

前立腺分泌液の研究

II 前立腺分泌液及び精液の遊離アミノ酸に就いて

広島大学医学部泌尿器科教室（主任 加藤篤二教授）

大学院学生 田 中 広 見

STUDIES ON PROSTATIC SECRETION

II. STUDIES ON FREE AMINO ACIDS OF PROSTATIC FLUID AND SEMEN

Hiromi TANAKA

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

Using a high voltage paper electrophoretic apparatus of the "Ishidai" type, free amino acids in human semen, prostatic fluid and dog prostatic fluid were separated and confirmed. Changes of amino acid composition in human semen following ejaculation were also investigated.

1) With the reference of 17 kinds of pure amino acid crystals as standards, electrophoresis with 100 volt/cm for 30 minutes confirmed 10 fractions including 2 alkaline fractions. Among the amino acids studied, overlapping occurred between tyrosin and cystine, asparagic acid and phenyl alanine, glutamic acid and methionine, leucine and iso-leucine or threonine, varine and serine, and arginine and histidine so that these were unable to separate each other.

2) As the free amino acids in human semen, asparagic acid (phenyl alanine), glutamic acid, leucine (threonine) and varin (serine) were demonstrated immediately after fluctuation, followed by increased numbers in demonstrable amino acids being tyrosine (cystine), asparagic acid (phenyl alanine), glutamic acid, leucine, varine (serine), alanine, glycine, arginine and lysine.

3) Among these amino acids, particularly large amount of asparagic acid, glutamic acid and leucine were thought to be contained in the semen.

4) The level of non-protein nitrogen in human semen was 85 mg/dl immediately after fluctuation, followed by a rapid increase with lapse of time and came to the maximum level up to 240~260 mg/dl.

5) The level of free amino acid in human semen was found to be about 70 mg/dl in 1 hour of ejaculation, followed by gradual increase up to the maximum of 190 mg/dl.

6) As the free amino acids in human prostatic fluid, glutamic acid, glycine, varine (serine), arginine, alanine and lysine were found.

7) In the dog prostatic fluid, glutamic acid, leucine (threonine), varine (serine), alanine, glycine and lysine were demonstrated.

8) No difference in confirmable free amino acid composition of semen between patients complaining of sterility and healthy subjects. However, a slight difference in the total level of free amino acid was demonstrated between healthy subjects and patients with aspermatogenesis.

緒 言

射精直後の精液に含まれる遊離アミノ酸の濃度は非常に低いが、37°Cに保温するか、又は室温に放置しても非常な速度でその濃度が上昇することは旧くより知られている。即ち、精漿の蛋白質含有量は射精後不動のままではなく、急速な酵素的变化を受けて非透析性の蛋白性窒素はその濃度がどんどん減少し、同時に非蛋白性の窒素や遊離アミノ酸が蓄積して終りに近くなつて遊離アンモニヤが蓄積するのである。

ヒト精液中の遊離アミノ酸についての記載としては、精液中に遊離チロジンを見出した Wagner-Jauregg (1941年) の研究が先づ上げられるが、その後 Jacobsson, Lundquist, Adam u. Korting, Smith, 石橋, 西浦等はペーパークロマトグラフィーを用いてそれぞれ約10数種のアミノ酸を分離確認しているが、その種類については必ずしも一致していない。

私は正常精子数保有者の精液の遊離アミノ酸の高圧濾紙電気泳動による同定、定量、及びその時間的消長について、減精子症及び無精子症患者の精液の遊離アミノ酸とを比較検討し、又ヒト前立腺分泌液と犬前立腺分泌液の遊離アミノ酸の同定を行つたので報告する。

実 験

I. ヒト精液の遊離アミノ酸の同定、定量及びその時間的消長について

A. 実験材料及び実験方法

1) 実験材料

①精液：用手法により清潔なガラス容器に直接採取した精液を液化するのを待つて、その一部について精子数を測定し、他の 1cc を 37°C の恒温槽の中に保存した。

②アミノ酸：グルタミン酸他15種。

③呈色試薬：0.2%ニンヒドリン・n-ブタノール溶液を使用した。

④クエン酸緩衝液：21.008gのクエン酸をN・NaOH 200ccに溶解し、水を加えて500ccとした後、pH 5.0 $\pm$ 0.1 となる様に補正した。

⑤装置：医歯大式水平高圧濾紙電気泳動装置を使用した。本装置は高圧整流器と低温泳動槽の2部分より成り、電圧は直流10000V迄、電流は50mAまでを任意に変えることができる。低温泳動槽内には高圧泳動

の際最も障碍となる発熱と濾紙面の乾燥を防止するため冷却溶媒としてn-ヘキサンを、寒剤として氷と塩を使用し、電極は白金を使用した。

緩衝液にはギ酸、酢酸、水(5:15:18)(pH 1.5)混和液を使用した。

濾紙は東洋濾紙 No. 50 (40×2cm)を用いた。

2) 実験方法

①試料作製法：精液1ccに6倍量のメタノール・アセトン混液(3:1)を滴下混和後30分間氷室内に静置後3000rpm 5分間遠心した上清をとり、80°C以下の湯水上で減圧蒸溜し、0.5cc迄に濃縮し、これに4ccのエーテルを混和攪拌し、再び3000rpm 5分間遠心して下層透明部分をとり濾紙への塗布試料とした。

