

P-499 胎盤栄養膜細胞のアポトーシス及び増殖能と母体年齢の関係

東京医歯大

山田善三, 久保田俊郎, 麻生武志

【目的】高齢母体は胎盤機能に関連し様々な問題のリスクファクターとなる。今回、満期胎盤栄養膜細胞のアポトーシス及び増殖能に対する母体年齢による影響を解析した。

【方法】全例患者承諾を得た上で、様々な母体年齢の正常経産分娩により得られた満期胎盤をホルマリン固定した後パラフィン連続切片を作製し、TUNEL 法及び免疫染色法により光学顕微鏡にて絨毛栄養膜細胞のアポトーシス及び増殖能(Ki-67抗体を用いて解析)を検索、Spearman's correlation coefficient にて統計学的に解析した。

【成績】TUNEL 陽性細胞領域はクラスターとなった栄養膜細胞に多く認められ、またその領域は連続切片にて bcl-2 陰性であることを確認しそれを除く栄養膜細胞領域で強陽性であった。これを基にアポトーシス頻度をカウントした。母体の加齢と共に絨毛栄養膜細胞のアポトーシス頻度は減少し逆相関が認められた($P<0.0001$)。逆に母体の加齢と共に同細胞の増殖細胞の頻度は増加し正相関が見られた($P<0.001$)。

【結論】一般的に母体の加齢により胎児胎盤の置かれる環境は悪化すると思われる。妊娠中毒症など妊娠中に問題があった場合、胎盤絨毛栄養膜細胞にアポトーシスは増加するとする報告は多い。本研究においてサンプルされた胎盤は、母体妊娠経過中問題なく正常経産分娩により得られ、また出生児も2500g から3000g の異常のない症例に限ったものである。得られたデータは、母体の加齢による影響を胎盤が代償することを示唆する。母体の加齢という要素だけでなく他の母体による負の影響を、胎盤は代償的に機能し胎児の環境のホメオスタシスに貢献していると推測できる。

P-500 電位依存性カルシウムチャネル (α_{1E} チャネル) はマウス精子の運動パターンに関与する

東京医歯大

坂田 優, 清水康史, 水口玲子, ミルハス ムニレ, 久保田俊郎, 麻生武志

【目的】電位依存性 Ca^{2+} チャネルは精子への重要な Ca^{2+} 流入路で、その主要な構成成分である α_{1E} subunit は今までに10種類クローニングされている。精子・精母細胞における α_{1E} の mRNA と蛋白の発現が報告され、 α_{1E} チャネルが精子機能に重要な役割を果たすことが推測されてきた。 α_{1E} ノックアウトマウス (以下 K.O.) を用いた解析で、精母細胞の Ca^{2+} 電流に α_{1E} チャネルが明らかな関与をしていないことが既に明らかであるが、今回、運動能自動解析装置 (CASA) を用いて解析を行い、精子運動性に α_{1E} チャネルが関与しているか否かを検討した。

【方法】8~20週令雄マウス (C57BL/6J/129/Sv) の精巣上体を摘出し、精子を培養液中 (HS medium) へ採取、CASA で運動性を測定、K.O. と野生型マウス (以下 W.T.) の間で比較検討した。パラメーターとして、VSL, VAP, VCL, LIN, STR, ALH, BCF を用いた。

【成績】1) K.O. は W.T. に比し運動速度が速い傾向にあり、なかでも VSL が有意な差を示した (K.O.: $80.8 \pm 2.7 \mu\text{m/s}$, W.T.: $72.7 \pm 1.8 \mu\text{m/s}$, $p=0.026$)。2) K.O. は W.T. に比し直線性が高い傾向にあり、LIN が有意な高値を示した (K.O.: $35.1 \pm 1.0\%$, W.T.: $32.3 \pm 0.8\%$; $p=0.045$)。

【結論】マウス精子の運動性に $\alpha_{1E}Ca^{2+}$ チャネルが関与していることが証明され、この運動性の変化の生理学的な意義が示唆された。

P-501 progesterone は T 型 Ca イオンチャネルを介してマウス精子の受精能獲得を促進する

徳島大

瀬沼美保, 檜尾健二, 森出直子, 堤ゆかり, 山野修司, 苛原 稔

【目的】progesterone (以下 P) がマウス精子の受精能獲得を促進するか否か、またその作用機序を検討した。

【方法】8~14週令の ICR マウスの精巣上体精子から得た運動良好精子を実験に供し、培養液には3mg/ml BSA 添加 HTF を使用した。1) $1 \mu\text{g/ml}$ の P を含む培養液中で30, 60, 120, 180分間培養した後、CTC 染色を行い受精能獲得した精子 (B パターン) の頻度を検討した。2) (1) Ca 除去 HTF, (2) T 型 Ca^{2+} チャネル阻害剤である NiCl_2 1mM を添加した HTF, (3) チロシンキナーゼ阻害剤である genistein (G) 100mM を添加した HTF で精子を P 存在下または非存在下で60分間培養した後、B パターン精子の頻度を比較した。

【成績】1) P の添加により B パターンを示す精子の割合が有意に増加した ($23.2 \pm 6.2\%$ vs $13.2 \pm 4.2\%$, $p<0.01$)。2) 細胞外 Ca^{2+} の除去や NiCl_2 の添加は P で誘発される受精能獲得を有意に阻害した。((1) $18.3 \pm 3.5\%$ vs $8.5 \pm 2.5\%$, $p<0.05$, (2) $20.0 \pm 3.8\%$ vs $6.0 \pm 5.2\%$, $p<0.01$)。G は P で誘発される受精能獲得を阻害した ((3) $20.0 \pm 3.8\%$ vs $11.6 \pm 2.4\%$, $p<0.01$)。

【結論】P はマウス精子の受精能獲得を促進し、この機序には Ca^{2+} influx 及びチロシンのリン酸化が必要であることを明らかにした。