泌尿紀要16巻5号
1970年5月

男性不妊に関する研究

—男性不妊患者精漿における乳酸脱水素酵素 Isozyme について—

神戸大学医学部泌尿器科学教室（主任：石神襄次教授）
斉　藤　　博

STUDIES ON MALE INFERTILITY

LACTIC DEHYDROGENASE ISOZYMES OF THE SEMINAL PLASMA OF INFERTILE MEN

Hiroshi SAITŌ

From the Department of Urology, Kōbe University School of Medicine
(Chairman : Prof. J. Ishigami, M. D.)

1. LDH-isozymes of the seminal plasma was investigated in 171 infertile men. Polyacrylamide gel disc electrophoresis was used to obtain zymograms. In 63 cases, concentration of each isozyme fraction was determined with microdensitometer.

2. Out of 34 azoospermic cases, 26 seminal plasmas showed only three bands of LDH-isozymes. They consisted of postvasectomy 3, germ cell aplasia 10, spermatogenic arrest 8, and hypospermatogenesis 5.

3. In 106 oligozoospermic cases, number of LDH-isozyme bands was correlated with sperm concentration.

4. No correlation was found between sperm motility rate and number of LDH-isozyme bands.

5. Densitometry of LDH-isozyme bands demonstrated constant ratio of them without regard to histological findings of the testes. On the other hand, oligozoospermic and normozoospermic cases showed high concentration of LDH_3 in the three-bands group or of LDH_5 in the five-bands group in good correlation with sperm concentration.

緒　　言

乳酸脱水素酵素 (LDH) は，diphosphopyridine nucleotide (DPN) と呼ばれる補酵素の存在のもとに，ピルビン酸と乳酸との間の可逆反応に触媒する酵素である．本酵素は，最初，Meyerhof (1919)[15] により筋肉中から見いだされた．その後の研究によって，生体内に広く分布していることが明らかにされた．また，Hill ら(1954)[11]は，悪性腫瘍患者および妊婦の血清 LDH 活性の上昇を報告した．Wróblewski ら (1955)[25] は，心筋梗塞の患者の血清 LDH 活性の上昇を指摘した．以来，酵素化学の研究の進歩とともに，本酵素についても数多くの知見が報告され，現在では，臨床的にも一部応用されつつある．

一方，Markert & Møller (1959)[14] は，同じ基質に対し特異性を持ち，蛋白の性質または反応性に差異を生ずる酵素を，isozyme と名づけた．LDH 活性の検索に次いで，LDH-isozyme のパターンの追求がなされ，このパターンに，臓器特異性が認められている．睾丸についての LDH-isozyme パターンの検索は，Blanco ら (1963)[2]，Zinkham ら (1964)[28]，Ressler ら (1965)[17~20]，原ら (1968)[10] により行なわれて

いる.精子,精液および造精機能障害の睾丸についても，Wüst (1957)[26]，Clausen ら (1965)[3]，Szeinberg ら (1966)[22]，Eliasson (1967)[5] の報告がみられる．しかし，これらの LDH-isozyme パターンと男性不妊の病因との関連性について追求した報告は認められない．

著者は,男性不妊患者の精漿について，LDH-isozyme の検索を行ない，造精機能障害との間に一定の興味ある関係を認めたので，報告する．

実験材料および実験方法

1. 実験材料

材料となる精液は，神戸大学医学部附属病院泌尿器科外来へ，男性不妊を主訴として受診した患者171例より得た．その内訳はつぎのとおりである．

1) 無精子症患者34例 (Table 1)

Table 1 無精子症症例

精管通過障害			症例数
有	精管結紮後		3
無	睾丸組織像	Germ Cell Aplasia	18
		Spermatogenic Arrest	8
		Hypospermatogenesis	5
	小計		31
計			34

精管結紮術後の者3例,睾丸組織像において，germ cell aplasia を示す者18例，spermatogenic arrest 8例，hypospermatogenesis 5例である．

2) 乏精子症患者106例 (Table 2)

精子数 5×10^6/ml 以下の者20例，5×10^6/ml から 10×10^6/ml 以下24例，10×10^6/ml から 20×10^6/ml 以下24例，20×10^6/ml から 30×10^6/ml 以下14例，30×10^6/ml から 40×10^6/ml 以下11例，40×10^6/ml から 50×10^6/ml 以下13例である．

