

第 58 回日本人類遺伝学会

宮城県、2013. 11. 20-23

共焦点顕微鏡を用いたライブセルイメージングによるヒト多核胚の発生能の検討および array CGH による染色体解析

Developmental potential in embryos with multinuclear blastomeres using confocal live-cell imaging system and their chromosomal analysis by array CGH

中岡義晴、橋本周、天羽杏実、山縣和夫、赤松芳恵、中野達也、中平理恵、姫野隆雄、井上朋子、伊藤啓二郎、森本義晴

【目的】蛍光タンパクを産生する RNA の使用により長期間蛍光が持続し、目的とする細胞内諸器官を共焦点顕微鏡にて経時的に詳細に観察することが可能となってきた。今回、培養胚の核および紡錘糸を蛍光染色し共焦点顕微鏡下にその動態を観察することにより、胚の多核とその胚発生能、さらに染色体異常との関連性を検討した。

【方法】患者廃棄希望のある凍結前核期胚を対象とし、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。前核期胚を融解後、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)をコードするメッセンジャーRNA を細胞質内に注入した。培養装置・共焦点顕微鏡一体型ライブセルイメージングシステムを用いて胚盤胞までの核動態を観察した。さらに、一部の胚盤胞の染色体を array CGH を用いて解析した。

【成績】RNA を注入した前核期胚 46 個のうち、41 個 (89%) が少なくとも 4 細胞まで、17 個 (37%) が胚盤胞まで発育した。多核胚は 2 細胞期に 78%、4 細胞期に 66%と高率に認められた。多核の有無による胚盤胞到達率は、2 細胞期胚でそれぞれ 34%、67%、4 細胞期胚では 19%、86%と、4 細胞期胚で多核を有しない胚の胚盤胞到達率が有意に高かった。

また、2 細胞期に多核を認めた胚 32 個のうち、9 個 (28%) は 4 細胞期で多核を認めず、そのうち 7 個 (78%) が胚盤胞まで発育した。

染色体分析を行った胚盤胞 10 個のうち 9 個は異常を認めなかった。

【結論】多核は初期胚に高率に発生すること、また、一部は胚発育に伴い消失することが観察された。4 細胞期胚での多核の有無が胚の viability を評価する有効な指標となることが示された。さらに、多核の存在は必ずしも胚の染色体異常を意味しているわけではないことが示された。