

高年令妊娠による心身障害発生に関する研究

高年令卵の異常と先天異常

東邦大学医学部産婦人科学教室

岩 城 章 野 沢 あき子

研究目的

高年令妊婦よりの出産児にダウン症候群などの異常児が対照群より多発することはよく知られている。しかし高年令婦人において着床前の卵が既に異常を来している頻度が若年令婦人の場合より高いが否かを研究することは研究方法的に非常に困難である。そこでウィスター系今道ラットを用いて着床前の胞胚について回収成績、形態的所見、染色体分析、移植実験成績などを検討し、その成績については50年度研究報告書に述べたごとくである。この際11～16ヶ月の動物を老令動物としたが、老令動物卵に多精子侵入卵が多く、また比較的若い老令動物卵に多倍体が存在することに驚き、例数を増してなお一層よく検討する必要を感じた。また移植実験では老令動物卵を若令動物に移植した場合、若令動物卵を若令動物に移植した対照実験との間に着床率に相違がなかった成績を得たが、若令から若令への着床率30%はコントロールの成績としては低値であり、その向上を待っての成績を比較しなければならぬと記した。今年度においても高年令動物着床前の卵の異常が多発するか否かを明らかにするのを目的としたが、主として上記の点について検討した。

実験材料および方法

前年度報告と略同じである。補足する点は次の如きである。

1. 老令動物は12～14ヶ月のものをを用いた。
2. 移植法

草野科学製のマイクロシリンジ(10 μ l)にシリコンコーティングしたガラス製毛細管ピペット(内径150～170 μ)を装着する。移植時の注入液量が0.1 μ lぐらいになるように調整してにおいて(液柱4.5～6mm)、ピペット内に卵を採取する。Recipientをラボナールとエーテル麻

酔下にて脊側より切開し、子宮に外筒付注射針22G(アロエメディカル)で穴をあけ、この穴を通してピペットを子宮腔に挿入し、卵を移植する。一匹のDonorからの卵は一匹のRecipientの両側の子宮に移植する。移植後、卵のどりのこしの有無を実体顕微鏡下でpipettingして検査する。

実験結果

1. 基礎成績

(1) 性周期の規則性：若令動物の95匹中71匹(74.7%)が正常周期を示し、老令動物では91匹中51匹(56.1%)であった。若令、老令両群とも正常周期を示す動物の割合は昨年より低値であった。卵回収に使用した動物については若令群では50匹中47匹(94%)、老令群では46匹中38匹(83%)が性周期の規則性を提した。

(2) 交尾率：若令動物では145回中73回(50.4%)が交配に成功し、老令群では123回中29回(23.6%)であった。

(3) 卵回収率：表1のごとく若令群よりの回収率は93.9%、老令群よりのそれは56.5%であり、両者に明瞭な差が認められた。昨年度の成績でも差が示されているが、本年度ではこの差がさらに顕著になっている。また不規則周期群での回収率は昨年度と同様に規則周期群のそれに劣ってはいなかった。

(4) 異常卵：若令群では50匹のラットから568の卵を回収し、そのうちに1個の未受精卵を認めた。受精卵中の異常卵は35個であり、全体で36個(6.3%)である。一方老令群では46匹から306の卵を回収し、異常卵は58個(19.0%)であった。そのうち未受精卵が4個異常受精卵が54個である。また不規則周期群で

異常卵が特に多発するという事はなかった。

(5) 平均黄体、回収卵数：個体当りの平均黄体数は若令群で12.1，老令群で11.7であって、差は認められない。しかし平均回収卵数は若令群で11.3，老令群で6.6と明らかな差を認めた。

(6) 回収卵が12個以上の場合：若令群の平均黄体数、平均回収卵数を参考にして、個体当たり9回収卵数が12個以上の場合を分析してみると、かかる動物は若令群では31匹、老令群では26匹であった。平均回収卵数は両者とも14個であるが、異常卵の割合は若令群で5.2%，老令群では12.7%であった。

2. 多倍体の分析(第2表)

若令ラット20匹から得た245卵中209個を、老令群では10匹からの105卵中88個を分析したところ、1卵に対して2個以上の精子侵入が認められたのは若令群では34卵(16.3%)老令群では19卵(21.6%)であり、差が認められなかった。また昨年度においては老令ラットからの胞胚3個に多倍体を認めているが、本年度においては若令動物および老令動物の両群ともまったく認められなかった。しかし老令群では metaphase の認められない卵が4個あり、いずれも15細胞以下の卵であった。

3. 移植成績(第3表)

若令動物卵を若令動物卵に移植した対照群では16匹から回収した175個の卵を移植し、101個の着床胎児が数えられ、その移植成功率は57.7%であった。老令動物から若令動物へ移植した群では9匹から回収した89個の卵を移植し、37個が着床し、移植成功率は41.6%であった。

考 察

動物の高令化に伴う reproductive capacity の低下は卵自身の異常の増加または環境すなわち、卵巣や卵管、子宮などの reproduction に応ずる条件が老令化に伴って悪化することなどが考えられている。我々は昨年度において移植実験、基礎実験成績および染色体分析などから老令動物群に異常卵および多精子侵入卵の増加、多倍体の存在などを認めた。これらにより、いわゆる高令動物において性周期が正常でも既に卵の退行

