

3 高年令妊娠による心身障害発生に関する研究

③ 高年令卵の異常と先天異常

東邦大学医学部 産婦人科教室

岩城 章 清水 工 経
野 沢 あき子

研究目的

妊娠初期の自然流産卵の約半数に染色体異常が認められ、このような異常卵は妊娠を継続し得ず、流産へと自然淘汰されることはよく知られている。しかし他方ではダウン症候群などのような明らかな異常児が分娩し、生存、発育成長することは衆知の事実である。また高年令婦人よりの出生児には、ダウン症候群のみならず他の異常児の多発の可能性も伺える。これら先天異常の原因となる異常卵の発生については不明の点が多い。

本研究では、高年令における着床前の卵の異常について検索することを目的としているが、この時期の卵の回収は、ヒトでは開腹もしくは内視鏡施行例のうち限られたごく一部にしか応用できず、非常に困難である。したがってヒト卵の回収は方法論的には卵胞卵の回収がもっとも容易であるが、高令婦人、排卵誘発剤または阻止剤使用の婦人に対して、卵に及ぼす影響を検討する目的だけで開腹することはできない。我々は内視鏡(クルドスコピー)による採卵器具を開発し、卵を採取、培養し観察しているが、本研究の対象となり得る症例数が少なく、ヒト卵の検索に関しては次年度以後の課題としてもちこしている。今回は老令ラットを用い、その4日目胞胚について形態学的観察を行ない、染色体を分析し、また移植などの基礎的実験を試みたので、その結果について報告する。

実験材料および方法

25℃、湿度60%、自然光で飼育した白色ウイスター系令道ラットを用いた。なお飼料は繁殖用を使用した。研究対象の老令群は11~16ヶ月で2~3回経産のものを、対象群は生後3~10ヶ月で未経産のものとした。膈脂垢にて性周期を観

察し、発情前期のものを交配させる。Donorに対する雄は生後10ヶ月までのものを用い、Recipientに対する雄は精管結紮し、精液検査で精子を認めないものを用いた。Donorでは精子および腔栓の有無、Recipientでは腔栓の存在で交尾を確認してから実験に供した。DonorとRecipientは同日に同調、交尾させ、交尾日を0日とし、4日目の午前9時までに子宮より胞胚を実体顕微鏡下に回収し、その形態を観察、撮影したのち、染色体分析、移植実験などを行なった。

1. 染色体標本作成法

若令・老令Donorから回収した胞胚を30%胎児仔牛血清、アルブミン(2g/l)、コルセミド(0.06μg/ml)を加えたMEMで4~5時間(5%CO₂飽和、37℃)培養した胞胚をスライドガラス上に展開、美甘の方法に従って、染色体標本作製した。本研究ではaneuploidyの分析はせず、主としてpolyplaidyについてのみ検討した。

2. 移植実験

老令Donorからの胞胚を若令Recipientに移植し、移植後10日間に開腹し、着床胎児数を数えた。コントロールとしては若令Donorから若令Recipientに移植したものをを用いて比較した。移植方法は大体Noyesらの方法に従った。すなわちHamiltonのマイクロシリッジ(100μl)にガラス製毛細管ピペット(内径150~170μ)を装着し、流入流量を0.1μlとなるようにして、子宮腔内へ卵を移植した。

実験結果

1. 基礎成績

(1)性周期の規則性：性周期に失調をきたしたものの、何回か mating を行なったが交尾せず、そのうちに発情前期が発来しないため、本実験に使用できなかったものが、若令群で112例中1例(1%弱)、老令群では84例中43例(51%)にみられた。また卵回収をした若令群56例中2例(3.6%)が、老令群では24例中8例(27.6%)が不規則周期を示したものであった。

(2)交尾率：成功率は若令群で324回中209回65%、老令群では216回中43回20%であった。

(3)卵回収率：第1表にみられる如く若令群では86%、老令群では72.5%であり、前者における回収率がやや高かった。なお両群における正常周期群、不規則周期群に分けて回収率を検討したが不規則周期群が正常周期群より低いという結果は得られなかった。

(4)異常卵：若令群では56匹のラットから635個の卵を回収し、その全例が受精卵で、そのうち21個が異常受精卵であった。すなわち3.3%が異常であった。一方高令群では29匹のラットから得た219の卵のうち196個が受精卵であった。そのうち96個が異常受精卵であり未受精卵の23個を加えた49個が全体の異常卵であり、22.4%を占めている。受精卵の異常率は若令群3.3%、老令群13.2%である。

