

密度勾配遠心法と Swim-up 法を組み合わせた精液処理法における超微細構造レベルでの異常形態精子の除去効率について

富田和尚^{1,2}、山中昌哉¹、佐藤学¹、橋本周¹、中岡義晴¹、細井美彦²、森本義晴¹

- 1) 医療法人三慧会・IVF なんばクリニック
- 2) 近畿大学大学院・生物理工学研究科

[目的]

不妊治療における精液処理では、良好運動性・形態精子を効率よく回収すること重要となる。体外受精における精液処理は密度勾配遠心法もしくは Swim-up 法により行われる。現在、処理の簡便さと処理後の成績から、多くの施設で密度勾配遠心法が採用されている。一方、当院では、運動精子の回収率が単独の方法と比べてよいとされる密度勾配遠心法と Swim-up 法を組み合わせた処理を行っている。このコンビネーション法では運動精子回収率が改善されたことは報告されているが、光学顕微鏡レベルで良好形態精子の回収率が改善されたという報告はない。そこで本研究では、コンビネーション法における超微細構造レベルでの異常形態精子除去効率について検討した。

[方法]

2007年4月-5月までに体外受精を実施した16症例を対象に検討を行った。平均年齢は男性：38.5±4.3歳、女性：39.0±5.6歳であった。精液処理方法は80%パーコールに原精液を重層し600g、300分間遠心分離を行い、その後、下層サンプルを培養液で370g、10分間 washing した。その下層サンプルに培養液を1.0 mL 重層し37°C、30分間 Swim-up を行った。処理後の余剰原精液を original fraction、washing 後 swim-up した後の下清サンプルを lower fraction、上清を upper fraction として回収し、電子顕微鏡にて形態解析を行った。解析は各 fraction ごとに頭部、尾部それぞれ100精子について解析し、fraction ごとの各種異常形態率について算出した。頭部については、7種の形態：vacuole、acrosomal alteration、disrupted membrane、head deformity、double head、condensation failure、immature を異常形態とした。尾部は、3種の形態：lack of centriole microtubule pair、mitochondria、both centriole microtubule and mitochondria を異常形態とした。

[結果]

頭部形態異常：nuclear vacuole、acrosomal alteration、head deformity について upper fraction における異常率は original、lower fraction よりも低かった。尾部形態異常：lack of centriole microtubule pair、mitochondria、both centriole microtubule and mitochondria についても同様に upper fraction で異常率が最も低かった。Original fraction における各種頭部形態異常率と upper fraction における形態異常率から算出される減少率は、nuclear vacuole(58.3%)、acrosomal alteration(63.3%)となり他異常形態よりも低かった(vs. 91.1-100.0%, P<0.05)。

[結論]

密度勾配遠心法と swim-up 法を組み合わせた処理により、超微細構造レベルの異常形態を持つ精子が密度勾配遠心法単独の場合と比べ、効率よく除去できる可能性が示唆された。一方で、コンビネーション法によって処理された検体でも nuclear vacuole や acrosomal alteration のような異常形態は比較的除去効率が低いことが示された。これらの異常形態を効率的に除去する方法の必要性が考えられた。