

ブタ卵子体外成熟における Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-15 の効果

矢持 隆之<sup>1)</sup>、橋本 周<sup>1)</sup>、天羽 杏実<sup>1)</sup>、後藤 大也<sup>1)</sup>、Robert B. Gilchrist<sup>2)</sup>、Jeremy G. Thompson<sup>2)</sup>、森本 義晴<sup>1)</sup>

1) IVF なんばクリニック

2) The Robinson Institute, Research Centre for Reproductive Health, School of Paediatrics and Reproductive Health

【目的】

卵巣内にある未成熟卵を体外で成熟させる体外成熟(In vitro maturation: IVM)は、実験動物や家畜で開発され、現在ではヒト不妊治療においても応用されている。しかしながら、自然周期やホルモン刺激により得られる体内成熟卵子に比べ、IVM で得られる成熟卵子の発生能は低く、その改善が求められている。近年、卵子から分泌される Oocyte secreted factor(OSF)により、発生能が改善できることが報告されている。本研究では、ブタ卵子を用いて、IVM 培養液への Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-15 (rhBMP-15)の添加が、卵子の生存性、成熟能、IVM 後の発生能へ及ぼす効果について検討した。

【材料及び方法】

春季発動前のブタ卵巣にある、直径 2-6 mm の卵胞から、吸引により卵丘細胞卵子複合体 (Cumulus cell Oocyte Complexes: COCs)を採取した。COCs を 0.02AU/ml FSH、10IU/ml hCG、500µg/ml dbcAMP、50µM β-メルカプトエタノール、1µg/ml E<sub>2</sub> 含む POM (Yoshioka et al., 2008)に 100ng/ml rhBMP-15 の添加した培養液で 22 時間培養し、さらに 50µM β-メルカプトエタノールを含む POM に 100ng/ml rhBMP-15 を添加した培養液中で 24 時間 IVM を行った。対照区として、同様の条件で rhBMP-15 を添加せず IVM を行った。IVM 後、0.01%ヒアルロニダーゼ及びピペッティングにより、COCs から卵丘細胞を取り除き、第 1 極体の放出を指標として、卵子の成熟を決定した。得られた成熟期卵子に、電気刺激による単為発生及び顕微授精を行い、発生能の検討を行った。

【結果】

IVM 培養液へ rhBMP-15 を添加した結果、IVM 後の卵子の生存率(対照:86% v.s. rhBMP-15:88%)、生存卵子の成熟率(81% v.s. 81%)に差は見られなかった。得られた MII 期卵子に電気刺激による単為発生を行った結果、前核形成率(58% v.s. 57%)、卵割率(56% v.s. 60%)、胚盤胞到達率(39% v.s. 44%)と差は認められないものの、胚盤胞到達率の向上が観察された。また、顕微授精を行った結果、正常受精率(47% v.s. 51%)、卵割率(54% v.s. 53%)、胚盤胞到達率(27% v.s. 32%)と、単為発生と同様に差は認められないものの、胚盤胞到達率の向上が観察された。

【考察】

本研究の結果、rhBMP-15 は卵子の生存や、核成熟に悪影響を及ぼさないことが示された。また、わずかではあるが発生能の向上が認められ、細胞質成熟を促す可能性が示唆された。これらの事から、ヒト IVM においても、rhBMP-15 による卵子の発生能の改善が期待できるのではないかと考えられた。