



Title	精子受精能獲得現象に関与する因子
Author(s)	岸, 雄一郎
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33361
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	岸 ^{まし} 雄 ^{ゆう} 一 ^{いち} 郎 ^{ろう}
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 6023 号
学位授与の日付	昭和 58 年 3 月 25 日
学位授与の要件	薬学研究科 応用薬学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	精子受精能獲得現象に関与する因子
論文審査委員	(主査) 教授 青沼 繁 (副査) 教授 近藤 雅臣 教授 鎌田 皎 教授 三浦 喜温

論文内容の要旨

緒 論

卵への精子侵入の機序については非常に古くから研究がなされ、特に哺乳類の精子、卵子を用いた体外受精は多くの研究者の目標であった。これらの研究の中でも重要な発見は射出精子あるいは副睾丸に貯留されている精子は受精能をもたずに、雌性生殖路内において一定期間滞留する間に何らかの生理的機能変化をとげ受精能を獲得 (capacitation) するというものである。

雌性生殖路内には精子にこの様な変化をおこさせる因子が存在するとの推察のもとに実験が行なわれ、その結果、精子に受精能を付与することのできる環境は発情期の子宮中であり、発情間期の子宮中では精子の受精能獲得はおこらないことが明らかにされた。一方、精子を試管管内において培養し capacitation させる試みもなされ、現在ではマウス、ラット、ウサギ、モルモット等において体外受精が可能になっている。しかし、capacitation 現象に関し不明の点も多く残されている。

青沼らは、モルモット精子より精子受精能破壊因子 (decapacitation factor; DF) を単離するとともに、精子よりの DF の遊離が capacitation であることなどを報告している。著者はマウス体外受精の系を用い、精子 capacitation に関与している因子について検討し、capacitation は DF の他にも抑制性、促進性のいくつかの因子によって制御されていることを明らかにした。

本 論

第一章 精子受精能獲得現象を促進する因子

精子の zona pellucida内への通過を経時的に観察すると、副睾丸より採取直後のものは受精までに時間を要し、あらかじめ preincubation を行なった精子ではすみやかに受精がおこる。preincubation 間に精子は capacitation を終えたからである。preincubation を行なった medium 中には精子 capacitation をおこさせるものがあることを示している。著者は、まず medium 成分のひとつである bovine serum albumin (BSA) の特異性について検討を行なった。その結果、BSA は mouse serum albumin により代替され得ること、またその作用は両者において差がなかったことを認めた。しかし、卵白 albumin や γ -globulin などでは、BSA の代わりとならなかった。

体外受精を行なう medium 中に含まれる成分は個々に必須であるが、単に必須であるといってもいくつかのタイプのもものが考えられる。それらは、精子 a) 生存のために、b) capacitation のために、c) penetration のために、それぞれ必要な場合である。そこで著者は BSA がどのタイプに属するかを、BSA deleted medium を用いて検討したところ、capacitation 促進作用を有することを認めた。さらに、capacitation に要する時間は BSA 濃度に依存していることも認めた。

次に、受精に必要な糖の特異性について検討した。その結果、glucose の他に mannose のみが有効であり、他の糖では全く受精がおこらなかった。glucose deleted medium を用いて検討したところ、glucose も BSA 同様に capacitation に必要な因子であることが判明した。

第二章 精子受精能獲得現象を阻害する因子

青沼らはラット睾丸中に、マウス体外受精を阻害する物質 (Fr. α) が存在することを報告しており、このものは disc 電気泳動において先端にくることも明らかになっている。Chang らは家兎精漿中に精子の受精能を破壊する因子が存在することを報告している。著者は家兎精漿中に Fr. α と同様に disc 電気泳動で先端に泳動される糖蛋白質が存在することを見出した。そこで、このものの精製を試みるとともにその性質について検討を加えた。

精漿を調製用 disc 電気泳動により分画したところ、最初に溶出されるピークに活性が認められたので、ゲル濾過等により精製し、Fr. D₁ を得た。Fr. D₁ は 250 μ g/ml の濃度で体外受精を強く阻害した。Fr. D₁ の受精阻害は副睾丸精子に対してのみあらわれ、capacitation を終えた精子や卵に対してはあらわれなかった。このことより、Fr. D₁ の受精阻害作用は毒性や penetration の阻害によるものではなく、精子の capacitation 過程の阻害によっていることが示唆された。また、albumin には capacitation 促進作用があるため Fr. D₁ と albumin との相互作用について検討したところ、両者は互いに拮抗する作用を有することも認められた。

Fr. D₁ は 5% の糖を含む糖蛋白質で中性糖として mannose, galactose, glucose を含んでいた。

Fr. D₁ の分子量は SDS 電気泳動で 22,000 と算定された。

Fr. D₁に対する抗体をマウスに作成し、Ouchterlonyのゲル内沈降反応及び免疫電気泳動を行なった。その結果、Fr. D₁は精のう腺由来であることが確められた。

免疫ロケット法による定量では、Fr. D₁は精漿中に5 mg/mlが含まれることが示された。

さらに、Fr. D₁は各種動物の血球凝集作用を有することも認められ、Fr. D₁が動物性レクチンである可能性が示唆されたが、検討した限りの糖によっては強い血球凝集阻害は認められなかった。また、金属イオンやEDTAもFr. D₁の血球凝集能に影響を与えないことが示された。しかし、albuminの存在は血球凝集能を減少させた。このことはFr. D₁の受精阻害作用と血球凝集作用との間に共通した反応が存在することを示唆するものである。

結 論

- (1) 血清albumin, glucoseは精子の生存性には影響せず、capacitationの過程にのみ必要であることを示した。
- (2) 家兎精漿より250 μ g/mlの濃度でほぼ完全にマウスの体外受精を阻害する分子量22,000の糖蛋白質Fr. D₁を得た。Fr. D₁による体外受精阻害作用は精子のcapacitation阻害にもとづくものであった。
Fr. D₁には各種動物の血球を凝集させる性質も見出された。
- (3) 生体由来の各種受精促進及び阻害因子の相互作用について検討し、その精子capacitation現象における位置を明らかにした。

論文の審査結果の要旨

生体由来の各種受精促進及び阻害因子の相互作用について検討しその精子capacitation現象における位置を明らかにした。例えば家兎精漿より250 μ g/mlの濃度でほぼ完全にマウスの体外受精を阻害する分子量22,000の糖蛋白質Fr. D₁を得た。Fr. D₁による体外受精阻害作用は精子のcapacitation阻害に基づくものであった。なお血清albumin, glucoseは精子の生存性には影響せず、capacitationの過程にのみ必要であることを証明した。依って本論文の薬学博士としての価値を認める。