

氏 名 (本籍) はし つめ つとむ
 橋 爪 力

学 位 の 種 類 農 学 博 士

学 位 記 番 号 農 第 286 号

学位授与年月日 昭和 60 年 3 月 14 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

学位論文題目 プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ の家畜精液中
 における出現と作用について

論文審査委員 (主 査)

教授 正 木 淳 二 教授 勝 野 正 則

教授 堀 口 雅 昭

論文内容要旨

プロスタグランジン(Prostaglandin : PG)は五員環と2つの長側鎖をもつ炭素数20の高級不飽和脂肪酸である。本物質は、発見された当初(1930年代)は人精液中に存在する平滑筋収縮物質と考えられていたが、生理作用についての研究が進むに従い(1960年以降)、生体内において多彩な作用を有することが明らかになってきた。生殖系においても例外ではなく、本物質が生殖機能発現に重要な役割を演じていることが示されている。

家畜の繁殖領域では、PGF_{2α} の生理作用が特に注目されてきた。すなわち雌性家畜では、PGF_{2α} が黄体退行作用、子宮・卵管収縮作用、分娩誘発作用を発現し、動物種によっては排卵誘起作用や性腺刺激ホルモン放出作用も認められている。特に黄体退行作用については、これを利用して現在、牛、馬の発情同期化や繁殖障害の治療、豚の分娩誘起などが技術化されるに至っている。これに対し、雄性動物におけるPGF_{2α} の生理作用については、PG発見の動機が人精液および雄性副生殖器であったにもかかわらず、まだほとんど解明されていない。また、家畜の場合、精液中へのPGF_{2α} の出現は羊でよく知られているが、他の主要家畜ではまだ確認されていない。

このような理由から、本研究は家畜におけるPGF_{2α} の精液出現と雄性生殖器系における作用を明らかにしようとして着手された。また、供試動物としては主要家畜であり、射精の様式、精液の物理的および化学的性状、精子の代謝能等において明らかな違いが指摘されている牛および豚を用いて検討した。

I 牛および豚精液中におけるPGF_{2α}の出現について

牛および豚精漿中のPGF_{2α} 濃度をラジオイムノアッセイで測定した結果、牛精漿中のPGF_{2α} 濃度は0.08~1.37ng/ml で、34頭34例の平均値は0.79ng/mlであった(表1)。また豚精漿中のPGF_{2α} 濃度は0.06~1.44ng/mlで、17頭17例の平均値は0.58ng/mlであった(表2)。牛および豚精漿中のPGF_{2α} 濃度は個体差が大きく、品種および年齢による差は明らかでなかった。また精漿中のPGF_{2α} 濃度と精液量、精子数(精液1.0ml中および全精液中の精子数)、精子活力、精子アクロソーム異常率との間には有意な相関が見られなかった(図1)。

II 牛および豚精液中PGF_{2α}の由来について

牛および豚精漿中に出現するPGF_{2α} の由来を明らかにするため、雄牛5頭、雄豚3頭の精漿、精のう腺液ならびに精巢上部尾部漿液中のPGF_{2α} 濃度を測定するとともに、両動物種、各9頭から得た精液を用い、精漿中の果糖濃度とPGF_{2α} 濃度との関係をしらべた。牛の精のう腺液中のPGF_{2α} 濃度は精漿および精巢上部尾部漿液中の濃度に比べてきわめて高い値(平均値で精漿

中の値の約100倍)を示した。また精巢上体尾部漿液中のPGF_{2α}濃度は5頭中3頭において精漿と同程度の値を示した(表3)。豚精のう腺液中のPGF_{2α}濃度は牛精のう腺液中の濃度に比べて著しく低い値(平均値では約 $\frac{1}{360}$)を示した。また豚精のう腺液中のPGF_{2α}濃度は精漿中の濃度に比べていく分高くなる傾向を示したが、その差は牛の場合に比べるときわめて小さかった。豚では精巢上体尾部漿液中のPGF_{2α}濃度が精漿および精のう腺液中の濃度に比べて高い値を示した(表4)。精漿中PGF_{2α}濃度と果糖濃度の間には正の相関が牛で認められたが($r = 0.865$, $P < 0.01$), 豚では認められなかった(表5)。これらの結果から、牛精漿中のPGF_{2α}は主として精のう腺に由来すると考えられた。また、豚の場合は牛のような特徴が見られなかったが、各副生殖腺液の分泌量を考慮すると、精のう腺の関与を無視できないと思われた。

