

247 ヒト精子膜抗原遺伝子hsp-1のゲノム遺伝子の単離とその解析

兵庫医大

小森慎二、阪田和子、香山浩二

248 精子先体反応率測定 of 臨床的意義に関する検討

広島大

岡野真一郎、上田克憲、金子朋子、香月孝史

大濱紘三

【目的】我々はヒト精子膜に存在し受精現象に関与するhsp-1のcDNAクローニングについてすでに本学会にて報告した。今回、このhsp-1遺伝子の発現およびゲノム遺伝子のクローニングおよび解析を目的として本研究を行った。

【方法】1. ヒトを含めて異なった種のゲノム遺伝子を用いてhsp-1遺伝子をプローブにしてサザンブロット解析を行った。2. hsp-1遺伝子の1-731bpの領域をPCR法にて増幅分離し、これをプローブとしてヒトゲノムライブラリー（ヒューマンサイエンス振興財団より供与）をスクリーニングした。3. 単離した遺伝子をサザンブロット解析した。4. 単離した遺伝子を制限酵素で切断し制限酵素地図を作成した。5. ゲノム遺伝子を断片化して塩基配列を決定した。【成績】1. ヒト以外にサル、ウシ、ブタ、イヌ、ウサギ、マウス、ラットのゲノム遺伝子に反応するバンドを認めた。2. ヒトゲノムライブラリーの30万個のプラークをスクリーニングした結果、2個の陽性クローンを単離した。3. サザンブロット解析の結果、単離したクローンはhsp-1 cDNAに反応した。4. 制限酵素地図を作成した結果、単離した遺伝子は約15Kbpであった。5. ゲノム遺伝子の解析の結果、エクソンは4つわかれていることが判明した。

【結論】受精現象に関与する遺伝子のhsp-1は種を超えて存在することが確認された。さらに、そのゲノム遺伝子の単離に成功し、その構造が明らかになった。

【目的】精子先体反応率(以下、% of Acrosome Reaction; %AR)が低い検体では受精障害が起こるが、同一男性でも精液パラメーターや精子機能検査の成績は変動することが知られている。そこで、%AR測定の臨床的意義を明らかにする目的で、多数例を対象に可能な限り反復して%ARの測定を行った。【方法】不妊夫婦の夫148名を対象として、精液パラメーターおよび%ARの測定を行った。また、%AR不良例を中心にした22例では平均9.7週後に再検査を行った。Swim-upおよび前培養(5時間)の後、さらにCa ionophore A23187 (10 μ M)で1時間処理した精子を蛍光顕微鏡下に観察し、全観察精子に占める先体反応完了直後の生存精子の比率を求めこれを%ARとした。【成績】精液パラメーターが正常(精子濃度2000万/ml以上かつ運動率50%以上)であった54例の%ARは平均29.2%で、異常であった94例の23.2%に比較して有意(p=0.048)に高値であった。パラメーター別では、%ARと精子濃度には相関が認められたが運動率との間には相関がなかった。精液パラメーター正常例のうち18例(33.3%)は、%ARの成績からは先体機能不全(%AR; <17%)と判定された。再検例では、初回検査で先体機能不全とされた14例中10例が、うち精液パラメーター異常に先体機能不全を合併していた6例では全例が、再検でも先体機能不全例であった。【結論】%ARと精子濃度には相関があるが、精液パラメーター正常例でも1/3が先体機能不全と判定されることが判明した。したがって、%AR測定は不妊症のルーチン検査として実施する必要がある。また、精液パラメーター異常に先体機能不全を合併する例では、その後の改善の可能性が低いとため積極的な不妊治療が必要である。