

「老化処理がマウス卵母細胞の発生支持能に及ぼす影響と

核移植法による品質改善の試み」

生物資源科学専攻 家畜生産生物学講座 家畜改良増殖学 渋谷風姫

1. はじめに

ヒトにおいて、個体の高齢化に伴う「卵子の老化」が社会問題となっている。雌の加齢に伴う卵子の質の低下により、受精率や胚発生率の低下、流産の可能性が上昇することが分かっている。しかし、老化した卵子を用いて受精卵を作出した場合、どのように発生異常が現れてくるのかは十分に分かっていない。そこで、本研究ではマウス卵子を体外で一定時間静置し、人為的に老化させた「老化処理卵子」を高齢個体由来卵子のモデルとして、老化処理後の卵子の受精能および発生支持能について調べるとともに、卵子の品質改善策として核移植法を検討した。

2. 方法

実験①： マウス卵管から採取した卵子を体外で3時間ごとに24時間まで静置した後、体外受精に供して発生率を観察した。また、胚盤胞期胚の細胞数とTUNEL陽性細胞数を調べた。実験②： 減数分裂時の異常を想定し、未成熟(GV期)卵子核の核移植による受精卵作出を試みた。核移植法としては、連続核移植法と一段階核移植法を試し、両操作のいずれかを完了した核移植後卵子を用いて受精卵を作出し、発生率を調べた。一段階核移植法では培養液をM16およびKSOMの二種を使用し比較した。

3. 結果と考察

実験①： コントロール(採卵直後;受精率70.7%,胚盤胞形成率48.4%)に比較して、老化処理3時間で受精率の低下(46.7%),6時間で胚盤胞期への胚発生率の低下(19.4%)が観察された。また、老化処理9時間の卵子は受精し胚盤胞期まで発生しても、胚盤胞期胚の細胞数が有意に減少した($P<0.05$)。さらに、老化処理12時間で胚盤胞期胚が形成されなくなり、24時間で受精すら確認されなくなった。TUNEL陽性細胞数は全ての区間で有意な差は見られなかった。これらの結果から、老化処理時間に伴い初めに受精能、次いで胚盤胞期への発生能が低下することが分かった。

実験②： 連続核移植法では11.9%の割合で胚盤胞期までの発生を確認した。一方、M16培地を使用した場合、一段階核移植法では胚盤胞期まで発生した胚は観察されなかった。しかし、KSOM培地としたところ、16.3%の割合で胚盤胞期胚までの発生を確認した。したがって、体外培養条件を改善することにより、より簡便な一段階核移植法でも再構築卵子から受精卵を構築できることが分かった。

4. まとめ

本研究によって、老化卵子の特徴が明らかになるとともに、より簡便な卵子核移植法の可能性も示された。