Ⅲ 牛および豚精子の生存性と代謝能に及ぼすPGF_{2α}の影響について

PGF_{2α}の働きの一つに精子に対する作用が考えられるので、PGF_{2α}を0(対照), 1, 10および1000 ng/ml 添加したRinger-fructose液で牛および豚精子を希釈して37℃に3時間インキュベートし、PGF_{2α}が両動物種の精子生存性および代謝能に及ぼす影響を検討した。その結果、この濃度では牛および豚精子の生存性、酸素消費量、果糖消費量および乳酸蓄積量にはPGF_{2α}の影響は認められなかった。

Ⅳ 牛および豚の精液性状に及ぼすPGF_{2α}投与の影響について

PGF_{2α}を雄牛に投与してその働きを明らかにしようとした。すなわち、定期的に精液採取を行っているホルスタイン種7頭にPGF_{2α}30 mgおよび60 mgを臀筋内に注射し、1時間後に精液採取を行い、乗駕欲を観察するとともに、採取精液の性状を対照区と比較した。また、採取精液の一部を液状および凍結保存し、精子の生存性についても検討した。その結果、乗駕欲に対するPGF_{2α}の影響はとくに認められず、また精液の量、pH、浸透圧、採取時の精子活力およびアクロソーム異常率に対する影響も認められなかった。しかしながら、精子数は一般にPGF_{2α}により増加する傾向が見られた。すなわち、精液1 ml中の精子数は30 mgの注射で増加傾向が認められ、60 mgでは平均43%増加した($P < 0.05$)。1射精の精子総数においても、30 mgおよび60 mg注射区とも精子数の増加傾向が認められた。精漿中PGF_{2α}濃度は30 mgおよび60 mgの注射により、それぞれ平均44%および53%増加した($P < 0.01$)(表6)。PGF_{2α}注射後採取した精液を液状および凍結保存しても、精子生存性には対照区との間に有意差は見られなかった(表7)。

同様な実験を豚でも試みた。すなわち、3日間隔で精液採取を行っているランドレース種3頭

に PGF_{2α} を 6, 12 および 18 mg 臀筋内に注射し, 1 時間後に精液採取を行い, 精液採取時の乗駕欲および射精時間について観察するとともに, 採取精液の性状を対照区と比較した。また, 豚精液では精子数の約 8 割が分画採取時の濃厚部精液に含まれるので, ランドレース種 2 頭およびランドレース種と大ヨークシャー種との交雑種 1 頭に PGF_{2α} 12 mg を注射し, 濃厚部精液の性状に及ぼす影響を検討した。その結果, PGF_{2α} の注射により, 乗駕欲がやや高進したほか, 陰茎が早期に勃起した個体, 精液の射出が異常に激しくなる個体が観察された。しかし, 精液の PH, 浸透圧, 採取時の精子活力およびアクロソーム異常率には影響は認められなかった。精液 1 ml 中の精子数は, PGF_{2α} 12 mg および 18 mg の注射によって, いずれも対照区に比べ有意に増加した ($P < 0.05$)。また全精液中の精子数は 12 mg 注射時に有意に増加した ($P < 0.05$)。精液中の PGF_{2α} 濃度は注射量の増加に伴って高くなり, PGF_{2α} 注射量との間には正の相関が見られた ($r = 0.96$, $P < 0.05$)。濃厚部精液では PGF_{2α} 12 mg の注射により射精時間が有意に延長するとともに精液量および総精子数が有意に増加した ($P < 0.01$)。しかしながら, 全精液でみると, 射精時間および精液量には有意差が見られなかった (表 8)。PGF_{2α} 注射区の濃厚部精液を 15℃ に液状保存した場合, 精子の生存性には対照区との間に有意差が見られなかった (表 9)。

