

蛙精子に及ぼす高圧の影響に就て

岡山大学医学部第一生理学教室（主任：林 香苗教授）

安 田 浩 士

（昭和34年8月20日受稿）

I 緒 言

囊に蛙卵の発育に及ぼす高圧の影響に就て報告した¹⁸⁾、それと関連して蛙精子に対し圧がどの様に作用するかを、その運動性、授精能等から窺つてみた。蛙卵の発育は500気圧以上の高圧では発育が阻止される。この場合蛙精子の授精能力が傷害されて起るのか、或は卵に対し圧が傷害的に働き精子の方への影響は少いのか等という事も、精子に対する加圧実験からわかるものと考えられる。之に類似した報告はウニの一種を用いた Pease⁹⁾ の実験がある程度に過ぎない。

精子は運動性を有する単細胞生生物の代表的なものであり、酵母菌の加圧実験¹³⁾と共に単細胞生生物に対する圧作用の実験に用い得る好材料と云えよう。尚精子の運動の活性に就ては定量的に表示出来ぬ欠点はあるが、アメーバ、白血球等に比して運動が活発であり、その運動性の有無をみるには極めて都合のいいものと思われる。¹¹⁾¹⁴⁾

実験期間は昭和29年2月～5月で、トノサマ蛙の産卵期をはさんで行なつた。

II 実験装置、方法並びに材料

実験に使用した高圧装置は2000kg/cm²迄加圧出来る油圧式ポンプであり、詳細は既に述べてあるので省略する。

蛙精子は妊婦尿を雄蛙の背部リレバ囊に、蛙体重1g 当り約0.1ccの割合に注射し、一定時間後、総排泄腔より採取した。⁵⁾⁷⁾¹⁵⁾ 妊婦尿としては成可く妊娠初期（4カ月頃迄）のものを、雄蛙は平均30g前後の大きいものを使用した。尿はそのまま使用し醋酸によるpHの調整、濾過、（濁濁著しき場合を除く）はしなかつた。尿注射後一時間前後のものが数も多いし、運動も活発であり、時間の経過と共に数は減り運動性は次第に衰えるので、注射後一時間のものを材料として用いた。尚、同一蛙より繰返して採取すると未熟な精子の出る恐れがあるので、成可く同一の個体

を用いないようにし、或は間隔をあけて使用した。精子を得るためには総排泄腔にピペットを突込み尿と共に取ると云われているが、多量には得難く実験装置の都合もあり、私は硝子管を細くのばして毛細管をつくり、それを総排泄腔に入れることによつて得た。毛細管であるため何等吸う必要もなく容易に得られ便利である。又、量の点に於てはかかる管を沢山使用することにより解決できる。かくして得た精子を含む尿で満たされた毛細管の一端を加熱して閉ち、水を入れた小試験管にまとめて十数本入れて之をポンペ内に挿入し加圧した。試験管より毛細管の長さを少し長くする事により水の混入は防げる。更に除圧後、毛細管の先端部及び下端を少し折ることにより、油の侵入及び加熱の影響を除くことにした。この毛細管から載物硝子上に精子をとり、之を顕微鏡下で観察した。尚、室温の低い場合は精子の排出は下適と云われて居り、又16°C以上が望ましいともされているが、⁵⁾⁷⁾¹⁵⁾ 私の場合は20°C前後であつた。

授精能は、別に雄のかからぬ雌蛙よりの卵即ち未受精卵をとり、之に加圧した精子を加えてその後の卵の分割、発育をみることによりその有無をしらべた。未受精卵は産卵間近のもので軽く腹部を圧迫すると得られるので別に注射など行なわなかつた。予め前述の如く精子を加圧し、その後雌より卵をとり直ちにその加圧精子を加えた。高圧装置に恒温設備がないため室温で行なつた（18～23°C）。対照は常に同一条件にする様努めた。

III 実験成績

精子の運動性及び生殖能力の圧による変化を観察した。

(1) 運動性：種々なる程度の圧力を種々なる時間加えて、精子の運動性を検鏡した成績を第1表に示す。精子の運動性は次の如き符号を以て表わした、即ち活潑に動いているもの、且つ多数動いているもの(+)；

