山羊の造精機能に及ぼす発熱の影響

横 木 勇 逸・小 笠 晃

(農林省家畜衛生試験場)

造精機能に及ぼす高温の影響は、夏季における環境温度の上昇時¹⁻⁴⁾や陰囊の局所的加温⁵⁻⁷⁾によって現れるだけでなく、各種の熱性疾患に継発することが知られている⁸⁾が、発熱に起因する造精障害についての詳細な報告がなく、特に精液性状の質的变化については明らかでない。本報告では山羊において人為的に発熱させた場合の精液性状の変化と発熱時における精巣および副生殖腺の組織学的変化について検討した。

実験材料及び方法

供試動物はザーネン種系雑種の成熟雄山羊 5 頭 (Nos. 1~5) である。実験は 1972 年 10 月から翌年 5 月の間に実施したが、これらの雄山羊は実験開始前に正常な性欲及び精液性状を呈していたものである。発熱物質としては FREUND のコンプリートアジュバント (ヤトロン社製) 及びヨーネ死菌を流動パラフィンに混合した自家製アジュバントを用いた。実験は発熱処置が精液性状に及ぼす影響の検討 (実験 1) と精巣、副生殖腺に及ぼす影響の検討 (実験 2) に区分して行った。

実験 1 では 4 頭の山羊 (Nos. 1~4) を用い、山羊 Nos. 1 及び 2 にはコンプリートアジュバント 1.5 ml を、Nos. 3 及び 4 には自家製アジュバント 1.0 ml をそれぞれ 1 回、頸部皮下の数個所に分けて注射した。なお No. 3 には処置後 70 日目に再度コンプリートアジュバント 1.3 ml を注射した。精液は横取法で週 1 回採取した。精液検査は慣例の方法に従って精液量、pH、精子数/ml、精子活力及び精子奇形率などを測定した。なお奇形精子の形態及び acrosomic system は緩衝ギムザ染色法⁹⁾を用いて検査した。

実験 2 の供試山羊は実験 1 に使用した山羊 Nos. 1, 3 及び 5 の合計 3 頭である。Nos. 1 及び 3 は実験 1 に使用した後それぞれ 75 日及び 150 日を経過して、精液性状

が正常に回復していたことを確かめた上で実験に供した。なお Nos. 3 及び 5 については発熱処置前 (実験 2 開始前) に 1 側精巣を摘出し、それを無処置対照の組織検査材料とした。発熱処置は実験 1 と同様にコンプリートアジュバント (1.0 ml) あるいは自家製アジュバント (0.5~1.5 ml) を頸部皮下に 2~7 日の間隔で 3~4 回注射した。3 頭の山羊はいずれも高熱持続時に屠殺解剖し、剖検後直ちに奇形精子の形態検査のために精路各部から採取した内容液について塗抹標本作製した。

生殖器官の各部位はそれぞれ細切して Bouin 液で固定し、また精巣の一部は Maximow 液で固定して組織検査に供した。組織標本はパラフィン切片を厚さ 3 μ に薄切しヘマトキシリン・エオジン染色、PAS・ヘマトキシリン・エオジン染色、ヘマトキシリン染色を施し作製した。なお精巣における精上皮周期の分類は ORTAVANT¹⁰⁾の方法に従った。

実験成績

実験 1. 発熱処置が精液性状に及ぼす影響

1) 体温の変化 (Fig. 1): 体温は No. 1 では処置後 2 日目、Nos. 3 及び 4 では処置の翌日に 40°C 以上に上昇し、それぞれ 7 日、6 日及び 4 日間稽留した。No. 2 の体温は処置後 8 日目及び 22 日目からそれぞれ 2~3 日間上昇した。なお No. 3 においては、再度の発熱処置後には明らかな体温の上昇が認められなかった。

2) 性行動及び精液性状 (Fig. 2): 高熱持続時に採精を試みた Nos. 1 及び 3 では性欲の減退が著しく、乗駕欲は全くみられなかったが、体温が平熱に復した時点でいずれも採精可能となった。

