



Title	精子と血清の相互作用 : I. 動物血清に依る精子の凝集型とその要因
Author(s)	松本, 久喜; MATSUMOTO, Kyuki; 森田, 二郎 他
Citation	北海道大學農學部邦文紀要, 3(1), 140-148
Issue Date	1958-03-14
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11656
Type	departmental bulletin paper
File Information	3(1)_p140-148.pdf



精子と血清の相互作用

I. 動物血清に依る精子の凝集型とその要因

松 本 久 喜*
森 田 二 郎*

Interaction between spermatozoa and serum

I. Studies on the sperm agglutination types by serum and the factors influencing the sperm agglutination.

By

Kyuki MATSUMOTO

Ziro MORITA

(Laboratory of Animal Breeding, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University)

I. 緒 言

METCHNIKOFF (1900) が家兎精子が家兎血清に依つて凝集を起す事を知つて以来、血清と精子の相互作用に関する報告は極めて豊富である。先ず精子の凝集型に就て史的考察をすると、最初 METCHNIKOFF は家兎の抗血清で同種精子は星状塊 *star-like mass* に絡み合う事を知つた。その後、島村他 (1927), BERNSTEIN & LAZAREW (1933), KATO (1936) 等が各動物に就き此の現象を認めているが、精子の頭部が凝集の中心となるのか、それとも周辺に在るのか不明瞭であつた。精子の頭部及び尾部凝集の区別は HENLE, HENLE & CHAMBER (1938) によつてなされ、彼等は *whole bull sperm*, *spermheads*, *spermtails* の家兎免疫血清で頭部、尾部及び網状の凝集を作つた。その後 SNELL & POUCHER (1943) は廿日鼠の精子の観察で尾部凝集を記載した。最近 KIBRICK (1952) は彼の所謂 '*Gelatin agglutination test*' によつて家兎、天竺鼠及び人の特異性を調べている。

次に精子凝集性に対する諸因子に就てみると、史的考察は稀有で、僅かに Smith (1949) の文献を探知するに過ぎない。極く最近 WILSON (1954) は 2 人の

授精能力のない男性の精子に就て、頭部、尾部及び混合凝集を観察している。

以上の如く、精子の凝集性は主として免疫血清を用いて免疫学的見地から考察されて来た。然し家畜に於ては精子凝集現象は正常加熱血清で惹起され、その現象も種々条件を変える事によつて凝集型と凝集数が可成り変化して来るものである事を観察したので茲に報告する。

II. 実験方法及び記載法

(1) 供試動物

北大第一農場繋養動物中、馬 7、牛 5、緬羊 6、山羊 5、家兎 6 羽を採血用に、緬山羊各 1 頭、家兎 4 羽を精液採取用に供し、種雄馬は北大日高実験牧場、種雄牛は北海道立人工授精所繋養のものである。

(2) 実験材料とその一般処理法

牛馬緬山羊に於ては頸静脈より採血し、家兎の血液は耳静脈より採り血清を分離後 55°C~56°C 30 分加熱して非働性とした。一方精液は採取日或は翌日 (翌日にわたる場合は 5°C~6°C に保存) 試験に供し、良好な運動性を示すもののみを用いた。尚、精液採取法は全家畜とも人工法である。

(3) 試験法

非働性血清 0.5 cc を小試験管に採り、之に各種濃

* 北海道大学農学部畜産学教室

度の精子浮游液 0.02 c.c. を混和し、直ちに之をホールガラス上で一定時間毎に室温で鏡検した。

(4) 記載法

血清に依つて誘起される精子の凝集形態は区々であるが、之を大別して次の如くした。

- a) 頭部凝集：頭部を中心として凝集した精子集団を H.
- b) 尾部凝集：尾部を中心として凝集した精子集団を T.

凝集数は第 3 表以外に凝集型の記号の許に小文字で直接凝集集団に参加した精子数を記入し、第 3 表に於ては凝集形態の如何を問わず凝集数のみを観たもので次の如く示されている。

＋：凝集数 2～5 の精子によるグループ

卍：凝集数 6～10 の精子集団

卍：凝集数 11～20 の精子集団

此の場合、同一視野内では略々同一の凝集数を示したので凝集数は 1 集団のものを指す。又頭部凝集と尾部凝集が同一集団で起きている場合は頭部凝集数のみを記した。尚、精子は血清と混和後少くも 2～4 時間内は激烈な運動性を保つていたので諸表中の精子の運動性に就ては表の煩瑣を避けて特に記入しなかつた。第 8 表の運動性の記載法は一般法に従い次の如くした。即ち 卍 は最活潑な運動、卍 は活潑な運動を示し、数値は斯る運動性を持った精子の全視野内精子に対する割合を示す。

