

性腺刺激ホルモンによる誘発排卵の受精 に及ぼす影響

北里大学獣医畜産学部
家畜育種繁殖学教室

豊田 裕

1. 研究目的

前年度の研究結果からゴナドトロピンによる誘発排卵は、投与量および投与間隔によっては、異常受精の出現に影響を与えることが示唆され、さらに詳細な細胞遺伝学的検討が必要と考えられた。そこで本年度は誘発排卵に由来する受精卵の染色体を第1卵割および第2卵割期に観察し異常の出現頻度について、自然排卵由来の受精卵と比較検討した。

2. 研究方法

研究方法の概要は表1に示す如くである。

(1) 実験動物、卵子提供雌としてC3H/He×C57BL/6J-at/atのF₁成熟雌マウス(5~7ヶ月齢)精子提供雄としてJCL:ICR系成熟雄マウス(4~6ヶ月齢)を用いた。

(2) 排卵の誘発

1) 自然排卵、4~5日の規則正しい性周期を示す成熟雌マウスについて膣垢像から排卵日を判定した。

2) 誘発排卵、成熟雌マウスに対し性周期の時期に関係なく5 i.u.PMSGと5 i.u.HCGを48時間間隔で腹腔内注射し、過排卵を誘起した。

(3) 受精卵の採取

1) 自然排卵、排卵日の夕方から雄を配し、翌朝の検査で膣栓または膣垢中に精子の認められた雌を、膣栓確認日(Day 1)の午後5時30分、または翌日(Day 2)の午後零時30分に殺し、卵管を灌流し、それぞれ1細胞期(前核期)および2細胞期の受精卵を得た。

2) 誘発排卵、HCG注射後15時間に雌を殺し、卵管膨大部から卵丘に包まれた状態の卵を採取し、直ちに精巣上体精子を用いてin vitroで受精させた。精子添加後それぞれ14時間(前核期)、または36時間(2細胞期)培養された卵を第1卵割期または第2卵割期の染色体観察に供した。

(4) 受精卵の染色体観察 Kamiguchi, Funaki & mikamo (1976)の方法に従って受精卵の染色体標本

を作製し観察した。

(5) 受精卵の培養試験、受精卵の発生能を比較するために自然排卵および誘発排卵由来の1細胞期(前核期)受精卵の一部を、96時間培養し、胚盤胞への発生を観察した。

3. 研究成果

実験に供された受精卵は表2に示すように自然排卵では291個、誘発排卵では383個であった。

(1) 受精卵の染色体数(表3)。① 自然排卵、第1卵割期における染色体標本作成に供した124個の卵のうち92個(74.2%)で、染色体の観察が可能であった。そのうち、83例(90.2%)は正常な2倍体(2n=40)の染色体を有していた。染色体数が異常であった9例の内訳は、3倍体1例、および異数体8例(低倍数体5例、高倍数体3例)であった。

一方、第2卵割期における染色体の観察に供した125個の卵では、75個(60%)について染色体標本の作成に成功し、70例(90.3%)には正常な数(2n=40)の染色体が認められた。異常例6例は、3倍体1例、異数体3例(低倍数体2例、高倍数体1例)、およびモザイク(41/39)1例であった。② 誘発排卵、第1卵割期における標本作成に供した135個の卵のうち、染色体の観察が可能であったのは、94例(69.6%)であった。その中で、87例(92.6%)は正常な2倍体の染色体数を有していた。異常例の7例は3倍体1例および異数体6例(低倍数体4例、高倍数体2例)であった。第2卵割期では検査に供した124例中69例(55.6%)において標本作成に成功し、そのうち62例(89.9%)は正常、7例は異常と判定された。異常例7例の内訳は、1倍体1例、3倍体1例、異数体(高倍数体)1例およびモザイク4例であった。

(2) 培養成績、培養に供した自然排卵および誘発排卵由来の受精卵それぞれ31および110例のうち、96時間後に胚盤胞に達したものは25例(80.6%)および94例(85.5%)であった(表2)。

4. 考 察

本研究の結果から、自然排卵および誘発排卵由来の受精卵において正常な2倍体の染色体数を有する卵の割合は、第1卵割期で90.2%および92.6%、第2卵割期ではそれぞれ93.3%および89.9%であり、両区間に差は認めなかった。異常例の内訳も両区でほぼ同じ傾向を示した。この結果は、96時間の培養によって両区ともに高率に胚盤胞へ達したことも符合する。いまだ例数が少なく、最終的な結論を導くことは困難であるが、少なくとも本研究で用いた実験条件下では誘発排卵は染色体数の異常の出現頻度を増加させる要因とはなっていないように思われる。また、本研究において自然排卵区は自然交配による体内受精卵を用い、誘発排卵区では体外受精法による受精卵を用いて両区間に差を認めなかったため、本研究で用いた体外受精法自体も異常受精出現を促す要因とはならないと思われる。

