

第 54 回 日本卵子学会

2013.05.25-26、東京

染色体異常を生じたヒト分割期胚の解析

FISH analysis of the human embryo with chromosomal abnormality.

小林 亮太¹、大垣 彩¹、片岡 信彦¹、藤岡 聡子¹、森 梨沙¹、井田 守¹、福田 愛作¹、森本 義晴²

Ryota KOBAYASHI¹, Aya OHGAKI¹, Nobuhiko KATAOKA¹, Satoko FUJIOKA¹,
Risa MORI¹, Mamoru IDA¹, Aisaku FUKUDA¹, Yoshiharu MORIMOTO²

¹IVF 大阪クリニック ²IVF なんばクリニック

¹IVF Osaka Clinic ²IVF Namba Clinic

【目的】

近年、マイクロアレイ法を応用したアレイ CGH 法 (CGH) や胚の連続観察を行うタイムラプス解析から、ヒト胚は様々な異常を想像以上に高い頻度で起こしていることが明らかとなっている。染色体異常の多くはトリソミーやモノソミーに代表される異数性の染色体異常であり、形態良好な胚でもその異常が報告されている。これら染色体異常が生じる機構として、配偶子形成過程または細胞分裂過程における染色体の不分離が知られている。配偶子形成過程で生じた染色体異常は、受精分割を通じて胚全体に影響を与える。一方で、細胞分裂過程で生じる染色体異常は胚モザイクを生じ、その影響が一部の細胞にとどまる可能性もある。ただ、胚モザイクの発生は、一部の細胞を解析する着床前診断 (PGD) の診断精度に大きな影響を与えるが、その詳細な検討はなされていない。本研究は、異数性染色体異常を持つ胚を解析し染色体異常の生じる機構を明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】

患者の同意が得られた廃棄希望凍結胚のうち、形態良好な 3 日目胚の割球生検を行い、採取した 1 割球を CGH に供した。その中から異数性の染色体異常が認められた 3 胚 (A 胚; 5 番染色体モノソミー、B 胚; 18 番染色体モノソミー、C 胚; 13 番染色体トリソミー) を研究の対象とした。異常が認められた 3 胚は透明帯を除去後、漸進固定法により割球標本を作成、FISH 法を用いて他の割球における染色体数を調べた。コントロールには、3 胚とともに正常二倍体を示した 8 番染色体でセントロメアプローブを用いた FISH を行った。

【結果】

A 胚 (5 番染色体モノソミー) は Veeck 分類における Grade2 の 9 分割胚であった。割球の

1つを CGH に供し、残り 8 個で固定標本を作成した。5 番染色体サブテロメアプローブを用いた FISH は 87.5%(7/8)でシグナル数 1 個のモノソミー、12.5%(1/8)でシグナル数 2 個を示した。コントロールは 100.0%(8/8)シグナル数 2 個だった。

B 胚(18 番染色体モノソミー)は Veeck 分類における Grade3 の 7 分割胚で、6 個の割球で固定標本を作成したが 1 つは無核であった。18 番染色体セントロメアプローブを用いた FISH は 100.0%(5/5)でシグナル数 1 個のモノソミーを示した。コントロールは 100.0%(5/5)でシグナル数 2 個だった。

C 胚(13 番染色体トリソミー)は、Veeck 分類における Grade2 の 10 分割胚で、9 個の割球で固定標本を作成した。13 番染色体セントロメアプローブを用いた FISH は 88.9%(8/9)でシグナル数 3 個のトリソミーであり、11.1%(1/9)でシグナル数 2 個を示した。コントロールは 100.0%(9/9)でシグナル数 2 個だった。

【考察】

解析した 3 個の染色体異常胚は、ほぼ全ての割球で CGH の結果と同様の染色体異常を示した。このことから、この染色体異常発生の主たる機構は、卵子および精子の配偶子形成過程に起因し、どちらかが染色体異常を保有していたことが示唆された。本研究では、形態良好な胚が細胞分裂過程で一部の細胞に染色体異常を生じさせる可能性も想定されていた。しかし、今回の実験からは明確なモザイク胚を得ることはなかった。これは、本実験が単一の異数性染色体異常を生じた胚を解析したため、このような染色体異常が配偶子形成過程でより生じやすいと考えられる。一方で、染色体の部分欠損や部分重複を持つ胚は複数の染色体異常を生じているため今回の実験の対象からは除外したが、本検討結果より細胞分裂過程で生じる染色体異常は、そのような胚により多く含まれる可能性を示唆するものである。今後、染色体の部分異常を含む胚を解析し、胚モザイクを生じる機構をさらに検討していく必要がある。