射精量及び精子数は、採取日によって変動が大きく、処置前のそれに比較して差異が明らかでなかった。また pH にも著しい変化はみられなかった。精子活力については、Nos. 1, 2 及び 3 において、発熱後 6~8 日目 (第 1 回目) に採取した精液の精子運動性は著しく低下 (15~30%) したことが注目された。しかし No. 4 の精子活力は発熱直後には変化がなく 20 日後 45% に低下した。発熱によって低下した精子活力は、No. 1 では発

Effects of hyperthermia on semen production in goats.

YOKOKI, Yuitsu & Akira, OGASA (National Institute of Animal Health, Kodaira, Tokyo, 187)

Japan. J. Anim. Reprod. 23 (3), 1977.

Fig. 1. Body temperature of goats injected s.c. with adjuvant (Exp. 1).

熱後 15 日目, No. 3 では同じく 20 日目に処置前の値に回復した。また No. 4 の精子活力は, その低下後約 20 日を経過してからほぼ処置前の状態に達した。なお No. 2 は処置後 8 日目の第 1 回目の発熱後, 約 2 週間を経て再び発熱したが, この際には 40°C 以上の高熱が数日間持続したにもかかわらず精子活力は 50% を示し, その著しい低下はみられなかった。精子奇形率は Nos. 1 及び 3 において精子活力の低下時にそれぞれ 19.5% 及び 22.0% に増加した。この増加した奇形精子の形態は殆ど頭部遊離精子であった (Fig. 3)。また acrosomic system の異常形態に関しては, 頭帽欠損精子の増加が著しく, No. 1 では 18%, No. 3 では 32% を占めた。なおこの頭帽の欠損は頭部遊離精子の 83~95% に認められた。No. 2 においては第 1 回目の発熱後に著しい活力の低下が認められたにもかかわらず頭部遊離精子の増加がなく, 頭帽欠損精子の著しい増加 (33.0%) が認められた。しかし第 2 回目の発熱後には逆に頭帽欠損精子の増加がなく, 頭部遊離精子 (11.5%) の増加が観察された。No. 4 では精子活力は低下したが奇形精子の増加はみられなかった。

実験 2. 発熱処置が精巣, 副生殖腺に及ぼす影響

1) 体温の変化: 体温の上昇が Nos. 1, 3 及び 5 のいずれにおいても処置の翌日に認められた。屠殺解剖は 39.8~41.4°C の高熱が数日以上稽留した後, すなわち No. 1 は 15 日間, No. 3 は 6 日間, No. 5 は 4 日間持続した後にいった。

2) 性行動及び精液性状: Nos. 1 及び 3 は性欲の減退は認められたが, 採精は可能であった。No. 5 は発熱により食欲は減退し乗駕欲を全く示さなかったので採精できなかった。No. 1 は精子活力の低下, 頭部遊離精子及び頭帽欠損精子の増加など精液性状の異常所見を呈した。No. 3 では 1 側精巣摘出による精子数の減少のほかは, 精液性状には明らかな影響はみられなかった。

3) 精路各部位における奇形精子の出現: 精巣上体各部に存在する精子には, 高熱稽留期間が長いものにおいても, 対照の摘出精巣側に比較して奇形率の増加は認められなかった。しかし骨盤部の精管及び精管膨大部に存在する精子については, いずれの山羊も頭部遊離精子, 頭帽欠損精子の増加が注目された (Table 1)。

4) 生殖器の組織学的検査: 精巣組織については, 各

Fig. 2. Effects of hyperthermia on semen characters in goats (Exp. 1).

