

亜鉛欠乏状態における精子数および運動能に及ぼすかき肉エキスの影響

渡辺敏明¹⁾, 松田芳和²⁾, 太田隆男²⁾, 柴田幸雄²⁾

(¹⁾ 山形大医学部衛生学教室*, (²⁾ 日本クリニック(株)中央研究所**)

Effects of Oyster Extract on Sperm Counts and Motility in Zinc-Deficient Mice

Toshiaki WATANABE¹⁾, Yoshikazu MATSUDA²⁾, Takao OHTA²⁾ and Yukio SHIBATA²⁾

¹⁾ *Department of Hygiene and Preventive Medicine, Yamagata University School of Medicine,
Yamagata 990-9585,*

²⁾ *Central Research Institute, Japan Clinic, Co., Ltd., Kyoto 616-8555, Japan*

It is well-known that the oyster extract contains a large amount of zinc. Zinc is an essential nutrient required for normal reproductive development and function in mammals. Zinc deficiency in males has profound effects on spermatogenesis. Therefore, we studied the effects of oyster extract on sperm maturation and function in zinc-deficient mice. Zinc deficiency for 12 weeks induced the decrease in body weight, testis weight and sperm counts in epididymis. After zinc deficiency for 6 weeks, an increase in sperm counts was induced in the zinc carbonate-supplemented group. On the other hand, the sperm motility significantly increased in the oyster extract-supplemented group. Some nutrients containing oyster extract, such as taurin and glycogen, may be directly or indirectly related with the sperm function. From these findings, it is suggested that the oyster extract may be a useful diet which can prevent the defects of spermatogenesis in the zinc-deficient status.

亜鉛は、生体内において、脂質の生成や免疫機能などを維持するために重要な役割を果たしている^{1), 2)}。また生殖生理機能や胎児の発育を正常に保つためにも不可欠な栄養素である。このため、亜鉛が欠乏すると、雌性動物において卵子の形成や胎児の発育が阻害されることや^{3) - 5)}、雄性動物において生殖器官の萎縮や精子形成の障害されることが知られている⁶⁾。著者らは、これまでに亜鉛欠乏動物において、胎児に奇形が誘発されることや精子形成過程で染色体異常が誘発されることを明らかにしてきた^{3), 7)}。

* 所在地：山形市飯田西2-2-2 (〒990-2331)

** 所在地：京都市右京区太秦開日町10-1 (〒616-8555)

一方、かき肉エキスには多量の亜鉛やタウリンなどのさまざまな栄養成分が含まれていることが知られている。しかし、かき肉エキスを摂取した場合、これらの栄養成分が胎児の発育や生殖器官の形成において、どのように利用されているのか明らかではない。著者らは、哺乳動物の妊娠および胎児の発育を維持するために、かき肉エキスが有用な亜鉛の供給源になることをすでに報告した⁸⁾。そこで、本研究においては、亜鉛欠乏状態にした雄性動物を用いて、精子形成におけるかき肉エキスの影響について検討した。

実験方法

使用した動物は、6週齢のICR系雄マウス（日本クレア(株)）である。動物は、12時間日周期（明期0900-2100）の動物飼育室（室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度50-60%に制御）で飼育した。Fig. 1は実験手順を示したものである。すべての動物に、最初の6週間亜鉛欠乏飼料（亜鉛含量0.02ppm以下）を与え、引き続き6週間亜鉛欠乏飼料あるいは亜鉛添加飼料を与えた。亜鉛添加飼料は、亜鉛欠乏飼料にかき肉エキス（109g/kg）あるいは炭酸亜鉛（198mg/kg）を加えたもので、亜鉛含量は50ppmである。

これらの飼料で6週間あるいは12週間飼育した後、動物から精巣および生殖付属器官を採取し、重量の測定、精子の数、および精子運動率を観察した。精子の運動能に関しては、精巣上体から採取した成熟精子を用いて、精子運動能解析装置（HTM-IVOS, Hamilton-Thorne Research）で分析した。1個体当たり300匹の精子について、基準点移動速度や最短距離移動速度などの分析を行った。

