

不妊治療の胎児に与える影響に関する研究

—哺乳動物受精卵の腹腔内培養の研究—

慶応大学医学部産科婦人科学教室

飯塚 理八・河上 征治
森定 優・鈴木 俊夫

1. 研究目的

卵管因子による不妊症の解決法として、もっとも有望視されているのが test tube baby である。しかし現在まで成功例が非常に少なく、この分野での進歩が期待されている。

受精より分娩に至る一連の行程は、母体の内部環境というホメオスタシスの中で営まれているが、これを体外で作りだし、卵を受精培養させる試みが test tube baby である。その test tube baby には、種々の技術的問題があるが、その中で体外培養条件もまた大きな問題点である。このため種々の培養液がつけられ試みられているが、卵管内腔液と同じ組成のものではできていない。又、その卵管内腔液の組成のデータも報告者により、ばらつきが大である。又、卵管の部位による組成の変化などに完全に対応した方法は、完成されていない。一方、卵管内腔液が、受精卵の唯一至適の培養液というわけではなく、卵管内腔液と組成の異なる培養液でも培養可能の例もある。一般的な卵の培養液は、Ham's F₁₀ 液に血清を加えたものが多い。血清と腹水の組成がほぼ同じ事より、今までの in vitro の方法に対して、腹水中で Diffusion Chamber を用いて、同種動物の体内で受精卵を培養する事ができるかどうか実験を行なった。

2. 研究方法

Millipore filter は pore size 0.45 μ のものを使用した。これは、血球成分、バクテリアは通さず電解質、アミノ酸は通過させる。プラスチックの Ring の両面に、この Millipore filter を貼り、図1のような Diffusion Chamber を作成した。

実験動物としては、家兎(雌 2.5~3 Kg)を使用した。実験の判定を容易にするために、家兎接合子発育の時間的経過より、2分割卵(自然経過にて交尾24時間後)より、16~32分割卵(交尾48時間後)までの観察を行

なう事にした。

実験方法は、表1のような方法で行なった。自然交尾1~2時間後に過排卵させるために HCG 25 IU 静注、交尾24時間後に卵管別出し、子宮側を結紮し、23ゲージの針を卵管子宮側に刺入し、培養液にて受精卵を Wash out し、実体顕微鏡下にマイクロペットを用いて採卵した。この2分割受精卵を Diffusion Chamber 内に封入し、自家腹腔内に入れ、24時間腹腔内培養を行ない、交尾48時間後に再開腹、Diffusion Chamber から回収し、交尾48時間後に卵管より採卵した正常16~32分割スタンダード卵と、卵の分裂速度と形態学的な比較観察を行なった。

3. 研究結果

表2のように、37個の2分割卵が Diffusion Chamber での腹腔内培養に供されたが、Diffusion Chamber より回収された卵の数は5個であった。

5個のうち、2分割卵のままであったものが3個、4分割と思われるもの1個、変性したと思われる分割不均等卵1個で、スタンダードとして自然交尾48時間後に卵管より採取した卵に近いものは得られていない。

又、3個の2分割卵は Diffusion Chamber 内で浮遊した状態で、残りの2個は Millipore filter 膜に附着した状態で回収された。

又、腹腔内培養のメディウムとなる腹水の生化学的組成は、血清のそれとほぼ等しかった。

4. 考 察

現在までの実験において、受精卵の回収率が低かった原因としては、実験当初のテクニカルな問題もあるが、Millipore filter 膜へ卵が附着する事、又、この膜が不透明であるため附着した卵の発見が困難である事が、大きな問題である。そこで、卵を附着させないような方法を検討し、又、附着した卵に対しては

その卵を遊離させるために、マグネシウムイオンを除いた0.25%トリプシン溶液の使用を検討しており、又、附着した卵をより発見しやすくするために透光性のあるMillipore filterを考えている。その他、改善すべき点がまだいくつかあり、現在得られている所見では、腹腔内培養が当初の目的にかなっているかどうかについては、まだコメントする段階ではない。

5 要 約

① test tube baby への新しい試みとして、

Millipore filter を用いた Diffusion Chamber で、自家腹腔内培養を試みた。

② Diffusion Chamber よりの卵の回収率は、現在非常に低く、回収方法の改善が必要と思われる。又、回収卵数は37個中5個で、3個は2分割卵のまま他の2個は変性したと思われる卵で、スタンダード卵のような16~32分割卵は、現在まで得られていない。

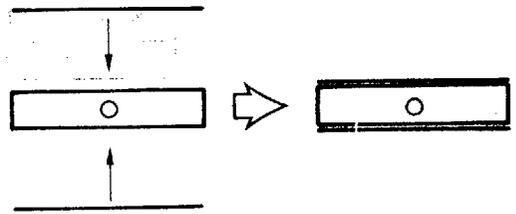
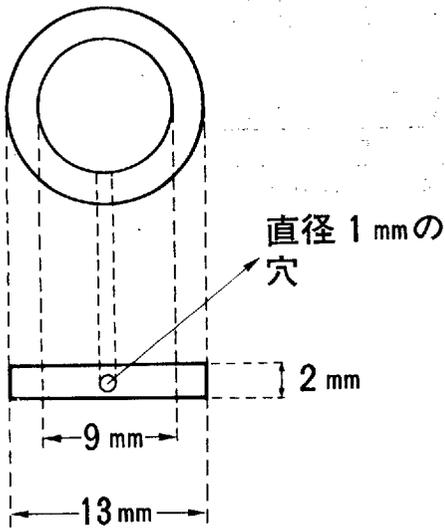


図 1. DIFFUSION CHAMBER

表 1



表 2 受精卵の腹腔内培養経過

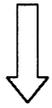
慶大家族計画相談所 1979. 12. 現在

ウサギ	DCの数	採卵数—回収卵数	備 考
No. 1	1	4 — 0	
No. 2	2	2 — 0 2 — 0	
No. 3	2	4 — 0 3 — 0	
No. 4	3	2 — 0 1 — 0 1 — 0	
No. 5	2	2 — 0 6 — 2	4分割 1ヶ 16分割? 1ヶ
No. 6	1	3 — 0	
No. 7	2	1 — 0 5 — 3	2分割 3ヶ
	13	37 — 5	

DC = Diffusion Chamber



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



5 要約

test tube baby への新しい試みとして, Millipore filter を用いた Diffusion Chamber で, 自家腹腔内培養を試みた。

Diffusion Chamber よりの卵の回収率は, 現在非常に低く, 回収方法の改善が必要と思われる。又, 回収卵数は 37 個中 5 個で, 3 個は 2 分割卵のまま他の 2 個は変性したと思われる卵で, スタンダード卵のような 16~32 分割卵は, 現在まで得られていない。