

体外精子の生存性ならびに呼吸、解糖能におよぼすアヘンアルカロイドおよびメタンフェタミンの影響

町田 隆彦・安部 敏之・清水 稔統
上松 康夫・青木 晋平*・西川 義正**

* (農学部 畜産学研究室)

** (京都大学農学部 家畜繁殖学研究室)

Effect of Opium Alkaloids and Methamphetamine on the Survival, Respiration and Glycolysis of Spermatozoa

Takahiko MACHIDA · Toshiyuki ABE · Toshinobu SHIMIZU
Yasuo UEMATSU · Shimpei AOKI* · Yoshimasa NISHIKAWA**

* *Laboratory of Zootechnical Science, Faculty of Agriculture*

** *Laboratory of Roproduction in Farm Animal, Faculty of Agriculture
Kyoto University*

Summary

One of the studies in the field of the preservation of spermatozoa has been promoted with the object of prolonging their survival by minimizing the loss of the immanent energy of the cells through the inhibition of their activities and metabolism. The present reporter has made studies on the influence of anesthetics on the survival and metabolism of spermatozoa. The results are summarized as follow:

1) Addition of Opium alkaloid (Opium powder, Morphine hydrochloride, Codeine phosphate) showed better motility and their movement was highly stimulated. A significant difference was observed in midway stage of storage time, greater motility than that in without Opium alkaloids being maintained. The frozen semen with those alkaloid showed the reverse result.

2) Addition of 25-100 mg/dl of Methamphetamine was beneficial effects to the motility and taxis (exciting movement) for seven days on end. While ordinary frozen semen showed a decrease in viability in a short time after defrosting, those treated with 25-50 mg/dl of Methamphetamine showed high viability of 50 even 18 hours after defrosting.

3) Those treated with Opium alkaloids showed higher motility when shaken by Warburg method. However, the Opium alkaloids, which paralyse the respiration center nervus, inhibited the respiration of spermatozoa. Except for those treated with Codeine phosphate glycolysis showed a decrease in the other two groups, when compared with control.

4) Addition of Methamphetamine showed a remarkable increase in respiration and glycolysis as well as in their viability after shaking.

筆者らはここ数年、家畜精子の代謝を抑制し長期に生存性を保持する手段の一つとして、中枢、迷走ならびに知覚神経を抑制あるいは遮断する働きのある麻酔剤を精子に添加する方法を試みてきた。その結果局所麻酔剤の塩酸プロカインに効果のあることが認められた⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾。しかしこの局所麻酔剤は神経節の一部を刺戟する作用があり、精子細胞に対しても呼吸、解糖を促進し、運動性を著しく活発にした。したがって今回は従来の代謝抑制剤とは逆に麻酔剤ではあるが迷走神経を興奮させる働きのあるアヘンアルカロイドと、中枢興奮ならびに情動回路の刺戟作用をもつ覚醒剤のメタンフェタミン(ヒロポン)を精子に添加して生存性と代謝におよぼす影響を検討した。

〔材料および方法〕

褐毛和種の牛精子を人工膈法で採取し、アヘンアルカロイドおよびメタンフェタミンを添加したECD液で10倍に稀釈し、液状精液の生存試験は4°Cに保存した精液を24時間毎に、また凍結精液

は液体窒素で常法により凍結した精液を 4°C の氷水中で融解し、経時的に精子活力を鏡検した。なお凍結の際のグリセリン添加濃度は 7%，グリセリン平衡時間は 5 時間、また精液容器は 0.5ml のビニールストローを用いた。供試麻薬および覚醒剤はアヘン散、塩酸モルヒネ、リン酸コデインならびにメタンフェタミンを用いた。精子の呼吸と解糖はアヘンアルカロイドおよびメタンフェタミンを添加した KRP で 10 倍に稀釈し、38°C のワールブルグ検圧計で 2 時間測定した。また糖は Folin, Malmros 法、乳酸は Barker & Summerson 法で比色定量し、 Zo_2 , Zs^{o_2} , Z^{o_2} を算出した。

〔結果および考察〕

(1) 液状精液の生存試験

a) アヘンアルカロイドは脳および呼吸中枢の麻痺、迷走神経の興奮などの作用を有する。こ

Table 1. *Effect of Opium powder on the survival of spermatozoa stored in ECD extender*

Level of drugs (mg/dl)	Motility							
	Incubation time at 4°C (Hours)							
	0	24	48	72	96	120	144	168
0	70.0	70.0	65.0	65.0	40.0	35.0	25.0	20.0
25	72.5	70.0	70.0	67.5	47.5	37.5	25.0	25.0
50	75.0	70.0	70.0	67.5	55.0	40.0	40.0	30.0
75	75.0	75.0	70.0	70.0	57.5	42.5	40.0	35.0
100	80.0	75.0	70.0	70.0	57.5	45.0	40.0	35.0
150	80.0	75.0	70.0	70.0	55.0	42.5	35.0	35.0
200	75.0	70.0	70.0	68.0	53.0	40.0	35.0	35.0
400	75.0	70.0	65.0	60.0	50.0	35.0	20.0	15.0

