

高年令婦人の妊娠による心身障害発生の防止 対策に関する研究

1. 高年令婦人の卵巣に関する形態学的研究
2. 卵子の老化過程に関する研究

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

鈴木秋悦・柏淵成一
北井啓勝・今川賢一郎

1. 研究目的

心身障害児発生と母体の加齢との相関は、疫学的にも実験生物学的にも実証されてきており、われわれも従来から、老化に伴う卵巣の形態変化を、光顕ならびに電顕レベルで検討し、本分科会でも、度々、これを報告してきた。しかし、加齢とともに変化する卵巣の機能的形態学には、なお、多くの問題点が残されており、心身障害児発生原因としての性腺の老化は解明されていないのが現状である。

昭和53年度の研究目標は、原則的には、昭和52年度の目標の継続研究であるが、さらに詳細な研究を目的として、種々の方法上の工夫を加味し、主として電顕レベルでの観察と、受精を中心とした多精子侵入機序の解明への基本的な研究を開始した。

2. 研究方法

(1) 高年令婦人の卵巣に関する形態学的研究

各種婦人科適応で開腹手術して摘出した卵巣の一部組織を資料とした。可及的に老令婦人卵巣について検討したが、老化に伴い卵子数の激減化から、標本の採取は、しばしば困難であり、資料作成上の努力を継続している。昭和52年度においては、採取した卵子を直ちに培養し、培養後の老化過程について、透過型ならびに走査型電顕を用いて、これを観察したが、昭和53年度も一部の卵子について、同様の実験を行った。

なお、本年度は、とくに卵胞構成因子の老化にともなう変化に注目し、内葉膜細胞、基底膜、顆粒膜細胞、卵子ならびに卵胞腔に関する系統的な観察を行った。

老令ラットを用いた動物実験も、昭和52年度に継続して行った。実験に供した老令ラットは、慶応義塾大学医学部実験動物センターならびに民間のセンターで飼育したものをを用いた。老化に伴う性周期の変化は、

生後16-17カ月のラットで確認されたが、膣スメアにて4-5周期観察後に実験に供した。なお、用いたラットはWister系ラットである。

(2) 卵子の老化過程に関する研究

昭和52年度に、われわれは、マウス卵子の *in vivo* ならびに *in vitro* における多精子受精の問題を、卵子の老化との関連で報告しているが、本年度は、さらに、卵子透明層の機能と老化の関連性から多精子受精機序解明への実験を開始した。

用いたマウスは、昨年と同様DDY系マウスで、一部ICSマウスを用いた。透明層除去法は、ヒアルロニダーゼ処理後、機械的あるいは0.1%トリプシンを用いて行った。また、体外受精に用いた精子は、精巣上体尾部より採取し、*in vitro* で2時間前培養して用いた。また、一部、ハムスター卵子をも用いた。

なお、電顕資料の作成法は省略する。

3. 研究結果

高年令婦人の卵巣に関する光顕レベルでの観察では、卵巣皮質部の非薄化、原始卵胞の減少と変性、卵巣皮質部の結合織の退行変性、胚上皮陥入囊胞の出現、血管の変化、白体の堆積などを確認しており、婦人の老化に伴う、卵巣組織の顕著な変化を明らかにしている。なお、電顕レベルでの観察については、卵胞基底膜の肥厚、卵胞周辺の線維化、顆粒膜細胞の退行変性像が明白となっているが、卵子については、卵子数の激減から、資料入手が困難であり、さらに検討をくわえている。

老令ラット卵巣に関する電顕の観察では、卵子のミトコンドリアの分布には、とくに差は認められなく、形態変化も、ほとんど差異はなかったが、表層顆粒は老令ラット卵子では、ほとんど認められなかった。ゴ

ルチ装置は、明らかに、その area が狭くなく、変性によると考えられる multi vesicular body が明らかに増加している。核については、明らかな変化は認められなく、透明層そのものの形態についても著変はなかった。卵実質膜の微絨毛については、その数が明らかに増加している印象を受けたが、その長さの変化については、なお、検討中である。

