

医療法人社団英ウイメンズ
クリニック理事長

塩谷 雅英

皆さん、こんにちは。シリーズで「生殖医療」のお話をさせていただいております。今回は「体外受精・胚移植法の実際 その3」です。どうぞよろしくお願いいたします。

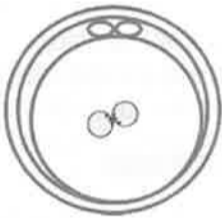
体外受精・胚移植法の6つのステップ

- ①排卵誘発治療
- ②採卵
- ③受精の成立（体外受精と顕微授精）
- ④胚（受精卵）の培養
- ⑤胚移植
- ⑥黄体期補充療法

今回は、「胚（受精卵）培養の実際」についてご紹介する。

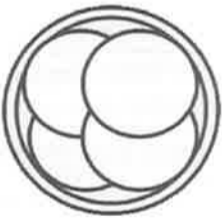
受精の成立 (図)

体外受精あるいは顕微授精を行った翌朝に倒立顕微鏡下に受精の有無を確認する。受精が成立していれば、卵細胞質内に前核を2個認め、围卵腔に極体を2個観察できる。前核の1つは母親由来、もう1つは父親由来の遺伝情報を持っている。围卵腔に観察される極体は46本の染色体を持った卵祖細胞が23本の染色体を持つ卵子になる過程、すなわち第1減数分裂および第2減数分裂で生じ、余った染色体である。



胚（受精卵）の培養 (図)

受精を確認できた胚は、子宮内に移植されるか凍結保存されるまでの間、培養庫の中で2日から6日間培養される。受精確認の翌日、すなわち採卵から2日後には受精卵は4細胞期と



なる。3日後には8細胞期、4日後には桑実胚期となり、5日目には胚盤胞期となる。

胚（受精卵）の培養の進歩

体外受精の成功率を高めるためには、受精卵を体外で培養する技術の進歩が必要である。

私が京都大学産婦人科発生学研究室に在籍していた1980年代後半は、ヒト受精卵の体外培養に関する研究が主流であった。といっても、実際にヒトの受精卵を研究に用いることはできないため、マウスやラット、ハムスターなどが実験に用いられた。これらの動物種の受精卵の体外培養はヒト受精卵の体外培養よりも困難であったため、これらでよりよい培養環境を作り出すことができればヒトにも応用できるのである。マウスでは、体外受精卵を培養すると、2細胞期で分裂成長が止まってしまうものがほとんどであった。この現象は2セルブロックと名づけられた。

私たちの研究室では、このマウス2セルブロックを解決することを主要テーマとして、培養環境の改善に取り組んでいた。なかなか良い結果を得ることができなかったが、当時、発生学研究室のトップであった、野田洋一先生（当時京都大学産婦人科助教授、現滋賀医科大学名誉教授）が、「酸素毒」に着目し、この「酸素毒」から受精卵を保護することでマウス2セルブロックを解除できるかもしれない、という発想を抱いた。

さっそく、われわれは実験に取り組んだ。まず、SOD（スーパーオキシドディスムターゼ：Superoxide dismutase）という酵素に着目した。SODは、酸素毒性を消去する酸化還元酵素であり、細胞質やミトコンドリアに多く局在している。このSODをマウス体外受精卵培養液に添加したのである。その結果、見事に2セルブロックは解除され、マウス受精卵は4細胞から8細胞へと分裂した。この結果は画期的なものであった。この結果からマ

生殖医療のお話 その10

ウス2セルブロックの原因は酸素毒性であることが明らかとなったため、次に培養庫の酸素濃度に着目した。当時、受精卵を培養する培養庫内のガスは、空気に炭酸ガス5%を加えて使用していた。従って、培養庫内の酸素濃度は20%であり、体内の酸素濃度5%前後と比較すると、培養庫内は非常に高酸素状態となっていた。受精卵はこの高酸素状態に曝露されていたのである。そこで、培養庫内の酸素濃度を5%と低酸素状態にして受精卵を培養したところ、やはり、マウス2セルブロック

が解除されることが分かった。これらの成果に基づいて、ヒトの体外受精においても培養庫内の酸素濃度を5%とする低酸素培養が主流となり、体外受精の妊娠率向上に寄与したのである。5年ほど前にマサチューセッツ州ボストンにある体外受精センターを見学する機会があったが、そこでは、まだ酸素濃度20%での培養がなされており、当時すでに日本では酸素濃度5%の低酸素培養が広く普及していたので、驚いたことがある。ボストンの培養士長は、胚培養の成績がよくない、と嘆いていたのが印象的であった。

次に取り組んだのは、培養液の成分の改良である。当時、広くヒト体外受精に用いられていた培養液は「HAMF-10」であった。この培養液には酸素毒発生の原因となる金属イオンが含まれていたため、これを取り除くことで培養成績が向上した。

Lopata教授

世界で1例目の体外受精児の誕生はイギリスであったが、2例目はオーストラリアであった。その2例目の誕生に培養部門長として貢献したのが、メルボルン大学のAlex Lopata教授であった。80年代後半に京都大学で講演したLopata教授は、培養液に受精卵が栄養素として必要とする種々のアミノ酸を添加することの必要性を語った。そ

の講演を受けて、われわれは、マウスの受精卵において、アミノ酸を多く含んだ α -MEMという培養液を使用し、低酸素培養を行ったところ、きわめて良好な結果を得た。その後、京都大学ではヒトの体外受精においても、 α -MEMという培養液を用い、低酸素培養を実施することでヒト受精卵の培養において大きく前進したのである。今では、ヒト体外受精における低酸素培養とアミノ酸を含んだ培養液を用いることは、世界中で広く行われている。

受精卵（胚）の発生…受精から胚盤胞まで