V 牛および豚の精巣, 精巣上体ならびに精管の収縮性に及ぼす PGF_{2α} の影響について

雄牛に PGF_{2α} を投与すると射出精液中の精子数が増加したことから, 射精機構への PGF_{2α} の関与が推察された。その機序としては PGF_{2α} の平滑筋収縮作用が考えられるので, 雄牛 4 頭から摘出した精巣, 精巣上体および精管の各標本をマグヌス恒温槽 (33℃) に装着して, Tyrode 液中に PGF_{2α} を添加 (10^{-7} , 10^{-6} および 2×10^{-5} g/ml) したときの収縮性をキモグラフィオンを用いて観察した。その結果, 精巣の実質と縦隔には PGF_{2α} に対する収縮性は認められなかったが, 精巣上体頭部と体部は 10^{-6} g/ml 以上で, 尾部は 10^{-7} g/ml 以上で, また精管は 2×10^{-5} g/ml の添加でそれぞれ収縮反応 (図 2) を示すことが明らかになった。各部位で最も多く見られたのは持続性の収縮であり, リズミカルな収縮弛緩運動は精巣上体尾部と精管の一部でわずかに観察され, 一過性の収縮は主として精管で観察された。また, 精巣上体尾部と精管の収縮の程度は精巣上体頭部と体部に比べて一般に大きかった (表 10)。

雄豚の場合も PGF_{2α} の投与によって射出精液中の精子数が増加したことから, 牛と同様に PGF_{2α} に対する雄生殖道組織の反応をしらべた。その結果, 精巣 (実質と縦隔) では明らかでなかったが, 精巣上体と精管では 10^{-7} g/ml の添加でわずかな収縮反応が認められ, 10^{-6} g/ml 以上の添加で顕著な収縮反応が示された。収縮の型式のうち, 最も多く見られたのは持続性の収縮

縮で、リズムカルな収縮弛緩運動は精巢上体尾部において、一過性の収縮は主として精管で観察された。収縮の程度は精巢上体尾部と精管が精巢上体頭部と体部に比べて大きかった ($P < 0.05$) (表 11)。

牛および豚精液中への $\text{PGF}_{2\alpha}$ の出現については古くから論議されてきたが、本研究の結果より、両動物種の精液にも微量ではあるが本物質の出現が確認された。また、その由来は牛においては主として精のう腺であり、豚においても精のう腺の関与を無視できないことがわかった。 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の生理作用については、精液中 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 濃度と他の精液性状との関係、精子の生存性ならびに代謝能に及ぼす影響を検討した限りでは、その役割を明らかにすることはできなかった。しかしながら、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ を牛および豚に投与すると射出精液中の精子数が増加したことから、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ は両動物種の射精機構に関与していることが考えられた。この結果は両動物種の精巢上体尾部漿液中に $\text{PGF}_{2\alpha}$ が存在すること、また精巢上体から精管にかけて $\text{PGF}_{2\alpha}$ に対する強い収縮反応が認められたことから裏付けられた。

また、牛の精のう腺液中には精漿濃度の約 100 倍に相当する $\text{PGF}_{2\alpha}$ が含まれていることが明らかになったが、この $\text{PGF}_{2\alpha}$ は雄性生殖器系の構造からみて、放出後はおそらく精管膨大部以降の生殖道に作用し、牛精液の瞬間的な射出の機構に関与しているものと推察される。

牛および豚精液中の PG は報告の多い羊精液に比べて濃度が著しく低いが、本研究の結果は牛および豚の雄性生殖器系における $\text{PGF}_{2\alpha}$ の動態について新たな知見を加えたものとする。

Table 1 Concentrations of PGF_{2α} in seminal plasma and other semen properties in bull semen.

	PGF _{2α} conc. (ng/ml)	Semen volume** (ml)	Viability index of sperm	pH	Sperm number (×10 ⁶)		Acrosomal abnormality (%)
					Per ml	Per ejaculate	
Mean*	0.79	10.0	78	6.2	11.8	117	14.5
Range	0.08-1.37	6.1-16.0	15-93	6.0-6.6	2.72-23.50	27-352	5.6-54.5

*Mean of 34 ejaculates from 34 bulls. **Total of two successive ejaculates.

Table 2 Concentrations of PGF_{2α} in seminal plasma and other semen properties in boar semen

	PGF _{2α} conc. (ng/ml)	Semen volume		Viability index of sperm	pH	Osmotic pressure (m OSM)	Sperm number (×10 ⁶)	
		Liquid portion (ml)	Gelatinous materials (g)				Per ml	Per ejaculate
Mean*	0.58	251	59	82	6.8	307	2.49	526
Range	0.06-1.44	66-590	15-118	78-90	6.6-7.2	299-322	0.79-9.40	144-1027

*Mean of 17 ejaculates from 17 boars.

