

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

研究目的

超音波パルス波は広く臨床診断に用いられており、その胚、胎芽、胎児に対する影響、特に安全性の確認は非常に重要な問題となっている。われわれは、昭和50年度より臨床用診断装置と凹面振動子を用いて発生させた集束超音波パルス波をマウス及びラット着床前胚に対して照射して、パルス波の着床前胚に対する影響を観察しているが、本年度はパルス波を照射したラットの着床前胚の子宮内移植を行ない、移植後の胚の発育を着床、胎内死亡、胎仔体重、胎仔外表奇形の面より検討中である。

研究方法

パルス波照射装置は、昭和50年度より実験に使用しているALOKA USI-10型（パルス波搬送周波数2.25 MHz、くり返し周波数500 Hz）と直径30 mm、曲率半径100 mmのPZT製凹面振動子を用いた。この装置のfull powerでの平均超音波強度は、 0.58 mW/cm^2 で、パルス幅は約3 μ 秒であり、凹面振動子により集束させた超音波の横方向音圧分布は実測によっても理論値に近似していた。したがって焦域面積は約 0.22 cm^2 であり、焦域平均超音波強度は約 2.2 mW/cm^2 、焦域最大超音波強度は約 9.5 mW/cm^2 と推定される。

着床前胚の採取は、DA系雄ラットと交配したWistar系雌ラットを交配後約4日（交配後96乃至99時間）に開腹して、卵管及び子宮を取り出し、これを後述の培養液にて灌流することにより行なった。着床前胚の発育ステージはlate moluraであった。

卵管及び子宮の灌流及び培養のためには、修正Krebs-Ringer緩衝液と同種不活化血清を2:1の割合に混合して、5% CO₂・95% 空気を平衡させたものを用いた。

採取した着床前胚を二分してそれぞれRoseの培養器中の培養液の小滴中に、直径1~2 mmの範囲に集めて置き、密封培養を行ないながら、37°C脱気水中で集束パルス波の音響強度が最高の部位にくるように一方のRoseの培養器を置き連続12時間にわたってパルス波を照射した。他方は同一水槽内で超音波を遮蔽した部位に置いて対照群とした。

超音波の音響強度が最高となる部位は、照射装置のCRTを用いて、Aモードで波高が最大となる部位を鋼球を用いて探した。

パルス波照射後にROSEの培養器より着床前胚を取り出し、位相差顕微鏡下で観察して、胚の発育ステージ、変性、膨化などの形態的变化を観察した。

次いでblastocoeleのある胚を、Wistar系精管結紮雄と交配させて偽妊娠状態にて同期化させたWistar系雌ラットの子宮内に移植。Recipientsを飼育し、交配後19日~19.2日に開腹して胎仔を得た。又着床跡、吸収中の胎仔の有無を観察した。胎仔は体重を測定した後外表奇形の有無を実体顕微鏡下で観察した。

研究結果

パルス波12時間照射直後の鏡検では、照射群、対照群共に膨化、変性などのパルス波照射の影響と考えられるような特異な形態的变化は観察されなかった。

blastocoele のある胚の子宮内移植により、照射群、対照群共 Recipients は 100% 妊娠した。移植された胚のうち照射群では 100% が着床し、うち 80% は生仔であり、20% は吸収されつつあった。対照群では 57.1% が着床し、うち 87.5% が生仔であり、12.5% が吸収されつつあった。生存胎仔体重は照射群では 1.089 g、対照群では 1.169 g であった。

実体顕微鏡下の観察では、照射群、対照群の生存胎仔は共に外表奇形が認められなかった。

考 察

本年度は未だ実験回数が少なく、さらに昨年度と同時刻に着床前胚を採取したにもかかわらず blastocoele ののはっきりした胚は認められず全部

が late morula であり、明らかに発育ステージが遅かったため、パルス波照射後の胚の発育ステージも遅く、移植可能な胚が少なかった。そのため統計的処理を行なっていないが、外表奇形は認められず、胎仔体重もほぼ同様であり、診断装置程度の出力では、パルス波の着床前胚に対する悪影響は認められそうにない。

要 約

交配後 4 日で採取したラットの late morula に対して、臨床用パルス波診断装置を凹面振動子により集束させたパルス波を連続 12 時間照射した後、Recipients の子宮内に移植し、着床胎内死亡、胎仔体重、胎仔外表奇形につき検討中である。

図 1 パルス波照射中の密封培養系 (ROSE の培養器)

