

報告番号

* 甲 第 1828 号

主論文の要旨

題名 ヒトデ卵ゼリー中に存在する
先体反応誘起物質群の研究

氏名 松井太衛

主論文の要旨

報告番号

※甲第

号

氏名

松井 太衛

アクロソームを持つ棘皮動物の精子が、卵外被と反応して起る先体反応は、受精に不可欠の精子の形態的、生化学的变化の一つである。本研究では、ヒトデ (*Asterias amurensis*) の精子先体反応の誘起条件及び、卵セリー中の先体反応誘起物質群と精子との相互作用を調べ、反応の誘起機構を考察した。

ヒトデの先体反応は、生理的条件下 (正常海水中: 10mM Ca^{2+} , $\text{pH} 8$) で、卵セリー中の ARIS (先体反応誘起物質; Acrosome Reaction-Inducing Substance の略) と、Co-ARIS (ARIS 補助因子; Cofactor for ARIS の略) によって誘起される。本研究は、見かけの分子量が 10^7 以上の硫酸化糖タンパク質である ARIS の糖鎖及び硫酸基が活性発現に必須であることを明らかにした。先体反応は、高 Ca^{2+} 条件 (40mM 以上) や高 pH 条件 ($\text{pH} 9\sim 10$) では、ARIS のみでも誘起された。また、卵セリー成分を用いなくとも、高 Ca^{2+} -高 pH 条件や、 Ca^{2+} -イノシトール A_{23187} によっても誘起できた。

正常海水中で、ARIS や Co-ARIS を単独で精子に添加しても、先体反応は誘起されないが、ARIS で前処理した精子に卵セリーを添加しても、もはや先体反応は誘起されなかった。Co-ARIS を含む卵セリー由来の低分子画分 (M_0 画分) によっても同様の前処理効果が認められた。精製された Co-ARIS には、このような効果はなく、70kDa 感受性であることから、 M_0 画分中の低分子ヘパラド成分に依存することか

明らかとなった。ARISや低分子ヘプタド成分による前処理効果は、不可逆的であり、また、精子とこれらの成分を混合したために起こる各治性の低下は、これらの成分が精子に吸着される可能性を示唆する。前処理により、精子の呼吸及び運動は変化しなかったが、精子の受精能が失われた。先体反応は Ca^{2+} -チャンネル阻害剤により阻害されるが、前処理した精子では、卵ゼリーによる精子への Ca^{2+} の取り込みが起こらなかった。しかし、この様な精子も、A23187により先体反応を起こすことから、前処理において精子の Ca^{2+} 取り込み機構 (恐らくは Ca^{2+} -チャンネル) が不活性化されることが示唆される。

一方、先体反応時に精子の細胞内 pH (pH_i) の上昇と、それに引き続く減少が、9-アミアカリジンをプローブとした蛍光法によって示された。この pH_i 上昇は Ca^{2+} に非依存的に、しかし Na^+ に依存して起こり、M₈画分中のヘプタド成分のみによって種特異的に誘起された。さらに、この成分は弱酸性条件 ($\text{pH} 6.5$) で低下する精子の呼吸を著しく上昇させることから、ウニなどでよく知られる精子活性化ヘプタドの一種であることが示された。また、高 Ca^{2+} 条件下で ARIS を用いると、 pH_i 上昇を伴わずに先体反応が誘起されることから、 pH_i の上昇は先体反応に必須ではないことが明らかになった。しかし、 pH_i 上昇を引き起こすモネンシンにおいて、A23187 による先体反応が促進されること、同様の促進効果を M₈画分が示すことから、 pH_i 上昇を伴う条件下では、より先体反応が起こりやすくなると考えられる。

以上の結果より、卵ゼリーに接した精子は、ARIS, Co-ARIS と

未同定の HPO_4 成分の三者による作用を同時に受け、その結果、 Ca^{2+} チャンネルが活性化されて速やかに先体反応を起すものと結論される。また、ARISと HPO_4 成分の作用は一過性であり、それぞれが単独で精子に作用した時には、 Ca^{2+} -チャンネル活性化機構はやがて不活性状態に不可逆的に移行し、卵セリ-を添加しても、もはや精子は先体反応を起せなくなるものと考えられる。また、 HPO_4 成分は、先体反応の誘起に必須ではないが、 HPO_4 成分中の一種の精子活性化 HPO_4 において精子のpHが上昇し、先体反応が促進されるものと推論される。