

P-239 男性不妊の精子における性染色体数的異常の分析—multi color FISH法を利用した精子染色体解析—

名古屋市大

大矢尚実、種村光代、岡田節男、生田克夫、
鈴森薫

〔目的〕体外受精や顕微授精などの補助生殖技術の発展により重症男性不妊症例でも妊娠が可能となった。本研究では乏精子症、精子無力症患者の精子染色体構成をFISH (fluorescence in situ hybridization) 法で分析し、性染色体異常頻度を調べ、成熟分裂時の精子染色体異常の頻度が高率かどうかを検討した。〔方法〕乏精子症、精子無力症患者 (oligo, asthenospermia; 以下OA群) 6名と正常男性 (以下正常群) 5名から同意の上、精液の提供を受け洗浄処理後スライド上に固定し標本作製した。X、Y染色体のalpha satellite領域を標識するDNAプローブとdiploid精子を観察するため18染色体のDNAプローブを用いたmulti color FISH法を行い各々10,000以上の精子核のシグナルを蛍光顕微鏡下で観察しdisomy精子とdiploid精子の頻度を算出した。〔成績〕合計111,532個の精子を解析した。18、XX、YY、XY disomyとdiploid精子の頻度は正常群で平均0.14、0.15、0.14、0.14、0.12%であった。OA群ではそれぞれ0.12-0.20、0.08-0.15、0.09-0.17、0.19-0.45、0.11-0.18%であった。XY disomy精子の頻度はOA群の4名で0.34、0.45、0.40、0.37%と正常群に比べて高頻度であった ($P<0.01$)。他の染色体異常頻度には有意差は認められなかった。〔結論〕乏精子症、精子無力症患者6例中4例でXY disomy精子の頻度が高かった。この理由として重症男性不妊患者の中にはモザイクを含め性染色体異常を持つもの含まれることや、成熟分裂時の性染色体不分離が高率に起こることが考えられた。このような配偶子を顕微授精により伝達することにより性染色体異常児の出生につながる可能性が示された。

P-240 抗CD46抗体とレクチンの二重染色によるヒ精子先体の評価

大阪大

河本明子、大橋一友、筒井建紀、森山明宏、
沈沢欣恵、東 千尋、佐治文隆、村田雄二

〔目的〕CD46抗原は精子頭部に先体反応終了後に発現する精子抗原で、精子-卵の融合に関与することを我々は報告した。今回は受精の重要な過程である先体反応の評価を抗CD46抗体とレクチンの二重染色を用いて検討した。

〔方法〕(1)当科不妊外来患者62名にハムスターテストを行い、媒精時の先体反応率をFITC-PSA染色で検討した。(2)抗CD46モノクローナル抗体とFITC-PSAを用いてtwo-color FACSを行った。また体外受精症例34例で媒精時に二重染色を行い、精子先体の評価と体外受精の結果を比較検討した。

〔結果〕(1)ハムスターテスト良好群 (受精率10%以上) と不良群 (10%未満) でFITC-PSAで評価される先体反応率に差は認めなかった ($5.3\pm 3.3\%$ vs $5.7\pm 3.3\%$)。しかし先体反応率が8%以上を示した割合は4/41 (9.8%) と5/21 (23.8%) と不良群で高く、先体反応2%未満を示した割合も3/41 (7.3%) と4/21 (19.0%) と不良群で高率を示した。(2)二重染色の結果、FITC-PSA染色で先体反応陽性と判定される精子にはCD46陽性と陰性の精子が存在した。(3)体外受精における受精例では非受精例と比較してCD46で評価した先体反応率は有意に高値を示した ($5.8\pm 2.4\%$ vs $3.4\pm 1.6\%$) が、FITC-PSA染色による先体反応率には差はなかった ($8.9\pm 3.0\%$ vs $6.8\pm 2.9\%$)。

〔結論〕FITC-PSA染色は先体外膜の消失を評価するだけであり、精子の受精に関与する真の先体反応の評価は困難である。精子受精能を評価するための先体の染色には抗CD46抗体による染色が有効である。