

精子の生理並に受精に及ぼすヒアルロニダーゼの影響

1. 精子の活動に及ぼすヒアルロニダーゼの影響 (予報)

加藤 浩・石橋 功

(畜産学研究室)

KO KATO and Isao ISHIBASHI : Studies on the Influence of Hyaluronidase upon the Fertilization and Physiology of Spermatozoa.

1. Influence of Hyaluronidase upon the Motility of Spermatozoa (Preliminary Report).

I. 緒 言

人間においてヒアルロニダーゼ (Hy と略称する) を多く含む精液は授精率高く、この物を授精率の低い精液に加えると授精率を高め得るとなす者 (KURZROK 等1946; ROWLANDS 1944) があり、数回の人工授精により不妊であつた牛に Hy を適用して効果的であつたと称する者 (高嶺等1954, 1955) がある反面、Hy の添加の効果を否定する者も少なくないし、濃度が高過ぎると反つて悪影響があると称する者もある (CHANG 1947, 1950; JOHNSTON and MIXNER 1950; SALLMAN and BIRKELAND 1948; SIEGLER 1947). 又卵胞細胞や卵胞液に作用して受精上に大きな役割をすと称する者がある (GILCHRIST and PINCUS 1932; PINCUS and ENZMANN 1932; YAMANE 1930; 1935, FEKETE and DURAN-REYNALS 1943, LEONARD and KURZROK 1945; MCCLEAN and ROWLAND 1942). 更に人間及び牛の子宮頸管粘液への精子侵入に Hy が関係し、引いてはこれが受胎に関連を持つべきを称する者がある (MILLER and KURZROK 1932; 高嶺・羽生 1950, 1951).

かく繁殖生理上における Hy の役割については、色々研究されているが、未だ今後の研究にまつべき点を多く残している。よつて吾々は精子の生理並に受精に及ぼす Hy の影響を各方面から追及せんと企て、まず第一に精子の活動に及ぼす影響を知らんとした。即ち前進速度並に活力に最適の Hy 濃度の決定、洗滌によつて精子より Hy を遊離せしめた場合、前進速度や活力に如何なる影響を与えるか、保存液に Hy を添加して有効であるかどうか等を確めんとした。今のところ未だ充分の結果を得ていないが、或程度の事実を知り得たので、取り敢えず報告する。

本研究は文部省科学研究費の補助を得て行つたものであること、研究に際しては平林一郎、市川整の両君に助力を得たこと、牛の精液採取には埼玉県埴師長島菊二氏並に桶川保健所各位の御厚情を得たことを附記して謝意を表す。

II. 研究材料並に研究方法

A. 研究材料

供試動物としては家兎と牛を用いた。家兎は体重概ね 3kg 以上で、購入後少くとも 1 ヶ月以上研究室で飼育したもの 9 頭、牛は A (赤毛和種満 3 才)、B (ホルスタイン種満 4 才)、C (ホルスタイン種満 5 才) の 3 頭を用いた。

供試精液は同一個体から採取の際は、家兎では少くとも前の採取から 72 時間以上を経過して、牛では 4 ~ 6 日を経過して、人工陰法により採取した。

B. 前進速度の測定方法

前進速度の測定には内径 50 ~ 80 μ 、長さ 2.0 ~ 2.5 cm のガラス毛細管に予め各種供試液を毛細管の 8.5 ~ 9

分迄吸引し、次で残りの1~1.5分に精液を吸引し、毛細管全長の $\frac{1}{4}$ ~ $\frac{1}{2}$ の部位で精子が供試液内を所定の距離だけ直進する時間をストップウォッチで測定する方法を用いた。測定時温度は 37°C 、顕微鏡倍率は400倍、精子直進距離は家兎では 150μ 、牛では 180μ であつた。

Ⅲ. 研究結果

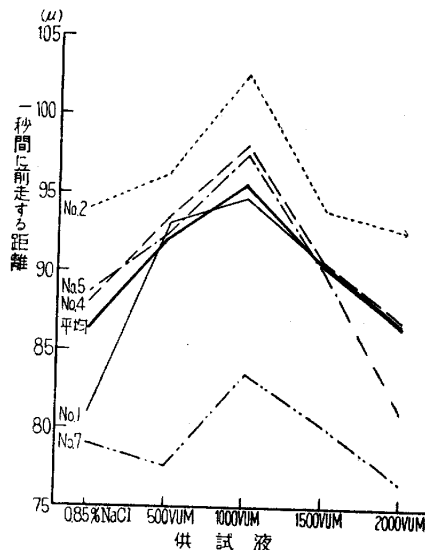
A. 各種濃度のHy液中における精子の前進速度

家兎精子ではM社製スプレーゼの500-, 1000-, 1500-, 2000VUM濃度の液を0.85% NaCl液で調製したものと、対照用として0.85% NaCl液とを予め毛細管内に吸引し、次に精液を吸引して前進速度の測定を行つた。その結果は第1表及び第1図の如くである。即ち1秒間に前走する距離は個体的に多少の差はあ

