

ISSN 1881-9028

日本IVF学会雑誌

Vol.20 No.2

2017

JSAR
Japan Society of Assisted Reproduction

論文集

論文

— 原著 —

- グルタチオンエチルエステルは加齢により低下したウシ卵子の胚発生能を向上させる 2
真方 文絵, 小牧 春菜, 出田 篤司
全農 ET 研究所 研究開発室

— 原著 —

- マウス精子成熟における遺伝的背景の影響について 6
渡邊 仁美^{1,2}, 竹田 理恵^{1,2}, 廣田 圭司^{1,2}, 近藤 玄^{1,2}
京都大学 ウイルス・再生医科学研究所¹ 統合生体プロセス分野/² 附属再生実験動物施設

— 原著 —

- 精子凍結前の冷却方法についての検討 9
加賀 朝子, 石川 聖華, 中山 順樹, 向江 真璃, 佐久間 友香, 中村 好祐,
荒井 勇輝, 毛利 汐菜, 白築 章吾, 原 利夫
はらメディカルクリニック

— 原著 —

- 妊娠率および流産率からみた 2 種類のヒアルロン酸含有胚移植用培養液の比較検討 11
秋吉 俊明, 松尾 完, 南 志穂, 金子 亜絵理, 古川 晋也, 臼井 文,
山口 敦巳, 長野 純大, 岡本 純英
ART 岡本ウーマンズクリニック

グルタチオンエチルエステルは加齢により低下したウシ卵子の胚発生能を向上させる

真方 文絵, 小牧 春菜, 出田 篤司

全農ET研究所 研究開発室 〒080-1407 北海道河東郡上士幌町字上音更西6線331-11

要旨： 本研究では、抗酸化物質であるグルタチオンエチルエステル(GSH)が老齢牛由来卵子の胚発生能に及ぼす影響について検証した。食肉処理場にてホルスタイン種経産牛より卵巣を採取し、若齢区(50ヶ月齢未満)および老齢区(120ヶ月齢以上)の卵丘細胞-卵母細胞複合体を試験に供した。5mMのGSHを添加した培地を用いて体外成熟培養を行い、体外受精および体外発生培養に供した。老齢区において、GSH添加により第二減数分裂中期に達した成熟卵子の割合が増加するとともに、正常受精率が向上した。さらに、卵割率および胚盤胞期胚への発生率はGSH添加区で有意に高かった。一方で、若齢区ではいずれの項目においてもGSH添加による影響は認められなかった。以上の知見から、ウシ卵子において体外成熟培地へのGSH添加は核成熟および受精を促進し、加齢による胚発生能低下を改善する可能性が示唆された。

キーワード： 加齢, 体外成熟培養, グルタチオンエチルエステル

緒言

あらゆる生物種において、その繁殖能力は加齢とともに低下する。ヒトでは初産年齢の上昇による妊孕性の低下が問題となっているが¹⁾、ウシにおいても同様に、遺伝的能力が判明するころには加齢が進み、繁殖能力が低下するという問題が生じている²⁾。ヒトとウシでは卵胞形成にかかる期間が類似しており、さらに複数の卵胞波の後に単排卵が起こるといった共通の現象が認められる³⁾。さらに加齢による繁殖機能減退の過程において、原始卵胞数の減少やホルモン動態の変化などの似通った現象が認められることから⁴⁾、ヒト生殖補助医療の問題解明に資するアニマルモデルとして、ウシ卵子を活用することができる。加齢による卵子の胚発生能低下機序の一つとして、ミトコンドリアの機能低下による酸化ストレスの悪影響が示唆されている⁵⁾。グルタチオンエチルエステル(GSH)は、過酸化水素を分解し、活性酸素から細胞を保護するグルタチオンの前駆体であり、抗酸化物質として用いられている。ウシにおいて、体外成熟培地へのGSH添加により胚盤胞の細胞数が増加することが報告されているが⁶⁾、加齢が進んだ個体から採取した卵子に及ぼす影響は明らかになっていない。そこで本研究では、体外成熟培地へのGSH添加が老齢牛由来卵子の胚発生能に及ぼす影響について検証した。

対象と方法

試薬および培地類において、記載がないものについてはSigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)にて購入した。体外成熟培養、体外受精、体外発生培養については、既報⁷⁾に若干の改良を加えて実施した。

1. 体外成熟培養

食肉処理場にてホルスタイン種経産牛より個体別に卵巣を採取し、若齢区(50ヶ月齢未満, 39.9±5.4ヶ月齢)および老齢区(120ヶ月齢以上, 135.2±14.2ヶ月齢)の卵巣を試験に供した。18ゲージの針を装着した10mlシリンジにて直径2-8mm程度の小卵胞より卵丘細胞-卵母細胞複合体(COCs)を吸引採取し、若齢区68頭より2,495個のCOCsを、老齢区42頭より1,567個のCOCsを得た。採取したCOCsは基礎培地である5%ウシ胎子血清添加TCM-199(ジャパン・バイオシーラム, 福山市およびGibco Lab., NY, USA)のみ(非添加区)もしくはTCM199に5mMの還元型GSHを添加した培地(添加区)を用い、38.5℃, 5%CO₂湿度飽和気相下で23時間体外成熟培養を行った(10個/100μlドロップ)。培養後の卵子は0.1%ヒアルロニダーゼ処理にて卵丘細胞を剥離し、5%ウシ胎子血清を添加したリン酸緩衝液で洗浄した。卵子のホールマウント標本作製し、固定後に1%アセトアルセインによって核

受付 2017年5月11日/受理 2017年7月5日

責任著者：真方 文絵 e-mail [haneda-fumie@zennoh.or.jp]

の染色を行った。第二減数分裂中期 (MII 期) に達したものを成熟卵子として核の成熟度を算出した。

2. 体外受精

体外成熟培養後の卵子は体外受精に供した。同一の種雄牛から採取した凍結精液を 35℃ の湯につけて融解後、45% - 90% パーコール層の上層に重層し、遠心分離 (1,000rpm × 30 分) 後に 90% パーコール層の下部より得られた精子を用いた。最終濃度 250 万精子 / ml となるように希釈し、IVF100 培地 (機能性ペプチド研究所, 東根市) を用いて 38.5℃, 5% CO₂ 湿度飽和気相下で 15 時間媒精させた (10 個 / 100 μl ドロップ)。ウシ受精卵は脂質を多く含むために前核の評価が困難であることから、前核を可視化するために核染色を行った。前項と同様の手法にて卵丘細胞を除去し、アセトオルセイン染色によって受精率を評価した。雌性前核とともに、精子尾部付近に位置する雄性前核がそれぞれ 1 個ずつ認められたものを 2PN、3 個以上の前核が認められたものを ≥ 3PN とした。

3. 体外発生培養

媒精後の受精卵より卵丘細胞を除去し、38.5℃, 5% CO₂, 5% O₂ 湿度飽和気相下で体外発生培養を実施した。CR1aa 培地にて 5 日間培養後に USU6 培地に

移した (10 個 / 100 μl ドロップ)。培養 2 日目に卵割率を、8 日目に胚盤胞期胚への発生率を評価した。

4. 統計解析

統計解析は Stat View 5.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用い、カイ二乗検定により実施した。P 値が 0.05 未満のものを有意差ありとした。

結 果

1. 核成熟率

若齢区において、成熟培地への GSH 添加は核成熟率に影響を及ぼさなかった (表 1)。老齢区では、MII 期に達した卵子の割合は GSH 添加によって有意に増加した (表 2)。

2. 正常受精率

若齢区において、GSH 添加による受精率への影響は認められなかった (表 3)。老齢区では、GSH 添加により 2PN の割合が有意に増加した (表 4)。

3. 卵割率及び胚盤胞率

若齢区において、成熟培地への GSH 添加は良好胚盤胞発生率を向上させる傾向が認められたが、卵割率およ

表 1 若齢牛由来卵子の核成熟能に及ぼす GSH の影響

GSH	卵子数	未成熟卵子数 (%)	成熟卵子数 ¹⁾ (%)
非添加	105	32 (30.5)	73 (69.5)
添加	98	24 (24.5)	74 (75.5)
<i>P</i> -value		NS	NS

¹⁾ 第 2 減数分裂中期像を呈した卵子数

表 3 若齢牛由来卵子の受精能に及ぼす GSH の影響

GSH	媒精数	総受精数 (%)	2PN ¹⁾ (%)	≥ 3PN ²⁾ (%)
非添加	100	88 (88.0)	60 (60.0)	28 (28.0)
添加	99	89 (89.9)	62 (62.6)	27 (27.3)
<i>P</i> -value		NS	NS	NS

¹⁾ 2 個の前核が認められた受精卵, ²⁾ 3 個以上の前核が認められた受精卵

表 2 老齢牛由来卵子の核成熟能に及ぼす GSH の影響

GSH	卵子数	未成熟卵子数 (%)	成熟卵子数 ¹⁾ (%)
非添加	71	25 (35.2)	46 (64.8)
添加	67	13 (19.4)	54 (80.6)
<i>P</i> -value		0.034	0.038

¹⁾ 第 2 減数分裂中期像を呈した卵子数

表 4 老齢牛由来卵子の受精能に及ぼす GSH の影響

GSH	媒精数	総受精数 (%)	2PN ¹⁾ (%)	≥ 3PN ²⁾ (%)
非添加	102	80 (78.4)	41 (40.2)	39 (38.2)
添加	100	83 (83.0)	56 (56.0)	27 (27.0)
<i>P</i> -value		NS	0.025	0.089

¹⁾ 2 個の前核が認められた受精卵, ²⁾ 3 個以上の前核が認められた受精卵

び胚盤胞期胚への発生率に影響を及ぼさなかった(表5)。一方老齢区では、卵割率、胚盤胞期胚への発生率および良好胚盤胞発生率のいずれにおいても添加区で有意に高かった(表6)。

考 察

本研究では、加齢により低下したウシ卵子の胚発生能を向上させるため、抗酸化物質であるGSHを体外成熟培地に添加し、若齢牛と老齢牛由来卵子に及ぼす影響について検証した。その結果、老齢牛から採取した卵子において、GSH添加は核成熟を促進するとともに正常受精率を向上させ、加齢による胚発生能低下を改善した。

体外成熟培地へのGSH添加に対する反応性は若齢牛と老齢牛で異なり、GSH添加による胚発生能向上効果は老齢牛由来卵子においてのみ認められた。ミトコンドリアは胚発生のためのATP産生を行うと同時に活性酸素を発生する。加齢が進んだ個体では、ミトコンドリアDNAの変異が増加し、活性酸素の産生が増加することで、酸化ストレスが発生する⁸⁾。ウシにおいて、老齢牛由来卵子では若齢牛由来卵子と比較して細胞質内活性酸素濃度が高く⁵⁾、加齢による卵子の酸化ストレスの増加が示唆されている。また、抗酸化物質であるグルタチオンの卵子細胞質内濃度は胚発生能の指標となるが⁹⁾、体外成

熟を行った卵子では体内成熟卵子と比較して細胞質内のグルタチオン濃度が低く¹⁰⁾、体外成熟卵子は体内成熟卵子よりも酸化ストレスの影響を受けやすいと考えられる。さらに、GSHによる抗酸化作用を触媒するグルタチオンS-転移酵素の卵胞液中濃度は加齢により減少することから¹¹⁾、加齢に伴うGSHの保護作用低下による酸化ストレスの発生が卵子の質の低下の一因となっている可能性は高い。

老齢牛由来卵子において、GSHにより核成熟が促進されることで正常受精率が向上するとともに、胚盤胞期胚への発生能が向上したと推察される。本研究ではGSHによる核成熟促進機構については明らかになっていないが、同様に、サル卵子において体外成熟培地へのGSH添加は卵子の細胞質内グルタチオン濃度を増加させ、核成熟率および受精率を向上させたことが報告されている¹²⁾。

本研究により、体外成熟培地へのGSH添加は加齢により低下したウシ卵子の胚発生能を向上させることが明らかとなった。これらの知見をヒト生殖補助医療においても応用し、高齢患者から採取した卵子の体外成熟技術向上のための一助となることが期待される。

参 考 文 献

- 1) Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC: Ovarian aging: Mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev*, 30: 465-493, 2009.
- 2) 岩田尚孝: 加齢と牛の繁殖 序. 日本胚移植学会誌, 37, 2015.
- 3) Langbein A, Hannelore FM, Bartholomeus E, Leroy LMR, Bols PEJ: Bovine in vitro reproduction models can contribute to the development of (female) fertility preservation strategies. *Theriogenology*, 84: 477-489, 2015.
- 4) Wallace WH, Kelsey TW: Human ovarian reserve from conception to the menopause. *PLoS One*, 5: e8772, 2010.
- 5) Takeo S, Kawahara-Miki R, Goto H, Cao H, Kimura K, Monji Y, Kuwayama T, Iwata H: Age-associated changes in gene expression and developmental competence of bovine oocytes, and a possible countermeasure against age-associated events. *Mol Reprod Dev*, 80: 508-521, 2013.
- 6) Curnow EC, Ryan JP, Saunders DM, Hayes ES: Developmental potential of bovine oocytes following IVM in the presence of glutathione ethyl ester. *Reprod Fertil Dev*, 22: 597-605, 2010.
- 7) Ideta A, Urakawa M, Aoyagi Y, Saeki K: Early development in utero of bovine nuclear transfer embryos using early G1 and G0 phase cells. *Cloning Stem Cells*, 9: 571-580, 2007.
- 8) Chistiakov DA, Sobenin IA, Revin V V, Orekhov AN, Bobryshev YV: Mitochondrial aging and age-related dysfunction of mitochondria. *Biomed Res Int*, 2014: 238463, 2014.

表 5 若齢牛由来卵子の胚発生能に及ぼすGSHの影響

GSH	卵子数	卵割胚数 ¹⁾ (%)	胚盤胞数 (%)	良好胚数 (%)
非添加	177	104 (58.8)	41 (39.4)	29 (27.9)
添加	197	131 (66.5)	59 (45.0)	47 (35.9)
<i>P</i> -value		<i>NS</i>	<i>NS</i>	0.073

¹⁾ 媒精後 48 時間に観察した2細胞期以上の胚数

表 6 老齢牛由来卵子の胚発生能に及ぼすGSHの影響

GSH	卵子数	卵割胚数 ¹⁾ (%)	胚盤胞数 (%)	良好胚数 (%)
非添加	79	40 (50.6)	9 (22.5)	8 (20.0)
添加	85	60 (70.6)	29 (48.3)	26 (43.3)
<i>P</i> -value		0.009	0.001	0.001

¹⁾ 媒精後 48 時間に観察した2細胞期以上の胚数

- 9) Zuelke KA, Jeffay SC, Zucker RM, Perreault SD: Glutathione (GSH) concentrations vary with the cell cycle in maturing hamster oocytes, zygotes, and pre-implantation stage embryos. 64: 106-112, 2003.
- 10) Yoshida M, Ishigaki K, Nagai T, Chikyu M, Pursel VG: Glutathione concentration during maturation and after fertilization in pig oocytes : Relevance to the ability of oocytes to form male pronucleus. Biol Reprod, 94: 89-94, 1993.
- 11) Carbone MC, Tatone C, Monache SD, Marci R, Caserta D, Colonna R, Amicarelli F: Antioxidant enzymatic defences in human follicular fluid: Characterization and age-dependent changes. Mol Hum Reprod, 9: 639-643, 2003.
- 12) Curnow EC, Ryan JP, Saunders DM, Hayes ES: Primate model of MI oocyte in vitro maturation and the effects of a novel glutathione donor on maturation, fertilization and blastocyst development. Fertil Steril, 144: 724-732, 2008.

マウス精子成熟における遺伝的背景の影響について

渡邊 仁美^{1,2}, 竹田 理恵^{1,2}, 廣田 圭司^{1,2}, 近藤 玄^{1,2}

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所

¹ 統合生体プロセス分野, ² 附属再生実験動物施設 〒606-8507 京都府京都市左京区聖護院川原町 53

要 旨： 哺乳類精子は射出直後には受精能を持たないが、数々の段階的な精子成熟過程を経ることで受精能を獲得することが知られている¹⁾。先行研究において受精能獲得過程にある精子の膜表面ではGPIアンカー型タンパク質(GPI-AP)遊離とラフトの局在変化が連動して起こり、これが受精に重要な反応であることを見出した²⁾。本研究では、実験用近交系マウスで妊孕性に差があるC57BL/6系統とBALB/c系統に着目し、2系統間の精子受精能獲得過程における分子挙動を比較し、受精能との相関を検討した。

実験区として、EGFP-GPI遊離・ラフト局在変化・奇形精子率・先体反応の誘導・コレステロール遊離・体外受精率・同一場での受精能の比較・雌体内での両系統精子のGPI-AP遊離およびラフト局在の比較を行った。

結果として、両系統間でラフトの局在変化に有意な差が認められ、これが受精能の違いを反映していることが示唆された。

キーワード：マウス系統, 精子, ラフト, 受精率

目 的

本研究では、実験用近交系マウスで妊孕性に差があるC57BL/6系統とBALB/c系統に着目し、2系統間の精子受精能獲得過程における分子挙動を比較し、受精能との相関を検討した。

材料と方法

- ①トランスジェニック(Tg) マウスの作製：GPIアンカー型EGFP遺伝子をもつEGFP(K268Q)-GPI Tgマウスを作製するため、C57BL/6系統(日本SLC)のマウス受精卵にDNAマイクロインジェクション法を用いて遺伝子導入した。このマウスは野生型C57BL/6マウスと同等の妊娠能力を示した。またBALB/c系統のTgマウスは、野生型BALB/cマウス(日本SLC)と15回戻し交配を行って作製した。
- ②精子の調整方法：10週齢のTg雄マウスの精巣上体尾部より精子を採取し、HTF-PVA培養液および0.45mM Methyl- β -cyclodextrin(M- β -CD) 含有 HTF-PVA培養液ドロップ内でswim up培養を行った。
- ③体外受精環境：37°C 5% CO₂ インキュベーター内で、HTF-PVA 培養液で体外受精を行った。発生培地はmWM発生培地を用い発生させた。媒精濃度は160,000sperm/mlで行った。

- ④受精の判定基準：2cellへの発生をもって判定を行った。受精率は受精率(%) = 2cell数 / (2cell数 + 未受精卵数) と算出した。
- ⑤受精卵の移植方法：発情期の雌マウスを精管結紮雄マウスと交配し、交配翌日にプラグチェックを行い、これを偽妊娠0.5日マウスとして移植を行い19.5日を出産予定日とした。
- ⑥統計的有意差の検定：2群間の有意差検定は、すべてスチューデントt-testを行った。

実験項目

- ①受精能獲得誘導によるGPI-AP遊離の観察：精子受精能獲得の誘導物質であるM- β -CDを培養液に加え、5分・30分・120分間Tgマウス精子の培養を行い、蛍光顕微鏡を用いEGFP-GPI遊離の観察を行った。
- ②精子受精能獲得誘導に伴うラフトの動きの観察：上記の条件で培養したTgマウス精子を蛍光標識したコレラトキシンBフラグメントにより染色し、GM1の挙動を蛍光顕微鏡にて観察した。
- ③精子奇形率の測定：両系統の精子の形態を観察し、奇形率を測定した。
- ④先体反応の観察：上記の条件で培養したTgマウス精子をIzumo1の免疫染色を行い、先体反応の進行を観察した。

受付 2017年5月31日 / 受理 2017年7月12日

責任著者：渡邊 仁美 e-mail [watanabe@infront.kyoto-u.ac.jp]

- ⑤精子膜からのコレステロール遊離の測定:コレステロール結合試薬であるfilipinでTgマウス精子を染色し、FACS(fluorescence activated cell sorting)を用い、受精能獲得時のコレステロール遊離の観察を行った。
- ⑥受精率と産仔率の測定:両系統で体外受精を行い、受精率と受精卵移植後の産仔率を測定した。
- ⑦同一場での受精能の比較:両系統の精子を様々な比率で混合して体外受精を行い、引き続き偽妊娠マウスに全ての受精卵を移植し、得られた産仔の眼色から両系統精子の優位性とその割合を測定した。
- ⑧体内におけるGPI-AP遊離とラフトの動きの観察:Tg雄マウスを野生型雌マウスと交配し、卵管膨大部を採取して卵を回収した。次に卵透明帯に接着した精子のGPI-AP遊離の有無とラフトの挙動を蛍光顕微鏡下で観察した。

結 果

- ① GPI-AP遊離:両系統ともに3匹の雄マウスを用いて3回の実験を行ったところ、GPI-AP遊離が同じ程度に見られ、有意な差はなかった。
- ②ラフトの局在変化:両系統ともに3匹の雄マウスを用いて3回の実験を行ったところ、C57BL/6系統では、ラフトの局在変化が見られたが、BALB/c系統はほぼ見られず統計学的有意差が認められた(図1A)。
- ③奇形精子率:両系統ともに3匹の雄マウスを用いて3回の実験を行ったところ、C57BL/6系統の奇形精子率は平均3.5%であったが、BALB/c系統の奇形精子率は平均21%であり、統計学的有意差がみられた。
- ④先体反応:先体反応の進行をIzumo1の局在変化で検出したが、両系統ともに3匹の雄マウスを用いて3回の実験を行ったところ、有意な差は見られなかった。
- ⑤コレステロール遊離:両系統ともに3匹の雄マウスを用いて3回の実験を行ったところ、両系統間でコレステロール遊離に有意な差は見られなかった。
- ⑥受精率:両系統ともに3匹の雄マウスを用いて3回の実験を行ったところ、C57BL/6系統の受精率は平均80.5%であったが、BALB/c系統では平均39.3%であり、統計学的有意差がみられた(図1B)。
- ⑦同一場での受精能の比較:両系統精子の受精能の違いを詳細に比較するため、同一の体外受精培養液に両系統精子を混合して体外受精を行なった。それぞれ6回の実験を行い、その結果、BALB/c系統精子をC57BL/6系統に対して9倍量加えないと同等以上の受精が成立しないことがわかった(図1C)。
- ⑧雌体内でのBALB/c精子のGPI-AP遊離およびラフ

トの動きの局在変化:先行研究では、雌卵管内で卵透明帯に接着しているC57BL/6系統精子は、その全てがEGFP-GPI遊離とGM1分布が頭部全体型を示していることを報告した。そこで、BALB/c系統について同様の観察を行なったところ、4回の実験で平均90%近くの精子でGPI-AP遊離が見られたが、ラフト局在変化は平均17.9%の精子でしか認められなかった(図1D)。

考 察

C57BL/6系統とBALB/c系統は、実験用近交系マウスとして汎用されているが、BALB/c系統の産仔数は、C57BL/6系統の約80%と有意に低いことが知られていた(日本クレアホームページ)。実際に今回の体外受精実験でもC57BL/6系統の50%程度の受精率であった。この原因としては、これまで精子の奇形率の違いで説明されてきたが、BALB/c系統でも約80%の精子は正常型である。一方、同一場での体外受精実験では、BALB/c精子がC57BL/6精子と同等以上の受精能を示すには約9倍量の精子数が必要なことから、この低受精率は、奇形率の違いだけでは説明できない。本研究で我々は新たに、両系統間で受精能獲得過程でのラフトの可動性の違いを見出した。ラフトは、長鎖疎水性脂質で構成され、そこには様々な受容体、タンパク質リン酸化酵素、Gタンパク質等の分子が集約し、外的シグナルを効率よく細胞内に伝えるメカニズムのひとつであると考えられている³⁾。このことから、精子膜上のラフトの局在変化は、受精の効率的な進行に寄与している可能性が示唆される。今後、今回調べた2系統以外の系統についてもその受精能とラフト可動性の相関を検討すれば、より確かな傍証となるであろう⁴⁾。しかしながら、本研究で見出した結果は、現段階では状況証拠でしかない。今後は、ラフトの動きを外から操作する方法を考案して、この現象が直接的に受精の進行に関与しているかを検証する必要がある。また、ラフト可動性の観察は、ヒトにも応用可能なので、これにより、今後新たな男性不妊症診断法の確立が期待される。

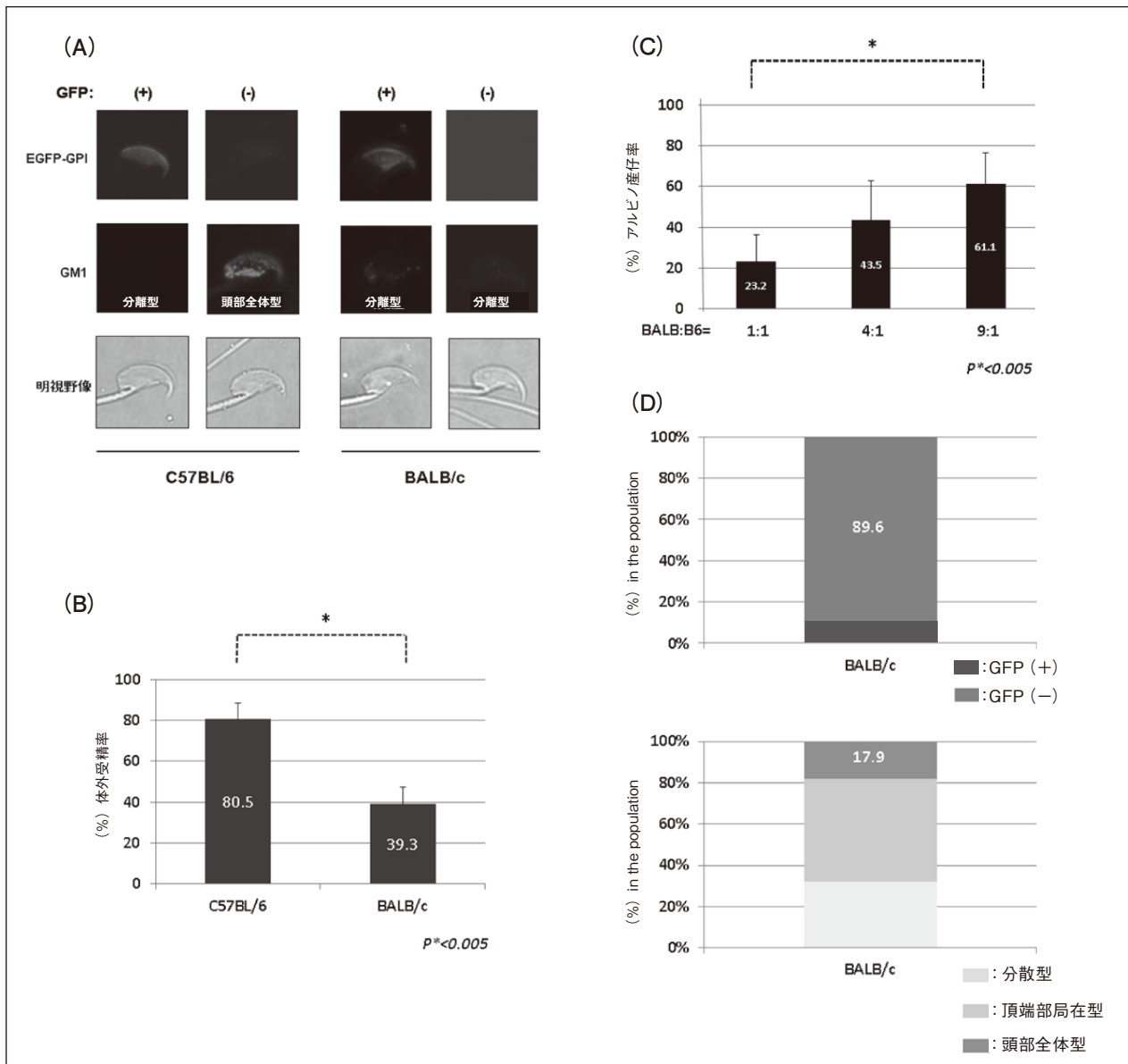


図 1

(A) 両系統 Tg マウス精子の EGFP-GPI 遊離とラフトの挙動。代表例を示す。(B) 両系統の体外受精率。グラフ中の数値は、独立した3回の実験結果の平均値を示す。*はt-検定において0.5%の危険率で統計学的有意差があることを示す。(C) 両系統精子の同一場での受精能の比較。両系統の精子をそれぞれ独立に受精能獲得誘導を行い、図中の比率で混合して体外受精を行なった。BALB/c はアルビノ（毛色は白色，赤目）であるので，同じアルビノである ICR 卵と受精すると，産仔は全てアルビノとなる。逆に C57BL/6 精子と受精すると，産仔は全て有色（毛色は野生色，黒目）となる。BALB/c 精子は C57BL/6 精子に対して9倍量加えないとアルビノ率が50%を越えないことがわかる。グラフ中の数値は，独立した6回の実験結果の平均値を示す。*はt-検定において0.5%の危険率で統計学的有意差があることを示す。(D) 雌体内での卵透明帯接着 BALB/c Tg 精子の EGFP-GPI 遊離およびラフトの挙動。グラフ中の数値は EGFP-GPI 遊離精子の比率（上）および GM1 染色が頭部全体型である精子の比率（下）を示す。データは，独立した4回の実験から得られたものである。

参考文献

- 1) Yanagimachi R: Germ cell research: a personal perspective. Biol Reprod, 80: 204-218, 2009.
- 2) Watanabe H, Kondoh G: Mouse sperm undergo GPI-anchored protein release associated with lipid raft reorganization and acrosome reaction to acquire fertility. J Cell Sci, 124: 2573-2581, 2011.
- 3) Mollinedo F, Gajate C: Lipid rafts as major platforms for signaling regulation in cancer. Adv Biol Regul, 57: 130-146, 2015.
- 4) Watanabe H, Takeda R, Hirota K, Kondoh G: Lipid raft dynamics linked to sperm competency for fertilization in mice. Genes to Cells, 22: 493-500, 2017.