②泳動方法：濾紙を緩衝液に浸漬した後大型濾紙の間に挟んで、余剰の緩衝液を充分吸いとり、枠に固定してから正極側端より7cmの部位にマイクロピペットにて試料を横に線状に塗布し、濾紙両端を正負両電極槽に浸し100V/cm 30分間泳動した。

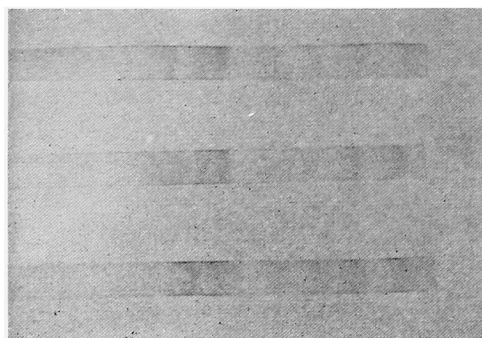


写真1 高圧濾紙泳動像

③呈色法：泳動後濾紙を乾燥し、0.2%ニンヒドリン水飽和ブタノール溶液を噴霧し、100°C 5分間加熱して発色させた。

④定量法：

イ. グルタミン酸検量線作製：グルタミン酸を50~500 γ /cc含有する溶液を作り、それぞれに1%ニンヒドリン溶液2ccを加えた後100°C沸騰水中にて20分間加熱発色させて、冷却後クエン酸緩衝液5ccを加え全量を8ccとし、波長570m μ のフィルターを用いて吸光度を測定し、検量線を作製した。この検量線はLambert-Beerの法則に従うことを認めた。

ロ 試料中の全遊離アミノ酸量の測定：前記作製法で得た試料を0.01cc取り、水を加えて1ccとしたものに1%ニンヒドリン溶液を2cc加え加温、100°C、10分間煮沸し発色後冷却しクエン酸緩衝液5ccを加え、

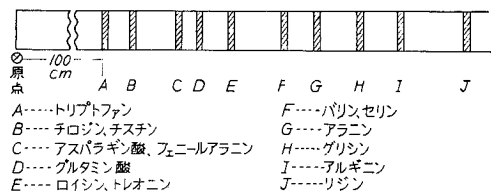
570 $m\mu$ のフィルターにて吸光度を測定し上記グルタミン酸検量線より全遊離アミノ酸量を算出した。この試料中にはアミノ酸ばかりでなく、アミン、ペプチド類も含まれるので正確には全ニンヒドリン陽性物質量の測定を行なつたことになる。この際発色濃度が著しく高い場合は適宜稀釈して比色を行なつた。

ハ、試料中の非蛋白性窒素の測定：前記作製方法で得た試料の 0.1cc に硫酸を加え強熱すると NPN は硫化されて硫酸アンモニウムとなる。生じた硫酸アンモニウムに水 5cc を加え、この中の 1cc をとり水 3cc を加えた後ネスレル液を作用させると NPN 含量に相応する黄色調に発色するからこれを光电比色計を用い比色定量した。

B. 実験成績

1) アミノ酸の同定

泳動によつて展開されたアミノ酸の同定法には被検試料と既知アミノ酸を2枚の濾紙の原点に塗布しこれを並べて泳動し、既知アミノ酸と同一の移動値をもつ被検試料の発色を見出す平行法と、被検試料に既知アミノ酸の適量を混合して泳動し、これを未処理の被検試料の泳動像と比較して増強された発色位置を求める混合法があり、又各アミノ酸の相対移動度も参考にすることができる。Wieland 等は30例の泳動像について実験した結果、各アミノ酸の移動距離がペーパークロマトグラフィーにおける R_f 値と同様特徴的な点があることを認めている。著者はこれらの平行法及び混合法と共に試料にグルタミン酸及びリジンを混入し、この両者の距離を1.0として各アミノ酸の相対的移動距離を求め、第1図に示す様な結果を得た。即ち負極

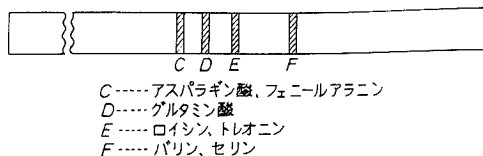


第1図 各種アミノ酸の泳動距離 (100V/cm・30分) (pH 1.5)。

側よりリジン、ヒスチジン、及びアルギニンの塩基性分画、次いでグリシンを先頭とする中性分画からなる。グルタミン酸及びアスパラギン酸の酸性分画は pH 1.5 の緩衝液では独立して現われず、メチオニン及びフェニールアラニンの分画と重畳して出現した。

2) 精液中の遊離アミノ酸の泳動像

射精後精液の液化するのを待つて、除蛋白、脱脂後濃縮した試料 0.02cc をマイクロビペットで濾紙に塗布し、高圧濾紙電気泳動にかけ、ニンヒドリンを用いて



第2図 精液化直後の遊離アミノ酸
37°C Incubation

発色させた濾紙上には第2図に示す如き泳動像がえられた。即ちアスパラギン酸（フェニールアラニン）、グルタミン酸、ロイシン（スレオニン）、バリン（セリン）を認めた。呈色濃度から推定されるアミノ酸の量としてはアスパラギン酸とグルタミン酸が多い様であつた。以後25日間にわたつて 37°C 恒温槽内に貯えた精液についてその遊離アミノ酸を観察してみた。