III. 実験結果

A. 精子凝集型

動物血清に依つて誘起される精子の凝集型を次の如く分類した。

(1) 頭部凝集 Head-type agglutination

凝集した形は所謂菊花状であり、凝集精子集団は全体として運動性を保ち、各所に移動しているか又は静止状態にあるものは個々の精子は尾部を激烈に運動させている。第 1 図は定型的な頭部凝集であり、頭部の側面と側面とを接着させた凝集である。顆粒凝固物に頭部凝集を起した集団が頭部を接着させているのが第 2 図である。第 3 図は顆粒凝固物に尾部を絡ませた精子が互に頭部凝集を起している場合である。更に第 4 図は頭部凝集した精子集団が活潑に運動して、他の集団と接着し一連鎖を形成しているもので、活潑な運動が続くと途中で連鎖が切れ、元の小集団となる。第 5 図は凝集顆粒に尾部を絡み合せ而も頭部凝集を起した

凝集精子が、他の集団と頭部の先端のみを接着して更に大なる凝集を形成した場合を示している。

(2) 尾部凝集 Tail-type agglutination

尾部先端が互に絡み合い大小の叢状塊を形成している。その中心となるものは多くは精清中の細胞或はその崩壊物(顆粒体)であり、或る場合は死滅精子である。顆粒の一端に尾部先端を絡ませ、頭部を放射状に遊離し精子自身は頭部凝集の場合の逆位となる。両型とも菊花状に凝集するが前者頭部が求心的であるのに対し後者は遠心的である。尾部凝集精子の集団は活潑な運動によつて隣接頭部同志が結合して頭部凝集が起つたり、絡捲を解き遊離精子となつて游泳する場合もある。尾部凝集が起つてから互に頭部を凝集させ頭部凝集を起したまま尾部絡捲を解き、顆粒と全く別離して遊離凝集団として運動している場合もあつた。一般に頭部凝集を起している場合は全視野に同型凝集がみられ尾部凝集にても同様であるが、時折頭部凝集と尾部凝集を起した集団とが同一視野内に散在する場合がある。然し運動性をもつた精子に於ては頭部と他の精子尾部の先端が凝集している場合は観察されなかつた。第 6 図は顆粒凝固物に少数の精子が尾部先端を絡ませている場合を示し、精子は顆粒全面に散在している。更に精子数が増大したのが第 7 図である。第 8 図は凝集集団が互に接着し一連鎖を形成している場合である。顆粒の比較的限定された位置に尾部凝集を起したものが第 9 図である。又 mass-coagulation (後述) に尾部及び頭部凝集が同時に起つている場合を示したのが第 10 図である。第 11 図は第 9 図の精子集団が他の集団と頭部先端のみを結合している場合を示している。

(3) mass-coagulation and net-like agglutination

mass-coagulation に就ては KATO (1936) の詳細な観察があるが、此の現象は一般に死滅精子と精清によつて形成されその形状は非定型的な大小不同で、含有精子数も不定で粗密も不同であるが、低稀釈血清によつて緻密な mass を作り高稀釈血清で密度を減じ瀰漫性となる。

mass-coagulation の一型とみるべきものに net-like agglutination がある。之は精清及びその顆粒が網目状又は糸状に凝集し個々の精子は網目から離脱出来ず運動性を欠いている。第 12 図は mass-coagulation で、精子の凝集部位は区々である。第 13 図は死滅精子の作つた網目状凝集で、第 14 図は頭部凝集を起し

た精子が糸状凝集を作っている場合である。更に第15図は網目状凝集に運動性を持った精子が頭部及び尾部凝集を起した場合を示す。

以上の4型はひとり免疫血清によつてのみ誘起されるばかりでなく正常加熱血清によつても惹起せられる。

B. 精子凝集性に関する要因

(1) 精清の影響

馬血清を中性化葡萄糖液(N.G; その組成は葡萄糖5瓦, クエン酸ソーダ0.2瓦, 蒸溜水100cc)で稀釈し, 山羊精清添加区とN.G. 添加区を作り一定数の山羊精子を浮游させた。その結果が第1表のEx. 1及びEx. 2である。Ex. 1に於てはN.G. 添加区は血清精子混和後1時間で血清稀釈度16倍, 精清添加区は8倍迄凝集し, Ex. 2に於ても同様の結果を示した。Ex. 3では牛精清を用いたが, 精清添加区に於ては混和直後, 馬血清のみ牛精子を凝集せしめ, N.G. 添加区では牛血清を除き他種血清で等しく凝集せしめた。混和後1時間の反応では精清添加区では馬血清のみで, N.G. 添加区は各種動物血清とも等しく尾部凝集を起さしめた。即ち精子の凝集性に対して精清は阻止的効果を持ち, 尾部凝集を少なからしめる傾向にある。

