

## 男子副性器分泌物と酵素

## I 不妊患者精液と酵素

広島大学医学部泌尿器科学教室（主任：加藤篤二教授）

石 部 知 行

## MALE ADNEXAL ORGAN SECRETION AND ENZYMES

## I. SEMINAL FLUID IN PATIENTS WITH STERILITY AND ENZYMES

Tomoyuki ISHIBE

*From the Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine**(Director: Prof. T. Kato, M. D.)*

Determination of LDH, LDH isozymes, AIP, LAP, TAP and PAP was attempted on the seminal fluids collected from patients with sterility who visited the out-patient clinic of the Department Urology of Hiroshima University Hospital and was confirmed to be free from endocrine disorders, gonadal dysfunction and passage disturbance of seminal tract.

The LDH activity was found to be low in the aspermic group (A-group) compared to in the normospermic (N-group) or oligospermic (O-group) groups. The percent distribution of LDH isozymes showed higher M-type in A-group than in N- and O-groups.

The AIP activity was not definitely correlated to the number of spermatozoa.

The LAP showed higher activity in A-group than in N- and O-groups.

The TAP and PAP activities demonstrated low values in A-group compared to that in N- and O-groups.

Positive correlation was found between activities of LDH and TAP.

All of the above enzyme activities showed no definite correlations with amount of seminal fluid.

人副性器分泌液中酵素活性に対する研究としては Gutman, Huggins, Mann など多くの報告があるが、これらの多くは酸フォスファターゼ（以下 TAP と略す）を対象としたもので TAP は精子機能ないし男性ホルモン作用と関連性があるとするものが多い。Grayhack などは乳酸脱水素酵素（以下 LDH と略す）活性が TAP と相関ありとしている。今回私は不妊患者を対象とし TAP, LDH を含めた2, 3の酵素活性について少数例ではあるが Normospermia（以下Nと略す）群, Oligospermia（以下Oと略す）群, Azospermia（以下Aと略す）群の各群に分け、その活性を検討したのでその成績

を報告する。

## 実 験 法

実験材料は不妊を主訴とし当科外来を訪れた患者を精子数、運動率、奇型などの面よりN群（ $50 \times 10^6$ /cc 以上、運動性60%以上、奇型20%以下）、O群（ $50 \sim 1 \times 10^6$ /cc）、A群（ $1 \times 10^6$ /cc 以下）の3群に分けた。

LDH 活性は Jatron の Kit を用い、Wróblewski 単位/ml でもってこれを示し、LDH Isozyme は Wieme の報告に従い薄層寒天ゲル電気泳動法でもって行った。すなわち寒天は noble special agar(Difco) を用い、これをバルビタール緩衝液 pH 8.4,  $\mu=0.025$  に1%溶液として溶解、これに PVP を1%になるよ

うに加えた。緩衝槽には同様緩衝液で  $\mu=0.1$  のものを用い装置を冷蔵庫内に入れ、4°C で 20V/cm 40分泳動した。泳動後の染色は表1の如き基質，色素混合液内に入れ 37°C，1時間孵卵器内においた。染色後軽く水洗し，メタノール・水・氷醋酸混合液に10分浸し，脱色固定，乾燥後 EKDS Lumicon P-2 自動記録式電気泳動用濃度計を用い 530 $\mu$  のフィルターでもって行なった。

アルカリフォスファターゼ（以下 AIP と略す），TAP，前立腺性酸フォスファターゼ（以下 PAP と略す）は何れも石津の Kit を用い King-Armstrong 単位 (KAU)/ml でこれを示し，ロイツンアミノペプチデース（以下 LAP と略す）は Dimethylacetocyanamide 法によって Goldberg 単位 (GRU)/cc でもってこれを示した。

表1 基質，色素混合溶液

Sodium lactate, 1.0M,	1.5ml
$\beta$ -Diphosphopyridine nucleotide	4.5mg
Phenacin methosulfate, 2mg/ml	1.5ml
Nitrotetrazolium blue, 5mg/ml	1.5ml
NaCN, 0.1M	2.5ml
Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1M	2.5ml
H <sub>2</sub> O	6.5ml

