

365 精子細胞内カルシウム濃度の変化とIVF-ETにおける受精率との関係について

東京医歯大

清水康史、久保田俊郎、鎌田周作、坂本秀一、
己斐秀樹、依光毅、麻生武志

【目的】精子細胞内へのカルシウムの流入が先体反応を誘起する事が知られている。私達はprogesterone (P)、 prostaglandin E₁ (PGE₁)、 prostaglandin E₂ (PGE₂) が精子細胞内へのカルシウムの流入を起こし、Pによる精子細胞内カルシウム濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の上昇と Sperm Penetration Assay による精子受精能との間に相関があることを報告した。今回、IVF-ETを施行した患者の精子細胞内カルシウム濃度を測定し、受精率との関係を検討した。【方法】当院でIVF-ETを施行した患者の媒精時の精子を10%妻血清を含んだMEMで37℃で18時間培養後、P 1 μ g/mlあるいはPGE₁ 60 μ g/ml添加後の $[Ca^{2+}]_i$ の変化を測定した。 $[Ca^{2+}]_i$ の測定にはFura-2AM法を用い、 7.5×10^6 /mlの運動精子を2 μ MのFura-2AMと45分間37℃で培養し各薬剤添加後の $[Ca^{2+}]_i$ を分光蛍光光度計で測定した。

【成績】1) IVF-ETでの受精率を70%以上と70%未満に分類したところ、P添加後の $[Ca^{2+}]_i$ の% increaseは前者では 419 ± 225 (n=12)、後者では 30 ± 19 (n=3)であり、PGE₁添加後ではそれぞれ 207 ± 64 (n=9)、 8 (n=1)であった。2) WHOの基準で正常精液所見群と異常精液所見群に分類したところ、P添加後の $[Ca^{2+}]_i$ の% increaseは前者では 446 ± 271 (n=10)、後者では 132 ± 69 (n=3)であり、PGE₁添加後ではそれぞれ 233 ± 80 (n=7)、 81 ± 51 (n=3)であった。3) 精液所見正常にもかかわらず受精率が20%と低かった患者のP、PGE₁添加後の $[Ca^{2+}]_i$ の% increaseはそれぞれ21%、8%と低値であった。【結論】PやPGE₁に対する $[Ca^{2+}]_i$ の反応性は精子受精能を反映していると考えられる。

366 Platelet activating factorによるヒト精子先体反応誘起機序における情報伝達機構に関する検討

旭川医大

千石一雄、吉田俊明、田熊直之、高岡康男、玉手健一、石川睦男

「目的」Platelet activating factor (PAF)が精子先体反応に促進的に作用することを報告してきたが、その機序に関しては十分に解明されていない。今回、PAFによる先体反応誘起機構における情報伝達機構を明らかにする目的で各種プロテインキナーゼ阻害剤を用い検討した。「方法」1. Swim up法にて得られた精子を5時間前培養後PKC阻害剤CalphostinC (50nM, 100nM), PKA阻害剤KT5720 (50nM, 100nM), PKG阻害剤KT5823 (234nM, 468nM)で15分間前処理した後PAF10-7Mを添加し1時間後の先体反応出現率をFITC-PSA法により検討した。2. Tyrosine Kinase 阻害剤 Genistein (20 μ g/ml)を用い同様に前処理した後PAFを添加し先体反応出現率を検討した。「成績」1. CalphostinC 50nM, 100nM, 添加群の先体反応出現率は各々 $18.6 \pm 4.3\%$ 、 $13.3 \pm 1.3\%$ で、PAFによる先体反応誘起 ($34.5 \pm 4.3\%$) を用量依存性に抑制し、100nM 添加群では対照群と差は認められなかった。2. KT5720 (50nM) およびKT5823 (234nM) 添加時の先体反応出現率は各々 $23.3 \pm 5.1\%$ 、 $22.4 \pm 8.6\%$ とPAF単独添加群に比し有意に先体反応出現率を抑制したが、高濃度の阻害剤の添加によっても完全な抑制には至らなかった。3. Genistein添加群ではPAFによる先体反応誘起の抑制は認められなかった。「結論」PAFによる先体反応誘起機構はProtein KinaseCを介する機構が主要経路であるが、Protein Kinase A, Gともクロストークを示すことが示唆された。