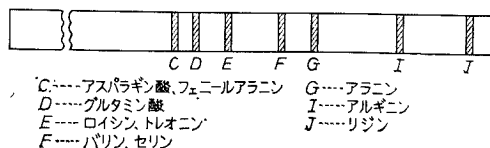
第3図 精液中の遊離アミノ酸（射精後1時間～7日）37°C Incubation

射精後1時間から7日の間には第3図に示す如く、チロジン（チスチン）、アスパラギン酸（フェニールアラニン）、グルタミン酸、ロイシン（スレオニン）、バリン（セリン）、アラニン、グリミン、アルギニン、リジンを分離した。これらのアミノ酸の中でもアスパラギン酸、グルタミン酸、ロイシンは特に濾紙上に強い呈色を示していた。濾紙上につくるアミノ酸の呈色濃度は射精後時間の経過と共に24～48時間迄は次第に濃くなるために濾紙に塗布する試料を漸次稀釈しなければならなかつたが、濾紙上に現われる遊離アミノ酸は射精後1時間から7日間迄は既述した約9種のアミノ酸が常に存在し、その種類については増加や減少はみられなかつた。

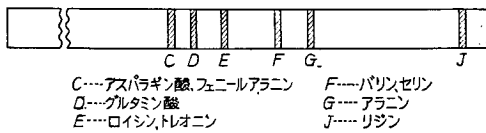
射精後8日ではチロジン（チスチン）、グリシンの帯が濾紙上から消失した（第4図）

射精後14日ではチロジン、グリシンの他アルギニンの帯が消失していた（第5図）

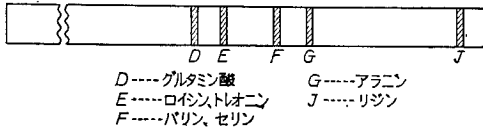
射精後24日ではアスパラギン酸（フェニールアラニ



第4図 精液中の遊離アミノ酸（射精後8日）
37°C Incubation



第5図 精液中の遊離アミノ酸 (射精後14日)
37°C Incubation



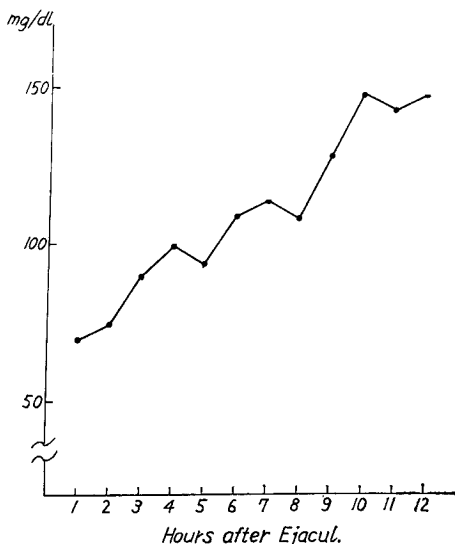
第6図 精液中の遊離アミノ酸 (射精後24日)
37°C Incubation

ン) も消失し, 初め約9種認められていた遊離アミノ酸は, グルタミン酸, ロイシン (スレオニン), バリン (セリン), アラニン, リジンの約5種類のアミノ酸が見出されるのみとなつた (第6図)

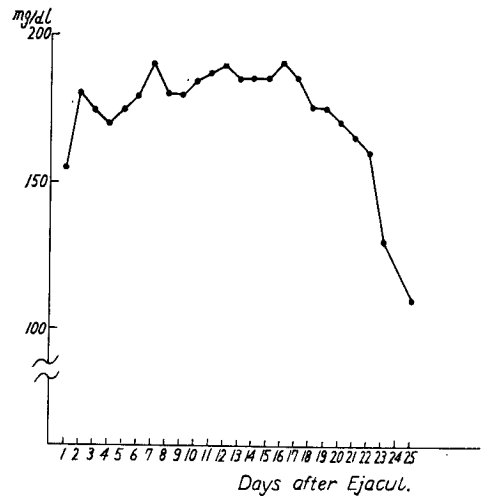
以上は正常精子数保有者即ち精子数 100×10^6 以上のヒト精液の高圧汙紙電気泳動による遊離アミノ酸の泳動像であつたが, 次に精子数 $99 \sim 50 \times 10^6$ 以下の減精子症, 無精子症患者の精液を同様の処理を行なつて, 射精後3時間の精液の遊離アミノ酸の高圧汉紙電気泳動を試みた。

高圧汉紙電気泳動によつて汉紙上に検出された遊離アミノ酸は正常精子保有者の精液にみられたそれと同様で, アスパラギン酸, グルタミン酸他7種の遊離アミノ酸であつた。