Table 3 Concentrations (ng/ml) of PGF_{2α} in seminal plasma, vesicular fluid and cauda epididymal plasma of bulls.

Bull no.	Seminal plasma	Vesicular fluid		Cauda epididymal plasma
		Right	Left	
1	1.15	150.68	136.30	1.20
2	0.38	66.21	26.26	3.09
3	0.53	17.12	47.95	0.50
4	0.48	27.97	32.76	0.33
5	0.10	3.08	8.79	—
Average	0.53	53.01	50.41	1.28

Table 4 Concentrations (ng/ml) of PGF_{2α} in seminal plasma, vesicular fluid, and cauda epididymal plasma of boars.

Boar no.	Seminal plasma	Vesicular fluid		Cauda epididymal plasma
		Right	Left	
1	0.08	0.13	0.08	0.35
2	0.06	0.12	0.20	0.86
3	0.10	0.11	0.21	—
Average	0.08	0.12	0.17	0.61

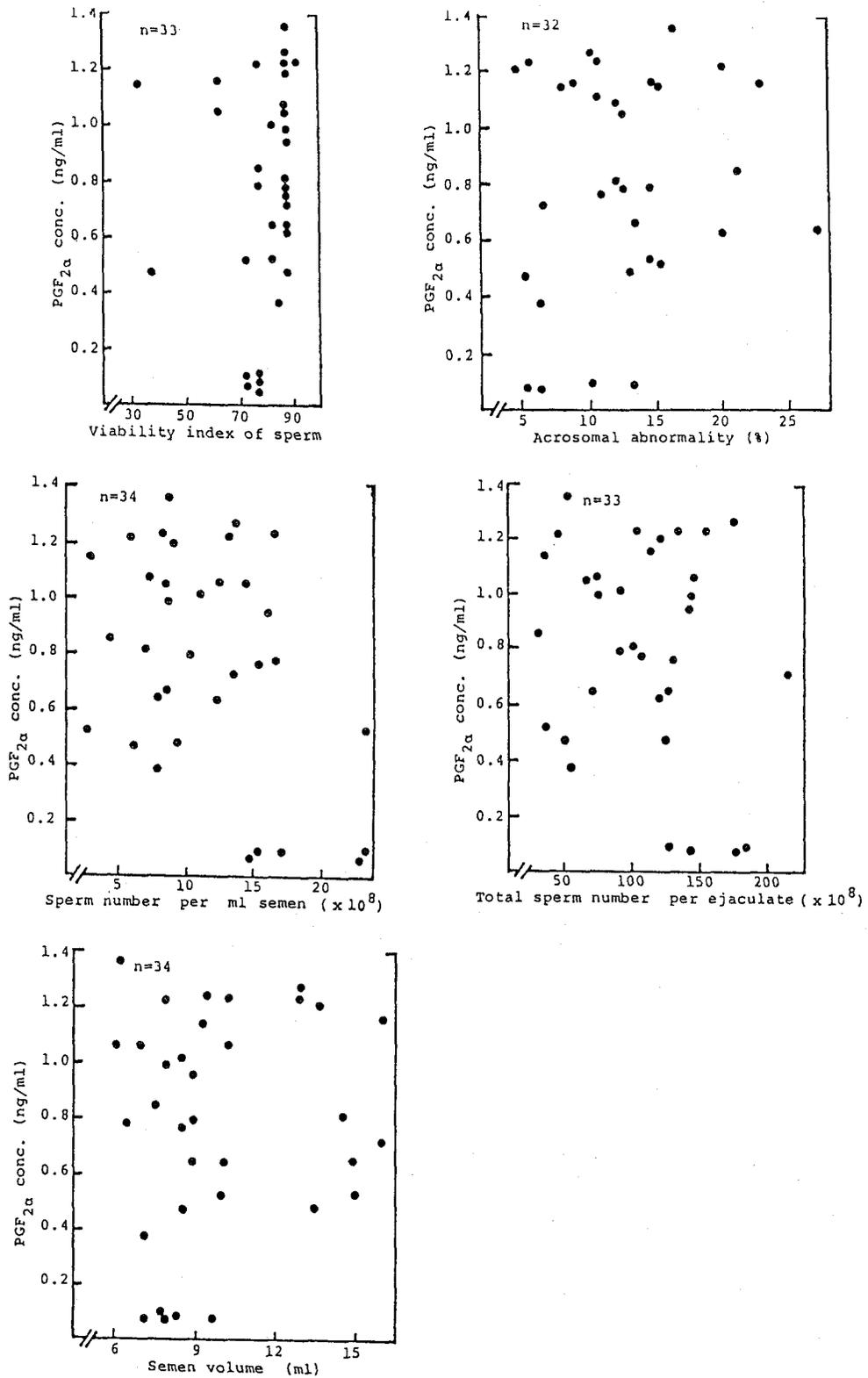


Fig. 1. The relationship between the PGF_{2α} concentrations in bull seminal plasma and other properties of semen.

Table 5 Concentrations of PGF_{2α} and fructose in seminal plasma of bulls and boars.

Animal no.	Bull		Boar	
	PGF _{2α} *	Fructose**	PGF _{2α} *	Fructose**
1	1.15	983	0.08	50.6
2	0.38	667	0.06	12.1
3	0.53	841	0.10	16.6
4	0.48	755	0.88	—
5	0.10	47	0.25	3.6
6	0.10	420	0.18	2.2
7	0.09	471	0.16	34.5
8	0.08	226	0.14	94.9
9	0.08	271	0.06	1.7
Average	0.33	520	0.21	27.0

*ng/ml, **mg/dl. A significant correlation was found between concentrations of PGF_{2α} and fructose in bulls ($r=0.865$, $P<0.01$).

Table 6 Effect of PGF_{2α} injection on properties of bull semen.

Treatments (Injection with)	PGF _{2α} conc. (ng/ml)	Semen* Volume (ml)	Sperm number per		pH	Osmotic pressure (mOSM)	Viability index of sperm	Acroso- mal abnorma- lity (%)
