

**227** モノクローナル抗体によるブタ・ヒト透明帯共通抗原糖蛋白質 23Kd 成分の抗原分析

兵庫医大

長谷川昭子, 田路秀明, 福田 洋, 巽 利昭,  
香山浩二, 磯島晋三

[目的] 我々はブタ透明帯 (ZP) とヒト ZP との共通抗原性を利用した避妊ワクチン開発に関する研究の一環として, ブタ ZP よりヒト ZP との共通成分の一つである平均分子量 23Kd の糖蛋白質を分離し, その N 末端側アミノ酸配列を決定した。今回 23Kd 分子に対するモノクローナル抗体 (Mab) を作製し抗原エピトープの解析と, 各 Mab のヒト ZP に対する精子結合阻止作用について検討した。[方法] ブタ ZP の 23Kd 抗原の精製は可溶化ブタ ZP を SDS-PAGE で分画し, ゲルから蛋白質を抽出して行なった。これを BALB/c マウスに免疫し, 定法に従って Mab 産生ハイブリドーマを確立した。Mab の反応性は ELISA 法, 蛍光抗体法, Western blot 法により調べた。糖蛋白質からの脱糖鎖処理は, トリフルオロメタンスルホン酸により行なった。ヒト精子の ZP への結合に及ぼす Mab の影響では手術標本卵巣より得た未成熟卵胞卵を *in vitro* で成熟させ 1 時間抗体処理した後, 精子浮遊液に加え, 5 時間後結合精子数をカウントした。[成績] 作製した 5 種の Mab はいずれも intact なブタ・ヒト ZP と反応し, 糖鎖除去した可溶化ブタ ZP とも強く反応した。また各 Mab は 23Kd 分子のほか, 他のブタ ZP 構成成分とも反応し, 各成分間に共通抗原が存在することがわかった。ヒト精子の ZP への結合阻害実験では 3 種の Mab において阻害が認められた。[結論] 可溶化ブタ ZP より分離精製した 23Kd 糖蛋白質は, 他のブタ ZP 構成成分ともペプチド鎖部分において共通抗原エピトープを有し, その抗原エピトープは intact なブタ及びヒト ZP 上にも発現されており, 対応抗体によって ZP への結合が阻止されることが明らかとなった。

**228** 精子不動化抗体による受精阻害作用およびその機構に関する研究

徳島大, 香川県立津田病院\*

板東律雄, 大頭敏文, 村山眞治, 西田荘哉,  
森 一正, 加川俊明, 山野修司, 青野敏博,  
鎌田正晴\*

[目的] 我々は, 精子不動化抗体 (SIAb) に受精阻害作用のあることを報告してきたが, 受精の過程における SIAb の作用は解明されていない。今回, triple stain 法を用いて, SIAb が acrosome reaction に及ぼす影響を検討し, ヒト卵透明帯貫通試験 (ZPT) の結果と合せて興味ある知見を得たので報告する。[方法] 7.5% 正常婦人血清 (control 血清) あるいは 7.5% SIAb 陽性血清 (SIAb 血清, SI<sub>50</sub>: 32-124) を含む培養液で swim up した精子をそれぞれ 2 分し, control 血清あるいは SIAb 血清を含む培養液内で培養を行い, 経時的に精子運動率測定および acrosome reaction の観察を行った。また, control 血清および SIAb 血清より抽出した IgG 分画を加えた 0.5% HSA 添加培養液を用いて同様の実験を行った。さらに, これらの培養系を用いて ZPT を施行した。[成績] 精子運動率および死滅精子数では control 群と SIAb 群に差は認められなかった。live acrosome reacted sperm の割合は, control 群では培養時間とともに増加した (2.67%→5.84%,  $p < 0.05$ ) のに対し, SIAb 群では増加がみられなかった (2.80%→2.85%)。また, 培養時間中に SIAb 血清を含む培養液から control 血清を含む培養液に移した精子群では, acrosome reaction の経時的増加が認められた ( $p < 0.05$ )。SIAb 血清の IgG 分画を加えた培養液中では acrosome reaction の経時的増加は見られなかった (3.75%→4.0%)。Acrosome reaction の経時的増加が見られなかった SIAb 群の ZPT では透明帯貫通精子を認めなかった。[結論] SIAb は acrosome reaction の誘起を抑制することにより受精を阻害する可能性が示唆された。また, この抑制作用は可逆的なものであることが判明した。