第1表 各種濃度のスプレーゼ液内における家兎精子の前進速度

供試溶液別	精液採取 延個体数	測定精 子数	150 μ 前走するに 要する時間の平均 値及び標準誤差	左の標準偏差及 び標準誤差	左の変異係数及 び標準誤差	1秒間に前 走する距離
0.85%NaCl液	10頭	500個	1.733 \pm 0.013 ^秒	0.279 \pm 0.009 ^秒	16.95 \pm 0.551%	86.56 ^{μ}
500 VUM液	〃	〃	1.629 \pm 0.011	0.250 \pm 0.003	15.34 \pm 0.496	92.10
1000 VUM液	〃	〃	1.552 \pm 0.011	0.241 \pm 0.008	15.55 \pm 0.503	95.64
1500 VUM液	〃	〃	1.665 \pm 0.012	0.262 \pm 0.008	15.72 \pm 0.504	90.06
2000 VUM液	〃	〃	1.728 \pm 0.013	0.291 \pm 0.009	16.86 \pm 0.548	86.80

備考：供試家兎5頭、1回の採取精液当り測定精子数50個



第1図 各種濃度のスプレーゼ液内における家兎精子の1秒間に前走する距離（個体別並に平均）

るが、各個体共1000VUM濃度のスプレーゼ液中において最も速度の大きいことにおいては相一致し、その測定平均値は95.64 μ である。次で500VUM, 1500VUM, 2000VUM, 0.85%NaClの順に速い。但し500VUM液と1500VUM液間、2000VUM液と0.85%NaCl液間の差は極めて僅少で有意の差ではない。

次に牛精子では家兎精子同様の供試液の他に対照として5.5%葡萄糖液をも供試したが、その結果は第2表及び第2図の如くである。即ち1秒間に前走する距離は家兎の場合同様多少個体差を有するが1000VUM液において最も速い点では相一致し、その測定平均値は116.09 μ である。次で1500VUM, 500VUM, 2000VUM, 5.5%葡萄糖, 0.85%NaClの順に速い。但し5.5%葡萄糖液と0.85%NaCl液及び2000VUM液間、0.85%NaCl液と2000VUM液間、500VUM液と1500VUM液

及び2000VUM液間の差は極めて僅かであつて有意の差ではない。

以上の如く家兎も牛も共に1000VUM液において最も前進速度が大きく、而も少く共500~2000VUMの範囲内では葡萄糖液及び食塩水のいずれよりもスプレーゼ液が多少なりとも有利であることを知り得る。即ち精子の前進運動にはHyの或量が浮游液中に存在することが有利であると推察される。若くは浮游液中に一定量のHyが存在して、精子自体からのHyの過剰遊離を防ぐことが有利であると推察される。しかも浮游液中に存在するHyの濃度は、スプレーゼを用いた場合1000VUMであるのが最適だと言ひ得る。

第2表 各種濃度のスプレーゼ液内における牛精子の前進速度

供試溶液別	精液採取 延個体数	測 精 子 数	180 μ 前走するに 要する時間の平均 値及び標準誤差	左の標準偏差及 び標準誤差	左の変異係数及 び標準誤差	1 秒間に前 走する距離
	頭	個	秒	秒	%	μ
5.5 %葡萄糖液	8	480	1.762 \pm 0.015	0.330 \pm 0.011	18.73 \pm 0.625	12.17
0.85 %NaCl 液	11	660	1.771 \pm 0.015	0.372 \pm 0.010	21.00 \pm 0.629	101.66
500 VUM 液	〃	〃	1.692 \pm 0.013	0.357 \pm 0.010	21.08 \pm 0.605	106.35
1000 VUM 液	〃	〃	1.551 \pm 0.012	0.320 \pm 0.009	20.50 \pm 0.588	116.09
1500 VUM 液	〃	〃	1.646 \pm 0.013	0.340 \pm 0.009	20.63 \pm 0.591	109.36
2000 VUM 液	〃	〃	1.721 \pm 0.015	0.380 \pm 0.011	22.07 \pm 0.634	104.58

備考：供試牛3頭，1回の採取精液当り測定精子数60個

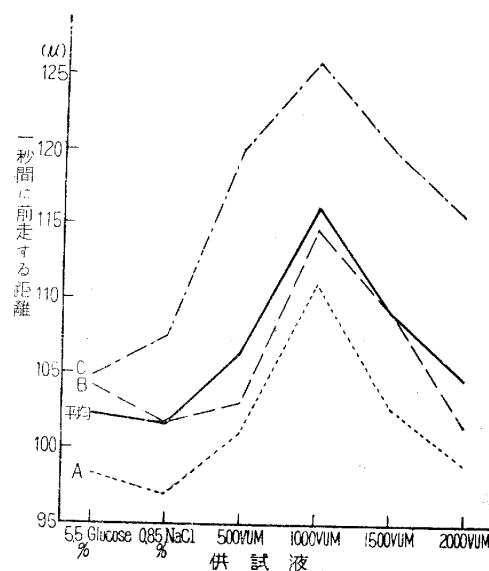
B. 洗滌精子の前進速度

1. 葡萄糖液及びスプレーゼ液による洗滌が精子の前進速度並に活力に及ぼす影響

精子の保有する Hy は精清中に，或は洗滌液中に拡散遊離することが確められており (HECHTER and HADIDIAN 1947; BERGENSTAL and SCOTT 1948; JOHNSTON and MIXNER 1949, 高嶺 羽生 1951; 高嶺 1952), HECHTER 等は家兎精子を反復洗滌すれば 2~6 回迄の洗滌液には原精液とはほぼ同じ量の Hy を含むが，7 回目の洗滌液には 1/10 より含まなくなると称している。高嶺・羽生は牛精液で 1~2 回の洗滌では頸管粘液への精子侵入性に変化はないが，3 回以降洗滌を反復する毎に侵入性の低下を見，10 回洗滌では侵入性を失うものも多く，かく粘液への侵入性を低下した精子に Hy fraction を添加すれば，再び侵入性を回復すると称している。

以上の事実に基き，吾々は精子を葡萄糖液で反復洗滌することによつて Hy を遊離せしめた場合と，精子の前進運動に最適である 1000VUM のスプレーゼ液で反復洗滌して Hy の遊離を少なからしめた場合との活力並に前進速度を測定し，以つて Hy の遊離が活力並に前進速度に如何なる影響を与えるかを検した。

精子の洗滌は，まず 0.3~0.4cc の家兎精液を 3000 廻転 5 分間の遠心分離により精清を除去し，次に精清量より 1g 多い 4% 葡萄糖液，或は 4% 葡萄糖液で調製した 1000VUM のスプレーゼ液を加えて静かに攪拌後 3 分間の遠心分離をして上清液を棄て，以後同一の操作を反復することによつて行つた。この洗滌精子に，葡萄糖液で洗滌した場合は 4% 葡萄糖液を，スプレーゼ液で洗滌した場合は 1000VUM のスプレーゼ液を，精清と同一量だけ加えて精子浮游液を調製し供試した（仮に前者を G 精液，後者を Hy 精液と略称する）。同時に対照として精液を単に遠心分離と攪拌操作のみを繰返し，精清の分離除去を行なわなかつたもの（仮に遠操精液と略称する）と，何等の操作を行なわぬ原精液（仮に保存原精液と略称する）を供試した。



第2図 各種濃度のスプレーゼ液内における牛精子の1秒間に前走する距離（個体別並に平均）

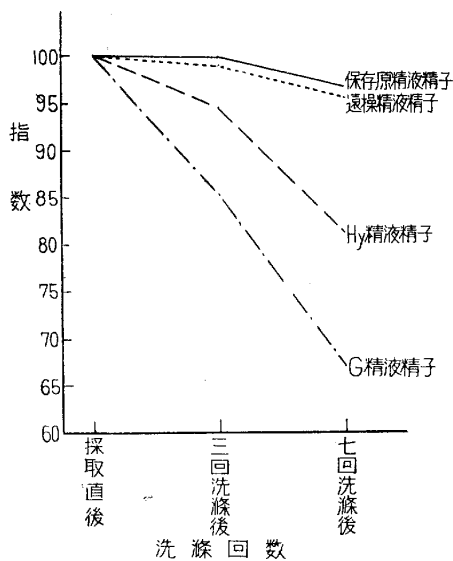
前進速度の測定は、ガラス毛细管に予め4%葡萄糖液を吸引して置き、この液中を精子が一定距離(150 μ)だけ前走する時間を測定した。