i) Seminal Plasma

pl. 1. Influence of S.P. on sperm agglutination
Ex. 1

Time after mix.	S. Plasma added		N.G. added	
	0	1	0	1
Dilution degree of serum	0 T ₂₋₃	H ₂₋₃ T	T	H ₂₋₃ T
	2 T ₂₋₃	H ₂₋₃ T	T	H ₂₋₃ T
	4 T ₂₋₃	H ₂₋₃ T	T	H ₂₋₃ T
	8 —	—	T	H ₂₋₃ T
	16 —	—	—	H ₂₋₃
	32 —	—	—	—
	64 —	—	—	—

ii) Individuals

pl. 2. Influence of individuals of semen on sperm agglutination
Ex. 1

sp. individuals (rabbit sp.)	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4
dilution degree of serum	0	T ₃₋₅	T ₃₋₅	T ₃₋₅
	2	T ₃₋₅	T ₃₋₅	T ₃₋₅
	4	T ₅₀₋₁₀₀	T ₃₋₅	T ₅₀₋₁₀₀
	8	T ₅₀₋₁₀₀	T ₃₋₅	T ₅₀₋₁₀₀
	16	T ₅₀₋₁₀₀	T ₃₋₅	T ₅₀₋₁₀₀
	32	T ₅₀₋₁₀₀	T ₃₋₅	T ₅₀₋₁₀₀
	64	T ₅₀₋₁₀₀	T ₃₋₅	T ₅₀₋₁₀₀

} punor
} net
} punor
} round

Ex. 2

Time after mix.	S. Plasma added		N.G. added	
	0	1	0	1
Dilution degree of serum	0 T	H ₂₋₃ T	T	T
	2 T	H ₂₋₃ T	T	T
	4 T	H ₂₋₃	T	T
	8 —	—	T	H ₂₋₃ T
	16 —	—	T	H ₂₋₃ T
	32 —	—	T	—
	64 —	—	—	—

Ex. 3

Time after mix.	S. Plasma added			N.G. added		
	0	0.5	1	0	0.5	1
Serum	Cow	—	H ₂₋₅	H ₂₋₅	—	H ₂₋₃ T H ₂₋₃ T
	Horse	H ₃₋₁₀	H ₁₀₋₂₀ T	H ₂₀ T	T	H ₂₋₃ T H ₂₋₃ T
	Ass	H ₂₋₃	H ₂₋₃ T	H ₁₀₋₂₀ T	T	H ₂₋₃ T H ₂₋₃ T
	Sheep	—	H ₂₋₃ T	H ₂₋₃	T	H ₂₋₃ T H ₂₋₃ T
	Goat	—	H ₂₋₃ T	H ₂₋₃	T	H ₂₋₃ T H ₂₋₃ T
Rabbit	—	H ₂₋₃	H ₂₋₃	T	H ₂₋₃ T H ₂₋₃ T	

(2) 個体差

第2表 Ex. 1 は家兔精液を同一家兔血清に作用せしめたもので, 血清の0~2倍稀釈液迄は4個体精子とも全く同様の凝集形態を示したが, 4倍以上の稀釈液では家兔精液の1, 3, 4, は第7図に示した尾部凝集を招来し, 2. に於ては顆粒と共に粗雑な網状凝集を形成した。Ex. 2. に於ては, 牛(3)家兔(3)の精液と牛(4)馬(4)血清原液を作用させた。頭部凝集は各個体共普遍的に現われたが, 尾部凝集は牛精液のNo. 3が馬血清の1~4血清で, 家兔精液のNo. 1は牛血清の2~4, 馬血清の1~4で, No. 2及びNo. 3は牛血清の2のみで現われた。即ち牛精液のNo. 3家兔精液のNo. 1は尾部凝集性に著しく富み, 全く同一条件下であるにも拘らず凝集性は著しく個体に左右される事を示している。又此の表に於て網状凝集が観察されたのは牛精液No. 3と馬血清3との反応のみであつた。

