

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Characterization of a spontaneously occurring self-reactive antibody against sperm in mice
(雄マウスに自然発生した抗精子自己抗体の性状分析)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻 器官・代謝制御系
産科学婦人科学 (指導教授 柴原浩章)

氏 名 陳月焜

【研究目的】 本学産科婦人科学講座で、先行研究として、加齢雄マウスから、自然発生した抗精子自己抗体をモノクローナル抗体(Ts3)として樹立していた。男性不妊症の原因を解明するためのモデル実験として、この抗精子自己抗体の対応抗原の分析並びに、精子および受精への影響について検討した。

【研究方法】 抗精子自己抗体 (Ts3) の対応抗原の局在は、マウス精巣上部尾部精子の免疫蛍光染色法により調べた。雄性生殖組織における分布は、免疫組織染色法にて調べた。対応抗原の同定のために、精子タンパクを抽出した後、二次元電気泳動(isoelectric focusing と SDS-PAGE)、western blotting を行い、反応スポットを enhanced chemiluminescence (ECL) で検出した。同様に泳動したゲルより対応するスポットを切り出し、トリプシン消化して、質量分析に用いた。生物学的機能検査として、補体依存性精子不動化試験を行い、精子の運動性に影響があるか調べた。また、Ts3 のマウス体外受精に及ぼす影響と着床前初期胚の発育に及ぼす影響について調べた。Ts3 の着床前初期胚(2細胞期胚から8細胞期胚)における反応は、免疫蛍光染色法により調べた。

【結果】 Ts3 はマウス精子の鞭毛の midpiece と principal piece に反応した。雄性生殖組織においては、精巣、精巣上部と輸精管に陽性反応が見られた。二次元電気泳動と western blotting 解析では、約 37kD に特異的なスポットが検出され、質量分析の結果、outer dense fiber protein 2 (ODF2) が有力な分子としてヒットした。精子不動化試験では、精子不動化作用が認められたが、受精は阻害しなかった。一方、in vitro における胚の発育を阻害した。免疫蛍光染色法により、着床前初期胚(2細胞期胚から8細胞期胚)の膜表面と細胞接触部に強い反応を認めた。

【考察】 本研究では精子に対する自己モノクローナル抗体 Ts3 が、ODF2 を Ts3 の対応抗原としていることを明らかに示した。Ts3 は受精を阻害しなかったが、精子の運動と着床前初期胚の発育を阻害した。ODF2 は、精子に特異的なタンパクではなく、染色体分裂に関連する中心体成分として知られている。また、ODF2 はマウス胚の着床前発生に必須で、ODF2 遺伝子のエクソン 9 に遺伝子トラップを挿入すると、胚は着床前致死という研究結果が報告されている。ODF2 はヒトにおいて抗精子抗体に対する自己抗原となる可能性がある。

【結語】 Ts3 は ODF2 を標的抗原としていることが明らかになった。ODF2 は精子の運動性と着床前初期胚の発育において重要な役割を果たすことを示した。