これらの成績は、誘発排卵が異常受精の出現の増加をもたらすことを示した従来の報告(マウス: Takagi & Sasaki, 1976, mardlin & Fraser 1977, ウサギ: Fujimoto, Pahlavan & Dukelow 1974,)とは必ずしも一致しないが、実験条件および動物の違いを考慮し、さらに広範囲な検討が必要と思われる。

5. 要 約

誘発排卵が受精卵における染色体の異常を招来するかどうかを知る目的で、C3H/HeとC57/BL/6J-at/atの間のF₁成熟雌マウスを用い、自然排卵およびPMSGとHCGの投与による誘発排卵由来の受精卵について第1および第2卵割期における染色体を観察した。その結果、いずれの区においても約90%の卵は正常な2倍体の数(2n=40)の染色体を有し、異常例の内訳もほぼ類似の傾向を示し、少なくとも本研究で用いた実験条件下では誘発排卵は受精卵における染色体の数の異常を増加させる要因とはならないと考えられた。

文 献

- (1) 豊田裕: 性腺刺激ホルモンによる誘発排卵の受精に及ぼす影響, 厚生省(昭52)
- (2) 豊田裕: 哺乳動物における試験管内受精, 代謝16巻(臨時増刊号)印刷中。
- (3) 福田芳詔・土田薫・細井俊江・笠井健吉・豊田裕: マウスにおける排卵数および排卵卵子の受精能に及ぼすPMSG投与量の影響について, 日不妊会誌 23, 600 (1978) 講演要旨。

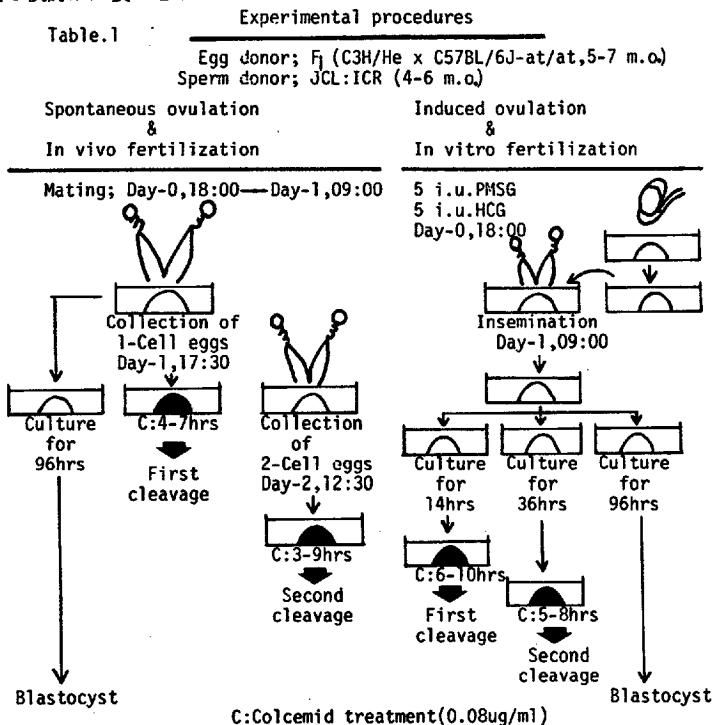


Table.2

A summary of eggs used

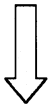
ovulation	fertilization	No. of animals used	Total number of eggs fertilized	No. of eggs used for analysis		No. of blasto ^(a) cysts/No. of eggs cultured(%)
				first	second	
Spontaneous	in vitro	40	291	124	125	25/31(80.6%)
Induced	in vivo	27	383	135	124	94/110(85.5%)

(a) Culture for 96hrs at 37°C 5%CO₂ in air

Table. 3

Comparision between spontaneous and induced ovulation

	Spontaneous ovulation		Induced ovulation	
	first cleavage	second cleavage	first cleavage	second cleavage
No. of embryos analysed	92	75	94	69
No. of embryos with normal chromosomes(%)	83 (90.2%)	70 (93.3%)	87 (92.6%)	62 (89.9%)
No. of embryos with numerical abnormalities(%)	9 (9.8%)	6 (8%)	7 (7.4%)	7 (10.1%)
No. of haploid	0	0	0	1
No. of triploids	1	1	1	1
No. of hypoploids	5	2	4	0
No. of hyperploids	3	1	2	1
No. of mosaics	0	1	0	4



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

前年度の研究結果からゴナドトロピンによる誘発排卵は、投与量および投与間隔によっては、異常受精の出現に影響を与えることが示唆され、さらに詳細な細胞遺伝学的検討が必要と思考された。そこで本年度は誘発排卵に由来する受精卵の染色体を第1卵割および第2卵割期に観察し異常の出現頻度について、自然排卵由来の受精卵と比較検討した。