精子凍結前の冷却方法についての検討

加賀 朝子, 石川 聖華, 中山 順樹, 向江 真璃, 佐久間 友香, 中村 好祐,
荒井 勇輝, 毛利 汐菜, 白築 章吾, 原 利夫

はらメディカルクリニック 〒151-0051 東京都渋谷区千駄ヶ谷 5-8-10

要 旨： 凍結精子を不妊治療に用いる際、融解後運動率・直線速度の低下が起こり、希望通りの治療ができないことがある。ウシ精子を用いた研究では、液体窒素蒸気中で精子を凍結する前に予備冷却を行うことで融解後運動率が上昇したという報告がある¹⁾。そこで本検討では、調整後の精子浮遊液と凍結液を混和させた後、直ちに液体窒素蒸気中で凍結する従来法群と、凍結前に冷蔵庫にて予備冷却を行い凍結した予備冷却群に分け、ヒト精子でも融解後運動率、高速運動率、直線速度の改善がみられるのか検討を行った。

キーワード： 精子凍結, 液体窒素蒸気凍結法

緒 言

1953年、Sherman²⁾らが精子凍結保存の安定化に成功、人工授精により妊娠例を得たとの報告がある。その後、凍結精子は非配偶者間人工授精(AID)や体外受精、顕微授精に用いられるようになった。現在では、悪性腫瘍の治療前や精巣腫瘍などの医学的介入による精子減少が予想される場合に精子凍結も臨床応用されている。凍結精子を使用することで、患者のニーズに合わせた治療を行うことが可能となった。しかし凍結精子を融解した際、一般的に運動率・直線速度の低下が起こり、希望通りの治療をできないことがある。融解後の運動率・直線速度の低下を抑えることが出来れば、治療成績の向上が期待できる。現在、ヒト精子凍結には精子調整後、凍結液と混和させ液体窒素蒸気中で冷却、凍結を行う液体窒素蒸気凍結法が多くの施設で行われている。家畜の研究では、ウシ精子を凍結する際に予備冷却を5℃、20時間行い液体窒素蒸気上で凍結することで予備冷却なしの場合より、融解後運動率の上昇が確認できたという報告がある。

そこで本検討ではウシ精子の報告同様、ヒト精子でも予備冷却を行うことで、融解後運動率は改善されるのかどうか、従来法と比較した。

対象と方法

対象は2016年2月から2016年7月の期間に精液検査を行った患者のうち研究同意を得られた34名とし

た。また、本研究は当院の倫理委員会の承認を得た上で行った。

解析には精子運動解析装置SMAS(DITECT社)を使用した。最初に、採取された精液を3.0mlの80%SpermFilter(Gynotec社)に重層し400×g、15分間遠心分離した。次に、遠心後の上清を除去し、1.0mlのSperm Wash(In Vitro Care社)を加え懸濁した。この懸濁液を300×g、6分間遠心後、上清を除去し、0.1～0.2mlのSperm Washを加えて精子浮遊液を作製した。精子浮遊液とSperm Freeze(Ferti Pro社)を1:1の割合で混和させセラムチューブに半量ずつ分け、一方を冷蔵庫(4℃)で3時間冷却後凍結を行う予備冷却群、他方を調整後直ちに凍結を行う従来法群とした。精子の融解は、37℃に保った環境に10分間静置した後、Sperm Washで懸濁し300×g、6分間遠心し上清を除去した。その後、Sperm Washを0.2ml加えSMASにて測定を行った。融解後の運動率、高速運動率、直線速度をt検定にて比較検討をした。

結 果

凍結前の精子所見の平均は精子濃度 $170.1 \times 10^6/\text{ml}$ (SE±30.6)、運動率74.4%(SE±3.0)、高速運動率44.2%(SE±3.3)、直線速度29.3μm/sec(SE±1.1)だった。融解後の予備冷却群、従来法群の運動率、高速運動率、直線速度は表1に表す。

融解後運動率の平均は予備冷却群23.00%、従来法群21.53%(p=0.10)。高速運動率の平均は予備冷却

群 8.91%, 従来法群 7.45% ($p=0.03$). 直線速度の平均は予備冷却群 21.7 $\mu\text{m}/\text{sec}$, 従来法群 19.5 $\mu\text{m}/\text{sec}$ ($p=0.003$). 運動率において, 2群間に有意差は認められなかった. 高速運動率と直線速度には, 有意差 ($p<0.05$) が認められ予備冷却群が従来法群よりも高速運動率が高いという結果となった.

表 1 融解後精子所見

検査項目	予備冷却	従来法	t 検定
運動率 (%)	23.00	21.53	n.s
高速運動率 (%)	8.91	7.45	*
直線速度($\mu\text{m}/\text{sec}$)	21.7	19.5	*

n.s: 非有意, *: $p < 0.05$

考 察

結果から, 予備冷却群の精子では高速運動率, 直線速度は従来法よりも有意に高いことがわかった. ヒト精子でも予備冷却することで, 従来法よりも融解後高速運動率, 直線速度が改善される結果となった. よって, 予備冷却を設けて精子凍結を行なった方が治療成績の向上に貢献できると考えられる.

今後はさらに冷却時間, 温度に関して検討を行うとともに, 乏精子症や精子無力症など精子数が少ない症例に関しても予備冷却に効果があるのか検討したい.

参 考 文 献

- 1) Burge RG, Sherman JK: Fertilization capacity of frozen human spermatozoa. Nature, 172: 767-768, 1953.
- 2) 枘田博司: 牛精液の凍結保存技術に関する最近の研究動向と今後の問題点-1-. 畜産の研究, 37: 485-490, 1983.

妊娠率および流産率からみた 2種類のヒアルロン酸含有胚移植用培養液の比較検討

秋吉 俊明, 松尾 完, 南 志穂, 金子 亜絵理, 古川 晋也, 臼井 文,
山口 敦巳, 長野 純大, 岡本 純英

ART 岡本ウーマンズクリニック 〒850-0861 長崎県長崎市江戸町 7-1

要 旨： ヒアルロン酸を添加した培養液は高い妊娠率が期待されている。今回、凍結融解単一胚盤胞移植の妊娠率および流産率について、ヒアルロン酸を含む2種類の移植用培養液の比較検討を後方視的に行った。2015年1月から2016年4月までに凍結融解単一胚盤胞移植を施行した535周期を対象とした。A社(A群)とB社(B群)の妊娠率および流産率について比較検討した(検討1)。対象を3つの年齢層に分け、それぞれの妊娠率、流産率についてA群とB群を比較検討した(検討2)。Gardner分類にてグレードBB以上の群とグレードBB未満の群に分け、それぞれの妊娠率および流産率についてA群とB群を比較検討した(検討3)。検討1, 2 および3の結果、AB群間に妊娠率と流産率に有意差は認められなかった。このことから、2つのヒアルロン酸含有胚移植用培養液は同様の効果が期待できることが分かった。
キーワード： ヒアルロン酸, 胚移植用培養液, 培養液, 妊娠, 凍結融解単一胚盤胞移植

緒 言

近年ヒアルロン酸を含む培養液が数社から市販されている。ヒアルロン酸はその特性である粘稠性による移植時の胚の物理的保護効果と子宮内膜の接着作用の促進により、妊娠率を増加させることが報告されている¹⁾。しかし、現在市販されているヒアルロン酸含有移植用培養液同士の臨床成績を比較検討した報告は少ない。そこで、今回我々は、凍結融解単一胚盤胞移植の臨床妊娠率(以後、妊娠率)および流産率について、ヒアルロン酸を含む2種類の移植用培養液の比較検討を後方視的に行った。

対象と方法

対象は、2015年1月から2016年4月までにホルモン補充下にて凍結融解単一保存胚盤胞移植を施行した535周期を対象とした。使用する2種類のヒアルロン酸含有胚移植用培養液は、EmbryoGlue[®] (Vitrolife) をA群とし、Embryo Transfer[®] medium (ナカメディカル) とした。なお、この2種類の胚移植用培養液を検討するにあたり利益相反はない。胚盤胞の凍結融解は、向田らのクライオループ法²⁾ に準じて行った。回復培養は、胚移植時に用いる2種類のヒアルロン酸含有胚移植用培養液を使用し、胚移植までの2～4時間とした³⁾。胚盤

胞移植は、岡本文献の手技に従いpinpoint胚移植法で施行した⁴⁾。妊娠は、経腔超音波検査にて胎嚢を確認できた場合を妊娠陽性とした。

A群とB群の妊娠率および流産率について比較検討した(検討1)。さらに、対象を35歳未満、35～39歳および40歳以上の3群に分け、それぞれの妊娠率、流産率についてA群とB群を比較検討した(検討2)。次に、胚盤胞凍結時の形態評価別に分けて比較検討を行った。すなわち、Gardner分類にて⁵⁾ グレードCを含まないBB以上の群(以下; BB以上)とグレードCを含むBB未満の群(以下; BB未満)に分け、それぞれの妊娠率および流産率についてA群とB群を比較検討した(検討3)。各項目における統計処理は、カイ二乗検定あるいはt検定を用い、 $P<0.05$ を持って統計学的に有意とした。

結 果

A群は379周期であり、B群は156周期であった。年齢(Mean±SD)はA群37.5±4.3歳、B群36.2±4.3歳であった。また移植回数(Mean±SD)は、A群3.4±2.3回、B群3.4±2.4であった。年齢と移植回数に有意差は認められなかった(表1)。

検討1：A群およびB群における妊娠率はそれぞれ42.5%、42.9%であり、流産率はそれぞれ27.3%、31.3%であった。AB群間に有意な差は認められなかつ

表 1 対象の患者背景

項目		A 群	B 群	有意差
周期		379	156	—
年齢	Mean±SD	37.5±4.3	36.2±4.3	n. s.
	Min-Max	22-44	24-45	—
移植回数	Mean±SD	3.4±2.3	3.4±2.4	n. s.
	Min-Max	1-13	1-13	—

表 2 2種類のヒアルロン酸含有移植培養液の妊娠率・流産率

	A 群	B 群	有意差
周期数	379	156	—
妊娠数	161	67	—
妊娠率	42.5%	42.9%	n. s.
流産数	44	21	—
流産率	27.3%	31.3%	n. s.

表 3 34歳以下の妊娠率・流産率

	A 群	B 群	有意差
周期数	142	52	—
妊娠数	72	29	—
妊娠率	50.7%	55.8%	n. s.
流産数	14	8	—
流産率	19.2%	27.6%	n. s.

表 4 35歳から39歳までの妊娠率・流産率

	A 群	B 群	有意差
周期数	154	65	—
妊娠数	69	27	—
妊娠率	44.8%	41.5%	n. s.
流産数	24	6	—
流産率	34.8%	22.2%	n. s.

た(表2)。

検討2: 35歳未満の妊娠率はA群で50.7%, B群55.8%であり, 流産率はA群19.4%, B群27.6%であった(表3)。B群の妊娠率はA群に比べて高くなったものの, 流産率も高く, 有意差は認められなかった。35～39歳の妊娠率はA群44.8%, B群41.5%であり, 流産率はA群34.8%, B群22.2%であった(表4)。40歳以上の妊娠率はA群24.1%, B群28.2%であり, 流産率はA群30.0%, B群63.6%であった(表5)。B群の妊娠率はA

表 5 40歳以上の妊娠率・流産率

	A 群	B 群	有意差
周期数	83	39	—
妊娠数	20	11	—
妊娠率	24.1%	28.2%	n. s.
流産数	6	7	—
流産率	30.0%	63.6%	n. s.

表 6 グレードBB以上の妊娠率・流産率

	A 群	B 群	有意差
周期数	255	86	—
妊娠数	119	46	—
妊娠率	46.7%	53.5%	n. s.
流産数	30	13	—
流産率	25.2%	28.3%	n. s.

表 7 グレードBB未満の妊娠率・流産率

	A 群	B 群	有意差
周期数	124	70	—
妊娠数	42	21	—
妊娠率	33.9%	30.0%	n. s.
流産数	14	8	—
流産率	33.3%	38.1%	n. s.

群に比べて高くなったが, 流産率も高く, 有意差は認められなかった。いずれの年齢層においてもAB群間に有意な差は認められなかった。

検討3: グレードBB以上の妊娠率は, A群46.7%, B群53.5%であり, 流産率はA群25.2%, B群28.3%であった(表6)。B群の妊娠率はA群に比べて高くなったが有意差は認められなかった。グレードBB未満の妊娠率, A群33.9%, B群30.0%であり, 流産率はA群33.3%, B群38.1%であった(表7)。B群の流産率はA

群に比べて高くなったが、有意差は認められなかった。グレードBB以上、BB未満ともに有意な差は認められなかった。

考 察

ヒアルロン酸は、粘稠性のある高分子多糖であり、胚への物理的保護作用が報告されている。また、細胞間の接着を高め、子宮内膜に存在するCD44に接着することが知られており、ヒアルロン酸を含む胚移植用培養液は妊娠率の向上に寄与することが報告されている。我々も胚移植用培養液に含まれるヒアルロン酸の有効性について報告を行った^{6,7)}。現在では数社よりヒアルロン酸含有胚移植用培養液が開発、市販されている。今回比較した2種類の胚移植用培養液のヒアルロン酸濃度は、共に0.5 mg/mLであった。高濃度のヒアルロン酸は胚発育に悪影響を及ぼすため、至適濃度が含まれていれば十分であるとされている^{8,9)}。ヒアルロン酸濃度が等しいことから、AB群間で妊娠率と流産率に有意差は認められなかったと考えられた。培養液の基本組成について詳細は公表されておらず、比較検討できなかったが、2種類の移植用培養は同様の効果があったと考えられた。

検討2では、年齢層ごとの妊娠率、流産率について比較検討を行ったが有意差は認められなかった。ヒアルロン酸含有胚移植用培養液は、従来のヒアルロン酸を含まない胚移植用培養液に比べて年齢が高い反復不成功例において有効性が報告されている¹⁰⁾。しかし、今回の結果では、B群の40歳以上の流産率は63.6%に達し、A群に比べて有意差はないものの高値となった。これはヒアルロン酸含有胚移植用培養液の生産率の有意な増加は認められなかったとするCochrane Reviewを支持する結果となった¹¹⁾。流産の大きな原因は染色体異常であることが報告されており^{12,13)}、流産率は患者背景が強く影響し、ヒアルロン酸による効果は期待できないと考えられた。

また、培養液へのヒアルロン酸の添加は、胚質の向上や凍結融解後の回復培養の使用による妊娠率の向上が報告されているが^{14,15)}、今回、胚盤胞までの培養はヒアルロン酸を含まない培養液であり、凍結融解後の回復培養は2～4時間で、胚質の改善や妊娠率に大きく影響を与えたと考えにくい。このため、形態評価別による妊娠率、流産率についても有意差は認められなかったと考えられた。

検討1.2および3の結果より、EmbryoGlue[®]とEmbryo Transfer[®] mediumの2種類のヒアルロン酸含有胚移植用培養液は、年齢層の違いや胚グレードの違いにより妊

娠率と流産率に差は認められなかった。

現在、ヒアルロン酸を含む胚移植用培養液が数社より開発・販売されているが、培養液の組成や濃度の詳細は公表されていないことが多く、要因を特定し比較することは難しい。胚培養の選択にあたっては主成分や濃度などから、妊娠率の効果を十分に確認し、自施設の環境、患者背景などに考慮することが重要であると思われる。

参 考 文 献

- 1) Nakagawa K, Takahashi C, Nishi Y, Jyuen H, Sugiyama R, Kuribayashi Y, Sugiyama R, Kuribayashi Y, Sugiyama R: Hyaluronan-enriched transfer medium improves outcome in patients with multiple embryo transfer failures. *J Assist Reprod Genet.* 29: 679-685, 2012.
- 2) Mukaida T, Oka C, Goto T, Takahashi K: Artificial shrinkage of blastocoles using either a micro-needle or a laser pulse prior to the cooling steps of vitrification improves survival rate and pregnancy outcome of vitrified human blastocysts. *Hum Reprod.* 21 (12) : 3246-3252, 2006.
- 3) 秋吉俊明・南志穂・松尾完・溝部大和・山口敦巳・岡本純英: Artificial shrinkageによるvitrified-warmed胚盤胞の回復状況と臨床成績の検討。日受精着学会誌, 30 (1) : 100-14, 2013.
- 4) 岡本純英: 経腔超音波断層誘導下 pinpoint 胚移植法の確立。日受精着学会誌, 30 (1) : 30-35, 2013.
- 5) Gardner DK, Schoolcraft WB, Wagley L, Schlenker T, Stevens J, Hesla J: A prospective randomized trial of blastocyst culture and transfer in in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 13 (12) : 3434-3440, 1998.
- 6) 秋吉俊明・岡本純英・松尾完・溝部大和・坂口摩姫・上田泰子・福田裕子・松尾恵子・福岡倫子・山口敦巳: 経腔超音波断層誘導下法(ピンポイント法)のET-associated air movement対策としてのhyaluronan rich transfer medium: fibrin sealant (glue)の使用経験。日受精着床会誌(学会抄録), 163: O-2, 2013.
- 7) 松尾完・秋吉俊明・南志穂・西垣みなみ・松崎彰子・上田泰子・松尾恵子・佐藤春葉・山口敦巳・岡本純英: 保存胚盤胞移植におけるヒアルロン酸添加移植用培養液の使用法に関する検討。第71回九州・沖縄生殖医学会学会集會。28, 2014.
- 8) Miyano T, Hirooka ER, Kano K, Miyake M, kusunoki H, Kato S: Effects of hyaluronic acid on the development of 1- and 2-cell porcine embryos to the blastocyst stage in vitro. *Theriogenology*, 41: 1299-1305, 1994.
- 9) Stojkovic M, Thompson JG, Tervit HR: Effects of hyaluronic acid supplementation on in vitro development of bovine embryos in a two-step culture system. *Theriogenology*, 51: 254, 1999.
- 10) Uramn B, Yakin K, Ata B, Isiklar A, Balaban B: Effect of hyaluronan-enriched transfer medium on implantation and pregnancy rates after day3 and day5 embryo transfer:a prospective randomized study. *Fertil Steril*, 90: 604-12, 2008.
- 11) Cochrane Database Systematic Reviews 2010, 7: CD007421. <http://www.cochranelibrary.com/cochrane-database-of->

systematic-reviews/table-of-contents/2010/Issue7/,
(2017.05.25)

- 12) Marquez C, Sandalinas M, Bahce M, Alikani M, Munne S: Chromosome abnormalities in 1255 cleavage-stage human embryos. *Reprod Biomed Online* 1, 17-27, 2000.
- 13) Munne S, Alikani M, Tomkin G, Grifo J, Cohen J: Embryo morphology developmental rates and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril*, 64: 382-391, 1995.
- 14) 西原卓志・橋本周・井上朋子・中岡義晴：ヒアルロン酸含有培養液は胚発生能の向上に寄与する。日受精着床会誌，32: 203-208, 2015.
- 15) 田邑結城・北野加奈子・山田（菅原）彩子・八島（横）菜月・櫻井宏佑・三輪淳子・加藤淳子・山本瑠伊・大野田晋・鴨下桂子・拝野貴之・杉本公平・林隆・岡本愛光・林博：ヒアルロン酸含有培養液を用いた胚培養成績と，回復培養後の胚移植成績に関する検討。日受精着床会誌，34（1）：39-43, 2017.

第20回 日本IVF学会学術集会

共催

日本臨床エンブリオロジスト学会／日本生殖看護学会

メインテーマ

Challenge to Excellent ART —ARTの聖地よりおもてなし—

会期

2017年9月30日(土)～10月1日(日)

会場

ホテルメトロポリタン仙台



学術集会抄録集

理事長挨拶 (一般社団法人 日本IVF学会 理事長 / 塩谷 雅英)	24
学術集会長挨拶 (第20回 日本IVF学会 学術集会長 / 吉田 仁秋)	25
Program	26
交通のご案内	28
フロアマップ	28
お知らせ	29

ART Basic Lecture

座長: 近畿大学 / 入谷 明

皮膚からの卵子作製～マウス知見をもとに～	30
----------------------------	----

九州大学大学院 医学研究院 教授 / 林 克彦

卵巣機能不全患者への挑戦

座長: ローズレディースクリニック / 石塚 文平

IVA (in vitro activation) の臨床応用	31
Ovarian follicles: in vivo architecture, FSH receptor imaging, and in vitro activation	32

聖マリアンナ医科大学 医学部産婦人科学 准教授 / 河村 和弘

Department of Ob/Gyn, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA USA / Aaron J Hsueh

ART Frontline

座長: 兵庫医科大学 / 柴原 浩章

Strategy of mild stimulation IVF combined with IVM treatment	33
採卵で未成熟だった卵子を如何に治療に用いるか	34

Department of Obstetrics and Gynecology, McGill University, Montreal, Canada / Ri-Cheng Chian

浅田レディースクリニック, 広島大学大学院 生物圏科学研究科 / 北坂 浩也

理事長講演

座長: 山王病院 / 堤 治

Excellent ARTを目指したDr.の役割	35
--------------------------------	----

日本IVF学会 理事長 / 塩谷 雅英

日本臨床エンブリオロジスト学会 Workshop

座長：国際医療福祉大学 / 柳田 薫
三宅医院 / 沖津 摂

Lab における Excellent ART のための機器管理と災害対策	36
仙台ARTクリニック / 菊地 裕幸	
ラボにおけるExcellent ARTとは	37
加藤レディスクリニック / 内山 一男	
NsのExcellent ARTとは	38
蔵本ウイメンズクリニック 看護師長 / 村上 貴美子	
培養士の国家資格化を目指して～心理職の国家資格化の過程から～	39
東京HARTクリニック 臨床心理士 / 平山 史朗	

日本生殖看護学会パネルディスカッション

座長：京都橘大学 / 上澤 悦子
スズキ記念病院 / 濱田 結実

高齢出産の母親への社会的支援の実際と課題	
ー総合周産期母子医療センターのNICU退院支援専従社会福祉士の立場からー	40
京都第一赤十字病院 医療社会事業司 / 藤原 久子	
高齢母親を対象としたART治療中から治療後の妊娠までの継続的支援	41
東邦大学医療センター佐倉病院 不妊症看護認定看護師 / 勝又 由美	
在宅医療が必要なハイリスク児の退院支援の実際と課題	42
高槻病院 リソースナース室長 / 橋倉 尚美	

Symposium

座長：渋谷橋レディースクリニック / 久保 春海
木場公園クリニック / 吉田 淳

生殖医療におけるPGSの意義	43
IVF大阪クリニック 院長 / 福田 愛作	
産科医の出生前診断の経験からみたPGS	44
宮城県立こども病院産科 部長, 東北大学大学院 医学系研究科生育発達医学講座 胎児医学分野 教授 / 室月 淳	
細胞遺伝学から見たPGS	45
永井マザーズホスピタル・京野アートクリニック / 笠島 道子	
Effective use of Time Lapse in IVF and PGS	46
the Univ. of Auckland / Dean E. Morbeck	

学術集会抄録集

ART Frontline

座長：千葉大学 / 市川 智彦

- Finding Sperm in NOA Patients: Medieval to Modern 47
Director, The Turek Clinics / Paul Turek

オーストラリア生殖医学会交換講演

座長：埼玉医科大学 / 石原 理

- THE FUTURE OF IVF 49
Professor, Robinson Research Institute, University of Adelaide / Robert Norman

Lecture from the Legend

座長：スズキ記念病院 / 星 和彦

- The beginning and future of fertilization study, IVF and ART 50
University of Hawaii Medical School / Ryuzo Yanagimachi

Lunchtime Session

座長：東北大学 / 八重樫 伸生

- 東日本大震災が生殖医療に及ぼした影響 ―無事出産を迎える為に― 51
スズキ病院 理事長 / 星 和彦

Rising Sun Lecture

座長：京野アートクリニック / 京野 廣一

- ARTと周産期合併症に関する課題 52
愛媛大学大学院 医学系研究科産科婦人科学 教授 / 杉山 隆
ヒト therapeutic cloning への挑戦と課題 53
慶應義塾大学 医学部産婦人科学教室 助教 / 山田 満穂

Current Topics

座長：国際医療福祉大学 / 高見澤 聡

- がん・生殖医療最前線 54
聖マリアンナ医科大学 産婦人科学 教授 / 鈴木 直
がん・生殖医療の全国の現状 55
岐阜大学大学院 医学系研究科 産科婦人科学分野 / 古井 辰郎

一般演題（口頭発表）

O-1	ART出生児3,223名のフォローアップ：胚凍結融解が児の身体発育に及ぼす影響	56
	京野アートクリニック / 菊地 寿美	
O-2	卵子体積が受精・発生能ならびに出生児体重に及ぼす影響	56
	浅田レディースクリニック / 辻 暖永	
O-3	顕微授精後にカルシウムイオノファ処理を行った症例の出生児長期予後	57
	IVF大阪クリニック / 入江 真奈美	
O-4	胚移植後の胚残留による再胚植の妊娠成績	57
	ARTクリニックみらい / 崎田 恵	
O-5	収縮/拡張中状態での胚盤胞凍結が融解後の生存率、妊娠成績に与える影響に関する検討	58
	田園都市レディースクリニック二子玉川 / 村松 裕崇	
O-6	40歳以上の胚移植におけるAMHと累積臨床妊娠率の検討	58
	ウィメンズクリニック大泉学園 / 知念 日菓利	
O-7	生体内環境に近いMicrofluidic embryo culture systemの研究開発	59
	乾マタニティクリニック, 乾フロンティア生殖医療不妊研究所 / 水野 仁二	
O-8	非加湿型インキュベータによる長期継続培養が胚培養環境に及ぼす影響の検討	59
	加藤レディスクリニック / 森田 博文	
O-9	当院20年間の成績からみた少数採卵症例の予後について	60
	豊橋市民病院総合生殖医療センター / 尾瀬 武志	
O-10	採卵時GV期卵子由来胚盤胞の凍結融解胚移植	60
	アクトタワークリニック生殖発生医科学センター / 長瀬 祐樹	
O-11	酸化ストレスがマウス体外成熟培養の成熟率とミトコンドリアクラスターに及ぼす影響	61
	仙台ARTクリニック / 山田 健市	
O-12	主席卵胞はTop qualityか？	61
	池袋えざきレディースクリニック / 牧野 いずみ	
O-13	患者アンケート結果から見る胚培養士説明のありかた	62
	仙台ARTクリニック / 岸田 理英	
O-14	均衡型染色体異常症例の着床前診断での胚盤胞評価や患者背景と胚の染色体異常との関連	62
	IVFなんばクリニック / 中野 達也	
O-15	Assisted hatching法の違いが胚盤胞の接着能に及ぼす影響の検討	63
	加藤レディスクリニック / 江副 賢二	
O-16	当院における医学的介入による造精機能低下患者の現状	63
	はらメディカルクリニック / 原 利夫	
O-17	精子の運動機能解析結果に基づいたARTにおける受精率予測式の樹立	64
	英ウィメンズクリニック / 横田 梨恵	

O-18	ヒト体外受精における新たな精子調整液の検討	64
	アイブイエフ詠田クリニック / 久原 早織	
O-19	EmbryoScope+™ は魅力的なバージョンアップをした	65
	神奈川レディースクリニック / 菊本 晃代	
O-20	第一卵割異常由来の胚盤胞では第一有糸分裂に要する時間が長くなる	65
	IVFなんばクリニック / 宮本 麻梨恵	
O-21	Rescue-ICSIにおける紡錘体観察は有用か?	66
	神奈川レディースクリニック / 古川 悦子	
O-22	rescue ICSIの臨床的有用性	66
	神奈川レディースクリニック / 長谷川 久隆	
O-23	卵胞液に暴露した精子を用いたICSI	67
	池袋えざきレディースクリニック / 町田 遼介	
O-24	Piezo-ICSIにおける紡錘体の可視／不可視が受精及び胚発育へおよぼす影響	67
	亀田IVFクリニック幕張 / 平岡 謙一郎	

一般演題〔ポスターセッション〕

P-1	2種類のSingle mediumを用いた胚培養成績の比較検討	68
	英ウィメンズクリニック / 阿部 礼奈	
P-2	新たな精子調整液を用いた授精方法別の胚発育の検討	68
	IVFなんばクリニック / 山下 奈緒美	
P-3	精液処理法がARTへ及ぼす影響について	69
	ウイメンズクリニック大泉学園 / 大川 莉歩	
P-4	当院における初診患者の受診1年後の転帰	69
	IVF大阪クリニック / 饒平名 里美	
P-5	検卵時における培養液中の温度変化について	70
	仙台ARTクリニック / 山田 健市	
P-6	液体窒素内で動作可能なRFIDタグを活用した卵巣組織凍結保存管理システムの開発	70
	聖マリアンナ医科大学産婦人科学 / 杉下 陽堂	
P-7	当院における年齢別SEET法実施妊娠成績	71
	はらメディカルクリニック / 荒井 勇輝	
P-8	カラードップラを用いた胚移植モニターの試み	71
	いしかわクリニック / 上田 綾香	
P-9	新鮮および凍結融解精子を用いたICSI施行後の胚発生能の比較	72
	加藤レディースクリニック / 小川 尚子	
P-10	二重筒式遠沈管（ラピッツ）を用いた精子調整法の検討	72
	アイブイエフ詠田クリニック / 荒牧 夏美	

P-11	2種類のSingle Culture Mediumを用いた培養成績の比較	73
	ファティリティクリニック東京 / 阿部 亜佳音	
P-12	紡錘体観察有無による受精率の変化	73
	東京慈恵会医科大学 / 川崎 友貴	

学術集会 共催・協賛企業・助成団体一覧	74
日本IVF学会雑誌発行における投稿論文募集のお知らせ	75
日本IVF学会雑誌 投稿規定	76
一般社団法人 日本IVF学会 定款	78
一般社団法人 日本IVF学会 役員	84
編集委員会	85

ごあいさつ

日本IVF学会の前身である大阪・兵庫IVF懇話会が創設され、そしてこの懇話会が発展した形で開催されるようになった学術集会は今年で第20回と節目の年を迎えました。さらに昨年11月より日本IVF学会は「一般社団法人」として新しくスタートしております。今大会は、このような変革の時期に仙台ARTクリニックの吉田仁秋大会長のもと、杜の都で開催される意義深い大会です。

近年の生殖医療は凄まじいスピードで進歩を続け、新しい技術、診断方法が次々に開発されております。進歩のスピードに離されない様に、またその前を進むために、我々は絶えず「Challenge」し続けることが求められているのでは無いでしょうか？ 吉田仁秋会長がテーマとして掲げられた「Challenge to Excellent ART」。まさにこのような状況を的確に捉えたものと理解しております。

翻って第20回の記念すべき今大会は、今年も2会場が用意され、日本臨床エンブリオロジスト学会ならびに日本生殖看護学会とも共催し、優れたOral Presentationとともに多くのState-of-the Artのプログラムが予定され、まさにテーマである「Challenge to Excellent ART」に相応しい国際的な大会になると確信しております。また、仙台を中心とする東北地方は2011年3月11日の東日本大震災で大きな被害を受けた地域であり、今は復興に向けて皆様が力を合わせて前進しておられる地域です。日本IVF学会の仙台での開催が東日本で被害を受けられた地域の復興の、ほんの少しでもお役に立てればと考える次第です。

IVFに関係しておられる皆様、杜の都仙台まで足を運ばれ、草創期の先生方の貴重なお話、世界最先端の講義を受けながらIVFの大きな流れを汲み取り、東日本の復興に少しでも貢献できたらと考えています。

平成29年秋

一般社団法人 日本IVF学会
理事長 塩谷 雅英

ごあいさつ

ARTの聖地仙台へようこそ。1983年に日本で初めての体外受精（IVF-ET）が仙台の東北大学産婦人科で成功して以来、日本IVF学会は重責を担いつつART従事者の研鑽の場として発展して参りました。このたびは記念すべき第20回日本IVF学会学術集会を皆さまと共にここ仙台で迎えられ、大変感慨深く光栄であります。

ARTが誕生して30年以上が経過し、近年は成熟の段階にきていると考えておりますが、高齢者の多い我が国では妊娠率や生産率は未だ満足 of いくものとなっていないのが現状です。そこで今大会のテーマは「Challenge to Excellent ART」と題し、より優れたARTの臨床や基礎研究、患者様の満足を得られるようなARTの姿を目指し、皆様と論議を深めたいと思います。

シンポジウムでは多彩な最近のトピックスの中から「PGSを考える」と題しそれぞれの立場の講師よりご講演頂き、卵巣機能不全の患者の救済を考察したProfessor Aaronや河村先生、オーストラリア生殖医学会からはProfessor Normanを招請し「The Future of IVF」についてのご講演等々、ARTの最新の話題を取り上げております。そして今回は初めて実技部門を設定し、現在注目のPiezo ICSIと不妊鍼灸のワークショップを企画しました。

さらに、今大会のサブテーマは「ARTの聖地からのおもてなし」と題し、早朝マラソンや仙台名物の屋台と懇親会など、楽しい様々な企画を催し、ご参加される皆様には大いに考え、大いに楽しんで頂ける盛沢山の内容です。

このような実りの多い学術集会は、各企業の方々の多大なるご協力なしでは実現できませんでした。関係者の皆様には心から厚く御礼を申し上げます。

両日は多数の皆様にお会いできるのを楽しみにしております。

平成29年秋

第20回 日本IVF学会
学術集会長 吉田 仁秋

2017 年 9 月 30 日 (土)