			ml	ejaculate ($\times 10^6$)				
Solvent (control-I)	0.43 \pm 0.06 ^a	12.7 \pm 1.8	9.4 \pm 3.9	121.4 \pm 56.8	6.2 \pm 0	293 \pm 8	88 \pm 2	4.7 \pm 1.9
30 mg PGF _{2α}	0.62 \pm 0.15 ^{a'}	12.6 \pm 2.7	10.7 \pm 3.0	135.6 \pm 54.1	6.2 \pm 0	291 \pm 4	86 \pm 3	4.2 \pm 1.1
Solvent (control-II)	0.57 \pm 0.14 ^b	11.2 \pm 2.5	7.7 \pm 1.3 ^c	87.3 \pm 26.4	6.2 \pm 0	286 \pm 7	85 \pm 2	5.1 \pm 1.9
60 mg PGF _{2α}	0.87 \pm 0.27 ^{b'}	11.4 \pm 3.9	11.0 \pm 3.1 ^{c'}	126.5 \pm 56.1	6.2 \pm 0	297 \pm 8	87 \pm 2	4.8 \pm 1.2

Each value is expressed as mean \pm SD from 7 ejaculates from 7 bulls.

a was significantly different from a' ($P<0.01$).

b was significantly different from b' ($P<0.01$).

c was significantly different from c' ($P<0.05$).

* Total of two successive ejaculates.

Table 7 Post-thawing viability of bull spermatozoa incubated at 37°C.

Treatments (Injection with)	Incubation period (hours)						
	0	1	2	3	4	5	6
	(Viability index of sperm)						
Solvent (control-I)	47 \pm 5	52 \pm 8	45 \pm 18	34 \pm 22	29 \pm 23	23 \pm 20	13 \pm 18
30 mg PGF _{2α}	50 \pm 5	59 \pm 4	55 \pm 7	48 \pm 13	41 \pm 19	13 \pm 17	21 \pm 17
Solvent (control-II)	51 \pm 3	57 \pm 3	55 \pm 5	51 \pm 9	42 \pm 15	29 \pm 21	20 \pm 21
60 mg PGF _{2α}	54 \pm 5	60 \pm 3	58 \pm 4	53 \pm 6	48 \pm 11	38 \pm 19	25 \pm 18

Each value is expressed as mean \pm SD from 7 ejaculates from 7 bulls.