山羊に精巣間質に軽重様々な程度の浮腫が認められた。高熱持続期間の短い No. 5 では、精上皮周期の stage 1~2, 7~8 の精細管腔の多くに精子細胞の剝離脱落が認められた (写真 1)。しかし精上皮周期 stage 1 における各精子細胞数には著しい影響はみられなかった (Table 2)。これに対し高熱が2週間以上持続した No. 1 では精細管の約 40% に精上皮細胞の剝離脱落が観察され、精子細胞 (step 7) の減少が認められた。また写真 2 に示した様に精子細胞が部分的に殆ど消失し、セルトリ細胞のみ残存する精細管も散見された。

副生殖器官においては、一般に間質の浮腫性肥厚が著しく精巣輸尿管、精管、精管膨大部の上皮細胞には共通して軽度の萎縮を示す退行性変化が認められた。Nos. 1 及び 3 の精囊腺、尿道球腺には、間質の線維性結合織の

Fig. 3. Relationships between hyperthermia and semen characters in goats (Exp. 2).

増生、腺胞の萎縮、腺腔内における分泌液の欠如などが観察され、腺上皮細胞は扁平となり核濃縮を呈するものや剝離変性しているものが認められた (写真 4, 6)。しかし No. 5 においては上記の所見が軽度であった (写真 3, 5)。

5) 注射部位の組織変化: 発熱物質を注射した翌日すべての山羊において注射部位に紅斑、腫脹が認められた。これらの中にはその後注射部位に痒覚を生じ、その部位を棒柵で機械的に摩擦したために痂皮を形成し、あるいはまた漿液性化膿性液を滲出するものも認められた。

Table 1. Abnormal spermatozoa in seminal tracts of goats affected hyperthermia (Exp. 2)

Goat No.	Location of smear	Epididymis			Pars Pelvina deferent duct	Ampulla duct
		caput	corpus	cauda		
1	R	A	12.3	18.3	27.3	37.2
		B	0.5	0.5	25.1	42.7
	L	A	17.6	13.6	34.8	30.4
		B	0	0.4	29.8	36.6
3	R	A	5.0	10.8	2.4	26.7
		B	6.0	0	10.3	48.3
	L (cont.)	A	9.2	12.0	—	—
		B	1.6	2.8	—	—
5	R	A	19.6	14.2	33.3	17.4
		B	2.5	2.4	16.9	21.6
	L (cont.)	A	7.0	2.0	—	—
		B	1.5	0.4	—	—

A: Tailless head (%), B: Defects of acrosomic system (%)

L: Left side of epididymis in Nos. 3 and 5 removed before fever treatment as untreated control specimen.

R: Right side.

Table 2. Effects of hyperthermia on spermatogenesis in goats (Exp. 2)

Goat No.		Type A Spermatogonia	Preleptotene Spermatocyte	Pachytene	Spermatids Step 7	Sertoli cells
1	R	1.0±1.0 (0.06)	16.9±6.2 (0.96)	31.8±6.5 (1.82)	80.7±18.6 (4.30)	17.5±2.6
	L					
3	R	1.6±1.2 (0.09)	13.6±2.5 (0.79)	20.3±3.2 (1.17)	46.4±7.8 (2.68)	17.3±2.8
	L (cont.)	1.4±1.0 (0.07)	16.0±5.4 (0.77)	22.3±3.2 (1.07)	73.6±22.3 (3.54)	20.8±4.2
	L (cont.)					
5	R	1.6±1.0 (0.08)	31.8±11.6 (1.59)	54.5±11.4 (2.73)	106.9±33.4 (5.37)	19.9±3.8
	L (cont.)	1.6±1.2 (0.08)	26.6±8.6 (1.4)	46.3±12.2 (2.46)	111.1±24.7 (5.9)	18.8±4.9
	L (cont.)					

Figure shows number of germ cells in stage I of seminiferous epithelial cycle.

(): Number of germ cells per sertoli cell

See the footnote of table 1.