第1会場

時間	区分	テーマ	演者
11:45～	レジストレーション		
12:55～13:00	開会の辞		塩谷雅英 (英ウィメンズクリニック)
13:00～13:10	学術集会長挨拶	Challenge to Excellent ART	吉田仁秋 (仙台ARTクリニック)
13:10～13:40	ART Basic Lecture	皮膚からの卵子作製 ～マウス知見をもとに～	林 克彦 (九州大学)
13:40～14:05	卵巣機能不全患者への挑戦	IVA (in vitro activation) の臨床応用	河村和弘 (聖マリアンナ医科大学)
14:05～14:30		Ovarian follicles: in vivo architecture, FSH receptor imaging, and in vitro activation (同時通訳)	Aaron J Hsueh (Stanford Univ.)
14:30～14:50	ポスター展示 / Coffee break		
14:50～15:40	ART Frontline	Strategy of mild stimulation IVF combined with IVM treatment (同時通訳)	Ri-Cheng Chian (McGill Univ.)
		採卵で未成熟だった卵子を如何に治療に用いるか	北坂浩也 (浅田レディースクリニック)
15:40～16:00	理事長講演	Excellent ART を目指した Dr. の役割	塩谷雅英 (英ウィメンズクリニック)
16:00～16:20	ポスター展示 / Coffee break		
16:20～17:40	日本臨床エンブリオロジスト学会 Workshop Excellent ART への挑戦	Lab における Excellent ART のための機器管理と災害対策	菊地裕幸 (仙台ARTクリニック)
		ラボにおける Excellent ART とは	内山一男 (加藤レディースクリニック)
		Ns の Excellent ART とは	村上貴美子 (蔵本ウイメンズクリニック)
		培養士の国家資格化を目指して ～心理職の国家資格化の過程から～	平山史朗 (東京 HART クリニック)
18:45～20:30	懇親会 (意見交換会)	ART の聖地 仙台よりおもてなし (ホテルメトロポリタン仙台「千代の間」)	

2017 年 10 月 1 日 (日)

第1会場

時間	区分	テーマ	演者
8:30～10:00	Symposium - PGS を考える -	生殖医療における PGS の意義	福田愛作 (IVF大阪クリニック)
		産科医の出生前診断の経験からみた PGS	室月 淳 (宮城県立こども病院)
		細胞遺伝学から見た PGS	笠島道子 (永井マザーズホスピタル・京野アートクリニック)
		Effective use of Time Lapse in IVF and PGS	Dean E. Morbeck (the Univ. of Auckland)
10:00～10:30	ART Frontline (同時通訳)	Finding Sperm in NOA Patients: Medieval to Modern	Paul Turek (The Turek Clinic)
10:30～11:00	ポスター展示 / Coffee break		
11:00～11:30	オーストラリア生殖医学会交換講演 (同時通訳)	Session opening speech from the FSA president	Michael Chapman
		THE FUTURE OF IVF	Robert Norman (the Univ. of Adelaide)
11:30～12:00	Lecture from the Legend	The beginning and future of fertilization study, IVF and ART	柳町隆造 (Hawaii Univ.)
12:00～13:00	Lunchtime Session	東日本大震災が生殖医療に及ぼした影響 —無事出産を迎える為に—	星 和彦 (スズキ病院)
13:00～13:30	学術奨励賞表彰		
13:30～14:30	Rising Sun Lecture	ART と周産期合併症に関する課題	杉山 隆 (愛媛大学)
		ヒト therapeutic cloning への挑戦と課題	山田満穂 (慶應義塾大学)
14:30～15:00	ポスター展示 / Coffee break		
15:00～16:00	Current Topics	がん・生殖医療最前線	鈴木 直 (聖マリアンナ医科大学)
		がん・生殖医療の全国の現状	古井辰郎 (岐阜大学)
16:00～16:05	閉会の辞 / 次期会長挨拶		古井憲司 (クリニックママ)

座長	
	入谷 明 (近畿大学)
	石塚文平 (ローズレディースクリニック)
	柴原浩章 (兵庫医科大学)
	堤 治 (山王病院)
	柳田 薫 (国際医療福祉大学)
	沖津 摂 (三宅医院)

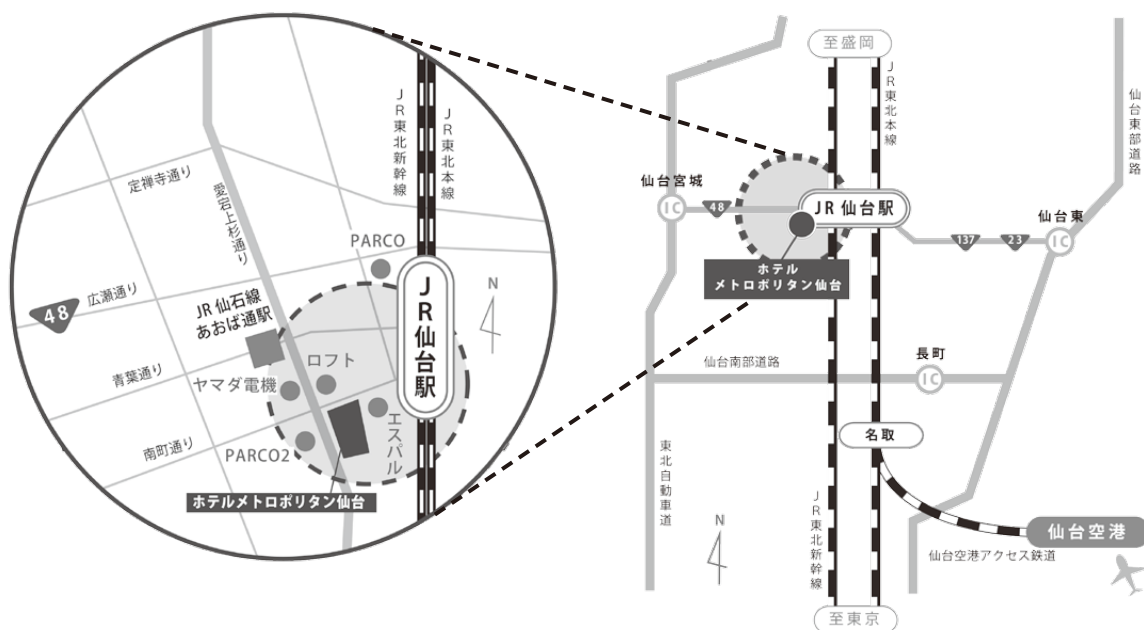
第2会場		
時間	区分 / テーマ / 演者	座長
13:15～16:00	口頭発表15題	浅田義正 (浅田レディースクリニック) 加藤恵一 (加藤レディースクリニック) 杉山カール (杉山産婦人科) 竹内一浩 (竹内レディースクリニック) 矢野浩史 (矢野産婦人科)
16:00～16:20	ポスター展示 / Coffee break	
16:30～18:30	日本生殖看護学会パネルディスカッション 高年齢者の ART 治療後の次世代養育の現状と課題と 日本生殖看護学会における取り組み 高年齢出産の母親への社会的支援の実際と課題 藤原久子 (京都第一赤十字病院) 高年齢母親を対象とした ART 治療中から治療後の妊娠 までの継続的支援 勝又由美 (東邦大学医療センター佐倉病院) 在宅医療が必要なハイリスク児の退院支援の実際と課題 橋倉尚美 (高槻病院)	上澤悦子 (京都橘大学) 濱田結実 (スズキ記念病院)

座長	
	久保春海 (渋谷橋レディースクリニック)
	吉田 淳 (木場公園クリニック)
	市川智彦 (千葉大学)
	石原 理 (埼玉医科大学)
	星 和彦 (スズキ病院)
	八重樫伸生 (東北大学)
	京野廣一 (京野アートクリニック)
	高見澤 聡 (国際医療福祉大学)

第2会場		
時間	区分 / テーマ / 演者	座長
8:30～10:30	口頭発表9題	蔵本武志 (蔵本ウイメンズクリニック) 徳永義光 (空の森クリニック) 詠田由美 (アイブイエフ詠田クリニック)
10:30～11:00	Hands on Workshop (I) Piezo ICSI	向田哲規 (広島 HART クリニック) 寄田朋子 (広島 HART クリニック)
11:30～12:00	Hands on Workshop (II) 不妊鍼灸	[進行] 中村一徳 (京都なかむら第二針灸所) [実技] 徐 大兼 (アキュラ鍼灸院) 小松範明 (キュアーズ長町・仙台 ART クリニック)

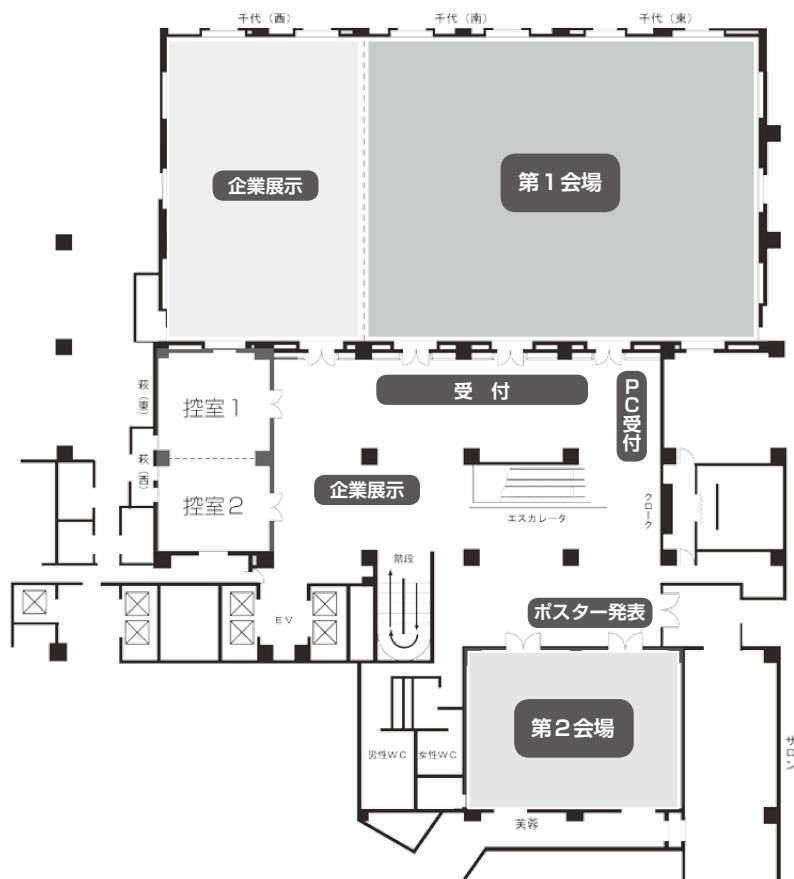
交通のご案内／フロアマップ

交通アクセス・周辺地図



ホテルメトロポリタン仙台 4F

住所：〒980-8477 仙台市青葉区中央1-1-1
TEL：022-268-2525



お知らせ

第20回 日本IVF学会 学術集会

共催：日本臨床エンブリオロジスト学会
日本生殖看護学会

●スケジュール

会期：2017年9月30日（土）12：55 ～ 10月1日（日）16：05

会場：ホテルメトロポリタン仙台

〒980-8477 仙台市青葉区中央1-1-1 TEL:022-268-2525

学術集会参加者へのお知らせ

●参加証

参加受付時に領収証兼用の参加証を受付窓口にてお渡しいたします。
会場内ではホルダーに入れて必ずご着用ください。

●参加費

事前参加申し込み

会員	医師	21,000 円
	医師以外	11,000 円
非会員	医師	24,000 円
	医師以外	14,000 円

懇親会	3,000 円
-----	---------

※事前参加申し込みの締め切り 2017年9月15日（金）12：00

当日参加申し込み

会員	医師	22,000 円
	医師以外	12,000 円
非会員	医師	25,000 円
	医師以外	15,000 円

懇親会	3,000 円
-----	---------

●プログラム抄録集

学会雑誌が学術集会講演抄録集を兼ねておりますので、会員の方は当日ご持参ください。お忘れの方には、学会当日に3,000円で販売致します（数に限りがございます）。

皮膚からの卵子作製～マウス知見をもとに～



林 克彦

九州大学大学院 医学研究院
教授

略 歴

1996年3月

1996年4月－2002年7月

2002年8月－2005年3月

2005年4月－2009年3月

2009年4月－2014年3月

2014年4月－

明治大学農学研究科修士課程修了

東京理科大学助教（理学博士取得）

大阪府立母子保健総合医療センター常勤研究員

ケンブリッジ大学ガードン研究所・研究員

京都大学医学研究科講師

九州大学大学院医学研究院教授

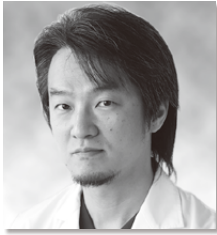
体のあらゆる細胞から樹立されるiPS細胞は免疫拒絶やES細胞の樹立に必要な胚の破壊などの諸問題を一掃し、幹細胞を用いた再生医療や難治性疾患の原因究明、治療法の開発に扉を開いた。生殖細胞系列についても例外ではなく、iPS細胞から生殖細胞を分化誘導する技術は不妊症の原因解明ならびに加齢に伴う不妊症や化学療法などに起因する不妊症の患者の妊孕性を回復する方法として大きな期待がかけられている。その一方で、安全性や使用に関する倫理的問題など、様々な角度からの議論や考察が求められることから、実験動物レベルでの同様の試みは極めて重要である。

我々は数年前からマウスの多能性幹細胞から生殖細胞を作製する試みを始め、2011年にはiPS細胞からすべての生殖細胞のもとである始原生殖細胞 (PGCs) を分化誘導できる培養系を開発した。また2012年にはiPS細胞由来のPGCsを顆粒膜細胞や莢膜細胞の前駆細胞と共に卵巣に移植することにより、発生能をもつ卵子に分化させることに成功した。また近年になって、卵巣へ移植することなく体外培養のみでiPS細胞から卵子を分化誘導する培養系を開発した。この培養系で得られる卵母細胞系列は形態的变化や遺伝子発現などにおいて、体内での卵母細胞系列の分化過程をほぼ踏襲しており、最終的に得られた卵子は受精により個体にまで発生する。また得られた個体は正常な生殖機能をもつことが確認された。この研究に使われたiPS細胞は十分に成熟した成体 (10週齢) の雌マウスの尻尾の細胞から樹立されており、理論上この細胞からも卵子を作れる可能性を示した点で意義深い。

上述のように配偶子再生技術で得られた卵子は体内と良く似た過程を経て形成され、また発生能も有していた。しかし体外で作製された卵子の発生率は通常の受精卵と比べて1/20-60程度と低く、実際に減数分裂時の染色体対合の不全、染色体の不分離、初期発生の遅延などが散見される。今後は遺伝子発現やエピゲノムのみならず、染色体の動態や細胞の代謝など様々な角度から体外培養における卵子の形成過程を評価することが必要である。

また同時に、多数の中から良質の卵子だけを選別する技術開発も重要になるだろう。本会ではそれらについて議論し、これから必要となる技術や研究開発について議論したい。

IVA (in vitro activation) の臨床応用



河村 和弘

聖マリアンナ医科大学
医学部産婦人科学 准教授

略 歴

1996年 3月 秋田大学医学部卒業
2001年 3月 秋田大学医学部大学院医学研究科修了，医学博士号取得
2002年 7月 秋田大学医学部産婦人科学講座助手
2003年 2月 米国 Stanford 大学医学部産婦人科 Research Fellow
2007年 10月 米国 Stanford 大学医学部産婦人科 Visiting Professor
2009年 4月 秋田大学大学院医学系研究科産婦人科学講座講師
2011年 3月 聖マリアンナ医科大学医学部産婦人科学准教授
2018年 4月 国際医療福祉大学医学部産婦人科教授就任予定

卵巣内の卵胞は加齢と共に減少するが，卵巣内の卵胞が急激に減少し，40歳未満で卵胞が発育しなくなり閉経する早発卵巣不全(POI; primary ovarian insufficiency)という疾患が存在する．POIは全女性の100人に1人に自然発生し，排卵がおこらないため，難治性の不妊となる．これまで高齢による卵巣機能不全やPOI患者の最も有効な治療法は提供卵子を用いた体外受精胚移植であり，自らの卵子で妊娠することは非常に困難であった．このような患者が自らの卵子で妊娠することを可能とするため，卵巣内に残存する卵胞に着目し，基礎・橋渡し・臨床研究を行ってきた．卵巣断片化によるHippoシグナルの抑制とPI3K-Aktシグナルの活性化を同時に行うことで，原始卵胞を活性化させつつ，2次卵胞の発育も誘導する方法を考案し，動物実験により，本法の安全性を十分確認した後，倫理委員会の承認と患者の同意の下，早発卵巣不全患者に対し臨床応用を開始した．その結果，卵胞活性化療法(IVA: in vitro activation)という新たな不妊治療法を開発し，2013年に世界初のIVAによるPOI患者の妊娠・出産例を報告した．IVAの早発卵巣不全患者における臨床成績は，2報目の論文を発表した時点では，37名の早発卵巣不全患者(平均年齢37.2歳，平均無月経期間5.9年)に対しIVAを実施し，37名中20名で残存卵胞を認めた．20名中9名で卵胞発育が認められ，7名の患者から成熟卵子が得られて体外受精を行った．5名の患者に胚移植を実施し，3名が妊娠した．1名は妊娠初期に流産となったが，2名は順調に経過し，それぞれ3,254gの男児，2,970gの女児を出産した．現在，中国，スペイン，ポーランドでIVAの追試に成功し，妊娠例が出ている．

本講演では，臨床研究を中心に最新の成果を紹介し，今後の研究展望につき考察する．

Ovarian follicles: in vivo architecture, FSH receptor imaging, and in vitro activation



Aaron J Hsueh¹
Yi Feng¹, Yuan Cheng¹,
Kazuhiro Kawamura²

¹Department of Ob/Gyn,
Stanford University School of
Medicine, Stanford, CA USA

²Department of Ob/Gyn,
St. Mariana University School
of Medicine, Kawasaki, Japan

Aaron Hsueh is an ovarian physiologist and has published in the field for decades with >380 refereed papers. His lab has investigated the hormonal regulation of granulosa cell functions, leading to the establishment of a sensitive in vitro FSH bioassay and the design of a long-acting FSH analog (ELONVA) now in clinical use. His lab also contributed to the understanding of ovarian follicle growth and atresia, intraovarian mechanisms of oocyte maturation, and autocrine/paracrine regulation of early embryonic development. His lab cloned human FSH and LH receptors together with five related receptors (named them as LGR4-8) before identifying LGR7 as the relaxin receptor. The Hsueh lab established and maintained the Ovarian Kaleidoscope Database (OKdb, <http://ovary.stanford.edu>) over 17 years as an online resource for ovarian researchers to search for ovarian literature and DNA microarray data. In 2013, his lab established an in vitro activation (IVA) method to activate ovarian preantral follicles for the derivation of mature oocytes in patients with primary ovarian insufficiency and low ovarian reserve.

In vivo architecture: Optimal distribution of heterogeneous organelles and cell types within an organ is essential for diverse physiological processes. Using the Clarity imaging approach, we performed marker staining, digital processing, and spatial analysis to obtain 3-D architecture of the ovary during folliculogenesis and corpora lutea development throughout life in mice. This approach transforms intact tissue into a nanoporous hydrogel-hybridized form that is optically transparent and macromolecule-permeable. Unlike classical 2-D sectional histological analyses, Clarity provides 3-D mapping of interrelationships among follicles and corpora lutea. The approach allows investigation on developmental changes in follicle volumes, numbers, locations, sphericity, clustering, etc. as well as previously unappreciated associations between vasculature and follicles (Feng *et al* Sci Rep. 2017).

FSH receptor imaging: Near infrared II fluorophores provides a powerful tool for in vivo real-time imaging of tissues. We conjugated FSH to an infrared II fluorophore to allow live imaging of FSH receptors in granulosa cells of ovarian follicles at different stages in mice (Feng *et al* Chem. Sci. 2017). In addition to demonstrating FSH receptor expression in testicular tubules, we found FSH receptor signals in preantral (secondary and primary) follicles. Because menstrual cyclicity reflects endometrial events regulated by circulating ovarian estrogens and progesterone secreted by antral and preovulatory follicles, about half of patients with primary ovarian insufficiency (POI) do not have menses but still contain preantral follicles. The ability to monitor preantral follicles allows the possibility to identify POI patients with residual follicles for treatment in the future.

In Vitro activation of follicles: Primordial follicles can be promoted to grow following activation of the Akt pathway. Our use of PTEN inhibitors and phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) stimulators allowed the stimulation of Akt signaling and promoted the activation of dormant murine and human primordial follicles in vitro. Following grafting into hosts, preovulatory mouse and human follicles containing mature oocytes could be generated from activated follicles (Li *et al* PNAS 2010). We further explored the ovarian roles of the conserved Hippo signaling pathway that serves to maintain optimal size across organs and species. We found that fragmentation of murine ovaries promoted actin polymerization and disrupted ovarian Hippo signaling, leading to increased expression of downstream CCN growth factors, promotion of the growth of secondary follicles to the preovulatory stage, and the generation of mature oocytes (Kawamura *et al* PNAS 2013). We also found additive follicle growth when ovarian fragmentation (Hippo signaling disruption) was combined with treatments with Akt stimulators. Many POI patients un-responsive to the present gonadotropin treatment still contain preantral follicles with the potential to develop into antral and preovulatory follicles. We extended results in animals to treatment of infertility in POI patients using an in vitro activation (IVA) approach, leading to follicle growth and delivery of healthy babies (Kawamura *et al* PNAS 2013) (Zhai *et al* JCEM 2016).

Strategy of mild stimulation IVF combined with IVM treatment



Ri-Cheng Chian
M.Sc., Ph.D,

Department of Obstetrics and
Gynecology, McGill
University, Montreal, Canada

Dr. Chian is Associate Professor with Tenure at Department of Obstetrics and Gynecology, McGill University, Montreal, Canada, and 7 other Visiting Professorships in Chinese Universities. Dr. Chian is the key person who developed in vitro maturation (IVM) of human oocytes for clinical application and responsible for cryopreservation of human oocytes produced live births at McGill University Health Center (MUHC) in Canada. Dr. Chian published more than 200 research papers and presentations in refereed journals and international/regional conferences. Dr. Chian edited three books, and contributed many book chapters. As a guest or invited speaker, Dr. Chian delivered numerous lectures in different societies and countries. Dr. Chian was former Associate Editor for the journals, Human Reproduction, Journal of Assisted Reproduction & Genetics, and Editorial Board Member for several journals. Dr. Chian's research interests are focused on 1) The mechanism of oocyte maturation and activation; 2) Simplification of infertility treatment; and 3) Fertility cryopreservation.

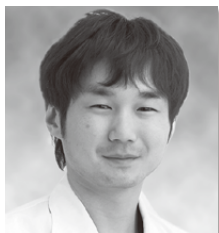
In vitro maturation (IVM) refers to maturation in culture of immature oocytes at different stages that may or may not have been exposed to short courses of gonadotropins. The source of immature oocytes is an important feature for the subsequent embryonic development and pregnancy, but the developmental competence of oocytes derived from the small antral follicles seems not to be adversely affected by the presence of a dominant follicle. The use of IVM technology can thus be broadened to treat women suffering from all causes of infertility with acceptable pregnancy and live birth rates. Although IVM as an efficient treatment resulted several thousands of healthy babies born, IVM technology is still considered experimental by the society. Maybe, it is time to reconsider the IVM technology as efficient clinical treatment.

Today, given the efficiency of IVF and improvements in the culture system, natural cycle IVF or mild stimulation may be more suitable for women undergoing IVF treatment. Several studies have shown that natural cycle IVF treatment has advantages over standard stimulation IVF treatment particularly in the management of women with low ovarian reserve. In contrast to stimulation IVF treatment, the aim of mild stimulation is to develop safer and patient-friendlier protocols where the risks of the treatment are minimized. A recent large retrospective study has found a significant decrease in live birth rate associated with increasing FSH dose regardless of the number of oocytes retrieved, cautioning against high doses of FSH in IVF treatment cycles albeit falling short of recommending mild IVF treatment. There is also evidence that mild stimulation or modified natural cycle protocols may have equal or even

improved success rates compared with conventional IVF in women with a history of poor ovarian response.

As the development of IVM treatment continues, an attractive possibility for increasing the successful outcome rate is combining natural cycle IVF treatment with immature oocyte retrieval followed by IVM of those immature oocytes. If the treatment processes can be simplified, especially for immature oocyte retrieval, more infertile women may be able to take advantage of these treatments. Mild stimulation IVF combined with IVM treatment may represent a viable alternative to standard treatment. As we accumulate more experience and outcome data, mild stimulation IVF combined with IVM may prove to be not just an alternative to standard treatments, but potentially first-line treatment choices.

採卵で未成熟だった卵子を如何に治療に用いるか



北坂 浩也^{1,2)}

島田 昌之²⁾, 浅田 義正¹⁾

1) 浅田レディースクリニック

2) 広島大学大学院
生物圏科学研究科

略 歴

2004年 3月 北里大学獣医学産学部卒業(現:北里大学獣医学部)
4月 浅田レディースクリニック入職(現:浅田レディース勝川クリニック)
2010年 8月 浅田レディース名古屋駅前クリニック(開院に伴い所属移動)
2014年 10月 広島大学大学院生物圏科学研究科博士課程後期入学

卵巣刺激周期においても未成熟卵子が多く混在する症例がある。このような卵巣刺激に暴露されていながら卵子が成熟していない卵胞は、卵胞発育過程で何らかの発育不全が生じたと推察される。その卵胞の不完全さは「LHに反応する顆粒膜細胞」「卵子の成熟を直接的に制御する卵丘細胞」あるいは「卵子そのもの」のいずれかに起因していることから、卵原発の異常でなければ未成熟卵であってもARTに利用可能である。

まず、採卵された卵・卵丘細胞複合体の卵丘細胞層が膨化していない時、これは未成熟であると判断でき、FSHやEGF様成長因子を添加した体外成熟培養を行う事で成熟卵を得る事ができる。一方、ICSI症例では卵丘細胞層をヒアルロニダーゼにより除去する。この段階で、極体が放出されていないことが判明した時には、解糖系を行う卵丘細胞を除去しているので、卵子の代謝を活性化させるためには、直接TCAサイクルに利用されるアミノ酸類やピルビン酸類を含有する培養液を用いる必要がある。さらには、酸化ストレスを低減するグルタチオン合成と還元に関わる因子が卵丘細胞から供給されないため、抗酸化作用を持つアルブミンを添加する必要もある。

上記の培養により、ヒト卵子においては、数時間には極体放出が起こり、ICSIを施行したが、採卵時に極体放出が認められた卵子のそれに比較して有意に低い値であった。では、なぜ裸化卵の追加培養により得られた成熟卵は、正常受精率が低いのであろうか？我々は、加齢化が起こりやすいNrg1^{flox/flox}マウスにおいて、第二減数分裂中期における紡錘体が不安定化する結果、受精後の第二極体放出異常や染色体分配異常により異常受精卵が誘発されることを報告している。この紡錘体形成や極体放出は、細胞骨格のリモデリングにより起こることから、それを制御する細胞膜貫通タンパク質インテグリンと細胞外マトリクスであるファイブロネクチン(FN)に着目し、排卵卵胞における動態変化とそれらの役割の解明を試みた。その結果、マウス過剰排卵モデルにおいて、hCG投与6時間以降に卵丘細胞の脱接着が生じ、その細胞間と卵・卵丘細胞間にFNが浸潤し、蓄積されること

が明らかとなった。GVBD卵を回収し、卵丘細胞を除去して培養した時、FN添加により極体放出が促進され、第二減数分裂中期での紡錘体の安定化が高められることが示された。この結果は、FNとインテグリンの結合を競合阻害するRGDペプチドにより抑制され、FN無添加条件で見られる極体放出異常と紡錘体の不安定さが再現された。

以上の結果から、極体未放出である場合、代替血清培地を用いた追加培養では、紡錘体の不安定さに起因する染色体分配異常が生じる可能性が高いことが示された。代替血清にはFNが含まれていないことを考慮し、適切な追加培養環境とすることで受精率のみではなく臨床成績の向上が期待できると思われる。

Excellent ARTを目指した Dr.の役割



塩谷 雅英

英ウィメンズクリニック
理事長

略 歴

1985年 3月 島根医科大学卒業，京都大学医学部婦人科学産科学教室
1988年 9月 京都大学医学部婦人科学産婦人科学教室医員
1994年 4月 神戸市立中央市民病院産婦人科医長
2000年 3月 英ウィメンズクリニック開設

医学博士(京都大学)，日本IVF学会理事長，生殖バイオロジー東京シンポジウム世話人，日本産科婦人科学会専門医・指導医，生殖医療専門医，臨床遺伝専門医，日本臨床細胞学会専門医，日本受精着床学会評議員，日本卵子学会代議員，日本生殖心理学会理事，日本生殖発生医学会理事，日本レーザーリプロダクション学会副理事長，日本生殖医療支援システム研究会副理事長，JISART副理事長，近畿産婦人科学会内分泌・生殖研究部会委員，兵庫県産婦人科学会学術委員，神戸MARE研究会代表世話人

吉田仁秋会長がテーマとして掲げられた「Challenge to Excellent ART」は，本格的に少子高齢化時代に突入し社会構造の変革が迫られる我が国においてARTも新しい時代に即した姿を模索せざるを得ず，そのような状況下でちょうど第20回という節目を迎える日本IVF学会のテーマとしてふさわしいものと言わざるを得ない。本講演では，この「Challenge」においてDr.が果たすべき役割を次の3つの側面に分けて考えてみたい。第一は医師の知識・技術について，第二は，「Excellent ART」を実現するためのシステム構築について，そして第三はチーム医療における構成メンバーであるスタッフ一人一人が共有できる医療理念の提唱である。

第一の医師の知識・技術については，排卵誘発，採卵，胚移植というARTの根幹をなす技術，さらには適切な黄体管理の重要性について論じたい。これらの技術の中でも特に胚移植はその成否によっては治療成績をも左右しかねない重要な手技である。そこで本講演では，当院が考える「Excellent」な胚移植について，そしてそこに至るまでの当院の「Challenge」をご紹介します。

第二の，「システム構築」についても，当院の例をご紹介します。当院では，電子カルテとファイルメーカーで作成したデータベースを，院内に設置された120台の端末によってネットワークを構成して運用している。「Excellent ART」においては患者一人一人にひも付けられる複雑で多くの情報を瞬時にスタッフ全員が共有できることが必須と考える。そして患者一人一人にオーダーメイドのきめ細かい治療を実現するためには患者の現在そして過去の情報に容易にアクセスできる環境が必要と考える。当院の場合，より優れた「システム構築」に対する「Challenge」は終わることがない。

第三の役割は，医療理念の提唱である。いうまでもなく，「Excellent ART」はDr.のみで実現できるものではなく，胚培養士，看護師，そしてその他の多くのスタッフによって構成されるチームメンバーが，有機的に連携することで初めて達成できるものであろう。そのようなチームを作るためには，スタッフが共有できる医療理念が必要で

あり，それを提案するのはやはりチームリーダーを担うべきDr.の役割の一つである。当院では，「患者様へのクレド」そして，「職員へのクレド」，さらには「品質方針」という3つの形で医療理念を提唱しスタッフ全員が共有している。講演の中ではこれら当院の医療理念を詳しくご紹介するとともに，この医療理念をスタッフに浸透させるための方法についてもご紹介する予定である。

LabにおけるExcellent ARTのための機器管理と災害対策



菊地 裕幸

仙台ARTクリニック

略 歴

2006年 3月 北里大学獣医畜産学部卒業
4月 吉田レディースクリニック勤務
2012年 3月 東北大学大学院農学研究科博士前期課程修了
2016年 1月 仙台ARTクリニック勤務
3月 東北大学大学院農学研究科博士後期課程修了

培養室で取り扱う機器は、各メーカーから様々なタイプが販売されており、施設規模、使い勝手、コスト面等から採用されている。しかし、どんなに優れた機器であっても、絶対的なものではない。その特性をよく理解し、自施設に適した運用や管理をしなければ、その性能は生かされず、万が一のトラブルや成績低下の際に、その原因が患者側にあるのか、培養士の技術にあるのか、それとも機器にあるのかの判断がつきにくい。

