

第 12 回関西出生前診療研究会

2012.02.25、兵庫

共焦点レーザー顕微鏡を用いたライブセルイメージングシステムによるヒト胚染色体動態の観察

IVF なんばクリニック

中岡義晴、橋本周、天羽杏実、前沢忠夫、西澤知佳、大西洋子、姫野隆雄、井上朋子、伊藤啓二郎、森本義晴

大阪大学微生物病研究所

山縣一夫

【目的】細胞の染色体分析は、ある一時点での固定標本または抽出された DNA を用いた方法が広く行われている。一方、共焦点レーザー顕微鏡の進歩に加え、生細胞を用いたタイムラプスイメージングシステムの開発により、生細胞における細胞内諸器官の動態を経時的に観察することが可能となった。今回、そのイメージングシステムをヒト胚に応用し、前核期胚から胚盤胞期胚までの胚発育過程において染色体の動態を観察した。

【方法】当院において患者廃棄希望のある凍結前核期胚を対象とした。この研究は院内倫理委員会および日本産科婦人科学会倫理委員会の承認を得て実施した。融解後の前核期胚の細胞質内に、ピエゾマイクロマニピュレータを用いて EGFP- $\alpha$ -tubulin(緑)、Histone H2B-mRFP1(赤)をコードする 2 種類のメッセンジャー RNA を注入し、5% O<sub>2</sub>、5% CO<sub>2</sub>、90% N<sub>2</sub> の培養環境下にて胚盤胞期まで培養した。その間 15 分ごとに蛍光画像を撮影し染色体の動態を観察した。

【成績】核および細胞分裂の異常所見として、1) 細胞内に複数の核が存在する多核、2) 細胞分裂後に取りこぼされた染色体によって生じた微小核、3) 1 細胞から、3 細胞などの 2 細胞以外に分裂する異常分裂が確認された。大部分の割球に多核を有する胚の中には、形態良好な 8 細胞期胚に発育するものが認められたが、胚盤胞にまでは発育しなかった。発育良好な胚には、核の異常の頻度が低かった。

【結論】ライブセルイメージングシステムによりヒト胚の染色体動態を観察することができた。ヒト胚の発生過程においては、様々な核の異常が生じていることが判明した。その中でも多核が高頻度で認められる胚の発生は非常に悪いことがわかった。