

123 凍結乾燥精子核の受精能に関する研究

福島県立医大

柳田 薫, 片寄治男, 矢沢浩之, 星 和彦,
佐藤 章

【目的】精子を凍結乾燥保存できればその保管・運搬などが簡便となる。そこで凍結乾燥処理した精子核の受精能の有無を検討した。【方法】1) 精子核の雄性前核形成能の検討。ヒト射出精子とハムスター精巣上体尾部精子から分離した精子核を蒸留水に浮遊させフリーズドライヤーで凍結乾燥し、a)室温で大気中で、b)室温で低酸素下で、およびc)冷蔵庫(4℃)で低酸素下で保存した。保存した精子核を定期的にゴールドンハムスター未受精卵に細胞質内顕微注入を行い、注入卵を5時間培養後に染色して雄性前核の状態を観察した。2) 精子核注入卵の初期発生の検討。ウサギ未受精卵に凍結乾燥処理をしたウサギ精巣上体尾部精子核を顕微授精し、72時間培養して初期発生を観察した。【成績】ハムスター精子核の凍結乾燥処理直後の前核形成率は94%でコントロール(90%)と差がなかった。1) a法では保管中前核形成率は12週まで90%以上だったが、27週で0%となった。b法でも保存期間が27週になると8%と低下した。c法で54週の保存期間中、前核形成率は極めて安定(97%以上)だった。ヒト精子にb法c法を行ったが、27週間保存した間ではハムスターと同じ結果となった。2) 2週間保存したウサギの凍結乾燥精巣上体尾部精子核を顕微授精して24%が初期分割卵に発育した。これは新鮮精子核を注入した場合の25%と差がなかった(N. S.)。【結論】哺乳動物の凍結乾燥精子核は4℃低酸素下の条件であれば、長期間保存しても前核形成能のみならず初期発生能も維持されることが確認された。これらの事実は精子凍結乾燥保存の臨床応用の可能性を示唆するものである。

124 ラット脳下垂体ゴナドトロピン産生細胞における細胞内カルシウムイオンの動態の研究

国立栃木病院、日本鋼管病院*

飯田俊彦、和泉俊一郎*

【目的】本研究では、ラット脳下垂体ゴナドトロピン産生細胞のLH放出時における細胞内カルシウムイオンの動態を単一細胞レベルで究明することを目的とした。【方法】ラット脳下垂体前葉を摘出後トリプシン処理により細胞を遊離し48時間前培養したものを実験材料とした。細胞に予めカルシウム蛍光色素Indo-1/AM 2μMを60分間負荷し、顕微測光装置上でのGnRH刺激により発せられた単一細胞よりの蛍光を測定しカルシウムイオン濃度に換算した。【成績】刺激前の状態で時折認められる100nM前後のspontaneous oscillationはEGTAの添加により完全に抑制されるものの、GnRH刺激により誘発された1μM前後のoscillationは細胞外カルシウムの影響を全く受けなかった。さらにGnRHによるカルシウム反応終末期に認められる周期の短いoscillationは細胞外カルシウムの除去により抑制された。GnRHの容量反応においては1pMの低濃度で周期の長いoscillationを認めるものの、やがてGnRHの濃度の上昇と共にその周期は短くなっていき最終的に100 nMの高濃度において単純な二相性の曲線へと変化した。しかしいずれの濃度の最高カルシウム上昇値も常に一定であり、それらの曲線の積分値もほぼ一定であった。【結論】ゴナドトロピン産生細胞のGnRHによる細胞内カルシウムイオンの上昇において刺激前、GnRH刺激による興奮時、反応終了末期のoscillationはそれぞれが異なる機転により誘発されることが考えられた。さらに単一細胞におけるアゴニストに対する反応性の違いはカルシウムイオンのoscillation周期により修飾を受けている可能性が示唆された。