近年では、タイムラプスインキュベーターを使用する施設もあり、培養液交換不要なシングルメディウムを併用することで、インキュベーターから取り出さずに長期間の培養が可能となってきた。培養士として簡便な機器も増えている一方で、感覚だけでなく、よりいっそうリスクマネジメントが問われるようになってきている。

機器に不具合が起きても、複数台の所有や、代替手段を用意しておくことが理想的だが、全ての施設で可能とは限らないことから、インキュベーターやマニピレーターなどのラボの重要な機器は、定期的な業者によるメンテナンスは惜しまず行うべきであると考えている。

培養士による日常点検も、ただ確認するだけではなく、その状態をよく理解し把握する必要がある。例えば、インキュベーターは表示値や実測値だけを確認しOKではなく、測定機器の校正も行う必要がある。供給ガスの消費量や液体窒素タンクの蒸発量を把握することでトラブルを未然に防ぐことも可能である。さらに、許容範囲の基準とトラブル時の対処法を定め、どのスタッフでも早急に修正などの対応ができるように、トレーニングや情報共有を行うことが望ましい。

当院(旧 吉田レディースクリニック)は、2011年3月11日の東日本大震災の際に5日間の長期停電を経験した。耐震構造のため、建物への被害はさほど大きくはなかったが、電気・ガス・水道・交通機関はすべて途絶え、自家発電装置が稼働したが、軽油の調達に困難を極め、培養室の電気供給を止めざるを得なかった。幸いにして事

前の地震対策や備蓄、スタッフ1人1人の行動が功を奏し、震災時に保管されていた受精卵も、余震の混乱の中緊急で凍結保存を行った受精卵も、震災による影響は見られていない。

この経験から、2017年1月の移転の際にも培養器等の固定はもちろんのこと、監視システムも導入し、24時間の培養環境(温度、ガス濃度)が確認でき、異常時には培養士に通報が送られるようになっている。繊細かつ微小な命であるからなおのこと、培養士は日常点検と安全対策を怠らず、患者に安心してExcellentなART治療を受けていただけるよう努力する必要があると考える。

ラボにおける Excellent ART とは



内山 一男

加藤レディスクリニック

略 歴

1981年 宇都宮医学技術専門学校卒業
獨協医科大学病院勤務
1994年 加藤レディスクリニック勤務
2008年 みなとみらい夢クリニック出向
2010年 加藤レディスクリニック復帰、現在に至る

臨床検査技師、2級臨床病理技術士(臨床血液学)(臨床化学)(臨床血清学)、一般臨床検査士資格、
1級臨床病理技術士資格(臨床血液学)、生殖補助医療胚培養士資格
日本臨床エンブリオロジスト学会理事、日本生殖医学学会、日本卵子学会、日本受精着床学会

当院における採卵の特徴は自然周期を含む低刺激採卵周期で行なうことである。低刺激周期は過排卵周期に比べ回収される卵子数が少なく、2016年当院の採卵件数は25,323周期、採卵総個数は45,025個で一人当たり約1.7個であった。少数の卵子であっても患者の負託に応え受精卵を得、良好胚を育て移植し、挙児を得るにはラボワークが非常に重要である。どの培養士が行っても、何時行っても同じ結果、判断の得られるラボワークを私達は目指している。

例えば精液検査において、MAKLER CHAMBER®を用いた目視法からSMAS(sperm motility analysis system)に変える事で、培養士間で生じる誤差、培養士固有の誤差が改善し飛躍的に精度が向上した。また精子形態判定においては、MAKLER CHAMBER®で同時に行っていたものを、無染色標本作製による簡便で簡易的な精子形態判別法を独自開発しKruger法と差のない判定結果が得られるようになった。

卵子においては、採卵直後に、卵丘細胞卵子複合体(COC)を倒立顕微鏡下200倍で伸展観察し第1極体の有無を調べ採れた卵子の成熟度を正確に判定している。同時に得られる客観的な卵子や透明帯の情報はテーラーメイドな媒精方法の選択を可能とした。ICSIにおいてはオリンパスと共同開発したIX ROBO-Polarは、DICとpolarizationのシームレスな切り替えを可能とし、簡便かつ強拡大により正常形態精子の選別精度を上げ、紡錘体可視化によるICSI実施タイミングの統一化、紡錘体損傷を防ぐ安全性の高いICSIを可能とした。

胚盤胞の品質評価法としてGardner分類に代表される形態的な評価が一般的である。しかし、この評価法は培養士の主観によって左右され易い。当院では臨床妊娠率、生産率は胚の発生速度が速いほど、年齢が若いほど高くなることに着目し、患者の年齢と胚盤胞への発育速度という2つの客観的なパラメーターを指標とし、形態評価と組み合わせることで観察者による違いを起し難くしている。

ARTラボ業務の多くはマンパワーによる手作業の為、

培養士の技量が成績に大きく関係する。また同じ様に作業していても気付かないうちに変化し、時としてメンタルも変動要因となり得る。当院ではラボで得られた結果を基に成績管理「Result Control」を短期(日間)、中期(週間)、長期(月間)で実施しその変化を常に監視している。問題が生じた場合早期発見、早期対策を取れるよう管理基準を設け、変動の要因がラボ全体によるものなのか、培養士個人によるものなのか、また患者要因によるものかなど原因を究明し対応に当たっている。

低刺激周期におけるラボワークでは、採卵から胚移植にいたる全ての段階で画一的な対応ではなく、患者1人1人、卵子1つ1つに対し適切な判断と確かな技術をもって対応することが必要である。人は絶えず変化するものであり、その変化に気づき修正する手段が成績管理であり、それは患者に提供する医療技術の品質保証としても重要である。ラボ業務におけるExcellent ARTとは誰が携わっても同じ結果、判断が得られる管理されたラボワークであると考えます。

NsのExcellent ARTとは



村上 貴美子

蔵本ウイメンズクリニック
看護師長

略 歴

1992年 山口県立衛生看護学院助産科卒業
1992年～1995年 山口県済生会下関病院周産期母子センター勤務
1995年～ 蔵本ウイメンズクリニック看護師長
1996年 米国ミルウォーキー Advanced Institute of Fertilityにて体外受精コーディネーター研修
2003年 不妊症看護認定看護師教育課程修了(日本看護協会)
イギリス Bourn Hall Clinicにて不妊看護師研修
2008年 九州大学大学院医学系学府医療経営・管理学専攻(専門職大学院)修士課程修了
2015年～ NPO法人日本不妊カウンセリング学会理事長

体外受精コーディネーター (NPO法人日本不妊カウンセリング学会), 不妊症看護認定看護師 (日本看護協会認定), 生殖医療コーディネーター (日本生殖医学会)

本邦のART児の出生が21人に1人となった。ARTの発展と普及とともに看護の対象もカップル間のARTに加え、第3者が介在する卵子提供やAID、がん治療前の妊孕性温存、更には社会的適応の卵子凍結、着床前診断・スクリーニング、そこから生まれる児など広範囲に及び、倫理的な課題も含め複雑な対応が要求される。

マズローの欲求の中で、通常の医療は生きていくための基本的な欲求を満たすのに対し、生殖医療は5段階の欲求の中でも最も高次の自己実現の欲求に近い医療である。そのため、ARTでは、排卵誘発や採卵、胚の培養、凍結、移植などの安全性や質の高さだけでなく、倫理面も含め患者が安心し納得できることが特に重要である。

その中で、看護は熟達した看護技術を提供し、情報提供や相談を通して医師とともに、時には患者の代弁者となり患者の自己決定を支える役割をもつ。看護師は熟達した看護技術をもたなければ患者の信頼は得られない。しかし高い技術をもっていても一人の人間としての患者を理解し、寄り添う気持ちや姿勢を示すことのできない看護師も患者の信頼は得られない。両者が備わってはじめて看護の役割である患者の安全・安心を守り、納得した自己決定の支援が行える。

現在、少子高齢化の進行により、我が国の生産年齢人口は1995年をピークに減少に転じている。国立社会保障・人口問題研究所の将来推計によると、生産年齢人口は2030年には6,773万人、2060年には4,418万人にまで減少すると見込まれている。今後ARTを受ける患者の人口も減少するだろうが、看護職も同じ傾向で減少するだろう。このような状況下でExcellent ART施設であることが生き残りに求められる資質であり、その一翼を担う看護職の人材確保および育成も重要である。

本シンポジウムでは、当クリニックの看護師教育とこ

れまでの看護部の取り組みについて触れ、テーマとして与えられているExcellent ARTの中でのNsについて考えたい。

培養士の国家資格化を目指して ～心理職の国家資格化の過程から～



平山 史朗

東京 HART クリニック
臨床心理士

略 歴

1993年 広島大学教育学部心理学科卒業
1997年 広島HARTクリニックに常勤心理カウンセラーとして勤務
1998年 米国カリフォルニア州サンディエゴのThe Center for Reproductive Psychologyに短期留学。Martha & David Diamond, Janet Jaffe各博士に不妊体験者への心理療法の個人指導を受ける
2002年 厚生科学審議会生殖補助医療部会委員
2003年 東京HARTクリニック臨床心理士(現職)
2013年 厚生労働省不妊に悩む方への特定治療支援事業等のあり方に関する検討会委員

臨床心理士, 生殖心理カウンセラー, 家族心理士

日本生殖心理学会(副理事長), 日本家族心理学会(理事), 日本心理臨床学会, 日本受精着床学会, 日本生殖医学会, アメリカ生殖医学会(メンタルヘルス専門家グループ), 欧州生殖医学会(心理学&カウンセリンググループ), 他

2015年9月19日, 国会で「公認心理師法」が成立し, 2017年9月頃に施行されることが決定しました。これにより, 2018年から現任者向けの国家試験が開始され, わが国で初めて心理専門職の国家資格「公認心理師」が誕生することになります。意外に知られていないことですが, 実はわが国には心理職の国家資格はこれまで存在しなかったのです。様々な学会や団体が認定資格を作っていますが, よく耳にされる「臨床心理士」や「産業カウンセラー」を含め, すべて民間資格なのです。これだけ資格が乱立してしまうと, 利用者に本当に有益な援助ができる専門家にたどり着くことが困難になってしまい, 実際に被害が多く出ています。また医療の世界では, 国家資格がないということで医療保険の対象とならず, 保険点数が取れないことから心理職の地位や待遇が非常に低く抑えられてきました。資格取得要件に大学院修士の学歴が必要で臨床心理士の平均年収が400万円程度であるというところと驚かれるでしょう。先進国で心理専門職の国家資格(公的資格)が存在しないのは非常に珍しいのですが, わが国でも50年以上前から, 専門職としての心理専門家の資格化は検討され続けてきました。しかしながら, 主に医療界からの反対, 心理学界内における対立などから資格化は紆余曲折の歴史をたどってきました。法案が成立した現在でもなお, 公認心理師の位置づけや専門性, 養成システムをめぐって議論は続いています。

培養士の国家資格化において検討すべき事項について, 私なりに想像してみました。

- (1) 監督官庁: 厚生労働省(診療補助職として) or 文部科学省(ES, iPS等の研究との関連) or 農林水産省(畜産学, 家畜人工授精師等との関連)
- (2) 資格の性質: 業務独占 or 名称独占か
- (3) 受験資格と要件: 検査技師と農学出身者, 医師の受験は必要か
- (4) 養成課程: 大学 or 大学院 or 専門学校, カリキュラム, 教員の資格, 実習
- (5) 現任者の扱い: どこまでを現任者と認めるか, 試験

科目免除, 経過措置, 講習会

(6) 質の担保: 最低保証 or 高度専門職の指標, 資格更新
配偶子操作・胚培養にかかわるスペシャリストである培養士の方々は, 国家資格でないことによる様々な困難を抱えてこられ, それゆえ国家資格化に向けた動きが出てくるのは理解できることです。本日は, 心理職の国家資格化の流れと現状について概観し, 培養士の国家資格に向けた動きにおいて考えるべきことについて私見を述べたいと思います。培養士の国家資格化とその後の諸問題を検討する参考になればと思っております。

高齢出産の母親への社会的支援の実際と課題

ー総合周産期母子医療センターのNICU退院支援専従社会福祉士の立場からー



藤原 久子

京都第一赤十字病院
医療社会事業司

略 歴

1982年 3月	同志社大学文学部社会学科社会福祉学専攻卒業 (現在社会学部社会福祉学科に変更)
4月	京都第一赤十字病院医療社会事業部医療社会事業司(MSW)
2000年 4月	精神保健福祉士資格取得
2003年 4月	社会福祉士資格取得
2005年 3月	保健福祉分野におけるソーシャルワーカー専門研修修了認定
2013年 9月	京都ノートルダム女子大学大学院卒業
2013年	認定医療社会福祉士資格取得
2017年	認定救急ソーシャルワーカー資格取得 京都府「医療的ケアが必要な児童等への支援方策検討ワーキンググループ」委員

京都第一赤十字病院は京都府唯一の総合周産期母子医療センターとして機能している。その上、京都府基幹災害医療センターであり、救命救急センターをもつ病院である。平成27年度当院分娩数617件、うち帝王切開188件、双胎出産36件、品胎1件で、NICU(9床)入院数は、平成27年度303人・翌平成28年度301人とほぼ300人程度での推移。出生体重1,500g以下の未熟児の入院は平成28年度37人と高水準を維持している。

このような使命を担っている病院ということ、および地域的に祇園・宮川町といった昔からの花街や観光地・繁華街、また京都駅からも近い地域にある病院であることから、あらゆる方々の利用がある。そういう中でも、助産制度が使える産科でもあり、身体的なハイリスク妊婦はもちろん社会的ハイリスク妊婦もたくさん利用される病院である。このため、当院は京都市とモデルケースとしての児童虐待未然防止のための医療機関と行政の連携事業を開始し(この事業はその後京都府全域の行政機関と医療機関に広がることになった)、診療情報提供書による連携を平成22年7月から行ってきた。その連携件数は年間70から80件に及ぶが、リスク要因としてART治療後という項目がなかったにもかかわらず、平成26年、27年、28年の連携件数のうち、ART治療後の出産ケースが全連携件数に占める割合が、3.8%→5.3%→7.5%と急増している。これは高齢出産にもなって様々なリスク要因が高くなること、また年々ART治療によって出産される児の数が増加しているということの現れであると考えられる。

当院で経験した40歳以上の産後フォローの事例

- 1) ART治療後21トリソミーと出生前診断されても出産を選択された事例
 - 2) 精神疾患がもともとあった方がART治療後妊娠されて、出産前からの地域全体でのフォロー事例
- をもとに、現状を探り、産科から新生児科・小児科との連携の中で、ご本人やご家族の抱えている問題を明らかにすることにより、今後増加していくと考えられる高齢出産妊産婦およびART治療後出産の方々への支援体制

を構築し、子育て支援の一環として地域包括ケアへ組み入れ、すべての妊婦が安心して出産・育児に臨めるようにする一助になればと考える。

高齢母親を対象としたART治療中から治療後の妊娠までの継続的支援



勝又 由美

東邦大学医療センター
佐倉病院
不妊症看護認定看護師

略 歴

1994年 東邦大学佐倉看護専門学校卒業
東邦大学医療センター佐倉病院就職
2006年 順天堂医療短期大学専攻科助産学専攻卒業
2010年 日本看護協会不妊症看護認定看護師取得
2017年 東邦大学医療センター佐倉病院看護師長
現在に至る

はじめに

女性のキャリア形成や晩婚化により、高年妊娠から妊娠合併症・出産リスクが増加傾向にある。そのような背景を踏まえ、不妊治療中から妊娠・出産・育児までを見据えた継続的な支援が求められる。当院は地域周産期母子医療センターを併設していることや、病棟配属の看護師が外来も管理をするユニット制を導入しているため、高年妊娠に対し多職種で支援する体制が構築されている。また、ユニット制を導入していることで、外来・入院を分け隔てなく信頼関係を築いた看護師が担当することができるため、継続的な支援ができる医療施設である。不妊治療が「妊娠をゴール」にするのではなく、妊娠・出産・育児など各ステージで多職種が連携し患者やその家族を協働で支援する必要がある。

ART 治療中から妊娠・出産を考えた健康管理

不妊治療を行なう患者の高年齢化は、肥満や糖尿病・高血圧など生活習慣病を抱えた患者の増加につながり、妊娠前から健康管理に留意することが必須である。また、子どもの養育者として健康状態を維持することが求められるため、妊娠を目指すだけでなく、妊娠・出産・育児を見据えた健康管理について指導をしていく必要がある。

妊娠前から出産後の育児までを踏まえた継続的な支援

不妊治療後は妊娠に喜びを感じ妊娠継続に対する使命感が高まると同時に、流産や胎児の健康状態に不安を抱いている。そのため、胎児に影響を及ぼす合併症を併発している場合には、新生児科医師やNICUスタッフとの連携が求められる。また、妊娠後も不妊症であるアイデンティティを抱えているため、高年妊娠をハイリスクと捉えるのではなく、個々のリスクを評価し患者が臨む看護を実践する必要がある。

高齢の患者は、様々な社会経験から妊娠の喜びや命の尊さを感じながら育児を行うことができる。また経済的にも安定した状態で育児を行うことができるが、身近な

支援者である両親も高齢者であるため育児のマンパワーが乏しい傾向にある。出産を機に支援が完結するのではなく、地域と連携を図り長期的に支えるシステムの構築が必要とされる。

出産後に次の妊娠を考えた指導

出産後は早期に不妊治療を再開し第2子を希望していた患者が、妊娠・出産を経て現在の育児に専念したいなどの気持ちの変化が生じる場合がある。凍結受精卵の保存状況や次の妊娠について確認し、意思決定が出来るように情報提供を行い、患者の選択を尊重し支えることも看護師の重要な役割である。

おわりに

不妊治療・妊娠・出産・育児と各ステージで完結するのではなく継続して患者を支えるシステムを構築していく必要がある。

在宅医療が必要なハイリスク児の退院支援の実際と課題



橋倉 尚美

高槻病院
リソースナース室室長

略 歴

1992年	高槻病院入職、小児病棟へ配属
2007年	科長へ就任
2009年	兵庫県立大学看護学部博士課程前期高度実践コース入学(同病院を休職)
2011年12月	小児看護専門看護師認定 高槻病院小児病棟看護科長として勤務
2013年	看護部長室へ配属
現在	リソースナース室室長としてこどものケアを中心に活動

新生児医療の進歩は目覚ましく、NICUやGCUなどの発展から早産児や先天性疾患を持つ多くの子どもたちの救命が可能となりました。しかしその一方で、気管切開や在宅人工呼吸器、在宅酸素、胃瘻や胃管による経管栄養など複数の医療的ケアの必要とする子どもが増加しています。実際の医療的ケアの必要な子どもの数は正確にはわかりませんが、平成27年度、国立研究開発法人国立成育医療研究センターによる、小児在宅医療地域コア人材育成講習会では、日常に医療的ケアを必要とする15歳以下の子どもは、48,360人以上と推測されています。

当院においては、在宅医療管理料を算定している中で、医療的デバイスのある子どもは128名います(平成29年6月現在)。

1. 当院での在宅支援の実際

当院では医療的ケアの必要なこどもの療養環境を整え、在宅ケアを支援することを目的に「こども在宅支援チーム」を2013年4月に立ち上げ活動しています。チームメンバーは医師・看護師・臨床心理士・医療ソーシャルワーカー・理学療法士・臨床工学士などで構成しています。具体的な活動として、医療的ケアの必要な児が在宅へ移行する際の問題抽出及び解決、地域医療及び保健機関・福祉サービス・教育機関との調整、医療的ケアの指導の改善及び標準化などを行っています。これらをスムーズに導入するために「こども在宅支援ガイド」というプロトコルを作成し、院内での標準化を行っています。ガイド内では“医療的ケアの必要なこどもの在宅までのプロセス”として【入院～病状安定まで】【在宅移行決定期】【退院前調整前期】【退院前調整後期】【在宅調整期】に分類し、患者家族、院内関係者、地域関係者のそれぞれの役割を経時的に表示しています。役割や目標をさらに細分化したものとして“小児在宅生活支援シート”を作成しています。

子どもたちは成長発達や病状によりNICUからGCU、小児病棟、PICU、小児外来など場所や関わる人は変化します。同一のツールを使用することは場所や人は変

わっても支援が途切れなく提供できる一助になると考えます。又、退院後も在宅外来とこども在宅ケア看護外来にて在宅を支援する取り組みを行っています。

2. 課題

在宅へ移行するまでの支援の実際として記載しましたが、実際にはこのプロセスがスムーズに進まない事例があります。その背景には、親にとってのパーフェクトベビーを望み、親の希望する子ども像からの乖離がある場合などは、子どもの受け入れが進まず、【入院(出生)～病状安定まで】【在宅移行決定期】の経過で意思決定が難渋することがあります。これらの問題を克服せず強引に在宅移行を進めた場合には子ども虐待など新たな問題へと発展することもあります。

生殖医療におけるPGSの意義



福田 愛作

IVF大阪クリニック 院長

略 歴

1978年 関西医科大学卒業
1980年 市立舞鶴市民病院産婦人科医長
1984年 京都大学大学院医学研究科
1989年 京都大学医学博士授与
1990年 米国東テネシー州立大学医学部産婦人科准教授
1996年 米国バイオアナリスト協会IVF培養室長資格(HCLD)取得(日本人で唯一)
1998年 IVF大阪クリニック勤務
2003年 IVF大阪クリニック院長

日本産科婦人科学会/日本専門医機構産婦人科専門医、日本生殖医学会生殖医療専門医、関西医科大学非常勤講師、東テネシー州立大学客員教授、日本産科婦人科学会倫理委員会PGT-Aに関する小委員会委員
日本レーザーリプロダクション学会理事長、日本受精着床学会理事、日本臨床エンブリオロジスト学会顧問、日本IVF学会常務理事、日本卵子学会評議員
1992年米国不妊学会賞(ASRM)、1993年関西医科大学同窓会賞、1998年SIGMA科学写真賞、2000年日本受精着床学会世界体外受精会議記念賞

日本では2014年度に年間393,745周期のARTが実施され47,322人が出生、年間総出生児の21人に一人はARTによる妊娠である。日本は世界で最多のARTを実施している。ちなみに、米国が人口(世界人口白書2016年版)3億1,905万人に対し日本は1億2,706万人と約3倍の人口を有するが、ARTは169,602周期であり、日本が米国の2.3倍のARTを実施している。人口比で考えると米国の5.8倍となる。にもかかわらずARTによる出生児数は米国が68,791人に対し日本が47,322人(68.8%)と米国の7割以下の出生児数しかない。日本のART効率は米国の8.4分の1以下である。この現状を如何にとらえるべきであろうか。世界的にも不妊治療対象女性患者年齢は高齢化が進んでいるが、わが国ではその傾向が顕著である。その証拠に40～41歳が治療を受けている患者の最も多い年齢層となっている。現在の不妊治療ではいずれの国においても高齢女性患者への対応に苦慮している。日本と異なり海外では高齢患者に対し様々な選択肢が用意されている。米国では40歳で10%以上、45歳では50%以上のARTが提供卵子による。またPGSは通常検査として行われている。ESHREのPGD Consortium(2010)では5,732周期の48%(2,753)がPGDで52%(2,979)がPGSと、PGSがやや多い程度との印象を与えるが、総症例数(2,914)で見るとPGSが70%(2,063)、PGDが30%(851)と圧倒的多数がPGSである。PGD症例の平均年齢が33歳に対しPGS症例が39歳であることより、高齢女性におけるPGSの必要性を窺わせるものである。海外ではARTの40%近くにPGSが実施されている(World IVF survey)。日本の不妊患者は自己卵子により限界までARTを試み治療回数を重ねる。これが日本のART大国世界一形成に貢献している。日本のART件数増加の要因として次のようなことが挙げられる。画一的に単一胚移植実施が強く要求

される。多胎の減少には寄与しているが、胚移植回数の増加、不妊治療の長期化、結果として高齢患者ではさらに妊娠率を低下させる。胚の選別はタイムラプスを含めすべて形態学的評価に頼っている。これは「運を天に任す」状態であり科学的選別とは言えない。このような状態を補うべく2段階移植や様々の日本独自の取り組みが行われている。しかし、いかなる手段を用いても染色体異常胚は着床しないか着床しても殆どが流産に終わる。卵子提供が許されず多くの卵子提供希望患者は海を渡っている。日本においてPGSを取り入れることにより、すべてではないが様々な状態が改善されると考えられる。日本でPGSが禁じられている間に、海外ではNGSによるPGSが通常検査として用いられるだけでなく、モザイク胚への対処など新しい課題への取り組みが始まり、海外のメジャー学会やジャーナルの多くの部分がPGS関連トピックに割かれており、日本人は完全に「蚊帳の外」状態である。PGSのパイロットスタディーが本学会開催時には始まっていると思われるが、パイロットが終了してもまだ臨床研究が控えている。既に多くの患者がNIPTを受け、異常が判明したケースには殆どが中絶手術を受けている。中絶手術は女性に肉体的精神的ダメージを与えるばかりでなく、将来の不妊症の要因ともなる。中絶を伴う技術が容認され未然に防ぐ技術が禁止されるという予防医学的にも不合理な事態が起こっている。日々患者と向き合う生殖医療臨床に従事する医師として、本シンポジウムでは「PGSの生殖医療における意義」を考えてみたい。

産科医の出生前診断の経験からみた PGS



室月 淳

宮城県立こども病院産科 部長
東北大学大学院医学系研究科
先進成育医学講座胎児医学分野
教授

略 歴

1986年 3月 東北大学医学部医学科卒業
6月 山形県立中央病院臨床研修医
1989年 7月 東北大学医学部産科婦人科学教室に入局
1993年 7月-1996年 6月
カナダ・ウェスタンオンタリオ大学ローソン研究所
1996年10月 古川市立病院産婦人科科長
1999年 4月 東北大学医学部助手
2000年 8月 東北大学附属病院講師
2002年 1月 国立仙台病院産婦人科医長
2004年 7月 岩手医科大学医学部講師
2007年 1月 順天堂大学大学院環境医学研究所研究員
4月 東北大学病院准教授
2009年 9月 宮城県立こども病院産科部長
2010年 4月 東北大学大学院医学系研究科先進発達医学講座胎児医学分野教授を併任

日本産科婦人科学会代議員, 日産婦周産期委員会委員, 日本周産期・新生児医学会評議員,
日本人類遺伝学会評議員, 日本遺伝カウンセリング学会評議員, 日本妊娠高血圧学会評議員,
日本胎児治療学会幹事, 日本母体医学会幹事
産婦人科専門医, 周産期(母体・胎児)専門医・暫定指導医, 超音波医学専門医・指導医, 臨
床遺伝専門医・指導医, NCPR インストラクター

子どもをもつ権利(女性の妊娠出産についての自己決定権)を擁護し, すべての女性が幸せになれるようにと着床前遺伝子スクリーニング(PGS)を推し進める立場にたいし, 一部では「命の選別」であるという批判や, 男女の産み分けや遺伝子操作によるエンハンスメントに発展する可能性にたいする危惧が根強くのこっている。わたしはPGSについて否定的な立場では決してないが, 固定しつつあるPGSの議論の枠組みをのりこえるために, これまでとはちがった視点からの議論を提示したい。

アメリカの社会学者ジェイン・ジェイコブズは「市場の倫理 統治の倫理」で以下のように述べている。人間が働き生きていくうえで支えとなる倫理と道徳にはふたつの根本的に異なる価値体系があって, それらはまったく矛盾していてしばしば衝突すら起こすにもかかわらず, 現実にはそのふたつとも有効であり必要とされている。そのひとつは「統治の倫理」で, 勇敢, 忠実, 取引をしない, 規律遵守, 伝統堅持, 矜持をもち名誉を貴ぶ, 公明正大, 公衆への奉仕などが推奨される。もうひとつは「市場の倫理」で, そこで重要とされる徳は, 正直, 協力, 契約遵守, 勤勉や儉約による自己利益の追求, 創意工夫や効率, 快適さと便利さなどである。ひとはそのどちらかの倫理と価値体系のモラルにしたがって生きている。深刻な問題が生じるのは, 自分自身の倫理体系を固守しないで, どちらかからでも都合主義で道徳律を選ぶ, つまりふたつの道徳体系を一緒にくたに混合する人間が現れたときである。世の中のほとんどの道徳的腐敗はこれらふたつの倫理体系を混同するところからおこってくる。

日本では医療は前者のシステムに属するものという前提で制度設計がなされている。国民がだれでも平等に医療を受ける権利を重視し, 国民皆保険制のもとに公益性,

営利の否定, 混合診療の禁止, 応召義務といった制限が定められる一方で, 医師の業務独占や名称独占資格, 一定水準以上の収入など国によって守られている。すなわち医師は無私であることや公明正大, 非営利, 公衆への奉仕といった「統治の倫理」の道徳律を尊ばなければならない。子どもを望む夫婦の希望を尊重してPGSをおこなうのは, 協力や契約尊重, 快適さや便利さなど, あきらかに「市場の倫理」の道徳律に基づいた行為である。その契約はあくまでも医師と当事者の夫婦のみで結ばれているため, このとき「統治の倫理」のなかでおこなわれるべき医療が, 「市場の倫理」の道徳律を恣意的につまみ食いをしていることになる。

「患者の希望」をすべて尊重することに「統治の倫理」は道徳的にも機能的にも適していないので, そのために医療自体がねじまげられることがある。医療にとっていちばん基本的となるのはこれらふたつの倫理価値体系をきちんと区別すること, そして「患者の希望」が絶対的ではないことを意識する必要がある。

細胞遺伝学から見た PGS



笠島 道子

永井マザーズホスピタル
京野アートクリニック
ファティリティークリニック東京
非常勤勤務

略 歴

1971年 3月 群馬大学医学部附属衛生検査技師学校(群馬大学医学部保健学科)卒業
4月 北里大学病院臨床検査部染色体検査室勤務
1980年12月 JAICA派遣専門家・オラン科学技術大学病院(アルジェリア)1年赴任
1995年 6月 Royal Women's Hospital (Reproductive Biology Unit) 客員研究員
1997年 7月 中央クリニック併設高度医療技術研究所
2008年10月 認定遺伝カウンセラー資格取得

臨床検査技師, 臨床細胞遺伝学認定士・指導士, 認定遺伝カウンセラー, 認定不妊カウンセラー

ヒトの受精卵は着床する前に40%消失し、着床後に34%が化学的流産に終わる。さらに、臨床的妊娠が認められた後の流産3%を合わせると、受精した胚の77%は消失してしまう¹⁾。流産の原因検索とした細胞遺伝学的研究は半世紀も前から実施され、今では、流産の60-70%は胎児の染色体異常に起因することが周知されている。

一方、着床前スクリーニング(PGS)は、発生過程の初期である胚盤胞を調べるため、従来の細胞遺伝学的検査では経験することのない、想像の域であるような染色体異常に出会うこともあり得る。PGSの結果によっては、解釈や移植に戸惑い、移植後の流産や出生児の状態など、予測できないことへの不安を抱かかねない。

本講演では、細胞遺伝学的な見地から例をあげてPGSの結果を推測してみたい。

PGSの対象者は必ずしも夫婦の染色体検査を実施しているとは限らず、PGSを実施したことで偶然にも構造異常が見つかる可能性もある。複数胚に共通して同じ染色体に部分的重複や部分的欠失が認められる場合は相互転座が疑われ、ひとつの染色体に限り認められる場合は染色体逆位も考えられる。数的異常としても高頻度にみられる13, 14, 15, 21, 22番は、複数胚に共通している場合などロバートソン転座に由来する過剰や欠失も考えられ、低頻度ではあるが片親性ダイソミー(UPD)の可能性についても考慮する必要がある。さらに、一般集団より不妊群に多く認められる過剰マーカー染色体がある。遺伝情報を含む領域由来のマーカー染色体では、微細な部分的重複として検出される可能性があり、複数胚に共通する場合には親由来か確認する必要がある。PGSの結果を判断する場合には、常に過去の結果と合わせて考えることが必要になると思われる。

最近、正倍数性(euploid)と異数性(aneuploid)が混在するモザイク胚の扱いが問題となっている。これまでモザイク胚は廃棄されていたが、モザイク胚の41%は妊娠継続するという報告もあり²⁾、基本的には廃棄せず凍結保存や優先順位をつけて移植される傾向にある。しかし、

胎盤に局限するモザイク(CPM)でも2, 7, 16, 22番が関与する妊娠では、子宮内発育不全や胎児死亡につながる妊娠合併症のリスクが高まり、7, 14, 15番では片親性ダイソミーとなるリスクもあることなど、PGDIS³⁾ではモザイク胚の取り扱いに関するガイドラインを公表している。PGSの結果は判断に苦慮することもあり得るため、PGSを受ける前の情報提供のあり方について、十分に検討する必要があると考える。

参考文献

- 1) Edmonds DK, Lindsay KS, Miller JF et al.: Early embryonic mortality in women. *Fertil Steril*, 38: 447-453, 1982.
- 2) Munne S, Blazek J, Large M et al.: Detailed investigation into the cytogenetic constitution and pregnancy outcome of replacing mosaic blastocysts detected with the use of high-resolution next-generation sequencing. *Fertil Steril*, 108: 62-71, 2017.
- 3) Preimplantation Genetic Diagnosis International Society. PGDIS position statement on chromosome mosaicism and preimplantation aneuploidy testing at the blastocyst stage. PGDIS Newsletter, July 19, 2016.

