

355 凍結保存のマウス初期胚の胞胚形成率,糖取り込み量,着床率の発育能に及ぼす影響

東京大

上地博人, 森田 豊, 細谷岩生, 島内昌仁, 塩津英美, 矢野 哲, 堤 治, 武谷雄二

【目的】凍結融解が初期胚の発育に及ぼす影響を検討した。

【方法】ICR雌マウスに過排卵処理を行い,同系雄と交配しhCG投与後44,92時間に2細胞期胚,胞胚(in vivo群)を回収した.2細胞期胚の48時間培養にて胞胚を得た(in vitro群)が,一部の2細胞期胚はプログラムフリーザーによる急速凍結法(R群)ないし液体窒素に投入する超急速凍結法(U群)による処理後48時間培養して胞胚を得た.各群の胞胚形成率,糖取り込み能,Western blot法による糖輸送担体蛋白(GLUT1)の発現量,胚移植実験による着床率を測定した。

【成績】胞胚形成率は,in vitro群41.7%に対し,R群で34.1%と低下し,U群では22.0%とさらに低下した.糖取り込み量は,2細胞期胚(in vivo群)は $15.6 \pm 2.8$ fmol/embryo/hr(M $\pm$ SD:以下同じ)で凍結による変化はなかった.胞胚では in vivo群 472 $\pm$ 107, in vitro群 105 $\pm$ 75に対し, R群で43.3 $\pm$ 28.3と低下し,U群22.0 $\pm$ 11.4とさらに低下した.この変化は糖輸送担体蛋白の発現量と相関を認めた.胚移植実験の着床率は,in vivo群41.1%,in vitro群30.4%,R群22.0%,U群16.3%であった。

【結論】凍結融解を行った胚では,その後の培養による卵割率が低下するのみならず,形態的に正常に発育した胚においても糖輸送担体発現を介した糖取り込み能発達の障害を認め,着床能も低下した.凍結融解はその後の胚発育に悪影響を与えqualityの低下をきたすこと,また凍結方法の違いにより,qualityの差異が生じることが明らかになった。

356 活性化腹腔マクロファージ共培養による胚発育の検討—M-CSFおよびシゾフィランのin vivo投与—

熊本大

小野田 親, 松浦講平, 本田律生, 福松之敦, 岡村 均

【目的】我々はマウス腹腔マクロファージ(M $\phi$ )との共培養によってマウス胚発育が促進されることを報告してきた.今回,この胚発育促進効果の機序を明らかにする目的で,M $\phi$ 活性を刺激する薬剤によって共培養効果に変化がみられるか否かを検討した。

【方法】実験にはICR系マウスを用いた.予め腹腔内にrhM-CSF( $2.0 \times 10^5$ , $5.0 \times 10^5$ , $1.0 \times 10^6$ IU)を5日間投与し最終投与翌日に腹腔M $\phi$ を回収した群を各々M1,M2,M3群とし,SPG(100 $\mu$ g)は腹腔内に1回投与し翌日M $\phi$ を回収した群をS群とした.生理食塩水を腹腔内に投与してM $\phi$ を回収した群をM0群とした.M $\phi$ 回収はRPMI1640を用いて行った.M $\phi$ は $1.0 \times 10^6$ /mlに調整して4 well dishに移し,1時間附着させた後HTFで洗浄し,0.3%BSA加HTFを加えたものを培地とし,同系雌マウスより回収した前核期胚と共培養した.HTFのみの培養をC群とした.24時間毎に胚発育を観察し,各群間における2細胞率と胚盤胞率を比較検討した。

【成績】2細胞率はC群(77.8%),M0群(86.7%),M1群(77.8%),M2群(84.4%),M3群(82.6%),S群(88.9%)と各群間に有意差はみられなかった.胚盤胞率はC群(4.4%),M0群(6.7%),M1群(13.3%),M2群(6.7%),M3群(39.1%),S群(6.7%)でC群とM $\phi$ 群の胚盤胞率には有意差はみられなかったが,M3群の胚盤胞率は他の群と比べ有意に高かった。

【結論】腹腔M $\phi$ を予めin vivoで活性化させることによりM $\phi$ の胚発育促進効果が増強されることからその胚発育促進因子に液性因子の関与が示唆された。