Ex. 2

sp. individuals	Bovine sp.			Rabbit sp.			
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 1	No. 2	No. 3	
Serum { Cow	1	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₅₋₁₀	H ₃₋₅	H ₅₋₁₀	H ₃₋₅
	2	H ₃₋₅	H ₁₀₋₂₀	H ₅₋₁₀	T ₅₀₋₁₀₀	H ₂₋₃ T	H ₂₋₃ T
	3	H ₃₋₅	H ₁₀₋₂₀	H ₅₋₁₀	T ₅₀₋₁₀₀	H ₃₋₅	H ₃₋₅
	4	H ₃₋₅	H ₁₀₋₂₀	H ₅₋₁₀	T ₅₀₋₁₀₀	H ₃₋₅	H ₃₋₅
Serum { horse	1	H ₃₋₅	H ₂₀₋₃₀	T	T ₁₀₋₂₀	H ₃₋₅	H ₅₋₁₀
	2	H ₃₋₅	H ₃₀₋₅₀	H ₁₀ T	T ₁₀₋₂₀	H ₃₋₅	H ₅₋₁₀
	3	H ₃₋₅	H ₃₀₋₅₀	H ₁₀₋₂₀ T	H ₅₋₁₀ T	H ₁₀₋₂₀	H ₁₀₋₂₀
	4	H ₃₋₅	H ₃₀₋₅₀	H ₁₀₋₂₀ T	T ₅₀₋₁₀₀	H ₁₀₋₂₀	H ₅₋₁₀

Net-like aggl.

(3) 種間差異
 家兎，牛，馬，緬羊精子に対して牛馬緬山羊家兎血清の影響を調べたのが第3表である。此の場合各動物共 1 mm³ 中 50~100 万の精子濃度を保たせた。同種，

異種の精子血清間に特異性は無い様であるが，各動物によつて凝集数，凝集度が可成り異なる。一般的に家兎，緬羊，馬精子に比し牛精子は凝集し難い傾向にある。

iii) Species

pl. 3. Influence of species difference on agglutination

Dilution degree of serum.	rabbit sp.					rabbit	Stallion sp.			
	cow	horse	swine	sheep	goat		cow	horse	sheep	rabbit
0										
2										
4										
8										
16										
32										
64										
128										
256										

Dilution degree of serum.	bovine sp.					ram sp.
	cow	horse	swine	sheep	goat	
0						
2						
4						
8						
16						
32						
64						
128						
256						

(4) 温度

第4表 Ex. 1 は各種動物血清中に浮遊せしめた牛精子の凝集性を室温(約 20°C)と 37°C の状態で比較したものである。Ex. 1 に於て馬血清は 30 分後に 20~30 の頭部凝集を起さしめたが 37°C 下では 1 時間後 2~3 の小塊に解離し，且室温区で尾部凝集が起つたにも拘らず，37°C では此の現象が全く観察されなかつた。Ex. 2 は家兎精子に就てみたものであるが，之等の結果は室温で尾部凝集がみられるに反し 37°C では此の現象が全くみられず，頭部凝集は温度によつて可逆し得る事を示している。

iv) Temperature

pl. 4. Influence of the temperature upon the agglutination of spermatozoa

Ex. 1 (bovine sp.)

Time after mix.	Temp.	room temp. (20°C)			37°C	
		0	0.5	1	0.5	1
Serum {	cow	—	H ₂₋₃	H ₃	H ₂₋₃	H ₂
	horse	H ₃₋₅ T	H ₁₀₋₂₀ T	H ₁₀₋₂₀ T	H ₁₀₋₂₀	H ₂₋₃
	ass	H ₂₋₅ T	H ₃₋₅	H ₅₋₁₀ T	H ₂₋₃	H ₂₋₃
	sheep	H ₂₋₀	H ₂₋₃	H ₂₋₃ T	H ₂₋₀	H ₂
	goat	H ₂₋₀	H ₃₋₅	H ₅₋₁₀ T	H ₃₋₅	H ₃₋₅
	rabbit	—	H ₂	H ₂₌₃ T	—	—

Ex. 2. (rabbit sp.)