Table 2 乏精子症症例および正常精子数症例

	精子数 (/ml)	症例数
乏精子症群	$<5\times10^6$	20
	5×10^6～10×10^6	24
	10×10^6～20×10^6	24
	20×10^6～30×10^6	14
	30×10^6～40×10^6	11
	40×10^6～50×10^6	13
	小計	106
正常精子数群	$50\times10^6<$	31
計		137

3) 精液所見に異常を認めない者 (Table 2)

すなわち，精子数 50×10^6/ml を越える者31例である．

4) 精子運動率 (Table 3)

Table 3 精子運動率測定症例

精子運動率	症例数
< 10%	23
10%～ 20%	5
20%～ 30%	8
30%～ 40%	7
40%～ 50%	9
50%～ 60%	21
60%～ 70%	13
70%～ 80%	16
80%～100%	29
計	131

精子運動率は，131例に測定された．その内訳は，運動率10%以上の者23例，10%から20%以下5例，20%から30%以下8例，30%から40%以下7例，40%から50%以下9例，50%から60%以下21例，60%から70%以下13例，70%から80%以下16例，80%から100%まで29例である．

5) LDH-isozyme の各分画の濃度測定症例 (Table 4)

(1) 無精子症症例 13例

(2) 乏精子症症例 41例

Table 4 LDH-isozyme 濃度測定症例

	精子数 (/ml)	症例数
無精子症群	0	13
乏精子症群	$<5\times10^6$	2
	5×10^6～10×10^6	13
	10×10^6～20×10^6	9
	20×10^6～30×10^6	4
	30×10^6～40×10^6	4
	40×10^6～50×10^6	9
	小計	41
正常精子数群	$50\times10^6<$	9
計		63

精子数 5×10^6/ml 以下の者2例，5×10^6/ml から 10×10^6/ml 以下13例，10×10^6/ml から 20×10^6/ml 以下9例，20×10^6/ml から 30×10^6/ml 以下4例，30×10^6/ml から 40×10^6/ml 以下4例，40×10^6/ml から 50×10^6/ml 以下9例である．

(3) 精液所見に異常を認めない症例　9例である．

なお，精子数および精子運動率の測定は，次のごとくに行なった．

(a) 精子数

採取後30分を経過しじゅうぶんに混和された精液を，白血球算定用メランジュールの0.1目盛まで吸い，さらに生理的食塩水を11目盛まで吸引した．これをよく振盪したのち，トーマの算定盤を用いて，白血球算定法に従って，精子数を測定した．

(b) 精子運動率

精液を1～2滴，スライドグラス上に滴下し，カバーグラスをかけて検鏡した．精子100匹中の運動精子数を数えて，百分率で示した．

2. 実験材料の採取法およびその前処置

用手法により，患者にできるかぎり無菌的に精液を滅菌シャーレに採取させ，精液は30分後に，その一部について精子数，精子運動率を測定した．残りを，2時間から5時間室温中に放置し，次いで，冷凍遠心沈殿器を用いて，零下4°C，10×10^3 回転／分，20分間，遠心沈殿し，分離した精液の上清，すなわち精漿を得た．これを，セルロース・チューブに入れて密封したのち，濃縮剤 Sephadex G-100 の中に埋蔵した．さらに，零下4°Cの冷蔵庫内に入れ，6時間から12時間濃縮し，この濃縮精漿を実験の材料とした．

3. 実験方法

濃縮精漿の LDH-isozyme の測定には，Ornstein & Davis[16] により報告された polyacrylamide gel disc 電気泳動法を用いた．polyacrylamide gel column 1個につき 5 mA の電流を30分から60分通電して，電気泳動をした．LDH-isozyme の染色は，Goldberg & Cather[9] の染色法（Table 5）を用いた．ガラス管より取り出した gel column おのおのを，じゅうぶんな量のこの染色液に浸し，37°C の恒温器中に30分から1時間の染色をした．

Table 5　LDH-isozyme 染色法

染色液組成	
.014M tris-HCl buffer at pH 8.3	7ml
.1M lactic acid sodium salt at pH 8.3	3ml
nitro-blue tetrazolium	8mg
diphosphopyridine nucleotide	3mg
phenazine methosulfate	1.4mg

ガラス管より取り出した polyacrylamide gel column を，上記組成の液に浸し，37°C の恒温器の中で，30分から1時間染色を行なう．

染色された LDH-isozyme の各分画の濃度は，microdensitometer を用いて測定した．得られた泳動図上の各分画の百分率は，血清蛋白分画の百分率算出法に従って算出した．

