

361 TCRトランジェニックマウスを用いた妊娠成立・維持に関する研究

東海大、北里大・微生物*

善方菊夫、前田大伸、勝沼潤子、吉沢廣幸、小林善宗、見常多喜子、牧野恒久、玉内秀一*

[目的]妊娠成立に伴い、マウス脱落膜には、 $\gamma\sigma$ -TCR⁺の細胞が著明に増加し、妊娠の成立、維持に関与する重要な免疫担当細胞であると考えられている。今回H-2b拘束性Ld特異的T細胞クローンから得られたTCR遺伝子導入トランジェニックマウス(2C-Tg)とH-2bハプロタイプC57BL/6マウスにMHC class I Ld発現遺伝子を導入したトランジェニックマウス(Ld-Tg:東大・医・疾患遺伝子・宮崎教授より分与)の2種類の交配実験より、 $\gamma\sigma$ -TCR⁺細胞が少なく、分化も抑制されているトランジェニックマウス(2C-Tg)における妊娠を解析し、妊娠の成立・維持におけるTリンパ球の関与について検討した。[方法]2C-TgのT細胞は殆どが導入したTCRを発現したCD8陽性のT細胞である。この2C-Tgの雌とLd-Tgの雄の交配により2C⁺Ld⁺の仔マウスが生れてくるかを検討した。その逆の組み合わせを対照群とした。2Cの確認にはFACScanを、Ld発現確認にはRT-PCR法を用いた。[結果]1)2C-Tg(♀)×Ld-Tg(♂)の交配において認められた2C⁺Ld⁺仔マウスの割合は23%、対照群でのそれは25~40%であった。2)両群より生れた2C⁺Ld⁺仔マウスの末梢リンパ球、胸腺、リンパ節中のCD8⁺1B2⁺細胞の割合やTCR発現量に有意差は認められなかった。3)2C⁺Ld⁺仔マウスと2C⁻Ld⁻、2C⁻Ld⁺、2C⁺Ld⁻の仔マウスの体重変化の比較において有意差は認められなかったが8週令以降の体重増加に差はみられた。[結論]胎児のMHC class I抗原の発現が抑制されており、自己抗原となるLd抗原に対して局所に存在するTリンパ球がアナジーになっている可能性が示唆された。現在、2C-Tgマウスの妊娠子宮局所の $\gamma\sigma$ -TCR⁺細胞の真の役割についても検討中である。

362 ヒト精子におけるカルシウム依存性システインプロテアーゼ(カルパイン)の解析

名古屋市大、*同生化学2

青山朋美、尾崎康彦*、青木耕治、生田克夫、八神喜昭

【目的】ヒト精子が受精能を獲得し、受精が起こるまでの過程において、精子内のカルシウム濃度の増加が重要な役割を持つ事が報告されている。そこで我々は、精子におけるカルシウム依存性システインプロテアーゼであるカルパインの存在及び意義を検討した。【方法】カルパインの存在及び動態(活性の状態)を、 μ 及びm-カルパインのN末端と活性中心に対するpolyclonal抗体を用いて検討した。ヒト μ 及びm-カルパイン80KサブユニットのN末端と活性中心のペプチドを合成し家兎に免疫し抗血清を得た後、各種ペプチド抗原ビーズを作製しアフィニティー精製し実験に供した。カルパイン活性の簡易的評価には、カゼインを基質とする分解能を応用した。妊孕性を有する健常男性精液(N=5)を液化させた後、Percoll法で遠心分離し、各種抗体を用いた免疫組織染色を試みた。また、カルシウムイオノフォア(A23187)を用いて種々の時間(0-6時間)及び濃度条件(0-10 μ M)下で調整精子を培養し、カルパインの動態を検討した。【成績】全例において、抗 μ -カルパイン抗体による特異的な染色が認められたが、抗m-同抗体には免疫染色されなかった。抗 μ -N末端抗体により頭部が免疫染色され、その染色性はA23187処理によって尾部へ移行した。また活性型に特異的な抗活性中心抗体により尾部が免疫染色され同処理によって染色性が増強した。カゼイン分解能は同処理によって増加した。【結論】ヒト精子に、 μ -カルパインが存在する事を明らかにし、カルパインがヒト精子の細胞内カルシウム濃度の上昇を伴う受精能獲得やhyperactivationという生殖現象に重要な役割を演じている可能性が示唆された。