以上のようにして行つた実験結果は第3表及び第3図の如くである。即ち採取直後の原精液精子では1秒間に107.27 μ 前走したものが、3回洗滌後はG精液精子は91.45 μ 、Hy精液精子は101.51 μ 、遠操精液精子は106.07 μ 、保存原精液精子は107.04 μ であつた。7回洗滌後はG精液精子は71.79 μ 、Hy精液精子は87.10 μ 、遠操精液精子は102.40 μ 、保存原精液精子は103.63 μ であつた。この結果は明かに葡萄糖液で洗滌すれば精子の前進速度を最も甚しく低下させ、而も洗滌回数を重ねる程顕著に低下させるが、Hyを含んだ洗滌液で洗滌すれば、やはり速度の低下は免れないが葡萄糖液程甚しくないことを示している。又精清を除去することなく遠心分離操作のみを繰返したものは、殆ど速度の低下を見ていないことを示している。

第3表 洗滌家兎精子の前進速度

採取直後精液	延供試測 定 個体数精子数	150 μ 走るに要 する時間の平均 値及び標準誤差	同 左 標準偏差及び標 準誤差	同 左 変異係数及び標 準誤差	1秒間に前走する距離	
					平 均	最大値を 100とした 時の指数
採取直後精液	16頭 640個	1.398 \pm 0.009秒	0.232 \pm 0.007	16.62 \pm 0.477%	107.27 μ	100
3回洗滌後 対 照	G 精 液	1.640 \pm 0.013	0.321 \pm 0.009	19.59 \pm 0.566	91.45	85.3
	Hy 精 液	1.478 \pm 0.011	0.279 \pm 0.008	18.87 \pm 0.546	101.51	94.6
	遠 操 精 液	1.414 \pm 0.010	0.254 \pm 0.007	17.98 \pm 0.519	106.07	98.9
	保 存 原 精 液	1.401 \pm 0.010	0.245 \pm 0.007	17.46 \pm 0.504	107.04	99.8
7回洗滌後 対 照	G 精 液	2.090 \pm 0.022	0.563 \pm 0.016	26.96 \pm 0.807	71.79	66.9
	Hy 精 液	1.722 \pm 0.015	0.387 \pm 0.011	22.47 \pm 0.659	87.10	81.2
	遠 操 精 液	1.465 \pm 0.011	0.279 \pm 0.008	19.03 \pm 0.551	102.40	95.5
	保 存 原 精 液	1.448 \pm 0.011	0.268 \pm 0.008	18.51 \pm 0.535	103.63	96.6

備考：供試家兎数4頭、1回の採取精液当り測定精子数40個



第3図 洗滌家兎精子の1秒間に前走する距離比較(最大値を100とした時の指数)

次に前進速度は活力に密接な関係を有する筈であるから、前進速度の測定と同時に活力をも検して見た。その結果は第4表及び第4図の如くであつて、大体前進速度と相似た傾向を示している。例えば生存指数を見るに採取直後の原精液では78であつたものが、3回洗滌後にはG精液精子は48、Hy精液精子は56、遠操精液精子は69、保存原精液精子は71であつた。7回洗滌後にはG精液精子は22、Hy精液精子は33、遠操精液精子は60、保存原精液精子は65であつた。即ち洗滌により活力の低下を来たし、洗滌回数を重ねれば一層顕著に低下するが、洗滌液にHyを含めば低下を或程度防止し得ることを示している。又例え遠心分離操作を繰返しても、精液の除去を行なわねば殆ど活力の低下を見ないことをも示している。この結果は前進速度と全く同じ傾向であつて、前進速度が活力の一つの象徴である以上、むしろ当然と言うべきである。