この際性腺機能不全患者，睾丸萎縮，性器奇型や内分泌異常を認めるもの，さらに精子通過障碍のあるものは除いた。

精液は用手的にこれを求め直ちに精子数，精液量などを検した後完全に液化するのをまって30分後，2,000回転20分間これを遠沈，その上清を試料とした。この際遠沈に基く精子崩壊といったことについては考慮を払ってない。遠沈後試料は直ちに冷凍室に保存したが検査はすべて24時間以内に行った。

### 実験成績

LDH 活性は表2~4に示す如くでN群では1,280~5,230 WUに分布し，平均3,460 WUで，O群は840~3,740 WUにありその平均は2,560 WUであり，A群は1,260~3,600WUにありその平均は2,140 WUであり，N群に比しA群およびO群ではその活性が低いことを知った。精子量との関係ははつきりした関係を見出さなかった。

LDH IsozymeをM型ならびにH型に分けてこれを見るとM型についてはN群では35.0~58.8%に分布しその平均は41.7%，O群では30.9~59.6%に分布しそ

の平均は42.7%であったのに対し，A群では症例は少いが36.0~80.0%に分布しその平均は55.7%を示した。他方H型ではN群は30.9~49.2%に分布し，その平均は40.3%，O群では33.0~53.5%に分布しその平均は42.3%であったのに対し，A群では8.9~46.5%に分布しその平均は31.5%とA群ではH型は低く，M型がN，O群に比し高い割合を占めていた。

AIP は表2, 3, 4の如くN群では9.6~51.0 KAUに分布し，その平均は29.6 KAU，O群では12~69 KAUに分布しその平均は34.0 KAU，またA群でも17~64 KAUにあり，その平均は29.0 KAUと精子数との間に何らの関係も認めなかった。また精液量との関係ははつきりしたものはなかった。

LAP は表2, 3, 4の如くN群では640~4,730 GRUでその平均は2,450 GRUで，O群では850~5,400 GRUに分布し，その平均は2,720 GRUでA群では1,160~5,000 GRUに分布し，その平均は2,710 GRUでA群は他群に比しやや高いといえる成績を得た。

酵素活性相互間の関係は図1, 2に示す如くでLDH活性とTAP活性，TAP活性とAIP活性，TAP活性とPAP活性に正の相関を認めたが，LDH活性とTAP活性を除けばはつきりした関係を見出し得なかった。

TAPについてみると，表2, 3, 4の如くN群は238~1,100 $\times$ 10KAUに分布し，その平均は531.8 $\times$ 10 KAU，O群は292~900 $\times$ 10<sup>3</sup> KAUに分布しその平均は506 $\times$ 10KAUで，またA群は60~462 $\times$ 10 KAUに分布し，その平均は391 $\times$ 10 KAUであったことはN群，O群に比しA群ではその活性の低いことを知ったが，精液量との関係は明らかでなかった。

PAPでも表2, 3, 4の如くN群の平均90 $\times$ 10 KAU，O群の平均97 $\times$ 10 KAU，に対しA群の平均は33 $\times$ 10 KAUを示しTAPと同様の事実のあることを知ったが，A群ではTAPに比し著明に低い活性にあることが明らかとなった。

### 考 按

精液の良否を決める示標としては1つのもので十分なものはなく，なお多くの検査成績の総合判定によっている。妊娠に関係するのは精子であるが，精子の媒体としての精液の価値も重大で精子に対し多くの影響を与えていると考えられ，これらについても多くの報告がある。

GrayhackなどはLDH活性を測定し40才以下の正常男子では8,450 $\pm$ 1,530 BBU/mlを示

表2 Normospermia 群の酵素活性

年 令	LDH	LDH-isozyme %				
		1	2	3	4	5
33	1830	8.3	35.2	13.9	27.8	14.8
37	4800	6.1	42.0	9.1	30.6	12.2
26	1620	9.0	26.0	19.5	32.5	13.0
23	2500	7.2	37.7	11.6	29.0	14.5
39	3600	12.2	39.0	14.6	26.9	7.3
28	4980	17.5	41.3	10.3	22.7	8.2
32	5230	4.8	45.2	11.9	31.0	7.1
31	1280	6.5	32.8	11.5	39.4	9.8
36	4200	14.5	38.5	10.8	29.0	7.2
37	4550					
平 均	3460	9.6	37.5	12.6	29.9	10.4