3) 精液遊離アミノ酸, 非蛋白性窒素の消長について



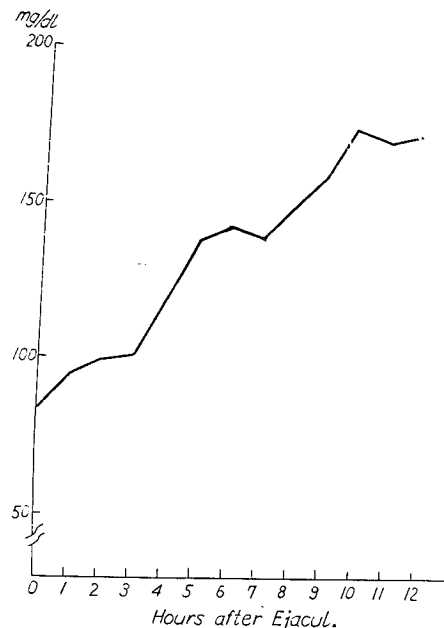
第7図 精液中全遊離アミノ酸の消長
37°C Incubation



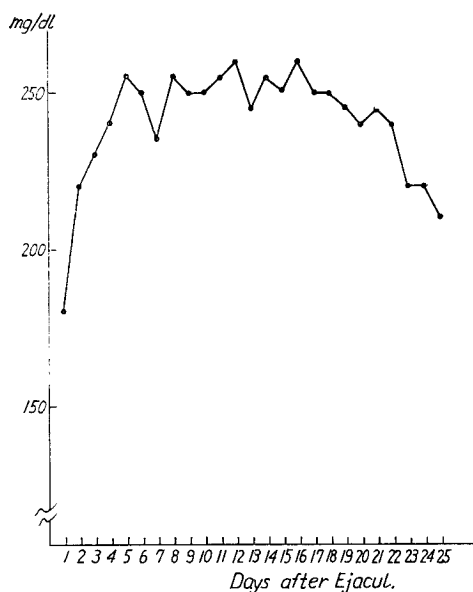
第8図 精液中の全遊離アミノ酸量の消長
37°C Incubation

精液中の全遊離アミノ酸量は, 射精後 37°C 恒温槽にて1時間を経た精液の中には約 70mg/dl の遊離アミノ酸が含まれていた。そして射精後48時間迄は急速に増加を続け, 最高 190mg/dl の値をとつた。以後約20日間頃迄は 170~190mg/dl の間を増減し, その後は遊離アミノ酸は減少し, 25日後には 110mg/dl の値をとつていた (第7・8図)

一方精液中の非蛋白性窒素量の消長についてみてみると, 液化直後の精液中には平均約 85mg/dl の非蛋



第9図 精液中の NPN の消長
37°C Incubation



第10図 精液中のNPNの消長
37°C Incubation

白性窒素が含まれていたが、時間と共にこれは急速に増加し、射精後約4日迄は増加をつづけ、最高約 260 mg/dl に達した。

その後は 240mg~260mg/dl の間の増減をくりかえし、ほとんど一定の値をとるが、約20日後に至り非蛋白性窒素の値は下降しはじめ、25日後には 200mg/dl の値をとっていた(第9, 10図)

4) 不妊を訴える患者の精液の遊離アミノ酸量について

不妊を主訴として来院した患者の精液の全遊離アミノ酸量を正常精子数保有者のそれと比較してみた。

精液の液化するのを待つて測定したが正常精子数保有者では 80~120mg/dl のアミノ酸量を示し、平均 94mg/dl 減精子症では 80~100 mg/dl 平均 92mg/dl、無精子症では 42~68mg/dl の間の値をとり、平均 55mg/dl であった(第1表)

Ⅱ. ヒト及び犬の前立腺分泌液の遊離アミノ酸の同定

A. 実験材料及び実験方法

第1表 精液中のアミノ酸量の比較

氏名	精液量	精子数	遊離アミノ酸量	睪丸生検像
正常群	田 ○ 5 cc	150×10 ⁶	88mg/dl	
	溝 ○ 4 cc	100×10 ⁶	84mg/dl	
	竹 ○ 4.5cc	175×10 ⁶	112mg/dl	
	小 ○ 5 cc	200×10 ⁶	95mg/dl	
減精子症	清 ○ 2 cc	9×10 ⁶	82mg/dl	Hypoplasia testis
	木 ○ 3.5cc	18×10 ⁶	96mg/dl	Hypoplasia testis
	西 ○ 2.3cc	12×10 ⁶	80mg/dl	
	川 ○ 1.4cc	29×10 ⁶	100mg/dl	
無精子症	山 ○ 5.0cc		55mg/dl	Hypoplastic spermatogenesis
	砂 ○ 1.8cc		58mg/dl	Spermatogenesis の障害
	佐 ○ 4.7cc		42mg/dl	
	奥 ○ 2.7cc		68mg/dl	Hypoplasia testis

①ヒト前立腺分泌液

成人健康男子について prostatic massage を行つて採取した分泌液 0.5cc について、メタノール・アセトン混液及びエチルエーテルにて除蛋白、脱脂後 0.1 cc 迄に濃縮し、その 0.04cc を濾紙に塗布して高圧濾紙電気泳動を行なつた。

②犬前立腺分泌液

雄性成犬を使用し前立腺分泌液を経尿道的に採取できる様に手術を実施した後、塩酸ピロカルピン 1mg を静注し、前立腺分泌液を採取した。前立腺分泌液の 10cc を精液に行つたと同じ方法で除蛋白、脱脂し、0.5cc 迄減圧蒸溜により濃縮し、その 0.02cc を濾紙

