}が、生化学的性状との関係に関する報告は少く、BERGMAN¹⁴⁾は婦人頸管粘液の SIMS test において、粘液中の全固形分量と SR の関係を調べ、5% 以下であるときは精子はよく侵入し、5~7% で中等、7% 以上の含量の粘液では SR が乏しいことを報告している。NaCl 濃度が SR に影響を及ぼす一因子であることは既に報告¹⁵⁾したところであるが、その後、石田⁶⁾は婦人頸管粘液において NaCl 濃度 800~1,000 mg% で、蛋白 (2,000 mg% 以下)、Mucin (1,250 mg% 以下) の低濃度の場合に最高の SR があると報告している。

本報においては、頸管粘液組成について主として全固形分、NaCl 及び Mucin clot の含量とその量的関係の面から SR との関連を追求したのであるが、精子に対する滲透圧因子である NaCl 濃度並びに粘液の粘稠度因子である高粘性物質——Mucin clot——濃度が SR の高低に重大な影響を及ぼすことを認めた。

このことがらは諸家の成績とほぼ軌を一にするものであるが、発情期頸管粘液における CDS と SR の発現関係について、両現象の発現に整調を欠く粘液についてその組成との関係を明かにしたことは従来の報告にない知

見であると考ええる。

なお、精子侵入の機序については、粘液の物理学的並びに生化学的性状殊に精子酵素との関係について種々論議の点があり、著者らも若干の実験を行つているがこの点に関しては改めて報告する予定である。

総括並びに結論

牛の発情期頸管粘液における SR 及び CDS の発現と粘液組成との関係について、粘液中の固形分、NaCl 及び Mucin clot の含量並びにそれらの含量比の点から検討を加え、次の知見を得た。

1. CDS が高度の発現を呈するには NaCl が固形分の凡そ過半を占めれば足りるが、SR の発現も同時に高度であるにはさらに NaCl は固形分の約 57% 以上を占め、且つ NaCl 濃度が 0.9% 以下という組成関係が必要である。

2. Mucin clot 含量 0.5% 以下において両現象は共に高度の発現を呈するが、この場合も NaCl 濃度が 0.9% を超すと CDS の発現は高度で SR は低調という例を生ずる。

3. NaCl 及び (又は) Mucin clot 含量を *in vitro* において増減し、その含量を上記の域から上下させることにより SR を高低させることができる。

4. 以上のことから、SR および CDS の両現象の発現は粘液組成殊に NaCl 及び Mucin clot の含量並びに両成分の含量比、NaCl が固形分中に占める割合によつて大きく左右されるものであることを明かにした。

なお、本報の要旨は第 50 回日本獣医学会において発表した。(1960. 11. 30. 受付)

文 献

- 1) 高嶺 (浩) : 日不妊会誌, 2 (3) 3, 1957.
- 2) 高嶺 (浩)・吉田 (文)・渡辺 (寿) : 家畜繁殖誌, 4, 119, 1958.
- 3) 吉田 (文)・高嶺 (浩) : 同誌, 5, 5, 1959.
- 4) 高嶺 (浩)・吉田 (文) : 日獣学誌, 14, 482, 1952.
- 5) RYDBERG, E. : *Acta Obstet. Gynecol. Scandinav.*, 28, 172, 1948.
- 6) 石田 (美) : 日産婦誌, 8, 1121, 1956.
- 7) 豊島 (研) : 臨産婦, 10, 347, 1956.
- 8) 五十嵐 (正) : 日産婦誌, 8, 1395, 1956.
- 9) 檜垣 (繁)・粟井 (好) : 農技研報告 G 7, 51, 1953.
- 10) MILLER, E. G. & R. KURZROK : *Am. J. Obstet. & Gynecol.* 24, 19, 1932.
- 11) LAMAR, J. K., L. B. SCHETTLES & E. DELFS : *Am. J. Physiol.* 129, 234, 1940.
- 12) BARTON, M. & B. P. WIESNER : *Brit. Med. Jour.* 2, 606, 1946.
- 13) ROARK, O. B. & H. A. HERMAN : *Missouri Univ. Agric. Exp. Sta. Bull.* No. 455, 55, 1950.
- 14) BERGMAN, P. : *Fertil. & Steril.* 4, 183, 1953.
- 15) 高嶺 (浩) : 医学と生物学, 20, 212, 1951.