Effective use of Time Lapse in IVF and PGS



Dean E. Morbeck
Ph.D., HCLD, MBA
the Univ. of Auckland

Dr. Morbeck is currently the Scientific Director at Fertility Associates. He is based in Auckland and oversees science in clinics throughout New Zealand and Malaysia that annually perform 4000 OPUs.

Prior to moving to NZ in January, 2016, Dr. Morbeck spent 10 years as Laboratory Director and Associate Professor of Obstetrics and Gynecology and Laboratory Medicine and Pathology at the Mayo Clinic. He is a certified embryologist in NZ (NZMLS) and the USA (AAB; HCLD).

Dr. Morbeck has a keen interest in the quality of care provided to patients experiencing infertility, as evidenced by his publications on quality control and media and protein composition. He completed his MBA in 2015, which he is putting to use at Fertility Associates and its mission to be a world-class company that is a global leader in fertility care.

Accurate identification of viable embryos is essential for minimizing time to pregnancy once a patient starts fertility treatment. Today embryologists have several tools to help select the best embryo for transfer, including routine morphology, time-lapse morphokinetics and preimplantation genetic screening (PGS). The latter of these methods – PGS – is considered the most definitive and powerful, largely because it helps exclude otherwise normal appearing but aneuploid blastocysts from the selection pool. However, as many as 40-50% of euploid blastocysts do not implant, indicating that inherent embryo viability and a receptive uterus remain important limits to optimizing success rates. This lecture will present the role time-lapse imaging can play in helping to identify the best euploid embryo to transfer in order to minimize a patient's time to pregnancy.

Finding Sperm in NOA Patients: Medieval to Modern



**Paul Turek MD,
FACS, FRSM**

Director, The Turek Clinics
Beverly Hills and
San Francisco, CA

Dr. Turek is Director of The Turek Clinics (www.TheTurekClinic.com), men's health clinics in Beverly Hills and San Francisco. He is a former Professor at the University of California San Francisco and held an Endowed Chair while there. Dr. Turek is an internationally recognized and widely acclaimed speaker on issues of men's sexual and reproductive health.

Dr. Turek attended Yale College, followed by Stanford University Medical School. After a urology training at the University of Pennsylvania, Dr. Turek was fellowship trained at Baylor College of Medicine. His 175 publications have addressed stem cell and infertility genetics, novel surgical procedures, and the epidemiology of men's sexual and reproductive health. He also received an NIH grant to develop an artificial testicle. He is a consultant to several biotech and healthcare organizations, and is an advisor to the NIH and the CDC. For 9 years, he has maintained an award winning weekly blog on men's health issues (www.TurekOnMensHealth.com).

He is Past-President of the American Society of Andrology, the Society of Male Reproduction and Urology and the Northern California Urological Society. He is a fellow of the Societe Internationale d' Urologie and the Royal College of Medicine (UK).

He recently founded a volunteer medical clinic powered by retired physicians for the working uninsured in San Francisco (www.ClinicbytheBay.org). His hobbies include vintage cars and longboard surfing.

Objective: Sperm retrievals in men with nonobstructive azoospermia (NOA) are challenging infertility cases. One popular strategy for finding sperm is microdissection TESE (mTESE), which involves bivalving the testicle under anesthesia and examining the tissue for “plump” tubules. It is very invasive and results in postoperative hypogonadism in 10-50% of patients. Another approach, developed in 1996, is fine needle aspiration (FNA) “mapping.” Through this less invasive, nonsurgical diagnostic technique, sperm are located in the testicle through percutaneous template and extensive needle sampling. Once sperm is confirmed, sperm retrievals are performed coincident with IVF-ICSI and tailored to the FNA map findings. We review the history and performance characteristics of FNA Mapping in nonobstructive azoospermic men.

Design: Retrospective, single institution study of consecutive male infertility patients.

Materials and Methods

Clinical records of all patients undergoing testicular FNA mapping between 1996-2016 were reviewed. Inclusion criteria were: Men with NOA due to any root cause, regardless of the number of prior diagnostic and therapeutic testicular procedures. The efficiency, sperm retrieval rates, ability to find mapped sperm on retrieval and complications rates were examined. Simple descriptive statistics were used to compare findings.

Results

Among 1,800 patients undergoing FNA mapping from

1996 to 2016, the technique increased in FNA sample size from 6 to 18 sites/testicle, which corresponded to an overall increased yield of sperm from 33% to 60% of cases. Depending on the population under study, sperm can be found in 63% of men with varicoceles and from 67-100% of men with torsion, mumps orchitis, epididymo-orchitis and cryptorchidism. The likelihood of heterogeneity in FNA sperm findings is 25% within individual NOA testes, and 19% between testis sides. With a 94% correlation with biopsy findings, FNA can accurately evaluate all classically defined histologic types. On post-procedure follow-up, there has been no testis atrophy or hypogonadism observed after FNA mapping.

In complex cases such as cryptozoospermia and failed mTESE procedures, FNA mapping located sperm pockets in 78% and 29% of cases, respectively. Interestingly, in cases of failed mTESE procedures, sperm tend to be found by FNA mapping in the peripheral more than the central testis, suggesting that mTESE procedures sample the central testis better than the peripheral organ.

As an aid in guiding sperm retrieval, 44% of FNA mapped patients required only TESA, 33% needed TESE, and only 23% used mTESE to retrieve sufficient sperm for all eggs at IVF-ICSI, demonstrating the ability of diagnostic mapping to reduce the need for mTESE sperm retrievals in NOA men. Future opportunities to find or produce sperm in NOA patients include using metabolomics assessment of testicles for sperm and creating patient specific sperm from stem cells.

Conclusions

Sperm FNA “mapping” can find mature sperm for IVF-ICSI in the majority of NOA cases and avoid the invasiveness and complications associated with mTESE procedures. FNA mapping can also find sperm in failed mTESE cases. Besides finding sperm, it is also able to “archive” nonsperm testis cell types for the benefit of future stem cell-based therapies.

THE FUTURE OF IVF



Robert Norman

Professor, Robinson Research
Institute, University of Adelaide,
South Australia
Medical Director, Fertility SA

Robert Norman holds a personal chair as Professor for Reproductive and Periconceptual Medicine at the University of Adelaide and is a subspecialist in reproductive medicine (CREI) and in endocrine biochemistry (FRCPA). He was Director of the Robinson Research Institute at the University of Adelaide from 2008 to 2013, a collection of 60 Research Leaders in reproductive health and regenerative medicine, with more than 450 members. He has been leader of two NHMRC Program Grants and has published over 450 peer-reviewed publications and one book. He has an h score of 83 (Google Scholar) with more than 32,000 citations. He serves on the editorial board of major reproductive journals.

His major research contributions have been in IVF and reproductive endocrinology, particularly in PCOS, the effect of lifestyle on reproductive outcomes and periconception medicine. He is Medical Director and an active reproductive medicine specialist at Fertility SA and was formerly CEO of Repromed Pty Ltd. He was President of the Asia Pacific Initiative for Reproduction Society (membership 2000+), Scientific Chair of ASPIRE (2014 and 2016) and Scientific Chair of the Fertility Society (2012 - present). He was awarded an Order of Australia (AO) in 2013. In 2015 he became a Fellow of the Australian Academy of Health and Medical Sciences and in the same year was awarded an Honorary Doctor of Medicine by the University of Adelaide. He has been given the top awards of the American Society of Reproductive Medicine (ASRM) and the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE).

IVF was introduced as a scientific advance to get past the problem of tubal blockage and allow the sperm and the egg to interact before putting an embryo back into the uterus. Since then IVF has been used for multiple other purposes and is part of the reproductive revolution that started in 1960 with the use of old contraceptive agents. There have been many technological and social changes that have led to the expansion of IVF and these have often out-stripped the ethical background in each society, leading to tension between various groups who wish to expand or control IVF.

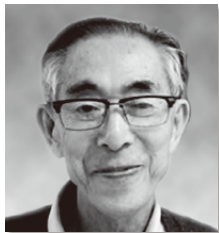
Much of what we do today in fertility management has no evidence base and given the wide private nature of IVF clinics, there is little investigation before many of these therapies are introduced into practice. There is a clear need for us as clinicians and scientists to sort out when and where we can introduce new therapies. In the meantime, patients have taken matters into their own hands and take multiple adjunct therapies, many of which are unproven and some of which may be unsafe.

IVF has become commercialised to the extent that patients move from country to country to obtain therapies that they cannot legally access in their own. The growth of surrogacy and donor eggs, the use of sex selection of embryos and other technologies has led to many patients moving to countries that offer these treatments, but often with an inferior IVF background and medical services. The more conservative the country, the more patients are likely to move to other countries. Various scandals within Asian countries have led to

tightening of surrogacy and the use of donor gametes, but as some clinics are closed, new ones open.

In this talk I wish to cover issues to do with science, politics, sociology and technology behind the future of fertility management. I wish to emphasise how fertility clinics must invest in research, education, quality staff and proven technologies if they wish to remain at the forefront of science and medicine.

The beginning and future of fertilization study, IVF and ART



**Ryuzo
Yanagimachi**

of their University of Hawaii
Medical School

Received his B.Sc. from Hokkaido University, Japan in 1952 and his D. Sc. from Hokkaido University in 1960 where he conducted research on herring fertilization and reproduction of parasitic cirripeds. He was a postdoctoral fellow at Worcester Foundation for Experimental Biology from 1960-64 to begin mammalian fertilization study and a Professor at the University of Hawaii Medical School since 1966. Yana has been emeritus since 2004. For nearly four decades, his research has focused on gametes and fertilization biology. His work has advanced not only basic knowledge of mammalian fertilization, but also contributed to the development of assisted fertilization technologies, such as in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection (ICSI), which are widely used in human infertility clinics. He also contributed to the field of transgenesis and cloning. In 2000, he founded and was the first Director of the Institute for Biogenesis Research, housed in the Department of Anatomy, Biochemistry and Physiology at the University of Hawaii. Under his leadership, research in the institute expanded to include stem cell biology, genome structure and its role in embryogenesis, transgenesis technology, and the elucidation of molecular mechanisms during normal and abnormal embryo development. Yana was elected as a member of the National Academy of Sciences in 2001.

PROFESSIONAL EXPERIENCE

1955 - 1960	Research & Teaching Associate, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan.
1959 - 1960	Lecturer of General Biology, Fuji Women's College, Sapporo, Japan.
1960 - 1964	Research Scientist, Worcester Foundation for Experimental Biology, Shrewsbury, MA, USA.
1964 - 1966	Research Associate, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo, Japan.
1966 - 1974	Assistant Professor & Associate Professor of Anatomy & Reproductive Biology, University of Hawaii Medical School, Honolulu, HI, USA.
1974 - 2004	Professor of Anatomy & Reproductive Biology, University of Hawaii Medical School, Honolulu, HI.
2000 - 2004	Director, The Institute for Biogenesis Research, Dept. of Anatomy & Reproductive Biology, University of Hawaii Medical School, Honolulu, HI.
2005 -	Professor Emeritus, University of Hawaii Medical School, Honolulu, HI.

As a student majoring in biology at Hokkaido University 60 years ago, I became interested in fertilization because it links one generation to the next. Most importantly, fertilization creates individuals whose genomic makeups are different from parents and all of their ancestors.

In mammals, the details of fertilization processes were largely unknown for many years because of the difficulty in collecting and examining live eggs under the microscope. Since C.R. Austin precisely documented the morphological details of fertilization and co-discovered the phenomenon of sperm capacitation with M.C. Chang in 1951, research into mammalian fertilization advanced rapidly. In vitro fertilization (IVF) was not only powerful for the analysis of fertilization processes, but it also served in overcoming certain types of human infertility. What we know and can do today for many infertile couples was not foreseen in 1960 when I began to study mammalian fertilization in Dr. Chang's laboratory.

Today, more than half of infertile couples bring babies back to their home thanks to advancements of the basic

knowledge of fertilization and assisted fertilization technologies (ARTs). It is important to note that mother Nature is by no means perfect. In humans, surprisingly, nearly one third of naturally fertilized eggs have genomic aberrations. Due to stringent "maternal selection", less than 1% of the babies born after natural conception have congenital aberrations. Although the same mechanism works for embryos that start to develop after ART, we should better understand the genetic and epigenetic risks of ART and how to minimize them. Parents all want their children be happier and healthier than themselves. ART (including genomic therapy) should be used correctly and wisely such that all offspring born after its application are as healthy and happy as or even happier and healthier than their parents.

東日本大震災が生殖医療に及ぼした影響 —無事出産を迎える為に—



星 和彦

スズキ病院 理事長

略 歴

1971年 東北大学医学部卒業
米沢市立病院産婦人科勤務
1973年 東北大学医学部附属病院産婦人科入局
1979年 アメリカ合衆国、ハワイ大学医学部生殖生物学教室留学(柳町隆造教授)
1981年 東北大学医学部附属病院講師
1982年 仙台社会保険病院産婦人科部長
1985年 福島県立医科大学産科婦人科学講座助教授
1996年 山梨医科大学産婦人科学講座教授
2002年 山梨大学医学部産婦人科学講座教授(大学名変更)
2005年 山梨大学医学部附属病院院長
2009年 山梨大学理事, 副学長
2011年 医療法人社団スズキ病院 スズキ記念病院院長
2014年 山梨大学名誉教授, 名誉参与
2015年 医療法人社団スズキ病院 理事長

日本産科婦人科学会, 日本受精着床学会, 日本生殖医学会, 日本卵子学会, 他
日本産科婦人科学会専門医, 日本臨床細胞学会細胞診指導医, 他

東日本大震災の被害は甚大で、岩手県・宮城県、福島県で不妊の治療を受けている多くの方が被災した。福島県では放射能の影響もあり、住居を移すことを余儀なくされた方も多いと思われるが、その実態は把握されていない。また、医療機関が大きな損傷を受け機能しなくなり、診療を受ける医療機関を変更しなければならず、治療状況に影響の出ていることも考えられる。

今回の震災に遭われた不妊治療中のご夫婦がどのような行動をされているか、さらには、その中で発生した医学的異常や治療の状況を調査することはこれからの生殖医療のあり方を考える上で極めて重要と考え、平成24・25年度厚生労働科学研究費補助金「震災時の妊婦・褥婦の医療・保健的課題に関する研究」(分担研究者 東北公済病院 岡村州博)の一環として、「東日本大震災が岩手県・宮城県・福島県の生殖医療に与えた影響」を調査した。

岩手県、宮城県、福島県で高度生殖医療を実施している17医療施設に対して、東日本大震災前後の1) 高度生殖医療の実施件数の変化、2) 東日本大震災による施設、設備の被害状況、被害が治療に及ぼした影響、3) 生殖補助医療治療内容の変化、等についてアンケート調査を行った。

高度生殖医療を実施しているほとんどの施設および設備が東日本大震災により一時機能不全に陥り、治療実施に大きな障害が生じた。また、この震災の前後で高度生殖医療の実施内容すなわち治療方法、治療数に変化が認められ、またその変化に地域的差異が認められた。

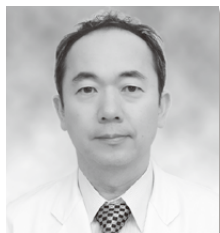
具体的には、東日本大震災以降、福島県において、人口減少のみならず、医療スタッフの流出、放射能の影響、避難により通院が困難になっている等、多岐にわたる理由のために、体外受精・胚移植、顕微授精、凍結・融解胚移植といった高度生殖医療が減少していた。一方、近隣の宮城・岩手では、挙児を希望するカップルが増加してきている

という印象を持ったとする意見が寄せられ、それを裏付けるように、宮城県では人工授精件数が震災後で18%増加していた。これは宮城県に人口が流入していること、新規に不妊治療を始めようとしているご夫婦が増加したことを示唆している。

福島県ではとくに原発事故の影響が深刻であり、県民の感情また県の若年人口が回復するまで長い時間を要すると考えられる。しかし、隣接する宮城県では新たに不妊治療を始めようとする気運も高まっており、放射能に対する冷静かつ正確な報道と的確な除染作業が進められれば、福島県で行われる生殖医療が回復する日も遠くはないと思われる。

地震により、精密光学機器、培養器などの損傷・損壊、電力・各種ガス・培養液・薬品などの供給停止などが診療続行に甚大な影響を及ぼしたが、医療スタッフの懸命な尽力により、幸いにも培養中・凍結保存中の配偶子・胚への影響は軽微であった。特に凍結配偶子・胚への影響は全くみられず、ガラス化法(vitrification)による配偶子・胚の急速凍結技術が大災害時の危機回避対応法として有用であることが確認された。この知見は今後の生殖医療における危機管理対策として重要である。

ARTと周産期合併症に関する課題



杉山 隆

愛媛大学大学院
医学系研究科産科婦人科学
教授

略 歴

1988年	関西医科大学医学部卒業
	三重大学医学部附属病院産科婦人科学研修医
1993年	三重大学大学院医学研究科博士課程修了
1994年	三重大学医学部産科婦人科学助教
1995年	米国バンダービルト大学留学
2000年	大阪府立母子保健総合医療センター産科
2002年	三重大学医学部産科婦人科学准教授
2012年	東北大学医学部産科婦人科学准教授
2015年	愛媛大学医学部産科婦人科学教授

生殖医療において生殖補助医療 (assisted reproductive technology; ART) は必須であり、今や総出生児の5%を占めるに至っている。晩産化の時代において、今後益々増加することは必至である。一方、ARTによる周産期合併症が存在することも事実である。そのひとつとして多胎妊娠があげられる。多胎妊娠は母児の予後を不良にするとともに、早産や低出生体重児の出生により周産期医療に大きなインパクトを与える。ただし、近年の単一胚移植の普及とともに、ARTによる多胎は急速に減少している。またART妊娠は、早産や妊娠高血圧症候群 (PIH)、癒着胎盤等と関連することが報告されている。ARTは高齢と関連するが、その一方で高齢妊娠は、種々の周産期合併症と関連することが知られている。たとえば、高齢妊娠そのものが独立してPIH発症と関連するが、年齢をマッチさせてもART妊娠において自然妊娠に比し、PIHの頻度が高くなることも報告されている。ただし、ART妊娠と周産期合併症に関する臨床研究では、年齢のみならず人種、ARTの適応理由、ARTの定義、ARTの種類、多くのバイアスや交絡因子が存在するので、わが国発のエビデンスの発信が重要である。

またARTによる妊娠成立のみならず、順調な妊娠経過および安全な分娩まで視野に入れた対応が、ますます重要になると考えられる。さらにARTがエピジェネティクスを介し児の長期的予後に影響を与える可能性も示唆されている。ARTと周産期合併症に関し、内外の報告を紹介しながら、課題と方向性について概説したい。

ヒト therapeutic cloning への挑戦と課題



山田 満穂

慶應義塾大学
医学部産婦人科学教室
助教

略 歴

2002年 慶應義塾大学医学部研修医
2006年 独立行政法人国立成育医療センター研究所流動研究員
2007年 独立行政法人国立成育医療センター研究所共同研究員
2008年 慶應義塾大学研究員(文部科学省グローバルCOE プログラム)
慶應義塾大学医学部専修医
2010年 慶應義塾大学医学部助教
2013年 ニューヨーク幹細胞財団研究所博士研究員
2016年 慶應義塾大学医学部助教

日本産科婦人科学会認定産婦人科専門医, 日本人類遺伝学会認定臨床遺伝専門医

1960年代, Gurdonはカエルを用いたクローニングにはじめて成功した。以来, 体細胞核移植(Somatic Cell Nuclear Transfer: SCNT)はヒトにも応用可能と期待され, 患者に遺伝的にマッチした免疫拒絶されない細胞治療, Therapeutic cloningを目標に研究が行われてきた。

2006年, Yamanakaらは4つの胚性の転写因子により分化した細胞を未分化な状態にリプログラミングすることに成功した。こうして樹立された細胞は人工多能性幹細胞(induced pluripotent stem cell: iPSCs)と名付けられた。iPSCsは通常の胚性幹細胞(ESCs)と同様の多能性を有し, 韓国のグループによるヒトSCNTの捏造の発覚も相まって, 再生医療研究はiPSCsに一気に集中した。しかしながら, iPSCsはESCsと比較して, DNAメチル化異常やガン化のリスクといった問題が指摘され, SCNT技術の確立を目指して少数のグループでSCNT研究が継続された。

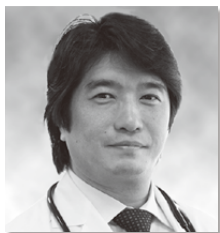
我々のグループは, 受精卵のゲノムから胚性遺伝子の転写の活性化(Zygotic Genome Activation: ZGA)が十分に起こらないこと, 卵子の細胞周期が進んでしまうことがSCNT胚の発生停止の原因であることを明らかにした。こうした知見を元に, ヒストン脱アセチル化阻害剤(HDACi)による改良SCNTプロトコルにより, 核移植した胚は胚盤胞に発生し, 4株の核移植胚性幹細胞(ntESCs)の樹立に成功した。

しかしながらSCNT技術には二つの課題が指摘される。一つにはヒト卵子を用いる倫理的問題であり, 体細胞を初期化するより良い方法の開発に向けた分子基盤を整備する必要がある。もう一つの課題には, ミトコンドリア遺伝浮動(mtDNA genetic drift)が挙げられる。SCNT後, 核側ドナー由来の少数の持ち込みミトコンドリアが, ntESCsにおいて細胞質側ドナーのミトコンドリアよりも増加する現象が観察されている。そのため変異ミトコンドリアを有するミトコンドリア病患者では, mtDNA genetic driftのメカニズムとこれを避ける方法の開発が求められている。

本講演では, ntESCsの樹立によるtherapeutic cloning

への挑戦と課題について示した。今後はヒト卵子および初期胚発生における遺伝子調節機構への理解が深まることで, ZGA型リプログラミングを介した, がん化しない, mtDNA genetic driftを避ける, 安全な多能性幹細胞の樹立による再生医療の開発が期待される。

がん・生殖医療最前線



鈴木 直

聖マリアンナ医科大学
産婦人科学 教授

略 歴

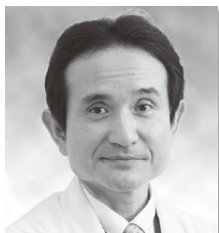
1990年 3月 慶應義塾大学医学部卒業
4月 慶應義塾大学医学部産婦人科入局
1993年 4月 慶應義塾大学大学院(医学研究科外科系専攻)入学(指導：野澤志朗教授)
1996年 4月 米国カリフォルニア州バーナム研究所留学～1998年9月
1997年 3月 慶應義塾大学大学院(医学研究科外科系専攻)博士課程修了
2000年 7月 慶應義塾大学助手(医学部産婦人科学)、同産婦人科診療医長を兼ねる
2005年 8月 聖マリアンナ医科大学講師
2009年 8月 聖マリアンナ医科大学准教授
2011年 4月 聖マリアンナ医科大学教授(婦人科部長)
2012年 4月 聖マリアンナ医科大学教授(産婦人科学講座代表)～現在に至る

近年、がんの診断および集学的治療の進歩の結果、小児、思春期・若年(AYA)がん患者におけるQOL(がんサバイバーシップ)の向上に関心が高まっている。これまでは、生殖可能年齢の若年がん患者にとって、「子どもをもてない」また「妊孕性や生殖機能の喪失」という事実を、がん治療終了後に初めて知り、またその現実を受け入れざるを得ない状況が少なくなかった。がんによる生命の危機と妊孕性喪失の危機に直面している小児、AYAがん患者にとって、妊孕性温存に関する正確な情報を的確なタイミングで得ることができ、さらに安全な妊孕性温存療法の実践は大きな希望となり得る。本邦においては、小児、AYAがん患者に対する「がん・生殖医療の普及と適格な医療連携構築を志向し、2012年11月に特定非営利活動法人日本・がん生殖医療研究(現、日本・がん生殖医療学会:JSFP)が設立された。

一方、本邦のがん対策は1984年以降、10年毎に戦略の改訂のもとに施策が実施されてきた。そして2007年4月には、がん対策をより一層推進するため、がん対策基本法が施行され、本法に基づきがん対策の推進を図る目的として「がん対策推進基本計画」が策定された。2015年6月の、がん対策協議会による「がん対策推進基本計画に対する中間評価報告書」の中の研究班患者調査では、納得のいく治療の選択ができたがん患者の割合は84.5%、妊孕性温存に関する情報が提供された40歳未満のがん患者は38.1%に留まっており、患者への十分な情報提供と治療選択のための体制整備が急務となっている。同時に発表された「今後のがん対策の方向性」では、今後推進が必要な事項として、「小児期、AYA世代、壮年期、高齢期等のライフステージに応じたがん対策」が挙げられており、本項では、「(前略)AYA世代のがんの治療にあたっては、倫理面に配慮しつつ、生殖機能温存に関する正確な情報提供を患者・家族に対して行うよう、医療従事者に周知を図る必要がある」と指摘し、早急な対策を講じるとともに、次期がん対策推進基本計画作成にあたって考慮すべきであると提言している。そして、現在策定中の第3期がん対策推進基本計画素案には、がん・生殖医療の適切

な体制の構築が取り組むべき施策として明記されるに至っている。本講演では、がん・生殖医療最前線と題して、本邦における本領域の取り組みや研究の最新トピックスを概説させて頂く。

がん・生殖医療の全国の実状



古井 辰郎

岐阜大学大学院
医学系研究科
産科婦人科学分野

略 歴

1990年 岐阜大学医学部卒業
岐阜大学医学部附属病院産科婦人科研修医
1991年 県立岐阜病院産科婦人科研修医
岐阜大学大学院入学
1995年 岐阜大学大学院修了
米国テキサス大学M.D. アンダーソン癌センター
1999年 岐阜大学医学部附属病院；産科婦人科医員
同助手
2002年 同併任講師
2011年 講師
2013年 准教授
2014年 岐阜大学病院がんセンター臨床研究部門長
2016年 岐阜大学医学部附属病院周産期・生殖医療センター長
2017年 岐阜大学医学部附属病院臨床教授

日本産科婦人科学会専門医、日本生殖医学会認定生殖医療専門医、母体保護法指定医、日本体育協会公認スポーツドクター

日本生殖医学会代議員、日本がん・生殖医療学会理事、日本IVF学会評議員、日本生殖心理カウンセリング学会理事、日本生殖内分泌学会評議員、日本婦人科乳腺医学会評議員

日本癌治療学会『小児思春期、若年がん患者の妊孕性温存に関するガイドライン』を作成ワーキンググループ協力委員(乳腺担当・脳腫瘍担当)

生殖細胞の凍結技術の進歩は、この技術を性腺への不可逆的なダメージを伴うがん治療前の妊孕性温存への応用にその適応を広げた。欧米では2004年の悪性リンパ腫サバイバーの卵巣組織凍結後の生児獲得、2006年の米国臨床腫瘍学会(ASCO)が米国生殖医学会(ASRM)と共同でがん患者の妊孕性温存ガイドライン発表、同時期のFertiPROTEKTやOncofertility Consortiumなどの組織の設立など、若年がん患者およびサバイバーの妊孕性温存支援がなされている。

本邦では、2004年に日本癌治療学会が「生殖医療専門医と協力し妊孕性温存に関して十分な説明」の重要性の見解を示し、がん治療および生殖医療の双方に、この問題への意識の高まりと様々な活動が行われるようになった。具体的には、2005年の岡山大学でのがん患者に対する卵巣組織凍結の臨床研究の承認、2007年の日本A-PARTによる白血病患者を中心とした卵子凍結の臨床研究開始、そして2013年には聖マリアンナ医科大学によって卵巣組織凍結—自家移植による国内初の妊娠出産例が報告された。

一方で、がん診療の現場におけるがん・生殖医療に関する情報不足、患者に対する意思決定支援に対しては、2012年の日本がん・生殖医療研究会(現学会)(JSFP)が設立され、翌年から岐阜や岡山を皮切りとして地域医療ネットワークの構築支援が始まった。2014年には第3次対がん総合戦略研究事業として「乳がん患者の妊娠出産と生殖医療に関する診療の手引き」が出版され、乳がん診療の現場に対する情報提供の実施や医療連携支援に関わる内容が推奨グレードとともに示された。同年、日本産科婦人科学会は医学的適応による卵子・卵巣組織凍結保存に関する見解の発表と実施施設の登録が開始された。

2015年には日本癌治療学会が「小児思春期、若年がん患者の妊孕性温存に関するガイドライン」作成に着手し、2017年秋に発刊される予定である。

また、がん患者に対する生殖機能に関する情報提供、妊孕性温存の意思決定には、腫瘍学、生殖医学、心理、看護、薬学、倫理など、学際的チームによる支援が理想と考えられている。この体制の実現のためにJSFPは組織的な啓発活動、人材育成、資料の作成や地域ネットワーク構築支援に取り組んでいる。本講演では、国の平成28年度がん対策推進総合研究事業「総合的な思春期・若年成人(AYA)世代のがん対策のあり方に関する研究」でJSFPメンバーによって行われた研究成果として、国内におけるがん・生殖医療ネットワークの現状とそれに伴う諸問題、がんサバイバーや専門医の意識調査を紹介し、国内のこれからのがん・生殖医療のあり方、がん患者が診断を契機として子供を持つことの意味、子供のいない人生選択などまで深く考える機会を持つこと(吉村慶應義塾大学名誉教授)の支援のあり方についても考察したい。

O-1 ART出生児3,223名のフォローアップ：胚凍結融解が児の身体発育に及ぼす影響

菊地 寿美¹⁾, 青野 展也^{1,2)}, 中條 友紀子¹⁾, 服部 裕充¹⁾, 中村 祐介¹⁾, 高橋 瑞穂¹⁾, 戸屋 真由美¹⁾, 小泉 雅江¹⁾, 五十嵐 秀樹¹⁾, 京野 廣一^{1,2)}