に塗布し高圧汙紙電気泳動を行なつた。

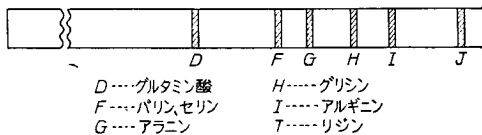
B. 実験成績

①ヒト前立腺分泌液の遊離アミノ酸

Prostatic massage で採取した前立腺分泌液を 37°C に 1 時間放置後泳動を行つた 汙紙上には

グルタミン酸, グリシン
バリン (セリン), アルギニン
アラニン, リジン

の 6 種の遊離アミノ酸を認めた (第11図)



第11図 人の前立腺分泌液中の遊離アミノ酸 (分泌 1 時間後) 37°C Incubation

②犬前立腺分泌液の遊離アミノ酸

塩酸ピコカルピン刺激にて採取した前立腺分泌液 10 cc を 37°C, 24 時間放置後泳動を行なつたが約 6 種の遊離アミノ酸を分離した。

グルタミン酸, ロイシン (スレオニン)
バリン (セリン), アラニン
グリシン リジン

ヒト, 犬前立腺分泌液中にみられた遊離アミノ酸は泳動後の汙紙の呈色濃度より見て, いづれも同じ程度の呈色濃度を示していた。

考 按

ヒト精液のアミノ酸についての記載としては, 精液中に遊離チロジンを見出した Wagner-Jauregg (1941) の研究が先づ上げられる。1944 年 Jacobsson, Consden, Gordon, Martin はペーパークロマトグラフィーによりヒト精液中に遊離アミノ酸が存在することを証明し, 同時に精液を室温に放置したとき時間の経過と共に汙紙上に現われるアミノ酸のスポットの呈色濃度が次第に濃くなることを見出している。Jacobsson (1949) は精液中の非蛋白性窒素及び遊離アミノ酸の α -アミノ窒素の測定により射精後 37°C, 20 分では非蛋白性窒素が 100 mg%, 遊離アミノ酸は 50mg% 以下であるが, 時間の経過と共に増加し, 射精後 1 時間では非蛋白性窒素 260 mg%, 遊離アミノ酸 60mg% を示していたとし, ペーパークロマトグラフィーにより精液中の遊離アミノ酸として, セリ

ン, グリシン, スレオニン, アラニン, バリン, イソロイシン, ロイシン, フェニールアラニン, リジン, アルギニン, アスパラギン酸, グルタミン酸等 12 種のアミノ酸を分離している。Christensen (1947) はヒト精液のアミノ酸窒素が射精直後では 15 mg/100ml であるが 12 時間後には 100mg/100ml にも達するとし, Lundquist (1951) も同様な実験結果と共にペーパークロマトグラフィーによりアラニン, グリシン, バリン, ロイシン, セリン, スレオニン, アスパラギン酸, グルタミン酸, その他微量のチロジン, フェニールアラニン, プロリンを精液に見出している。

一方本邦では石橋 (1954) は人精液の構成アミノ酸としてペーパークロマトグラフィーにより, アスパラギン酸, グルタミン酸, セリン, グリシン, ヒスチジン, アルギニン, リジン, アラニン, チロジン, メチオニン, バリン, ロイシン, イソロイシン, フェニールアラニン, プロリンの 14 種を分離確認できたとし, これら遊離アミノ酸が射精後 5 分以内の精液には認められなかつたが, 射精後 30 分より先づグルタミン酸が呈色し初め, 1 時間でセリン, 4 時間後にはアスパラギン酸が呈色し, 8 時間後には前述した如き遊離アミノ酸が全て呈色すると述べている。又精子と精漿の間の構成アミノ酸の差についてもみているが, 両者の間には大差を認めていない。西浦 (1960) もヒト精液について二次元ペーパークロマトグラフィーを行い, 射精後漸次アミノ酸の種類を増加することを認めている。即ち射精直後ではグルタミン酸, アラニン, セリンの 3 種のアミノ酸, 射精後 30 分ではアスパラギン酸, グルタミン酸, グリシン, アラニン, ロイシン, セリン, スレオニンの 7 種を, 1 時間後にはアスパラギン酸, グルタミン酸, グリシン, アラニン, ロイシン, セリン, スレオニン, アルギニンの 8 種を, 2 時間後にはアスパラギン酸, グルタミン酸, グリシン, アラニン, ロイシン, バリン, セリン, スレオニン, アルギニンの 9 種のアミノ酸を検出している。更に 5 時間後にはアスパラギン酸, グルタミン酸, グリシン, アラニン, バリン,

ロイシン、セリン、スレオニン、チロジン、ヒスチジン、リジン、アルギニン、の12種、10時間後にはアスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、プロリン、チスチン、セリン、スレオニン、フェニールアラニン、チロジン、アルギニンの13種のアミノ酸を検出している。以上述べたアミノ酸の同定において、いづれもペーパークロマトグラフィーが用いられているが、高圧浚紙電気泳動法による精液中の遊離アミノ酸の分離を試みた報告はみられない。

