

1983年8月

第9群 不妊と避妊

1537

増大しているものの、排卵前卵胞に特徴的な周囲血管の鬱血拡張、毛細血管透過性亢進を示唆する所見はなく、また、卵胞頂部血流にも鬱滞が起つてないと推測される。このことは排卵前卵胞周囲で起る dynamic な血管系の変化が、卵胞局所での Prostaglandin の向血管作用により引き起こされている現象である事を示唆している。

質問

(東邦大) 百瀬 和夫

インドメサシンで排卵がおさえられる現象が、ひとでも起こりうるとしたら、体外受精法で採卵する時間を一定にすることはできないか。

回答

(京都大) 神崎 秀陽

ヒトにおいても Indomethacin が排卵を抑制し、黄体化無排卵卵胞が形成される事が、BBT, B-scope, ホルモン assay により証明されている。卵胞及び卵の発育に影響を与えず、卵胞の破裂を抑制する Indomethacin により、排卵時期をある程度 control する事は可能であろう。

## 52. 受精の初期過程に関する研究一精子の透明帯結合と先体反応の関係について

(東海大)

淡路 英雄, 金子みつ恵, 内村 道隆

篠原 正樹, 井上 正人, 藤井 明和

目的：受精の初期過程のうち、精子-透明帯の相互関係、精子の透明帯侵入機構についてはまだよく分っていない。我々は体外受精マウス卵子を走査電子顕微鏡(SEM)を用いて経時的に観察し、受精に伴なう透明帯の変化、精子の透明帯侵入様式について報告してきた。今回は授精後15分以内の卵子を SEM で観察し、精子の透明帯結合後どの時点で先体反応が誘起されるか検討した。

方法：DDY 系成熟マウスを用いて型のごとく体外受精を行ない (Inoue and Wolf, 1974), 授精後 5~15 分で卵子を取り出し、0.1%hyaluronidase で顆粒膜細胞を除去してから、2%glutaraldehyde-0.025M phosphate buffer で20~40時間固定した。0.2%poly-L-lysine で処理したカバーグラスに卵子を接着させてから、上昇アセトン系列で脱水した。臨界点乾燥後、全蒸着を行ない、JTM-35型 SEM にて観察した。

結果：顆粒膜細胞層を通過した精子は頭部大弯側を下向きにして、その先端部で透明帯に結合する。この時点では先体はまだ intact である。結合した精子は間もなく先体反応を誘起し、原形質膜と外先体膜の胞状化 vesiculation が起こり、精子頭部の先端が透明帶に

侵入する前に、先体はバラバラになつて離脱する。透明帯侵入中の精子はすべて先体反応を完了しており、凝集した先体が一部精子頭部や侵入口付近に付着している像がしばしば認められた。

マウスでは先体反応は精子が透明帯に結合してから侵入を開始するまでの間に起こるものと思われる。また透明帯の表層があたかも微絨毛のように侵入中の精子頭部に付着している像が認められ、精子侵入 penetration に透明帯が active に関与している可能性が示唆された。

質問

(東京大) 佐藤 孝道

精子の透明帯結合の極く初期の過程は、精子頭部も色々方向を変えているので、SEM で接触の方向を断定は出来ないのではないか。

回答

(東海大) 淡路 英雄

SEM はあくまでも dynamic な sperm-egg interaction の 1 断面を見ているに過ぎません。しかし数百個の体外受精卵の観察では精子は大弯側を下向きにして、頭部先端で透明帯に結合するようです。

質問

(東邦大) 久保 春海

acrosome reaction が sperm-egg contact のどの過程で開始するかは未だ不明の点が多いのですが、今回の御発表では vesiculation が Zona に attach してから起きると発表しておられるようですが、granulosa cell 層ではこのような vesiculation は殆ど見られなかつたのかどうか。

回答

(東海大) 淡路 英雄

マウスでは Story et al. の主張するように先体反応は透明帯に binding してから誘起されるものと思われます。

質問

(東邦大) 永江 豪

淡路、対木先生へ

① Zona への binding には receptor の存在が疑えるのか。

② Zona の何が acrosome reaction を引き起こすと考えているのか。

淡路先生へ

③ acrosome reaction の完了後の penetration であれば物理的侵入方法だけであると考えるのか。

質問

(東海大) 淡路 英雄

① 透明帯の表面には種特異性の精子結合部位があると考えられています。しかしそれが何であるか、どの部分にあるかはまだ分つておりません。

② 何が透明帯に結合した精子の先体反応を誘起す

るかについては全く分つていません。SEMによる観察ではこの点については何も分りません。

③ 精子は頭部先端の plasma membrane で透明帯を認識し、先体反応を完了した精子が、内先体膜上の acrosin で透明帯をとかしながら侵入していくのではないかと考えております。

### 53. ヒト体外受精卵の走査型電子顕微鏡による観察 —精子の透明帯通過—

(東北大)