変性が発生していることが伺えた。しかし研究目的で述べたごとき点で更に検討する必要があると思えたので、主としてそれらについて実験を進めた。

移植卵の着床率の優劣を左右する因子は幾つかあるが、注入液量も少量にすることが重要であるといわれている。我々は液量が0.1 μl になるように工夫したが、前年度の成績では対照群の着床率が30%であり、その成績向上がせまられた。子宮壁へのピペット挿入、抜去にも細心の注意が必要であり、ようやく対照群での着床率を57.7%に上げることができた。この時点での老令群から若令群への移植成績は41.6%である。Blaha はハムスターを用いた実験で42.5%と4.5%の結果を得、両者間に大きな差が存在することを報告しているが、本実験ではそれ程の差は認められず、マウスの4日胚を用いた Talfert & Krohn の報告に近い成績であった。回収卵中の異常卵の頻度を考慮して、正常胞胚だけに限ってみると、着床率の57.7%と41.6%には大差はない。むしろこの時期まで発育した正常と思われる胞胚では若令動物卵、老令動物卵に着床能力に大差がないと考えてよいであろう。

老令動物卵の21.6%に多精子侵入卵を認め、昨年と同様な成績を得た。しかし若令群においては昨 years を大分上回る16.3%に多精子侵入卵を認めた。昨年の対照群に比し本年度では性周期の規則性、交配の成功率が劣っており、これが多精子侵入卵増加の原因に関係するのかと考えたが、染色体分析に用いた動物の大部分が正常周期のものであるから、多精子侵入卵の増加と直ぐには結びつかず、この増加の原因は現在不明である。多倍体は老若令両群ともに1例も発見されず、多倍体分析の結果では若令群と老令群との間に差は認められなかった。昨年度は11~16ヶ月の動物を用いて実験したが、11~12ヶ月の例にも多倍体を認め、多精子侵入卵への頻度差も存在したので高令化の比較的早期に卵自体に退化変性を来していると考え、本年度はその時期として一応12~14ヶ月にしぼって分析した。これが多倍体が1例も発見できなかった原因とも考えられ、16ヶ月以上の動物を実験対象とすれば、昨年度と同

様な発現であったかもしれない。あるいは多倍体の頻度はこの二年間を平均した数値もしくはそれ以下が真の値かもしれない。

このように移植実験、多倍体分析結果では若令群と12～14ヶ月の老令群との間に著差が認められないが分裂像の認められない卵の存在、基礎実験成績にみるごとく異常卵が老令群に多発することは明らかである。なお12個以上の回収卵が得られ生殖能力が正常と思われた群であっても老令群には異常卵の増加が認められた。この二年間で11～16ヶ月のラットの4日胚に限って実験したが、もっと胚令の若い第一分割を含んだ卵管

卵から着床胎児までの追求が必要であり、それを基とした新生児の検討があって高年令卵の異常と先天異常の因果関係が明らかにされるであろう。

要 約

12～14ヶ月のウィスター今道系ラットを用い形態的所見、多倍体分析、移植実験成績などから若令動物卵と比較した。形態的異常卵が老令群で多発することは明らかであった。しかし多倍体分析、移植実験成績では対照群との間に著差は認められなかった。

表1 卵の回収成績

	若 令			老 令		
	総数 50	正常周期 47	不規則 3	総数 46	正常周期 38	不規則 8
黄 体 数	605	570	35	541	470	71
回 収 卵 数	568	535	33	306	260	46
回 収 率 (%)	94%	94%	94%	57%	55%	64%
異 常 受 精 卵 数	35	32	3	54	47	7
未 受 精 卵 数	1	1	0	4	3	1
異 常 卵 数	36	33	3	58	50	8
異 常 率 (%)	6%	6%	9%	19%	19%	17%
受精卵中の異常率(%)	6%	6%	9%	18%	18%	16%
平均黄体数	12	12	12	12	13	10
平均回収卵数	11	11	11	7	7	6
平均正常卵数	11	11	10	5	6	5

表2 多精子侵入と多倍体

	例数	卵数	1精子受精	2精子以上	多倍体
若令	20	209/245	175/209 84%	34/209 16%	0/209
老令	13	88/105	69/88 78%	19/88 22%	0/88

表3 受精卵移植成績

若→若令	実験例数	移植卵数	着床胎児数	%
老→若令	16	175	101	57.7
	9	89	37	41.6

↓ **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

高年齢妊婦よりの出産児にダウン症候群などの異常児が対照群より多発することはよく知られている。しかし高年齢婦人において着床前の卵が既に異常を来している頻度が若年齢婦人の場合より高いが否かを研究することは研究方法的に非常に困難である。そこでウイスター系今道ラットを用いて着床前の胞胚について回収成績,形態的所見,染色体分析,移植実験成績などを検討し,その成績については50年度研究報告書に述べたごとくである。