

2-b ヒト透明帯の抗原構成と抗透明帯自己抗体

京都大学医学部婦人科学産科学教室

森 崇英・高井 一郎
西本利文・山田 一郎

研究目的

近年卵細胞透明帯の特異抗原性ならびにその抗体の受精阻止作用が各種の動物で明らかにされてきたが、ヒト卵細胞についてはまだ報告されていない。他方、原因不明不妊婦人の血中に透明帯に対する自己抗体が存在することから、この抗体の受精阻止作用が不妊の原因となっている可能性が示唆されてきたが、この抗体が蛍光抗体法によって不妊とは関係なく、あるいは婦人のみならず男子にも検出されたという報告もある。

本研究の目的は、Ⅰ.ヒト透明帯に対する異種免疫抗体を作成し、これを用いてヒト透明帯の抗原構成を分析すること、Ⅱ.原因不明不妊婦人血中に抗透明帯自己抗体が存在するかどうかを、特異的な検出法により、多数の症例について検討することである。

研究方法

I. ヒト透明帯の抗原構成

① 抗ヒト卵抗血清の作成

まず新鮮なヒト卵巣より卵胞卵を採集し、0.01M phosphate buffered saline, pH 7.2 (PBS) 中で洗浄を繰返して顆粒膜細胞を完全に除去した。ついで20個の卵を1 mlのPBS中に浮遊させteflon homogenizerで処理し、等量の Freund's complete adjuvantとよく混和して成熟メスウサギに注射した。以後2週毎に同様の操作を4回繰返し、合計100個の卵を注射した。最後の免疫から2週後に全採血により抗血清を得た。免疫前のウサギ血清および抗血清と同様にただヒト卵の入っていない標品でウサギを免疫して得た血清を対照血清とした。血清は56°Cで30分間の非働化の後、使用まで-20°Cで凍結保存した。

② 吸収操作

血清はヒトO型あるいはAB型血球で吸収した後、0.2 mlの血清に対し10,000個のブタ卵で2回吸収した。

③ 抗透明帯活性および特異性の検討

抗血清の抗透明帯活性をヒトおよびブタの卵を用いて透明帯の蛍光像と光散乱像により半定量的に測

定した。また抗血清の特異性をヒトの22種の組織とヒトおよびブタの透明帯に囲まれたあるいは透明帯の除かれた卵を用いて蛍光抗体法で検討し、さらにヒトの22種の組織のPBS抽出液と4種の体液成分を用いて二重拡散法を行った。

Ⅱ. 抗透明帯自己抗体

① 血清の採集

23才から39才までの297人の不妊婦人から血清を採集した。その内訳は、原因不明不妊175人、無排卵65人、精子・卵管異常44人、習慣性流産13人であった。対照群として、不妊群と同じ年令層の妊孕性の明らかな非妊正常婦人71人、正常妊婦39人および正常男子31人の合計141人から血清を採集した。血清は-20°Cで凍結保存し、使用前に56°Cで30分間の非働化を行った。

② 抗透明帯活性の検討

わたくしどもはすでに、ヒトあるいはブタ透明帯に血液型物質が存在するので、ヒト血清の抗透明帯活性を蛍光抗体法で検討する時、ヒト卵を標的とした場合は同種血球凝集素が、ブタ卵を標的とした場合は異種血球凝集素が非特異反応の原因となることを報告してきた。今回血清の抗透明帯活性のスクリーニングにヒト透明帯と共通抗原をもつブタ透明帯を標的としたので、血清はブタ血球で吸収後に使用した。さらにブタ透明帯に蛍光像陽性の血清はヒトAB型血球で吸収後ヒト透明帯と反応させた。

研究結果

I. ヒト透明帯の抗原構成

抗血清はヒトとブタの透明帯の外表面に蛍光像(図1.の1)あるいは光散乱像(図1.の2)を形成し、(表1)、AB型血球による吸収の前後でその抗透明帯活性は不変であった。蛍光抗体法あるいは二重拡散法で、抗血清はヒトの組織または体液成分とも反応しなかったが、抗血清がヒト血球に対する異種血球凝集素によりO型血球を凝集し、かつO型血球で吸収後もAB型血球を凝集したことから、抗血清中にヒトの血液型物質に対する免疫抗体の存在する