実験成績

1. 無精子症症例の LDH-isozyme の分画（Table 6）

Table 6　無精子症症例における LDH-isozyme の分画数

LDH-isozyme 分画数		3分画症例数	4分画症例数	5分画症例数	計
精管結紮後		3	0	0	3
睾丸組織像	Germ Cell Aplasia	10	7	1	18
	Spermatogenic Arrest	8	0	0	8
	Hypospermatogenesis	5	0	0	5
小計		23	7	1	31
計		26	7	1	34

精管結紮後症例3例では，いずれも3分画のみ認めた．睾丸組織像において，germ cell aplasia を示す症例18例中，3分画のみ認めたものは10例(55.6%)，4分画7例（38.9%），5分画1例（5.5%）であった．spermatogenic arrest 8例および hypospermatogenesis 5例では，いずれも3分画しか認められなかった．精管結紮後症例3例を除いた無精子症症例31例では，3分画を示したものが23例（74.2%），4分画7例（22.6%），5分画1例（3.2%）であった．

2. 乏精子症症例の LDH-isozyme の分画（Table 7）

精子数 5×10^6/ml 以下の症例20例中，3分画を示すものは5例（25%），4分画8例（40%），5分画7例（35%）に認められた．5×10^6/ml から 10×10^6/ml 以下の症例24例中，3分画4例（16.7%），4分画12例(50%)，5分画8例（33.3%）．10×10^6/ml から 20×10^6/ml 以下の24例中，3分画を示すものはなく，4分画および5分画はともに12例（50%）．20×10^6/ml から 30×10^6/ml 以下の14例中，3分画1例（7.1%），4分画6例（42.9%），5分画7例（50%）．30×10^6/ml から 40×10^6/ml 以下の11例中，3分画1例（9.1%），4分画8例（72.7%），5分画2例

Table 7　乏精子症症例および正常精子数症例における LDH-isozyme の分画数

精子数（/ml） ＼ LDH-isozyme 分画数		3分画症例数	4分画症例数	5分画症例数	計
乏精子症群	$<5\times10^6$	5	8	7	20
	$5\times10^6\sim10\times10^6$	4	12	8	24
	$10\times10^6\sim20\times10^6$	0	12	12	24
	$20\times10^6\sim30\times10^6$	1	6	7	14
	$30\times10^6\sim40\times10^6$	1	8	2	11
	$40\times10^6\sim50\times10^6$	2	6	5	13
	小　計	13	52	41	106
正常精子数群	$50\times10^6<$	0	22	9	31
計		13	74	50	137

（18.2%）．40×10^6/ml から 50×10^6/ml 以下の13例中，3分画2例（15.4%），4分画6例（46.2%），5分画5例（38.5%）に認められた．

以上，精子数 50×10^6/ml 以下の症例106例中，3分画を示すもの13例(12.3%)，4分画52例(49.1%)，5分画41例（38.7%）に認められた．

3．正常精子数を示す症例の LDH-isozyme の分画（Table 7）

31例は，いずれも4分画以上を認め，4分画22例（71%），5分画9例（29%）に認められた．

4．精子運動率と LDH-isozyme の分画（Table 8）

Table 8　精子運動率と LDH-isozyme 分画数

精子運動率 ＼ LDH-isozyme 分画数	3分画症例数	4分画症例数	5分画症例数	計
＜ 10%	2	12	9	23
10%～ 20%	0	2	3	5
20%～ 30%	2	3	3	8
30%～ 40%	1	5	1	7
40%～ 50%	2	4	3	9
50%～ 60%	2	10	9	21
60%～ 70%	1	6	6	13
70%～ 80%	0	11	5	16
80%～100%	2	20	7	29
計	12	73	46	131

運動率10%以下の症例23例中，3分画を示すもの2例，4分画12例，5分画9例に認められた．10%から20%以下の5例中，3分画を認めるものはなく，4分画2例，5分画3例．20%から30%以下の8例中，3分画2例，4分画3例，5分画3例．30%から40%以下の7例中，3分画1例，4分画5例，5分画1例．40%から50%以下の9例中，3分画2例，4分画4例，5分画3例．50%から60%以下の21例中，3分画2例，4分画10例，5分画9例．60%から70%以下の13例中，3分画1例，4分画および5分画を示すものはともに6例であった．70%から80%以下の16例中，3分画を示すものはなく，4分画11例，5分画5例．80%から100%までの29例中，3分画2例，4分画20例，5分画7例に認められた．