Individuals	No. 1		No. 2		No. 3	
	20°C	37°C	20°C	37°C	20°C	37°C
serum { cow	1	H ₂₋₃ T H ₃₋₅	H ₅₋₁₀ H ₁₀₋₂₀	T	H ₂₋₃	
	2	H ₂₋₃ T H ₂₋₃	H ₃₋₅ H ₁₀₋₂₀	T	H ₂₋₃	
	3	H ₂₋₃ T H ₂₋₃	H ₃₋₅ H ₁₀₋₂₀	T	H ₂₋₃	
	4	H ₂₋₃ T H ₂₋₃	H ₅₋₁₀ H ₁₀₋₂₀	T	H ₂₋₃	
serum { horse	1	H ₂₋₃ T H ₂₋₃	H ₅₋₁₀ H ₂₋₀	T	H ₂₋₀	
	2	H ₂₋₃ T H ₂₋₃	H ₅₋₁₀ H ₂₋₀	T	H ₂₋₀	
	3	H ₁₀ T H ₃₋₅	H ₁₀₋₂₀ H ₅₋₆	T	H ₂₋₀	
	4	H ₂₋₃ T H ₂₋₃	H ₁₀₋₂₀ H ₅₋₆	T	H ₂₋₀	

(5) 混和後の時間

牛精子に対して牛、馬、綿羊、家兔血清を作用させ一定時間毎に長時間にわたり観察したのが第5表である。混和直後から凝集を開始し、0.5~1 時間後には一定の凝集型を形成しその後4時間後迄殆ど変化はなく、その後運動性の消失と共に凝集数を漸減する。此の傾向を稀釈血清に依つて観察したのが Ex. 3 であるが前者と同様の傾向にあつた。

v) Time

pl. 5. Influence of time after mixing on the sperm agglutination

Ex. 1. (bovine sp.)

Time after mix.	0.5	1	2	4	10	
serum { cow	1	H ₂₋₃	H ₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₃₋₅
	2	H ₃₋₅	H ₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₃₋₅
	3	H ₃₋₅	H ₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₃₋₅
	4	H ₃₋₅	H ₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₃₋₅
serum { horse	1	H ₅₋₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₃₋₅
	2	H ₅₋₁₀	H ₁₀₋₂₀	H ₁₀₋₂₀	H ₁₀₋₂₀	H ₃₋₅
	3	H ₅₋₁₀	H ₁₀₋₂₀	H ₁₀₋₂₀	H ₁₀₋₂₀	H ₃₋₅
	4	H ₅₋₁₀	H ₁₀₋₂₀	H ₁₀₋₂₀	H ₁₀₋₂₀	H ₂₋₀
serum { sheep	1	H ₂₋₃	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₂₋₀
	2	H ₂₋₃	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₂₋₀
	3	H ₂₋₃	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₂₋₀
	4	H ₅₋₁₀	H ₅₋₁₀	H ₅₋₁₀	H ₅₋₁₀	H ₂₋₀
serum { rabbit	1	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₁₀₋₂₀
	2	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₁₀₋₂₀
	3	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₁₀₋₂₀
	4	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅

Ex. 2. (bovine sp.)

Time after mix.	0.5	1	2	4	10	
serum { cow	1	H ₂₋₃	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₅₋₁₀	H ₃₋₅
	2	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅
	3	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅
	4	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅
serum { horse	1	H ₅₋₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₃₋₅
	2	H ₅₋₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₃₋₅
	3	H ₅₋₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₃₋₅
	4	H ₅₋₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₁₀	H ₃₋₅
serum { sheep	1	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃
	2	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃
	3	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃
	4	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃
serum { rabbit	1	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅
	2	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅
	3	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅
	4	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅
	5	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₃₋₅	H ₃₋₅	H ₃₋₅

Ex. 3. (ram sp. × sheep serum)

Time after mix.	0	0.5	1	2	4	8	
Dilution	0	—	H ₂₋₅	H ₂₋₅	H ₂₋₅	H ₅₋₁₀	H ₅₋₁₀
degree	2	—	T	T	H ₂₋₃	H ₂₋₃	H ₂₋₃
of	4	—	T	T	T	H ₂₋₃ T	H ₂₋₃ T
serum	8	—	T	T	T	H ₂₋₃ T	H ₂₋₃ T
	16	—	T	T	T	H ₂₋₃ T	H ₂₋₃ T
	32	—	T	T	T	H ₂₋₃	H ₂₋₃ T
	64	—	—	T	T	H ₂₋₃	H ₂₋₃
	128	—	—	T	T	H ₂₋₃	H ₂₋₃
	256	—	—	T	T	H ₂₋₃	H ₂₋₃
	512	—	—	T	—	H ₂₋₃	H ₂₋₃
	1024	—	—	—	—	H ₂₋₃	H ₂₋₃
	2048	—	—	—	—	H ₂₋₃	H ₂₋₃
	4096	—	—	—	—	H ₂₋₃	H ₂₋₃

