

精管瘻管法による種雄牛の精巣上体精液採取に関する実験

石井 孝*・森田二郎**

平成4年6月30日受付

A Collection of Epididymal Sperm by Spermatic Fistula from Bulls

Kou ISHII* and Ziro MORITA**

Studies on the epididymal secretion have been hampered by the difficulty of obtaining the epididymal semen directly from living animals without dissection of the organ.

Due to the difficulty to collect semen by means of usual artificial vagina or massage for the mechanical damage of penis of a bull which had been used for the routine artificial insemination, the bull was performed an operation for spermatic fistula and was clinically observed for the collected epididymal semen. Results are summarized as follows:

Two weeks after the operation of spermatic fistula the secreted epididymal semen was in the range of 0.3~0.8ml, 1.38~2.15 billion cells/ml/day and sperm motility decreased. Six weeks after the operation of spermatic fistula the opening of fistula became difficult and secreted semen was on the decrease in the level of 0.26 billion cells/ml/day. The opening of fistula was completely lost on the 48th day after operation.

緒 言

を主目的とした。

実験材料及び方法

材料

乳用種雄牛で精液採取時の器械的衝撃により常法による精液採取が不能となったため、精管を切開して瘻管を挿入し、これに精液管を装着して精液採取することについて実験的に検索した。この方法による精液採取は特殊な場合にのみ実施され、再現性に乏しいためきわめて実験例が少ない。したがって、本実験は記録に留めること

島根県種畜場飼養の種雄牛28頭のうち、1頭のホルスタイン種種雄牛が繁殖供用後2年目に器械的衝撃のため亀頭部に出血を起こし、包皮内癒着し、包皮の切開手術を試みたが陰茎の露出不能に陥ったため精管瘻手術を試

* 島根県松江家畜保健衛生所

Matsue Livestock Hygiene Service Center

** 鳥取大学農学部獣医学科畜産学研究室

Department of Veterinary Science, Faculty of Agriculture, Tottori University

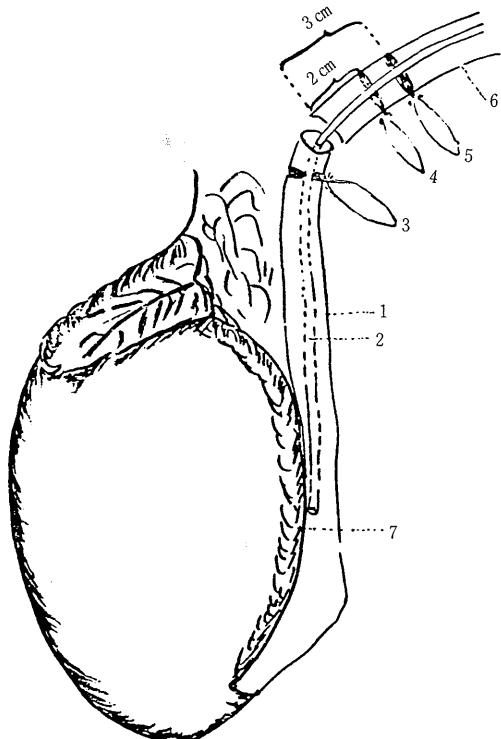
みた。

方法

装着した精液管は第1、2図及び写真1、2に示すとおりである。装着後は手術後の臨床的所見、得られた精液性状等について検索した。なお、この実験的手術を行ったのは1984年4月14日である。

瘻管等の装着施術

牛体右側臥とし、術部は左側精糸部で陰囊部の最も細い部分を5~6cm切皮し、法にならって精管の露出を行なった(第1図)。手術中出血は極めて僅少で、牛の動搖も少なかったが、輸精管の露出にかなり時間を要したほか、精管であることの確認が比較的困難であり、そのた

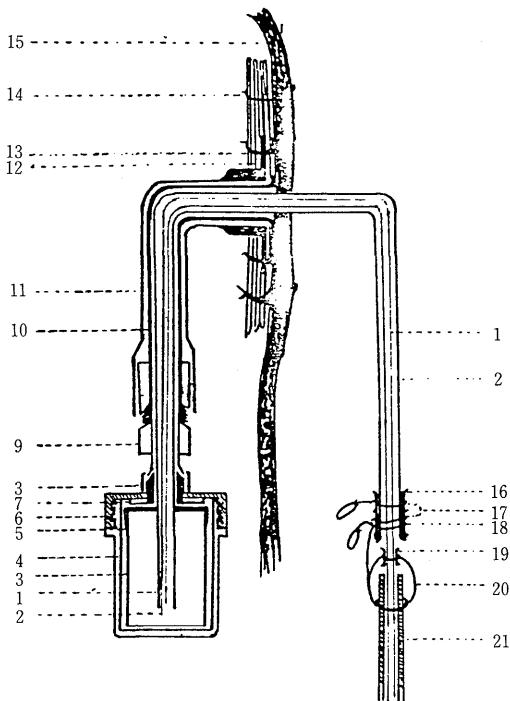


第1図 精管へのカニューレの挿入

- 1) 精管
- 2) ポリエチレン製の内管
- 3) 精管と内管を結んで間膜に縫合
- 4) ポリエチレン製の外管を横にとおしておいた縫合糸で間膜組織に縫合
- 5) 外管を横にとおしておいた縫合糸(6号)で総莢膜に縫合
- 6) ポリエチレン製の外管
- 7) 副睾丸

め精管の一部を切断して内容物を顕微鏡検査することにより精子の存在を検査して精管であることの確認を行なった(切皮手術よりの所要時間は90分間)。

精管の断端を保持し、ポリエチレン製管の内管で最も



第2図 精管と精液採取装置

- 1) 内部瘻管(ポリエチレン製)
- 2) 外管瘻管(ポリエチレン製)
- 3) 内部採取管(ポリエチレン製、厚さは薄い)
- 4) 外部採取管(肉太のポリエチレン製の管)
- 5) 内部採取管のふた(ポリエチレン製)
- 6) 肉太の外部採取管に見合ったねじふた
- 7) 雄ネジ固定枠を固定するためのナット
- 8) 雄ネジ固定枠
- 9) 雌ネジ固定枠
- 10) ポリエチレン製チューブ
- 11) 銅製のひじ管
- 12) 銅製つば
- 13) つばを包んでいる柔軟なポリエチレンの板
- 14) 陰のうに採取装置を保定する縫糸
- 15) 陰のう壁(上皮)
- 16) 外部瘻管を保定するための首輪
- 17) 鞘膜に外部首輪を保定する縫糸
- 18) 精管に外部首輪を保定する縫糸
- 19) 内部瘻管を保定するための内部首輪
- 20) 精管に内部首輪を保定する縫糸
- 21) 精管

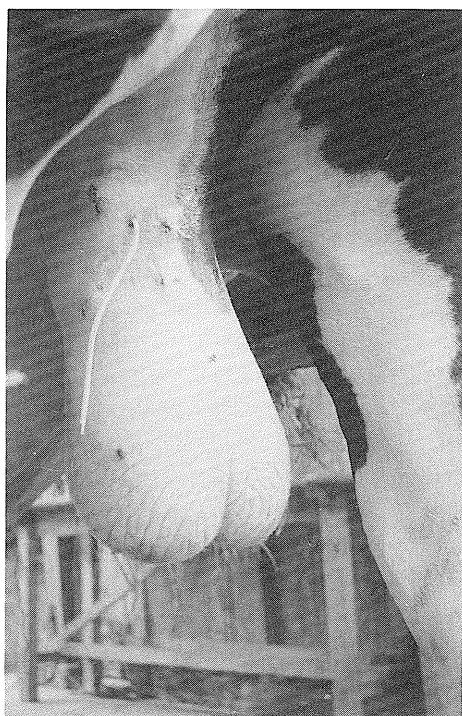


写真1. 精管への精管瘻の装着



写真2. 精管瘻と精液採取管

小さいものを精巣上体に添って精管の深部まで挿入した。この場合挿入はやや困難であったが、精巣部の位置を正常化することにより1.5cm挿入可能であった。挿入と同時に精巣上体精液が少量ながら排出された（第2図）。