第4表 洗滌家兎精子の活力

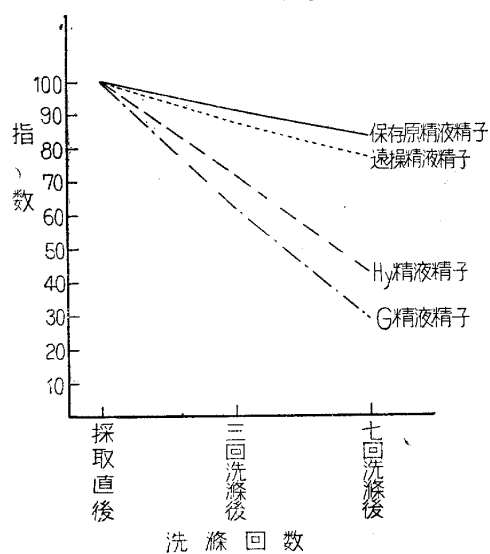
	測定 例数	活動度に応じた生存率平均				生存指数		
		卅	卅	+	±	平均	最大を100とせる場合の指数	
採取直後の原精液	16	53	27	8	—	78	100	
3回洗滌後	G精液	〃	25	19	13	10	48	62
	Hy精液	〃	31	23	12	10	56	72
同上対照	遠操精液	〃	46	23	11	5	69	88
	保存原精液	〃	43	24	10	4	71	91
7回洗滌後	G精液	〃	8	10	9	10	22	28
	Hy精液	〃	13	15	12	11	33	42
同上対照	遠操精液	〃	35	23	12	9	60	77
	保存原精液	〃	41	21	11	8	65	83

備考：生存指数は精子活動度卅に対し100，卅に対し75，+に対し50，±に対し25なる数値を与え，これに各活動度に対応する生存率を乗じたものを加算して100で除したものである。

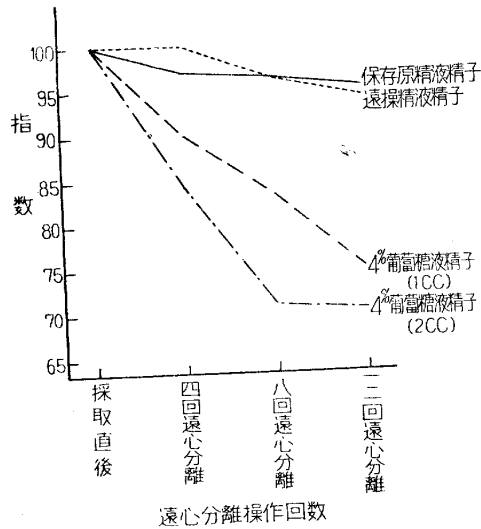
洗滌によりHyが精子から遊離すると言う従来の研究結果に照して吾々の結果を見れば，葡萄糖液での反復洗滌は最も顕著に精子からHyを遊離せしめるので最も顕著に活力並に前進速度の低下を見るが，スプレー液の洗滌ではHyの遊離が幾分緩和されるので，活力並に前進速度の低下も幾分緩和され，単に遠心分離の操作のみを繰返し精清の除去を行なわぬ場合は，精清へのHy遊離が僅少なので，活力並に前進速度の低下を殆ど見ないと一応推測し得るであろう。遺憾ながら各液へのHy遊離の状態を直接確めていないので猶今後の研究を要するが，次の実験は上記の考えを裏書きするものと思われる。

2. 遠心分離操作のみの反復が精清除去精子の活力並に前進速度に及ぼす影響

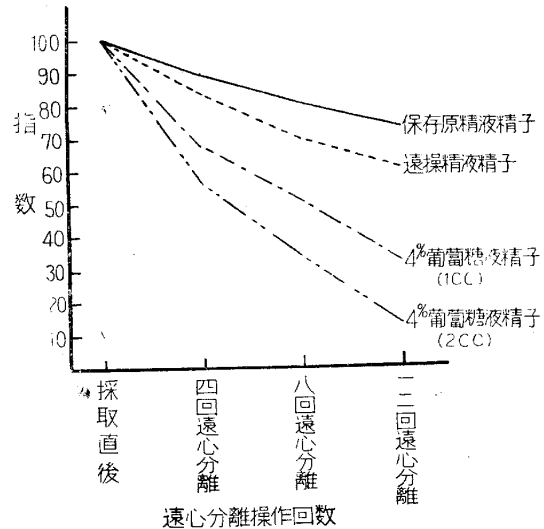
遠心分離により予め精清を除去した家兎精子に1cc若くは2ccの4%葡萄糖液を加え，以後上清液を棄てる事なく単に遠心分離の操作のみを反復したものと，精清を除去せずに単に遠心分離操作のみを反復したもの（遠操精液に同じ）との活力並に前進速度を比較した結果第5図並に第6図を得た。即ち精清の除去を行なわぬものでは遠心分離操作を12回反復しても猶僅かより精子の前進速度並に活力の低下を見ないが，精清を除去して葡萄糖液を浮游液とした精子では，例え遠心分離の操作のみであつてもこれを反復するにつれ益々顕著に活力並に前進速度の低下を見ている。而も低下の程度は糖液1ccのものより2ccのものにおいて甚しい。即ち精子は度々の洗滌を繰返されなくとも，単に遠心分離の操作を繰返されただけでも，その浮游液が精清でなく葡萄糖液である時は，やはり顕著に活力並に前進速度の低下を来たすことになる。