対木 章, 斎藤 晃, 桃野耕太郎  
京野 広一, 森 良一郎, 上原 茂樹  
永沼 孝子, 星合 畏, 矢嶋 聰  
鈴木 雅洲

目的：臨床における体外受精・胚移植の成功率を高めるためには安定した体外における受精率を得ることが必要となる。卵実質をとりまく透明帯は糖蛋白質から成る単純な構造でありながら、多精子受精の拒否作用、異種間受精の拒否作用、卵の保護作用を有し、受精が成立するためには透明帯通過が可能な精子の存在が必須条件である。受精成立の条件を検討するため、精子の透明帯通過に焦点を合わせ、ヒト卵の体外受精を試み、精子の透明帯侵入について経時的に走査型電子顕微鏡による観察を行なつた。

方法：手術標本より得られたヒト未成熟卵を TC-199 medium 中で48時間成熟培養を行ない、精液静置法により受精能力を有する良好精子を分離して、最終精子濃度 $10^5 \sim 10^6/ml$ で Ham-F-10 medium 中で insemination を行ない、5%CO<sub>2</sub> in air の incubator に移し、経時的に倒立顕微鏡での観察を行ない、媒精後3~16時間の間に精子の付着の見られる卵を取り出し、日立 S-450型走査型電子顕微鏡で観察を行なつた。

成績：① 透明帯を包む顆粒膜細胞の糸状偽足または細胞質突起で精子頭部を捕捉している可能性が示唆された。

② ヒト卵透明帯は均一な球形をなし、線維性の物質が複雑にからみあい、多孔質のスポンジ状構造を有し、退行卵の透明帯表面はクレーター状の陥凹が全体に見られた。

③ 透明帯に付着していた精子の一部は先体部の膜の小胞化 (vesiculation) を起こしており (先体反応初期)。先体反応の進行に伴ない、Acrosome cap がそれ頭部先端より透明帯のスポンジ状の穴の部分から侵入を開始していた。

④ 先体内酵素の働きと相まって、精子侵入口はあま

り拡大されずに侵入が完了する可能性が示唆された。

### 54. 精子運動能と頸管粘液内貫通性に及ぼす pH および Ca の影響

(山形大)

平山 寿雄, 小田 隆晴, 井上 公俊  
広井 正彦

頸管レベルにおける精子運動能の変化による妊娠性及び性決定機構を解明するため、頸管粘液の pH 及び Ca 濃度が精子運動能、頸管粘液貫通性及び Y 精子比率にいかなる影響を与えるかを in vitro, in vivo で検討した。

in vitro では頸管粘液の pH 7.6~7.8, Ca 濃度 3~5 mg/dl で精子運動能は最も良好となり、pH 6.5以下、Ca 濃度 2 mg/dl 以下では有意に精子の運動能は低下し non-progressive となつた。精子頸管粘液内貫通性については Ca 濃度 3 mg/dl 以上で良好な貫通性を示し、この際抽出した精子の Y 精子比率を調べると、Ca 濃度が高くなる程 Y 精子比率の増加が認められ 4 mg/dl で  $58.5 \pm 2.4\%$  を示したが、pH の差による Y 精子比率の変化は認められなかつた。

in vivo においては頸管粘液の pH, Ca 濃度はともに排卵日が近づくにつれ徐々に上昇し排卵日に pH は  $7.54 \pm 1.0$ , Ca 濃度は  $4.1 \pm 0.8 \text{mg/dl}$  と排卵前期と比べ有意に上昇し ( $p < 0.01$ ) 以後減少を示した。PCT (postcoital test) における Exo-cervix, Endo-cervix, Carvum uteri の各部位の Y 精子比率は頸管から子宮腔へと進む程 Y 精子の増加する傾向が認められた。また頸管粘液内の Ca 濃度  $3.5 \text{mg/dl}$  以上では、それ以下と比べ Y 精子比率は、Exo-cervix で  $62.5 \pm 2.5$  ( $p < 0.02$ ), Endo-cervix で  $63.6 \pm 1.7$  ( $p < 0.05$ ), Cavum uteri で  $67.7 \pm 1.9$  ( $p < 0.02$ ) と有意に増加していたが pH と Y 精子比率変化の関連性は認められなかつた。

以上より頸管粘液内の Ca 濃度の上昇に伴い精子運動能は良好となり、また Y 精子比率は増加する傾向がみられ、頸管粘液内の Ca 環境が頸管レベルにおける妊娠性及び性決定に何らかの影響を及ぼしている可能性が示唆された。

### 55. 針状腹腔鏡によるヒト成熟卵子の採取

(東海大)

村上 優, 内村 道隆, 篠原 正樹  
本田 育子, 井上 正人, 藤井 明和

目的：体外受精の臨床応用にあたつては、腹腔鏡下に成熟卵子を採取することが第一の要件である。我々はより侵襲の少ない、しかも確実な卵子の採取法を確