

超音波パルス波の胎児・母体生理に及ぼす影響に関する研究

— 超音波パルス波の受精卵に及ぼす影響 —

岡山大学医学部産科婦人科学教室

関 場 香・丹 羽 国 泰
赤 松 信 雄

岡山大学農学部家畜繁殖学教室

内 海 恭 三

1. 研究目的

我々は、昭和50年度より52年度まで、臨床用パルス波発生装置 Aloka US I-10 (搬送周波数: 2.25MHz, パルス幅: 約3 μ 秒, くり返し周波数: 500 Hz) と凹面振動子 (直径: 30mm, 曲率半径: 100 mm) とを使用して、集束超音波パルス波を発生させ、ICR系マウス、Wistar系及びDA系ラットの着床前胚に対して照射した。パルス波照射により着床前胚に形態学的異常や発育遅延などの異常の増加を *in vitro* で観察すると共に、着床前胚の子宮内移植により、着床障害、流早産、外表奇形、胎内発育遅延の増加をも観察検討してきた。その結果、臨床用パルス波発生装置の出力では、凹面振動子によりパルス波を集束させて、被照射野での超音波強度を上昇させても、着床前胚及びその後の発育中に前述のような異常の増加を起こさないことが判明した。

そこで我々は、パルス波の音響強度を上昇させることにより、着床前胚に何らかの異常、特に変性の増加や発育遅延が出現するのではないかと考え、より大きい超音波強度を持つパルス波の照射を行なった。

2. 研究方法

着床前胚は、Wistar系ラットの交配後4日の妊娠ラットの子宮及び卵管を摘出して、後述の培養液により、卵管采より子宮までを灌流して着床前胚を採取した。(flushing method) 交配後4日(受精後90時間前後)のラット着床前胚の発育ステージは、late morula early blastocystであった。

卵管と子宮との灌流、パルス波照射中及び照射後の培養には、修正 Krebs-Ringer-Buffer と同種不活性血清を 3:1 に混合した上に 5% CO₂・95% 空気を平衡させた培養液を使用した。

パルス波発生装置は、当研究班により規格化した装置 USP-1型を使用した。搬送周波数は 2 MHz, パルス幅は 3 μ 秒, 5 μ 秒, 10 μ 秒, くり返し周波数は 250 Hz, 500 Hz, 1000 Hz である。振動子は、PZT製、直径15mmの円板状平面振動子を使用した。

パルス波平均音響強度の測定を直径 1.0 cm, 重量 4.29グラムの鋼球を用いて行なった。振動子より鋼球までの距離は 9 cm とした。

パルス波照射実験系は、昭和50年度よりの実験系とほぼ同様とした。(図1, 2) 即ち、

(1) 採取した着床前胚を鏡検して、未受精卵や部分変性などの異常のあるものを除外する。

(2) Roseの密封培養器内に、図1のように直径10mm以内の扁平球形の培養液の小滴を作る。尚、Roseの培養器後面を成す Silicon Coated Glassは、パルス波の音響強度が大きいため直進流が起り、着床前胚が移動することを少なくするためにホールグラスとした。

(3) 着床前胚を at random に二分して、Roseの密封培養器中の培養液中の培養液に置く。

(4) 合成樹脂性の水槽内に脱気水を満たし、サーモスタットにより水温を37°Cに一定にする。

(5) 振動子と着床前胚との距離が9 cmになるよう脱気水中に固定する。

(6) パルス波発生装置の full power にして、Roseの培養器に封入したサーミスターの示度が最高になる部位を探がし、中心軸と固定した。

(7) Roseの培養器の一方を振動子の中心軸上の超音波強度が最大となる部位に置き、他方を超音波を遮蔽した同一水槽内の他の部位に置いた。

(8) 超音波強度及び照射時間を設定して、パルス波照射を施行した。

(9) パルス波照射後に Rose の培養器内の着床前胚を鏡検して、変性、膨化、顆粒化などの着床前胚の形態学的異常の有無と胚の発育ステージを観察した。

(10) Rose の培養器により着床前胚を取出して、microdroplet 法により、37°C、5% CO₂・95% 空気、湿度 100% のガス恒温培養器内にて培養を続けながら、適時、鏡検を行ない、上述形態学的異常や発育ステージについて観察を行なった。

本年度は、パルス幅 10 μ 秒、繰返し周波数 1000 Hz、平均音響強度 30 mW/cm²、ピーク平均音響強度 3 mW/cm² のパルス波を連続 12 時間照射した。照射開始時間は交配後 96、99 時間であった。

3. 研究結果

パルス波照射直後の着床前胚の形態学的異常と交配後 5 日までに expanding blastocyst にまで発育した頻度及びその後を含めて expanding blastocyst にまで発育した頻度を表 1 に示す。

照射直後の形態学的異常の出現頻度、expanding blastocyst にまで発育した頻度共に差は認められなかった。

	照射群	対照群
実験回数	5	
ラット数	9	
着床前胚数	35	41
交配後 4 日のラット着床前胚の発育ステージ		
late morula	34	34
early blastocyst	1	7
パルス波 12 時間照射後の形態学的異常		
全体変性	0	0
一部変性	2	1
顆粒化	0	0
expanding blastocyst にまで発育した胚の頻度		
交配後 5 日	40.0%	48.8%
全観察期間中	80.0%	75.6%