次いでポリエチレン製の中形の管を内管の外側に挿入し精管の断端において固定した。次いで精管と内管とを縫合糸で結紩し、この縫合糸を周囲の組織と縫合のうえ固定した。次に外管の下端2か所を縫合糸を通してそれぞれ別々に周囲組織に縫合のうえ固着した（第2図）。

この場合、外管に装着した縫合糸の1か所分は内管を固着した組織（間模様）に固着し、他の1か所の縫合糸は総莢膜を閉鎖縫合したのち総莢膜に固着した。次いで皮膚縫合を行なった。次いで精液管固定装置の装着を行なった。装着法はナイロン糸（約糸6厘）により皮膚へ縫い付け、それぞれ4か所にボタンを装着したうえナイロン糸をそれぞれ結びつけた。

実験結果

瘻管法施術後の臨床的所見並びに精巣上体精液の性状、経過の概要是次のとおりである。

〔手術後の日数〕 〔臨床的所見〕 〔精巣上体精液性状〕

第2日目 牛の一般状態は正常 14時30分、精液採取であるが陰嚢が腫脹 管内には淡赤色の浸す。処置創面の洗浄 出液並びに精液が貯消毒、薬物の塗布。留(2.5ml)。精子活性300万単位は++30。

位筋注 第3日目 同上 14時30分、精液採取管内にやや赤味をおびた精液が0.9ml貯留。pH6.8精子活力は++40、精子数21億、貯留精液を保存。ネオセミナンで7倍希釈。24時間4°C保存後の精子活力は++15+5。

第4日目	同上	15時, 精液量は0.8ml。赤味をおびているが前日より淡い。 pH 6.8, 精子活力++45+5。	24時間貯留の精液量は0.3—0.4ml, 精子活力+++30
第5—22日目	第8日目より陰嚢腫脹	1) 自然貯留精液 脹し疼痛を訴える。(24時間) 量処理①ペニシリソ 0.7~0.8ml, pH 6.0, 300万単位筋注②強活力++40, 精子数力ナヨリン50ml 2A 20億, 奇形率18%。 静注 2) 自然貯留精液 精液採取管がひじ管(精液採取管に希釀の基部より脱落する液としてネオセミナのでコンドームで被覆を添加) 覆して装着, 落下防止 (i) 17時より翌朝止につとめた。 7時30分まで貯留 第9日目も陰嚢腫脹(12時間30分) 疼痛があるため①強精液量0.3—0.5ml, 力ナヨリン50ml 2A 活力++40, 5倍希静注②キモプシン1釀後の活力++30 バイアルを陰嚢腫脹(ii) 7時30分—19部に注射。 時まで貯留(11時間 第11日目にはペニシ 30分) リン・キモプシンを精液量0.7ml, 活前回同様に注射し活力++40, た。その結果第12日 3) 自然貯留精液の 目より腫脹疼痛が消 保存性 失した。その後の処 (i) 希釀液添加精理として患部周囲の液 洗浄, 消毒, 薬物の精子活力++40, 5 塗布を実施した。 倍希釀5時間後の活 力++35, 12時間後 の活力++20 (ii) 原精液 採取直後の精子活力++40, ネオセミ ナンで5倍希釀5時間 後の活力++35, 12時間後の活力++ 20。	第25—30日目 前回と同処置 24時間貯留の精液量 (ネオセミナンで希釀) 24時間貯留の精液量 は0.3—0.4ml, 精子活力++10 2) 自然貯留精液 (原精液) 24時間貯留の精液量 は0.3—0.5ml, pH 6.0, 精子活力++25, 精子数14億 3) 自然貯留精液の保存性 (1) 希釀液添加精液の精子活力は++30, 5倍希釀5時間後は++30, 12時間後は++20。 (2) 原精液 精子活力++30, 5倍希釀5時間後は++20
第23—24日目	処置は患部周囲の洗浄, 消毒, 薬物の塗布。	1) 自然貯留精液 (精液採取管に希釀液ネオセミナンを添加)	第31—32日目 精管瘻の右上皮膚とボタンが離れナイロン糸の1本が切断。 右下皮膚とボタンが離れたため, 起立のまま局所麻酔のうえ縫着する。 採取管装着部位の周囲がやや腫脹疼痛あるため(1)ペニシリソ 300万筋注 (2)キモプシン1バイアル筋注(第32日目)。 患部の洗浄, 消毒, 薬物塗布

