

母体の加齢に伴い、胚盤胞で異常な紡錘体構造の出現が増加する

橋本 周、天羽杏実、井上正康、中岡義晴、山縣一夫、森本義晴

目的: 女性は 35 歳以上になると、妊娠率の低下だけでなく流産率も増加すること、および周産期リスクも増加することが知られている。生殖医療においても、移植した胚の着床率、そして生産率が低下する。これらは加齢による卵子の染色体異数性の増加や受精後の胚発育の低下に起因すると考えられている。しかし、そのクリティカルな時期やメカニズムに関しては不明な点が多い。本研究では、母体年齢と着床前期胚（受精後 5 日目の胚）の紡錘体構造との関連、移植後の胚の着床能、およびその後の発育と年齢との相関を解析した。また、着床前期の胚で生じた紡錘体の構造異常がその後どのように細胞分裂するかを観察し、異常な紡錘体構造が検出された胚の染色体数を array comparative genomic hybridization (aCGH) により解析した。

方法: 1) 受精後 5 日目に発育した胚盤胞期胚を凍結融解後 1 個移植した 727 症例の予後をもとに母体年齢別（28-40 歳）に後方視的に解析した。2) 研究用に提供された 154 個の着床前期胚を抗- α -tubulin 抗体、抗- γ -tubulin 抗体、および DAPI により免疫染色し、紡錘体の構造を解析した (Hashimoto et al., 2013)。異常な構造を呈する紡錘体の年齢別（30-40 歳）出現率を解析した。3) 研究用に提供された 36 個の 1 細胞期胚（受精後 1 日目の胚）の細胞質内に RFP とヒストン H2B の融合タンパクをコードする cRNA を注入し、15 分ごとに染色体の挙動を観察した。そのうち 17 個が胚盤胞期胚に発育したので、その染色体の正常性を aCGH により解析した。実験 1) と 2) に関して回帰分析を行った。

結果: 1) 加齢とともに着床率 ($r^2 = 0.82$, $P < 0.0001$)、心拍検出率 ($r^2 = 0.82$, $P < 0.0001$)、および 9 週以降の妊娠継続率 ($r^2 = 0.75$, $P = 0.0001$) が低下し、流産率も増加する傾向が認められた ($r^2 = 0.30$, $P = 0.055$)。2) 加齢とともに異常な紡錘体率が増加した ($r^2 = 0.59$, $P < 0.01$)。特に、単極構造の紡錘体が増加する傾向を示した ($r^2 = 0.29$, $P = 0.071$)。3) 胚発育と年齢との関連は認められなかったが、紡錘体形成異常を呈した胚では発育の遅延、停止、そして分裂異常が観察された (図)。また、17 個中 12 個で染色体数は正常であった (70.6%)。残り 5 個のうち 4 個が染色体数異常で 1 個が染色体構造異常であった。

結論: 加齢とともに胚移植後の発育能の低下し、紡錘体構造の異常も増加した。活性酸素生涯により単極構造の紡錘体が増加することが報告されていることから、加齢に伴い細胞内で活性酸素障害が誘起され、単極構造の紡錘体が増加する可能性が示唆される。1 細胞から 5 日間の染色体の挙動変化を観察したところ、ドナー年齢による影響は認められなかったが、紡錘体形成異常が観察された胚では発育遅延ならびに停止、細胞分裂異常が認められた。

Hashimoto et al., Hum Reprod 2013, 28:1528-1535.