The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	女性不妊患者の血中抗透明帯抗体価の定量的研究
Author(s)	倉智, 博久
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33633
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【47】

氏名・（本籍）	倉智博久（くらち ひろひさ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6331 号
学位授与の日付	昭和59年2月27日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**女性不妊患者の血中抗透明帯抗体価の定量的研究**
論文審査委員	（主査） 教授 倉智 敬一 （副査） 教授 宮井 潔 教授 松本 圭史

論文内容の要旨

（目　的）

透明帯（ＺＰ）は哺乳類の卵を包む糖蛋白よりなる層であり，受精の第一段階に精子がこの層を貫通しなければならないことはよく知られている。近年ＺＰには卵巣の臓器特異抗原が存在しており，ＺＰに対する抗体の投与により受精を抑制しうることが知られるようになった。一方，原因不明の不妊症例のなかにＺＰに対する"自己抗体"によるものが存在するのではないかとの報告があるが，これについては，異論もあり一定した見解が得られていない。この問題について結論が得られない理由の１つは，これ迄は間接蛍光抗体法を用いた定性的な研究しか行なわれていないためであり，従って抗体価を定量的に測定すればこの問題に解決を与える鍵を提供するものと思われる。そこで著者はヒト透明帯と免疫学的交叉性を有するブタ透明帯を用いてＺＰに特異的な radioimmunoassay（ＲＩＡ）系を確立し，原因不明不妊婦人を中心にヒト血清中の抗透明帯抗体価を定量的に測定した。

（方　法）

1. 抗原および抗体の作製

ブタ卵巣を70mM Na_2CO_3及び2mM EDTA を含む0.01M phosphate buffered saline（ＰＢＳ），ＰＨ7.2中で破砕し，その汁液を3層のナイロンメッシュを通した後，実体顕微鏡下にマイクロピペットを用いて大量のＺＰを集めた。約10,000個の卵より採取したＺＰを0.5 mlＰＢＳに suspendし60℃60分間の加熱処理の上10,000 ×g 10分間遠沈後の上清を heat solubilized porcine zonae（HSPZ）として用いた。ＨＳＰＺ 0.5 ml(蛋白量330 μg)を等量のFreund's complete adjuvant とともにオス家兎に皮内注射し，２回のブースターを注射したのちに家兎抗血清をえた。

2. 家兎抗血清の特異性と抗体価

ブタ卵巣を家兎抗血清を用いて木村－Mc Geer の高感度 peroxidase－antiperoxidase（ＰＡＰ）免疫組織化学的染色により染色し，得られた抗血清の特異性と抗体価を検討した。またHSPZ－抗体 complex をＳＤＳ－polyacrylamide gel electrophoresis（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）を用いて分析することにより抗体を結合した抗原蛋白の分子量を推定した。

3. ＲＩＡ

クロラミンT法により7 μgのHSPZを 800 μCiの^{125}Iで標識することにより^{125}I－HSPZ (specific activity 26.9 ± 0.6 μCi／μg）を得た。10 μℓの家兎抗血清又は患者血清と50 μℓの^{125}I－HSPZとを室温で24時間incubate した後10％Pansorbinを加え，室温で3時間 incubate し，2,000×g15分間遠沈して得られた沈渣をガンマーカウンターにて測定した。家兎抗血清を段階的に希釈して希釈曲線を作製し，この曲線上で患者血清中の抗ＺＰ抗体価を決定した。又，このＲＩＡ系の組織特異性は上記反応系へ過量のＨＳＰＺまたはブタ諸組織 homogenate を加えることにより検討した。

（成　　積）

1. ＰＡＰ免疫組織化学的染色では控血清10^6 希釈までＺＰのみが染色され，抗血清の高い特異性と抗体価が証明された。ＳＤＳ－ＰＡＧＥではＨＳＰＺには分子量 105,000，70,000，62,000 の3つの免疫活性を有する macromolecule が確認された。この中にはヒトＺＰと免疫交叉性を有するとされている分子量 62,000 の蛋白が含まれていた。

2. このＲＩＡ系の特異性については^{125}Ｉ－ＨＳＰＺと抗血清との結合が無標識ＨＳＰＺを加えた場合には dose dependent に減少したのに対し，過量の他組織を加えても減少しなかったことから，ＨＳＰＺ特異的であった。希釈曲線では maximal binding は56％，non－specific binding は4％であり，specific binding は家兎抗血清の 10^6 希釈まで認められた。

3. ヒト血清中抗ブタＺＰ活性は，原因不明不妊婦人で11例中3例（27％），無月経婦人で48例中16例（33％）の陽性率であったのに対し，対照とした正常周期婦人で12例中4例（33％），正常男性でも10例中3例（30％）の陽性率であり，両群間に抗体の検出率の差がみられなかった。また抗体価についても両群間に差がみられず，無月経の1例を除いて抗血清の 10^4 希釈以下の抗体価であり，これは定量的にみても不妊の原因にはなり得ない値であった。

（結　　語）

1. ヒト透明帯と交叉するブタ透明帯蛋白ＨＳＰＺを抽出精製し，特異性と力価の高い抗透明帯家兎抗血清を作製した。

2. この抗血清と^{125}Ｉ標識ＨＳＰＺとを用いてＲＩＡ系を組み立て，血中抗体価を定量した。

3. いわゆる原因不明とされる不妊婦人の抗体陽性率（27％）は対照症例の陽性率（30－33％）と差がなく，また抗体価は定量的にみても不妊の原因とは考え難いことを明らかにした。

論文の審査結果の要旨

著者はヒト透明帯と交叉免疫性を有するブタ透明帯蛋白（ＨＳＰＺ）を独自に創案工夫した方法によって精製し，ＨＳＰＺに対する家兎抗血清を作製して，ＨＳＰＺ特異的なＲＩＡ系を確立し，はじめてヒト血中の抗透明帯抗体価を定量的に検討した。

その結果，不妊婦人と対照例（妊孕性の明らかな婦人および正常男性）との間に抗体検出率の差がみられず，しかも抗体価を定量的にみても両群間に差がなく，従ってヒト血中にみられる抗ブタ透明帯抗体が不妊の原因とは考え難いことをはじめて明らかにした。

この成績は生殖生理学に１つの新しい知見を加え得たものとして評価しうる。