1) 京野アートクリニック

2) 京野アートクリニック高輪

【目的】

生殖補助医療(ART)の安全性を確認するためにART由来出生児の発達調査は非常に重要である。当院では1995年よりART由来児の身体と運動能力の発達調査を6歳まで行っている。今回は調査結果をもとに、媒精方法別に胚凍結融解の有無が出生児の身体発育に及ぼす影響について検討した。

【方法】

1996～2016年の期間にARTにて単胎児として出生した児3,223名を対象とした。調査は両親へのアンケート形式で実施した。在胎週数、児の出生時体重と身長、そして出生時から1歳までは3か月毎、その後、1歳6か月、2歳から6歳までは1年毎に身長、体重および先天異常の有無について調査した。以上の項目に加え低出生体重児(2,500g未満)率、巨

大児(4,000g以上)率について、c-IVFにおける新鮮胚移植群(以下A群とする)と凍結融解胚移植群(以下B群とする)、ICSIにおける新鮮胚移植群(以下C群とする)と凍結融解胚移植群(以下D群とする)に分け、胚凍結融解の及ぼす影響を媒精方法別に比較検討した。

【結果】

平均在胎週数、出生時体重、出生時身長、低出生体重児率、巨大児率はc-IVFのA群(330名)とB群(550名)それぞれで 38.6 ± 2.4 週 vs. 39.1 ± 2.1 週($P < 0.01$)、 $2,919$ g vs. $3,102$ g($P < 0.01$)、 48.5 cm vs. 49.1 cm($P < 0.01$)、 16.2% vs. 6.5% ($P < 0.01$)、 0.3% vs. 1.1% で、巨大児率以外で有意差を認めた。先天異常率は 3.3% vs. 3.1% と有意差を認めなかった。その後の体重と身長は生後3か月で差が認められなくなった。ICSIのC群(952名)とD群(1388名)それぞれで 39.0 ± 1.9 週 vs. 39.2 ± 2.2 週($P < 0.05$)、 $2,963$ g vs. $3,083$ g($P < 0.01$)、 48.8 cm vs. 49.4 cm、 12.4% vs. 8.4% ($P < 0.01$)、 0.6% vs. 1.1% で、出生時身長と巨大児率以外で有意差を認めた。先天異常率は 3.4% vs. 2.7% と有意差を認めなかった。その後の体重は生後6か月で差が認められなくなった。

【結論】

c-IVF、ICSIともに胚凍結融解により出生時体重が重くなり、低出生体重児率が低下する可能性が示唆された。しかし、その後c-IVFでは3か月以降、ICSIでは6か月以降で有意差が無くなり、身体発育は短期間でキャッチアップすると考えられた。先天異常率に有意差が無かったことから、胚凍結融解は児の先天異常に影響を及ぼさないと考えられる。

O-2 卵子体積が受精・発生能ならびに出生児体重に及ぼす影響

辻 暖永, 吉村 友邦, 香ノ木 早紀, 浅野 恵美子, 福永 憲隆, 浅田 義正

浅田レディースクリニック

【目的】

実験動物を用いた研究では人為的に卵細胞質を大きくしても発生能は改善せず、むしろ低下することが報告されている。またARTにおいて、凍結融解操作や移植胚の評価によって出生児体重が変動することが知られているが、卵子の体積が発生能や出生児体重に影響するか否かは未だ不明である。そこで本研究ではヒトにおいてICSI時の卵子体積が受精、その後の発生能ならびに出生児体重に及ぼす影響を後方視的に検討した。

【対象・方法】

受精および胚盤胞形成に関する検討は2017年1月～2月の間にICSIを施行し採卵時の妻年齢が30～35歳であった55症例973個を対象とした。また、出生児体重に関する検討は2013年1月～2016年8月までにICSI施行後Day1までEmbryoScope®で培養を行い、胚盤胞に到達した胚を

凍結融解胚移植後、出産に至った506症例538周期を対象とした。卵子直径はICSI後EmbryoScope®で培養を行い、最初に撮影された画像の直径を2点取り平均化することで算出した。なお卵子体積は $V = 4/3 \pi r^3$ にて算出した。

【結果】

OPNおよび ≥ 3 PNを形成した卵子は2PNを形成した卵子と同等の体積であったが、1PNを形成した卵子の体積は2PNを形成した卵子と比較して有意に小さかった($746935.5 \mu m^3$ vs. $777233.4 \mu m^3$; $p < 0.05$)。2PN胚のうち胚盤胞を形成しなかった卵子は胚盤胞を形成した卵子の体積より有意差はないものの小さい傾向が見られた($758077.2 \mu m^3$ vs. $770888.6 \mu m^3$; $p = 0.052$)。更に2PNを形成した胚を卵子体積によって3区に分け胚盤胞発生率を比較したところ、体積が小さい区は中間区より有意に低く(55.0% vs. 66.0% ; $p < 0.05$)、また有意差はないものの大きい区より低い傾向があった(55.0% vs. 67.3%)。しかし、卵子体積と出生児体重に相関は無く($R^2 = 0.038$)、先天性異常の発生にも影響は見られなかった。

【考察】

これらの結果から1PNを形成する卵子は体積が小さい傾向があり、また2PNを形成した胚でも体積の小さい卵子は胚盤胞形成率が低率であることが示された。しかし、胚盤胞に達した胚の卵子体積は出生児体重に影響を及ぼさなかった。

O-3 顕微授精後にカルシウムイオノファ処理を行った症例の出生児長期予後

入江 真奈美¹⁾、樽井 幸与¹⁾、渡邊 千裕¹⁾、小林 亮太¹⁾、
水野 里志¹⁾、藤岡 聡子¹⁾、井田 守¹⁾、福田 愛作¹⁾、
森本 義晴²⁾

1) IVF大阪クリニック

2) HORACグランフロント大阪クリニック

【目的】

顕微授精における受精障害症例の発生頻度は1～3%といわれている。このような症例に対して、顕微授精後に卵子に対してカルシウムイオノファなどの人為的活性化を付加することが有効な場合がある。これまで、体外受精により誕生した児について様々な予後調査が行われている。しかし、卵の人為的活性化処理を必要とする症例は少なく、児の予後を含めた安全性の検証は十分とは言えない。このため、一例でも多くこの技術から誕生した児の予後情報を蓄積していくことは非常に重要である。今回我々は、顕微授精後にカルシウムイオノファ処理を実施し妊娠出産に至った症例の児に対して、出生から5歳児までの調査を行ったので報告する。

【対象及び方法】

2004年4月から2014年11月の間に、当院で受精障害が疑われたため顕微授精後にカルシウムイオノファ処理を実施し、妊娠出産に至った11例13

児を対象とした。まず、これらの児に対して、性別、在胎週数、奇形の有無、および出生時の身長と体重を調査した。次に、継続調査に同意の得られた症例に対して、1歳半、2歳、3歳半、および5歳での身長、体重、および生育過程で出現した奇形を調査した。

【結果】

性別の割合は男児84.6% (11児)、女児15.4% (2児)であった。平均在胎日数は男児268±10日、女児274±0日であった。先天異常では1児(7.7%)にダウン症を認めた。出生時の平均身長は男児47.24±1.84 cm、女児48.0±3.54 cm、平均体重は男児2709±40g、女児3068±80 gであった。1歳での平均体重は男児(2名) 8.58±0.88kg、女児は1名のみで8.2 kg、平均身長は、男児で73.45±2.05cm、女児で72.50cmであった。1歳半での平均体重は男児(4名) 10.22±0.43kg、女児(1名) 9.50kg、平均身長は、男児で81.43±1.50cm、女児で79.10cmであった。2歳での平均体重は男児(3名)で11.87±0.13kg、女児(1名)で11.00kg、平均身長は男児で87.13±2.43cm、女児で88.00cmであった。その後の協力の得られた児(1名)の3歳半では身長92.50cm、体重12.40 kg、5歳では身長103.00cm、体重15.50 kgであった。後に発覚した奇形はなかった。

【考察】

身体発育について、一児に出生時の低体重を認めたが、それ以外全てで5歳までのパーセンタイル曲線内に収まっており、今のところカルシウムイオノファ処理の影響は認められないと考えられた。また、男児の割合が通常IVF比(一対一)に比べ有意に(P<0.001)高かったこと、およびダウン症の児の発生率(7.7%)が高率であったことについては、活性化処理の影響なのか、症例数を増やし慎重に見極める必要がある。

O-4 胚移植後の胚残留による再胚植の妊娠成績

嶋田 恵、清水 雅司、白井 美希、齋藤 可奈子、織田 文香、
古川 美穂、安田 忠頼、杉浦 百香、丸岡 沙織、村田 朋子、
村田 泰隆

ARTクリニックみらい

【目的】

当院では、胚移植後にカテーテル内を洗浄して胚が残留していないかを確認しており、胚が残留していた場合は直ちに再移植を行っている。ASRMによる胚移植に関するガイドラインレビュー¹⁾では、胚残留による再移植について、妊娠率や流産率は低下しないと報告されている。そこで当院の胚移植後の胚残留による再移植の妊娠成績について検討した。

【対象・方法】

2016年8月から2017年4月、ホルモン補充周期内膜に凍結融解胚を移植した860周期を対象とした。胚移植方法は、ガラスシリンジを使用し、カテーテルにエア2μL、次に培養液とともに胚を約8μL、最後にエア2μLをローディングし、経腔超音波下で移植を行った。検討①では移植胚数別の再移植の発生率を比較した。検討②ではカテーテル内に胚が残留しなかった周期と胚残留による再移植を行った周期の臨床妊娠率と継続妊娠率を比較した。

【結果】

検討①：再移植の発生率は0.8%(7/860)であった。再移植を行った7周期のうち、移植胚数1個のケースが4周期、移植胚数2個以上のケースが3周期だった。移植胚数における再移植の発生率を比較すると、1個:0.6%(4/687)、2個以上:2.7%(3/115)であり、移植胚数が2個以上での再移植の発生率が高い傾向がみられた(p=0.065)。

検討②：カテーテル内に胚が残留せず通常の移植を行った853周期と再移植を行った7周期の臨床妊娠率および継続妊娠率は、それぞれ通常移植では44.9%(383/853)と35.4%(302/853)、再移植では57.1%(4/7)と57.1%(4/7)であり、有意差はなかった。

再移植での臨床妊娠および継続妊娠に至った4周期はすべて胚盤胞1個を移植して1個残留した4周期であった。4周期とも、移植前の胚盤胞は孵化胚盤胞であったが、胚残留後はすべて胞胚腔が収縮していた。

【考察】

検討①より、複数胚移植では胚移植後の胚残留確認をより重点的に行う必要があると考えられた。検討②より、胚移植後にカテーテルに残留した胚の再移植を直ちに行っても、臨床妊娠率および継続妊娠率は低下しないことを確認できた。胚残留の理由として、シリンジを押しても胚がカテーテルから排出されないケース、胚が排出された後にカテーテルに逆流するケースなどがあると言われている²⁾。今後は、胚の排出がよりスムーズなカテーテル製品の検討に加え、シリンジを押す速度や排出後のカテーテルを抜く速度など移植手技についても検討していきたい。

参考文献

- 1) Penzias, A et al., Fertil Steril. 107(4), 882-96, 2017.
- 2) 生殖補助医療・胚培養の倫理と実際 P183-84

O-5 収縮／拡張中状態での胚盤胞凍結が融解後の生存率，妊娠成績に与える影響に関する検討

村松 裕崇¹⁾，大原 基弘¹⁾，有地 あかね²⁾，伊藤 かほり¹⁾，大村 直輝²⁾，小峰 祝敏²⁾，工藤 祐輔²⁾，門前 志歩¹⁾，蓮井 美帆^{1,2)}，己斐 秀樹^{1,2)}，河村 寿宏^{1,2)}

1) 田園都市レディースクリニックニ子玉川

2) 田園都市レディースクリニック

【目的】

胚盤胞凍結時のグレード判定の際にICM/TE判定は可能だが収縮／拡張中の卵母腔が確認できる胚盤胞やグレード判定から凍結開始の間に完全収縮を起こしてしまう胚盤胞もある。そのような胚盤胞状態であってもグレード判定ができていればそのまま凍結を実施している。今回、凍結開始時にこれら収縮／拡張中または完全収縮してしまった状態で凍結をした胚盤胞が融解後の生存率，妊娠成績にどのような影響を与えているか検討した。

【方法】

2014年1月から2017年3月までに当院で凍結単一融解胚盤胞移植を目的

としDay5胚盤胞を融解した5,185周期を対象とした。凍結時年齢が34歳以下(A群)，35歳から39歳(B群)，40歳以上(C群)の3群に分け，それぞれ凍結観察時の胚盤胞状態(拡張・収縮／拡張中・完全収縮)ごとの融解後の生存率，臨床妊娠率を検討した。凍結融解方法はCryotopを使用し，胚盤胞グレードはGardnerらの分類で行った。生存率は融解後，移植が可能となった胚盤胞を生存胚とし，変性し移植キャンセルとなった胚を非生存胚とした。

【結果】

融解後の生存率に関しては全ての群の凍結時胚盤胞状態で差はなかった。臨床妊娠率はA群で58.9%(842/1429) vs 56.0%(28/50) vs 0%(0/6)，B群で46.8%(992/2120) vs 45.1%(41/91) vs 23.1%(3/13)，C群で30.4%(415/1367) vs 25.6%(23/90) vs 14.3%(2/14)であった。34歳以下群の拡張及び収縮／拡張中 vs 完全収縮で有意差が認められた。他群においては凍結時胚盤胞状態の違いによる有意差は見られなかったが，完全収縮した胚盤胞において臨床妊娠率が低下する傾向が見られた。

【考察】

融解後の生存率に関して凍結時胚盤胞状態の違いによる差はなかった。しかし臨床成績においては完全収縮してしまった胚盤胞に関して低下する可能性があり，複数の凍結胚盤胞があれば移植胚の選択の際に考慮する必要があると考えられた。

に測定したものを採用した。

【結果】

累積臨床妊娠率はA群35.2%，B群47.7%であった。A群においては6回目以降での妊娠例はなかった。また，A群の妊娠例のうち約90%が3回目までに妊娠に至り，5回目で妊娠率が100%に達した。一方，B群では5回目以降でも妊娠例があり，最大8回目での妊娠例があった。臨床妊娠率はA群40歳;38.9%(7/18)，41歳;53.1%(17/32)，42歳;25.0%(2/8)，43歳;7.1%(1/14)，44歳;40.0%(4/10)，B群は40歳;64.7%(22/34)，41歳;53.6%(15/28)，42歳;42.9%(9/21)，43歳;33.3%(3/9)，44歳;15.4%(2/13)であり，45歳以上はどちらも妊娠例がなかった。流産率はA群40歳;42.9%(3/7)，41歳;52.9%(9/17)，42歳;100.0%(2/2)，43歳;100.0%(1/1)，44歳;75.0%(3/4)，B群は40歳;36.4%(8/22)，41歳;40.0%(6/15)，42歳;55.6%(5/9)，43歳;66.7%(2/3)，44歳;100.0%(2/2)であった。

【結論】

AMH値1.0ng/ml未満の症例は妊娠例の約90%が3回目までに妊娠に至り，6回目以降には妊娠例がないことから，5回程度が治療終結の目安の一つとなると考えられた。一方，AMH値1.0ng/ml以上の症例では，6回目以降にも妊娠例が散見されたことから，移植可能な胚が得られれば，移植を繰り返すことで妊娠に至る可能性があると思われた。しかし，臨床妊娠率の検討では，AMH値1.0ng/ml以上でも45歳以上には妊娠例がなく，年齢が上がるごとに臨床妊娠率は低下し流産率は上昇していた。移植を継続していく場合でも，移植回数だけではなく年齢なども考慮しART終結時期を考えていく必要がある。

O-6 40歳以上の胚移植におけるAMHと累積臨床妊娠率の検討

知念 日菓利，藤田 陽子，石井 鈴奈，浅見 真依，大川 莉歩，鈴木 望文，榎本 恵，濱田 道子，堀川 道晴，武谷 雄二

ウィメンズクリニック大泉学園

【目的】

ART反復不成功例にとって，治療を継続するのか，終結するのかを判断するという事は非常に難しい問題である。そこで，当院にて新鮮胚移植，凍結融解胚移植を行った40歳以上の症例を対象に，移植回数ごとの累積臨床妊娠率および年齢別の臨床妊娠率，流産率を算出し，ART開始時のAMH値別に治療終結時期の目安が求められるか検討した。

【方法】

2009年1月～2016年12月までに胚移植を行った40歳以上195症例441周期を対象とした。対象はAMH値1.0ng/ml未満(A群:88症例199周期)と1.0ng/ml以上(B群:107症例242周期)の2群に分け，それぞれにおいて移植回数ごとの累積臨床妊娠率と，妊娠症例(A群:31症例，B群:51症例)あたりの累積臨床妊娠率を求め検討した。さらに，年齢別の臨床妊娠率，流産率を求め検討した。AMH値は初回採卵時の1年前後以内

O-7 生体内環境に近いMicrofluidic embryo culture systemの研究開発

水野 仁二¹⁾, 乾 裕昭¹⁾, 菊地 瑛子¹⁾, 野口 香里¹⁾, 丹治 百合¹⁾, 濱端 美紀¹⁾, 小堤 千歩¹⁾, 込山 真貴子¹⁾, 山崎 知登世¹⁾, 野口 幸子²⁾, 丸本 孝太郎³⁾

1) 乾マタニティクリニック, 乾フロンティア生殖医療不妊研究所

2) 東京慈恵会医科大学

3) 株式会社ナガヨシ

【目的】

ARTでは配偶子及び受精卵の遺伝子にepigeneticな変化が起こることが懸念されている。我々はmicrofluidic embryo co-culture systemを開発し、その有効性を報告した(日本受精着床学会雑誌 26 (1):151-154, 2009)。この度microfluidicの機能を35mmディッシュに搭載したmicrofluidic embryo culture (Vivo) dishの完成を目指し、プロトタイプ作製とコンピューターシミュレーション(CPS)により構造強度と受精卵をとりまく培養液の流体解析を行い初期性能評価を行ったので報告する。

【方法】

Vivo dish(国際特許, 商標出願済)は3D-CAD設計により理想の形態と機能を持たせ、培養液タンク(MT), 培養スペース(CS), 廃液タンク(WT)を備えるデザインとした。CSには20個の受精卵培養ウェルを備え、ウェル間にはスリットを設けた。またVivo dishはタイムラプスイン

キューベーター対応仕様とした。

(試験1) 材料2種(ABSとPC)の樹脂版を加工し削り出しによりプロトタイプを試作した。これらの試作 Vivo dishの操作性と構造強度を生殖補助医療胚培養士5名により評価した。

(試験2) 設計図データを基に、CPSにより培養スペース内の受精卵をとりまく培養液の流体解析を行い、培養液の、栄養成分、酸素、胚発生促進因子、老廃物等の経時的動きと濃度の変化を確認した。

【結果】

(試験1) 削り出し試作プロトタイプのVivo dishは、胚培養士5名による評価により、樹脂材料ABSとPC共に操作性と構造強度は既存の35mmディッシュ(Falcon社 1008, DNP社 LinKID micro25)と同等であった。(試験2) CPSにより以下のことが明らかとなった。

- (1) MT からCSに注ぐ流量は、目標値の10-30nl/minを実現できる。
- (2) MT からCSに培養液が6日間安定的に注がれるため、CSのMT側からWTに向かって培養液の穏やかな流れが起こり、栄養分と酸素の供給、そしてアンモニア等の老廃物の除去が実現できる。
- (3) 卵収納ウェル間のスリットによりウェル底部でオートクライン効果が維持、上部でバクテリア効果の促進が期待できる。

【考察】

Vivo dishの構造評価とコンピューターシミュレーションによる流体解析の結果、構造強度は問題無く、培養液の流れ、栄養成分、酸素、胚発生促進因子、アンモニア等の老廃物の経時的動きと濃度がin vivoに近づき、目標達成に必要な機能と性能を有することが推察された。今後射出成型法により生産し、安全性と有効性をMEAにより十分に検証し臨床利用を目指す。(財福島県産業振興センターの研究開発事業費採択)

O-8 非加湿型インキュベータによる長期継続培養が胚培養環境に及ぼす影響の検討

森田 博文, 田崎 秀尚, 内山 一男, 藪内 晶子, 小林 保, 奥野 隆, 加藤 恵一
加藤レディスクリニック

【目的】

近年タイムラプスインキュベータ並びにSingle step medium (STM)の導入がもたらす胚培養への恩恵について様々な施設で検討が行われている。一方で、非加湿型インキュベータ内で長期間継続培養することが培養液の浸透圧やOilの酸化などの胚培養環境の恒常性に及ぼす影響についての検討は少ない。よって本実験では、非加湿環境下での長期間の継続培養が培養液の浸透圧変化およびOilの酸化に及ぼす影響について検討した。

【方法】

STMを用いて30μlのdropを9個作成し3.5mlのOilで覆い、非加湿型インキュベータ内で培養(37.0℃, 6% CO₂, 5% O₂)した。OilはA社, B社のLight(A社light区, B社light区)およびHeavy oil(A社heavy区, B社heavy区)を用いた。培養3及び7日目に各区における培養液の浸透圧変化(培養後浸透圧-培養前浸透圧)を測定した。また、A

社およびB社のHeavy oilにおける、開封直後、培養3, 5及び7日目の過酸化物質価(POV)を測定した。さらに、マウス2細胞期胚をこれらのOilで覆った培養液内で3日間培養(37℃, 5%CO₂, 95% Air)し、胚盤胞への発生能を比較した。

【結果】

培養3日目における浸透圧変化は、A社light及びheavy区で13.7及び8.0 mOsmol, B社light及びheavy区で7.4及び5.7 mOsmol, 培養7日目における浸透圧変化は、A社light及びheavy区で32.9及び21.2 mOsmol, B社light及びheavy区で17.1及び13.8 mOsmolであった。培養日数が経過するに従い浸透圧の上昇が見られたが、Heavy oilはLight oilと比較してその上昇が抑えられた。A社及びB社のHeavy oilのPOVは、開封直後、培養3及び5日目では検出限界値(0.1meq/kg)以下であったが、A社のOilについては培養7日目に0.3±0.1meq/kgと上昇した。また、POVの上昇がみられたOilでは、マウス2細胞期胚の胚盤胞発生率が有意に低下した。

【結論】

非加湿型インキュベータによる長期継続培養は胚培養環境に影響を及ぼす可能性が示唆され、それに伴う胚のクオリティの低下が懸念された。長期継続培養による培養液の浸透圧上昇に関しては、使用するOilにより大きく変動することが明らかになり継続培養に用いるOilの選択は慎重に行わなければならない。現在我々は、Dish内を個別に加湿することにより、非加湿環境下で継続培養を行っても培養液の浸透圧上昇を抑え、胚培養環境の恒常性が改善できるか否かについて検討中である。また長期継続培養によるOilの酸化に対する対策について考慮が必要である。

O-9 当院20年間の成績からみた少数採卵症例の予後について

尾瀬 武志, 安藤 寿夫, 鈴木 範子, 皆元 裕子, 甲木 聡, 藤田 啓, 矢吹 淳司, 梅村 康太, 岡田 真由美, 河井 通泰

豊橋市民病院総合生殖医療センター

【緒言】

調節卵巣刺激の結果、採卵数が1個もしくは2個だった場合の予後は、患者への情報提供において重要であり、今回検討した。

【方法】

当院の20年間4,192採卵周期のうち採卵数が1個または2個だった912周期(21.8%)について分析した。成熟卵の定義は、MII期を経ていることが確認または推定される卵子とした。

【成績】

採卵数が1個だった553周期のうちその1個の卵子が成熟卵だったのは355周期(64.2%)であり、受精卵ありは291周期(52.6%)、受精卵が2PNだったのは264周期(47.7%)となった。さらに新鮮胚移植実施は201周期(36.3%)、融解胚移植(以下T-ET)は15周期(2.7%)となり、臨床妊娠(化学流産を含めない)は23周期(4.2%)、T-ET1周期含む、生産まで確認されたのは16周期(2.9%)、T-ET1周期含む)で、2胎1例を含む17生児のみであった。同様に採卵数が2個だった359周期のうち、少なくとも1個の卵子が成熟卵だったのは306周期(85.2%)であり、そのうち受精卵ありは269周期(74.9%)であった。臨床妊娠は31周期(8.6%)、3周期はT-ETで臨床妊娠、1周期は新鮮胚移植・T-ET両方臨床妊娠)、生産まで確認されているのは20周期(5.6%)、1周期はT-ET生産、1周期は新鮮胚移植・T-ET両方生産)で21生児のみであった。1個採卵の場合は2個採卵と比較して妊娠率($P<0.05$)生産率($P<0.05$)ともに低率だった。

【結論】

採卵数が目標に届かず2個以下だった場合の予後は予想通り不良だったが、そのような周期でも1個よりも2個の場合の方が少しは良い成績が期待できることが明瞭に示された。

O-10 採卵時GV期卵子由来胚盤胞の凍結融解胚移植

長瀬 祐樹¹⁾, 友成 美希¹⁾, 和田 知久¹⁾, 山本 佑司¹⁾, 米澤 潤一¹⁾, 勝又 綾子¹⁾, 後藤 愛架¹⁾, 田島 和弥¹⁾, 菊池 卓²⁾, 松浦 俊樹²⁾

1) アクトタワークリニック生殖発生医科学センター

2) アクトタワークリニック

【目的】

当院ではクロミフェンやレトロゾールを用いた低刺激排卵誘発周期で採卵を行っている。採卵時は発育が不十分な卵胞も穿刺するため、獲得卵子の5～10%でGV期卵子が得られている。我々は得られた卵子を1つでも多く治療へ生かすため、体外成熟・顕微授精(IVM-ICSI)を行い、身体への負担の少ない低刺激排卵誘発を行いつつも、採卵あたりの移植できる胚の数を増加させ、妊娠率を向上させてきた。今回は、採卵時GV期卵子の成熟から胚盤胞凍結まで、さらにはGV期卵由来の胚盤胞移植についてまとめたので報告する。

【方法】

インフォームドコンセントの得られた、2013年9月から2017年5月までに当院で採卵を行った患者を対象とした。GV期卵子が得られた366症例486周期(平均年齢36.1歳)について、当院プロトコルに従いIVM-ICSIを施行。IVM後に極体放出が確認できたものを成熟と判断し、ICSI翌日に2PNが確認できた胚を正常受精と判断した。その後は通常の胚と同

様に胚盤胞まで培養し、ガードナー分類でBC以上の胚を良好胚として、超急速ガラス化凍結法にて凍結した。凍結融解胚移植周期は自然周期で行い、当院プロトコルに従い予測排卵日から起算して3w5dに β hCGを測定し着床判定、5w5dに胎嚢確認を行い臨床妊娠を判断し、着床率、臨床妊娠率、流産率を検討した。

【結果】

対象期間中にIVMを施行したGV期卵子は739個であり、成熟率は70.1%であった。518個ICSIを施行し、正常受精率は73.1%(379/518)で、良好胚凍結率は22.5%(81/360)であった。同時期の採卵時MII卵子の成績は、正常受精率79.4%、良好胚凍結率57.1%で、正常受精率及び良好胚凍結率ともにIVM-ICSIが有意に低下することが確認できた。凍結融解胚移植は48周期(平均年齢35.9歳)行い、着床率は68.7%(33/48)、臨床妊娠率は50%(24/48)、流産率は8.3%(2/24)であった。同時期のMII卵子由来胚盤胞移植結果は、着床率62.7%、臨床妊娠率59.8%、流産率17.2%で、妊娠率及び流産率に有意な差は認められなかった。またGV期卵由来胚盤胞移植後の妊娠経過については、出産報告確認済が12例、妊娠継続中が8例、報告確認未が2例あった。平均出生時体重3,124g、平均在胎日数271.4日で、1例のみ30w3dで帝王切開にて出産の報告があったが、その他の低体重児や早産の報告はされていない。

【考察】

採卵時GV期卵子では良好胚盤胞凍結率は低いが、良好胚凍結した胚を融解胚移植した場合の妊娠率の低下や流産率の上昇は確認できなかった。また、妊娠継続した場合の出産への影響も今のところ報告されていないため、IVM-ICSIは妊娠成立に有効な手段であることが示唆された。

O-11 酸化ストレスがマウス体外成熟培養の成熟率とミトコンドリアクラスターに及ぼす影響

山田 健市^{1,2)}, 吉田 仁秋¹⁾, 原 健士朗²⁾, 種村 健太郎²⁾

1) 仙台 ART クリニック

2) 東北大学大学院 農学研究科応用生命科学専攻 動物生殖科学分野

【目的】

体外成熟培養液に酸化ストレスを与えることが体外成熟培養時における培養環境、すなわち共培養か単培養かでMII成熟率に影響していることが示唆されている。そこで本研究では、個体レベルでの酸化ストレスがマウス卵子体外成熟培養において、培養環境により、MII成熟率、細胞質成熟のひとつの指標であるミトコンドリアについてどのように影響しているかを明らかにすることを目的とした。

【方法】

2週齢ICR雌マウスにアセフェート投与し、3週齢にてPMSG 7.5IU投与、48時間後に頸椎脱臼にて安楽死させ卵巣を採取、未成熟卵子(GV期)を回収した。37℃、5% CO₂、95%Airの条件下で、12時間体外成熟培養を行った。その後、核相の判定を実施し、MitoTracker® Red CMXRosを用いて染色を行いミトコンドリアの分布を観察した。培養方法は、共培養はCD法: Culture Drop、単培養はHD法: Hanging Dropにて培養を行った。また、アセフェートの投与濃度は、コントロー

ル区、低濃度区(7mg/kg)、高濃度区(70mg/kg)とした。

【結果】

アセフェート投与によるCD法、HD法それぞれのMII成熟率は、コントロール区96.2%、92.4%、低濃度区85.0%、89.6%、高濃度区30.0%、58.6%となった。高濃度区は他の区と比較しMII成熟率がCD法、HD法、共に有意に低くなった。また、CD法とHD法を比較した場合、高濃度区において、CD法のMII成熟率は有意に低下した。MII期に達した卵子のミトコンドリアクラスター形成率は、CD法、HD法それぞれ、コントロール区7.8%、10.1%、低濃度区5.9%、4.7%、高濃度区0%、11.8%となり、ミトコンドリアクラスター形成率に有意な差はみられなかった。

【考察】

生体内に強い酸化ストレスを与えることは、マウス卵子の体外成熟培養においてMII成熟を阻害することが明らかとなった。また、培養環境が、MII成熟率に関与していることが考えられた。CD法で有意にMII成熟率が低下したことから、強い酸化ストレスを受けた生体内から作られた未成熟卵子に体外成熟培養を実施する場合、バラクラインによりMII成熟が妨げられている可能性が示唆された。本研究の結果から、個体レベルでの酸化ストレスを受けた場合、HD法を用いることでマウス卵子の体外成熟培養の核成熟が改善される可能性があると考えられる。

【結論】

アセフェートを高濃度(70mg/kg)マウスに投与することで、MII成熟率は低下した。高濃度区において、CD法(共培養)はHD法(単培養)と比較し、MII成熟率が低下した。ミトコンドリアクラスター形成率は、CD法とHD法に有意な差はみられなかった。

O-12 主席卵胞はTop qualityか？

牧野 いすみ, 上代 傑, 貴志 真衣, 町田 遼介, 山根 里歩, 佐藤 善啓, 菊池 芙美, 江崎 敬

池袋えざきレディースクリニック

【目的】

調節卵巣刺激法では複数の卵胞を発育させ採卵個数を増やすことで、採卵あたりの成績の向上が図られている。主席卵胞が18mm前後に達した時点で採卵を行うことが一般的だが、卵胞径が18mm前後であっても良好な卵子が回収できるとは限らない。一方で比較的小さな卵胞からであっても良好な卵子が得られることもある。調節卵巣刺激により複数の卵胞が発育する場合、卵胞径にばらつきがみられることが多々あるが、主席卵胞由来の卵子が次席以下の卵胞由来の卵子と比較して最良の卵子と言えるかどうか未だ明確にはなっていない。そこで我々は、調節卵巣刺激を行い複数の大小不同の卵胞発育が認められた症例に対し、主席卵胞由来の卵子が次席以下由来の卵子と比較して良好な卵子であるのかを検討した。