5．LDH-isozyme の各分画における濃度百分率（Table 9～12）

microdensitometer を使用して，63例に，LDH-isozyme の各分画の濃度を測定した．そのうち，3分画を示したもの12例，4分画27例，5分画24例である（Table 9）．

Table 9　男性不妊症例における LDH-isozyme の各分画の濃度測定症例

精子数（/ml） ＼ LDH-isozyme 分画数		3分画症例数	4分画症例数	5分画症例数	計
無精子症群	0	6	6	1	13
乏精子症群	$<5\times10^6$	0	1	1	2
	$5\times10^6\sim10\times10^6$	3	5	5	13
	$10\times10^6\sim20\times10^6$	0	4	5	9
	$20\times10^6\sim30\times10^6$	1	0	3	4
	$30\times10^6\sim40\times10^6$	0	3	1	4
	$40\times10^6\sim50\times10^6$	2	4	3	9
	計	6	17	18	41
正常精子数群	$50\times10^6<$	0	4	5	9
計		12	27	24	63

1）3分画を示した12例（Table 10）

12例中，無精子症症例6例，乏精子症症例6例（精子数 5×10^6/ml から 10×10^6/ml 以下の症例3例，20×10^6/ml から 30×10^6/ml 以下1例，40×10^6/ml から 50×10^6/ml 以下2例）である．

無精子症症例6例の各分画の平均濃度は，第1分画50.2%，第2分画36.4%，第3分画13.4%を示した．

乏精子症症例6例の各分画の平均濃度は，精子数 5×10^6/ml から 10×10^6/ml 以下の3例において，第1分画54.8%，第2分画36.1%，第3分画9.1%．20×10^6/ml から 30×10^6/ml 以下の1例は，第1分画58.8%，第2分画29.9%，第3分画11.3%．40×10^6/ml から 50×10^6ml 以下の2例は，第1分画32.0%，第2分画44.4%，第3分画23.6%を示した．これら6例における各分画の平均濃度は，第1分画47.9%，第2分画37.9%，第3分画14.3%を示した．

精子の有無および精子数の如何にかかわらず，これ

Table 10 LDH-isozyme 3分画群における各分画の濃度

精子数 (/ml)		症例数	LDH-isozyme 各分画の濃度 (%)		
			第1分画 (平均)	第2分画 (平均)	第3分画 (平均)
I	0	6	36.7%～58.3% (50.2%)	26.2%～44.3% (36.4%)	0 %～19.0% (13.4%)
II	5×10^6～10×10^6	3	46.0%～59.7% (54.8%)	28.1%～40.3% (36.1%)	0 %～14.0% (9.1%)
	20×10^6～30×10^6	1	58.8%	29.9%	11.3%
	40×10^6～50×10^6	2	11.6%～52.5% (32.0%)	36.6%～52.3% (44.4%)	10.9%～36.0% (23.6%)
	(平 均)	6	(47.9%)	(37.9%)	(14.3%)
I＋II の平均		12	(49.0%)	(37.1%)	(13.8%)

Iは無精子症群 IIは乏精子症群

ら12例の各分画の濃度の平均は，第1分画49.0%，第2分画37.1%，第3分画13.8%を示した．

2) 4分画を示した27例 (Table 11)

27例中，無精子症症例6例，乏精子症症例17例（精子数 5×10^6/ml 以下1例，5×10^6/ml から 10×10^6/ml 以下5例，10×10^6/ml から 20×10^6/ml 以下4例，20×10^6/ml から 30×10^6/ml 以下3例，40×10^6/ml から 50×10^6/ml 以下4例)，正常精子数を示す症例4例である．