顆粒膜細胞では、核膜の不整形、細胞間隙の狭少化が顕著で、細胞質の空胞化、変性像が著明で、顆粒膜細胞から卵子への微絨毛は、ほとんど認められなかった。しかし、基底膜については、ほとんど変化が認められなかった。

卵子の老化過程、とくに、透明層に関する観察では、マウス正常卵子で授精後45-60分、マウス透明層除去卵子で、授精後30-45分、ハムスター透明層除去卵子へのマウス精子授精後30-45分で、精子と卵子細胞膜間の膜融合が開始され、マウス、ハムスターともに、透明層除去卵子に侵入した精子は、全て先体反応を完了しており、同種異種間を問わず、精子と卵子細胞膜の融合に、先体反応が必要条件であることが明らかとなった。

透明層の生物物理学特性についても検討している。

多精子受精については、マウス卵子では、in vitro の受精で、透明層 intact の状態でも10%前後の多精子受精が認められるが、蛋白分解酵素で透明層を除去した透明層 free の状態では、受精卵の60%以上に多精子受精現象を認め、透明層が精子侵入拒否反応に重要な役割を果していることが確認された。さらに、卵子の老化に伴う透明層変化を追求したい。

4. 考 察

老令ラット卵巢に関する電顕レベルでの形態変化を、主として観察したが、老化が如何なる機序で、心身障害児発生原因とつながるかという問題の解明には、多くの問題を残している。とくに、形態変化が卵子の機能、すなわち、交精、分割、分化の正常過程をどのようにして変化させていくかは、今後、解決すべき大きな課題である。

実験上の今後の方針としては、電顕的には、従来のオスミウム固定にくわえて、過マンガン酸カリウム固定を行い、老化に伴う細胞レベルでの研究をさらに進める。この方法によって、細胞膜の成分、ミトコンドリア、ゴルジ装置などの形態が、より解明となることから、形態変化がより著明に確認される見込みである。また、組織化学的方法を用いて、機能的変化をも併せ

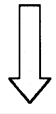
て検討している。組織化学に用いる酵素としては、膜の active transhort に関与していると考えられる ATP-ase さらに、広く物質代謝と関与し、ATP-ase と同様、膜の active transhort にも関与するとされる alkali phoshhatase を用いたい。この他、ライソゾームの marker として、さらに、ゴルジ、小胞体にも分布している acid phoshhatase や、血管系の変化を示すと思われる heroxidase にも注目して研究を進めている。

5. 要 約

高年令婦人の卵巢、とくに、顆粒膜細胞に著明な退行変性を形態学的に確認しているが、卵胞構成因子全体の老化の様相に注目して研究を進めた。また、卵子そのものの老化過程に関する検討としては、多精子受精の問題を、透明層機能の点から検討した。

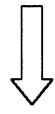
6. 発 表 文 献

- (1) 霊長類の生殖と成長・発達に関する研究会、第3回、時間生物学的観点から“初期発生における問題”昭和53年12月15日 犬山。
- (2) 第229回日本産科婦人科学会東京地方部会例会特別講演“先天異常発生原因とリプロダクション”昭和54年2月17日 東京。
- (3) 第58回日本産科婦人科学会関東連合地方部会総会“受精前後における精子ならびに卵子の形態変化”昭和54年6月24日 東京(発表予定)。



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

心身障害児発生と母体の加齢との相関は、疫学的にも実験生物学的にも実証されてきており、われわれも従来から、老化に伴う卵巣の形態変化を、顕微鏡レベルで検討し、本分科会でも、度々、これを報告してきた。しかし、加齢とともに変化する卵巣の機能的形態学には、なお、多くの問題点が残されており、心身障害児発生原因としての性腺の老化は解明されていないのが現状である。