表3 Oligospermia 群の酵素活性

年 令	LDH	LDH-isozyme %				
		1	2	3	4	5
33	840	26.1	22.7	18.2	23.9	9.1
32	2050	14.1	39.5	9.8	22.5	14.1
32	3230	10.6	33.6	7.7	32.7	15.4
33	3130	2.5	31.6	15.2	39.3	11.4
33	2600	19.3	11.6	15.6	39.5	14.0
39	2820	0.1	39.1	23.6	35.3	1.3
31	3740	10.8	29.4	21.6	26.4	11.8
32	2940	4.6	29.9	16.1	34.5	14.9
27	1960	11.3	48.3	6.5	24.2	9.7
34	2580					
38	2280					
32	2030					
29	2940					
31	1820					
32	2580					
33	3400					
平 均	2560	11.0	31.7	15.0	31.0	11.3

表4 Azospermia 群の酵素活性

年 令	LDH	LDH-isozyme %				
		1	2	3	4	5
32	2800					
32	2540					
28	1820					
33	1390	19.5	26.0	14.2	32.3	7.9
31	1960					
28	2660					
27	1960	11.1	41.3	9.5	25.4	12.7
26	1260	14.1	34.8	18.5	29.4	3.2
43	3600	23.1	48.1	5.8	19.2	3.8
20	2060					
34	1520	44.5	35.5	11.1	6.7	2.2
38	2120	11.0	25.0	17.5	36.5	10.0
平 均	2140	20.6	35.1	12.8	24.9	6.6

AIP	LAP	TAP × 10	PAP × 10	Volume	Count	Motility %
9.6	2160	238	16	4.5	50 × 10 <sup>6</sup>	20
29.0	4730	485	141	1.5	68 × 10 <sup>6</sup>	50
15.0	3500	480	144	3.5	52 × 10 <sup>6</sup>	70
27.0	3760	416	29	6.0	60 × 10 <sup>6</sup>	65
35.0	960	425	162			
51.0	640			3.0	65 × 10 <sup>6</sup>	55
48.0	3000	850	60	5.0	62 × 10 <sup>6</sup>	60
27.0	1560	1100	100	3.0	60 × 10 <sup>6</sup>	
24.0	1700	313	24	2.0	68 × 10 <sup>6</sup>	60
30.0		480	138	1.5	68 × 10 <sup>6</sup>	50
29.6	2,450	532	90	3.3	61 × 10 <sup>6</sup>	54

AIP	LAP	TAP × 10	PAP × 10	Volume	Count × 10 <sup>6</sup>	Motility %
16	940			0.8	13	65
36	850	558	139	4.8	28	
26	5400	450	126	3.5	1.5	100
33	1700	432	127	2.8	2	60
69	3000	540	60	3.0	5	50
48	3520	900	87	1.5	10	60
12	3840	462	117	2.0	6	50
49.5	5000	390	20	3.5	2	70
39	2700	328		2.8	25	43
45	2830	730		2.6	20	70
42	2360	620		2.5	29	80
12	2840	462		1.0	2	
19	2150			1.8	43	64
27	1680	292		5.5	35	60
36	1000	414		2.0	18	50
34	2720	506	97	2.7	16	63

AIP	LAP	TAP × 10	PAP × 10	Volume	Count
23	1425	365		6.0	0
26	2600	442		1.0	0
33	3650	450		1.5	0
18	1285			2.5	16 × 10 <sup>4</sup>
51	5000	400		3.0	0
18	2600	462	54	2.5	0
64	3400	460	52	2.5	0
17	3450	216	12	4.0	0
30	2550	500	37.5	3.5	0
19	1650	590	40	2.0	0
30	1160	60	8.6	3.0	0
20	3740	351	27.5	5.0	0
29	2710	391	33.1	3.0	