Table 2. *Effect of Morphine hydrochloride on the survival of spermatozoa stored in ECD extender*

Level of drugs (mg/dl)	Motility							
	Incubation time at 4°C (Hours)							
	0	24	48	72	96	120	144	168
0	75.0	70.0	65.0	60.0	45.0	35.0	30.0	25.0
25	75.0	70.0	70.0	60.0	42.5	40.0	30.0	20.0
50	80.0	72.5	70.0	62.5	50.0	40.0	35.0	20.0
75	80.0	75.0	70.0	65.0	55.0	45.0	40.0	30.0
100	80.0	75.0	70.0	68.0	60.0	50.0	45.0	30.0
150	80.0	75.0	70.0	70.0	60.0	50.0	47.5	35.0
200	80.0	75.0	72.5	70.0	60.0	52.5	47.5	37.5
400	80.0	75.0	70.0	65.0	55.0	52.5	47.5	40.0

Table 3. *Effect of Codeine phosphate on the survival of spermatozoa stored in ECD extender*

Level of drugs (mg/dl)	Motility							
	Incubation time at 4°C (Hours)							
	0	24	48	72	96	120	144	168
0	75.0	70.0	65.0	60.0	45.0	37.5	30.0	20.0
25	75.0	70.0	70.0	70.0	50.0	45.0	35.0	25.0
50	80.0	75.0	75.0	70.0	55.0	50.0	40.0	30.0
75	80.0	75.0	75.0	70.0	55.0	50.0	40.0	30.0
100	80.0	75.0	75.0	70.0	60.0	53.0	37.5	25.0
150	75.0	79.0	70.0	70.0	55.0	45.0	37.5	25.0
200	75.0	70.0	67.5	65.0	55.0	40.0	35.0	20.0
400	70.0	67.5	62.5	60.0	45.0	30.0	20.0	15.0

のアヘンアルカロイドを添加した精子を4°Cに保存した生存試験の結果は第1～3表の通りである。アヘンアルカロイドの添加により精子細胞は対照区に比べ著しく活発な運動性を示し、アヘン散、塩酸モルヒネ、磷酸コデインの3者とも保存期間を通じて無添加の対照区を上廻る生存指数が得られた。とくに保存4日目から急激に生存性が低下する無添加区に対し、50～200 mg/dlの添加区はこの時期に良好な生存性が保持された。

b) 覚醒剤のメタンフェタミンを添加した精子の4°Cにおける生存性は第4表に示した。無添

Table 4. Effect of Methamphetamine on the survival of spermatozoa stored in ECD extender

Level of drugs (mg/dl)	Motility							
	Incubation time at 4°C (Hours)							
	0	24	48	72	96	120	144	168
0	75.0	75.0	75.0	70.0	70.0	50.0	40.0	30.0
25	80.0	80.0	80.0	75.0	75.0	70.0	65.0	60.0
50	85.0	80.0	75.0	75.0	75.0	75.0	70.0	70.0
75	85.0	80.0	75.0	75.0	75.0	70.0	70.0	65.0
100	85.0	80.0	75.0	75.0	75.0	70.0	65.0	60.0
150	87.5	80.0	75.0	75.0	75.0	60.0	55.0	30.0
200	90.0	80.0	75.0	70.0	56.0	37.0	37.0	5.0

加の精子は5日目以後運動性が低下するため、生存指数が急激に減少したが、25～100 mg/dl添加区は実験終了時の7日目まで卍の運動性が維持され、良好な生存指数が最後まで保持された。200 mg/dl区は添加直後興奮したような活発な運動性を呈したが、保存5日目以後高濃度の影響があらわれ、無添加区よりもさらに急激に生存性が低下した。

2) 凍結精液の生存試験

a) 液状精液で最も生存性の高かった100 mg/dlの濃度でアヘンアルカロイドを添加し、凍結して、4°Cで融解保存後の生存性を経時的に観察したのが第5表である。4°Cの液状保存の場合と

Table 5. Effect of Narcotic drugs on the survival of frozen spermatozoa (-196°C)

Kinds of drugs (100 mg/dl)	Motility							
	Pre-freezing	Post thaw time (Hours) 4°C						
		0	2	4	6	8	10	12
Control	75.0	45.0	40.0	30.0	25.0	20.0	20.0	15.0
Opium powder	75.0	45.0	40.0	30.0	20.0	18.0	18.0	15.0
Morphine hydrochloride	75.0	50.0	42.0	25.0	20.0	15.0	12.5	8.0
Codeine phosphate	75.0	37.5	35.0	25.0	20.0	15.0	10.0	8.0