第33—37日目 装着部位の皮膚に灰白色膜様物(無悪臭) (精液採取管にネオ中等度付着, 庇皮様 セミナン添加)
物加圧すると瘻管の24時間貯留精液量は入口より極く少量の0.2—0.5ml, 精子活力白色膜様物(無臭) 力++20排出, 軽度の疼痛あり。
2) 自然貯留精液 (採取管にネオセミ处置として装着部位 ナン添加)
の洗浄, 消毒。 (1) 15時30分より3か所のナイロン糸 翌日8時30分までを取り換えた。ペニ (貯留17時間)
シリソ300万単位筋 精液量0.2ml, 精子活注。 力++20
(2) 8時30分より15時30分まで(貯留7時間)
精液量0.2ml, 精子活力++20
3) 自然貯留精液の保存性 精子活力++20, ネオセミナンで3倍希釈5時間後の活力++10, 24時間後の活力++10。

第38—43日目 皮膚とボタンが離脱したため再装着。 前日同様処置。
24時間貯留の精液量は0.2—0.4ml, pH6.0, 精子活力++10, 精子数8億。
2) 自然貯留精液 (採取管にネオセミナン添加) 精液量は0.3ml, 精子活力++10。
3) 精管瘻からの漏出精液を1, 3, 5時間毎に検査したがいずれも++5であった。

第44—46日目 精液管装着部のナイロン糸が離脱したた 24時間貯留の精液量め再び取り付ける。 处置は前日と同様。 子活力+5。
2) 自然貯留精液 (採取管にセミナン添加) 精液量0.1ml, 精子活力+5。
第47日目 瘻管入口より少量の自然貯留精液灰白色膜様物排出 24時間貯留の精液量(無臭) 处置は前日と同様。 子濃度稀薄, 精子活力(-), 精子数2.6億。
48日目 処置は前回と同様。 自然貯留精液24時間貯留の精液量は0.1ml, 精子活力(-), 瘻管の解放性困難。
第50—53日目 処置は前回と同様。 自然貯留精液24時間貯留の精液量は0となる。 瘻管の解放性(-)。

第54—56日目 ひじ管脱落。 瘻管の自然貯留精液入口より少量の白色膜様物(無臭)排出。 精液管装着(内部採取管)のためコンドームで被覆して装着。 着落防止につとめた。 処置①患部周囲の洗浄, 消毒, 薬物塗布。 ②キモプシン3バイアル筋注③ペニシリソ300万単位筋注。

考 察

精液生理学の進歩とともに、精巣上体精子はいくつかの点で射出精子の性質とは異なっていることが判明してきた(Mann³, 吉田⁶)。しかしながら、精巣上体精液を得ることはきわめて困難で、古くは廃用として屠場に送られてきた種雄牛を用いてのみ可能であり、1個体

1サンプルに限られていた。

生きた動物から何とか継続的に精巣上体精液を採取する試みはWhite, Larson & Wales (1959)⁵⁾が雄羊について行なったのが最初である。精巣上体精子の性質とか保存状況について、あるいは精巣上体精子に及ぼす副生殖腺液の影響について研究することを目的として Bennett & Rowson (1963)²⁾は雄牛について精管瘻管法を応用し生きた種雄牛から継続的に精巣上体精液を採取する技術を発表した。Amannら(1963)¹⁾は同様の目的で特殊採精装置を考案し、片側の精管に装着した採取小瓶に3~9週間にわたり日量 2.8×10^9 の精子を採取することに成功した。

