

## 若齢黒毛和種ウシにおける精巣動脈末端の形態学的特徴

矢口沙都<sup>1</sup>・川邊悠介<sup>1</sup>・鈴木充子<sup>1</sup>・沼邊 孝<sup>2</sup>・種村健太郎<sup>1</sup>・原 健士朗<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 東北大学大学院農学研究科, 仙台市 980-8572

<sup>2</sup> みやぎ農業振興公社, 白石市 989-0731

令和5年9月4日受付, 令和6年2月6日受理

### 要約

性成熟前のウシ精巣において, 血管系は酸素や二酸化炭素, 栄養素や老廃物の運搬, 精巣の温度調整を行っており, 正常な造精機能の確立のために重要な役割を果たす。種雄牛選抜に先立って, 精巣の血流評価による精巣機能の予測が期待されるが, 性成熟前のウシの精巣血管系の精巣間差については殆ど明らかにされておらず, 再現性の高い血流評価技術の確立が妨げられている。そこで, 本研究では, 肉眼解剖学的観察により, 性成熟前の黒毛和種ウシにおける精巣動脈の走行パターンの精巣間差を明らかにすることを目的とした。4~5ヶ月齢雄ウシの去勢直後の精巣から精巣上体を除去し, 白膜直下の精巣血管を観察・比較したところ, 精索内や精巣尾端の動脈は, 精巣内で3次元的に不規則に折りたたまれていた。一方, 精巣外側面に位置する精巣動脈の末端は, 精巣の頭端から尾端に向かう縦方向の高い直線性を有し, その走行パターンは精巣ごとに4種類に大別できることを見出した。同血管の太い側から細い側に向けて色素液を注入したところ, 精巣の実質部から蔓状静脈叢まで色素液が行き渡ることを確認し, 観察した精巣表面の血管が精巣内部に繋がる血管であることを確認した。以上より若齢黒毛和種ウシにおいて, 精巣血管には精巣間差があり, 特に精巣動脈の末端においては走行パターンが4種類に大別できることがわかった。最も精巣間差の小さい精巣動脈末端から精巣機能の評価を行う技術が期待できる。

キーワード: 雄ウシ, 精巣, 精巣血管

東北畜産学会報 73(3) : 9~14 2024

### 緒言

我が国で生産される黒毛和種ウシは, 雄遺伝子資源の高度利用, 育種改良の迅速化, 精液の管理のしやすさ, 飼養コストの削減などの理由から少数の遺伝的能力の優秀な雄ウシから採取される精液を用いた人工授精によって育種繁殖が行われている(濱野, 2015)。種雄牛の造精機能は動物生産を支える重要な生命現象であるが, 現

在は造精機能に着目した育種改良はほとんど行われていない。若齢期の段階で雄ウシの造精機能を予測・評価する技術があれば, 後代検定にかけられた雄ウシ集団の中から優秀な造精機能を持った雄ウシを選抜する確率の向上が期待される。

造精機能を評価する主要な指標のひとつは, 精巣の血管系による血液循環である。精巣では, 前縁の近くで血管ヒダをつくり, これに含まれて精巣へ向かう精巣動脈が曲がりくねって走り, これに精巣静脈がまつわって蔓状静脈叢をつくる(加藤と山内, 2008)。精巣において, 血管系は酸素や二酸化炭素, 栄養素や老廃物の運搬, 精巣の温度調節を行っており, 正常な造精機能の確立のために重要な役割を果たす(Setchell, 1970)。性成熟前の

\* 連絡者: 原 健士朗 (はら けんしろう)  
(東北大学大学院農学研究科)  
〒980-8572 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉468-1  
TEL: 022-757-4306  
E-mail: kenshiro.hara.b6@tohoku.ac.jp