無精子症症例6例の各分画の平均濃度は，第1分画30.1%，第2分画30.8%，第3分画26.6%，第4分画13.0%を示した．

Table 11 LDH-isozyme 4分画群における各分画の濃度

精子数 (/ml)		症例数	LDH-isozyme 各分画の濃度 (%)			
			第1分画 (平均)	第2分画 (平均)	第3分画 (平均)	第4分画 (平均)
I	0	6	19.1%～43.6% (30.1%)	26.0%～36.2% (30.8%)	24.7%～28.6% (26.6%)	1.5%～20.9% (13.0%)
II	～5×10^6	1	20.4%	46.1%	25.1%	8.4%
	5×10^6～10×10^6	5	7.6%～44.4% (20.5%)	14.8%～42.8% (31.5%)	20.4%～49.2% (33.0%)	5.6%～19.5% (14.9%)
	10×10^6～20×10^6	4	0.9%～28.8% (10.7%)	11.8%～42.1% (28.3%)	24.2%～54.9% (41.4%)	12.4%～30.9% (19.6%)
	20×10^6～30×10^6	3	15.3%～32.4% (23.5%)	29.2%～43.1% (34.8%)	21.5%～34.7% (27.5%)	7.8%～20.8% (14.2%)
	40×10^6～50×10^6	4	15.1%～34.1% (26.8%)	6.6%～41.2% (27.3%)	28.8%～39.3% (33.2%)	8.2%～21.3% (12.6%)
	(平 均)	17	(20.6%)	(31.0%)	(33.6%)	(14.8%)
III	50×10^6～	4	22.8%～64.6% (41.5%)	12.5%～39.3% (26.2%)	11.5%～34.4% (24.7%)	2.9%～15.6% (7.6%)
(II＋III) の平均		21	(24.4%)	(30.1%)	(32.0%)	(13.5%)
(I＋II＋III)の平均		27	(25.6%)	(30.3%)	(30.8%)	(13.4%)

I：無精子症群 II：乏精子症群 III：正常精子数群

乏精子症症例17例の各分画の平均濃度は，精子数 5×10^6/ml 以下の1例では，第1分画20.4%，第2分画46.1%，第3分画25.1%，第4分画8.4%，5×10^6/ml から 10×10^6/ml 以下の5例では，第1分画20.5%，第2分画31.5%，第3分画33.0%，第4分画14.9%．10×10^6/ml から 20×10^6/ml 以下の4例では，第1分画10.7%，第2分画28.3%，第3分画41.4%，第4分画19.6%．20×10^6/ml から 30×10^6/ml 以下の3例では，第1分画23.5%，第2分画34.8%，第3分画27.5%，第4分画14.2%．40×10^6/ml から 50×10^6/ml 以下の4例では，第1分画26.8%，第2分画27.3%，第3分画33.2%，第4分画12.6%を示した．精子数の多少にかかわらずこれら17例の各分画の平均濃度は，第1分画20.6%，第2分画31.0%，第3分画

33.6%，第4分画14.8%を示した．

正常精子数を示す4例の各分画の平均濃度は，第1分画41.5%，第2分画26.2%，第3分画24.7%，第4分画7.6%を示した．

精子数の多少にかかわらず各分画の平均濃度は，第1分画24.4%，第2分画30.1%，第3分画32.0%，第4分画13.5%を示し，精子の有無および精子数の多少にかかわらず，これら4分画を示した27例の各分画の平均濃度は，第1分画25.6%，第2分画30.3%，第3分画30.8%，第4分画13.4%を示した．

3)　5分画を示した24例（Table 12）

24例中，無精子症症例1例，乏精子症症例18例（精子数 5×10^6/ml 以下1例，5×10^6/ml から 10×10^6/ml 以下5例，10×10^6/ml から 20×10^6/ml 以下5例，20×10^6/ml から 30×10^6/ml 以下3例，30×10^6/ml から 40×10^6/ml 以下1例，40×10^6/ml から 50×10^6/ml 以下3例），正常精子数を示すもの5例である．

Table 12　LDH-isozyme 5分画群における各分画の濃度

精子数（/ml）		症例数	LDH-isozyme 各分画の濃度（%）				
			第1分画(平均)	第2分画(平均)	第3分画(平均)	第4分画(平均)	第5分画(平均)
Ⅰ	0	1	44.9%	33.3%	19.6%	1.4%	0.7%
Ⅱ	～ 5×10^6	1	14.4%	10.2%	30.5%	26.2%	18.7%
	5×10^6～10×10^6	5	1.9%～37.3% (15.3%)	13.3%～33.5% (20.2%)	20.5%～52.4% (38.7%)	6.5%～22.7% (18.8%)	2.2%～10.3% (7.1%)
	10×10^6×20×10^6	5	17.0%～28.7% (20.7%)	13.8%～28.2% (19.4%)	25.0%～36.6% (28.9%)	17.0%～26.7% (22.1%)	6.3%～11.3% (9.0%)
	20×10^6～30×10^6	3	12.7%～20.3% (15.3%)	14.9%～21.6% (17.4%)	29.3%～34.3% (31.2%)	21.9%～26.6% (23.6%)	9.0%～16.5% (12.5%)
	30×10^6～40×10^6	1	18.0%	33.6%	27.3%	14.5%	6.6%
	40×10^6～50×10^6	3	3.1%～26.0% (14.9%)	18.5%～34.4% (25.9%)	27.3%～31.9% (32.1%)	15.6%～22.2% (19.4%)	5.1%～11.9% (7.8%)
	（平　　均）	18	(16.8%)	(20.6%)	(32.5%)	(20.8%)	(9.2%)
Ⅲ	50×10^6～	5	1.4%～17.8% (9.3%)	16.7%～26.3% (20.3%)	31.1%～44.8% (36.4%)	21.0%～25.8% (22.6%)	7.8%～15.4% (11.3%)
（Ⅱ＋Ⅲ）の平均		23	(15.2%)	(20.6%)	(33.4%)	(21.2%)	(9.7%)
（Ⅰ＋Ⅱ＋Ⅲ）の平均		24	(16.4%)	(21.1%)	(32.8%)	(20.4%)	(9.3%)