異り、アヘンアルカロイドを添加した試験区はすべて無添加の対照区よりも生存性が低下した。この傾向は宮本ら⁽⁴⁾の塩酸カフェインの成績においても同様の報告がされている。

b) メタンフェタミンを添加した精子の凍結後の生存性は第6表の通りである。融解後短時間で生存性が低下する凍結精子においてもメタンフェタミンを25～50 mg/dlの濃度で添加した試験区は融解18時間後でも対照区の30に比べ、50とかなり高い生存性が観察された。とくに運動性に差がみられた。

Table 6. *Effect of Methamphetamine on the survival of frozen spermatozoa (-196°C)*

Level of drugs (mg/dl)	Pre-freezing	Motility						
		Post thaw time (Hours) 4°C						
		0	1	3	6	12	18	24
0	80.0	60.0	60.0	60.0	55.0	45.0	30.0	30.0
25	80.0	65.0	55.0	65.0	60.0	50.0	50.0	37.5
50	85.0	65.0	65.0	65.0	65.0	60.0	50.0	37.5
100	85.0	65.0	65.0	65.0	65.0	50.0	45.0	30.0
200	80.0	55.0	55.0	55.0	50.0	45.0	20.0	18.0

3) 精子の呼吸および解糖に対する影響

a) 精子の酸素消費量 (Z_{O_2}) 乳酸生成量 ($Z_{L_2}^2$) におよぼすアヘンアルカロイドの影響をみたのが第7表である。なおこの試験には稀釈液として卵黄の影響をさけるために KRP を用いた。ワー

Table 7. *Effect of Narcotic drugs on the respiration and glycolysis of spermatozoa*

Kinds of drugs (100 mg/dl)	Z_{O_2} (μ l/10 ⁸ sperm/hr.)	$Z_{L_2}^2$ (μ g/10 ⁸ sperm/hr.)	Final motility
Control	9.7	216	25 ⁺⁺
Opium powder	8.5	217	30 ⁺⁺
Morphine hydrochloride	6.5	150	35 ⁺⁺
Codeine phosphate	8.2	309	35 ⁺⁺

ルブルグ振盪後の活力はアヘンアルカロイド100 mg/dl 添加した試験区がいずれも高かったが、呼吸中枢を麻痺する働きをもつモルヒネ類の添加により Z_{O_2} は対照区よりも減少した。解糖量を測定するために振盪前後の糖消費量を測定したが、アヘンアルカロイドが発色を阻害するせいで分析値著しく低い値となり、かつバラツキが多かったので糖消費量は割愛した。乳酸生成量は磷酸コデインを除き他の2者は対照区よりも減少した。この乳酸生成量も結果に変動が稍多かったので磷酸コデイン区の稍増加した分析値についての考察は追試の結果に保つべきであろう。

b) 中枢神経ならびに情動回路の興奮作用をもつメタンフェタミンを添加した精子は酸素消費量、糖消費量、乳酸生成量ともに対照区に比べ著しく増加し、振盪後の活力も高かった。(第8表)

Table 8. *Effect of Methamphetamine on the respiration and glycolysis of spermatozoa*

Level of Drugs (mg/dl)	Z_{O_2} (μ l/10 ⁸ sperm/hr.)	$Z_{S_2}^2$ (μ g/10 ⁸ sperm/hr.)	$Z_{L_2}^2$ (μ g/10 ⁸ sperm/hr.)	Final motility
0	27.7	5.2	59.8	65 ⁺⁺⁺
50	37.4	11.0	109.5	75 ⁺⁺⁺
100	37.3	19.1	105.3	70 ⁺⁺⁺

要 約

体外精子の生存性を延長する目的で麻酔剤のメタンフェタミン（ヒロポン）を精子に添加して生存性と代謝におよぼす影響について検討した。

1) アヘンアルカロイド（アヘン散 50～200 mg/dl, 塩酸モルヒネ 50～400 mg/dl, 磷酸コデイン 50～200 mg/dl）の添加により活発な運動性を呈し, 保存期間を通じて無添加区を上廻る生存性を示した。

2) メタンフェタミンの 25～100 mg/dl の添加も精子の運動性を著しく活発にし, 対照区よりも高い生存性を示した。

3) アヘンアルカロイド 100 mg/dl を添加した凍結精子は液状精子とは逆に融解後生存性が急激に低下した。

4) メタンフェタミンの 25～50 mg/dl を添加した凍結精子は融解後18時間経過しても50と高い生存性が観察された。

5) アヘンアルカロイドは精子の呼吸を抑制した。またメタンフェタミンは精子の呼吸および解糖を著しく促進した。

引 用 文 献

- (1) 町田隆彦・西川義正・竹林隆・川島正彦, 高知大学学術研究報告 第12巻, 自然科学II, 第8号 (1963)
- (2) 町田隆彦・青木晋平・西川義正, 高知大学学術研究報告 第18巻, 農学, 第5号 (1969)
- (3) 町田隆彦・青木晋平・西川義正, 高知大学学術研究報告 第19巻, 農学, 第20号 (1970)
- (4) 宮本元・田村彰夫・入谷明・西川義正, 凍結精液研究会報 第44号, 10～12 (1973)

(昭和50年9月30日受理)