(6) 精子濃度

第6表 Ex. 1 は緬羊精液を Baker's solution (糖緩衝液) で 2~16 倍に稀釈したものを山羊稀釈血清中に, Ex. 2 は家兎精液 (1, 2, 3) を 2 倍と 8 倍に稀釈し牛馬血清との反応をみたものである。Ex. 1 に於ては精液の低稀釈区 (2 倍) と高稀釈区 (16 倍) との間凝集型, 凝集数に全然変化がみられず Ex. 2 に於ても同様であつた。

vi) Sperm Concentration

pl. 6. Influence of sperm concentration upon the agglutination of spermatozoa

Ex. 1. (ram sp. × goat serum)

Dilution degree of semen		×2	×4	×8	×16
Dilution degree of serum	0	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T
	2	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T
	4	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T
	8	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T
	16	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T
	32	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T
	64	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T

Ex. 2. (rabbit sp.)

individuals	No. 1		No. 2		No. 3		
dilution degree of semen	×2	×8	×2	×8	×2	×8	
cow	1	H ₂₋₃ T	H ₃₋₅ T	H ₅₋₁₀	H ₃₋₅	T	T
	2	H ₂₋₃ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅	T	T	T
	3	H ₂₋₃ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅	H ₃₋₅	T	T
	4	H ₂₋₃ T	H ₃₋₅ T	H ₅₋₁₀	H ₃₋₅	T	T
horse	1	H ₂₋₃ T	T	H ₅₋₁₀	H ₅₋₁₀	T	T
	2	H ₂₋₃ T	T	H ₁₀₋₂₀	H ₁₀₋₂₀	T	T
	3	H ₁₀ T	H ₁₀ T	H ₁₀₋₂₀	H ₁₀₋₂₀	T	T
	4	H ₁₀ T	T	H ₁₀₋₂₀	H ₁₀₋₂₀	T	T

(7) 稀釈液

緬羊血清を各種稀釈液で稀釈して緬羊精子との反応をみたのが第7表である。即ち従来指摘されて来た結果と同様, 生理的食塩水で血清を稀釈したもののみ頭部凝集性に富んだ。

vii) Diluents

pl. 7. Influence of diluents upon the agglutination of spermatozoa

Diluents	Physiol. NaCl sol.	5% Gluc. sol.	Baker's. sol.	Neutralized Gluc. sol.
Dilution	0	H ₂₋₃ T	H ₂₋₃ T	H ₂₋₃ T
degree	2	H ₂₋₃ T	H ₂₋₃ T	T
of	4	H ₂₋₃ T	T	T
Serum	8	H ₂₋₃ T	T	T
	16	H ₂₋₃ T	T	T
	32	H ₂₋₃ T	T	T
	64	H ₂₋₀	T	T
Control	H ₂₋₀	T	H ₂₋₃	—

(ram sp. × sheep serum)

(8) 精子の運動性

牛の稀釈血清中に採取日当日 1, 2, 3 日間貯蔵した同個体緬羊精子を等濃度浮遊させた。試験前の精子の活力は各々 90 卅, 70 卅, 70 卅, 70 卅 であり混和後 1 時間の結果が第8表である。採取直後の精液は血清稀釈度 16 倍迄凝集し, 32 倍以上は - となつたのに対して 1~3 日貯蔵区は 64 倍迄 + 或は ± の反応を与えた。然し之は貯蔵中の精液の変化等を考え合せるとあながち運動性のみと結び付けて考察する訳にはゆかないものと思われる。

viii) Motility

pl. 8. Influence of sperm motility upon the agglutination of spermatozoa

Days preserved	0	1	2	3
Dilution degree	0	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T
of	2	H ₃₋₅ T	H ₃₋₅ T	H ₂₋₃ T
serum	4	T	H ₃₋₅ T	T
	8	T	H ₃₋₅ T	T-
	16	T	H ₃₋₅ T	T-
	32	—	H ₃₋₃ T	T-
	64	—	H ₃₋₅ T	T-
sperm motility	90卅	70卅	70卅	70卅
(ram sp. × cow serum)				