第 1 表 蛙 精 子 の 運 動 性 に 対 す る 圧 影 響

加 圧 強 度 (kg/cm ²)・加 圧 時 間 (min.)	精 子 の 運 動	備 考
500, 5	++, ++, ++	
800, 5	++, ++, ++	
1000, 5	++, ++, ++	
1100, 5	++, ++, +	
1200, 5	+, +, +	
1400, 5	+, ±, -	…{ よく動いているものが少数認められる。
1500, 5	+, -, -	…{ 運動殆んど認められず, うごめいている感じのものが少数いる。除圧40分後体を僅かに動かしているものが少数みられる。
300, 10	++, ++, ++	
600, 10	++, ++, ++	
800, 10	++, ++, ++	…{ よく動き前進運動もみられる。混在の赤血球は核不明瞭, 変形し, 中央の膨らみもない。
1000, 10	++, ++, +	…{ 対照と大差なくよく動き, 除圧2~4時間後も動いている。
1200, 10	+, +, +	
1300, 10	+, ±, -	…{ 弱拡大では不動, 強拡大で動いているものを少数認める(一視野に数尾)併し前進運動はなく尾をふつているのみ。
1400, 10	±, ±, -	…{ 強拡大で僅かに位置を動かしているのを認める。或は僅かに尾のみをふるものが少数みられる。標本によつては全く不動のものもある。
1000, 15	+, +, +	
1200, 15	+, +, -	…{ 対照より少ないが, よく動いている。
1300, 15	-, -, -	…{ 運動全く認められず。
110, 20	+, +, ±	…{ 弱拡大で明らかに少数動いているのを認める。
1200, 20	±, -, -	…{ 標本により不動のものあれど, 少数は体をふるものが数視野に一尾位みられる。
1300, 20	±, -, -	…{ 強拡大で僅かに体をふつている感じがある。殆んど不動。
1000, 25	++, +, +	
1100, 25	+, ±, -	…{ 強拡大で僅かに体をふつているものがある, 弱拡大で全視野に3~5尾動いている。ゆるく彎曲しているもの多し。
500, 30	++, ++, +	…{ 経過時間長きためか動いている精子の数少なく, 又あまり前進運動をしない。
1000, 30	+, +, ±	
1100, 30	±, -, -	…{ 不動のものが大部分。弱拡大で全視野中1~2尾動いている。
1200, 30	±, -, -	…{ 運動を認めない標本多し。強拡大で僅かに体をふつている。尾をふつているものは(1400,10)の場合より数が多いがその間隔は長い(のろい)。

動いているが数が少ない(+);殆んど動きが認め難く, 強拡大でその運動を認め得るもの(±);全く動き認められない場合(-)とした。1000気圧, 10分~30分で運動は認められ, 1200気圧, 5分でも明らかに運動を消失していない精子がある。1500気圧という高圧でも短時間(1分)ならばよく動いているが, 唯前進運動をしないで, 同じ位置にて尾を動かしており, 除圧後2時間を経ても少数動いて居る。1500気圧, 3分では殆んど動きは認められず, 極めて少数のものが体をふつている程度であり, 一時間後不動となる。尚,

加圧時間が長い場合は, 対照例に於ても時間の経過と共に運動性が減ずる傾向があるので, 確実なる成績が得難い。参考迄に述べると, 1000気圧, 40分では稀に少数のものが運動している。60分加圧では1000~800気圧で大部分不動であり, 極めて少数のものが僅かに動いているに過ぎない。

以上の結果から, 大体1000気圧以下では相当活潑な運動を認めるが, それ以上の圧になると, 先づ前進運動が認められなくなり, 同時に運動している精子の数も減じて来る。次いで弱拡大に於て運動せる精子を少

数認めるに至り、遂には強拡大に於て辛うじて尾部及び頭部を幽かにふつているのを少数認めるに至る。尾をふる間隔も圧が高い程のびてくる。形態的にはかかる高圧の場合、精子はゆるく彎曲しているが、特に対照と異なる像は認められなかつた。1000気圧以下の加圧の場合、対照より活潑に動いているか否かに就ては明らかに出来ないが、対照例があまり活潑でない材料を用いた場合、加圧例で活潑な運動を認めたことがあつた。

(2) 授精能：加圧された精子が、卵の発育に対しどの程度迄生殖能力を保持しているかを探べた。受精卵が分割発育してゆく場合には受精後一時間以内に黒色の上半球を上、淡黄白色部の下半球を下にして規則正しい排列をして並ぶので、発育の有無は大体見当をつけることが出来る。第二表の如く圧力が強い場合は