得られたデータの統計学的解析について、器官重量、精子数および運動率などはMann-WhitneyU検定およびt検定によって、亜鉛欠乏群と亜鉛添加群とを比較した。

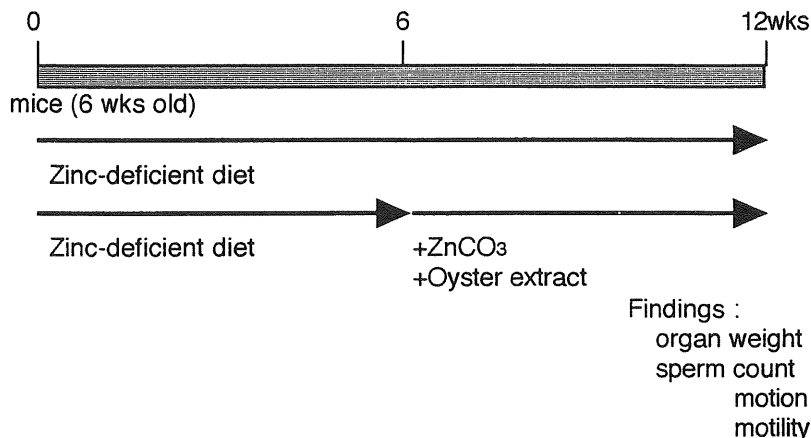


Fig. 1 Experimental procedure

結果

亜鉛欠乏雄マウスに亜鉛添加飼料を与え、発育へ影響をまとめたものがTable 1である。12週間亜鉛欠乏状態にした18週齢の体重は平均38.8gと、6週間亜鉛欠乏状態にした18週齢の体重39.3gと違いは認め

られなかった。これらの動物の精巣および精巣上体の重量も、両飼育期間での差異はなかった。しかしながら、亜鉛欠乏動物に亜鉛添加飼料を6週間与えると、炭酸亜鉛添加群では平均44.2g、かき肉エキス添加群では平均43.9gと有意な体重増加がみられた。また亜鉛を添加すると、精巣および精巣上体の重量も有意に増加していたが、両亜鉛添加群で相違は認められなかった。

Table 2は、亜鉛欠乏雄マウスにおける亜鉛の精子形成への影響を示したものである。12週間亜鉛欠乏状態にすると、精巣上体の精子数は平均 22.7×10^6 と、6週間亜鉛欠乏状態の 30.4×10^6 に比べ有意に減少していた。しかし、炭酸亜鉛添加群では 33.8×10^6 と、亜鉛欠乏群に比べ有意な増加が認められた。かき肉エキス添加群でも、精子数の増加する傾向がみられた。

精子の運動率については、6週間亜鉛欠乏群での平均83.6%に比較して、12週間亜鉛欠乏群で平均79.7%と有意に低下していた (Table 3)。亜鉛欠乏群と比較すると、炭酸亜鉛添加群では、精子運動率

Table 1. Effects of zinc supplementation on growth and development in zinc-deficient male mice

	Zinc-deficient	Zinc-deficient	Zinc-supplemented diet	
	diet (6 weeks)	diet (12 weeks)	zinc carbonate	oyster extract
Number of males examined	5	5	5	6
Body weight (g)	39.3 ± 2.1	38.8 ± 3.3	44.2 ± 3.2**	43.9 ± 3.9*
Testis weight (g)	0.24 ± 0.04	0.24 ± 0.03	0.31 ± 0.02**	0.28 ± 0.03*
(g%)	0.62 ± 0.11	0.62 ± 0.08	0.71 ± 0.09	0.65 ± 0.06
Epididymis weight (mg)	93.1 ± 4.9	94.1 ± 6.6	114.1 ± 7.6*	107.0 ± 8.2*
(mg%)	238 ± 19	243 ± 18	258 ± 16	245 ± 24
Seminal vesicl weight (g)	0.33 ± 0.04	0.36 ± 0.03	0.43 ± 0.08	0.41 ± 0.09
(g%)	0.83 ± 0.12	0.94 ± 0.11	0.98 ± 0.15	0.95 ± 0.27
Prostate weight (mg)	22.3 ± 4.1	15.5 ± 7.1	14.2 ± 3.0	16.0 ± 2.5
(mg%)	56.7 ± 9.6	40.1 ± 18.4	32.1 ± 6.5	36.6 ± 5.3

*p<0.05, **p<0.01, compared with zinc-deficient group for 12 weeks.

Table 2. Effects of zinc supplementation on spermatogenesis in zinc-deficient male mice

	Zinc-deficient	Zinc-deficient	Zinc-supplemented diet	
	diet (6 weeks)	diet (12 weeks)	zinc carbonate	oyster extract
Number of mice examined	5	5	5	6
Weight of left cauda epididymis (mg)	18.1 ± 2.2	16.4 ± 2.2	19.5 ± 1.2**	18.0 ± 2.0
Number of sperms in left cauda epididymis ($\times 10^6$)	30.4 ± 5.2	22.7 ± 4.7#	33.8 ± 6.6*	26.7 ± 4.9
Number of sperms in left cauda epididymis ($\times 10^6/g$)	1670 ± 100	1370 ± 180#	1730 ± 260*	1480 ± 240

* p<0.05, as compared with zinc-deficient group for 12 weeks.