精巣における虚血は、精巣成長不全を引き起こし、将来的に不妊となる可能性がある。例えば、ヒツジの精巣では、精巣の虚血状態が正常な精子形成を妨げることが知られている (Markey ら, 1994)。さらにイヌでは、正常な生殖能力を持つ個体と不妊の個体でそれぞれ精巣内の動脈および精巣動脈の末端部に着目すると、血流に違いがあることが知られており (de Souza ら, 2015)、正常な血流があることは正常な造精機能のために重要である。同様に、ウシにおいて精巣内の動脈の形態が異なると血流にも違いが発生し、精子の質にも影響を及ぼすことが報告されている (Kastelic ら, 2018)。また、成体の肉用ウシでは、精巣動脈の末端部分の形態は各精巣間で3つのパターン (直線, 弓形, ジグザグ) に分けることができる (Polguy ら, 2009) との報告があり、若齢黒毛和種ウシにおいても精巣動脈の形態や血流が精巣機能の評価基準となり得る可能性がある。実際、成体ウシでは精巣内の動脈に着目し、血流の分析による精巣機能の評価が行われているが、精巣内の動脈は複雑に折りたたまれているため、複数の指標で評価することが困難である (Glori ら, 2018)。正確な精巣機能の評価・予測のため、精巣動脈のなかでも直線性が高く、血管の上流に存在する動脈を対象とする必要がある。また、高い再現性を実現するため、精巣間差が小さい血管であることが望ましい。しかし、選抜の候補となる性成熟前の黒毛和種ウシの精巣における血管系の精巣間差については明らかにされていない。

若齢期の黒毛和種ウシの精巣における血管の構造とその精巣間差を明らかにすることができれば、我が国の畜産を支える再現性の高い精巣血流評価技術の確立に資する知見となることが期待される。本研究では、性成熟前の黒毛和種ウシにおける精巣動脈の走行パターンの精巣間差を明らかにすることを目的とし、肉眼解剖学的観察を行うと共に、標的の血管が精巣内部に繋がる血管であることを確かめるために灌流を行った。

## 材料および方法

### 1. 組織収集

本実験は、国立大学法人東北大学における動物実験等に関する規程に準拠した。一般的な去勢時期である4～5か月齢のウシ精巣では、すでに一部の精細管において精子形成を開始している (Devkota ら, 2006)。このため、4～5か月齢は、性成熟後の造精機能を予測・評価する時期として適切と考えられる。本研究では、健康な4～5か月齢の黒毛和種ウシから、局所麻酔下で精巣の腹腔に近い領域を結紮後、メスを用いて切除し、精巣を摘出

し、30分以内に各実験に供した。実験に供した精巣の数は、精巣動脈の肉眼解剖学的観察に19個 (10個体分; 1個は去勢の際に血管系を切除してしまったため解析に供しなかった)、精巣血管系への灌流に5個 (4個体分; うち2個 [1個体分] は肉眼解剖学的観察で使用したものをを用いた) であった。

### 2. 精巣動脈の肉眼解剖学的観察

リン酸緩衝生理食塩水 (10倍濃縮) (ナカライテスク, 東京, 27575-31) を10分の1に希釈したもので精巣外部を洗浄後、マイクローム替刃 (FEATHER, 大阪, S35) を用いて精巣上部を切除し、精巣の長・短軸の長さおよび重量を計測した。それぞれの精巣について、精巣内の動脈、精巣動脈末端部、精巣下部の動脈の3か所について、スマートフォン付属のカメラ (Apple, アメリカ, iPhone SE) で外観を撮影し、その走行パターンを解析した。

### 3. 精巣血管系への色素液の灌流

5個の精巣のうち、1個を灌流なしの精巣として、4個を灌流ありの精巣として実験に供した。灌流ありの精巣について、精巣動脈からカニューレ (Terumo, 東京, 170324J) を挿入し、カニューレにシリンジ (Terumo, 200710H) を取り付け、4個のうち2個の精巣に25mLのトリパンプルー (ナカライテスク, 東京, 20577-3) をゆっくりと流し込むことで色素液の移動を可視化し、精巣動脈から流し込んだ色素液が、精巣内に行き渡り、蔓状静脈叢から排出されるか否かを確かめた。灌流後、精巣をハサミで切断し、精巣の断面を肉眼および実体顕微鏡 (Leica, ドイツ, M205 FA) で観察し、顕微鏡用デジタルカメラ (Leica, DFC7000T) で撮影した。また、残り2個の精巣には無色透明のリン酸緩衝生理食塩水を灌流し、トリパンプルー灌流と同様に蔓状静脈層からの血液と灌流液の排出を確かめた。

