

第 54 回 日本卵子学会

2013.05.25-26、東京

卵巣刺激方法、母体年齢、卵母細胞直径がヒト未成熟卵母細胞の ATP 量に及ぼす影響
Effect of method of ovarian stimulation, maternal age and oocyte diameter on ATP
content of human immature oocytes

後藤 大也¹、橋本 周¹、天羽 杏実¹、矢持 隆之¹、岩田 尚孝²、森本 義晴¹

Hiroya GOTO¹, Shu HASHIMOTO¹, Ami AMO¹, Takayuki YAMOCHI¹, Hisataka
IWATA², Yoshiharu MORIMOTO¹

¹ IVF なんばクリニック、² 東京農業大学

¹IVF Namba clinic, ²Tokyo University of Agriculture

[目的]

ATP は卵母細胞をはじめとする細胞のエネルギー基質であり、卵母細胞の ATP 量が卵母細胞の成熟能、受精能、発生能に大きく影響する。また、卵母細胞のミトコンドリア機能は、その ATP 量やミトコンドリア膜電位より推し量ることが可能である^(1,2)。一方で、卵母細胞のミトコンドリアを含む細胞内小器官を人為的に損傷させることで成熟能や発生能が低下することから、ミトコンドリア機能の低下が卵母細胞の成熟能や発生能の低下の一因ではないかと報告されている^(3,4,5)。そこで、本研究では、未成熟卵のミトコンドリア機能を推測するため、卵巣刺激周期で、あるいは体外成熟培養後、成熟しなかった卵母細胞の ATP 量を測定した。また、測定した未成熟卵母細胞の ATP 量は、卵母細胞のステージ、卵巣刺激方法(卵巣刺激 vs 自然周期 vs 体外成熟)、年齢、卵母細胞の直径を因子として比較した。

[方法]

直径 18mm 以上の卵胞を複数個確認し、hCG 5,000IU 投与後、36 時間で採卵し、成熟していなかった卵母細胞(体内未成熟卵)、ならびに直径約 10mm の卵胞から採卵し 26 時間体外成熟を行ったものの成熟しなかった卵母細胞(体外未成熟卵)を十分なインフォームドコンセントの後に研究に供試した。未成熟卵母細胞のステージは GV 期、M1 期であった。サンプリングの前に、未成熟卵母細胞を裸化したのちに、卵母細胞の直径を測定した。サンプリングは未成熟卵母細胞ごとに個別に行い、測定するまで-80℃で保存した。未成熟卵母細胞の ATP 量の測定は『細胞の』ATP 測定キット(TOYO Ink)を用いて、その発光量をルミノメーターで測定した。既知の ATP 量を含有するスタンダードの発光量をもとに各未成熟卵母細胞の ATP 量を算出した。本研究では全部で 176 個の未成熟卵母細胞の ATP を測定した。データは student T-test を用いて解析を行った。

[結果]

未成熟卵の ATP 量は、GV 期 6.7 ± 0.4 pM ($n = 110$)、M1 期 6.2 ± 0.5 pM ($n = 66$)であり、未成熟卵のステージによる統計的な差は認められなかった($P > 0.05$)。卵巣刺激方法による未成熟卵の ATP 量は、体内未成熟卵である刺激周期 5.0 ± 0.3 pM ($n = 66$)と自然周期 4.4 ± 0.3 pM ($n = 32$)とで統計的な差は認められなかった($P > 0.05$)。一方で、体外未成熟卵の ATP 量は、 8.6 ± 0.5 pM ($n = 79$)と、体内未成熟卵(4.8 ± 0.2 pM, $n = 97$)よりも ATP 量が高かった($P < 0.05$)。また、患者の年齢と卵母細胞の ATP 量には、相関が認められなかったものの母体年齢の加齢に伴い低下する傾向が認められた(年齢; 25-45 歳, $n = 176$, $r^2 = 0.02$, $P = 0.06$)。さらに、卵母細胞の直径も同様に、未成熟卵の ATP 量と相関が認められなかった(直径; 107.5-135 μm 平均 120.5 ± 0.5 μm , $n = 147$, $r^2 = 0.01$, $P = 0.2$)。

[まとめ]

体外未成熟卵の ATP 量は、体内未成熟卵よりも有意に高かった。一方で、それ以外の因子では ATP 量の違いや相関は観察されなかった。

[参考文献]

- 1) Van Blerkom et al., Hum. Reprod. 10, 415–424. 1995.
- 2) Wilding et al., Hum. Reprod. 16, 909–917. 2001.
- 3) Thouas et al., Biol. Reprod. 71, 1936–1942. 2004.
- 4) Takeuchi et al., Biol. Reprod. 72, 584–592. 2005.
- 5) Zhang et al., Cell Res. 16, 841–850. 2006.