

## 208 卵巣特異的遺伝子 OSAP (Ovary Specific Acidic Protein) の発現および組織内局在の検討

慶應大<sup>1</sup>, ユタ大<sup>2</sup>上野和典<sup>1</sup>, 田中 守<sup>1</sup>, 西村 修<sup>1</sup>, 浅岡健太郎<sup>1</sup>, 上原克彦<sup>1</sup>, 清河 康<sup>1</sup>, 宮越 敬<sup>1</sup>, 吉村泰典<sup>1</sup>, 野澤志朗<sup>1</sup>, エリーアダシ<sup>2</sup>

【目的】OSAPは我々の卵巣特異的遺伝子発見のプロジェクトにおいて同定された, 既知の如何なる蛋白とも類似構造を有しない酸性(pI=3.9)のミトコンドリア蛋白である。今回は, OSAPの機能解明を目的として組織発現および細胞局在の検討を行った。

【方法】4週齢のマウスの卵巣, 過排卵周期における3つの異なる時期(排卵前期・排卵期・排卵後期)の卵巣(PMSG: pregnant mare serum gonadotropin 注射後48時間・PMSG注射後48時間+hCG注射後9時間・48時間), 各種臓器および妊娠15日の胎盤からそれぞれ分離したRNAを用い, RT-PCR法によりOSAPmRNAの発現を検討した。また, OSAPmRNAの発現を認めた組織については, 免疫組織化学によりOSAP蛋白の組織内局在を検討した。

【成績】OSAPmRNAはRT-PCR法により, 黄体期の卵巣・副腎に強発現し, 精巣・脾臓にも弱い発現を認めた。また, OSAP蛋白は免疫組織化学により, 卵巣における莢膜細胞・黄体細胞, 精巣におけるライディヒ細胞, 副腎皮質全層, 脾臓における脾洞に局在を認めた。

【結論】卵巣特異的遺伝子であるOSAPは, 卵巣以外のステロイドホルモン産生細胞にも局在を認めた。組織発現分布がステロイド合成酵素転写調節因子であるAd4BP/SF-1 (Adrenal 4 binding protein/Steroidogenic factor) に一致していることから, ステロイドホルモン産生やAd4BP/SF-1の機能のひとつである生殖腺の分化に関与している可能性が示された。

## 209 転写因子 Ad4BP/SF-1とDax-1の卵巣での発現とその卵胞発育・閉鎖における意義

東京大<sup>1</sup>, 岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所細胞分化研究部門<sup>2</sup>難波 聡<sup>1</sup>, 堤 治<sup>1</sup>, 大須賀穰<sup>1</sup>, 森田 豊<sup>1</sup>, 武谷雄二<sup>1</sup>, 諸橋憲一郎<sup>2</sup>

【目的】Ad4BP/SF-1とDax-1はともにステロイドホルモン産生組織に発現する転写因子で, 性腺の発生・性分化に重要な役割を果たすことが明らかになっている。本研究はマウス卵巣における両転写因子の発現様式とその卵胞発育・閉鎖における役割を解明しようとした。

【方法】21日齢雌マウスにPMSG 5IUを皮下注射し, 注射前及び12, 24, 36, 48時間後に卵巣を摘出した。Ad4BP/SF-1とDax-1それぞれのmRNA定量と隣接切片での免疫組織染色, またアポトーシス検出のためTUNEL染色, DNAラダー泳動を行った。さらにDax-1欠失変異マウスの卵巣についても同様の検討を行った。

【成績】Ad4BP/SF-1とDax-1はともに顆粒膜細胞において発現が認められた。Ad4BP/SF-1が強い発現を示す卵胞ではDax-1の発現はほとんど認められず, 逆にAd4BP/SF-1の発現が弱い卵胞ではDax-1が強い発現を示した。TUNEL染色により発育(健常)卵胞がAd4BP/SF-1陽性, 閉鎖卵胞がDax-1陽性であることが示された。mRNA定量及びDNAラダーによれば, PMSG処理後に発育卵胞が増加し閉鎖卵胞が減少するとともにAd4BP/SF-1 mRNAが増加しDax-1 mRNAが相対的に減少した。Dax-1欠失変異マウスの卵巣では野生型と同様に閉鎖卵胞が存在しており, Ad4BP/SF-1の発現様式も野生型と差を認めなかった。

【結論】Ad4BP/SF-1は卵胞発育に関与する転写因子であることが確認され, 一方Dax-1は卵胞閉鎖に深く関与していることが明らかになった。Dax-1が欠失しても閉鎖卵胞が認められることから, Dax-1は卵胞閉鎖に伴う局所過程を形成する因子と考えられる。

## 210 ヒト卵細胞膜と精子の結合・融合におけるインテグリンの役割

旭川医大

田熊直之, 千石一雄, 和田恵子, 山内智文, 石川陸男

【目的】精子と卵子細胞膜の結合・融合に関してインテグリンをはじめとする多くの接着分子の関与が報告されているが, ヒトに関しては未だ十分に解明されていない。今回ヒト卵細胞膜における各種インテグリンのサブユニットと精子の結合・融合機構に関し検討を加えた。

【方法】IVFおよびICSI時に受精を認められない未受精卵, 前核期で発生を停止した卵を患者の同意, 施設の承認を得て実験に供した。1) 未受精卵, 受精卵およびICSI授精卵における10個のインテグリン $\alpha$ サブユニット, 6個の $\beta$ サブユニットの発現を蛍光抗体法により比較検討した。2) Hoechst33342処理後の透明帯除去未受精卵を用いて各種の $\alpha$ サブユニット,  $\beta$ サブユニット抗体処理卵と未処理卵における媒精後の結合・融合・侵入精子数を比較検討した。

【成績】未受精卵, ICSI授精卵において $\alpha 1, \alpha 2, \alpha 3, \alpha 5, \alpha 6, \alpha V, \alpha M$ の発現を認め, 通常の受精卵ではこのうち $\alpha 3, \alpha 6, \alpha V, \alpha M$ の発現の消失を認めた。 $\beta$ サブユニットでは, 未受精卵, ICSI授精卵で $\beta 1-6$ の発現を認めたが, 受精卵では $\beta 3, 4, 6$ の発現を認めなかった。2) 抗 $\alpha 3, 6, V, M$ 処理卵, および抗 $\beta 3, 4, 6$ 処理卵ではコントロールに比し結合精子数は有意な減少を示し, 融合・侵入精子数も減少傾向を認めた。

【結論】ヒト卵細胞膜上に各種のインテグリンが発現しており, 精子と卵細胞膜の結合過程に重要な役割を担うことが示唆された。また, 通常の受精とICSIによる授精で複数のサブユニットの発現パターンが異なることより, 卵細胞膜多精子受精防御機構への複数のインテグリンの関与が示唆された。