## 結果

### 1. 精巣動脈の形態学的精巣間差

使用した精巣の重量は、29 g ~ 51 g ( $38.4 \pm 1.52$  g)、精巣の短軸長は2.0 ~ 3.5 cm ( $2.9 \pm 0.36$  cm)、精巣の長軸長は4.5 ~ 6.0 cm ( $5.2 \pm 0.13$  cm) の範囲であった (括弧内は平均値 ± 標準誤差を示す)。未成熟ウシの精巣動脈について、精巣と、精巣上部を剥離した状態の精巣白膜の外側から観察可能な部位は、精巣内動脈、精巣動脈末端部、精巣尾端の動脈の3か所であった (図1 A, B)。精巣動脈末端部については、精巣上部に覆われるように存

在していた(図1 C, D)。まず, 精索内の動脈は3次元的に複雑に湾曲しており, 精索の表層部の動脈の湾曲の頻度や方向性は精巣間で大きく異なっていた(図1 A, E-H)。次に, 精巣動脈の末端は, 精巣内部の方向に湾曲せず, 精巣の表層を頭端から尾端に向けて2次元的に走行し, 他の2か所の動脈と比べて湾曲が少ない(すなわち, 直線性が高い)という特徴を有していた(図1 A,

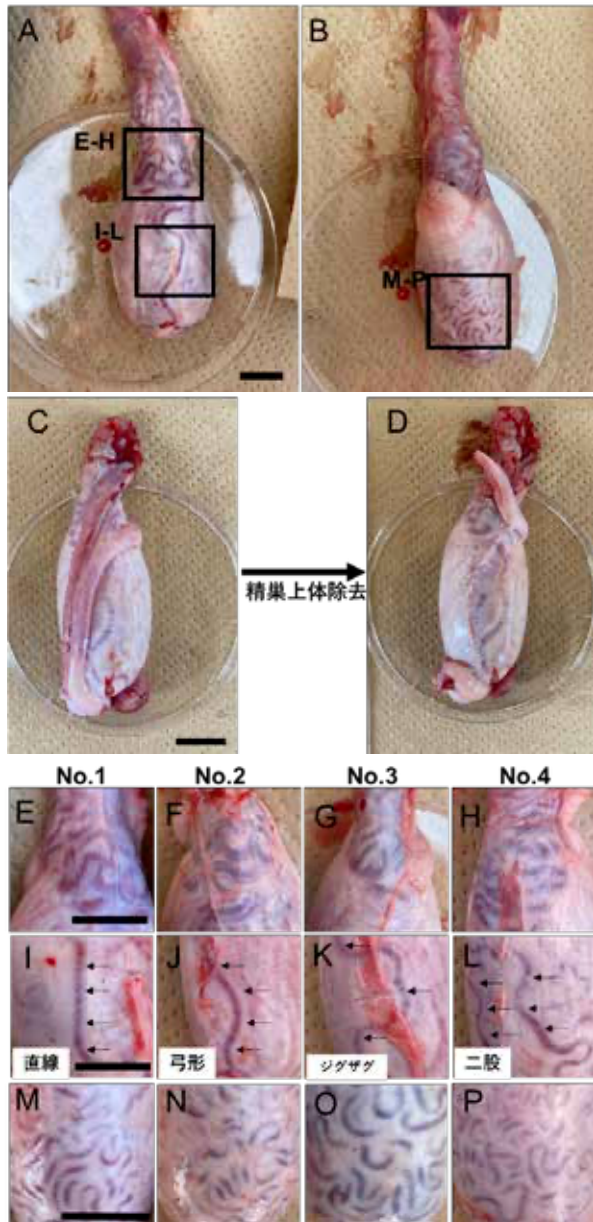


図1. 若齢期黒毛和種ウシ精巣の動脈の観察部位

(A, B) 精索内の動脈, 精巣動脈末端部, 精巣尾端の動脈の3カ所の動脈を観察した。(C, D) 精巣動脈末端部は精巣上体を取り除いて観察した。(E-H) 精索内の動脈の観察像。(I-L) 精巣動脈末端部の観察像。矢印は精巣動脈を示す。4種類に(直線, 弓形, ジグザグ, 二股)に大別した際の分類を図の左下に示した。(M-P) 精巣尾端の動脈の観察像。No. 1 ~ No. 4は個体番号を示す。バーは1.5cmを示す。

