

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 26 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：平成 21 年～平成 23 年

課題番号：21791568

研究課題名（和文）顕微授精後受精障害症例に対する治療的な人為的卵活性化法の有効性に関する検討

研究課題名（英文）Study for effects of combination of Intracytoplasmic sperm injection and artificial oocyte activation

研究代表者

菅沼亮太（SUGANUMA RYOTA）

公立大学法人 福島県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：00457764

研究成果の概要（和文）：ICSI 後受精障害卵に対する卵活性化法併用の有効性が確認された。ICSI 後受精障害卵中において、時間経過にともない精子染色体の分離が高頻度に確認され、このことが卵活性化刺激後の受精障害・精子染色体異常率の上昇・胚発生障害の一因であることが示唆された。以上から、卵活性化因子障害症例において、ICSI に卵活性化法を併用する場合、精子染色体への悪影響を避けるために、ICSI 直後の卵活性化刺激が必要であると考えられた。また動物実験により、第 2 極体確認時期の ICSI 後受精障害卵に対する卵活性化刺激併用では、その後の受精・胚発生が障害されないことが確認された。ヒト Piezo-ICSI における卵活性化の早期判定は ICSI 後 4 時間で可能であり、同時期に不活性化卵に人為的卵活性化法を併用することで受精障害を回避し、その後の胚発生を補助出来る可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Combination of ICSI and artificial oocytes activation immediately after ICSI was useful for infertility animals which spermatozoa were depress the sperm oocytes activation factors. Taking long time after ICSI in unactivated status (oocytes remains at MII) is caused to damage on sperm chromosomes and that is caused to worth embryos development. We suggest that activating oocytes at checking the presence of 2nd polar body might be useful for reduce damages, and that might be useful for “rescue” ICSI oocytes going to “unfertilized”.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 21 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
平成 22 年度	700,000	210,000	910,000
平成 23 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：生殖医学・卵細胞質内精子注入法

1. 研究開始当初の背景

卵細胞質内精子注入法（**Intracytoplasmic sperm injection:ICSI**）は、1992年に最初の妊娠出産例が報告されて以来、十数年にわたり主に重症男性不妊症患者が受精卵を得るための最も効果的な治療方法として広く臨床応用されている。良好精子の選別方法や良好卵獲得のための排卵誘発法、適した培養環境の確立などが行われているが、未だその受精率は70-80%程度である。2005年には日本国内で年間47,579周期に対しICSIが行われている現状を踏まえると、相当数の未受精卵が生じ、貴重な生殖資源が失われていると推測される。ICSI後受精障害に対しては、基本的に治療方法がないのが現状であるが、唯一、卵活性化障害に対しては人為的卵活性化法の併用による研究的な治療が行われており、実際に妊娠・分娩例が報告されている。ただしこれらの報告は、前2回以上の治療周期において完全なICSI後受精障害例（ICSI後受精率0%）と診断された症例に対してのものであり、それ以外の症例（初回治療あるいは低受精率症例）に関しては、相当数のICSI後受精障害卵が生じているが、それらに対しては治療法がない。

2. 研究の目的

今回の研究において、受精判定時（ヒトICSI後18時間程度）に受精障害と判定されるICSI後の卵子（ICSI後受精障害卵）をより早期に判定し、人為的卵活性化法の併用により発生を補助し、その後受精率・胚発生率の向上をはかり、最終的にはICSI

症例の妊娠率向上を目的とする。

その前段階として、ヒトICSI卵における第2極体放出（卵活性化の確認）までの詳細なデータを集積するとともに、第2極体放出までの時間とその後の胚発生の違いについての検討を行い、より早期に、より確実にICSI後受精障害卵を検出する方法を確立することを目的とした。また、ICSI後受精障害卵中でのヒトおよび動物モデル（マウス）精子頭部の時間経過に伴う変化を観察し、精子頭部の状態と卵活性化刺激を加えた後の受精・胚発生の違いについての検討を行い、ICSI後受精障害卵に対する最適な卵活性化併用のタイミングの決定を目的とした。

3. 研究の方法

動物モデル(マウス[※])を用いて、ICSI後受精障害卵（不活性化卵）中での精子核の状態を観察し、精子頭部の経時的变化（不変→膨化→PCC：Premature Chromatin Condensation）とそれぞれの時期に人為的卵活性化刺激を加えた場合の精子染色体に及ぼす影響、その後の受精・発生過程に及ぼす影響について検討を行った。また同検討において、ICSI後卵活性化障害を診断するタイミング、活性化障害を認めた場合の人為的卵活性化併用の適したタイミングについての検討を行った。

※: Alkylated imino sugars を経口投与された雄マウスは、精子頭部奇形・アクロソーム形成障害・卵活性化因子障害等の精子発生の異常から可逆性の不妊マウスとなることが確認されている。

また、研究期間における当施設でのヒト ICSI 症例において、ICSI 後早期における卵の経時的変化を観察し、第 2 極体放出時期とその後の受精・胚発生との関連性について後方視的に検討し、卵活性化の有無の早期診断時期についての検討を行った。

4. 研究成果

ICSI 後受精障害卵中において、時間経過にともない精子染色体の分離が高頻度に確認され、このことが卵活性化刺激後の受精障害（大小不同の多前核形成、多極体放出）・精子染色体異常率（構造異常、および異数性）の上昇・胚発生障害の一因であることが示唆された。以上から、卵活性化因子障害症例において、ICSI に卵活性化法を併用する場合、精子染色体への悪影響を避けるために、ICSI 直後の卵活性化刺激が必要であると考えられた。また、第 2 極体確認時期（マウス卵では ICSI 後 2 時間程度）の ICSI 後不活性化卵に対し、人為的卵活性化法を併用することで、その後の受精場外・胚発生障害を回避出来ることが確認された。

ヒト通常 ICSI では、第 2 極体放出時期に 2～18 時間前後の個卵差を認める場合があり、卵活性化の有無を早期に判定することは必ずしも容易ではないが、Piezo-ICSI（Piezo Impact Drive Unit を用いた ICSI）では第 2 極体放出時期の個卵差が少なく、ICSI 後早期の発生においてより安定的な方法である可能性が示された。Piezo-ICSI における卵活性化の早期判定は ICSI 後 4 時間で可能であり、同時期に不活性化卵に人為的卵活性化法を併用することでヒト ICSI 後受精障害を回避し、その後の胚発生を補助できる可能性が示唆された。さらに ICSI 後 4 時間での第 2 極体放出確認の有無により、その後の良好胚発生率に有意差を認めることから、ICSI 後受精卵の quality

判定に応用可能と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 1 件）

ICSI 後受精障害に対する卵活性化法併用の影響に関する検討（抄録）

日本哺乳動物卵子学会誌 28(2), 22, 2011

〔学会発表〕（計 10 件）

第 52 回 日本哺乳動物卵子学会 2011 年
大田原市 他

〔図書〕（計 1 件）

カラーアトラス 不妊治療のための卵子学
鈴木秋悦 編 医歯薬出版株式会社 77-84
(2010)

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

菅沼亮太 (SUGANUMA RYOTA)

公立大学法人 福島県立医科大学・医学部・
講師

研究者番号：00457764

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし