

沖縄, 2017. 06. 02-03

ヒト着床前期胚のミトコンドリア機能の変化

橋本 周¹、山中昌哉¹、矢持隆之¹、井上正康¹、中岡義晴¹、森本義晴²

¹IVF なんばクリニック、²HORAC グランフロント大阪クリニック

目的: マウスやウシ着床前期胚の酸素消費量 (OCR) は発育に伴い著しく増加する。一方で、ミトコンドリア DNA (mtDNA) コピー数はマウスでは一定であるのに対し、ウシやブタでは一旦低下し、その後増加する。ヒト胚の mtDNA コピー数がどのように変化するか、また mtDNA と OCR との相互関係も不明である。

方法: 2004 年 7 月から 2014 年 11 月に採卵を実施し、患者夫婦から研究利用の同意が得られたサンプルを使用した (日産婦登録番号 135 と 138)。成熟卵子と胚 116 個の OCR と mtDNA コピー数を測定し、サンプルあたり、細胞あたりの両方で評価した。成熟卵子から胚盤胞期胚の OCR をマイトトキシシン (FCCP と cyanide) の存在、非存在下で測定した。mt での OCR (mtOCR) は薬剤非存在下での OCR と cyanide 存在下での OCR との差とし、mt での最大 OCR (maxOCR) は FCCP 存在下での OCR と cyanide 存在下での OCR との差とした。OCR 測定後、real-time PCR により mtDNA コピー数を計測した。また、卵子と胚の cytochrome c oxidase (CCO) 活性の有無を調べた。発育ステージと mtOCR と mtDNA コピー数との関係を解析した。3 群以上の比較は Kruskal-Wallis 検定、2 群間の比較は Fisher の直接確立法により解析した。

結果: 発育に伴い、mt 内膜の構造は発達し、mtOCR と maxOCR は桑実胚期、さらに胚盤胞期で急激に上昇した ($p < 0.01$)。サンプルあたりの mtDNA コピー数はいったん低下し、胞胚腔の形成に伴い増加した ($p < 0.01$)。細胞あたりの mtDNA コピー数は細胞分裂に伴い減少した ($p < 0.01$)。mtDNA あたりの mtOCR は mtDNA 数の増加に先立ち、桑実胚期に向けて上昇した ($p < 0.01$)。CCO 活性の高い mt の割合は発育に伴い増加し、特に TE 細胞で高かった ($p < 0.01$)。

結論: ヒト初期胚における mt での酸素消費能はその発育に伴い、上昇した。しかし、mtDNA コピー数はいったん減少し、胞胚腔の形成前に、mt での ATP 合成能が急激に高まり、その後 mtDNA コピー数が増加した。mt 機能の変化に基づき、胚が求めるエネルギー基質が適切に提供できる培養環境の構築につなげていきたい。

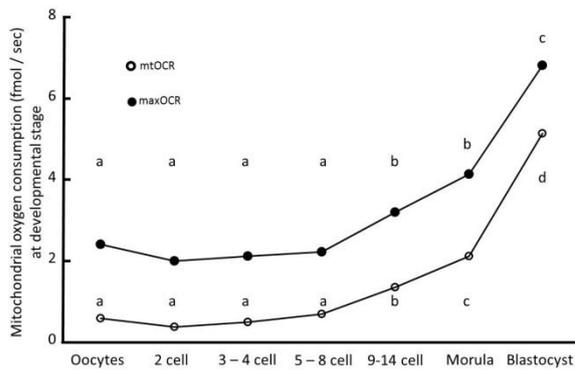


図1. 初期胚の発育に伴い、mtOCRならびにmaxOCRが増加した。p < 0.01 by Steel-Dwass following Kruskal-Wallis ANOVA.

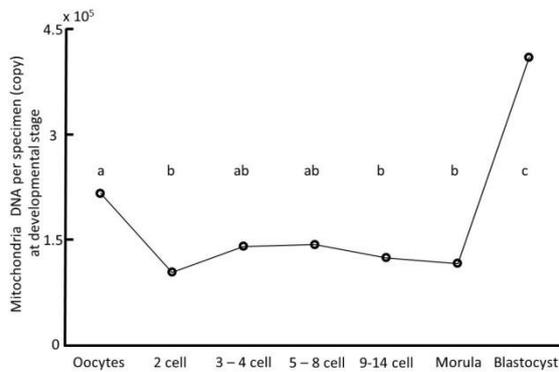


図2. 受精後、桑実胚期までサンプルあたりのmtDNAコピー数は低下し、胞胚腔の形成に伴い、上昇した。p < 0.01 by Steel-Dwass following Kruskal-Wallis ANOVA.

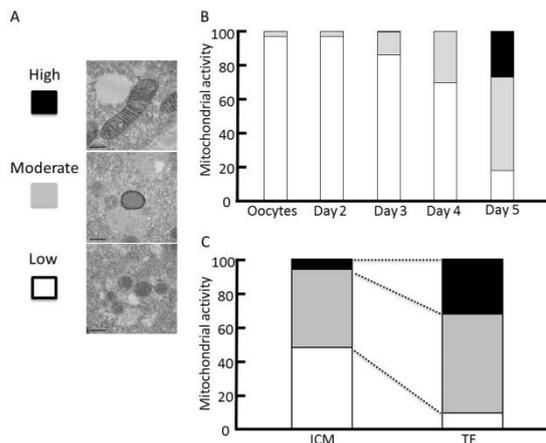


図3. A: CCO 活性の高い mt: high. 低い mt: low. 中間の mt: moderate. B: 胚の発育に伴い CCO 活性の高い mt の割合が増加した。C: TE では CCO 活性の高い mt の割合が高かった。