I-L)。精巣動脈末端の走行パターンは, 直線(7/19), 弓形(4/19), ジグザグ(6/19), 二股(2/19)の4種類に大別できることが分かった(図1 A, I-L)。最後に, 精巣尾端の動脈は3次元的に複雑に湾曲しており, 血管の走行パターンは精巣間差も大きかった(図1 A, M-P)。以上のことから, 未成熟黒毛和種ウシの精巣において, 観察した3カ所の動脈のうち, 精索内の動脈及び精巣尾端の動脈が複雑に湾曲しており精巣間差が大きいに対し, 精巣動脈の末端が最も高い直線性を示し, 精巣間差が小さいことが明らかとなった。

## 2. 精巣血管系への色素液の灌流

精巣動脈の末端部より精巣の頭端から尾端に向かって色素液を流し込むことで, 精巣動脈の末端部が精巣の内部にまで行き渡っている精巣血管の上流であるのかを確かめた(図2 A)。色素液が精巣動脈の末端部から白膜内の血管を通して精巣の血管網に流し込まれたのを確認した(図2 B, E)。灌流を実施した全ての精巣において, 色素液が精巣上部の蔓状静脈層から排出されるのを確認

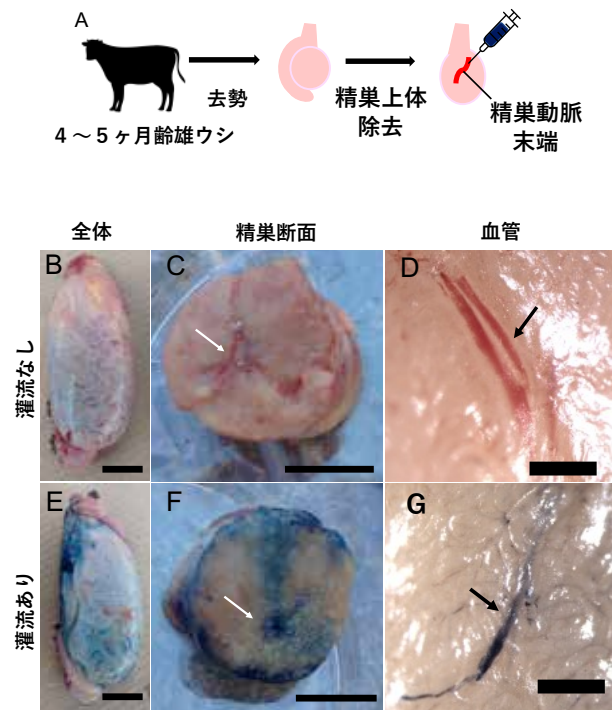


図2. 着色液(トリパンブルー)によるウシ精巣の灌流

(A) 去勢から灌流までの手順。(B, C, E, F) 灌流した精巣および灌流していない精巣の精巣全体写真と断面写真の観察結果。白矢印は精巣網周辺の血管を示す。(D, G) 実体顕微鏡で拡大して観察した精巣实质部の断面。黒矢印は精巣实质内の細かい血管を示す。バーは1.5cm (B, C, E, F) もしくは500  $\mu$ m (D, G)を示す。

し、精巣動脈末端部から灌流されたことが示された。精巣断面の観察から、血管が集中している精巣網周辺の血管が色素液で染まっていることが分かった(図2 C, F)。さらに顕微鏡による観察により精巣実質部の細い血管にも色素液が流し込まれていた(図2 D, G)。以上から、精巣動脈の末端部が精巣内部に繋がる血管であることを確認した。

## 考 察

性成熟前の黒毛和種ウシにおける精巣血管の観察を通して、精巣動脈の末端部は複雑でなく精巣間差も小さい一方で、精索内や精巣尾端の動脈は複雑で精巣間差も大きいことが分かった。これらの特徴は成体ウシの精巣動脈においても報告があるため(Polguj, 2009)、このような精巣間差は少なくとも4~5ヶ月齢までには確立されていると思われた。性成熟前の精巣血管の確立はラットでも報告があり(Setchell, 1970)、精巣における血管系確立の時期が哺乳動物種間で保存されていること示唆している。

精巣において血液は精巣の温度調整を行っており、精巣温度の上昇が正常な精子産生を妨げることが知られている(Harrison と Weiner, 1949; Brito ら, 2004)。また、精索内の動脈の形態の違いが精巣の温度調節に影響することが知られており(Kastelic ら, 2018)、性成熟前のウシ精巣における精巣動脈の末端部の走行パターンの違いが、精巣の温度調節や精巣の造精機能にも影響を与える可能性が考えられる。

