

P-195 Epstein Barr Virusによるヒト型抗精子抗体産生B細胞株の樹立

兵庫医大

辻 芳之、中田祐子、柴原浩章、満尾瑞、香山 浩二

【目的】不妊症の原因になる抗精子抗体の産生機序を明らかにするためには患者のリンパ球から実際に精子に反応するモノクローナル抗体を作成する必要がある。しかし従来の細胞融合法によるヒト型モノクローナル抗体の作製法ではハイブリドーマの樹立が非常に困難であった。そこで本研究では患者抗体産生B細胞をEpstein Barr Virus (EBV)でpolyclonalに増殖させる事により抗精子抗体を永続的に産生するB細胞クローンを確立する方法の検討を行った。【方法】抗精子抗体を保有する不妊症患者から約 3×10^7 の末梢血リンパ球を採取し、EBVに感染させた後、約一ヶ月間細胞培養して、一人の患者当たり約200個の形質転換B細胞を得た。それらの培養上清の抗精子抗体の有無をELISAと蛍光抗体法で検索し、さらに形質転換B細胞がclusterとして増殖する事を利用してsingle clusterのpick up法でcloningを行った。

【成績】3人の患者から三種のヒト精子に反応する抗体を安定して産生するB細胞株が得られた。いずれもIgM抗体で、弱い補体依存性精子不動化活性を示した。蛍光抗体法ではいずれの抗体も精子の尾部から後帽部に反応し、3人の独立した患者から得られた抗体であるにも関わらず、各々の反応のパターンは極めて類似していた。ヒトの各臓器組織に対する反応では精巣に対する反応は弱く、寧ろ前立腺と精巣上体に対して強い反応性を示した。また一部腎尿細管上皮に対しても反応が見られた。【結論】従来cloningが難しく、安定したヒトモノクローナル抗体が得られにくかったEBV形質転換B細胞法でもclusterのpick up法を用いることにより安定した抗精子ヒトモノクローナル抗体が作成できた。

P-196 精漿中の補体制御因子について

徳島大

滝川稚也、國見幸太郎、山本哲史、平野正志、森英俊、前川正彦、鎌田正晴、青野敏博

【目的】我々は、精漿中の補体抑制活性の低下と運動精子数の減少とが相関することから、補体と不妊症発症との関係を示唆してきた。今回、この精漿中の補体制御因子について活性及び性状を検討したので報告する。【方法】当科及び関連病院に通院中の不妊症男性患者より用手法にて精液を採取し、精液検査施行後の精漿を、患者の同意を得て以下の検査に供した。補体抑制活性は、抗体感作羊赤血球を用いた古典経路及び、ウサギ赤血球を用いた第二経路に対する影響をそれぞれ測定した。さらに、以下の方法を用いて補体制御因子の性状を検討した。すなわち、1) 分子量10kDをcut off 値とするミリポアフィルターを用いて遠心濾過、精漿200 μ lを、2) sodium periodate で15分処理、3) 90°C30分加熱、4) trypsinを加え37°C30分加熱、5) 抗MCP抗体あるいは抗DAF抗体で処理、6) Con Aカラムを用いたaffinity chromatographyをそれぞれ行い、各処理前後の補体抑制活性を測定した。【成績】精漿は補体活性を古典経路、第二経路ともに抑制し、その抑制効果は両系路において正の相関を示した。精漿中の補体抑制活性は、分子量10kD以上の分画に認められた。また、加熱処理で失活したが、sodium periodate処理、trypsin処理では変動を認めなかった。Con Aカラムクロマトグラフィーでは、吸着分画に抑制活性を認めた。さらに、抗MCP抗体及び抗DAF抗体処理によりそれぞれ補体抑制活性の低下が認められた。【結論】精漿中の補体抑制因子は、分子量10kD以上のトリプシン耐性の糖蛋白質であり、中和実験からも、MCP及びDAFが主要な因子であることが示唆された。これらの因子の低下が、精子運動障害による不妊症発症機序の一つとして重要であると考えられる。