Ⅰ：無精子症群　Ⅱ：乏精子症群　Ⅲ：正常精子数群

無精子症症例では，第1分画44.9%，第2分画33.3%，第3分画19.6%，第4分画1.4%，第5分画0.7%を示した．

乏精子症症例の各分画の平均濃度は，精子数 5×10^6/ml 以下の1例では第1分画14.4%，第2分画10.2%，第3分画30.5%，第4分画26.2%，第5分画18.7%．5×10^6/ml から 10×10^6/ml 以下の5例では，第1分画15.3%，第2分画20.2%，第3分画38.7%，第4分画18.8%，第5分画7.1%．10×10^6/ml から 20×10^6/ml 以下の5例では，第1分画20.7%，第2分画19.4%，第3分画28.9%，第4分画22.1%，第5分画9.0%．20×10^6/ml から 30×10^6/ml 以下の3例では，第1分画15.3%，第2分画17.4%，第3分画31.2%，第4分画23.6%，第5分画12.5%．30×10^6/ml から 40×10^6/ml 以下の1例では，第1分画18.0%，第2分画33.6%，第3分画27.3%，第4分画14.5%，第5分画6.6%．40×10^6/ml から 50×10^6/ml 以下の3例では，第1分画14.9%，第2分画25.9%，第3分画32.1%，第4分画19.4%，第5分画7.8%を示した．精子数の多少にかかわらず，乏精子症症例18例の各分画の示す平均濃度は，第1分画16.8%，第2分画20.6%，第3分画32.5%，第4分画20.8%，第5分画9.2%であった．

正常精子数を示す5例の各分画の平均濃度は，第1分画9.3%，第2分画20.3%，第3分画36.4%，第4分画22.6%，第5分画11.3%を示した．

精子の有無および精子数の多少にかかわらず，これら24例の各分画の濃度の平均は，第1分画16.4%，第2分画21.1%，第3分画32.8%，第4分画20.4%，第5分画9.3%を示した．

総括および考按

造精機能に関する LDH の現在までの研究は，つぎのごとくである．

Wüst (1957)[26] は，無精子症，乏精子症および正常精液について，解糖酵素を検索して，精液中に LDH の存在することを指摘した．MacLeod & Wróblewski (1958)[12]は，ヒトの精液の LDH 活性を測定し，その値は，ヒトの血清 LDH 活性よりも高値を示すと報告した．Allen ら (1961)[1]は，マウスの副睾丸における LDH-DPN 転移酵素について，細胞化学的に分析を行ない，この転移酵素の活性は，精管結紮術および除睾術により抑制されることを認めた．Elliott (1965)[6] は，マウスの副睾丸における代謝におよぼす，精管結紮術および除睾術の影響を検索した．その結果，精子および精液中には，LDH 活性因子が存在し，この因子は，副睾丸における乳酸の分泌を調節すると推定した．

睾丸組織の LDH-isozyme については，Zinkham ら (1963)[27] は，ヒト，イヌ，ウサギおよびマウスの睾丸に，思春期以後にはじめて現われる新しい LDH-isozyme (band X または LDHx) を認めて，この band X の存在に，男性不妊の指標となる可能性を推定している．また，かれら (1964)[28] は，ハトの睾丸組織中にもこの band X を認めている．Ressler ら (1965)[17,18,20]は，ラットの腎臓およびフォルムアルデヒド処置をしたヒト睾丸にも，この band X を認めた．原ら (1968)[10]は，ヒトの睾丸に含まれる band X の存在を確認している．

