

女性ドナー年齢依存的に低下したヒト桑実胚のミトコンドリア機能は培養液への L カルニチン添加により回復する

橋本 周<sup>1</sup>、森本真晴<sup>1</sup>、山中昌哉<sup>1</sup>、中野達也<sup>1</sup>、佐藤学<sup>1</sup>、中岡義晴<sup>1</sup>、森本義晴<sup>2</sup>

<sup>1</sup>IVF なんばクリニック <sup>2</sup>HORAC グランフロント大阪クリニック

### 【目的】

女性の加齢に伴い、受精卵のミトコンドリア (mt)機能が低下するかどうか、また、L-carnitine 添加により mt 機能が回復するかを調べた。

### 【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 ならびに 138)。14 個の成熟卵子と受精卵 68 個の酸素消費量(OCRs)と mtDNA コピー数を測定した。成熟卵子から胚盤胞期胚の OCRs をマイトキシンの存在、非存在下で測定した。mt での OCRs (mtOCRs)は薬剤非存在下での OCRs と cyanide 存在下での OCRs との差とした。OCRs 測定後、qPCR により mtDNA コピー数を計測した。

次に、同一患者(17 症例)から得られた凍結受精卵を培養液内への L カルニチン添加群と未添加群に分け、L カルニチン添加が酸素消費量に及ぼす影響を調べた。また、臨床データを使用して、桑実期胚から胚盤胞への発育能とドナー年齢との関連性ならびに L カルニチン添加の効果を解析した。結果は t 検定あるいは分散分析後 Tukey-Kramer 検定により解析した。

### 【結果】

桑実胚における mtOCRs は既報通りドナー年齢の上昇と共に減少した( $R^2=0.45, P<0.05$ )。一方で、卵子、6-8 細胞期胚、胚盤胞期胚では年齢による影響は認められなかった。また、ドナー年齢は卵子ならびにどのステージの受精卵の mtDNA コピー数に影響しなかった。培養液への L カルニチン添加により、桑実胚での酸素消費量は増加したが( $P<0.05$ )、mtDNA コピー数は変化しなかった。臨床データの後方視的解析から、女性ドナー年齢依存的に桑実胚から胚盤胞への発育が低下した。さらに、培養液への L カルニチン添加により形態良好胚盤胞形成率が改善した。

本研究の結果よりドナー年齢の上昇に伴う桑実胚期の酸素消費量の低下が L カルニチン添加により改善する可能性が示された。