精巣動脈の末端部が高い直線性を有していることは、精巣の近位から遠位への素早い血液輸送を可能にし、精巣全体に継続的に血液を供給するための役割が考えられる(Setchell, 1970)。観察の結果、精巣上体は精巣動脈末端部を覆うように存在していたため、物理的な損傷から精巣動脈末端部を保護しているのではないかと考えられる。しかし、このような直線性の高い血管は、同じ陰嚢に精巣を持つヒトには見られないことから、今後精巣動脈末端部の直線性が持つ役割についての詳細な研究が必要である(Nishida, 1964; Polguj ら, 2009)。

精巣動脈の末端部から灌流を行うことにより、精巣動脈の末端部が精巣全体に繋がる血管であることが確認された。また、精巣動脈の末端部はその他の血管と比較して精巣間差が小さく、直線性の高い部位であった。血流の評価の際は、血管の十分な直線性が必要であるとされており(Gloria ら, 2018)、高い直線性を持つ精巣動脈の末端部は性成熟前の精巣において、血流の評価を行うのに有用な血管であることが示唆された。また、精巣間

差が小さいことから、どの精巣でも再現性高く血流評価を行うことができると考えられる。これにより、カラードップラー法を用いた血流評価の標的部位としての利用などが期待できると考えられる。(Gloria ら, 2018; Velasco と Ruiz, 2021)。本研究成果を基にした若齢期での精巣動脈の血流評価が、性成熟後の造精機能をどの程度正確に予測できるかについては、今後の検討課題である。

本研究で試みた若齢黒毛和種ウシ精巣における肉眼解剖学的観察では、精索内の動脈及び精巣尾端の動脈は複雑であり、精巣間差が大きいのに対し、精巣動脈の末端部は直線性が高く、精巣間差が小さいことが確認された。また、精巣動脈末端部からの灌流により、精巣動脈末端部が精巣内部および精巣全体に繋がる血管であることが確認された。以上より、若齢黒毛和種ウシの精巣動脈の形態が明らかにされ、精巣動脈末端部分が血流分析による精巣機能評価の標的部位として有効であると考えられる。

## 謝 辞

本論文の作成にあたり、多くの方々にご指導ご鞭撻を賜りました。東北大学大学院農学研究科の影山恵理氏、河原輝宙氏、古川睦実氏、徳武優佳子氏、萩野顕彦氏、東京医科歯科大学生体材料工学研究所の梨本裕司氏には技術的指導をいただきました。宮城県畜産試験場の及川俊徳氏には実験材料を提供いただきました。また、阿部純代氏には事務的支援をいただきました。本研究は、科学研究費補助金(科研費; 21H02341)、生体医歯工学共同研究助成(2023年度4006)およびJST FORESTプログラム(JPMJFR2018)、翠生農学振興研究助成金(J210002677)の支援を受けて行われました。

## 引用文献

- B.P.Setchell. Testicular Blood Supply, Lymphatic Drainage, and Secretion of Fluid. In: THE TESTIS vol. 1 (A.D.Johnson, W.R.Gomes, N.L.Vandemark eds.) 101-218. Academic Press. New York.1970.
- Brito, L. F. C., Silva, A., Barbosa, R. T., Kastelic, J. P. Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. *Theriogenology*, 61, 511-528. 2004
- de Souza, M. B., England, G. C., Mota Filho, A. C.,