精子の LDH-isozyme については，Goldberg (1963)[7] は，超音波により破壊された精子に，5個の LDH-isozyme を認めたが，Blanco ら (1963)[2] は，睾丸のみならず精子自身にも，band X の存在することを凍結融解処置を加えることにより確認している．Withycombe ら (1964)[24] も，超音波により破壊された精子に6個の LDH-isozyme を認め，さらに，この band X[23] は，ヒトの他の組織に認められる LDH-isozyme よりも，2-oxobutyrate に対し親和性を有することを認めた．Goldberg (1965)[8] は，ヒトおよびウシの精子に含まれる band X は，他の LDH-isozyme に含有される polypeptide と異なる polypeptide を含むと報告している．Szeinberg ら (1966)[22] は，正常精子数のもの，精子死滅症および高度の乏精子症の症例に band X を認めたことから，この band X は，男性不妊の指標として考えられないと推測している．Eliasson (1967)[5] は，ヒト精子の LDH 活性およびその isozyme のパターンを検索して，このパターンは，同一症例においてほぼ一定の様相を示すことを認めた．この結果より，LDH 活性およびそのパターンは，男性性腺機能の研究に役だつと述べている．Ressler ら (1967)[19] は，免疫化学を利用してヒト精子の LDH-isozyme を検索し，band X は LDH_1 および LDH_5 と構造的に異なることを認めた．

精液については，須山 (1964)[21] は，ヒトの精液をそのまま用いて，濾紙電気泳動を行ない，アミドブラック10Bを用いて染色し，精液は5分画に分かれると報告した．Clausen ら (1965)[3] は，正常精液中に band X を認めたと述べている．

以上は，睾丸，精子および精液についての LDH-isozyme の検索であるが，さきにも述べたごとく，男性不妊患者性腺について，その病因あるいは精液所見などと LDH-isozyme 分画の数との関係について検索した報告は認められない．

著者の無精子症症例の LDH-isozyme (Table 6) において，精管結紮術後症例3例と3分画を示したその他の無精子症症例23例との間に，分画のパターンにおける有意の差は認められない．このことは，精管結紮後症例においては，その精漿は，精管結紮部位より遠位の副性器由来の分泌物のみであって，睾丸および副睾丸由来の LDH-isozyme が存在しないことから考えて，その他の無精子症症例の精漿にも，睾丸および副睾丸由来の LDH-isozyme の存在はきわめて少ないと考えられる．もちろん，一部の germ cell aplasia の症例において，LDH-isozyme の分画に4分画，5分画を示した点から，ある程度の睾丸および副睾丸由来の LDH-isozyme の含まれることは当然であるが，

きわめて少ない．

乏精子症症例106例の LDH-isozyme の成績 (Table 7) において，精子数 10×10^6/ml 以下の高度の乏精子症症例（44例）と精子数 10×10^6/ml から 50×10^6/ml 以下の比較的軽度の乏精子症症例（62例）とに分けた場合，両者の精漿の LDH-isozyme が3分画のみ認められる症例は，前者が9例(20.5%)，後者は4例(6.5%）であり，精子数の減少に比例して，LDH-isozyme は3分画を示す割合が増加している．すなわち，精子数の少ない症例ほど，4分画，5分画を示す症例が少ない．

正常精子数の精漿31例中，3分画のみのLDH-isozyme を認めた症例は，1例もなかった．

したがって，男性不妊の治療指針として，治療困難な精液を示す者の精漿では，3分画のみの LDH-isozyme が認められ，4分画および5分画の LDH-isozyme を認める精漿には，治療による精子数増加の可能性があると考えられる．

Mann (1954)[13] は，脊椎動物の精液中に存在する fructose は射精後の精子の生存および運動に役だつと報告し，Dohrmann ら(1966)[4] は，fructose を正常量含有する精液を遠心沈殿した場合に，その精漿の LDH 活性と精子数，精子運動率および精子形態との間に関連性が認められなかったと報告している．著者の男性不妊症例131例の精子運動率とその精漿の LDH-isozyme の分画との関係を示した成績 (Table 8) においても，両者の間に相関関係は認めえなかった．

男性不妊症例63例の LDH-isozyme の各分画の濃度を測定した成績 (Table 10～12) については，無精子症症例では，各分画の濃度の割合は，睾丸組織像の如何にかかわらず，ほぼ一定しており，乏精子症症例および正常精子数症例では，3分画を示す症例の第3分画および5分画を示す症例の第5分画の濃度はともに精子数の多寡に比例して高くなっていた．このことは，第5分画が精漿内に認められたとしても，性細胞由来のものであり，かつ，造精機転における代謝の状況に応じて増加することが想像される．