第2表

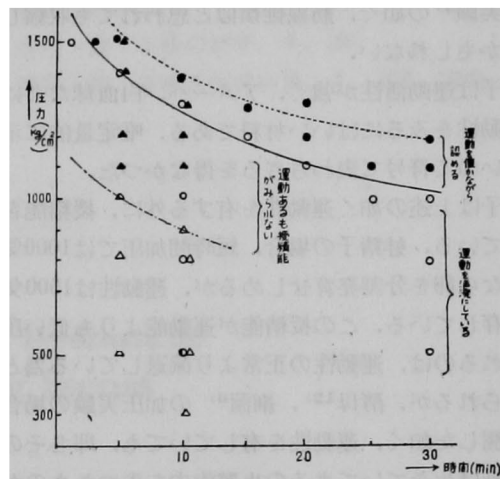
加圧強度 (kg/cm ²)	加圧時間 (min.)	授精能	受精率 (%)
500	5	+, +, +	{ K23 E14
800	5	+, +, +	{ K48 E47
1000	5	+, +, -	{ K23 E8
1200	5	-, -, -	{ K20 E0
1400	5	-, -, -	{ K86 E0
1500	5	-, -, -	{ K26 E0
300	10	+, +, +	{ K25 E20
600	10	+, +, +	{ K33 E37
800	10	+, +, +	{ K75 E48
1200	10	-, -, -	{ K50 E0

未受精卵と同様の運命を辿り、卵の排列も乱れている。又、圧が高くなるにつれて分割、発育してゆくものの数が減つてゆく。5分間加圧の場合は1000気圧以下ならば大体正常と同じ分割発育をせしめ得る。尚、生ずる蝌蚪の異常形態の増加は認められず、対照と差を認めない。受精率は参考迄に記載したもので、精子の加え方が厳密な意味で同じ量ではないし或る程度の目安にならうと思われるものである。

(3) 運動性と授精能との關係に就て：精子に加圧した場合、その運動性に対する変化と授精能に対するそれとを比較検討するため図表にしたものが第1図であ

る。図に於て実線より下の部分が精子が運動を活潑に

第1図 蛙精子の運動能及び授精能に対する高圧の影響 (圧強度一時間曲線)



運動性 { ○ 運動を認める。
● 僅かながら認めるか、又は認められない。
授精能 { △ 分割、発育する。
▲ 分割、発育しない。

行なつている範囲であり、点線より上の範囲は精子の運動の認められないものである。その中間部は運動せる精子の数の数ない場合か、運動の極めて乏しいが動いている範囲である。之に対し鎖線以下の部分は加圧精子を加えた卵が分割発育し得る範囲である。之からも判る如く運動性は有していても授精能のない精子があると考えられる。

尚、前に報告した受精卵を加圧した場合¹³⁾と比較してみると、受精卵を加圧の場合は500気圧前後から分割発育を認めなくなるのに反し、精子のみ加圧しそれを用いて受精させた卵の場合では1000気圧迄は分割発育し得る。

未受精卵を加圧し、之に正常の精子を加える実験では産卵後のゼリー層の膨潤による為か、分割を見ることも少ないが、一定した成績が得られなかつた。

IV 考 察

精子は運動性を有する単細胞生物としての代表的なものであり、又精子そのものは成長、分裂を行なわず代謝により生産されたエネルギーは運動のためにのみ利用されていると考えられる^{11) 14)}。従つて筋肉とも相通ずる処があるといえよう。加圧した場合精子の形態に注意して観察したが、高い圧で僅かに彎曲しているものを認める位で特に著しい点はみられず、圧による筋肉収縮の場合の如き変化^{2) 10)}はなかつた。精子細胞の中にはEngelhardt⁸⁾によれば Spermisin と命名される ATPase 作用を有する或る種の蛋白が存在するといひ、又精子細胞の線維は頸部から尾部末端

に至るまで同一の線維が走つているとも云われている¹⁾。従つて精子の場合も筋収縮と同様な変化^{2) 10)}を認めてもいい筈であるが、或はツリガネムシに対する加圧実験⁴⁾の如く、筋線維類似と思われても収縮しないのかもしれない。

精子は運動活性が強く、アメーバ、白血球などに比し運動性をみるにはいい材料である。唯定量的に示し得ないので符号で表わさざるを得なかつた。

精子は上述の如く運動性を有する外に、授精能をも有している。蛙精子の場合、短時間加圧では1000気圧以下なら卵を分割発育せしめるが、運動性は1500気圧でも存している。この授精能が運動能よりも低い圧で冒されるのは、運動性の正常より減退している為とも考えられるが、酵母¹²⁾、細菌⁶⁾の加圧実験の場合にも推測した如く、運動性を有していても、即ちその個体自身は生きていてもその生殖能力を失つたものが存在するということも考えられない事はない。一般に精子の運動能と卵を発育せしめる能力とは、後者の方が早く消失するとも云われている¹¹⁾ので、加圧の場合も運動性はあつても卵を発育せしめ得ない範囲が存在するのであろう。