#p<0.05, as compared with zinc-deficient group for 6 weeks.

Table 3. Effects of zinc supplementation on sperm motility in zinc-deficient male mice

	Zinc-deficient diet (6 weeks)	Zinc-deficient diet (12 weeks)	Zinc-supplemented diet	
			zinc carbonate	oyster extract
Number of mice examined	5	5	5	6
Motility (%)	83.6 ± 9.9	79.7 ± 7.4	81.2 ± 5.8	87.1 ± 4.51 **, #
Progressive motility (%)	24.4 ± 7.9	26.4 ± 10.6	28.1 ± 12.8	36.5 ± 10.0*
Path velocity (μm/s)	131.0 ± 15.3	135.8 ± 21.3	138.4 ± 17.5	150.7 ± 11.3*
Straight line velocity (μm/s)	93.7 ± 11.6	100.3 ± 15.1	102.4 ± 17.7	114.5 ± 12.5
Curvilinear velocity (μm/s)	254.4 ± 28.6	255.5 ± 43.8	259.0 ± 26.5	277.1 ± 20.5
Amplitude of lateral head displacement (μm)	17.6 ± 1.0	17.3 ± 1.2	17.1 ± 0.6	17.0 ± 0.8
Beat cross frequency (Hz)	35.3 ± 1.6	34.7 ± 1.4	34.3 ± 1.1	33.9 ± 1.3
Straightness (%)	69.78 ± 3.4	72.1 ± 3.4	71.8 ± 4.3	74.5 ± 3.5
Lineality (%)	37.5 ± 3.0	39.9 ± 2.6	39.8 ± 3.7	41.8 ± 2.5

*p<0.1, **p<0.05, as compared with zinc-deficient group for 12 weeks.

#p<0.05, as compared with zinc-supplemented group (zinc carbonate).

や良好精子運動率の増加する傾向がみられ、かき肉エキス添加群では、精子運動率が平均87.1%や良好精子運動率が36.5%と、基準点移動速度と共に有意に高くなっていた。しかし、かき肉エキス添加群と炭酸亜鉛添加群で、運動率や精子の移動速度に差異は認められなかった。

考 察

二枚貝であるかき (*Crassostrea gigas*) は、さまざまな栄養成分を含み、広く一般に食品として使用されている。かき肉エキスは、原料のかきを熱水で抽出した後、抽出物を粉末にしたもので、糖質、タンパク質、アミノ酸を主成分にしたもので、脂質はほとんど含まれていない。また微量栄養素として、タウリンや亜鉛などが豊富である。本研究では、亜鉛欠乏飼料に、炭酸亜鉛あるいはかき肉エキスを亜鉛量として50ppm添加したものを亜鉛添加飼料とした。かき肉エキス添加飼料では、かき肉エキスが飼料に109g/kg添加されているため、炭酸亜鉛添加飼料とかき肉エキス添加飼料では、栄養成分の組成や含有量が異なっていることが考えられる。このため、かき肉エキス群においては、亜鉛の影響のみでなく、かき肉エキスの含まれているタウリンやグリコーゲンなどの有効成分の作用も考慮に入れる必要がある。

本研究においては、亜鉛欠乏飼料を6週齢の雄マウスに6週間あるいは12週間与えた。両飼育群では、観察したマウスの週齢が異なっているために、得られたデータを直接比較はできない。体重および器官重量からみると、6週から12週の間には亜鉛欠乏群では雄マウスの発育はみられていない。しかしながら、12週間亜鉛欠乏にすると、精巣上体の精子数が有意に減少したが、精子の運動能には影響がみられなかった。つまり、亜鉛は精子形成には不可欠な微量栄養素であるが、運動能にはあまり関わりがないのかもしれない。このことは、亜鉛添加群における結果からも示唆される。つまり、炭酸亜鉛添加によって

も、精子数の回復がみられたが、精子の運動能に影響はみられていない。またヒトにおいても、精子数と精液中亜鉛量との間に相関のあることが報告されている⁹⁾。

亜鉛は成熟雄性動物の精巣に多量に存在しており、他の組織に比べ、前立腺にはさらに高濃度に含まれている。精子形成において亜鉛は不可欠である^{7),10)}。亜鉛が欠乏すると、最初にアンジオテンシン変換酵素 (ACE) の活性が障害され、次にテストステロンの枯渇や精子形成の障害が起こることが知られている¹¹⁾。離乳後から重篤な亜鉛欠乏状態にすると、精巣に種々の組織学的変化が認められ、精細管も萎縮している。またこれらの動物では、血清中のテストステロンやプロゲステロンのレベルも低下している¹²⁾。