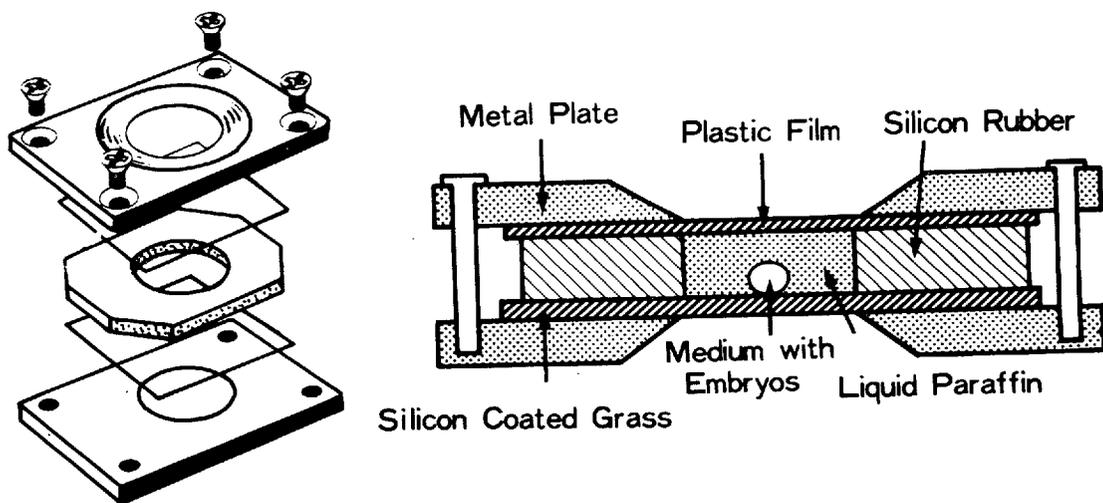


図2 パルス波照射実験系

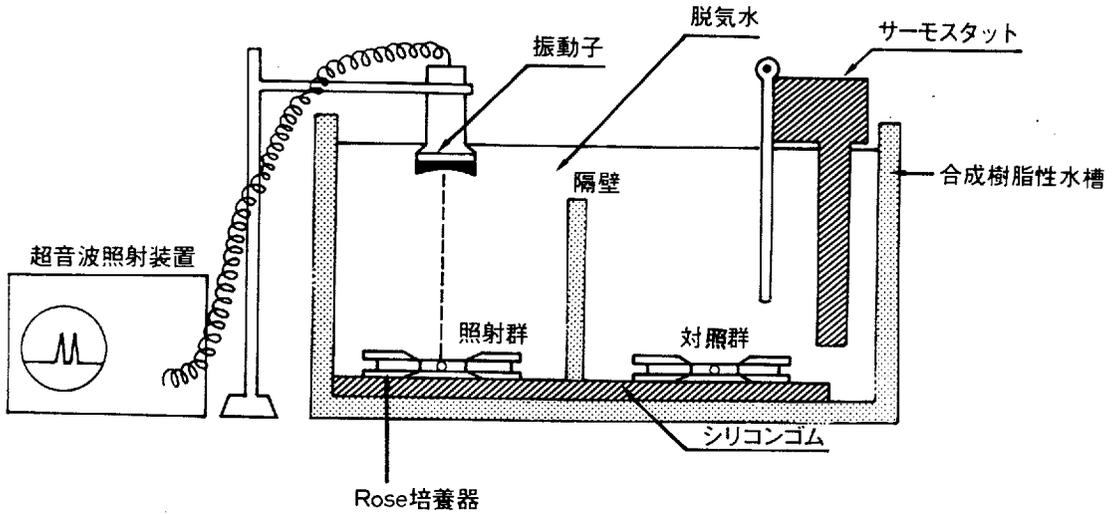


表1. パルス波照射前後の着床前胚の発育ステージ

| | 実験回数 | パルス波照射前 late morula | late morula (一部変性を含む) | early blastocyst | late blastocyst |
|-----|------|------------------------|--------------------------|---------------------|--------------------|
| 照射群 | 4 | 35 | 25 | 5 | 5 |
| 対照群 | 4 | 36 | 22 | 9 | 5 |

表2. パルス波照射後移植胚のOUTCOME

| | 移植回数 Recipient数 | 移植胚数 | Recipient 妊娠数 | 生存数 | 吸収 |
|-----|--------------------|------|------------------|---------|----|
| 照射群 | 4 | 10 | 4 (100%) | 8 (80%) | 2 |
| 対照群 | 4 | 14 | 4 (100%) | 7 (50%) | 1 |

↓
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

超音波パルス波は広く臨床診断に用いられており、その胚、胎芽、胎児に対する影響、特に安全性の確認は非常に重要な問題となっている。われわれは、昭和50年度より臨床用診断装置と凹面振動子とを用いて発生させた集束超音波パルス波をマウス及びラット着床前胚に対して照射して、パルス波の着床前胚に対する影響を観察しているが、本年度はパルス波を照射したラットの着床前胚の子宮内移植を行ない、移植後の胚の発育を着床、胎内死亡、胎仔体重、胎仔外表奇形の面より検討中である。