また不規則周期群では卵に異常が多発するという結果は認められなかった。

(5)個体当りの回収卵数：1個体当りの回収卵数および正常胞胚数は若令群および老令群において11.3、10.9と7.5、5.8であった。

2. 染色体分析

若令ラット7匹から得た91個中83個を染色体分析に供し、1卵に対し2個以上の精子侵入を認めたものは8個9.6%であった。老令群10匹から109個中81個を分析、2個以上精子侵入を認めたもの18個22.2%であった。3倍体は若令群では83例中0で、老令群では81例中3例3.7%であった。

3. 移植成績

若令から若令へ移植したコントロール群では17匹から203個の卵を得、移植し、61個の着床

胎児が数えられ、移植率は30%であった。老令から若令へ移植した群では7匹から80個の卵を回収、移植して21個の胎児が着床し、26%であった。

考 察

以上ラットを用いて、種々の検討を試みたが、高令化に伴ない、性周期の異常と失調が認められ、また性周期が正常であるにもかかわらず、交尾率は明らかに低下し、黄体数も減少した。さらに正常性周期で正常に交尾しているにもかかわらず、卵回収が不能であった症例が増えている。Harmann & Talbertはマウスにおいて、12~60時の卵管卵の異常率を比較し、老令群で14%、若令群21%と発表し、若令群における高頻度の異常卵を報告している。しかし本実験では老令群における異常卵の増加が明らかであった。特に未受精卵が増加していることは排卵または受精機構に何らかの変化を来していることが伺える。また受精卵における多精子およびTriploidyの増加などはZona Reactionの低下などが考えられる。

我々の実験では高令群および若令群の卵の着床率には差は認められなかった。ただし我々の対照群の着床率は約30%であり、他の報告者より低いので、本成績の同率のみで両者の卵に異常がないと断言することは現在までの成績ではできず、さらに例数を増して検討したい。

要 約

妊娠初期流産ではPolyphoidyなどの発生異常や、高年令婦人ではダウン症候群など染色体異常に起因する先天異常がかなりの頻度で起っている。これらの異常卵の発生については不明な点が多く、排卵から受精、着床にいたる初期発生の検索が重要である。ヒト卵ではいろいろ困難があるので、ラットを用いて実験した。老化に伴ない、性周期の失調、廃絶がみられ、交尾率、個体当りの卵数の低下がみられ、異常卵が増加した。染色体分析では、若令群でも多精子受精卵はみられるが、老化と共に多精子侵入卵が増し、また3倍体もみられた。このことは多精子受精の反応の低下

によるためと思われる。性周期をもとにした内分泌的背景と、老化による卵の異常との関係を考えてみると、性周期は正常でも老化の初期にすでに卵に何らかの異常をきたす要因が含まれていると思われる。

五十一年度実験計画

ヒト卵(主とし卵胞卵)を採取して、その染色体の高・若令層での分析、および高・若令ラット4日胞胚を用いて、種々の薬物を附加して培養し、移植後の児の影響の検索を推めたい。

表 1 若 令 群 老 令 群

	総数 56 (例数)	正常周期 54	不規則周期 2	総数 29 (例数)	正常周期 21	不規則周期 8
黄 体 数	731	708	23	302	216	86
卵 子 数	635	610	22	219	151	68
回 収 率	86%	86.1%	95%	72.5%	69.9%	79.1%
受 精 卵 数	635	610	22	196	128	68
(異常受精卵数)	21	20	1	26	14	12
未 受 精 卵 数	0	0	0	23	23	0
異 常 卵 数	21	20	1	49	37	12
異 常 率	3.3%	3.2%	4.5%	22.4%	24.5%	17.6%
(受精卵中の異常率)	〃	〃	〃	13.2%	10.9%	17.6%
個 体 当 平 均 卵 数	11.3	11.2	11.0	7.5	7.1	8.5
個 体 当 正 常 卵 数	10.9	10.9	10.5	5.8	4.3	7

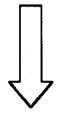
染 色 体 分 析

表 2 多 精 子 侵 入 率

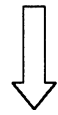
	例数	卵数	1卵	1精子	1卵	2精子<	多倍体	%
若 令	7	83/91	75/83	90.3%	8/83	9.6%	0/83	0%
老 令	10	81/109	63/81	77.7%	18/81	22.2%	3/81	3.7%

表 3 受 精 卵 移 植 成 績

	実験例数	移植卵数	着床胎児数	%
若 → 若令	17	203	61	30
老 → 若令	7	80	21	26



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



研究目的

妊娠初期の自然流産卵の約半数に染色体異常が認められ,このような異常卵は妊娠を継続し得ず,流産へと自然淘汰されることはよく知られている。しかし他方ではダウン症候群などのような明らかな異常児が分娩し,生存,発育成長することは衆知の事実である。また高年令婦人よりの出生児には,ダウン症候群のみならず他の異常児の多発の可能性も伺える。これら先天異常の原因となる異常卵の発生については不明の点が多い。