
精子受胎性予測法の確立を目指した 牛発情期子宮粘液組成および粘液中精子運動性の解析

北里大学獣医学部・助教 菅野 智裕

■ 目 的

これまで、大規模な人工授精試験を実施することなく、牛精液の受胎性を予測可能な実験室的検査法は確立されていない。この理由として、実験室的検査時に精子が置かれる環境、すなわち検査時に精子が浮遊する液体である凍結保存液や緩衝液が人工授精時の雌生殖器内と大きく異なることが要因の一つとして挙げられる。そこで本研究は、発情期雌牛から子宮粘液を採取し、その組成を明らかにすることで、発情期子宮内環境を模倣した、牛精子の受胎性検査用標準液の作製を目的とした。

■ 方 法

まず、6頭の黒毛和種雌牛より計10サンプルの発情期子宮粘液を採取し、その電解質組成、エストラジオール濃度およびpHの測定を行った。その結果明らかとなった組成に基づき、合成発情期子宮粘液を作成し、高受胎性および低受胎性を示す種雄牛各5頭の凍結精液中に含まれる精子を浮遊させ、運動性および細胞膜、先体正常性について、子宮粘液およびリン酸緩衝液(PBS)と比較した。精子運動性は精子運動性自動解析装置により、細胞膜、先体正常性は精子を蛍光染色した後、蛍光顕微鏡での観察により、それぞれ評価した。

■ 結果および考察

合成発情期子宮粘液を検査液として用いることで、精子運動性のうち曲線速度および平均速度は、子宮粘液と同様の結果を得ることができ、PBSと比較して精液の受胎性による精子の特徴をより明確に捉えられることが示唆された。一方で、運動性のうち直線速度、頭部振幅、頭部振動数、直進性と、細胞膜、先体正常性においては、合成発情期子宮粘液は子宮粘液と異なる結果を得た。これらの結果から、本研究により作製した合成発情期子宮粘液は、従来の検査に用いられていた緩衝液よりは精液の受胎性を反映した検査結果を得られる可能性があるものの、人工授精後に精子が置かれる環境としての子宮粘液を完全に再現することはできなかった。この理由として、本研究では解析するに至らなかった子宮粘液の成分、すなわち糖やアミノ酸、タンパク質が精子の機能や動態に与える影響があること、子宮粘液には粘性があり、精子の運動性に影響を及ぼし得ることが考えられた。

■ 結 語

本研究の結果、完全な発情期の子宮粘液を再現した合成液の開発には至っていないものの、子宮粘液に組成を近づけた検査用希釈液は受胎性の異なる精子の特性を明確にできる可能性が示された。今後さらに研究をすすめ、子宮内環境を再現し、精液の受胎性を高精度に予測可能な精子検査用標準液の開発を目指す必要があると考えられた。