

## ヒト胚個別培養系の構築と経時的な形態変化を取り入れた胚の発育能力の予測に関して

橋本 周<sup>1</sup>、加藤暢宏<sup>2</sup>、佐伯和弘<sup>2</sup>、森本義晴<sup>1</sup>

IVF なんばクリニック<sup>1</sup>、近畿大学生物理工学部<sup>2</sup>

哺乳類の胚を少数で培養すると、ある程度の個数(5-20 個)をグループで培養した場合に比べ、発育能あるいは細胞数が低下することが知られている (Paria & Dey, 1990)。そのため、生殖医療(ART)の現場ではしばしば1つの培養液滴に同一患者由来の胚を複数個導入して培養している。このことは個々の胚の詳細な発育解析を難しくし、ART 培養環境改善に時間を要する一因となっている。また、同じ発育段階や同じ品質の胚が複数存在する場合に、単一胚移植を目指すうえで培養開始からの経時的な発育経過を検討出来れば、移植する胚の優先順位を決める有用な指標となる。

ソフトリソグラフィー技術を用いてポリジメチルシロキサン (PDMS) を減圧下で固化することで作製した微小なウェル (LP-PDMS micro-well)内でウシ胚を個別に培養すると複数胚(25 個)を単一の培養液滴(50  $\mu$ L)で培養(グループ培養)した場合と同等の割合で胚盤胞期に発生することを示した(Saeki ら, WCAP, 2008)。この方法は Vajta et al (2000)が開発した the well of the well (WOW)あるいは従来の大気圧中で固化する方法で作製した micro-well (AP-PDMS)で培養した場合より発生率が高いことも明らかにした。AP-PDMS での低発生率は、素材が多孔性であるため、培養 3 日目以降の培養液の浸透圧が約2倍に上昇することが発育能低下の一因と思われた。一方、LP-PDMS では無孔性となるため浸透圧に変化がなく、微小環境と相まって個別培養でも発育能が低下しなかったと考えている。さらに、庄ら (JSFI, 2011)は LP-PDMS micro-well の直径が個別に培養したウシ胚の発生成績に及ぼす影響を検討し、直径 250~350  $\mu$ m が適していることを明らかにした。

そこで、直径 300  $\mu$ m の LP-PDMS micro-well でヒト胚の個別培養を行い、胚盤胞への発育能を調べた結果、従来の個別培養に比べ、発生率が高く、グループ培養と同等であったことから、ヒト胚の培養においても、LP-PDMS micro-well が有効であることが明らかにされた(Hashimoto et al., 2012)。

次に、LP-PDMS micro-well では 1 胚ずつ胚を一定の位置に固定して培養できるため、顕微鏡内蔵型インキュベータと組み合わせて、胚の経時的な発育変化を 1 胚ずつ調べることができた。その結果、形態的に良好な胚盤胞に発育した胚は形態が不良な胚盤胞に発育した場合に比べ、第二卵割が同期化していること(3 細胞から 4 細胞に要する時間が短いこと)、第三卵割も同様であることが明らかになった(Hashimoto et al., 2012)。また、8 細胞に到達する時間も発育能を予測する指標となることも明らかになった。これらの結果から、第二卵割、第三卵割の同期化を指標に良好な胚盤胞への発育を予測できることが示唆されている。

胚の個別培養系と経時的な形態変化観察を組み合わせることにより、分割期での胚の選別精度の向上が期待される。

橋本 周

1989年 京都大学農学部卒業

2001年 京都大学大学院より農学博士取得

1989年 雪印乳業(株)受精卵移植研究所、生物科学研究所研究員

医薬品生産を目的として形質転換動物(マウス・ラット・ウシ)を作製。

2002年 (株)ワイエスニューテクノロジー研究所、(株)ワイエス研究所主任研究員

形質転換マウス・ラット・ウサギを作製

2004年 医療法人三慧会 IVF なんばクリニック研究部長

2005年 第23回日本受精着床学会事務局長

2008年 日本繁殖生物学会賞受賞

2009年 日本哺乳動物卵子学会学術奨励賞受賞