

353 Sperm Penetration Assay (SPA)における平均侵入精子数、卵への平均付着精子数についての検討

東京医歯大

清水康史、久保田俊郎、鎌田周作、坂本秀一、
己斐秀樹、尾林聡、依光毅、小林大仁、麻生武志

【目的】受精の過程において、精子は卵に接着した後侵入していくが、卵に付着した精子数についての意義は確立されていない。本研究では、SPA施行時に卵1個あたりの平均侵入精子数および卵1個あたりの平均付着精子数を測定し、侵入率(%E.P.; %Egg Penetration)および精子細胞内カルシウム濃度($[Ca^{2+}]_i$)との関係について検討した。

【方法】SPAを行なった97例を対象とした。SPAでは、精子はBWW/HSA5mg/mlで60分間swim upした後、BWW/HSA30mg/mlで18-20時間培養したものを用いた。ハムスター卵と 1×10^6 /mlの精子を3時間培養し、%E.P.、卵1個あたりの平均侵入精子数(P.I.; Penetration Index)、卵1個あたりの平均付着精子数を測定した。 $[Ca^{2+}]_i$ の測定にはFura-2AM法を用い、 7.5×10^6 /mlの運動精子を $2 \mu M$ のFura-2AMと培養し、progesterone(P) $1 \mu g$ /ml添加前後の $[Ca^{2+}]_i$ を測定した。【成績】1)%E.P.と平均付着精子数との間($r=0.615$)、P.I.と平均付着精子数との間($r=0.681$)に正の相関を認めた。2)%E.P.を20%をカットオフ値として受精能正常群(G1)と不良群(G2)に分類したところ、平均付着精子数はG1では 21.6 ± 11.0 ($M \pm S.D.$)、G2では 7.8 ± 5.1 と前者で高値であった($p < 0.05$)。またP.I.はG1では 2.44 ± 2.25 、G2では 0.13 ± 0.23 と前者で高値であった($p < 0.001$)。3)P添加後の $[Ca^{2+}]_i$ のピークが600nM以上(G3)、600nM未満(G4)に分類したところ、%E.P.はG3で 90.1 ± 19.5 、G4で 59.6 ± 33.6 と前者で高値であった($p < 0.05$)。P.I.、平均付着精子数に関しては有意差を認めなかった。【結論】受精能の高い精子ほど卵に付着する精子数も多い。Pによる $[Ca^{2+}]_i$ の反応性は受精能の一部を反映すると考える。

354 Platelet activating factor のヒト精子先体反応励起機構に関する検討

旭川医大

高岡康男、田熊直之、堀川道晴、玉手健一、
千石一雄、石川睦男

【目的】Platelet activating factor (PAF) がヒト精子先体反応に促進的に作用することを、我々は報告した。しかし、PAF のヒト精子先体反応励起機構に関する検討は十分とはいえず、今回、G 蛋白阻害剤及び Protein Kinase C阻害剤を用いてヒト精子先体反応励起機構に関し、検討した。【方法】1.Swim-up法にて得られた精子をPAF (10^{-11} 、 10^{-9} 、 $10^{-7}M$)添加培養液中で6時間前培養後の先体反応出現率をFITC-PSA法にて検討した。2.PAF $10^{-7}M$ 添加培養液にG蛋白阻害剤である Pertussis toxin (PTX)を $1 \mu g/ml$ 、 $10 \mu g/ml$ の濃度に加え、先体反応出現率を検討した。3.PAF $10^{-7}M$ 添加培養液にProtein Kinase C 阻害剤であるStaurosporine(10^{-12} 、 10^{-10} 、 $10^{-8}M$)を加え、先体反応出現率を検討した。【成績】1.PAF 10^{-11} 、 10^{-9} 、 $10^{-7}M$ 添加群の先体反応出現率は、おのおの $38.7\% \pm 4.0\%$ 、 $42.8 \pm 7.2\%$ 、 $40.2 \pm 3.5\%$ で、対照群の $5.6 \pm 2.1\%$ に比し有意な上昇を認めた。2.PAF $10^{-7}M$ 及びPTX $1 \mu g/ml$ 、 $10 \mu g/ml$ 添加群の先体反応出現率は、PAF $10^{-7}M$ のみが $35.8 \pm 5.2\%$ に比し、おのおの、 $36.7 \pm 9.4\%$ 、 $18.5 \pm 6.9\%$ とPTX $10 \mu g/ml$ 添加により、先体反応出現率は低下した。3.PAF $10^{-7}M$ 及びStaurosporine 10^{-12} 、 10^{-10} 、 $10^{-8}M$ 添加群の先体反応出現率は、おのおの、 $35.9 \pm 10.9\%$ 、 $15.1 \pm 5.4\%$ 、 $4.9 \pm 1.9\%$ と濃度依存性に先体反応出現率は低下した。【結論】PAFは、ヒト精子先体反応を促進し、その作用は、G蛋白阻害剤およびProtein Kinase C阻害剤により抑制された。以上よりPAFのヒト精子先体反応励起機構は、Protein Kinase Cを介し、またG蛋白、すなわちadenylate cyclaseを介した作用であることが示唆された。