小笠(1978)⁴⁾は雄畜の繁殖障害について広範囲な原因のあることを総説している。しかし、本実験で取り扱ったような例には言及していない。

本実験においては、たまたま器械的衝撃のため人工腔法などによる精液採取が不可能となった種雄牛に対して瘻管法をほどこして精巣上体精液の採取を試み、その性状について調査したものである。手術後、最初の2週間における1日当たりの精子排出数(片側)は $0.7-1.1 \times 10^9$ であって、これはAmann(1963)¹⁾の成績と比較すればかなり少ない値である。また、手術前の射出精子に比較すれば精子活力は著しく低いものであった。このことは、射出精子用に作製されている希釈保存液がかならずしも精巣上体精子に適したものとは限らないこと、ならびに手術による後遺症として陰嚢炎を起こしたこと、の2つの原因が考えられる。精子活力の低下について更に重要なことは、精管から排出された精巣上体精液が好気的条件下の採取管中に長時間かかって貯留したため、採取管貯留中に精子の運動性が低下したであろうことを無視することはできない。したがって、瘻管法によって24時間貯留した精巣上体精子の活力と射出精液の精子活力とを比較してその良否を論ずること自体が困難であると考えられる。

瘻管法による精巣上体精液採取法は永続的に採取可能という技術段階にまで至っておらず、早晚、試験に用いた雄牛は廃用にせざるをえない。精子、精液についての基礎的研究とくに精巣上体精子についての研究のためには、今後この種の技術の進歩が強く望まれるところである。

結 論

乳用種雄牛1頭が繁殖供用中の器械的衝撃のため人工

腔法及びマッサージ法等で精液採取不可能になったので、瘻管法の手術を実施し、手術後の臨床的所見ならびに精液性状について検索した。その経過を要約すると次のとおりである。

- 1) 瘻管法の手術後2週間は24時間に貯留した精巣上体精液量は $0.3-0.8 \text{ ml}$ 、精子活力++20-45, pH6.8、精子数 $13.7-21.5 \text{ 億 (1 ml 中)}$ であったが、6週目より瘻管の解放性困難となり、精液量 0.1 ml 、精子活力+10, pH6.0、精子数 2.6 億 (1 ml 中) に減少し、手術後48日目に瘻管の解放性が消失した。供試牛を擬雌台及び台牛に乗駕させ瘻管より採取を試みたが精液量はごく少量であった。
- 2) 手術後2-3日に陰嚢は軽度の腫脹し疼痛を伴なったが薬物処置でこれらの病変は消失した。手術後4週間目に採取管周囲に軽度の腫脹と疼痛があり、灰白色膜様物(無臭性)がみられ、痂皮様物が中等度附着、加圧すると瘻管の入口よりごく少量の白色膜様物(無臭性)の排出が認められた。

謝 辞

本実験実施において用いた瘻管並びに精液管等はすべて元京都大学西川義正教授の考案と指導製作によるものであり、装着のための施術にあたっては元鳥取大学津村巖教授の指導と援助によるものである。記して深甚の謝意を表わすものである。

文 献

- 1) Amann, R.P.: *J. Reprod. Fertil.*, 6, 65-69 (1963)
- 2) Bennett, J.P. & Rowson, L.E.A.: *J. Reprod. Fertil.*, 6 61-69 (1963)
- 3) Mann, T.: *The Biochemistry of Semen and of the Male Reproductive Tract*, Methuen, London (1964) p. 55
- 4) 小笠 晃: 家畜繁殖学最近の歩み, 山内亮編, 文永堂, 東京(1978) pp. 349-364
- 5) White, I.G., Larson, W. & Wales, R.G.: *Fertil. Steril.*, 10 571-577 (1959)
- 6) 吉田重雄: 哺乳動物の精子, 飯田・西川編, 学窓社, 東京(1972) p. 297