

深部体温の概日リズムが胚品質に及ぼす影響の解析

[1] 組織

代表者：村山 嘉延

(日本大学工学部)

対応者：白石 泰之

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：石田 愛乃

(日本大学工学部)

研究費：物件費 6 万 5 千円

[2] 研究経過

ヒトを含む哺乳動物胚の体外培養温度は長らく 37℃一定が良いとされており、培養温度の変化は培養液の温度だけでなく pH や浸透圧も変化して胚にダメージを与えると報告されている。すなわち、培養環境が変化してストレスを与えてはいけなるとされているが、それでもなお *in vivo* における受精卵の発育に比べると劣り、ヒト生殖補助医療においては採卵あたりの妊娠率が低い原因となっている。本共同研究では「卵管内の温度変動 (37.7/37.4℃) を模倣して体外培養すると胚発育を促進させるのではないかと仮説を立て」マウス受精卵の培養温度に妊娠初期マウスの腹腔内で測定された概日リズムを再現 (図1) して、胚品質との関係を明らかにすることを目的として研究を行った。以下、研究活動状況の概要を記す。

3 月～4 月：メール等による研究打ち合わせ

4 月～10 月：培養実験 (日本大学)

12 月 14 日：共同研究打合せ (東北大学)

1 月～3 月：論文投稿準備 (日本大学)

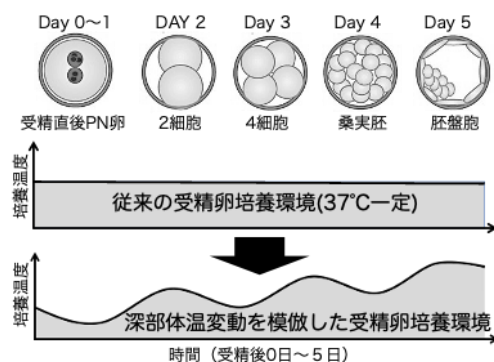


図1. 深部体温変動を模倣する新規体外培養法

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、培養温度が 37℃一定の対照群 (n=54)、妊娠初期マウスの体温の概日リズム 37.7/37.4℃を模倣した 24 時間周期群 (n=54)、および 12 時間周期群 (n=65) の 3 群でそれぞれ培養し、培養 72 時間後の胚盤胞品質を比較した。

まず、対照群の胚盤胞到達率は 98.1% であり、そのうち孵化した胚は 60.4% であった。24 時間周期群の胚盤胞到達率は 94.4%、孵化した胚は 74.5%、12 時間周期群の胚盤胞到達率は 89.2%、そのうち孵化した胚は 81.0% であった。カイ二乗検定の結果、孵化率については対照群と温度変動群 (24 時間周期・12 時間周期) の間に有意な差が認められた。

次に、胚盤胞直径の平均値は、対照群で $114.6 \pm 10.3 \mu\text{m}$ 、24 時間周期群で $128.6 \pm 10.4 \mu\text{m}$ 、12 時間周期群で $124.1 \pm 12.9 \mu\text{m}$ となった。ANOVA の後に Turkey の事後検定を行ったところ、対照群と比較して有意差が得られた ($p < 0.0001$)。標準偏差に着目すると、12 時間周期群の 12.9 と他の 2 群に比べて直径にばらつきが見られた。対照群で 1 番直径の大きい胚の $137.0 \mu\text{m}$ より大きい胚が、24 時間周期群では 8 個 (15.69%)、12 時間周期群では 8 個 (16.67%) 観察された。

最後に、グレード評価の結果、対照群では GOOD が 24.5%、FAIR が 62.3%、POOR が 13.2% であった。24 時間周期群では GOOD が 56.9%、FAIR が 37.3%、POOR が 5.8%、12 時間周期群では GOOD が 56.9%、FAIR が 32.8%、POOR が 10.3% となった。カイ二乗検定の結果、GOOD および FAIR の割合について対照群と比較して有意な差が認められた。

以上の結果から、温度変動を加えた群では孵化率が有意に向上し、胚盤胞の直径も大きくなる傾向が確認された。グレード評価では GOOD の割合が増加し、POOR の割合が低下するなど、温度変動が胚の品質向上に寄与することが示された。一方で、胚盤胞到達率は対照群よりやや低下する傾向が見られたが、これは品質の低い胚が淘汰され、より発育の良好な胚が選択的に成長した結果である可能性が高いと考えられる。このような温度変動による胚の選別効果は、着床率向上の観点からも重要であり、今後の研究でさらなる検証が求められる。

（３－２）波及効果と発展性など

本共同研究は、学外研究者との交流が飛躍的に活性化し、日本生体医工学会における専門別研究会「生殖医療における医工学研究会」の発足に発展した。

〔４〕成果資料

学会発表

（１）石田愛乃, 村山嘉延, 「マウス受精卵の培養温度に12時間変動を与えた場合の胚発育への影響」, 第63回日本生体医工学会大会

（２）村山嘉延, 「受精卵の品質を保ち, 定量的に評価する医工学」, 第63回日本生体医工学会大会

（３）石田愛乃, 村山嘉延, 「胚の培養温度に概日リズム変動を与えた場合の胚発育への影響」, 第117回日本繁殖生物学会

（４）石田愛乃, 水野仁二, 村山嘉延, 白石泰之, 「交配後に母親マウスが示す体温変動リズムは初期胚発育を促進させる可能性がある」, 第58回日本生体医工学会東北支部大会

（５）猪狩裕斗, 村山嘉延, 「双熱流法による皮膚深部温計測精度の向上」, 第58回日本生体医工学会東北支部大会