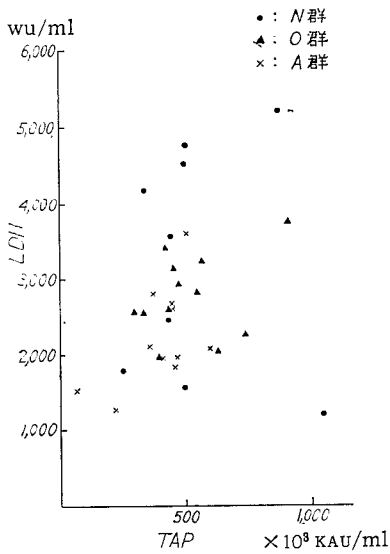


図1 LDH と TAP activity

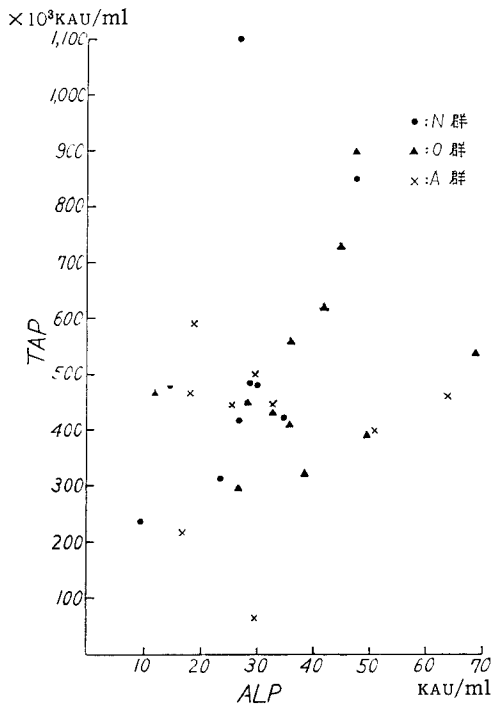


図2 TAP と ALP activity

し、年齢と共にこれが明らかに低下し、これは androgenic activity と平行するとした。私の場合精子数の少ない症例では明らかに低い活性を示しており、男性ホルモン投与でこれが増加する症例の多いことは精液中の LDH 活性が性ホルモンの状態によって変ることを示すもので

精液指標として有用なものと考えたい。

LDH Isozyme 中 Kaplan の M 型は嫌気性解糖に関係し、H 型は好気性解糖に関与するといわれるが、これについて精液で比較したものはまだ見られない。私の成績でみたところ M 型は A 群では N 群、O 群に比し明らかに高く、H 型はこの逆を示していた。このことは A 群で嫌気性解糖が高いといえ、嫌気的狀態では分解され乳酸になったフルクトースの再利用がないと考えられているからエネルギー源としての価値がより少ないということが推定され、フラクトースの乳酸への代謝が精子が少ない時おけるといった Mann の成績、不妊患者精子ではフラクトースの分解速度が低下するとした Devis & Birnberg などの成績、また少量の乳酸でさえ精子運動性に対し悪影響を与えるとした坂倉の成績などと考え合わせ今後の検討がまたれるところで、精子濃度の低い場合乳酸産生量が多いという成績や、乳酸から精子が存在しないと乳酸の酸化がおくれるという Murdoch の成績、さらに Krebs の Cycle および焦性ブドウ酸を経て  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$  への過程が人精子によって促進されるという Tunner の成績や、この過程が抑制される場合精子の運動性に対し悪影響を与え、ある種の enzymic inhibitor の存在を考えている Chang, 坂倉などの成績からみて興味深く、不妊群、特に A 群が M 型の占める割合の多い理由もこれらと関係したものと考えられる。

ALP は腎臓、骨などに多く分布し雄性附属性腺にも広く分布しフラクトース-1-リン酸、フラクトース-6-リン酸などを加水分解するとされ、フラクトースの形成、分泌の過程に重要な部分をなしていると Mann などは報告した。人精液中では多くは前立腺に由来するが TAP に比し、その濃度は少ないとされている。しかし本酵素の精液内での意義についての詳細はほとんど判っていないが Huggins などによると ALP 活性と前立腺重量との間に関係ありとした。しかし私の成績では精子数との間にはっきりした関係を見出し得なかった。また本酵素は精子にも多く含まれているため遠沈による精子の崩壊

にもとづく影響をうけやすく、また精子奇型などとの関係も論じられているが、私の検討した範囲内ではかかる事実は認め得なかった。

LAP は exopeptidase に属し臨床上黄疸の鑑別、悪性腫瘍の早期診断などに有用であることが報告されているが、精液について検討したものはない。私の調べた所ではA群ではN群、O群に比し明らかに高い活性を示していた。ホルモンとの関係は今日のところ明らかでないがLDH や TAP と逆の活性を示したことは興味ある成績と考える。