第4図 洗滌家兎精子の生存指数（最大値を100とした場合）



第5図 4%葡萄糖液及び精清を浮遊液とした場合の家兎精子の前進速度比較 (最大値を100とした時の指数)



第6図 4%葡萄糖液及び精清を浮遊液とした場合の家兎精子の生存指数比較 (最大値を100とした時の指数)

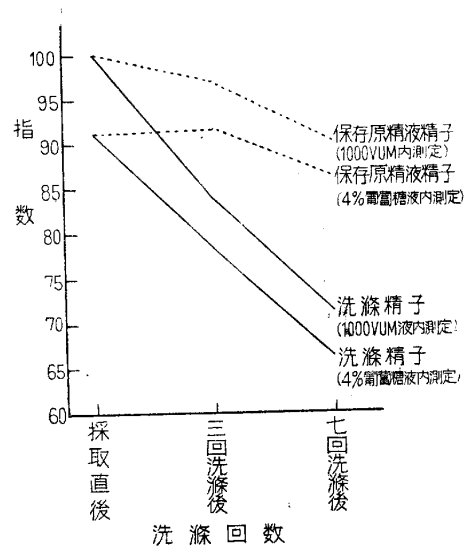
以上の結果と前記洗滌精子の結果とを併せ考えれば、精清へのHyの遊離は少く、葡萄糖液への遊離は甚しいものと見て大過ないように思われる。ただここに考慮されることは、精子の活力や前進速度の低下が単に洗滌若くは遠心分離操作の反復によつてHyの遊離を見るために起るばかりでなく、精子の活動に必要な他の物質の遊離も同時に行なわれるために起るのではないかということである。更に精清その物が精子の活動を有利にする要素を有するのではないかということである。これ等の点の直接証明を行なわなかつたのは遺憾である。なお洗滌するために行なう遠心分離の操作が、精子に機械的障害を与えて活力や前進速度の低下を見るに至るものでないことは、精液を反復遠心分離操作に曝しても殆ど活力や前進速度の低下を見ないことによつて明らかである。

3. 洗滌により活力並に前進速度の低下を見た精子の賦活

一度葡萄糖液による洗滌で前進速度や活力の低下を見た精子は、例え己の活動に最も適した1000VUMのスプレーゼ液内に持ち来たしても再び賦活し得ないか否かを確かめるために、4%葡萄糖液で反復洗滌した家兎精子を4%葡萄糖液内及び1000VUMのスプレーゼ液内で前進速度の測定を行つて見たが、その結果は第7図の如くである。

即ち一度洗滌により前進速度並に活力の低下を見た精子は、換言すればHyの遊離を見た精子は、例えこれをスプレーゼ液に戻しても旧の速力を回復することは出来ないことを知り得る。同時に例えHyの遊離を見た精子でも、なお1000VUMのスプレーゼ液は葡萄糖液よりも活動に好都合であることをも知り得る。

以上の結果並に既に記した1及び2の結果を併せ考えれば、精子の活動にはHyの或量を精子自体保有することを必要とすると同時にその浮遊液中にも一定量を含む必要があると言ひ得よう。若くは一定量のHyを含むことによつて精子からのHy遊離を抑制することが必要だと言ひ得よう。



第7図 4%葡萄糖液内及び1000VUMスプレーゼ液内における洗滌家兎精子の前進速度比較 (最大値を100とした時の指数)

なおここに附言すべきは、Hy の存在が精子の活動に必要であると言うよりも、Hy の存在が精子の活動に必要な物質の新陳代謝に関係するものと見るべきではないかと言うことである。今のところこれを証するに足る何等の実験結果を有さず、単なる推察に過ぎないので、今後は此面の研究を必要とするものと考えている。

C. 各種濃度のスプレーゼ液による家兎精子の保存試験

0.85%NaCl液で調製した500-, 1000-, 1500-, 2000VUM のスプレーゼ液及び0.85%NaC 液の各1ccに0.1ccの家兎精液を加え、4~5°C及び35~36°C に保存し、保存に対するHy の影響を見た。その結果は第

第5表 精子の保存に及ぼすHy の影響

a. 4~5°C に保存した場合の生存指数 (4頭5例平均)