かき肉エキス添加群では、精子数の回復する傾向はみられたが、精子の運動率や移動速度は、亜鉛欠乏群および炭酸亜鉛添加群と比較して、有意に高い値を示した。これは、かき肉エキスの中に含まれている亜鉛が精子形成に利用されているとともに、亜鉛以外の栄養成分が精子の運動能に関わっていることを示している。精のう腺の分泌液にはフルクトースやリン酸コリンが多く、フルクトースは精子の運動のエネルギーとなっていると考えられている。また、亜鉛欠乏マウスにおいて、精巣のグリコーゲンが低下していることも報告されている¹³⁾。このため、かき肉エキスに含まれるグリコーゲンや微量栄養成分が精子の運動能に関わっているのかもしれない。今後、かき肉エキスに含まれている個々の栄養成分について検討を試みる必要がある。

結論として、マウスを12週間亜鉛欠乏状態にすると、発育の抑制、精巣重量の低下および精子数の低下が認められた。6週間亜鉛欠乏状態にした後、炭酸亜鉛あるいはかき肉エキスを与えると、体重および精巣重量の増加が見られた。炭酸亜鉛では、精巣上体における精子数の増加がみられた。一方、かき肉エキスでは、精子の運動率および運動能の増加することが観察された。このようにかき肉エキスを摂取することによって、亜鉛不足による精子形成障害を予防できることが示唆された。

本研究を行うにあたり、ご協力を頂いた(株)日本バイオリサーチセンターの加藤真之博士に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 本郷哲郎 (1994) 亜鉛. 「ミネラル・微量元素の栄養学」, 鈴木継美, 和田功編. 第一出版, 東京: pp.377-395.
- 2) Kirchgessner, M. and H.-P. Roth (1980) Zinc in the Environment, Part 2, Health Effects, ed. by Nriagu, J.O., John Wiley & Son, New York.
- 3) Watanabe, T., F. Sato and A. Endo (1983) Cytogenetic effects of zinc deficiency on oogenesis and spermatogenesis in mice. Yamagata Med. J. 1: 13-20.
- 4) Hurley, L.S. and H. Swenerton (1966) Congenital malformations resulting from zinc deficiency in rats. Nature 254: 427-429.
- 5) Hickory, W., R. Nanda and F.A. Catalanotto (1979) Fetal skeletal malformations associated with moderate zinc deficiency during pregnancy. J. Nutr. 109: 883-891.

- 6) Martin, G.B., C.L. White, C.M. Markey and M.A. Blackberry (1994) Effects of dietary zinc deficiency on the reproductive system of young male sheep: testicular growth and the secretion of inhibin and testosterone. *J. Reprod. Fert.* 101 : 87-96.
- 7) 渡辺敏明 (1997) 亜鉛欠乏状態のマウス精子の生存率および形態に及ぼす影響 *日栄食誌* 50 : 311-315.
- 8) 渡辺敏明, 松田芳和, 太田隆男, 柴田幸雄 (1998) 亜鉛欠乏状態におけるかき肉エキス of 胎児発育および催奇形性に及ぼす影響. *微栄研* 15 : 73-79.
- 9) Madding, C.I., M. Jacob, V.P. Ramsay and R.Z. Sokol (1986) Serum and semen zinc levels in normozoospermic and oligozoospermic men. *Ann. Nutr. Metab.* 30 : 213-218.
- 10) Abbasi, A.A., A.S. Prasad, P. Rabbani and E. DuMouchelle (1980) Experimental zinc deficiency in man. *J. Lab. Clin. Med.* 96 : 544-550.
- 11) Bedwal, R.S. and A. Bahuguna (1994) Zinc, copper and selenium in reproduction. *Experientia* 50 : 626-640.
- 12) Hamdi, S.A., O.I. Nassif and M.S. Ardawi (1997) Effect of marginal or severe dietary zinc deficiency on testicular development and functions of the rat. *Arch. Androl.* 38 : 243-253.
- 13) Bedwal, R.S., M.S. Edwards, M. Katoch, A. Bahuguna and R. Dewan (1994) Histological and biochemical changes in testis of zinc deficient BALB/c strain of mice. *Indian. J. Exp. Biol.* 32 : 243-247.