No. 1 におけるこの部位の組織学的検査では皮下組織の著しい線維性の増殖，多形核白血球の浸潤及び小膿瘍の形成などの炎症性変化が認められた（写真 7）。

考 察

高温環境下で飼養された牛及び緬羊の精液にみられる異常所見は，一般に精子活力の低下，精子奇形率の増加とその後に起こる精子濃度の減少であり，また出現する奇形精子の形態は頭部奇形，尾部奇形，頭部遊離精子などであると報告されている^{1-3, 6, 7, 11}。本実験においては全身的な発熱処置によって精子活力の低下および精子奇

形率の増加が示されたが精子濃度には明らかな影響はなく，また奇形精子の形態は頭部遊離精子と acrosomic system 欠損精子の増加が特徴的であった。さらに異常精液の発現は発熱後 6～8 日目で起こり，15～20 日前後には正常に復することから高温飼育実験に比べ，その発生および回復が若干早く現れることが認められた。この様に精液性状に及ぼす影響が，牛の陰嚢を被覆して熱の放散を遮断した実験⁷ や牛，緬羊を人工気象室で飼育した実験¹¹⁻¹⁵ における成績と若干異なることは，精巣上体が直接外界からの高温の影響を受けて障害を受けた場合と腹腔内性器すなわち精管および精管膨大部に存在する

精子が一時的に高熱の影響を受けた場合とでは奇形精子の発現状況が異なることを意味している。さらに精管、精管膨大部、精囊、尿道球腺の上皮細胞にいずれも退行変性像が観察されたことから、これらの組織変化に伴って生ずる異常分泌液も発熱後早期に現れる精子活力の低下、精子奇形率の増加になんらかの関係を持つものと推測される。また本実験において精巣上体に存在する精子の形態に対して発熱の影響がみられなかったのは、この実験が秋季から春季にかけて行われたために、外気温による陰囊の冷却と活発な陰囊の温度調節が有効に働いたものと推察される。発熱が精巣組織に及ぼす影響については、高熱が長期間持続した場合には、高温飼育および陰囊加温実験で観察されていると同様に精細胞の分裂増殖の阻害、細胞数の著しい減少が認められた。しかし高熱持続期間が短い場合には、精子細胞が管腔内に軽度剥離するにとどまりその影響は軽い様に思われた。なお本実験においては発熱の有無、熱型および高熱持続期間は個体によって著しい違いが認められた。これはアジュバントに対する感受性の差あるいは注射部位からの二次的な細菌感染による皮膚炎に関係するものと思われた。

要 約

山羊においてコンプリートアジュバントあるいは自家製アジュバントの皮下注射により発熱を誘起し、この処置が造精機能に及ぼす影響を検討して次の成績を得た。

1) 精液性状において射精量、精子数に著しい変化は認められなかったが、精子活力の低下、精子奇形率の増加が観察された。これらの精液の異常所見は発熱後 6~8 日目に出現し、15~20 日目に回復することから、発熱処置の造精機能に及ぼす影響は短期間であることを認めた。また奇形精子の形態は頭部遊離精子および頭帽欠損精子であった。

2) 奇形精子の発現は骨盤部の精管および精管膨大部にみられたが、精巣上体には認められなかった。

3) 精巣組織においては、発熱期間が短い場合にも精子細胞や精母細胞の剥離脱落が認められたがその影響は

軽度であった。発熱期間が長い場合には精細胞の剥離変性と精細胞数の減少が著明であった。

4) 副生殖腺組織においては間質の浮腫、上皮細胞の退行変性が認められた。特に発熱期間が長い場合には精囊腺、尿道球腺の間質に線維性結合組織の増殖による著しい肥厚、腺胞には上皮細胞の剥離、核濃縮などの変性像が認められたが精巣上体に対する影響は軽微であった。

おわりに、ご校閲をいただいた当場保健衛生研究室中原達夫室長に深謝致します。(1976.11.17 受付)