IV. 考 察

動物精子が酸、アルカリ、二酸化炭素、重金属塩、染料、卵抽出物、細菌、血清等によつて凝集する事は従来研究者が明かにした処である。然し之等は凝集を起さしめる一つの条件に過ぎなかつた。CHANG (1947) は精子の凝集は medium の中に単に蛋白が存在する場合にのみ起る現象で、コロイド物質との一般反応であろうと述べている。一方、最近 LINDAHL & KIHLSSTROM (1953) は精子の凝集を妨げ且中和する能力をもつ sperm-agglutin と呼ばれる蛋白が精清中に存在する事を見出したと西川は告げている。精子凝集の終極の機構に就ては MILOVANOV & SELIVANOVA (1932) が考察し、電気的なものと解している。以上の如く蛋白質を囲んでの精子凝集機構に就ては未だ不明の点多く今後に残された課題と思われる。

尾部凝集にあつては中核となるべき顆粒に尾部先端のみを絡み合せているので凝集と云うよりむしろ絡捲 entanglement と云う方が妥当と思われる。室温と 37°C に於ける精子の凝集性が著しく異なる事から頭部と尾部凝集の起る機構は全く別のものと考えられる。

同一視野内に頭部或は尾部凝集が起つているとは別に mass-coagulation が共存している。試験前に於ける精液検査の結果大部分の精子は活潑な運動性を持つているにも拘らず、血清と混和直後から多数の精子が mass-coagulation に参与し運動性を欠いている。此の場合凝固に参与するから漸次運動性を失うのか、運動性を失つているから凝固するのかは不明である。又精子凝集性に対して温度の影響は著しく特に 37°C では尾部凝集は見られないか少くなる。事実、室温で観察した研究者 HENLE et al, SMITH, WILSON 等は尾

部凝集に就て記載しているのに対して 32°C で観察した KATO は此の現象に触れていない。吾々は正常血清を用いて精子凝集を 4 型に分類した。然し此の凝集型が如何なる条件下で起り得るかの問題に就ては今後の研究に俟たねばならない。

V. 結論及び要約

動物の加熱正常血清は精子を凝集せしめるので、その凝集性に関する要因と、誘起する凝集型に就て検出した。

A. 精子凝集型に就ては次の 4 型を分類した。

1. 頭部凝集は動物血清と精子反応の一般型として普遍的にみられ、動物に依る特異性は無い。精子集団は互に頭部を接着して中心をなし、尾部は外側に放射状となり、激烈な運動を展開する。

2. 尾部凝集にあつては、前者とは頭部と尾部の位置が全く逆であり、顆粒に尾部先端を絡み合せ、頭部は互に放射状で外側に在り、且尾部主部による運動性が激しい。

以上の 2 型は運動性をもつた精子にのみ起り得る現象である。

3. mass-coagulation は運動性を失つた精子、細胞崩壊物、精清より成り、粗密或は大小不定の mass を形成し精子の接着部位も不定である。mass は主として血清精子混和直後に作られ、その後の変化に乏しい。

4. 網状凝集は mass-coagulation の一型とみるべきもので、前者が類円形或は不定形に mass を形成するに対して著明な網目状に凝固するものである。

以上の現象はひとり免疫血清にのみ観察されるばかりでなく、正常加熱血清によつても誘起し得るものである。

B. 精子凝集性に関する要因

1. 精子の凝集性に対して精清は阻止的效果を持ち、精清中の顆粒の存在は尾部凝集に影響する処が大である。

2. 精子、血清の個体及び品種によつて可成り著しい影響を凝集型と凝集数に与えた。馬、綿羊、家兎精子に比して牛精子は各種動物血清に對し比較的凝集し難い。網状凝集は現われる頻度が少く或る種、或は個体に限られた現象の如く思われる。

