

## P-97 エンドトキシンがマウス造精能に及ぼす影響

埼玉医大

梶原 健, 大澤洋之, 石井康德, 小川博和, 富岡康広, 渡邊芳明, 畑 俊夫

【目的】エンドトキシンが精子運動能に抑制的に作用することは報告されているが造精能に対してはどのような影響を及ぼすのかは不明である。そこでエンドトキシンの造精能に対する影響を明らかにするため、LPS (lipopolysaccharide) を投与したマウスを用い、精巣におけるアポトーシス細胞の発現を TUNEL 法を用いて検出し、さらには TNF- $\alpha$  の局在を免疫組織化学的に検討した。

【方法】ICR 系マウスを用い生食投与群 (A 群) LPS100 $\mu$ g/kg/day 投与群 (B 群) LPS1000 $\mu$ g/kg/day 投与群 (C 群) の3群に分け7日間連続して腹腔内投与を行った。翌日に精巣を摘出し固定後、パラフィン切片と凍結切片を作製した。パラフィン切片を用いて TUNEL 法を行いアポトーシス細胞を検出し、精細管内における陽性細胞比率 (apoptotic index) を算出し各群間で比較した。また凍結切片では抗 TNF- $\alpha$  抗体を用い免疫組織化学的にその局在を検討した。更に血清中の testosterone 値を測定し各群間で比較した。

【成績】TUNEL 法における検討では各群の apoptotic index は A 群  $28.7 \pm 6.68$  B 群  $30.6 \pm 6.08$  C 群  $72.0 \pm 20.73$  であり、C 群は他の2群に比較して有意に高値であった。TNF- $\alpha$  の局在は C 群においてのみ精細管外の Leydig 細胞、結合細胞に強い局在を認めた。血清 testosterone 値は A 群  $1.77 \pm 1.29$  ng/ml B 群  $4.90 \pm 6.80$  C 群  $17.33 \pm 18.49$  であり有意差はないものの C 群で高い傾向であった。

【結論】エンドトキシン投与により精巣内にアポトーシス細胞が誘導されることが明らかとなった。この事は感染によりアポトーシス細胞が誘導され造精能が抑制されることが示唆され、この経路には testosterone を介さずに TNF- $\alpha$  を介した経路が関与している可能性が示唆された。

ポ  
ス  
タ  
ー  
8  
日  
(月)

## P-98 精漿中 CX3C ケモカイン (fractalkine) 濃度の解析

大阪大<sup>1</sup>, 大阪府済生会中津病院<sup>2</sup>下屋浩一郎<sup>1</sup>, 張 慶<sup>1</sup>, 太田行信<sup>1</sup>, 天満久美子<sup>1</sup>, 陳 日華<sup>1</sup>, 森山明宏<sup>2</sup>, 古山将康<sup>1</sup>, 東 千尋<sup>1</sup>, 村田雄二<sup>1</sup>

【目的】CX3C ケモカインである fractalkine (FRK) は、血管内皮や神経において産生されているが、生殖領域における機能は解明されていない。本研究では精漿中の FRK 濃度を測定し精子所見との関連について検討した。

【方法】informed consent を得た上で当院における不妊患者配偶者と健常男性から精液を採取した。精漿中の FRK の発現を Western blot analysis を用いて解析し、さらに densitometry にてその濃度を測定した。精液検査は WHO の基準に基づいて行い、FRK 濃度との関連について検討した。精漿中の IL-8 濃度は ELISA を用いて測定した。また精液中に FRK のレセプター (CX3CR) を有する白血球が存在するか否かについて精液中の白血球から RNA を抽出し RT-PCR を用いて CX3CR の存在を検討した。

【成績】精漿中 FRK 濃度は不妊患者 asthenozoospermia 群 (n=58) で  $0.64 \pm 0.04 \mu$ g/ml, 非 asthenozoospermia 群 (n=22) で  $0.94 \pm 0.10 \mu$ g/ml, 健常男性群 (n=10) で  $1.04 \pm 0.07 \mu$ g/ml であり、不妊患者 asthenozoospermia で有意に低値を示した。精漿中の FRK 濃度と IL-8 濃度との間には相関はなかった。一方、濃精子症合併の有無による差異は認められなかった。さらに RT-PCR によって精液中白血球において CX3CR mRNA が発現しているものがあることが確認された。

【結論】ヒト精漿において FRK 蛋白が存在し、精子運動能と関連している可能性がある。また精漿中の FRK によって精液中に CX3CR 陽性白血球が遊走されていることが明らかとなり、感染防御機構に関与していることが示唆された。

## P-99 45, X/46, X,r (Y) /46, X,dic r (Y;Y) モザイク不妊男性の精子染色体分析

大阪・IVF 大阪クリニック<sup>1</sup>, 広島大<sup>2</sup>, 国立南和歌山病院<sup>3</sup>中岡義晴<sup>1</sup>, 岩本英照<sup>1</sup>, 岡田英孝<sup>1</sup>, 福田愛作<sup>1</sup>, 森本義晴<sup>1</sup>, 佐村 修<sup>2</sup>, 三春範夫<sup>2</sup>, 大濱紘三<sup>2</sup>, 南 晋<sup>3</sup>

症例は37歳男性、不妊治療目的にて当院を紹介受診した。精液所見は精液量8ml, 精子濃度  $0.4 \times 10^6$  /ml, 運動率20.5%, 奇形率59.1%で重症乏精子-精子無力症を呈していた。末梢血リンパ球を用いた染色体検査での核型は45, X/46, X,r (Y) (p11.3q12) /46, X,dic r (Y;Y) (p11.3q12;p11.3q12) とモザイクを呈し、各々の割合は72/23/5であった。顕微授精を行うに際し、児への遺伝学的な影響を考慮し遺伝相談を行った後、精子染色体分析を実施することとした。精子染色体分析は18番, X, Y 染色体のセントロメアに特異的なプローブ (CEP18, CEPX, CEPY: Vysis 社) を同時に用いた three color fluorescence in situ hybridization (FISH) 法を行い、蛍光顕微鏡下に1332個の精子核を分析した。その結果、18番, X, Y 染色体を (18/X), (18/Y), (18/XY), (18/O), (18/XXY) で持つ精子の割合は各々39%, 25%, 16%, 14%, 1%であった。したがって、性染色体に関しては39%の精子が正常で、受精しても児に大きな異常を起こさないとされる r (Y) (p11.3q12) 精子も含めると64%の精子が正常精子と考えられた。この結果をもとに十分なインフォームドコンセントを行った後、本人の希望のもとに顕微授精を施行した。GnRHa ロング法による卵巣刺激を行い、成熟卵6個を採取し顕微授精を行った。2個 (33.3%) 受精したが、胚は形態不良のため胚移植に至らなかった。本症例のように不妊男性が染色体異常を持つ場合、FISH 法による精子染色体分析を行い正しい遺伝情報を提供することは、生殖領域の遺伝相談を行う上で大変重要であると考えられた。