電気泳動法によりアミノ酸を分離せんとする試みは、Consden が1946年 wool hydrolysate の泳動分析を行い、その後 Haugaard, Wieland, Grassmann & Hannig 等の研究がみられるが特に Durrum は比較的高圧 (20~25 V/cm) による電気泳動法により多数のアミノ酸分離に成功した。しかし、これらの方法では蛋白質に比してはるかに低い分子量を有するアミノ酸、糖類、ビタミン類、その他の中~低分子化合物では泳動時間が長いので、その間の浚紙上の拡散が大で、塩基性、中性、酸性の3群に分離する程度で個々のアミノ酸を分離定量することは困難であつた。電気泳動を用いて分離精度を高めるためには高電圧を用いて時間を短縮する必要があるが、この高圧法で最も問題となるのは浚紙に発生するジュール熱で、この熱を奪取する様な冷却法が施されなければ塗布物質の熱による変化が起るばかりでなく、固定相としての浚紙の燃焼も起るので、浚紙の冷却及び絶縁処置に多くの工夫がなされている。

1951年以来 Michl, Kickhöfen & Westphal, Turba, Lange 等の本法についての報告がみられ、Heilmeyer 等は本法を用いて血清及び尿の残余窒素部分を鮮明に分割した。

高電圧泳動装置には泳動方法により懸垂式と水平式があり、Michl, Heilmeyer, 佐野, 若佐, 宮本, 菅野, Gross, Werner 等の研究がみられる。又泳動距離を左右する重要な因子として電圧、緩衡液、浚紙、温度が考えられ、特に緩衡液の種類について数多くの報告がみられる。

更に重要な因子として浚紙上の緩衡液の移動が上げられる。即ち泳動を始めると浚紙上から緩衡液の蒸発が起り、一方浚紙の両端からはこれを補充すべく毛管作用で緩衡液が流れてくる。その上電気浸透により緩衡液全体の陰極側への移動が起り、実際はこれらが合成され、浚紙の各部で大きさと方向が異なる流れが出来る。また宮本は懸垂式には電気泳動とペーパークロマトグラフィー的影響が作用するのではないかと述べているが、若佐はこのペーパークロマトグラフィーの影響は無視してよいと述べている。

懸垂式高圧浚紙電気泳動法を用いて佐野は血清の除蛋白液より約35のニンヒドリン陽性物質を検出し、梶田は Nicotin, Codein, Morphin, Ohton, Heroin, Chlorpromazin 等の薬物の尿中証明に応用している。

宮本は水平式高圧浚紙電気泳動装置の試作を行い、同時に血清の除蛋白液についての分離、各種ステロイドホルモン、色素形成菌の菌体成分のニンヒドリン可染分画について研究を行い、磯、花崎も同様な研究を行つている。その他に胃液、尿、眼球硝子体、胎盤、肝臓ホモジェネート、人胆汁についての研究がみられる。

山本は血清の遊離アミノ酸について医歯大式 (水平式) 高電圧浚紙電気泳動装置を用いて実験し、中尾が腐敗臓器中の遊離アミノ酸及びアミンについて佐野式 (懸垂式) 高電圧浚紙電気泳動装置により検している。曾根も水平式により臓器遊離アミノ酸の消長について検索している。著者は医歯大式高電圧浚紙電気泳動装置を使用して先づ精液中の遊離アミノ酸の同定を行つたが、射精後5~10分ではアスパラギン酸 (フェニールアラニン)、グルタミン酸が主に証明され、その他ロイシン (スレオニン)、バリン (セリン) を認めた。石橋によれば射精後30分にして初めてグルタミン酸を確認しているが、著者の経験では射精後30分を待たずに遊離アミノ酸を検出した。西浦も射精直後にグルタミン酸、アラニン、セリンを分離している。射精後1時間ではチロジン (チスチン)、アスパラギン酸 (フェニールアラニン)、グルタミン

酸, ロイシン(スレオニン), バリン(セリン), アラニン, グリシン, アルギニン, リジンが濾紙上に出現し, 以後これらの各々のアミノ酸を示す帯の呈色濃度が24~48時間後迄は増強しても, アミノ酸の種類増加はみられなかった。西浦によれば射精後10時間迄は遊離アミノ酸の種類増加することを記している。

これらのアミノ酸は1~2の種類之差があつても, その大部分はペーパークロマトグラフィーで分離した Jacobsson, Lundquist, 石橋が精液中に見出している遊離アミノ酸の種類と一致していた。射精後8日くらいからはアミノ酸は消失しはじめ24日後にはグルタミン酸ロイシン(スレオニン), バリン(セリン), アラニン, リジンが残るのみとなつた。これは Mann も述べている如く, 遊離アミノ酸が分解して遊離アンモニアが蓄積するためと考えられる。

次にこのアミノ酸の変動を NPN, 遊離アミノ酸量(ニンヒドリン陽性物質)の変動からみてみたが, 遊離アミノ酸量は射精後1時間では70mg/dl で時間の経過と共に増加し, 最高190mg/dl に迄達していた。これは Jacobsson が射精後遊離アミノ酸量が20分で50mg%, 1時間で60mg%, Christensen が射精直後の精液アミノ酸窒素が15mg/dl, 12時間後100mg/dl と測定結果を報告しているものはほぼ一致している。Jacobsson は非蛋白性窒素が射精後20分で100mg% であつたとしているが, 著者の測定では, 非蛋白性窒素量は射精後10分では85mg/dl, その後漸次増加し, 最高約260mg/dl 迄にも達していた。

遊離アミノ酸量, 非蛋白性窒素量共に射精後増加することは, 前述のアミノ酸の同定において時間の経過と共にその種類の増加することからもうなずける結果であるし, これらの遊離アミノ酸の増加がヒト精液中に含まれる蛋白融解酵素の活動の結果として射精後起つていることが解る。