ことが示された。さらに抗血清をブタ卵で吸収すると、ヒト透明帯の光散乱像（図1の4）およびブタ透明帯の蛍光像と光散乱像は完全に消失したが、ヒト透明帯の蛍光像（図1の3）は明瞭に残存した。

II. 抗透明帯自己抗体

抗透明帯抗体の出現頻度を表2に示した。蛍光像は不妊群では15例の5.1%に見られたのに対し、対照群では全く認められなかった。不妊群の臨床診断別にみると、原因不明不妊では7.4%であり、無排卵と原因の明らかな不妊でもそれぞれ1.5%、2.3%であった。また、これらブタ透明帯の蛍光像が陽性の血清はすべてヒト透明帯の蛍光像も陽性であった。

考察と要約

以上の結果より、ヒト透明帯は少なくとも 1) ヒトとブタの透明帯に共通の特異抗原、2) ヒト透明帯に固有の特異抗原、3) 血液型物質に関連した非特異抗原の3つの成分より構成されていることが示唆された。また原因不明不妊婦人の血中に、特異的な検出法により、抗透明帯自己抗体が見出されたことから、この抗体が不妊の成因となっている可能性が示唆された。つまり、ヒト透明帯には特異抗原が存在し、これに対する自己抗体が不妊の成因となっている可能性が示されたわけである。この抗体の病因的意義を明らかにするために、今後はヒト透明帯に対する異種免疫抗体あるいは自己抗体を用いて受精阻止作用を検討する必要がある、現在進行中である。

発表文献

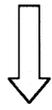
- (1) Takai, I., Mori, T., Noda, Y. & Nishimura, T. (1981)
Heteroimmunization With isolated human ova.
J. Reprod. Fert. 61, 19-24.
- (2) Nishimoto, T., Mori, T., Yamada, I. & Nishimura, T. (1980)
Autoantibodies to zona Pellucida in infertile and aged women.
Fert. Steril. 34, 552-556.

表1 抗ヒト卵抗血清の抗透明帯活性

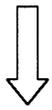
血清の 稀釈倍数	透明帯の蛍光像			透明帯の光散乱像	
	ヒト卵巣の 凍結切片	ヒト卵	ブタ卵	ヒト卵	ブタ偶
抗血清					
2 ⁰	+++	+++	+++	+++	+++
2 ¹	+++	+++	+++	+++	++
2 ²	+++	+++	+++	+++	++
2 ³	+++	+++	+++	++	+
2 ⁴	+++	+++	++	++	+
2 ⁵	+++	+++	++	+	+
2 ⁶	++	++	++	+	-
2 ⁷	++	++	+	-	-
2 ⁸	+	+	+	-	-
2 ⁹	+	+	-	-	-
2 ¹⁰	-	-	-	-	-
対照血清					
2 ⁰ ~2 ¹⁰	-	-	-	-	-

表2 抗透明帯抗体の出現頻度

臨床診断	例数	陽性例	陽性率
不妊群			
原因不明不妊	175	13	7.4%
無排卵	65	1	1.5%
精子・卵管異常	44	1	2.3%
習慣性流産	13	0	0%
計	297	15	5.1%
対照群			
非妊正常婦人	71	0	0%
正常妊婦	39	0	0%
正常男子	31	0	0%
計	141	0	0%



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



考察と要約

以上の結果より,ヒト透明帯は少なくとも 1)ヒトとブタの透明帯に共通の特異抗原,2)ヒト透明帯に固有の特異抗原,3)血液型物質に関連した非特異抗原の 3 つの成分より構成されていることが示唆された。また原因不明不妊婦人の血中に,特異的な検出法により,抗透明帯自己抗体が見出されたことから,この抗体が不妊の成因となっている可能性が示唆された。つまり,ヒト透明帯には特異抗原が存在し,これに対する自己抗体が不妊の成因となっている可能性が示されたわけである。この抗体の病因的意義を明らかにするために,今後はヒト透明帯に対する異種免疫抗体あるいは自己抗体を用いて受精阻止作用を検討する必要がある,現在進行中である。