尙 Pease⁹⁾のウニ卵に就ての実験によると、卵は700気圧で精子に貫かれなくなるが、精子の授精能はその圧に於ても冒されないとされている。蛙卵の場合、卵が不透明で観察しにくいこと、及び未受精卵に加圧し正常精子を受精せしめる実験のうまくゆかないこと等材料の点に於ける相違、及び装置の関係上直接加圧中の変化を追求出来ないこと等のため、詳細にわたつて比較検討し得ぬが、受精卵に加圧した場合と精子に加圧し受精せしめた場合との実験成績に於て大きな開きのあることから、精子に対する圧影響よりも卵に対するそれの方が大であることは考えられよう。

尙、超音波処理した精子で受精せしめて畸型を生ずることがあると云われているが、私の加圧精子の成績ではかかることは見出されなかつた。

運動停止の現われる加圧時間—加圧強度関係は、蝌蚪及び金魚の仔魚に対する実験、紫露草原形質活動の成績、或は大和¹²⁾のメダカの実験、長尾⁶⁾の鬍毛

上皮運動の成績などと比較して極めて酷似したものである。酸素消費の大なるものと小なるもの、或は anaerobic なものと aerobic なもの等で或は時間—強度曲線に差異がありはしないかと考えて比較検討したが、かかる差異は認められず、何れも同じ傾向をもっている。電気刺激の如くその分析が細かく出来ず、定量的に厳密なことは云えないが、加圧時間—強度曲線というものは大体一定したものと考えられる。

尙、一例に於て赤血球の混入した精子を加圧した場合があつたが、それによると800気圧、10分で精子には何等変化が認められず運動も活潑に行なつているに反し、赤血球は変形を来していた。この事からも赤血球よりも精子は圧に対して影響をうけ難いと云えよう。

V 結 論

蛙精子浮游液の水圧を上げて、精子の運動性、授精能をしらべ、次の如き結果を得た。即ち

(1) 1000気圧迄の圧力では精子の運動は正常と大差なく、それ以上の圧力では次第に不活潑となる。加圧強度の大なる程、加圧時間の長い程、影響が大である。

(2) 精子が加圧により運動性を停止する場合、先づ前進運動が認められなくなり、或は運動する精子の数が減り、次いで位置の移動はなく、唯、体乃至尾の運のみとなり、且つその運動ものろくなり、遂には全く停止す。

(3) 1000気圧相当以上の水圧では、精子の卵に対する授精能は失われるが、運動性は存している範囲があり、加圧精子は運動性を認めるも授精能はないものがあると思われる。

(4) 受精卵加圧の場合と比較して、精子よりも卵の方が圧に対し大きな影響を蒙る。即ち受精卵では500気圧以上では発育がみられないが、1000気圧加圧精子は卵を受精せしめ卵割を進行せしめ得る。

擱筆するに当り終始御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師林教授に衷心から謝意を表する。

文 献

- 1) 芦田・江上・吉川編：生命現象の化学，582頁（朝倉書店）昭30。
- 2) Ebbecke：Pfüger's Archiv, 157, 79, 1914.
- 3) Engelhardt：Adv. in Enzym., 6, 147, 1946.
- 4) 林・安田・村上・三木：科学, 28, 365, 1958.

- 5) 藤本・石浜・木原：産婦人科の世界, 1, 437, 1949.
- 6) 市橋：岡医誌, 66, 1, (第669号), 129, 昭29.
- 7) 木下：日大医学雑誌, 13, 1196, 1954.
- 8) 長尾：岡医誌, 67, 3・4, (第713・714号),

- 679, 昭30.
- 9) Pease : J. of Cell. a. Comp. Physiol., 19, 1, 1942.
- 10) 丹原 : 岡医誌, 第64巻, 5号 (第683号), 909, 昭27.
- 11) Wiggers : Physiology in Health and Disease, Lea & Febiger, Philadelphia, 1951.
- 12) 大和 : 岡医誌, 64, 5, (第683号), 859 ; ibid. 900, 昭27.
- 13) 安田 : 岡医誌71, 9の2, 昭34.
- 14) 吉川・他 : 生体の科学, 4, 29.
- 15) 神保・他 : 産婦人科の世界, 1, 322, 1949.

On the Effects of high Hydrostatic Pressure Upon Frog Sperms

By
Hirosi Yasuda

1st Dep. of Physiol. Okayama Univ. Medical School
(Director : Prof. K. Hayasi, M. D.)

To frog sperms high hydrostatic pressure up to 1500kg/cm² was applied, and following changes were observed.

- (1) The motility of sperms does not change at under 1000 kg/cm² pressure, but at higher pressure they become inactive or immotile.
 - (2) At certain high pressure some sperms have their motility but lose fertility.
 - (3) Frog eggs are affected by high pressure more sensitively than sperms.
-