したがって，乏精子症において，5分画を全部認めた症例では，その第5分画の濃度比が精細管における精子成熟過程の動態を反映するものと考えられる．

結　語

1. 男性不妊患者171例の精漿について，disc 電気泳動法を用いて，LDH-isozyme を検索し，さらに，microdensitometer を用いて，63例の精漿の LDH-isozyme の分画の濃度を測定した．

2. 無精子症症例34例中，26例（精管結紮後症例3例，睾丸組織像において，germ cell aplasia を示すもの10例，spermatogenic arrest 8例，hypospermatogenesis 5例）の精漿の LDH-isozyme は，3分画のみであった．

3. 乏精子症症例106例において，精子数の増加とともに，その精漿の LDH-isozyme の分画数は，増加した．

4. 精子運動率と精漿 LDH-isozyme の分画数との間の相関関係は，認められなかった．

5. LDH-isozyme の各分画の示す濃度において，無精子症症例は，睾丸組織像の如何にかかわらず，ほぼ一定の割合を示し，乏精子症および正常精子数症例では，3分画を示す症例の第3分画および5分画を示す症例の第5分画の濃度が，精子数の多寡に比例して高くなっていた．

稿を終えるにあたり，ご懇篤なるご指導とご校閲を賜わった恩師石神襄次教授と原信二助教授に心から感謝の意を示し，またご協力をいただいた教室員各位に深く感謝の意を表します．

本論文の要旨は，第13回日本不妊学会総会において発表した．

文　献

1) Allen, J. M. and Slater, J. J. : J. Histochem.Cytochem., **9** : 221, 1961.
2) Blanco, A. and Zinkham, W. H. : Science, **139** : 601, 1963.
3) Clausen, J. and Øvlisen, B. : Biochem. J., **97** : 513, 1965.
4) Dohrmann, R. E., Doepfmer, R. and Uhles, H. J. : Arch. Klini. Exptl. Der-

matol., **225** : 67, 1966.

5) Eliasson, R. : Proceedings of the fifth world congress on fertility and sterility edit. by Westin, B. and Wiqvist, N., p. 621, Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1967.

6) Elliott, P. R. : J. Cell. and Comp. Physiol., **66** : 293, 1965.

7) Goldberg, E. : Science, **139** : 602, 1963.

8) Goldberg, E. : Arch. Biochem. Biophys., **109** : 134, 1965.

9) Goldberg, E. and Cather, J. N. : J. Cell. and Comp. Physiol., **61** : 31, 1963.

10) 原信二・Whitmore, W. F. Jr. : 日本不妊会誌, **13** : 208, 1968.

11) Hill, B. R. and Levi, C. : Cancer Res., **14** : 513, 1954.

12) MacLeod, J. and Wróblewski, F. : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **99** : 265, 1958.

13) Mann, T. : The Biochemistry of Semen. London. Methuen and Co., Ltd., 1954.

14) Markert, C. L. and Møller, F. : Proc. Natl. Acad. Sci., **45** : 753, 1959.

15) Meyerhof, C. : Arch. Ges. Physiol., **175**: 20, 1919.

16) Ornstein, L. and Davis, B. J. : Disc electrophoresis, preprinted by distillation products industries, Rochester. New York, 1962.

17) Ressler, N., Cook, U., Olivero, E. and Joseph, R. R. : Nature, **206** : 828, 1965.

18) Ressler, N., Olivero, E. and Joseph, R. R. : Nature, **206** : 829, 1965.

19) Ressler, N., Stitzer, K. L. and Ackerman, D. R. : Biochim. Biophys. Acta, **139** : 507, 1967.

20) Ressler, N. and Tuttle, C.: Nature, **210**: 1268, 1966.

21) 須山：日法医誌, **18** : 166, 1964.

22) Szeinberg, A. Mor, A., Vernia, H. and Reischer, S.: Life Science, **5**: 1233, 1966.

23) Wilkinson, J. H. and Withycombe, W. A. : Biochem. J., **97** : 663, 1965.

24) Withycombe, W. A. and Wilkinson, J. H. : Biochem. J., **93** : 11p, 1964.

25) Wróblewski, F. and LaDue, J. S.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **90** : 210, 1955.

26) Wüst, H.: Arch. Klin. Exptl. Dermatol., **205** : 351, 1957.

27) Zinkham, W. H., Blanco, A. and Kupchyk, L. : Science, **142** : 1303, 1963.

28) Zinkham, W. H., Blanco, A. and Kupchyk, L. : Science, **144** : 1353, 1964.