Table 8 Effect of PGF_{2α} injection on duration of ejaculation, semen volume and sperm number in the sperm rich fraction and the whole ejaculates of boars.

Item	Semen	Control	12 mg PGF _{2α}
Duration of ejaculation (seconds)	(1)	24.7±7.1	32.5±9.3**
	(2)	500.6±125.7	535.7±154.0
Semen volume (ml)	(1)	34.2±7.8	43.8±7.6**
	(2)	288.5±41.4	317.8±7.6
Sperm number per ml (×10 ⁵)	(1)	12.8±3.3	13.9±2.4
	(2)	2.2±0.3	2.7±0.6*
Sperm number per ejaculate (×10 ⁵)	(1)	418.3±88.5	600.2±117.4**
	(2)	624.2±66.6	833.6±178.6**

(1) Sperm rich fraction.

(2) Whole ejaculates.

Each value is expressed as mean±SD from 15 ejaculates from 3 boars.

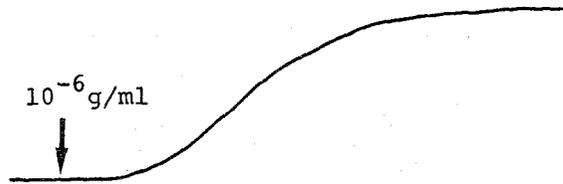
*(*P*<0.05) and **(*P*<0.01) Significantly different from control value.

Table 9 Effect of PGF_{2α} injection on viability of boar spermatozoa stored at 15 °C

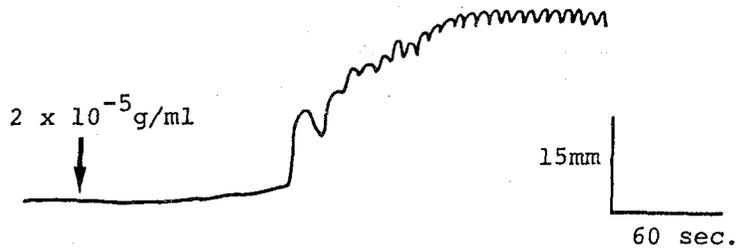
Treatments	Days of storage							
	0	1	2	3	4	5	6	7
	(Viability index of sperm)							
Control	84±2	80±4	75±4	70±5	58±15	42±19	30±21	18±17
12 mg PGF _{2α}	84±3	78±2	75±2	71±4	65±6	54±9	42±13	26±12

Each value is expressed as mean±SD from 9 ejaculates from 3 boars.

- (1) Tonic contraction
(The tail of the epididymis in Bull 1.)



- (2) Rhythmical contraction
(The vas deferens in Bull 3.)



- (3) Phasic contraction
(The tail of the epididymis in Bull 3.)

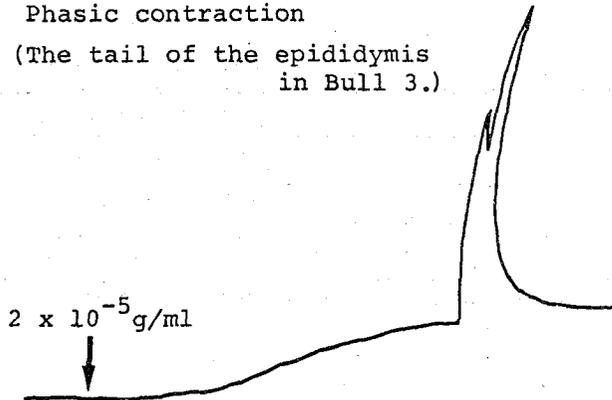


Fig. 2. The type of contraction of bull testis, epididymis and vas deferens observed. (1) Tonic contraction was observed in many preparations in the epididymis and the vas deferens in each bull. (2) Rhythmical contraction was observed in the tail of the epididymis (Bull 2, 4) and the vas deferens (Bull 3). (3) Phasic contraction was observed in the tail of the epididymis (Bull 3) and the vas deferens (Bull 1, 3, 4). Arrows indicate addition of $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Table 10. Effect of PGF_{2α} on the contractility of bull testis, epididymis and vas deferens.

