

P-155 成熟精子回収法としての不連続多層  
Nycodenz 法の有用性

福島県立医大

中木純子, 片寄治男, 阿部利明, 菅野良恵,  
星 和彦, 佐藤 章

【目的】不連続多層 Nycodenz 法(以下N法と略す)を用いて回収した精子について, その核の成熟性を, Acridine-Orange 染色法(以下AOと略す)で解析した。AOは発色する蛍光の違いから, DNAを調べる方法であるが, 精子核ではクロマチンの性状により染色性が左右される。すなわち, 酸処理を行うと, 成熟精子核はDNAのdenaturationを受けにくいためGreenに, 未熟精子核はdenaturationを受けRedに発色する。【方法】15例の精液を対象とした。33%と66%の不連続多層N法により, 回収した精子を, カルノイ液(methanol:acetic acid, 3:1)を用いて, 酸処理した後, AOを施した。AOはpH2.5に調製したphosphate citrate bufferにて, 0.02%の最終濃度で用いた。【成績】不連続多層N法による, 精子回収成績は, 以下の通りである。N33%層の精子率,  $11.2 \pm 5.1\%$  (mean  $\pm$  SD), 回収精子運動率,  $31.2 \pm 13.4\%$ , N66%層,  $51.6 \pm 14.2\%$ ,  $63.0 \pm 12.9\%$ 。AOによりGreen patternを呈した精子核の割合は, 以下の通りである。精液  $61.2 \pm 15.9\%$ , N33%層,  $57.5 \pm 23.5\%$ , N66%層,  $81.8 \pm 20.1\%$ 。【結論】不連続多層N法を行うことにより, 運動性良好の精子を効率よく回収することができた。さらに, N66%層の精子は, AOのGreen patternを呈する割合も高くなっていた。不連続多層N法は, 運動性良好な精子ばかりではなく, 成熟した精子核を有する精子を回収するのにも, 優れた方法であることが確認された。

P-156 Hemi zona assay (HZA) と recombinant  
IgG及びFab抗体を用いて分析した患者血中精子不  
動化抗体の受精阻害作用について

宝塚市立病院, 兵庫・明和病院\*, 兵庫医大\*\*

柴原浩章, 繁田 実\*, 加藤浩志\*\*, 香山浩二\*\*,  
磯島晋三\*\*

【目的】我々はHemi zona assay (HZA)を用い, 大部分の精子不動化(SI)抗体保有不妊患者血中には精子-透明帯結合阻害因子(以下受精阻害因子と呼ぶ)が存在し, SI抗体非保有婦人血中ではこれが検出されなかったことを第43回本学会で報告した。今回は, この受精阻害因子がSI抗体自身によるものか否かを検討するために以下の実験を行った。【方法】(1)SI抗体及び受精阻害因子を含む患者(E. I.)リンパ球由来の精子不動化ヒト型モノクローナルIgM抗体(H6-3C4)と, このIgMを遺伝子組換え操作によってclass switchしたIgG<sub>1</sub>抗体(En46)及びそのFab(LAH14)を用いて, HZAにより各抗体の受精阻害作用を検討した。(2)SI作用を示す8種のマウス抗ヒト精子モノクローナル抗体(2C6, 1G12, 2E5, 2B6, 1A11, 2H12, YTH1, YTH3)についても, その受精阻害活性をHZAにて検討した。【成績】(1)患者(E. I.)血清中のSI抗体及び受精阻害因子は洗浄精子で完全に吸収除去された。(2)ヒト型モノクローナル抗体はIgM, IgG<sub>1</sub>, Fab分画のいずれも受精阻害作用を示さなかった。(3)8種のマウスモノクローナル抗体のうち2種の抗体(2C6, 1G12)が受精阻害作用を示した。【結論】SI抗体保有不妊患者血中に検出される受精阻害因子は必ずしもSI抗体自身によるものではない。SI抗体と受精阻害抗体の2種の抗体が含まれている可能性がある。またマウスモノクローナル抗体による実験結果は, SI抗体の中には同時に受精阻害作用を示す抗体の存在することも示している。