

## 発育遅延したウシ胚の形態変化の特徴

山中昌哉 1)、橋本 周 2)、北地秀基 2)、Udayanga Gamage 1)、森本義晴 1)

1) 医療法人三慧会 HORAC グランフロント大阪クリニック

2) 大阪公立大学リプロダクティブサイエンス

**目的** ヒト体外受精卵において、胚盤胞形成が遅延した胚は速やかに胞胚腔を形成した胚に比べ、紡錘体構造異常の出現頻度が高く、着床能が低いことが知られている (Hashimoto et al., 2013)。また、桑実胚期においてミトコンドリア機能が低下していると、その後の発育が遅延することも明らかになっている (Morimoto et al., 2021)。本研究では発育遅延胚における形態変化の特徴を理解するために、ウシ体外受精卵における胚盤胞形成遅延胚 (Day8 胚盤胞) と正常なタイミングで胞胚腔を形成した胚 (Day7 胚盤胞) の各ステージへの発育に要する時間を計測し、比較した。

**方法** 既報に従い作成したウシ体外受精卵を媒精後 43 h で 4 細胞以上に発育した胚 (240 個) を、iBIS (ASTEC 社) を用い、15 分間隔で胚の形態変化を記録した。Day7 および Day8 胚盤胞が、8 細胞、桑実胚 (コンパクト開始および完了)、胚盤胞への発育所要時間を後方視的に比較した。なお、最初の細胞接着が観察された時間をコンパクト開始、全ての細胞の接着が観察された時間をコンパクト完了、胞胚腔が胚の体積の半分以上に拡大した時間を胚盤胞と定義した。統計解析は t 検定を用い、 $p < 0.05$  で有意差ありと判定した。

**結果** Day7 ならびに Day8 胚盤胞はそれぞれ 77 個と 27 個であった。培養開始時の細胞数は Day7 胚盤胞においては  $5.09 \pm 1.0$  個 (mean  $\pm$  sd)、Day8 胚盤胞においては  $4.85 \pm 0.9$  個であり、差はなかった ( $P=0.25$ )。8 細胞への所要時間は Day7 胚盤胞で  $67.9 \pm 16.1$  h、Day8 胚盤胞で  $75.0 \pm 16.4$  h であり、差はなかった。コンパクト開始までの所要時間は、Day7:  $92.0 \pm 16.1$  h および Day8:  $98.6 \pm 8.3$  h であり、コンパクト完了時間 (Day7:  $112.5 \pm 7.5$  h、Day8:  $122.4 \pm 8.8$  h) であり発育遅延胚で遅延していた ( $P < 0.01$ )。当然のことであるが、胚盤胞への発育所要時間 (Day7:  $161.2 \pm 8.7$  h、Day8:  $183.0 \pm 6.5$  h) は発育遅延胚で延長が認められた ( $P < 0.01$ )。8 細胞からコンパクト開始までの所要時間 (Day7:  $24.1 \pm 16.3$  h vs. Day8:  $23.6 \pm 15.3$  h、 $P=0.90$ ) に差はなかった。その一方で、Day8 胚盤胞において、コンパクト開始からコンパクト完了までの所要時間 ( $20.5 \pm 7.8$  h vs.  $23.8 \pm 7.7$  h、 $P=0.06$ ) が増加する傾向が観察され、コンパクト完了から胞胚腔形成開始までの所要時間 ( $40.5 \pm 9.7$  h vs.  $47.9 \pm 9.9$  h、 $P < 0.01$ )、胞胚腔形成開始から胚盤胞への所要時間 ( $8.2 \pm 9.1$  h vs.  $12.7 \pm 7.4$  h、 $P < 0.01$ ) は有意に増加した。

**考察** 発育遅延胚 (Day8 胚盤胞) ではコンパクト開始時から遅延が認められ、それ以降、その遅延時間はますます拡大する傾向にあった。ウシ胚では 8 細胞で胚性ゲノムの活性化が始まると考えられており、胚性ゲノムの活性化、特にミトコンドリア機能に関わる遺伝子発現が十分でないことが発育遅延を引き起こす原因であると考え、今後、ミトコンドリア機能を中心に解析を進める予定である。

## 参考文献

Hashimoto et al., Hum Reprod. 2013;28:1528-35.

Morimoto et al., J Assist Reprod Genet. 2020;37(8):1815-1821.