PGF _{2α} (g/ml)	Bull no.	Testis		Epididymis			Vas deferens							
		Paren- chyma	Mediasti- num	Head	Body	Tail			1	2	3			
						1	2	3						
10 ⁻⁷	1	-	-	-	-	t- 3	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	r- 2	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻⁶	1	-	-	-	t-10	t-26	t- 4	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	t* 3**	t- 4	r-14	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	t- 3	t- 3	t- 9	t- 9	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	t-10	t- 3	-	-	-	-	-	-	-
2 x 10 ⁻⁵	1	-	-	-	t-33	t-40	t-26	t-10	t-20	p-28	p-29	-	-	-
	2	-	-	t-13	t-10	r-32	t- 8	t- 3	t-11	t-12	t-23	-	-	-
	3	-	-	t- 2	t-16	t-22	t-37	p-63	r-29	t- 9	p-37	-	-	-
	4	-	-	t-13	t- 8	t-35	t-47	r-89	t- 3	t-10	p-36	-	-	-

* Type of contraction (t:tonic contraction, r:rhythmical contraction, p:phasic contraction),

** Hight of contraction (mm), - Negative response.

Table 11. Effect of $PGF_{2\alpha}$ on the contractility of boar testis, epididymis and vas deferens.

PGF _{2α} (g/ml)	Boar no.	Testis		Head	Body	Epididymis			Vas deferens									
		Paren- chyma	Mediasti- num			Tail	Tail	Tail	1	2	3	1	2	3				
															1	2	3	
10 ⁻⁷	1	-	-	-	-	t-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2	-	-	t* f**	t-1	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	p-12
10 ⁻⁶	1	-	-	t-4	t-2	t-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t-15
	2	-	-	t-6	t-4	t-9	r-19	t-13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t-8 p-33 t-7
	3	-	-	t-1	t-2	r-6	p-26	t-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	p-102 p-41 p-83
2 x 10 ⁻⁵	1	-	-	t-12	t-4	r-20	-	t-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	t-53
	2	-	t-3	t-18	t-11	t-18	r-40	p-63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	p-60 p-67 p-48
	3	-	-	t-3	t-3	r-15	p-44	t-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	p-97 p-62 p-107

* Type of contraction (t:tonic contraction, r:rhythmical contraction, p:phasic contraction, s:spontaneous movement), ** Hight of contraction (mm), - Negative response.

審 査 結 果 の 要 旨

家畜の繁殖領域におけるプロスタグランジン (PG) の生理作用については、特に $\text{PGF}_{2\alpha}$ の黄体退行作用がよく知られており、これを利用して発情や分娩の調整が広く行われている。しかし、雄性家畜における PG の生理作用については、ほとんど解明されておらず、精液中への出現についても、羊以外はまだ確認されていない。

著者は、主要家畜である牛および豚について、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の精液中への出現と作用を検討し、次の知見を得た。

ラジオイムノアッセイで測定した結果、牛、豚の精液には 1 ng/ml 前後の微量ではあるが、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ が見いだされた。その由来をしらべた結果、牛では精のう腺が主な分泌器官であり、豚でも精のう腺の関与を無視できないことがわかった。 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の雄性生殖系における役割については、精液中の $\text{PGF}_{2\alpha}$ 濃度と他の精液性状との関係、精子の生存ならびに代謝能に及ぼす $\text{PGF}_{2\alpha}$ 添加の影響を検討した限りでは、明らかにされなかった。しかし、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ を牛および豚に投与すると射出精液中の精子数が増加したことから、本物質は両動物種の射精機構に関与していると考えられた。この推測は、両動物種の精巢上体尾部漿液中にも $\text{PGF}_{2\alpha}$ が存在することや、精巢上体から精管に向うに従い、本物質に対する収縮反応が強まることから裏づけられた。牛の精のう腺液中には、精漿中濃度の約 100 倍に相当する $\text{PGF}_{2\alpha}$ が検出されたが、雄性生殖器の構造からみて、この $\text{PGF}_{2\alpha}$ は射精時に放出されて精管ぼう大部以降の生殖道に作用し、牛精液の瞬間的な射出の機構に関与しているものと考えられた。

以上、本論文は牛および豚の雄性生殖系における $\text{PGF}_{2\alpha}$ の動態について新たな知見を加えたものであり、審査員一同、著者は農学博士の学位を授与される資格があるものと判定した。