

Title	Chromosome Analysis of BALB/c Mouse Spermatozoa with Normal and Abnormal Head Morphology
Author(s)	岸川, 英史
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44403
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	岸 川 英 史
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 17428 号
学位授与年月日	平成 15 年 1 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Chromosome Analysis of BALB/c Mouse Spermatozoa with Normal and Abnormal Head Morphology (BALB/c マウスにおける正常および異常形態精子の染色体分析)
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦 (副査) 教授 西宗 義武 教授 村田 雄二

論文内容の要旨

(目的)

多くの哺乳類では形態異常精子を産生することが知られており、これら精子は正常形態精子と比較して子宮頸管や子宮卵管結合部を通過できないため、自然状態での授精が困難であると言われている。また一方では形態異常精子を動物の卵に顕微注入することによって産仔が得られたという報告もある。しかしながら、形態異常精子により授精された卵が正常形態精子により授精された卵に比べてどの程度遺伝的な欠陥を持っているかについては十分証明されていない。また、従来の授精卵の染色体標本を用いて染色体分析する方法では雄性前核と雌性前核由来の染色体が混在し、厳密にはこれらの区別が困難であるため、授精卵全体としての核型を分析するのが一般的であった。

本研究は精子の形態と染色体異常との関係をより正確に把握するため、成熟精子の 60-80% で頭部 (核) 形態異常を示すことが知られている BALB/c マウスの精子を形態異常別に、除核未授精卵に卵細胞質内精子注入 (ICSI, Intracytoplasmic Sperm Injection) し、それぞれの精子の染色体の構造異常および異数性について検討した。

(方法ならびに成績)

精子提供動物として B6D2F1 および BALB/c マウスを、卵子提供動物として B6D2F1 マウスを用いた。第二減数分裂中期にある未授精卵より除核し、これに ICSI したところ精子由来の染色体のみの分析が可能となったので、培養液にピンプラスチンを加えることにより第一卵割中期で細胞周期を止め、これらを低張液処理後、乾燥固定し、ギムザ染色および C-バンド染色した。

この方法で B6D2F1 および BALB/c マウスの正常形態精子の染色体分析を行ったところ各々 14.3%、14.7% の精子において染色体型の切断を中心とした染色体構造異常を認めた。

BALB/c マウスの精子を形態異常に従って 1) Quasi-normal (先体の一部を欠いており、軽度の形態異常を示す精子)、2) Collapsed (頭部が激しく歪んでおり、重度の形態異常を示す精子)、3) Triangular (頭部が三角形に変形した精子) に大別した。これら精子を除核した未授精卵に ICSI し、染色体分析したところ、形態異常が軽度な Quasi-normal 精子では 20% の精子に染色体構造異常を認め、正常形態精子と有意差を認めなかったが、変形の著しい精子 (Collapsed や Triangular) では各々 33.6%、37.8% と有意に高頻度の染色体構造異常を示した。染色体構造異常については、すべての群において染色体型 (Chromosome-type) の切断 (Break) がもっとも高頻度にみられた。

また染色体の異数性に関しては各群で0・1.9%と低く、群間に有意差を認めなかった。

(総括)

- 1) 第二減数分裂中期にある未授精卵を除核し、これに ICSI することによって、精子由来の染色体のみ分析可能となった。
- 2) 精子を形態異常の程度別に、個々に ICSI し、染色体分析することにより、形態異常の著しい精子では染色体構造異常を高頻度に発生することが証明された。
- 3) 以上の結果は、妊娠困難な難治性男性不妊に対する画期的な治療法である ICSI に関して精子選定基準の一助となると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究はマウスを用いて、受精卵における精子染色体のみ分析する方法を確立し、さらに精子の形態と染色体異常との関係を解明したものである。従来の精子染色体分析では、授精卵の第一卵割中期における染色体標本を用いておこなわれてきたため雄性と雌性の染色体が混在し、これらの区別が困難であったが、本研究では未受精卵から除核を行ったうえで卵細胞質内精子注入 (intracytoplasmic sperm injection、ICSI) することによって精子の染色体のみ核型分析を可能とし、2種類の系統のマウス (B6D2F1 および BALB/c) において正常形態精子の 10・15%に核型異常を認めることを明らかにした。また成熟精子の 60・80%で頭部 (核) 形態異常を示す BALB/c マウスをモデルとして精子の形態別に染色体分析を行い、正常形態精子や形態異常が軽度な精子 (15・20%の核型異常) と比較して変形の著しい精子 (約 35%の核型異常) では有意に高頻度の染色体異常を示すことを明らかにした。

射出精子中、正常形態精子が半数に満たない奇形精子症は男性不妊の原因のひとつに挙げられ、重度の奇形精子症例に対する治療として顕微受精が行われるようになってきたが、その妊娠・出産率は 10%以下と非常に低いと報告されている。本研究によりその原因が、異常形態精子が正常形態精子に比べて染色体異常をおこしやすい結果である可能性が示唆された。今後、形態異常精子を ICSI した際に染色体異常を高率に認める原因を解明することによって、ICSI を含む不妊治療の成功率の向上につながると考えられる。以上より、本研究は学位論文に値するものと認める。