

10・4 卵子の染色体異常誘発原の研究

旭川医科大学生物学教室

美 甘 和 哉

上 口 勇次郎

舟 木 賢 治

ま え が き

数的染色体異常の大部分は配偶子形成期あるいは初期卵割期に起こる。従って、その生成原・生成機序の解明には発生初期での染色体研究が極めて重要である。しかし、この分野の従来の研究には実験動物の選定、実験条件の設定、卵の染色体標本作製技術等、研究の最も基礎となる部分で重大な欠陥が目立つ。したがって、上述の方法論的改良を計り、これに基づいて種々の突然変異原の染色体異常誘発能を個体レベルで的確に評価することが今後最も重要となろう。

研 究 目 的

我々が、方法論的検討・改善を十分行ってきたことは前年、前々年の報告で述べた通りで、今年には以下の染色体異常誘発機序の検討を実施した。

1) 第2卵母細胞期、1細胞期、2細胞期に生じる染色体異常の種類及び出現頻度を正確に調査し、生成時期、生成機序別にみた各種染色体異常の自然発生率を明らかにする。

2) 上記のシステムを用いて、母体の加齢、誘発排卵、紡錘体形成阻害物質の染色体異常誘発能を検討する。

研 究 方 法

最適条件下で繁殖・育成されたチャイニーズハムスターから以下の方法で得た卵について、我々の開発した漸進固定・空気乾燥法を用いて染色体分析を行った。

1) 母体の加齢：生後5-8ヶ月（対照群）、16-19ヶ月（老齢群）の

雌を用い、正常4日の性周期を確認した個体の卵子または受精卵のみを用いた。したがって、母体の加齢以外の染色体異常誘発原の混入を極力排除することができた。

2) 誘発排卵：発情期の午後2時にPMS 0.1 IU/g B.W. を腹腔内注射し、48時間後にHCG 0.2 IU/g B.W. を同様に投与した。さらに20時間後、排卵された第2卵母細胞を採取した。

3) コルヒチン投与：第1成熟分裂再開直後（発情前期の日の午後5：30）に3 μ g/g B.W. のコルヒチン（分裂を完全には阻害しないが、紡錘体形成に影響を与える量）を腹腔内注射し、翌日、排卵された第2卵母細胞を採取した。

研 究 結 果

1) 染色体異常自然発生率：合計468頭の母獣から得られた第2卵母細胞1747卵（分析率92%）、1細胞849卵（96%）、2細胞574卵（97%）が核型分析された。生成時期、生成機序別にみた各種染色体異常の出現率は表1（対照群）に示すとうりである。すなわち、卵子第1成熟分裂期染色体不分離頻度は第2成熟分裂期のその2倍であり、両者を合せた卵核ゲノム異常による異数体は精核のそれより有異に高い（ $P < 0.05$ ）。一方、構造異常では両者の間に差はない。一倍体はすべて雌性単為発生によるものである。三倍体では2精子受精による二精核三倍体が最も多く、次いで巨大二倍性卵子の受精による二卵核性三倍体、そして生成機序不明のもの順になっている。

2) 母体の加齢と染色体異常：合計190頭の老齢母獣から得た第2卵母細胞438卵、1細胞309卵、2細胞319卵の分析結果を表1（老齢群）に示した。染色体不分離は卵子第1成熟分裂期と第1卵割期に有意に増加するが、第2成熟分裂期では増加しない。また、高数性と低数性の出現頻度はほぼ等しく、不分離が特定の染色体に多発しないことも明らかとなった。一倍体と三倍体には加齢に伴って増加傾向がみられるが有意差はない。また、第1卵母細胞394卵の分析の結果、加齢に伴う第1成熟分裂期一価染色体増加と不分離増加の間に直接的因果関係のないことも明らかとなった。

3) 誘発排卵と染色体異常：誘発排卵処理を受けた61個体から得た第2卵母細胞904卵の染色体分析の結果、処理群で異数性が有意に増加することが

明らかとなった ($P < 0.05$)。これらの異数性には染色体数の極端に多い、あるいは少ない異常が多く含まれることが特徴である。

4) コルヒチン投与と染色体異常：投与を受けた55頭の母獣から得た380卵の調査の結果、実験群で異数性が有意に増加していた ($P < 0.001$)。低数性異常は高数性異常より多く、この傾向は実験群に多発する形態異常卵(1~2個の異常に大きい極体をもつ)で特に著しかった。異数体の中には明らかに不分離を起こしている例の他に、一部の染色体が卵にも極体にも含まれず、細胞質外に出されている、いわゆる anaphase lagging の現象を確認することができた。

5) 三倍体の一成因としての巨大二倍性卵子：第1, 第2卵母細胞期及び1, 2細胞期で、ほぼ0.5%の割合で巨大卵が出現した。これらの卵の染色体分析の結果、この卵は二倍性卵子で、正常受精を経て二卵核性三倍体となることが確認された。この機序による三倍体は正常卵とほぼ等しい発生能を示した。

考 察

今回、配偶子形成・初期卵割期での染色体分析システムを確立したことにより、種々の突然変異原の作用時期、生じる異常の種類及びその頻度を個体レベルで詳細に検討することができた。

母体の加齢に伴う卵子第1成熟分裂期染色体不分離増加は、マーカー染色体を用いたヒトのダウン症余剰染色体の由来の調査結果を支持するものである。また、加齢はモザイク(第1卵割期染色体不分離)も増加させるので、加齢に伴う輸卵管内環境変化も不分離の原因として考慮しなければならない。

誘発排卵はヒト不妊症の治療にしばしば用いられているが、今回その染色体不分離誘発能が明らかになったのでホルモンの濃度効果等についてさらに詳細に検討しなければならない。また、今回の調査は第1成熟分裂期のみであったから、さらに第2成熟分裂、卵割に対する影響の調査も必要であろう。

第1成熟分裂期コルヒチン投与は紡錘体形成阻害により異数性卵子を高頻度に誘発することが明らかとなった。今後、これと類似の作用をもつ種々の化学物質(抗癌薬、植物アルカロイド、重金属等)についても同様の異常が誘発されるか否かを検討する必要がある。

マーカー染色体法を用いたヒト三倍体の研究で、二卵核性三倍体は第1極体放出抑制によるものであると結論されているが、この方法では極体抑制三倍体と我々の巨大二倍性卵子由来三倍体を区別できない。また、巨大卵子三倍体は高い発生能をもつから、ヒト三倍体にも含まれている可能性は強い。

要 約

チャイニーズハムスターを用い、配偶子・初期卵割期レベルの染色体分析システムを確立し、染色体異常誘発因子の作用を異常発現期で直接検討して、染色体異常の種類や生成機序について詳細な知見を得た。その結果、従来不明のまま残されていた幾つかの問題を解明し、単なる推論の域を出ない仮説などについても補正・修正を加えることができた。これらの成果は、勿論、ヒトの染色体異常の成因・生成機序を把握するうえで極めて重要な資料となるものである。

文 献

- 1) 美甘和哉 (1979) 放射線の卵巢照射は染色体不分離を誘発するか 第9回放医研シンポジウム報文集 219-228
- 2) 美甘和哉 (1979) 卵子のエイジング遺伝 Vol. 33 No. 4 裳華房 16-22
- 3) 美甘和哉 哺乳動物の初期発生 染色体研究法 理工学社 (印刷中)
- 4) 美甘和哉・舟木賢治 (1979) 実験動物叢書Ⅱ・実験動物の飼育管理と手技: チャイニーズハムスター ソフトサイエンス社 306-321
- 5) 美甘和哉・上口勇次郎・舟木賢治・小出展久・菅原茂樹 (1979) 卵巢卵の発育段階における放射線の細胞遺伝学的影響 先天異常 Vol. 19 No. 3 200
- 6) 上口勇次郎 (1979) 数的染色体異常の生成機序 遺伝 Vol. 33 No. 4 裳華房 10-15
- 7) 上口勇次郎 (1979) 数的染色体異常の生成機序 人類遺伝学雑誌 24巻第3号 153-154
- 8) Kamiguchi, Y., Funaki, K., and Mikamo, K. (1979)

Chromosomal Anomalies Caused by Preovulatory Overripeness
of the Primary Oocyte Proc. Jap. Acad. Vol. 55 No. 8
398 - 402

9) Kamiguchi, Y., Koide, N., and Mikamo, K. Primary
Incidences of Spontaneous Chromosomal Aberrations in
Mammalian Zygotes. Jap. J. Human Genet. (in press)

10) 舟木賢治・菅原茂樹・美甘和哉(1979) 母体の加齢にともなう染
色体不分離の増加とその解析 人類遺伝学雑誌 24巻第3号 191

11) Funaki, k., Sugawara, S., and Mikamo, K. An Analytical
Study on the Numerical Chromosome Anomalies Increasing
with Advancing Maternal Age. Jap. J. Human Genet. (in press)

12) Funaki, K. and Mikamo, K. Giant diploid oocytes as
a cause of digynic triploidy in mammals. Cytogenet. Cell
Genet. (in press)

13) 舟木賢治・美甘和哉 チャイニーズハムスターにおける糖尿病頻発家系
の分離育成第14回日本実験動物学会 昭和54年8月 福岡

14) 菅原茂樹・舟木賢治・美甘和哉(1979) 母体の高齢化にともな
う一価染色体増加と染色体不分離との関連に対する反証 人類遺伝学雑誌
24巻第3号 192

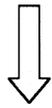
15) Sugawara, S., Funaki, K., and Mikamo, K.
Causal mechanisms of colchicine - induced chromosome abe-
rrations in mammalian oocytes. Jap. J. Human Genet.
(in press)

16) 小出展久・上口勇次郎・美甘和哉(1979) 過排卵誘発と染色体
異常 人類遺伝学雑誌 24巻第3号 192

表1 母体の加齢に伴って増加する数的染色体異常の生成時期別出現頻度

	対 照 群	老 齡 群
異数性		
卵子形成期		
第一成熟分裂	1.8%	4.2%
第二成熟分裂	0.9%	1.2%
	2.7%	5.4%
精子形成期	0.9%	1.5%
モザイク		
第一卵割期	0.8%	3.5%
倍数性		
三倍体(二卵核性)	0.5%	1.3%
(二精核性)	0.9%	1.3%
(由来不明)	0.2%	0%
一倍体(単為発生)	0.6%	1.6%
	2.2%	4.2%
総計	6.6%	14.6%

第一成熟分裂, 第一卵割期: 有意差あり (P<0.01)



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



要約

チャイニーズハムスターを用い、配偶子・初期卵割期レベルの染色体分析システムを確立し、染色体異常誘発因子の作用を異常発現期で直接検討して、染色体異常の種類や生成機序について詳細な知見を得た。その結果、従来不明のまま残されていた幾つかの問題を解明し、単なる推論の域を出ない仮説などについても補正・修正を加えることができた。これらの成果は、勿論、ヒトの染色体異常の成因・生成機序を把握するうえで極めて重要な資料となるものである。