【方法】

2016年10月～2017年6月までに体外受精を行い、12mm以上の卵胞が3個以上確認できた症例のうち、主席卵胞径が16mm～20mmで採卵決定を行った261周期を対象とした。調節卵巣刺激により発育した卵胞は

採卵決定時の卵胞径の大きさに順じて主席、次席、三席とした。それぞれの卵胞から得られた卵子を個別に培養し、媒精またはICSIを施行した。各群における平均卵胞径と穿刺卵胞数あたりの回収率、未熟卵率および変性卵率について3群間で比較した。また、正常受精数、分割胚数、胚盤胞数、良好胚盤胞数についても同様に3群間で比較した。

【結果】

対象患者の平均年齢は36.2±4.4歳、平均採卵回数1.9±1.4回、穿刺卵胞数は主席、次席、三席それぞれ261個ずつ、決定時の平均卵胞径は主席18.3±1.5mm、次席16.9±1.9mm、三席15.8±2.1mmであった。穿刺卵胞数あたりの主席、次席、三席それぞれの卵回収率は72.8%、77.0%、77.4%、未熟卵率は3.8%、2.7%、4.2%、変性卵率は9.2%、6.5%、5.7%と3群間で有意な差を認めなかった。また、穿刺卵胞数あたりの主席、次席、三席それぞれの受精数は110個、124個、139個と、三席では主席と比較して受精数が有意に多かったものの、その後の胚発生を見ると、分割胚数は122個、134個、141個、胚盤胞数は94個、101個、99個、良好胚盤胞数は61個、65個、62個であり、穿刺卵胞数あたりの胚発生は3群間で有意な差を認めなかった。

【結論】

12mm～20mmの卵胞であれば、主席、次席、三席のどの卵胞由来であっても、採卵および、その後の胚発生に差は認められなかった。調節卵巣刺激法で複数卵の採卵をする場合に、主席卵胞から得られた卵子が他の卵胞由来の卵子と比較してTop qualityとは限らないことが明らかとなった。

O-13 患者アンケート結果から見る胚培養士説明のありかた

岸田 理英, 菊地 裕幸, 山田 健市, 若生 麻美, 菅野 弘基, 岸田 拓磨, 佐藤 那美, 馬場 由佳, 結城 笑香, 吉田 仁秋
仙台 ART クリニック

【目的】

当院ではARTスタート前のIVF説明会や採卵後に、胚培養士が卵子や受精方法などについて説明を実施しており、2016年11月からは移植や凍結胚の決定をする採卵3日後に、患者本人の胚発育状況の説明を始めた。今回、採卵3日後の説明開始と同時に、患者の治療内容の理解度がどの程度あるのかをアンケート調査し、今後の胚培養士説明をどのように実施していくかを検討、考察した。

【方法】

2016年11月から12月の期間、当院にて初めて採卵を経験した患者（以下、未経験者）51名、以前に採卵を経験したことのある患者（以下、経験者）49名に対し、採卵3日後に移植や凍結胚の決定目的で来院した際、アンケート調査を実施した（回収率 100%）。調査内容は、IVF説明会（以下、セミナー）、採卵後説明（以下、OPU後）、採卵3日後来院説明（以下、D3来院）の各タイミングで、患者がどの程度理解があるのかを4段階で評価してもらった。さらに、胚培養士からの説明が自身の治療に役立ったかを調査した。なお移植や凍結胚の決定は、胚培養士説明の後、医師との相談で決定している。

O-14 均衡型染色体異常症例の着床前診断での胚盤胞評価や患者背景と胚の染色体異常との関連

中野 達也¹⁾, 庵前 美智子¹⁾, 佐藤 学¹⁾, 中岡 義晴¹⁾, 森本 義晴²⁾

1) IVFなんばクリニック

2) HORACグランフロント大阪クリニック

【目的】

当院では十分なインフォームドコンセントを行った上で日本産科婦人科学会の承認を受け、均衡型染色体構造異常の患者を対象に着床前診断を実施している。これまでに実施した18症例36周期のほとんどを胚盤胞からの栄養膜細胞生検で行っている。そこで本検討では、胚盤胞生検より得られた診断結果と胚盤胞の評価などに関連があるかを後方視的に比較した。

【方法】

日本産科婦人科学会の承認の得られた均衡型染色体構造異常保因者18症例を対象とした。2012年2月～2017年6月までに胚盤胞にて着床前診断を実施した36周期129個の胚盤胞を対象とした。その後、診断した胚盤胞の染色体正常率を胚盤胞の発育段階、ICM及びTEのグレード、胚齢別に検討した。また、診断した胚盤胞の染色体正常率及び転座が起因した異数性異常率（異常①）、その他の異数性異常率（異常②）を保因者

【結果】

未経験者・経験者ともに、全ての説明項目で最初のセミナー時の理解度は50%以下だったが、OPU後、D3来院と繰り返し説明を実施することで約80%以上に上昇した。しかし、経験者のD3来院の理解度はOPU後と比較し、若干低下した。胚培養士説明が自身の治療に役立ったかの設問では、未経験者・経験者ともに約90%で「役に立った」と回答した。また経験者に対し、D3来院説明を実施していなかった以前と比較して理解度の向上があったかを質問したところ、約80%で「以前よりも理解した」との回答が得られたが、『分割期移植をするか、胚盤胞移植をするか判断する材料がもう少し欲しい』『自分の胚への具体的なアドバイスが欲しかった』などの要望もあった。

【考察】

繰り返し説明を実施することで理解度が上昇し、胚培養士説明が患者の治療において有益であることが明確となった。経験者ではD3来院の理解度がOPU後と比較して若干の低下が見られたが、未回答者も増加したことから、胚培養士が経験者へ説明の一部を省略する場合があることが原因として考えられた。また、D3来院で患者自身の胚について説明することで、以前よりも理解度は上昇したが、質問内容が未経験者と比較してより専門的で、具体的な回答を求める傾向があった。このことから、マニュアル通りの説明では患者の理解や納得は得られないことを十分に認識する必要があると感じた。さらに、一人の患者に長時間を費やすことは難しく、いかに分かり易く端的に説明を行えるかを考えたとき、分かり易い資料の作成などが必要と考える。今回のアンケート結果から、培養3日目の胚の細胞数別胚盤胞到達率のデータを説明に用いることで患者から高評価を得ている。

の性別及び採卵時の母体年齢別に検討した。

【結果】

発育段階別の染色体正常率に差はなかった（BL3：22.2%（6/27）、BL4：23.4%（23/98）、BL6：50.0%（2/4））。また、ICMグレード別でも差はなかった（A：30.0%（3/10）、B：22.4%（26/116）、C：66.7%（2/3））。さらに、TEグレード別でも差はなかった（A：20.0%（2/10）、B：25.6%（20/78）、C：22.0%（9/41））。胚齢別では5日目胚盤胞で29.1%（24/86）、6日目胚盤胞で16.3%（7/43）と差はなかった。保因者性別では差がなかった（妻：正常が24.5%、異常①が67.0%、異常②が35.4%、夫：正常が28.6%、異常①が61.9%、異常②が52.4%）。採卵時の母体年齢別で差はなかった（34歳まで：正常が23.2%、異常①が69.6%、異常②が33.9%、35～39歳：正常が27.9%、異常①が60.7%、異常②が39.3%、40歳以上：正常が16.7%、異常①が83.3%、異常②が58.3%）。

【考察】

胚盤胞の発育状態やグレードと染色体の正常性に関連はみられなかった。しかし、胚齢においては差がなかったものの6日目胚で染色体正常率が低く、胚発育の遅延と染色体異常には関連があることが示唆された。また、保因者の性別の違いによる転座及びその他の染色体異常率に差はなく、性別よりは転座部位の違いの方が影響し易いと考えられた。母体年齢において差はなかったものの加齢に伴って転座に起因した染色体異常率が増加していた。このことから、加齢により転座染色体の交互分離以外の分離様式が増加することが示唆された。さらに、その他の異数性異常率も母体加齢により増加していることから、近年海外で多く報告されている結果と一致の傾向を示した。

O-15 Assisted hatching 法の違いが胚盤胞の接着能に及ぼす影響の検討

江副 賢二, 上野 智, 数内 晶子, 沖村 匡史, 内山 一男, 小林 保, 加藤 恵一
加藤レディスクリニック

【目的】

Assisted hatching(AH)はレーザー照射により透明帯を部分的に除去する手法が一般的であるが、透明帯の部分除去がAHとして適切であるか否かは明白ではない。本実験では、胚盤胞の接着能を体外培養系で評価することを目的として、透明帯を部分除去または完全除去した胚盤胞のOutgrowth現象について比較した。また、胚盤胞の接着時にヘテロダイマーを形成しFibronectinと結合することが報告されているIntegrin $\alpha 5$ 及び $\beta 1$ のmRNA発現を解析した。

【方法】

研究への使用に同意が得られた患者の廃棄凍結胚盤胞(n=217)を実験に供した。胚盤胞は融解後、レーザー照射により透明帯の30-40%を部分的に除去し、一部は次いでピペッティング処理により透明帯を完全に除去した(P群, n=79, C群, n=79)。また融解後に処置を行わない胚盤胞を対照群とした(Intact群, n=59)。胚盤胞はFibronectin処理を施

したディッシュで96時間培養し、タイムラプスシステムにより胚盤胞の孵化率、着床率およびOutgrowth面積を評価した。さらに、培養開始0, 12, 18, 24時間後の胚盤胞よりRNAを抽出し、qRT-PCRによりIntegrin $\alpha 5$ 及び $\beta 1$ のmRNAの発現を解析した。

【結果】

P群の孵化率は64%であり、Intact群(10%)と比較し有意に高率であった。P、CおよびIntact群における胚盤胞のディッシュへの着床率は、それぞれ60%、80%および10%であり、C群が有意に高かった。またC群の着床に要する時間はP群およびIntact群に比べて有意に短かった。Outgrowth面積は、P群で $2.1 \times 10^5 \mu\text{m}^2$ 、C群で $3.5 \times 10^5 \mu\text{m}^2$ 、Intact群で $1.1 \times 10^5 \mu\text{m}^2$ であり、C群で有意に増加した。さらに、C群において、培養開始12時間後にIntegrin $\alpha 5$ のmRNA発現量の増加が認められ、24時間後まで漸増がみられた。一方、P群およびIntact群においてもIntegrin $\alpha 5$ のmRNA発現量の増加がみられたが、その発現量はC群と比較し有意に低かった。またC群では培養開始24時間後までIntegrin $\beta 1$ のmRNA発現量の継続的な増加が認められたが、P群およびIntact群においては変化がみられなかった。

【考察】

透明帯の部分除去後においても孵化しない胚盤胞がみられ、透明帯の部分除去はAHの手法として不十分である可能性が示唆された。一方で、透明帯の完全除去は胚盤胞におけるIntegrin $\alpha 5$ 及び $\beta 1$ の発現を亢進し、Fibronectin処理をしたディッシュへの着床を促進することが明らかとなった。これより、胚盤胞へのAHの手法として透明帯の完全除去が有用である可能性が示唆された。

O-16 当院における医学的介入による造精機能低下患者の現状

原 利夫, 中山 順樹, 石川 聖華, 向江 真璃
はらメディカルクリニック

【目的】

悪性腫瘍に対する治療の進歩に伴いその治療成績が向上してきたものの化学療法、放射線療法などにより造精機能の低下あるいは廃絶が起こりうることも明らかである。このような悪性腫瘍治療による造精機能の低下から将来の挙児希望を確保する方法として各種治療開始前の精子凍結保存が有効である。現在、当院では首都圏の数か所の施設から治療前の精子凍結保存を受け入れており、当院での取り組みと現状を報告する。

【方法】

2012年から2016年末までの5年間の紹介施設数、紹介患者数、平均年齢、当院初診から凍結開始までの平均期間、疾患別分類、保存期間、廃棄数、凍結保存精子を用いた治療成績などを検討した。また、精子凍結保存に関わる諸問題に関しても考察を加えて報告する。

【結果】

2012年から2016年末までの悪性腫瘍紹介患者数は441症例(治療開始前345症例、治療開始後96症例)、平均年齢 38.3 ± 8.2 歳(未成年 17.1 ± 2.5 歳)当院初診から初回精子凍結保存までの期間・2時間～4日程度、紹介患者の疾患分類は上皮性悪性疾患22%、非上皮性78%、平均凍結保存本数5.9本/人、廃棄数16症例(本人死亡9・廃棄希望7)凍結精子使用により顕微授精2症例(妊娠に至らず)。

【考察】

2012年から2016年末までの紹介患者は441症例であった。紹介方法は原疾患の担当医師がネットで当院を検索したり、すでに紹介実績のある担当医からの個人的紹介である場合がほとんどである。悪性腫瘍では、第一に疾患の治療が最優先されるため治療に伴う造精機能の低下という副次的問題がしばしば看過される。そのため、凍結保存の機会を逸してしまったり、治療開始後ですでに造精機能が廃絶してからの紹介も経験する。また、血液悪性腫瘍の場合、診断から治療開始までの期間が短く十分な凍結本数が確保できない、既婚者の場合には、妊娠時期の選択など疾患治療(寛解期)の予後なども十分な検討を加える必要がある。原疾患の担当医・カウンセラーなどと密な連携が必要であり、このような長い時間を要する治療には公的な機関の必要性を痛感する。

O-17 精子の運動機能解析結果に基づいたARTにおける受精率予測式の樹立

横田 梨恵¹⁾, 江夏 徳寿²⁾, 古橋 孝祐¹⁾, 岸 加奈子¹⁾,
松田 彩花¹⁾, 辻 優大¹⁾, 松本 由紀子¹⁾, 苔口 昭次¹⁾,
塩谷 雅英¹⁾

1) 英ウィメンズクリニック
2) 神戸市立医療センター西市民病院

【背景】

不妊治療における精液検査において、精子濃度・運動率などが評価の対象とされるが、精子の運動の質についてはあまり評価されていないのが現状である。今回我々は、精子の運動の質的評価ができるSMAS(Sperm Motility Analysis System)を用い解析した精液所見と、ARTにおける受精率との関係を解析することで、受精に関与する因子を同定し、それらの因子を用いてARTの受精率を予測する予測式の樹立を目指した。

【方法】

当院にて2016年6月～10月にIVFを行った症例の内、SMASにて精液検査を行った898周期を検討対象とし、得られた精液所見と夫婦の年齢、血中AMH値、採卵数、ART回数を加えて解析を行った。はじめに単変量解析にて各因子と受精率との相関を解析した。第1段階として決定係数 $R^2 > 0.3$ をもって有意な因子とし、一部の因子については対数変換後の結果を用いた。第2段階として、決定係数では有意な相関を認めないと考えられた因子について閾値を設定し閾値前後での受精率をカイン

乗検定で解析した。続いて、単変量解析にて有意と考えられた因子を用いて重回帰分析を行った。因子の選択には変数増加法を用い、得られた因子をもとに回帰係数を求め受精率予測式を作成した。同様の検討をICSI症例についても行い、受精率予測式の作成を試みた。得られた予測式の正確性を検討するため、2016年11月～2017年3月にIVFを行った1,013周期のデータを用いて前向き検討を行った。

【結果】

単変量解析において、直線速度、運動率、精子濃度、高速運動精子濃度、夫年齢、頭部振動数および対数変換後の曲線速度、総運動精子数、SMV、採卵数において受精率と有意な相関を認めた。これらの因子を用いた重回帰分析では、採卵数、SMV、曲線速度、頭部振動数が受精率を予測する独立した因子と考えられ、これに回帰係数をかけ合わせ予測式 $=44.65 - 15.56 \times \log(\text{eggs}) + 16.23 \times \log \text{SMV} + 4.34 \times \text{VCL} + 5.0 \times \text{FLH}$ という式を得た。前向き検討では、予測式で得られた予測値と実際の受精率が高い相関を確認できた($P < 0.001$; ピアソンの相関係数検定)。ICSI症例では、重回帰分析にて受精率と有意な相関を確認できる因子は存在せず、予測式は成立しなかった。

【考察】

IVFにおいて、受精率は精子の数だけでなく運動の質も関与する事が確認された。精液所見と採卵数より求めた受精率予測式はIVFの受精率を予測する指標として有用であると考えられた。一方でICSIの受精率は精液所見に依らないと考えられた。このことは、IVFで受精の可能性が低いと考えられた症例でもICSIなら受精できるという事を示唆しており、予測式の運用に意義を持つと考えられた。

O-18 ヒト体外受精における新たな精子調整液の検討

久原 早織, 泊 博幸, 國武 克子, 内村 慶子, 竹原 侑希,
下瀬 瞳, 荒牧 夏美, 吉永 菜都美, 橘高 真央, 日高 直美,
西村 佳与子, 本庄 孝, 詠田 由美
アイブイエフ詠田クリニック

【目的】

近年、ヒト体外受精における精子調整は、運動良好精子の回収だけでなく、精子の生理的機能に関しても注目されている。本研究は、生体内での精子の生理的環境を模したORIGIO® Gradient SystemTM (OGS)に着目し、その臨床的有用性を検討した。

【方法】

検討1：2016年2月から10月までの期間に当院にて実施したconventional-IVF 87周期を対象とした。精子調整液は、80% Percollを使用した周期(従来群)とOGSを使用した周期(OGS群)の2群に無作為に割り付けた。精子調整方法は、密度勾配遠心法により成熟精子を回収し、その後swim-up法により運動良好精子を回収し媒精に供した。媒精から18時間以内に受精確認を行い個別に培養した。両群の受精率と胚発生能を比較した。検討2：精子自動分析装置(CASA)を用いて、従来群とOGS群の精子運動機能を評価した。運動機能の評価には、CASAの評価項目に加えハイパーアクチ

ベーションの指標の一つであるフラクタル次元D値($D = \log(n) / \{\log(n) + \log(\text{VSL}/\text{VCL})\}$)を求め評価した。

【結果】

検討1：患者背景と精子調整前後の所見に有意差は無かった。IVF周期における従来群とOGS群の正常受精率は、各68.6%, 77.6%, 分割率は、各99.0%, 97.4%, Day2良好胚率は、各37.5%, 49.8%, 胚盤胞率は、各58.3%, 63.6%であり、正常受精率とDay2良好胚率がOGS群で有意に高かった($p < 0.05$)。検討2：同一症例の精液を等量にわけ検討を行ったため、両群における精液所見に差はない。また、精子調整後の総精子数、総運動精子数、精子運動率も両群間に有意差はなかった。精子調整後0, 1, 2, 3, 4, 5, 6時間での精子機能を評価した結果、直線速度、曲線速度、平均速度、頭部振幅、頭部振動数は両群間に有意差はなかった。直進性は4時間以降でOGS群において有意に低かった($p < 0.05$)。直進性は5時間以降でOGS群において有意に低かった($p < 0.05$)。フラクタル次元D値は5時間以降でOGS群において有意に高かった($p < 0.05$)。

【考察】

OGS群においてIVF周期の正常受精率とDay2良好胚率が有意に高かったことより、IVF周期の精子調整には運動良好精子の分離だけではなく精子機能を考慮した手法が有用であり、OGSの臨床的有用性が示唆された。また、当院においては、ハイパーアクチベーションの指標の一つとなるフラクタルD値が高くなる精子調整処理後4-5時間に媒精していることから、媒精時の精子のハイパーアクチベーション率が受精や胚発育の改善に繋がっているのではないかと考えられた。

O-19 EmbryoScope+™は魅力的なバージョンアップをした

菊本 晃代, 渡邊 英明, 長谷川 久隆, 塚本 佳奈,
鈴木 亮祐, 小林 充, 石橋 和見, 京谷 利彦, 河田 真智子,
齋藤 優, 小林 淳一
神奈川レディースクリニック

【目的】

近年、タイムラプスインキュベーターの有用性数多く報告されている。当院でも2015年よりEmbryoScope™(ES)を2台導入し全周期においてD0～D1の期間培養することで見逃されていた早期前核消失胚も観察でき、受精率が向上することを報告した。2017年より新たにEmbryoScope+™(ES+)を5台導入し、全周期全培養過程をタイムラプスインキュベーターにより培養可能とした。ES+はESと比較して2倍以上の15症例、各16胚(最大240胚)を培養することが可能になっている。さらには扉開閉時にも必要なディッシュのみが開口部に移動する構造になり培養スペースへの空気の流入を抑え、培養環境の変化をより軽減する設計となった。今回ESからES+への移行に際し両インキュベーターの培養成績を比較検討した。

【方法】

2017年1月～3月の間にICSI施行時にMⅡが6個以上得られた症例、またはcIVFにて5時間の短時間媒精後に2pb胚が6個以上得られた症例、

126周期、成熟卵1213個を対象とした。媒精後同一患者の胚を2群に分けES、ES+にて培養を行った。検討1)ES群、ES+群とし、D3良好胚率、D5胚盤胞到達率、D5良好胚盤胞率、D6胚盤胞到達率を比較した。検討2)ES群、ES+群をそれぞれ患者年齢が40歳以下と41歳以上に分けD3良好胚率、D5胚盤胞到達率、D5良好胚盤胞率、D6胚盤胞到達率を比較した。

【結果】

検討1)D3良好胚率、D5胚盤胞到達率、D5良好胚盤胞率、D6胚盤胞到達率はES群で69.4%、64.1%、39.8%、9.2%、ES+群で70.1%、67.6%、41.1%、6.5%でありESとES+の培養成績に有意差は認められなかった。検討2)D3良好胚率、D5胚盤胞到達率、D5良好胚盤胞率、D6胚盤胞到達率は40歳以下ES群、ES+群で各成績に有意差は認められなかった。41歳以上ES群で71.3%、56.7%、24.7%、4.0%、41歳以上ES+群で73.3%、61.6%、39.4%、4.0%でありD5良好胚盤胞のみES+群が有意に高い値となった。

【考察】

今回の検討では両タイムラプスインキュベーターの全体としての培養成績に有意な差は認められないものの少なくともES+はESと同等もしくは同等以上の培養環境を作ることができることが示された。また、ES+は培養可能な症例数、培養胚数ともにESよりも増加し、培養環境を保つためのCO2flow、N2flowも減少していた。このことからES+はESに比較しコストパフォーマンスも向上したと考えられ、有用なバージョンアップを行ったと考えられる。

O-20 第一卵割異常由来の胚盤胞では第一有糸分裂に要する時間が長くなる

宮本 麻梨恵¹⁾、中野 達也¹⁾、佐藤 学¹⁾、橋本 周¹⁾、
中岡 義晴¹⁾、森本義晴²⁾

1) IVF なんばクリニック

2) HORAC グランフロント大阪クリニック

【目的】

我々はタイムラプスを用いた動的解析により、異常卵割胚は正常卵割胚に比べて発育速度が遅延し、胚盤胞到達率および臨床妊娠率が著しく低下するが、胚盤胞形成胚の着床率は正常卵割胚と変わらないことを報告した。しかし、異常卵割由来の胚盤胞は正常卵割胚に比べ、染色体異常率が高いことが報告されている。そこで、染色体分配の異常の影響がより大きいと考えられる第一有糸分裂に着目し、胚盤胞まで発育した正常卵割胚と異常卵割胚の前核消失から第一卵割終了までの各時間を比較し、第一卵割の異常が発育速度に及ぼす影響を検討した。

【対象と方法】

2014年2月から2015年12月にcIVFまたはICSIを施行した後、Primo Visionを用いて5日間培養し、胚盤胞形成を認めた107周期を対象とした。胚盤胞形成胚445個を、第一卵割において2細胞かつ第二卵割で4細胞を

認めた正常卵割胚(cIVF:153個、ICSI:195個)と、第一卵割で3細胞以上を認めた異常卵割胚(cIVF:47個、ICSI:50個)に分け、授精方法別に授精操作後から前核消失(tPNf)/第一卵割開始(t2s)/第一卵割終了(t2e)の時間及び、tPNf-t2s/t2s-t2eの所要時間を後方視的に解析した。

【結果】

正常および異常卵割胚を比較すると、cIVFでは胚盤胞到達率(77.7% vs. 35.9%)、良好胚盤胞率(35.5% vs. 6.1%)となり、ICSIでは胚盤胞到達率(62.3% vs. 21.1%)、良好胚盤胞率(25.9% vs. 2.5%)となり、ともに異常卵割胚で低率であった。また、各所要時間を比較すると、cIVFではtPNf(正常卵割胚:23.8h vs. 異常卵割胚:24.5h)、t2s(25.4h vs. 26.4h)、tPNf-t2s(1.7h vs. 1.9h)、t2e(28.5h vs. 31.8h)、t2s-t2e(3.1h vs. 5.4h)で差が認められた。一方、ICSIではtPNf(22.6h vs. 22.9h)、t2s(24.3h vs. 24.6h)、tPNf-t2s(1.7h vs. 1.7h)で差がなく、t2e(27.6h vs. 30.5h)とt2s-t2e(3.3h vs. 5.9h)でのみ差が認められた。

【考察】

採精方法の違いに関わらず、異常卵割胚では第一卵割所要時間(t2s-t2e)が最も延長した。胚盤胞形成を認めた異常卵割胚であっても、第一有糸分裂で何らかの障害を及ぼしていることが示唆された。このことから、異常卵割胚由来の染色体異常率の増加は、第一卵割時の染色体分配や紡錘体のチェックポイントの異常が一要因ではないかと考えられた。よって、異常卵割由来の胚盤胞を移植するしかない場合は、十分な説明の上で行う必要がある。

0-21 Rescue-ICSIにおける紡錘体観察は有用か？

古川 悦子, 小林 充, 渡邊 英明, 長谷川 久隆, 塚本 佳奈, 鈴木 亮祐, 石橋 和見, 菊本 晃代, 京谷 利彦, 齋藤 優, 小林 淳一

神奈川レディースクリニック

【目的】

Rescue-ICSI(r-ICSI)は、c-IVFにおける完全受精障害を回避する方法として有用であることが知られている。しかし、人為的な多前核胚作出のリスクを伴うためc-IVF後の受精の兆候の確認には、第2極体のみならず、fertilization cornやcytoplasmic flareをあわせて観察する方法が報告されている。当院では、第2極体の有無のみをr-ICSI施行の指標としているが、r-ICSI施行時には同時に紡錘体の観察を行っている。本検討ではr-ICSIの成績を後方視的に解析し、紡錘体の有無がr-ICSI施行の指標となり得るか否かを検討した。

【方法】

2016年1月から2017年5月までに当院にてr-ICSIを施行した105症例を対象とした。媒精後5時間で第2極体の確認を行い、その後1時間経過ごとに最大8時間まで確認した後、第2極体が観察されない卵子が50%以下の症例に対してr-ICSIを施行した。その際、オリンパスIX-ROBOPolarを用いて紡錘体を観察し、紡錘体が観察できた卵子(可視卵子)と紡錘体が観察できなかった卵子(不可視卵子)における正常受精率、多前核率、D5胚盤胞発生率の比較を行った。

0-22 rescue ICSIの臨床的有用性

長谷川 久隆, 渡邊 英明, 鈴木 亮祐, 塚本 佳奈, 石橋 和見, 菊本 晃代, 京谷 利彦, 小林 充, 河田 真智子, 齋藤 優, 小林 淳一

神奈川レディースクリニック

【目的】

当院では、全c-IVF施行症例に対し、媒精後5時間で2PB放出の確認を行っている。その後1時間毎に再確認を行い、最終的に8時間後まで確認を行い2PB放出率が50%以下の症例に対してrescue ICSI(r-ICSI)を施行し、低受精および完全受精障害の防止に取り組んでいる。

本検討では、r-ICSI適応となった症例の胚利用率の変化と、凍結融解胚移植における妊娠率を算出しr-ICSIの臨床的有用性を検討し報告する。

【方法】

2015年1月から2016年12月までのc-IVF施行症例のうち、r-ICSI適応となった161周期について、r-ICSIによる受精率、多前核率、分割率、Day3良好胚率、Day5胚盤胞率、Day5良好胚盤胞率、Day6胚盤胞率、総胚盤胞率から、胚利用率を算出した。さらに、r-ICSI由来凍結融解

【結果】

r-ICSI時における紡錘体観察の結果、可視卵子は86.6%(246/284)、不可視卵子は13.4%(38/284)であった。正常受精率は、可視卵子77.2%(190/246)、不可視卵子44.7%(17/38)であり、可視卵子において有意に高い結果となった。一方、多前核率は、可視卵子12.2%(30/246)、不可視卵子28.9%(11/38)であり不可視卵子において有意に高い結果となった。D5胚盤胞発生率は可視卵子46.9%(83/177)、不可視卵子12.5%(2/16)であり可視卵子において有意に高い結果となった。

【考察】

今回の結果から、紡錘体不可視卵子へのr-ICSIの施行は可視卵子に比べ多前核胚作出のリスクが高く、D5胚盤胞発生率も低い、正常受精率も44.7%であり、施行の可否を正確に判断するのは難しいと考えられた。一方、紡錘体可視卵子へのr-ICSIの施行は正常受精卵を得られる可能性が高く、D5胚盤胞発生率も良好であるが、多前核胚の人為的作出を完全に回避することはできなかった。以上のことから、第2極体が観察されない卵子において紡錘体の有無はr-ICSI施行の完全な指標にはなり得ないことが示唆され、今後はより正確で安全なr-ICSI施行のためにさらなる検討が必要であろうと考えられた。

胚盤胞移植とconventional ICSI(c-ICSI)由来凍結融解胚盤胞移植の妊娠率を比較検討した。

【結果】

c-IVFを施行した161周期、総M2卵子916個のうち537個に対し媒精から7～8時間後に1PBと判定しr-ICSIを施行した。r-ICSI施行後の成績は、受精率70.8%(380/537)、多前核率15.6%(84/537)、分割率98.2%(373/380)、Day3良好胚率46.1%(172/373)、Day5胚盤胞率38.7%(128/331)、Day5良好胚盤胞率19.9%(66/331)、Day6胚盤胞率16.9%(56/331)、総胚盤胞率55.6%(184/331)であった。r-ICSI由来凍結融解胚盤胞移植の妊娠率は53.5%(23/43)、c-ICSI由来凍結融解胚盤胞移植の妊娠率は38.1%(494/1298)で、有意差は認められなかった。

【考察】

多前核形成の原因が多精子受精によるものと断定はできないが、r-ICSI施行後の多前核率は高率であった。また、媒精当日2PBの放出により受精すると予測した卵子の24.0%(91/379)が、翌日の観察で未受精であった。これらのことから、2PBを基準とする受精予測は精度をさらに上げる必要があると考えられる。しかし、現在の精度でのr-ICSIによっても、施行しなかった場合(未受精が予測される卵子を放置した場合)に対し、受精卵獲得数は2.5倍、総胚盤胞獲得数は2.4倍、Day5良好胚盤胞獲得数は1.9倍に上昇し、胚利用率の向上に寄与することは明白である。また、凍結融解胚移植により、c-ICSI由来胚盤胞と比較し同等の妊娠率を得られた。以上のことから、r-ICSIは臨床に非常に有用であることが示唆された。

O-23 卵胞液に暴露した精子を用いた ICSI

町田 遼介, 貴志 真衣, 上代 傑, 山根 里歩, 佐藤 善啓,
菊池 芙美, 江崎 敬
池袋えざきレディースクリニック

【目的】

体内の受精過程において、精子は卵胞液や卵丘細胞と接触し、これらに含まれる HCO_3^- やAlbuminの様な成分によって受精能を獲得し、受精へと至る。一方ICSIでは、精子は卵胞液や卵丘細胞とは接触せずに受精へと至る。この点が体内とICSIの受精過程における大きな相違点である。そこで、卵胞液に精子を暴露し、ICSIの受精過程を体内の受精過程に近づけ、体内の受精機序を再現し、精子の更なる受精能獲得を促すことで、ICSIの成績が向上するか検討した。なお、可視化の容易なHyper Activationを受精能獲得の指標とした。

