

P-229 マウス卵胞の閉鎖機構—変性した卵母細胞の運命—

山形大、同第一解剖*、同基礎看護**

井上聡子*、斎藤英和、廣井正彦、渡辺皓**、
外崎昭*

【目的】マウス卵胞の閉鎖機構ではアポトーシスに陥った顆粒膜細胞を正常な顆粒膜細胞が食食、消化することによって卵胞を退縮させ、この過程にマクロファージ(Mφ)は関与しないことを明らかにしてきた。今回は、透明帯内に侵入し、変性した卵母細胞を処理する細胞の性質について形態学的検討を行った。【方法】閉鎖卵胞を高頻度に観察しうる、卵巢周期開始直前(生後32-35日齢)のB6C3 F1マウス5匹を用いて、卵巢1個から準超薄連続切片を得、その他を電顕的観察および免疫組織化学的検討に用いた。免疫組織化学においてはマウスMφに特異的な2種類の単クローン抗体(Mac-1、F4/80)を、凍結切片と反応させた。

【成績】Pedersen (1968)の卵胞分類における、type5a以上の卵胞とtype4以下の卵胞とでは閉鎖の様式がやや異なった光顕像を示した。type5a以上の卵胞は閉鎖の初期の段階で顆粒層にアポトーシス細胞が散在性に出現し、その後顆粒膜細胞は脂肪滴を豊富に含むようになっていた。この過程で透明帯内に細胞が侵入し、変性した卵母細胞を食食していた。type4以下では顆粒層にアポトーシスの出現が少なく、脂肪滴を含まない段階で多数の細胞が透明帯内に侵入し、変性した卵母細胞に接していた。透明帯内に侵入するこれらの細胞は、互いにもしくは周囲の顆粒膜細胞とギャップ結合を形成しており、顆粒膜細胞であることが確かめられた。また、抗マウスMφ抗体に陰性反応であった。【結論】卵胞の成長段階によって閉鎖の様式は異なるが、いずれの場合でも、変性した卵母細胞は、顆粒膜細胞が透明帯内に侵入し食食することによって処理され、この過程にMφ等外来の細胞は関与しないと考えられる。

P-230 排卵現象における卵巣顆粒膜細胞 expansion の分子生物学的意義

浜松医大

北村公也、小林 浩、平嶋泰之、小林隆夫、
寺尾俊彦

(目的) 排卵のメカニズムを解明するために卵丘細胞 cumulus-oocyte complex (COC) の expansion現象を分子生物学的に解明した。(方法) 1) 未熟マウスに5 単位のPMSGを注射した後、48時間後に5 単位のhCGを注射し、その1、2、4、8時間後に卵巣を摘出した。ヒアルロン酸(HA)、その結合蛋白であるリンク蛋白(LP) およびもう一つのヒアルロン酸結合蛋白である Inter- α -inhibitor (I α I)の局在を免疫組織学的に検討した。2) ヒトIVF-ET protocolの患者に同意を得て、採卵時に得た顆粒膜細胞を培養し、上記の3種類の抗原を免疫染色した。また培養上清中の濃度を独自に開発したELISAにより測定した。3) HA、LPおよびI α Iを精製し結合実験、競合実験によりお互いの結合様式をELISAにより検討した。(成績) 1) 未熟マウス卵巣にはCOC expansionは見られず、HA、LP およびI α Iの局在は確認できなかった。しかし、PMSG/hCG注射マウスではhCG投与2時間後より卵胞液、卵丘細胞膜にHA、LP およびI α Iが出現し、6時間後に最高に達した。2) 培養細胞の検討では顆粒膜細胞はHAおよびLPは時間依存性に分泌されるが、I α Iは細胞より分泌されず、このI α Iは培養液に添加した血清由来であった。COC expansionに伴って顆粒膜細胞膜表面ではHA-LP-I α Iの3量体が形成された。これはELISAによる結合実験でも確認された。(結論) hCGにより卵丘細胞膜上でHA-LP-I α Iの3量体が形成されると、COC expansionがおこり、その後排卵がおこることが証明された。