

P-352 マウス (M-II 期) の表層顆粒放出のメカニズムに関する検討

山梨医科大学

永井聖一郎、大田昌治、水野薫子、小川恵吾、笠井 剛、星 和彦

[目的] 精子と卵の結合・融合により引き起こされる卵細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇は、第2減数分裂中期で静止状態にある卵の分裂の再開と表層顆粒(CG)の開口分泌を誘発する。その表層顆粒は透明帯の性質を化学的に変化させ(透明帯反応)、その後の精子の透明帯侵入を阻止する。今回我々は、CG放出のメカニズムを検討するため以下の実験を行った。[方法] 過排卵処理して得られたマウスM-II卵をL型 Ca^{2+} チャネルアゴニストである Bay K 8644、1、10、100 μM 、PKCactivator である 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate (TPA) 50、100 ng/ml、1-oleoyl-2-acetyl glycerol (OAG) 1、20、50 $\mu\text{g/ml}$ 、 Ca^{2+} イオノフォア 5、10 μM 、37°C 5% CO_2 の条件下に30分間培養した。そしてCGを lens culinaris agglutinin (FITC-LCA)、核を Hoechst 33342 で染色し、共焦点レーザー顕微鏡と蛍光顕微鏡でCGの消失の有無と卵細胞核を観察した。コントロールはmBWWのみで培養した。[成績] CGの消失はコントロール2.9%、Bay K 8644 1、10、100 μM で2.6%、2.4%、2.6%、TPA 50、100 ng/ml で0%、0%、OAG 1、20、50 $\mu\text{g/ml}$ で0%、6.3%、66.7%、 Ca^{2+} イオノフォア 5、10 μM で78.6%、87.5%であった。CG消失卵は30分の活性化でanaphase期の段階にあった。[結論] L型 Ca^{2+} チャネルはCG放出に関与していないことが示唆された。また、CG消失卵は、その後の活性化が進んでいることが示された。2種類のPKCactivatorで結果に相違があり、TPAの濃度やそれぞれの細胞内 Ca^{2+} 濃度、上昇のパターンの検討が必要と思われる。

P-353 ラット脳におけるコリン作動性ニューロンへのエストロゲンの影響

京都府立医大、同第1解剖*

菊池典子、卜部 諭、田中一範、細田哲也、辰巳 弘、小澤一史*、河田光博*、本庄英雄

[目的] エストロゲンと脳機能の密接な関係が明らかになり、近年 Alzheimer 型痴呆(AD) 予防にエストロゲン補充療法が有効であることが注目されている。アセチルコリンは記憶や学習機能に重要な役割を果たしているが、ADの剖検脳では choline acetyltransferase (ChAT)活性が側頭葉を中心に著明な低下を示し、老人斑や Alzheimer 神経原線維の出現頻度と負の相関があると報告されている。今回我々はヒト脳のミトネル基底核に相当する、ラット脳の無名核(SIB)における ChAT 陽性神経細胞を免疫染色法で検出し、エストロゲンが SIB の ChAT 陽性細胞に及ぼす影響を検討した。[方法] 頸管スミアで発情期を確認したラット(Estrus ラット)、卵巣摘出1ヶ月後のラット(OVX ラット)をそれぞれ全身麻酔し、4%パラホルムアルデヒドで灌流後、脳を摘出して固定し、30 μm の凍結浮遊切片を作成した。免疫染色は ABC 法で行い、第1抗体:ヤギ抗 ChAT 抗体 (1:2500) で36時間4°C反応させ、ビオチン化第2抗体や ABC 試薬での反応後、DAB で発色して検鏡した。[結果] Estrus・OVX ラット共に SIB において細胞質に染色性を認める ChAT 陽性神経細胞が観察され、同時にエストロゲン α レセプター含有細胞を確認した。Estrus ラットと比較して OVX ラットでは陽性細胞数が減少傾向を示し、染色濃度にも変化を認めた。[結論] ラット脳の SIB においてエストロゲンのコリン作動性ニューロンへの影響が示され、AD 発病に対するエストロゲンの作用機序を解明するモデルとして、その重要性が示唆された。