4. 考察

昭和 50-52 年度の臨床用パルス波照射実験の際の焦点平均超音波強度は、約 2.2 mW/cm² であったが、今年度は、その 10 数倍の平均超音波強度のパルス波照射を行なった。実験回数は少ないが、パルス波照射の影響は認められず、この平均超音波強度のパルス波照射では副作用はないと考えられる。

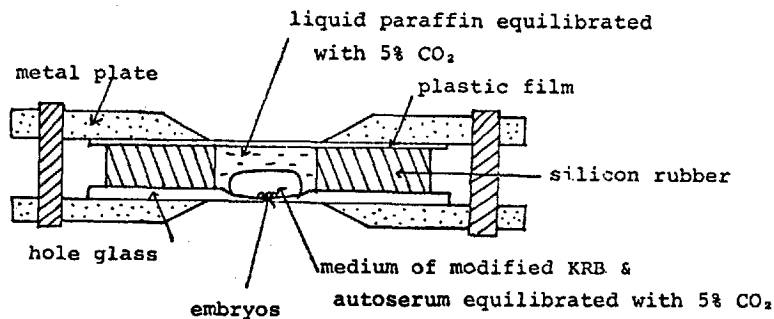
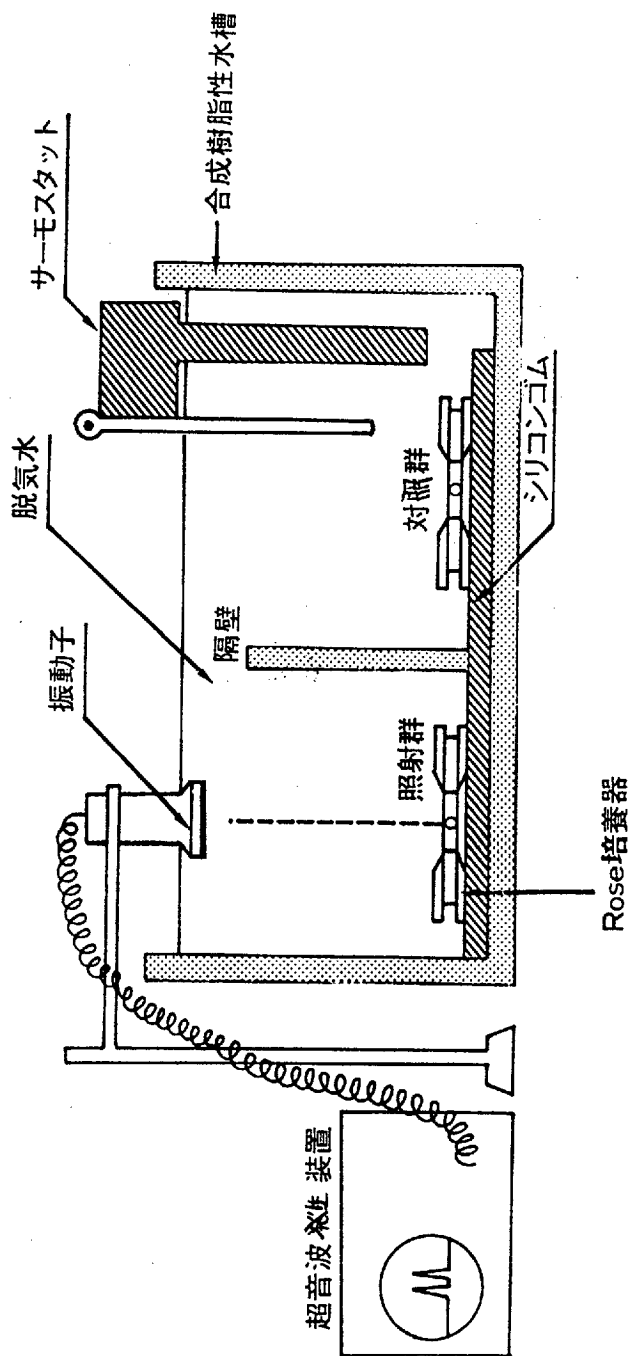
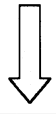


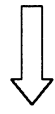
図 1 パルス波照射中の密封培養器
(Rose の培養器及びホールグラス)





検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



1. 研究目的

我々は,昭和 50 年度より 52 年度まで,臨床用パルス波発生装置 Aloka USI-10(搬送周波数;2.25MHz,パルス幅;約 3 μ 秒,くり返し周波数;500Hz)と凹面振動子(直径;30mm,曲率半径;100mm)とを使用して,集束超音波パルス波を発生させ,ICR 系マウス,Wistar 系及び DA 系ラットの着床前胚に対して照射した。パルス波照射により着床前胚に形態学的異常や発育遅延などの異常の増加を *in vitro* で観察すると共に,着床前胚の子宮内移殖により,着体障害,流早産,外表奇形,胎内発育遅延の増加をも観察検討してきた。