

第30回日本受精着床学会

2012.08.30-31 大阪

ヒト初期胚発育過程における染色体挙動変化の可視化

橋本 周¹、中岡義晴¹、天羽杏実¹、中野達也¹、山縣一夫²、森本義晴¹

IVF なんばクリニック¹

大阪大学微研²

【目的】初期胚発育過程での染色体異常発生機構を調べるためにヒト胚の染色体挙動変化を記録し、発育成績との関連を調べた。

【方法】本実験は日本産科婦人科学会倫理委員会の承認を得て、十分なインフォームドコンセントの後、凍結前核期胚 33 個を使用した。緑色蛍光タンパク(EGFP)と α -tubulin タンパクを融合した EGFP- α -tubulin をコードする mRNA と赤色蛍光タンパク(RFP)とヒストン 2B を融合した H2B-mRFP1 をコードする mRNA を受精卵細胞質に注入した。mRNA 注入胚の染色体挙動をインキュベータ内蔵の共焦点レーザー顕微鏡(横河電機産業)で、6 μ m 間隔で 20 枚の画像を 15 分間隔で 120 時間撮影した。発生した胚盤胞は形態良好と不良とに分類した。形態良好胚盤胞 2 個の染色体を microarray-based comparative genomic hybridization (aCGH)により解析した。

【結果】mRNA 注入胚のうち 11 個(33%)が胚盤胞期に到達し、染色体挙動変化の画像撮影に成功した。そのうち 5 個(44%)は形態良好胚盤胞に分類され、既報(Hashimoto, 2011)通りそれらの第二卵割 (3-4 細胞)・第三卵割 (5-8 細胞) の時間はそれぞれ一致していた。形態不良胚盤胞では染色体分裂と細胞分裂が一致しないケースが多数観察された。また、Y 字型紡錘体形成後、3 割球に分裂する胚細胞も観察され、その後の染色体変化も記録できた。胚盤胞に発育した胚すべてで 2 細胞期に多核割球(MNB)が観察されたが、形態良好胚盤胞では 3 細胞期以降 MNB は観察されず、aCGH 解析を行った 2 個とも正常な核型を示した。

【結論】ヒト胚においても mRNA を注入し 5 日間共焦点レーザー顕微鏡で撮影しても発育能を損なわず、染色体の挙動を記録できた。2 細胞期で MNB が出現しても、その後の染色体分裂に異常がなければ形態良好な胚盤胞に発育し、染色体異常を有さないことがあることも示された。経時的なヒト初期胚の染色体の観察が可能となり、染色体異常発生の機構を探るツールとなることが期待される。