文 献

- 1) ERB, R. E., F. N. ANDREWS & J. H. HILTON: *J. Dairy Sci.* 25, 815, 1942.
- 2) MERCIER, E. & G. W. SALISBURY: *J. Dairy Sci.* 30, 747, 1947.
- 3) GUN, R. H. C., R. N. SANDERS & W. GRANGER: *Bull. Coun. Sci. Ind. Res. Melb.* (148), 53, 1942.
- 4) MOULE, G. R. & B. KNAPP: *Austral. J. Agric. Res.* 1, 456, 1950.
- 5) STEINBERGER, E. & W. J. D. DIXON: *Fertil. & Steril.* 10, 578, 1959.
- 6) ZABA-BRANNY, A.: *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych* (124), 71, 1972.
- 7) GUSTAFSSON, B.: *Acta. Vet. Scand. Suppl.* 17, 58, 1966.
- 8) MACLEOLD, J. & R. S. HOTCHKISS: *Endocrinology*, 28, 780, 1941.
- 9) 大沼(秀): 畜試研報 (3), 105, 1963.
- 10) ORTAVANT, R., M. COUROT & M. T. HOCHEREAU: in *Reproduction in Domestic Animals* (COLE, H. H. & P. T. CUPPS eds.) 2Ed. p. 251, Academic Press, 1969.
- 11) 岡本(昌)・石井(尚)・向井(彰): 家畜繁殖誌 5, 22, 1959.
- 12) SMITH, I. F.: *Austral. J. Agric. Res.* 22, 481, 1971.
- 13) RATHORE, A. K. & N. T. M. YEATES: *Vet. Rec.* 81, 343, 1967.
- 14) RATHORE, A. K.: *Brit. Vet. J.* 126, 277, 1970.
- 15) CASADY, R. B., R. M. MYERS & J. E. LEGATES: *J. Dairy Sci.* 36, 14, 1953.

Summary

Spermatogenic function of goats followed by pyrogenic reaction with FREUND's complete adjuvant or mixture of liquid paraffin and dead cell of *mycobacterium Johnei* was investigated.

1) There were no remarkable changes in the volume of semen and number of sperm, though the motility of sperm was reduced and the percentage of abnormal sperm was increased. These abnormal findings of the semen characters appeared between 6~8 days and 15~20 days after hyperthermia. It was suggested that the effect of the induced fever on the spermatogenic function should passed away for a short period. The morphological changes of abnormal sperm were characterised mainly by tailless and partial or complete loss of acrosomic system.

2) The abnormal sperm appeared in the deferent ducts located in the pelvis and the ampulla, but not in the epididymides.

3) When the fever continued for a short duration, the mild desquamation of the spermatocytes and spermatid in the seminiferous tubule were observed. However, the degenerative changes and decrease of the germ cells were remarkable, when the fever continued for long time.

4) Edema of the interstitium, degeneration of the glandular epithelium were also found in the accessory reproductive organs. Especially, in the seminal vesicles and the bulbourethral glands, thickenes of interstitium caused by proliferation of the fibrous connective tissues and the degenerative pictures such as, atrophy of acini, sloughing and pycnosis of the epithelial cells were observed when the fever continued for a long time. But the effects of fever on the epididymis were slight.

Explation of Plates

Fig. 1. Testis of goat No. 5 which had been fevered for 5 days. Spermatogenesis is active, but not normal sloughing of immature cell into the lumens.

Hematoxylin and Eosin (H-E) staining, $\times 100$

Fig. 2. Testis of goat No. 1 which had been fevered for 15 days. Germinal epithelium shows degenerative changes. H-E staining, $\times 100$

Fig. 3. Seminal vesicles of goat No. 5. Degenerative epithelial changes. H-E staining, $\times 400$

Fig. 4. Seminal vesicles of goat No. 1. Degenerative epithelial changes and thickening of intra-lobular septa. H-E staining, $\times 400$

Figs. 5 & 6. Atrophy of bulbourethral gland alveoli of goat Nos. 5 & 1. H-E Staining, $\times 100$

Fig. 7. Formation of abscess in the areas injected with adjuvant in goat No. 1. H-E staining, $\times 50$

Fig. 8. Sperm with tailless head and defects of acrosomic system in semen of goat No. 1 which had been fevered for 7 days.

Giemsa staining, $\times 400$

PLATE