

9 epidermal growth factor (EGF) の卵成熟促進作用

東京大学, 埼玉医科大学総合医療センター*
矢野 哲, 武谷雄二, 堤 治, 綾部琢哉,
佐藤和雄*, 水野正彦

【目的】ラット卵巣にEGFのレセプターの存在が知られ, さらにEGFは顆粒膜細胞に作用し gonadotropin による steroidgenesis を修飾することが報告されている。今回我々は, EGFの卵胞細胞における progesterone (P_4), prostaglandins (PGs) 産生能と, 卵成熟に対する効果を検討した。【方法】PMSで前処理したWistar 幼若雌ラットから成熟卵胞を採取し, 15% FCS加mBWW中にマウスEGFまたはhCGを添加して12時間器官培養した。また卵胞から取出したcumulus-oocyte complex (COC) と denuded-oocyte (DO) は, spontaneous maturation を抑制するために10 mM (Bu)₂cAMPと0.2 mM 3-isobutyl-1-methyl xanthineをmBWWに加え, 前者は3時間, 後者は10分間培養した。培養終了後, 卵はgerminal vesicle breakdown (GVB) の率を観察し凍結乾燥試料とし, 解糖系の律速酵素であるphosphofructokinase (PFK) の活性をNADサイクリング法により測定した。また卵胞培養前後のmedium中の P_4 , $PG E_2$, $PG F$ をRIAにより測定した。【成績】卵胞培養卵の場合, GVB率とPFK活性は無添加群に比べ, EGF群では濃度25~100 ng/ml の範囲で用量反的に増加し100 ng/mlでhCG群(10 iu/ml)と同レベルに達した。COC, DO培養の場合, GVBは抑制されたままであるが, EGF 100 ng/ml 添加によりPFK活性は有意に上昇した。また卵胞細胞においてEGFにより P_4 およびPGsの産生が促進された。【結論】EGFはhCGと同様に卵胞細胞に作用して P_4 およびPGsの産生を促進するとともに, 卵胞卵を成熟させる。またEGFはDO培養系においてもPFK活性を上昇させ, 卵への直接作用もあることが示唆された。

10 抗ブタ卵透明帯モノクローナル抗体 (3A4) の対応抗原の分析

兵庫医大
長谷川昭子, 繁田 実, 香山浩二, 磯島晋三

【目的】哺乳動物卵透明帯(ZP)は, 3つの主要蛋白質より構成され, マウスではその各々が受精において, 精子レセプター, 多精子受精拒否など特定の役割を果たしていることが知られている。ブタZPは, 二次元電気泳動により3つの主要糖蛋白質に分離され, それぞれファミリーを形成するが, 機能との関係は明らかでない。今回我々は, ヒトとブタZPと反応し, ブタのin vitro受精を阻害するモノクローナル抗体3A4を用い, その対応抗原エピトープがZP構成蛋白としてはminorな別のペプチドに存在することを明らかにしたので報告する。

【方法】熱可溶化ブタZPを酵素あるいは化学処理して, その残存活性をELISA法により測定した。分子量・等電点の決定には, SDS-PAGE法及び二次元電気泳動法を用いた。

【成績】各処理後の対応抗原残存活性は, 蛋白分解酵素で著しく低下し, 糖鎖分解酵素では, ほとんど低下しなかった。また過ヨウ素酸, トリフルオロメタンスルホン酸など強い糖鎖変性剤で処理しても抗原活性は残存することから, 対応抗原はペプチド部分に依存する割合が大きいと思われた。また電気泳動の結果, 対応抗原は非還元条件下では, PI 3~10に連続して分子量92kdに検出された。一方還元条件下では, PI 3~10の範囲に, 分子量は20~30kdに, 10個のスポットが検出された。

【結論】ブタZPは, ZP 1, ZP 2, ZP 3のファミリー糖蛋白質が主要構成成分であるが, 低分子量の糖蛋白については殆ど報告がない。今回初めて, モノクローナル抗体3A4を用いて低分子糖蛋白の存在を明らかにするとともに, それが等電点を異にする糖蛋白ファミリーより成り, S-S結合により92kd分子として存在することを明らかにした。