

329 Vero細胞とマウス初期胚共培養系におけるEGFレセプター刺激因子の解析

旭川医大

堀川道晴、碁石勝利、千石一雄、石川睦男

〔目的〕初期胚の体外培養において我々はマウス2細胞期胚と、Vero細胞株との共培養によるhatching率の改善について以前報告した。今回、初期胚の発育に対するEGFレセプター刺激因子として、ヘパリン結合性EGF様増殖因子(HB-EGF)の重要性について解析を行ったので報告する。

〔方法〕ICRマウス卵管内より回収した2細胞期胚と、Vero細胞株との共培養で、EGFレセプターのリン酸化を抑制するAG1478を添加し、hatching率の変化について検討した。Vero細胞株によって産生されるEGFレセプター刺激因子の解析を、HB-EGF特異的の中和抗体197とEGFレセプター依存性に増殖する細胞株EP170.7を用いて検討した。また、In vivoにおける初期胚の培養環境として、ヒト卵管上皮、子宮内膜におけるHB-EGF mRNAの発現をRT-PCR法を用いて検討した。

〔成績〕1) マウス2細胞期胚と、Vero細胞株との共培養にAG1478を添加した場合、hatching率は非添加群の58.0%に対して添加群は14.3%と有意に抑制された。2) Vero細胞株のconditioned mediumにHB-EGF特異的の中和抗体197を添加した場合、EP170.7に対する増殖能はEGFファミリーの存在しないコントロールレベルまで抑制された。3) RT-PCR法によりヒト卵管上皮、子宮内膜でのHB-EGF mRNAの発現が確認された。

〔結論〕今回の検討よりVero細胞株とマウス初期胚共培養系においてHB-EGFはEGFレセプター刺激因子としての中心的役割をなし、またHB-EGFは生体内での初期胚の発育に重要であることが明かになった。

330 マウス胚発育に対するメラトニン添加の効果

聖マリアンナ医大

村井邦彦、栗林 靖、石田徳人、菅原一朗、平井邦彦、石塚文平、雨宮 章

〔目的〕近年、メラトニン(MEL)が生殖生理に深く関与し、さらに活性酸素の消去作用を有するという報告が多数見受けられる。今回我々は、マウス体外受精後の受精卵胚発育への MEL 添加の影響と MEL の過酸化水素の消去作用について検討した。〔方法〕ICR 系マウス(8週齢)を過排卵処理し hCG 投与 16 時間後に卵管膨大部より卵を回収、同系マウス精巣上体精子を 100,000 精子/ml の最終濃度で媒精した。媒精後 4 時間の培養液(BMOC-3)中に 100 μ M, 1 μ M, 0.01 μ M の MEL を添加し胚発育能への効果を調べた。胚発育の観察は、媒精後 120 時間まで 24 時間ごとに行った。MEL の過酸化水素消去作用の検討は、培養液に上記濃度の MEL を添加し horseradish peroxidase を用いた化学発光法にて行った。〔成績〕媒精後 4 時間の培養液中への 100 μ M, 1 μ M の MEL 添加は、MEL 非添加群に比し 2cell stage より有意(27.6% vs 40.4%, 43.9%, $p<0.05$)に促進し、胚盤胞への胚発育は、MEL 添加群 1 μ M においてのみ MEL 非添加群に比し有意に(8.9% vs 24.4%, 17.5%, $p<0.05$)促進された。さらに、MEL 0.01 μ M 添加群では、胚発育は 2cell stage においては MEL 非添加群と有意な差は認めなかったが、4cell stage より有意差を認め(15.9% vs 26.8%, $p<0.05$)、胚盤胞まで促進した(8.9% vs 17.5%, $p<0.05$)。一方、MEL の過酸化水素消去作用については、上記の各 MEL 濃度において MEL 非添加と有意な差は認められなかった。

〔結論〕マウス体外受精において、培養液中への MEL 添加は胚発育を促進することが示された。しかし、この効果に MEL の過酸化水素消去作用は関与していないことが示唆された。