保存時間 供試液	直後	6 時間	12 "	18 "	24 "	30 "	36 "	42 "	48 "	54 "	60 "	66 "	72 "	78 "	84 "
0.85%NaCl液	65	41	29	21	13	8	5	4	2	2	1	1以下	1以下	0	
500VUM 液	〃	44	34	24	14	10	6	5	3	2	2	1	1	1以下	0
1000 〃	〃	49	36	27	18	14	10	8	7	6	4	3	2	1	1以下
1500 〃	〃	45	34	23	14	11	7	5	4	3	2	2	1	1	0
2000 〃	〃	42	31	20	12	10	6	4	2	2	2	1	1	1以下	0

b. 35~36°C に保存した場合の生存指数 (4頭6例平均)

保存時間 供試液	直後	2時間後	4 "	6 "	8 "	10 "	12 "	14 "	16 "	18 "
0.85%NaCl液	65	52	41	31	25	17	11	3	1以下	0
500VUM 液	〃	52	40	29	26	15	6	2	1以下	0
1000 〃	〃	52	42	29	26	14	7	2	1	1以下
1500 〃	〃	53	39	29	23	14	7	2	1	1以下
2000 〃	〃	53	40	29	24	16	7	3	1	0

5 表の如くであつて、4~5°C 保存の場合も35~36°C 保存の場合も1000VUM 液が多少他に比し良好の如くにも見えるが、各溶液間に差がないものと見て大過なからう。

JOHNSTON and MIXNER (1951) はホルスタイン種の精液を卵黄枸橼酸稀釈液で20倍に稀釈し、その1ccに0, 5, 10, 20, 40mg のHy を加え、5°Cに保存し、5日と10日後に活動状態を検した結果、Hy の濃度如何にかかわらず、互に大差がなく、結局Hy は1ccに対し5~40mg を加えた程度では、精子の保存に有効でも有害でもないとの結果を得ている。吾々の家兎における結果も亦同様500~2000VUM の範囲内では精子の保存に有効でも有害でもないことを示している。

IV. 総 括

家兎と牛の精子を用いて、その活力、前進速度並に保存上に及ぼすヒアルロニダーゼの影響を検した。その結果次の事実を確かめた。

1. 0.85%NaCl液で調製した500-, 1000-, 1500-, 2000VUM濃度のスプレーゼ液並に0.85%NaCl液中における家兎精子の前進速度は1秒間に各々92.10 μ , 95.64 μ , 90.06 μ , 86.80 μ , 86.56 μ であつて、1000

VUM液内において最も速い。且つ500~2000VUMの範囲内ではいずれも0.85%NaCl液より多少共速い。

牛精子の場合は500-, 1000-, 1500-, 2000VUM濃度のスプレーゼ液, 5.5%葡萄糖液, 0.85%NaCl液中の速度が各々106.35 μ , 116.09 μ , 109.36 μ , 104.58 μ , 102.17 μ , 101.66 μ であつて, 家兎同様1000VUMの液内において最も速い。且つ500-2000VUMの範囲内ではスプレーゼ液はいずれも5.5%葡萄糖液や0.85%NaCl液よりも多少共速い。

以上により精子の活動には浮游液中に一定量のヒアルロニダーゼを含むことが有利であり, 而もスプレーゼの場合はその濃度が1000VUM程度であることを最も有利とすると言ひ得る。

2. 家兎精子を4%葡萄糖液及び1000VUM濃度のスプレーゼ液で洗滌すれば, 前進速度並に活力の低下を見るし, 洗滌回数を重ねる程顕著に低下する。然しスプレーゼ液の方は葡萄糖液より低下が少い。これに対し単に遠心分離の操作のみを繰返し, 精清の除去を行なわぬ精液では, 殆ど精子の前進速度や活力の低下を見ない。然るに精清を除去して4%葡萄糖液を加えて後に遠心分離の操作のみを繰返したのでは, 精子の活力並に前進速度の低下を防止し得ない。

3. 葡萄糖液による洗滌で前進速度並に活力の低下を見た精子は, 例え己の活動に最適である1000VUMのスプレーゼ液内に持ち来たしても旧の活動力を回復し得ないが, 葡萄糖液内よりも活潑に前走する。

4. 洗滌によりヒアルロニダーゼが精子から遊離すると言う従来の研究結果に照して吾々の実験結果を見れば, 洗滌により精子の活力並に前進速度の低下を見るのは, ヒアルロニダーゼが精子から遊離するためだと一応推測される。そして浮游液へのヒアルロニダーゼの遊離拡散は, 浮游液が葡萄糖液である場合に最も甚しく, 1000VUMのスプレーゼ液である場合には幾分緩和され, 精清である場合は最も少いと見ることが出来る。