3. 精子凝集性に対して温度は顕著な変化を与え、牛、家兎精子は室温で尾部凝集が観察されるのに反し、37°C では見られず、且頭部凝集は温度によつて

可逆し得る。

4. 精子は血清と混和直後より凝集度を増し、0.5~1時間後には一定の形を成し、その後著明な変化はなく、運動性の消失と共に凝集を解離する。

5. 精子の濃度及び血清の稀釈液は共に凝集に対して顕著な変化を与えなかつた。

参考文献

- 1) BERNSTEIN, A.D. and LAZAREV, G. (1933). Anim. Breed. Abstr. 3, 479.
- 2) CHANG, M. C. (1947). J. Gen. Physiol. 30, 321.
- 3) HENLE, W., HENLE, G. and CHAMBERS, L. A. (1938). J. Exp. Med. 68, 335.
- 4) KATO, K. (1936). Men. Fact. of Sci. and Agr. Taihoku Imp. Univ., Formosa, Jap., 19, no. 1.
- 5) KIBRICK, S., BELDING, D.L. and MERRILL, B. (1952). Fert. Ster. 3, 419, 430.
- 6) MANN, T. (1954). The biochemistry of semen. London: Methuen & Co. LTD.
- 7) METCHINIKOFF, E. (1900). Ann. Inst. Pasteur, 14, 1.
- 8) MILOVANOV, V. K., & SELIVANOVA, O. A. (1933). Probl. Zivotn., 2, 75 (A.B.A., 1933; 1, 153).
- 9) 西川(義) (1951). 家畜人工授精法, 東京: 養賢堂。
- 10) SMITH, A. U. (1949). Proc. Roy. Soc. B. 136, 46.
- 11) SNELL, D.G., (1944). Science, 100, 359.
- 12) SNELL, D.G., & POUCHER, H. (1943). Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. N. Y. 54, 261.
- 13) WILSON, L. (1954). Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 85, 652.

Résumé

The present paper deals with the agglutination test of sperm with the normal sera; the study also investigated the factors which influence sperm agglutination and the types of agglutination formation.

A. The sperm agglutination types classified into 4 groups as follows.

1. Head-type agglutination; Agglutinated sperm attached with their heads to each other, the heads thus being centripetal, the tails centrifugal. Some sperm were agglutinated by their heads in small rosettes with their tails free on the periphery and lashing vigorously. This type was regarded as a nonspecific general type, and occurred universally.

2. Tail-type agglutination; The positions of their heads and tails were the reverse as compared with head-agglutination; the sperm were clumped by their tails in dense rosettes or clusters, their heads free on the periphery and lashing vigorously.

These two types of agglutination occur only in the presence of motile spermatozoa and no such type is seen in immotile spermatozoa.

3. Mass-coagulation; The mass was made up of immotile spermatozoa, debris and various constricted media of seminal plasma. The size and density of this type were various and indefinite and also the attaching point of sperm body.

Mass was built up immediately after sperm was mixed with serum, and after-wards, no change was seen.

4. Net-like agglutination; This type was regarded as a subtype of the mass-coagulation. Mass-coagulation formed in round shape or irregular but net-like agglutination built up net works and strings conspicuously.

B. Factors influencing the sperm agglutination.

1. Seminal plasma has an inhibitory effect on sperm agglutination; debris in the seminal plasma reacts as a remarkable factor in the tail agglutination type.

2. There is a powerful influence by individual and species on the types of agglutination and the numbers of the sperm agglutinated. Bovine sperm was not caused to agglutinate by all animal serum when tested; this was in contrast with stallion, ram and rabbit sperm.

Net like agglutination was regarded as a specific phenomenon of an individual.

3. In sperm agglutination, the temperature exerted a remarkable effect. In bovine and rabbit sperm, tail agglutination of sperm was not seen at 37°C while it was frequently observed at room temperature (20°C). The large clot of agglutinated sperm was dispersed

to small clots by relative high temperature (about 37°C) and many free sperm gradually came to be seen.

4. After the sperm was mixed with sera, sperm agglutination was observed immediately and a definite type continued with on change

for a few hours; after-wards, the clots were dispersed with the loss of sperm motility.

5. There was little effect of the sperm concentration and the serum diluents on the sperm agglutination.

Explanation of Figures.

1. A typical Head-type agglutination.
2. Head agglutinated sperm attached with their heads to debris.
3. Tail-type agglutination with their head agglutination.
4. A long chain attached with their heads.
5. Head attaching to each other of tail-agglutination.
6. Tail-type agglutination attached with their tails to debris stragglingly.
7. Tail-type agglutination with rosette formation.
8. A long chain attached with their heads of tail-agglutination.
9. Tail-agglutination which the sperm-tails were entangled with a position of debris.
10. Head-and Tail-agglutination with mass.
11. Head attaching to each other of tail-agglutination.
12. Mass-coagulation.
13. Net-like agglutination.
14. Net-like agglutination with head-agglutinated sperm.
15. Head and Tail agglutinated sperm entangled with net-like agglutination.

图 版