精液のアミノ酸の同定においては正常者のそれと, 減精子症, 無精子症のそれとの間には差異は認められなかつたが, 遊離アミノ酸量, 非蛋白性窒素量については多少の差異を認めた。

Tyler and Lord Rothschild はアミノ酸が性器の生理の中で重要な役目をもつことを, 例えばある種のアミノ酸は sea urchin の精子の生存期間を延長することを見出しているし, Lorenz, Tyler は Glycin が sea urchin の精子に対する紫外線や可視光線の障害を防ぐ役目をもつことを記している。しかしヒト精液の精子と精漿遊離アミノ酸の関係, 性ホルモン活性度と精液遊離アミノ酸の関係については未だ記載を見ない。牛の精液についてみるとその精漿遊離アミノ酸が androgen により調整されていると Gassner, Hopwood (1952) は述べているし, 精漿遊離アミノ酸と睾丸, 副性器機能との関係について追求し, 次の如き結果を得ている。1) 正常牛精液の遊離アミノ酸としてはグルタミン酸が最も多量に存在するがその他アラニン, グリシン, セリン, アスパラギン酸等14種のアミノ酸を見出したが精管結紮を行なつた牛の精液からは2種類のアミノ酸を見出したのみであつた。2) 精管結紮によつて減少するアミノ酸の中で最も影響を受けているのはグルタミン酸の量であるが, この減少がグルタミン酸以外のアミノ酸ではテストステロンの投与により回復した。3) 睾丸を保温することによつて無精子症の状態にした精液の遊離アミノ酸は睾丸の精子形成能が最も障害された時期に一致してアラニン, グリシン, セリン, グルタミン酸, アスパラギン酸等の精液を構成するアミノ酸の増量がみられた。

著者は外来に不妊を主訴として来院した患者の精液を正常精子数保有者, 減精子症, 無精子症の3者に分け各々の精液の液化直後の遊離アミノ酸量を測定したが正常者と減精子症の間には測定値にほとんど差を認めなかつたが無精子症では正常者に比べ遊離アミノ酸量が減少していた。Gassner, Hopwood の研究では牛精液の遊離アミノ酸は精管結紮によつて減少し, 無精子症ではアミノ酸量の増加を認めているが, これはヒト精液と牛精液の間の性状の差によるものと考えられる。即ちヒト精液の遊離アミノ酸は射精後精液に含まれる蛋白融解酵素の活動により発生し, この酵素の活動により時間の経過

と共に遊離アミノ酸は蓄積するのであるが、牛の精液ではかかる現象はみられず、精液を37°Cに保温しても時間の経過と共に遊離アミノ酸が増加することはないのである。

次に前立腺のアミノ酸についての研究としては Barron and Huggins (1946) が犬の前立腺においてクエン酸の合成が Transamination によって行われることを証明したのに始まる。Marvin, Awapara は1951年ラットの前立腺のアミノ酸の研究においてアミノ酸がTransamination を受け、去勢又は性ホルモンによつて影響を受けることから、蛋白質の破壊、血中への吸収、蛋白質の合成、アミノ酸変性の4段階の可能性を論じ、前立腺における代謝異常特に蛋白質代謝異常について説明している。又前立腺における構成アミノ酸については肥大症患者の前立腺も癌患者とほぼ同種のアミノ酸を有し、特別な差を認めていない。大村 (1959) は前立腺腫瘍に際して発生する代謝障害の要因を検索せんとして、前立腺粥の蛋白質を各種溶媒によつて抽出し、その窒素の移動を観察し更にアミノ酸の分布状態を調査しているが、蛋白質窒素量については、肥大症と癌については大差なく、わずかに癌において窒素量の低下、溶解度の減少を認め、アミノ酸分布についても著変を認めていない。性ホルモン投与によつては女性ホルモンと男性ホルモンとは多少態度が異なり、肥大症では男性ホルモン投与によつてやや窒素量の減少傾向がうかがわれ、更にアミノ酸分布は去勢、及び性ホルモン投与により変化を受けることを認めている。ヒトの前立腺粥のアミノ酸としては、ロイシン、フェニールアラニン、バリン、アラニン、グリシン、チスチン、グルタミン酸、プロリンを検出している。著者の前立腺マッサージで採取したヒト前立腺分泌液にはグルタミン酸、グリシン、バリン (セリン)、アルギニン、アラニン、リジンの6種の遊離アミノ酸を認め、又塩酸ピロカルピン刺激で採取した犬前立腺分泌液にはグルタミン酸、ロイシン (スレオニン)、バリン (セリン)、アラニン、グリシン、リジンを検出した。西浦は分割射精法により得た前立腺分泌液で遊離ア

ミノ酸としてアスパラギン酸のみを認めているが、著者は既述の如き約6種の遊離アミノ酸を認め、然も之は大村が前立腺粥の中に認めた遊離アミノ酸とほぼ同種のものであつた。

結 語

医歯大式高電圧汚紙電気泳動装置を用いてヒト精液、前立腺分泌液、犬前立腺分泌液の遊離アミノ酸の同定を行うと共にヒト精液のアミノ酸の消長について検した。

1) 17種のアミノ酸純粋結晶を用いて 100V/cm 30分間泳動を行い、塩基性分画2本を含む計10本の分画を同定した。そのうちチロジンとチスチン、アスパラギン酸とフェニールアラニン、グルタミン酸とメチオニン、ロイシンとイソロイシン、及びスレオニン、バリンとセリン、アルギニンとヒスチジンは互に重畳して分離し得なかつた。

2) ヒト精液中にみられる遊離アミノ酸としては、精液の液化直後にはアスパラギン酸 (フェニールアラニン)、グルタミン酸、ロイシン (スレオニン)、バリン (セリン) であるが、その後増加して、チロジン (チスチン)、アスパラギン酸 (フェニールアラニン)、グルタミン酸、ロイシン、バリン (セリン)、アラニン、グリシン、アルギニン、リジンが検出された。

3) これらのアミノ酸の中でも、アスパラギン酸、グルタミン酸、ロイシンは特に多く含まれている様に思われた。

4) ヒト精液中の非蛋白性窒素の量は精液液化直後では 85mg/dl であつたが、その後時間の経過と共に急速に増加し、最高約 240~260 mg/dl に迄達した。

5) ヒト精液中の全遊離アミノ酸量も射精後1時間では約 70mg/dl であつたが、次第に増加し最高 190mg/dl に達した。

6) ヒト前立腺分泌液中には遊離アミノ酸としてグルタミン酸、グリシン、バリン (セリン)、アルギニン、アラニン、リジンを見出した。

7) 犬前立腺分泌液中には、グルタミン酸、ロイシン (スレオニン)、バリン (セリン)、

アラニン、グリシン、リジンを検出した。

8) 不妊を主訴とする患者の精液と健康人精液中の遊離アミノ酸の同定における差は見出されなかつたが、全遊離アミノ酸の量は健常者のそれと無精子症患者のそれとの間には多少の差が認められた、

(稿を終るに臨み懇篤な御指導、御校閲を賜つた加藤教授並に高压電気泳動装置の使用について御指導をいただいた法医学教室小林教授、曾根博士に深謝致します。)

文 献

- 1) Awapara, J. : *Endocrinology*, **51** : 75, 1952.
- 2) Awapara, J. : *Biochimica et Biophysica Acta*, **5** : 457, 1950.
- 3) 葦沢 : 御茶の水医学雑誌, **6** : 787, 昭33.
- 4) Adam, W. : *Deutsche Med. Wchnschr.*, **80** : 249, 1955.
- 5) Bartlett, D. J. : *J. Reprod. Fertil.*, **3** : 173, 1962.
- 6) Bartlett, D. J. : *J. Reprod. Fertil.*, **3** : 190, 1962.
- 7) Barron, G. E. S. : *J. Urol.*, **55** : 385, 1946.
- 8) Chuff L. G. : *J. Reprod. Fertil.*, **4** : 7, 1962.
- 9) El-Zayat, S. : *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, **106** : 803, 1961.
- 10) Gassner, F. X. : *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, **81** : 37, 1952.
- 11) Hopwood, M. L. : *Fertil. & Steril.*, **13** : 290, 1962.
- 12) 花崎 : 御茶の水医学雑誌, **6** : 1562, 昭33.
- 13) 蜂須賀 : 外科の領域, **6** : 1289, 昭33.
- 14) 石橋 : 外科の領域, **2** : 347, 昭29.
- 15) 磯 : 御茶の水医学雑誌, **6** : 844, 昭33.
- 16) 伊藤 : 御茶の水医学雑誌, **7** : 162, 昭34.
- 17) Jacobsson, L. : *Acta Phisiol. scandinav.*, **20** : 88, 1950.
- 18) 河合 : 日泌尿会誌, **50** : 1071, 昭34.
- 19) Lundquist, F. : *Acta Phisiol. scandinav.*, **25** : 178, 1952.
- 20) 宮本 : 生化学, **29** : 731, 昭33.
- 21) 宮本 : 生化学, **30** : 46, 昭33.
- 22) 宮本 : 日本細菌学雑誌, **13** : 340, 昭33.
- 23) Marvin, H. N. : *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **72** : 93, 1949.
- 24) Mann, T. : *The Biochemistry of Semen*, 共立出版, 東京, 1958.
- 28) Quatrini, V. : *Arch. fisiol.*, **55** : 382, 1855.
- 25) 中尾 : 久留米医学会雑誌, **22** : 3668, 昭34.
- 26) 西浦 : 岐阜医紀要, **18** : 906, 昭35.
- 27) 大村 : 日泌尿会誌, **50** : 967, 昭34.
- 28) Quatrini, V. : *Arch. fisiol.*, **55** : 382, 1955.
- 29) 坂岸 : 御茶の水医学雑誌, **6** : 211, 昭33.
- 30) 佐野 : 日本医事新報, **1610** : 1140, 昭30.
- 31) 曾根・広大医学雑誌, **11** : 51, 昭38.
- 32) 丹下 : 外科の領域, **6** : 1119, 昭33.
- 33) 若佐 : 生物々理化学, **6** : 9, 昭34.
- 34) 吉沢 : 御茶の水医学雑誌, **6** : 1, 昭33.
- 35) Wagner-Jauregg, Th. : *Hoppe-Seyler's Z. phisiol. Chem.*, **269** : 56, 1941.
- 36) 山本 : 原著広島医学, **9** : 81, 昭36.

(1965年2月1日受付)