

233 精巣内不動精子を用いた卵細胞質内精子注入法における精子運動能の賦活化の有用性

ミオ・ファティリティ・クリニック

見尾保幸

[目的] 非閉塞性無精子症(NoA)における精巣内運動精子を用いた卵細胞質内精子注入法(ICSI)では良好な治療成績が多数報告されているが、不動精子での成績には限界があり、その原因是生存精子の選別の困難さにある。

そこで、不動精子に対する精子運動能の賦活化のためにカリクレイン(Ka)処理を施行後ICSIを行い、その成績の解析からKa処理による生存精子の選別の意義と有用性を検討した。[方法] NoAで精巣内不動精子を認めた不妊夫婦(9症例9周期)を対象とした。GnRHa併用卵巣刺激法の下での採卵後、精巣組織(約150 μg)を採取し培養液(HEPES-HTF)内で細切後濾過(10 μmφ)した。精子浮遊液はヒト由来Ka(4KU/ml)添加培養液内に移して遠心分離(1500rpm,1hr)後、Ka添加培養液にて一回洗浄しICSIに供した。

[成績] Ka処理後も不動精子のみは2症例(不動精子群)で、7症例(77.8%)に運動精子が認められ(運動精子群)、内2例では精子運動率が40%以上(8/20, 5/11)であった。ICSI(成熟卵85個)後の受精率(前核卵/成熟卵)は不動精子群の12.5%(2/16)に比して運動精子群では66.7%(46/69)と有意に改善された($p < 0.01$)。胚移植は不動精子群で1例のみ、運動精子群では全例実施でき内2例では余剰胚(N=12)を凍結保存した。運動精子群の4例(57.1%)が妊娠し、1例は健児を得た。[結論] Ka処理による精子運動能の賦活化は生存精子の選別の新たな手法として極めて有用で、不動精子のみのNoAの治療成績向上に大きく寄与することが明らかとなった。

234 ヒトICSI卵および単為発生卵細胞膜の多精子受精防御機構に関する検討

旭川医大

吉田俊明、千石一雄、和田恵子、堀川道晴、碁石勝利、岡田力哉、高岡康男、玉手健一、石川睦男

[目的] 卵細胞膜の多精子受精防御機構に関しては未解明な点が多いが、これまで、ヒト卵細胞膜にも多精子受精防御機構が存在することを報告してきた。今回、顕微授精卵および単為発生卵細胞膜の多精子受精防御機構に関し媒精卵との比較から検討した。

[方法] 体外受精時に得られた未受精卵を患者の同意を得て使用した。1) 1 day old 未受精卵をpuromysin 10 μg/mlで16時間培養して得られた前核期の単為発生卵およびICSI後16時間培養して得られた前核期卵を用いた。pronazeにて透明帯を除去後0.1 μg/ml Hoechst 33342と30分間培養、その後3時間後に媒精し、接着精子数、侵入精子数を蛍光顕微鏡下に検討した。また、透明帯除去未受精卵を媒精し16時間後に得られた前核期卵を同様に蛍光染色し再媒精した群をcontrolとして比較検討した。2) 単為発生、ICSI卵を10 μg/ml Lens culinaris agglutinin (LCA)にて30分間培養し、表層粒を蛍光顕微鏡観察下に検討した。

[成績] 1) control群(n=25)では精子侵入は2卵のみに認められ、接着精子数、侵入精子数は 1.8 ± 0.3 、 0.1 ± 0.01 であったのに対し、単為発生卵(n=22)、ICSI卵(n=20)の接着精子数、侵入精子数は単為発生卵 4.0 ± 1.2 、 3.0 ± 1.4 、ICSI卵 4.2 ± 1.3 、 2.9 ± 1.0 であった。2) 単為発生卵、ICSI卵ともcontrolと同様、表層粒の放出が確認された。

[結論] 単為発生卵およびICSI卵で精子侵入が認められたことより、卵細胞膜の多精子受精防御機構の発現には精子細胞膜と卵細胞膜の接着、癒合が重要であることが示唆された。また表層粒の放出のみでは多精子受精防御が作動しないことが明らかとなった。