精液中に多くの TAP が含まれることは Mann, Raboch, Gutman, Grayhack 渡辺, Kirk など多の人により報告され、これらの多くが男性ホルモンレベルとの間に相関関係があり、子供の時は少なく、年頃になると著増し、成人期をすぎると不妊群では対象に比し低いとし、金子なども不妊群では TAP が低いものが多く、生殖と重大な関係があるとした。これに対し Delory などは精子数、運動性と TAP との間に相関関係はないとしている。このように一定した見解はないが私の検討した範囲内では Mann の述べる如くで、不妊群でも精子数の少ない場合より低い活性を示しており、LDH と同様男性ホルモンレベルと一致して動くとした Grayhack などの成績と一致したが、乏精子症に比し無精子症ではその活性が著明に低いというわけではなく坂倉の成績に近いといえよう。

精液は前立腺分泌物を主成分とするので PAP が多く含まれるのは当然であり、これに関する報告も多いが前述 TAP と同様一定した見解はない。私の検討した場合 PAP は TAP と同様の態度を示しているといえ、前立腺分泌液量と共に男性ホルモンレベルに支配されるものと考えられ、Mann, Huggins などがのべているように PAP 活性も精液指標として役立つものであるが、精液量と PAP 活性の間には TAP の場合と同様ははっきりした関係を見出さなかった。この場合 TAP の場合も同様であるが、坂倉は輸精管の通過障害のある場合には TAP, PAP 活性が高くても無精子症となるような症例のあることを報告しているが、私の場

合にはかかる症例は初めから省いている。しかし坂倉ののべたように病的に高いものや低いものの存在も考えられ、個体差もあり、このことがばらつきを大きくする原因と考えられる。

## 結 語

広島大学医学部泌尿器科外来に不妊を主訴とし来院し、内分泌異常、性腺機能不全、精液通路の通過障害を認めない患者の精液について LDH, LDH Isozyme, AIP, LAP, TAP, PAP 活性を測定した。

LDH 活性はN群、O群に比しA群で低く、またLDH Isozyme M型はA群ではN群、O群に比し高い割合を示した。

AIP 活性は精子数との間に明らかな関係を示さなかった。

LAP はA群ではN群、O群に比し高い活性を示した。

TAP, PAP はA群はN群、O群に比し低い活性を示した。

LDH 活性と TAP 活性の間に相関関係を認めた。

以上何れの酵素活性も精液量との間にはっきりした関係をもたなかった。

終るにあたり恩師加藤教授の御指導、御校閲を深く感謝いたします。本稿の要旨は第6回日本不妊学会・中国四国支部会において発表した。

## 文 献

- 1) Grayhack, J. T. : Trans. Amer. Ass. Genitourinary Surg., **56** : 6, 1964.
- 2) Gutman, A. B. : J. Amer. Med. Ass., **120** : 1112, 1942.
- 3) Gutman, A. B. & Gutman, E. B. : Proc. Soc. Exptl. Biol., **41** : 277, 1939.
- 4) Huggins, C. & Russel, P. S. : Endocrinology, **39** : 1, 1946.
- 5) Huggins, C. & Webster, W. D. : J. Urol., **59**: 258, 1948.
- 6) Kirk, J. E. : J. Clin. Endocrinol., **12** 338, 1952.
- 7) Mann, T. : The biochemistry of semen and of the male reproductive tract., Methuen, London. 1964.

- 8) Mann, T. & Lutwak-Mann, C. : *Physiol. Rev.*, **31** : 27, 1951.
- 9) Murdoch, R. N. & White, C. G. : *J. Reprod. Fert.*, **12** : 271, 1966.
- 10) Robach, J. : *J. Fert. Steril.*, **12** : 368, 1961.
- 11) 坂倉啓夫：不妊性の研究：第13回日本産婦人科学会総会宿題要旨。
- 12) 坂倉啓夫他：ホと臨床, **12** : 149, 1963.
- 13) 山本雄一他：臨床酵素化学：医学書院，東京，1965.

(1967年2月15日特別掲載受付)