

P-273 精子抗原rSMP-Bの精子不動化抗体
対応抗原としての可能性の検討

高松市民*, 小松島日赤**, 中山産婦人科***、
徳大 滝川稚也*, 国見幸太郎、吉川修司、
山本哲史**, 森英俊*, 前川正彦、鎌田正晴、
青野敏博、中山孝善***

【目的】 Koideらが同定した精子抗原(rSMP-B)に対する抗体はヒト精子のハムスター・テストを阻害し、受動免疫によりマウスを不妊とする。さらに我々は、同抗原の親水性部分を合成したペプチド(rSMP230)が能動免疫によりラットに不妊を引き起こすことを明らかにした。本研究では、rSMP-B抗原が不妊患者血中に見出される精子不動化抗体の対応抗原である可能性を検討した。【方法】 1) 合成ペプチドを固相として、抗精子抗体陽性血清の精子抗原ペプチドに対する抗体活性をELISA法にて測定した。2) BSAをキャリアー蛋白として合成ペプチドに対する家兎抗体を作製した。3) 精子不動化試験およびヒト卵透明帯を用いた透明帯貫通試験により同抗体のヒト精子への作用を検討した。ヒト卵透明帯は体外受精による未受精卵を患者の同意を得た上で高濃度塩溶液に保存したものをを用いた。【結果】 1) 精子不動化抗体陽性血清の抗rSMP230抗体活性(0.7 ± 0.4 , $n=79$)は陰性血清(0.4 ± 0.2 , $n=72$)に比し有意($p<0.01$)に高値を示した。またその抗体価は、rSMP-B由来の別の合成ペプチドrSMP229に対する抗体活性と有意の相関を示した($r=0.7$, $p<0.001$)。2) 抗rSMP230および229抗体は補体存在下でヒト精子を完全に不動化した。3) 透明帯貫通試験において、対照とした正常家兎血清および抗BSA抗体で精子を処理した場合は多数の貫通精子が認められたのに対し、抗rSMP230および229抗体処理により完全に抑制された($p<0.05$)。さらにrSMP230($100 \mu\text{M}$)による吸収試験により、抗rSMP230抗体の貫通抑制作用の回復が認められた。【結論】 合成ペプチドrSMP230および229の親抗原で±rSMP-Bは精子不動化抗体の対応抗原である可能性が示唆された。

P-274 ヒト卵透明帯糖蛋白ZP2のペプチド
骨格と先体反応精子との結合に関する研究

自衛隊阪神病院、兵庫医大*、兵庫医大篠山病院**、
南大阪病院***
鏑本浩志、長谷川昭子*、香山浩二*、内藤子来**、
山崎則行***

【目的】 哺乳動物における卵透明帯は種属間でよく保存されたZP1,ZP2,ZP3の3種の糖蛋白より構成される。ZP3は、精子に種特異的に結合し先体反応を誘起し、ZP2は先体反応精子の透明帯への結合に関与するとされている。これらの反応には、主に糖鎖が関与すると報告されてきたが、今回、我々はヒトZP2の合成蛋白を大腸菌で作成し、そのペプチド骨格の先体反応精子への結合の有無を検討した。【方法】 ヒトZP2のN末206アミノ酸に対応するcDNAを発現ベクターpET21bに挿入し、これを大腸菌に遺伝子導入して合成蛋白(rhZP2)の作成を試みた。A23187により先体反応を誘起した精子とrhZP2を2時間培養後、先体反応精子に結合したrhZP2の局在を、ヒトZP2を認識するモノクローナル抗体(Mab5H4)及びローダミン標識抗マウスIgG抗体にて検出した。先体反応の有無はFITC標識PSAにて検出した。【成績】 rhZP2は100mlのLB培養液から約8mg精製され、Western blot法により推定される28Kの分子量にMab5H4との反応が確認された。rhZP2はA23187未処理の精子には結合せず、A23187処理後、先体反応を起した精子にのみ結合した。rhZP2の局在は先体から中片部にかけて認められた。【結論】 1) ヒトZP2合成蛋白の作成に初めて成功した。2) ヒトZP2はペプチド部分において精子と結合することを示した。3) ヒトZP2の精子側リガンドは、先体反応後に中片部に局在することを示した。現在、対応する精子側蛋白の解析を進めている。