

363 ヒト精子adenyl purine体の一斉分析法の確立と精子生理の観察

東京歯大市川病院

兼子 智, 郡山 智, 吉田丈児, 赤星晃一,
松林秀彦, 石塚純子, 田中宏明, 石見大輔,
泉 康史, 小田高久

〔目的〕adenyl purine (ATP, ADP, AMP, cAMP, adenosine) の代謝動態は細胞の機能制御に密接に関連し, ヒト精子においても受精能獲得, 先体反応誘起の過程でATP, cAMP量が変化することが報告されている. 従来, これらは別個に測定されていたが, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて中間体を含めた一斉分析法を確立し, 精子生理との関連を検討した. 〔方法〕キャピラール-攪拌密度勾配法によりヒト精液より精子を濃縮するとともに精漿を除去した. 精子懸濁液 (10^7 精子/ml) $200 \mu\text{l}$ に 0.1N HCl を加えて固定, 抽出, 不溶物を遠心除去後, 0.08M K_2CO_3 で中和した. 2-chloro- acetaldehyde でadenyl purine および内部標準物質 (vidarabin) をエチノ化して蛍光ラベルし, HPLC で分離した. 〔成績〕ATP, ADP, AMP, adenosine, cAMP を用いて検量線を作成した結果, $10 \sim 200 \text{pmole}$ の範囲でいずれも $r^2 \geq 0.999$ と高い直線性が得られた. 洗浄精子の運動率 ($10 \sim 65\%$, $n = 14$) とadenyl purine 量の相関を検討した結果, ATP ($r^2 = 0.914$), ADP ($r^2 = 0.802$), 総adenyl purine ($r^2 = 0.846$) との間に正の相関を認めたが, cAMP ($r^2 = 0.481$) とは相関を認めなかった. 精子 ($n = 5$) を 1.0mM caffeine と培養すると運動率は $42 \pm 1\%$ (mean $\pm$ SD) から $58 \pm 4\%$ に上昇したが, 総adenyl purine 量には有意な変化はなく, cAMP は 0.11 ± 0.03 から $0.18 \pm 0.02 \text{pmole}/10^6$ 精子へ有意 ($p < 0.05$) に増加した. 〔結論〕本研究で確立したadenyl purine 分析法によりATP, ADP の精子運動への寄与と caffeine による cAMP 蓄積を観察できた. 本法はヒト精子生理へのadenyl purine の影響を観察するのに有用と考えられる.

364 ヒト精子プロゲステロン結合能とIVFにおける受精能ならびに先体反応との関連性についての研究

愛媛大

福井敬介, 武田康成, 北川博之, 矢野樹理
松浦俊平

〔目的〕ヒト精子におけるプロゲステロン(P) 結合部位は精子頭部表面に局在し, Ca^{2+} influx や先体反応と関連していることが知られている. 本研究は flow cytometry 及び蛍光ラベルされたPを用いて運動精子におけるP結合部位を有する精子の割合(%PB)を測定し, IVFにおける受精成績並びに先体反応率(%AR)との関連性について検討することを目的とした. 〔方法〕IVF-ETを施行した症例($n=39$)より得られた精液を対象とした. 一般精液検査後, percoll法にて運動精子を回収し, FITC-labeled progesterone-BSA (P-BSA-FITC)を $20 \mu\text{g/ml}$ 含む mBWW培養液中にて 37°C , 20分間培養した後, 2回洗浄し, %PBを flow cytometry (EPICS-PROFILE) を用いて測定した. また%ARはmBWW培養液中で24時間培養した後, 蛍光レクチン(PSA-FITC)法を用いて算定した. 体外受精法(IVF)は採卵後, 卵子を6時間前培養後, swim-up法にて回収した運動精子を1万/卵子の濃度で媒精し, 17-20時間後に受精の有無を倒立型位相差顕微鏡を用いて確認した. 〔成績〕IVFの受精率と一般精液検査による精子数, 精子運動率, 運動精子数との間には有意な相関は無かった($r=0.03$, $r=0.19$, $r=0.11$)が, %PBとの間には有意の正の相関が得られた($r=0.443$, $p<0.01$). また%ARと%PBの間にも有意な正の相関が得られた($r=0.62$, $p<0.01$). 〔結論〕ヒト精子におけるプロゲステロン結合部位の発現と先体反応は関連していることが示唆された. またIVFにおける精子受精能力の予知に際して従来のWHO判定基準に基づく一般精液検査では不十分であり, %PBの評価が受精能判定の信頼性を高めると考えられた.