- Ackermann, C. L., Sousa, C. V., de Carvalho, G. G., Silva, H. V., Pinto, J. N., Linhares, J. C., Oba, E., da Silva, L. D. Semen quality, testicular B-mode and Doppler ultrasound, and serum testosterone concentrations in dogs with established infertility. *Theriogenology*, 84, 805-810. 2015.
- Devkota, B., Sasaki, M., Takahashi, K., Matsuzaki, S., Matsui, M., Haneda, S., Takahashi, M., Osawa, T., Miyake, Y. Postnatal developmental changes in immunohistochemical localization of alpha-smooth muscle actin (SMA) and vimentin in bovine testes. *J Reprod Dev*, 52, 43-49. 2006.
- Gloria, A., Carluccio, A., Wegher, L., Robbe, D., Valorz, C., Contri, A. Pulse wave Doppler ultrasound of testicular arteries and their relationship with semen characteristics in healthy bulls. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 9. 2018.
- 濱野晴三, 家畜人工授精講習会テキスト (家畜人工授精編), 全改訂版, 279, 一般社団法人日本家畜人工授精師協会, 東京, 2015.
- Harrison, R. G., Weiner, J. S. Vascular patterns of the mammalian testis and their functional significance. *J Exp Biol*, 26, 304-316, 2 pl. 1949.
- Hirano, K., Nonami, Y., Nakamura, Y., Sato, T., Ishiguro, K. I., Ogawa, T., Yoshida, S. Temperature sensitivity of DNA double-strand break repair underpins heat-induced meiotic failure in mouse spermatogenesis. *Commun Biol*, 5, 504. 2022.
- Kastelic, J. P., Rizzoto, G., Thundathil, J. Review: Testicular vascular cone development and its association with scrotal thermoregulation, semen quality and sperm production in bulls. *Animal*, 12, s133-s141. 2018.
- 加藤嘉太郎, 山内昭二, 新編家畜比較解剖図説下巻, 第4版, 76, 株式会社養賢堂, 東京, 2008.
- Markey, C. M., Jequier, A. M., Meyer, G. T., Martin, G. B. Testicular morphology and androgen profiles following testicular ischaemia in rams. *J Reprod Fertil*, 101, 643-650. 1994
- Nishida, T. [Comparative and topographical anatomy of the fowl. XLII. Blood vascular system of the male reproductive organs]. *Nihon Juigaku Zasshi*, 26, 211-221. 1964.
- Polgaj, M., Jedrzejewski, K. S., Dyl, L., Topol, M. Topographic and morphometric comparison study of the terminal part of human and bovine testicular arteries. *Folia Morphol*, 68, 271-276. 2009.
- Velasco, A., Ruiz, S. New Approaches to Assess Fertility in Domestic Animals: Relationship between Arterial Blood Flow to the Testicles and Seminal Quality. *Animals*, 11, 12. 2021.

## **Morphological characteristics of the terminal part of testicular arteries in prepubertal Japanese Black cattle**

Saaya Yaguchi<sup>1</sup>, Yusuke Kawabe<sup>1</sup>, Atsuko Suzuki<sup>1</sup>, Takashi Numabe<sup>2</sup>,  
Kentaro Tanemura<sup>1</sup>, Kenshiro Hara<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, 468-1 Aoba, Aramaki, Aoba, Sendai, Miyagi, 980-8572, Japan

<sup>2</sup> Miyagi Agricultural Development Corporation, Sendai, Miyagi, 981-0914, Japan

Corresponding author: Kenshiro HARA

(Tel: +81(0)022-757-4306 e-mail: kenshiro.hara.b6@tohoku.ac.jp)

### **Summary**

In the bovine testis before sexual maturity, the vascular system transports oxygen, carbon dioxide, nutrients and wastes, regulates the temperature of the testis, and plays an important role in establishing normal spermatogenic function. For this reason, it is expected that testicular function can be predicted by evaluating testicular blood flow prior to the selection of bulls. Establishment of highly reproducible blood flow evaluation technology is hindered. Therefore, the purpose of this study was to clarify the inter-testicular differences in the running pattern of the testicular arteries in Japanese Black cattle before sexual maturity through gross anatomy observation. When the epididymis was removed from the testicles of 4-5 month-old bulls immediately after castration, and the testicular blood vessels just below the tunica albuginea were observed and compared, the arteries in the spermatic cord and the caudal end of the testis were three-dimensionally within the testicular cord. It was folded irregularly. On the other hand, we found that the end of the testicular artery located on the lateral surface of the testis is highly linear in the longitudinal direction from the cranial end to the caudal end of the testis, and that the running pattern can be roughly divided into four types for each testis. When the pigment solution was injected from the thick side to the thin side of the same blood vessel, it was confirmed that the pigment solution spread from the parenchyma of the testis to the pinnacle plexus. It was confirmed that From the above, it was found that there are intertesticular differences in testicular blood vessels in juvenile Japanese Black cattle, and in particular, the running pattern of the end of the testicular artery can be roughly divided into four types. A technique for evaluating testicular function from the end of the testicular artery, which has the smallest intertesticular difference, is expected.

**Key words:** bull, testis, testicular artery