但し洗滌により精子の前進速度並に活力の低下を見るのは, 単にヒアルロニダーゼが精子から遊離されることに原因するばかりでなく, 精子の活動に関係する他の物質も同時に遊離されることにも原因するのではないかと言ひ得ることが考えられる。更に精清その物が精子の活動を有利にする要素を含むことも考えられる。遺憾乍らこれ等の点は未だ確めていないが, ただ遠心分離操作が精子に機械的障害を与えるために活動力を低下するのでないことは明らかである。

5. 結局精子の活潑な活動には精子自体が一定量のヒアルロニダーゼを保有することを必要とすると同時に, 浮游液中にも一定量を含むことを必要とするものと推察される。若くは浮游液中に一定量のHyを含むことによつて精子からHyの過剰遊離を抑制する必要があると言ひ得よう。

なおHyが精子の活動に直接関係すると見るよりも, 活動に必要な物質の新陳代謝に関係すると見る可きではないかとの推察もなし得るが, この点は今後の研究に俟たねばならぬ。

6. スプレーゼはその濃度が500~2000VUMの範囲内では, 精子の保存に有利にも有害にも作用しない。

引用文献

- 1) BERGENSTAL, D. M. and SCOTT, W. W. : J. A. M. A., **137** (1507), 1948.
- 2) CHANG, M. C. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **66** (51), 1947.
- 3) " : Annals N. Y. Acad. Soc., **52**, 1950.
- 4) FEKETE, E. and DURAN-REYNALS F. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **52** (119), 1943.
- 5) GILCHRIST, T. and PINCUS, G. : Anat. Rec., **54** (275), 1932.
- 6) HECHTER, O. and HADIDIAN, Z. : Endocrinol., **41** (204), 1947.
- 7) JONSTON, J. E. and MIXNER, J. P. : J. Dairy Sci., **32** (570), 1949.
- 8) JOHNSTON, J. E., STONE, E. J. and MIXNER, J. P. : Ibid., **32** (574), 1949.
- 9) JOHNSTON, J. E. and MIXNER, J. P. : Ibid., **33** (847), 1950.
- 10) " : Ibid., **34** (116), 1951.
- 11) KURZROK, R., LEONARD, S. L. and CONRAD, H. : Amer. J. Med., **1** (491), 1946.
- 12) LEONARD, S. L. and KURZROK, R. : Endocrinol., **37** (171), 1945.
- 13) MILLER, E. G. and KURZROK, R. : Am. J. Obst. & Gynec., **24** (19), 1932.
- 14) MOCLEAN, D. and ROWLANDS, I. W. : Nature, **150** (627), 1942.
- 15) PINCUS, G. and ENZMANN, E. V. : J. Exp. Biol., **9** (403), 1932.
- 16) ROWLANDS, I. W. : Nature, **154** (332), 1944.
- 17) SALLMAN, B. and BIRKELAND, J. M. : Amer. J. Physiol., **182** (271), 1948.
- 18) SIEGLER, S. Z. : 3rd Ann. Conv. of Amer. Soc. for Study of Sterility.
- 19) 高嶺浩・羽生章 : 医学と生物学, 16巻, 4号 (203), 1950.
- 20) " : Ibid., 18巻, 2号 (62), 1951.
- 21) " : Ibid., 25巻, 2号 (86), 1952.
- 22) " ・樋口・小野寺・後藤 : 畜産の研究, 8巻, 2号 (147), 1954.
- 23) 渡辺彰・高嶺浩 : 日獣会誌, **8** (327) 1955.
- 24) YAMANE, J. : Cytologia., **1** (394), 1930.
- 25) " : Ibid., **6** (233), 1935.
- 26) " : Ibid., **6** (474), 1935.

Summary

The influence of hyaluronidase upon the speed and vitality of the rabbit and bull spermatozoa was studied. The results are as follows.

1. To maintain the speed and vitality, the spermatozoa must contain certain amounts of hyaluronidase in themselves, and also in their suspending medium.
2. The sprase solution in 1000VUM concentration is most favorable for the motility of spermatozoa.
3. The hyaluronidase contained in the spermatozoa diffuses easily into the glucose solution, less easily into the sprase solution, but not so easily into the sperm serum.
4. The addition of hyaluronidase to the preserving solution is neither beneficial nor harmful for the preservation of rabbit spermatozoa.