【方法】

密度勾配遠心法とswim up法により回収した精子を卵胞液に30分間暴露した。卵胞液に暴露した精子を暴露群、暴露しなかった精子を非暴露群(対照群)とした。Hyper Activationの発現を確認するために、39

症例を対象に卵胞液暴露前後の精子の曲線速度をSMASで測定した。次に、成熟卵が2個以上得られた47周期の281個の卵子を対象に、同一周期を暴露群と非暴露群に分けてICSIを行い、受精率、胚発生率の比較を行った。

【結果】

精子の曲線速度は卵胞液暴露処理前 $112.2 \pm 28.4 \mu\text{m/s}$ に対して、処理後の暴露群、非暴露群はそれぞれ $144.4 \pm 21.4 \mu\text{m/s}$, $134.5 \pm 22.6 \mu\text{m/s}$ であり、処理の前後で有意な増加が認められた。さらに、暴露群、非暴露群間でも暴露群が有意に増加しており、暴露群でHyper Activationがより増強される結果となった。暴露群、非暴露群の正常受精率は68.9%, 77.4%, 分割率は70.4%, 80.1%, 胚盤胞形成率は46.7%, 58.2%, 良好胚盤胞形成率は33.3%, 34.2%であり、全てにおいて両群間に有意な差は認められず、ICSIの成績は向上しなかった。

【考察】

精子を卵胞液に暴露することでHyper Activationの増強が確認されたが、卵胞液に暴露した精子を用いたICSIでは受精、胚発生成績向上は認められなかった。原因として、培養液自体にも HCO_3^- やGlucose, Albuminなどが含まれており、培養液のみである非暴露群でも十分なHyper Activationが惹起されたことや、そもそもHyper Activation自体がICSIにおける受精に必須の現象でないことなどが考えられる。このため、精子を卵胞液に暴露してもHyper Activationを増強するのみで、受精や胚発生の成績向上には寄与しなかったと考えられる。

O-24 Piezo-ICSIにおける紡錘体の可視／不可視が受精及び胚発育へおよぼす影響

平岡 謙一郎^{1,2,3,4)}, 伊林 恵美¹⁾, 齋藤 雅人¹⁾, 資延 優梨¹⁾,
大塚 喜人²⁾, 川原 麻美¹⁾, 石川 智則^{3,4)}, 川井 清考^{1,2,3,4)},
原田 竜也¹⁾

1) 亀田IVFクリニック 幕張 生殖医療科

2) 亀田メディカルセンター 生殖医療科

3) 東京医科歯科大学 産婦人科

4) 国立研究開発法人 日本医療研究開発機構

【目的】

ICSI時に偏光観察による卵子の紡錘体の状況(可視／不可視)が卵子の受精、胚発育へ影響をおよぼすことが多く報告されている。しかし、これらの報告はconventional-ICSIに限られており、Piezo-ICSIにおいて偏光観察による紡錘体の可視／不可視が受精及び胚発育へおよぼす影響を調べた報告はない。そこで我々は、Piezo-ICSIにおいて偏光観察による紡錘体の可視／不可視が受精及び胚発育へおよぼす影響を調べた。

【方法】

2016年5月から2017年6月までの間、当クリニックにおいてPiezo-ICSIを行った74症例89周期から採取した卵子のうち、採卵から3時間後の卵丘細胞除去時に第一極体を放出していた336個の卵子を対象とした。倒立顕微鏡はIX-73(オリンパス)、紡錘体観察にはIX-3-ICSI(オリンパス)

を使用した。精子の選別は倍率1,200倍下にて行い、不動化処理を行った後、Piezo-ICSIにより卵細胞質内へ精子を注入した。採卵から4時間後に行った偏光観察による紡錘体観察の状況から下記の3群に分けた。

- ・紡錘体(+)群: ICSI時、紡錘体が可視化出来た卵子
- ・紡錘体(-)→(+)群: ICSI時、紡錘体が不可視で30-90分の追加培養後に紡錘体が可視化出来た卵子
- ・紡錘体(-)群: ICSI時、紡錘体が不可視で120分の追加培養後も紡錘体が不可視であった卵子

上記3群のPiezo-ICSI後の正常受精率と3日目良好胚率を比較した。尚、正常受精は顕微授精18時間後に2前核を認めたもの、3日目良好胚は採卵3日目に7細胞以上で等分割、フラグメンテーションの割合が15%以下の胚と定義した。

【結果】

第一極体を放出していた366個の卵子のうち、紡錘体(+)／(-)→(+)／(-)であった卵子の内訳はそれぞれ93.8%(315/336), 2.4%(8/336), 3.9%(13/336)であった。紡錘体(+)／(-)→(+)／(-)群のPiezo-ICSI後の正常受精率はそれぞれ91.4%(288/315), 75.0%(6/8), 23.1%(3/13)であった。紡錘体(+)／(-)→(+)／(-)群の3日目良好胚率はそれぞれ64.2%(185/288), 66.7%(4/6), 0%(0/3)であった。

【考察】

今回の検討結果より、Piezo-ICSIにおいて偏光観察による紡錘体の可視／不可視は受精及び胚発育へ影響をおよぼし、紡錘体が不可視の状態では受精率は低く、胚発育は不良であった。また、紡錘体が不可視であっても、紡錘体が可視化出来る状態で待つことでICSIを行うことで卵子の受精及び胚発育を改善出来ることが示唆された。今後、症例を追加して偏光観察がPiezo-ICSIの成績を改善するのか詳細に検討する必要がある。

P-1 2種類のSingle mediumを用いた胚培養成績の比較検討

阿部 礼奈, 角本 知世, 古橋 孝祐, 辻 優大, 岩崎 利郎, 伊藤 宏一, 水澤 友利, 松本 由紀子, 苔口 昭次, 塩谷 雅英
英ウィメンズクリニック

【目的】

ムコ多糖類であるヒアルロン酸を培養液に添加することで胚着床率の向上が報告されているが、胚発生そのものに促進効果があるかについてはいまだ十分な知見が無い。そこで今回、ヒアルロン酸含有を特徴とするOrigio社のSAGE 1-Stepと、ヒアルロン酸を含有しない従来の培養液の培養成績を比較検討したので報告する。

【方法】

2016年11月から2017年2月に当院で採卵を行い、受精判定時に2PNが4個以上得られた195症例(2PN=1, 317個)を対象とした。得られた2PN

を受精判定以降Origio社のSAGE 1-StepとLife Global社のglobal (1%HSA)の2種類の培養液にランダムに分けて培養し、分割率、分割期良好胚率、胚盤胞発生率、良好胚盤胞率を検討した。

【結果】

SAGE 1-Step群(2PN=655個)とglobal群(2PN=662個)の分割率(98.6% vs 97.7%)、分割期良好胚率(52.6% vs 53.0%)、および胚盤胞発生率(53.9% vs 50.1%)では両群間に差は見られなかったが、継続培養胚当たりの良好胚盤胞率(26.7% vs 19.9%)と、胚盤胞当たりの良好胚盤胞率(49.5% vs 39.8%)はSAGE 1-Step群で有意に高くなった($P<0.05$)。

【考察】

ヒアルロン酸は、卵胞液、卵管分泌液そして子宮腔液にも存在することが報告されていることから、培養液に添加することでより自然に近い環境で胚を培養できる可能性がある。本検討において、ヒアルロン酸を含有するSAGE 1-Stepは、胚盤胞発生率には差がないものの、良好胚盤胞率を向上させることが示唆された。ヒアルロン酸は粘性を有し、細胞に対して物理的保護作用を持っていることがその理由の一つと推測される。今後、培養液に添加されたヒアルロン酸の効果メカニズムについての詳細な解析が必要と考える。

P-2 新たな精子調整液を用いた授精方法別の胚発育の検討

山下 奈緒美¹⁾, 永田 弓美子¹⁾, 矢田 咲子¹⁾, 佐藤 学¹⁾, 橋本 周¹⁾, 中岡 義晴¹⁾, 森本 義晴²⁾

1) IVFなんばクリニック

2) HORACグランフロント大阪クリニック

【目的】

現在、当院では体外受精の精子調整に密度勾配遠心法を行っており、試薬にIsolate(Irvine)を用いている。生体内での精子の生理環境を模したGradient SystemTM(Origio)を用いて、conventional-IVF(以下c-IVF)、又はICSIを施行し、それぞれの培養成績の比較検討を行った。

【方法】

2015年10月から2016年2月に当院で体外受精を行った123症例1,553個の卵子を対象とした。Isolate又はGradientを用いて二層法による密度勾配遠心法で300g、20分実施後、ペレットを培養液に懸濁し、10分間遠心洗浄処理を行った。swim-up(c-IVF:30分間、ICSI:5分間)を行い、精子を回収、媒精濃度150万/mLでのc-IVF、又はICSIを実施した。

培養胚は分割期、又は胚盤胞期にて移植・凍結に用いた。まず、(1)精子調整液毎に分け、培養成績の比較を行った。更に、授精方法別[(2)c-IVF(57症例772個)(3)ICSI(66症例781個)]での精子調整液毎に分け、それぞれの受精率・分割率・Day5胚盤胞率・Day5良好胚盤胞率(Gardner分類3BB以上)を比較した。

【結果】

(1)精子調整液毎の成績:分割率では差はなかったが、受精率[Isolate群:77.4%(419/541) vs. Gradient群:73.2%(616/841), $p<0.01$]においてIsolate群で高く、Day5胚盤胞率[42.3%(101/239) vs. 59.0%(252/427), $p<0.01$]、Day5良好胚盤胞率[12.1%(29/239) vs. 19.2%(82/427), $p<0.05$]においてGradient群で高くなった。(2)c-IVF:全ての検討項目で差はなかった。(3)ICSI:受精率、分割率で差はなかったが、Day5胚盤胞率[39.2%(58/148) vs. 61.9%(146/236), $p<0.05$]、Day5良好胚盤胞率[9.5%(14/148) vs. 16.9%(40/236), $p<0.05$]においてGradient群で高くなった。

【考察】

GradientのpHは精液のpHに近い為、精子処理から回収時・c-IVF・ICSI施行時までの精子の状態を生理的に良好な状態に保つことができるという利点がある。その為、精子調整後に回収した精子の正常形態率が増加した可能性がある。

P-3 精液処理法がARTへ及ぼす影響について

大川 莉歩, 藤田 陽子, 鈴木 望文, 浅見 真依, 知念 日菓利, 榎本 恵, 石井 鈴奈, 濱田 道子, 堀川 道晴, 武谷 雄二
ウイメンズ・クリニック大泉学園

【目的】

高度生殖医療 (assisted reproductive technology : ART) では, 射出精液中から運動精子を回収して媒精に用いる。精子の質の低下は, 受精やその後の胚発生能に負の影響を及ぼすことから, 良好な精子を効率的に回収して媒精に用いることが必要である。精子回収法は, 一般的に, 遠心法, 密度勾配遠心法 (以下 Isolate 法), swim-up 法が用いられているが, これらの方法を組み合わせることにより質の良い精子を回収し, 媒精に用いることができるのではないかと考えた。そこで今回の検討では, swim-up 法の前に遠心を行う遠心/swim-up 法と, Isolate を行う Isolate/swim-up 法を用いて精子を回収し, ART への影響について検討を行った。

【対象・方法】

対象は, 2010年1月から2017年3月までに, 当院でARTを施行し, 女性年齢が39歳以下, ART 施行回数3回目以下の症例とした。遠心/swim-up 法を行った症例は150症例, Isolate/swim-up 法は787症例で

あった。それぞれの方法にて運動精子回収し, 顕微授精 (以下 ICSI) もしくは通常体外受精 (以下 con.-IVF) に用い, 精液処理法別に受精率, 胚盤胞到達率, 良好胚盤胞発生率を比較した。また回収した精子を3時間培養後, 精子DNA断片化率を比較した。統計は χ^2 乗検定, 一元配置分散分析を用い, $p<0.05$ を有意差ありとした。

【結果】

ICSI 症例における遠心/swim-up 法, Isolate/swim-up 法の受精率は78.4%, 74.7%であり差は認めなかったが, 胚盤胞到達率は33.0%, 56.5%, 良好胚盤胞到達率は25.0%, 48.2%であり, いずれも Isolate/swim-up 法において有意に高い値となった ($p<0.05$)。con.-IVF 症例では, それぞれ, 受精率は49.6%, 66.2%, 胚盤胞到達率は33.1%, 61.2%, 良好胚盤胞到達率は26.5%, 51.4%であり, これらすべてにおいて Isolate/swim-up 法で有意に高い値となった ($p<0.05$)。遠心/swim-up 法, Isolate/swim-up 法で回収した精子の3時間培養後のTUNEL陽性率は, それぞれ $10.3 \pm 0.05\%$, $1.2 \pm 0.01\%$ であり, Isolate/swim-up 法において有意に低い値となった。

【考察】

ICSI, con-IVF ともに Isolate/swim-up 法を行った症例は, 胚盤胞率, 良好胚盤胞到達率が有意に高かった。Isolate 法は精子のDNA断片化率が低いことから, 選択的に成熟精子を回収し, 精漿中の死滅精子や白血球等をより効率的に除去することができる手法であると考えられる。その結果より質の良い精子の回収が可能となり, ART の成績向上につながったと解釈される。

P-4 当院における初診患者の受診1年後の転帰

饒平名 里美¹⁾, 一色 納菜子¹⁾, 小林 亮太¹⁾, 水野 里志¹⁾, 井田 守¹⁾, 福田 愛作¹⁾, 森本 義晴²⁾

1) IVF大阪クリニック

2) HORAC グランフロント大阪クリニック

【目的】

近年, 女性の社会進出に伴う晩婚化や生活習慣などの要因から, 不妊治療を受ける患者は年々増加している。当院の妊娠による卒業生数は年間約800組に上るが, その治療期間や治療方法は様々である。一方で長期にわたり治療を繰り返す患者も多く, 治療長期化は患者の経済的および精神的な負担を増加させている。これまで治療開始から妊娠卒業までに要した期間を調査した報告はあるが, 特定の期間内における初診患者の治療の転帰を調査した報告は少ない。そこで, 我々は一定期間内の治療転帰を年齢および方法別に比較検討した。

【方法】

2015年4月～2016年3月の初診患者1,293組を調査対象とした。初診年齢をA群:29歳以下, B群:30歳～34歳以下, C群:35歳～39歳以下, D群:40歳以上の4群に分類し初診日から一年間の治療歴を比較した。治療は一般不妊治療 (タイミング療法・人工授精) および体外受精に分け, 総来院回数が5回未満の患者はドロップアウト症例と判断した。またタイ

ミング療法は, 超音波検査を実施し医師の指導のもと夫婦生活を持った周期とした。

【結果】

各年齢層が占める割合はA群:12.5%, B群:33.0%, C群:34.2%, D群:20.4%, 治療の継続率はA群:78.9%, B群:84.3%, C群:88.0%, D群:81.1%であった。一般不妊治療を実施した661組のうち138組が妊娠卒業し, 卒業率はA群:28.9%, B群:24.4%, C群:18.3%, D群:4.6%でD群において有意に低かった ($P<0.05$)。一方, 体外受精を実施した患者は522組, 胚移植を実施した453組のうち185組が妊娠卒業した。卒業率はA群:47.2%, B群:50.4%, C群:42.3%, D群:13.7%でD群において有意に低かった ($P<0.05$)。また, 体外受精の卒業率 (35.4%) は一般不妊治療 (15.3%) に比べ有意に高かった ($P<0.001$)。全ての治療を合わせた卒業率はA群:35.4%, B群:35.7%, C群:31.9%, D群:12.1%であった。

【考察】

年齢層別患者数はB・C群が多く, 治療を継続した患者の割合はC群において最も高いことから35～39歳が積極的に治療に取り組む年齢層であると考えられる。また, 一般不妊治療と体外受精の卒業率はどちらもD群において有意に低く, 日本産婦人科学会のデータと同様の傾向を認めた。この結果から一般不妊治療, 体外受精ともに妊娠成立は女性患者年齢に依存している。一方, 全ての治療をあわせた卒業率はA群・B群・C群では差を認めなかったことから不妊治療は39歳までに終了することが望ましい。またいずれの年齢においても体外受精の卒業率の方が一般不妊治療より高率であるので, 妊娠を急ぐ場合は体外受精を受けることが早道と考えられる。

P-5 検卵時における培養液中の温度変化について

山田 健市, 菊地 裕幸, 若生 麻美, 菅野 弘基, 岸田 拓磨, 岸田 理英, 佐藤 那美, 馬場 由佳, 結城 笑香, 吉田 仁秋
仙台 ART クリニック

【目的】

卵子、胚における温度低下は、紡錘体の不可逆的な形状変化を起こすことが報告されており、高温下では変性を招く可能性がある。そのため、検卵、培養時における培養液中の温度を適温に保つことは卵子、胚にとって非常に重要である。当院では検卵時、卵子をパスツールピペットでピックアップするため、37℃の気温下で実施しない限り温度低下は免れない。そこで、本研究では検卵時で使用される事が多い60mm、90mmディッシュの温度変化について、また、ピペット内で卵子を保持した場合と、ディッシュにプールさせた場合の温度変化に着目し、比較検討を行うことを目的とした。

【方法】

37.5℃に設定したウォームプレート上に、対象のディッシュを置き、事前に37℃に加温していた培養液を入れ、直後、1、3、5、10分後に培養液の温度を測定した。検討1では、60mm、90mmディッシュに培養液5mlおよび10mlをそれぞれ入れ温度を測定した。検討2では、パスツ

ールピペットに培養液少量を吸引した場合と、プール用として35mmディッシュに培養液5ml入れ、蓋ありとなしで培養液の温度を測定した。

【結果】

検討1：測定開始直後、1、3、5、10分後の培養液における平均温度は、60mmディッシュ：5mlでは、36.4、34.0、32.3、31.6、31.1℃となり、10mlでは、36.7、35.6、33.4、32.2、31.1℃となった。また、90mmディッシュ：5mlでは、32.7、29.8、29.4、28.5、28.4℃となり、10mlでは、34.2、31.9、30.2、29.6、28.3℃となった。液量に関わらず90mmディッシュの方が温度は約2～3℃低下した。検討2：ピペット内の培養液の温度は、27.1、25.9、25.4、26.0、26.3℃となり、35mmディッシュ：5mlの蓋ありでは、36.6、36.4、36.1、35.7、35.7℃となり、蓋なしでは、36.9、36.2、35.0、34.2、33.2℃となった。ピペット内の培養液温度が28℃以下と低下し、35mmディッシュで蓋をした場合、35℃以上の温度を保つことができた。

【考察】

ディッシュの径に関わらず培養液10mlに対し、5mlは温度が低下したことから、放熱量が増加し、37.5℃設定のウォームプレートでは温度が低下したと考えられる。さらに、底面積が広い90mmディッシュも同様に温度の低下が認められた。ピペット内の培養液温度の低下が著しいことから、ピペットでの操作は可能な限り迅速に行い、加温された培養液へ速やかに卵子を移動する必要があることが分かった。インキュベーターの開閉頻度の増加は、庫内の温度や気相の変化もあることから、最も温度を保つことができる35mmディッシュ蓋ありでプールすることが温度の低下防止に役立つと考えられる。

も検体管理可能な方法が切望されている。

【方法】

我々は卵巣組織凍結キット (Ova Cryo Sheet: Kitazato biopharma) を開発し、また KRD コーポレーションは、液体室素中で動作する高性能な超小型 RFID タグを開発したため、KRD コーポレーションと共に、検体取り違えが決して起こらないシステム開発を共同で進めた。検討内容は以下の5項目となる:1. 液体室素対応タグを卵巣組織凍結デバイスとケーシングに対応した。2. 液体室素タンクタグとキャニスタータグを併せて使用し、手書きでの管理を不要とした。3. IC タグ運用に合わせた、ケーシング、キャニスター、収納ボックスそしてラックを設計した。4. 液体室素中にある IC タグを読み込み可能な PDA に取り付けの延長アンテナを設計した。5. 卵巣、胚、卵子そして精子を全て扱える、管理ソフトを準備した。

【結果】

超小型 RFID タグシステムにおいて上記の検討を行った結果、-196℃の環境下で常温と変わらない1秒以内の応答速度を持続し、100本以上の RFID タグを一括で読み込む特性を生かし、安全な管理システムの確立に成功した。

【考察】

RFID タグによる卵巣組織凍結検体管理システムは、液体室素タンク内における検体紛失の際、どの患者の何が液体室素タンク内に落下したかの検索ならびに回収が可能なシステムであり、安全で確実なシステムとなる。RFID タグの設置位置およびサイズ、そして RFID タグに合わせた収納器具の最適化等、実際の試行を踏まえた、ケーシング、キャニスター、収納ボックス、ラックの改良設計を検討することが、全ての生殖医療検体における安全管理システムの構築に繋がることが期待される。

P-6 液体室素内で動作可能な RFID タグを活用した卵巣組織凍結保存管理システムの開発

杉下 陽堂¹⁾, 佐藤 匠¹⁾, 川原 泰¹⁾, 澤 勉²⁾, 小松 弘英²⁾, 鈴木 直¹⁾

1) 聖マリアンナ医科大学産婦人科学

2) KRD コーポレーション

【背景】

がん・生殖医療における妊孕性温存治療では、若年がん患者が抗がん治療を受ける際、生殖細胞が抗がん治療の影響を受けないよう回避する為、抗がん治療前に患者より生殖細胞や生殖組織を採取し、液体室素内で患者検体を長期間保存が必要となる。凍結検体の管理は、胚培養士がマジックにて容器表面に患者情報を記載し、目視で個体識別を行うと共に、その患者情報を紙台帳やコンピューターに登録する管理方法が古くから使われている。しかし、この管理方法ではヒューマンエラーを避けることは出来ない。近年ヒューマンエラー対策として、バーコード、2次元コード、RFID タグを用いて、認識可能なコードを紙やフィルムに印刷し、容器に貼りつけるという自動認識技術が活用されている。しかし解決されない欠点が残されている。欠点としては、バーコードはラベル印刷の手間や液体室素中でラベルが剥がれ、液体室素から出すと表面に霜が付くため読み取りが不安定であり、RFID タグは-196℃の環境では動作しないため、RFID タグを液体室素から取り出し、RFID タグの温度が上昇し、動作するまで待つ必要があることであった。そこで-196℃の液体室素中で

P-7 当院における年齢別 SEET 法実 施妊娠成績

荒井 勇輝, 石川 聖華, 中山 順樹, 向江 真璃,
佐久間 友香, 加賀 朝子, 毛利 汐菜, 原 利夫
はらメディカルクリニック

【はじめに】

体外受精において、胚移植を成功に導くための条件の1つに、胚受容能を獲得した子宮内膜の存在がある。胚の着床の成功のためには、胚と子宮内膜のシグナル交換(クロストーク)が必要であり、それにより着床の準備が進むと考えられている。しかし、体外受精では体外で胚を培養しているため、胚移植がなされて初めて胚と子宮内膜のクロストークがスタートする。つまり、胚移植時は子宮内膜の着床の準備が不完全な状態であると考えられる。そこで、胚受容能獲得のため胚移植の2～3日前に胚由来因子が含まれている培養上清を子宮内に注入することで、子宮内膜を刺激し、着床の準備を促進させるSEET法が開発された。当院では、胚盤胞凍結時に使用していた培養上清を用いたSEET法と、培養に使用していない培養液GM601 Culture (GYNEMED)を用いた簡易SEET法を実施している。今回、当院におけるSEET法の実施別の妊娠率について比較を行ったので報告する。

【方法】

2016年1月から12月までに胚移植を行った1,121周期を対象とした。媒

精後、Global Total (Life Global) を用いて5日または6日間培養し、Gardner 分類で胚盤胞4BC以上のものを凍結する際に培養上清(SEET液)を約30 μ L回収し、-20℃で凍結保存した。SEET法は、胚移植を行う2-3日前に血中プロゲステロン濃度10.0ng/mL以上あることを確認した後、SEET液を37℃で融解し、GM601 Culture と混合したものをS群、GM601 Cultureのみを使用する群を簡易群とし、いずれも0.2mLに調整しIUIカテーテルを用い子宮内へ注入した。

【結果】

31歳までのS群の妊娠率は44.4%、簡易群では22.7%であった。32～34歳ではS群が32.1%、簡易群が27.8%、35～37歳ではS群が24.0%、簡易群が18.4%、38～40歳ではS群が26.9%、簡易群が25.8%、41～43歳ではS群が14.4%、簡易群が16.9%、44歳以上ではS群が7.1%、簡易群が6.9%であった。

【考察】

41～43歳までの妊娠率はS群で14.4%、簡易群では16.9%と、簡易群の方が高くなったが、その他の年齢層ではS群の方が高い妊娠率が得られた。しかし、どちらにおいても有意な差は認められなかった。現在、培養上清には着床に関与するリゾホスファチジン酸が含まれているとの報告があり、他にも多くの胚由来因子および内膜刺激因子が含まれていると考えられる。今回の検討では、S群と簡易群とで妊娠率に差がなかったことから、培養液もしくはIUIカテーテルを挿入することが子宮内膜を刺激し着床に有利に働いたのではないかと考えられる。今後、子宮内膜スラッチ法等も検討を加え、子宮内膜応答と着床率の関係を明らかにしたい。

P-8 カラー Doppler を用いた胚移植モ ニターの試み

上田 綾香, 小野崎 美絵, 藤森 友美子, 福田 久恵,
石川 慶子, 石川 元春
いしかわクリニック

【目的】

胚移植の際にBモードの経膈超音波下でカテーテルをモニターして胚移植する方法は広く用いられているが、カラー Doppler 使用の報告はない。今回、新たな試みとして胚移植時に超音波の血流分布を表示するカラー Doppler を利用して胚移植時の培養液のカラーエリア動態を観察し、妊娠率との関係を調査した。

【方法】

対象は2017年3月から6月に経膈超音波下で胚移植を行った141周期とした。カテーテル先端が同定されなかった7周期、カラーエリアが観察されなかった3周期は除外した。超音波はVolson e(GEヘルスケア)、カテーテルとガイドは北里コーポレーションのET-TUC3040SM5-22 とET-TUG3022AMRT-30をそれぞれ使用した。胚はカテーテルにハミルトンシリンジ(HAMILTON80601:0.10ml)を装着後、カテーテルを培養液で洗浄し、その後3 μ Lの培養液とともに胚を吸い上げ、カテーテル先端から1.5 μ Lのエアを入れてロードした。胚移植時、胚の入った培養液

がフラッシュされた際のカラー Doppler モードでカラーエリアの動態を観察し、胚移植時のカラーエリアが爆発的に観察されたものをexplosive(E群)、緩徐に観察されたものをslow(S群)と分類した。また、カラーエリアがカテーテル周囲に観察されたaround(A群)、カテーテル先端からその長軸に対して前方のforward(F群)、先端長軸から後ろに見えたback(B群)に分類した。各群の妊娠反応陽性率と胎嚢確認された臨床妊娠率との関係を調べた。

【結果】

妊娠反応陽性率、臨床妊娠率は、それぞれ、E群:35.0%(7/20)、25.0%(5/20)、S群:45.0%(50/111)、36.9%(41/111)で、両群間に有意差は認められなかったが、S群の方が高値を示した。また、方向性の検討では、妊娠反応陽性率、臨床妊娠率は、それぞれA群:35.5%(22/62)、25.8%(16/62)、F群:48.4%(30/62)、40.3%(25/62)、B群:71.4%(5/7)、71.4%(5/7)で、妊娠反応陽性率は各群間で有意差は認められなかったが、臨床妊娠率はA群とB群間にのみ有意差(p=0.012)が認められた。

【結論】

胚移植時のモニター法として通常使用されているBモードよりもカラー Doppler を使用した方がより培養液の動態をダイナミックにモニターすることが出来た。当初はカテーテルからフラッシュされる前方に子宮腔にのみカラーエリアが観察する事を予想していたが、子宮内膜方向やカテーテルの逆方向にもカラーエリアが見られた。カラー Doppler モード下でカラーエリアのパターン動態と実際の培養液の移動動態の意義付けは不明で、今後さらなる検討が必要と考える。

P-9 新鮮および凍結融解精子を用いた ICSI 施行後の胚発生能の比較

小川 尚子, 沖村 匡史, 金子 繁, 黒田 知子, 内山 一男, 小林 保, 加藤 恵一
加藤レディースクリニック

【目的】

IVF 治療における本人確認の必要性に関する観点から、自宅採精、持ち込みの廃止が検討されつつあり、採卵当日に採精が不可能である場合は、事前の精子凍結を行うこととなる。WHO 基準で精液所見が正常であれば、凍結融解が及ぼす精子への影響は少ないと予測される。しかしながら、新鮮および凍結精子を用いた場合の臨床成績について大規模な検討を行った報告が少ないため、本研究において後方視的に比較検討を行った。

【方法】

当院を受診した 39 歳以下の精液所見が正常 (WHO 基準) であり ICSI を施行した患者で、新鮮精子 (n=7162) および凍結融解精子を用いた群 (n=2430) における受精率、異常受精率、分割率、胚盤胞発生率、単一凍結融解胚盤胞移植後の妊娠率、生産率および児の先天異常について比

較した (2009 年 1 月から 2015 年 12 月)。また、同精液所見で精子を凍結保存した患者において、凍結融解が及ぼす媒精方法への影響について検討した (2015 年 4 月から 2016 年 12 月)。

【結果】

新鮮精子群、および凍結精子群の受精率、異常受精率、分割率および胚盤胞発生率はそれぞれ 87.9% (6293/7162) および 86.7% (2106/2430)、3.1% (222/7162) および 2.4% (57/2430)、98.5% (5978/6078) および 98.5% (2018/22049)、65.3% (2416/3699) および 67.0% (798/1192) であった。

臨床妊娠率 (GS)、生産率および児の先天異常率はそれぞれ、53.9% (933/1730) および 51.4% (292/568)、41.7% (721/1730) および 38.9% (221/568)、1.6% (27/1730) および 1.1% (6/568) であり、すべてにおいて有意な差は認められなかった。また、61.6% (779/1264) の cIVF 予定患者が精子の凍結融解後に、ICSI 適応となり、その主な理由として凍結融解による運動精子数の減少が挙げられた。

【結論】

精液所見が正常で cIVF 適応であっても、凍結融解処理を行うことにより、運動精子数が減少し ICSI 適応となるケースが多い。これは、凍結融解処理による影響と考えられ、精子の凍結保存法の改良が必要と考えられる。しかし、ICSI 適応となった場合でも、臨床成績は新鮮精子と同等であることから、cIVF 予定患者が精子を凍結する場合は、十分な説明により同意を得る必要がある。

P-10 二重筒式遠沈管 (ラピッツ) を用いた精子調整法の検討

荒牧 夏美, 泊 博幸, 國武 克子, 内村 慶子, 竹原 侑希, 下瀬 瞳, 久原 早織, 吉永 菜都美, 西村 佳与子, 本庄 考, 詠田 由美
アイブイエフ詠田クリニック

【目的】

ART における理想的な精子調整方法の条件は、効率良く運動良好精子を回収することに加え手技が簡便であることが重要である。そこで本研究では、精子調整における遠心処理後の精子ペレットの回収を容易に行うことが期待される新たな遠心用デバイス (二重筒式遠沈管: ラピッツ) に着目した。ラピッツは、内筒と外筒からなる二重筒式遠沈管であり、遠心処理後に内筒を引き抜くことで内筒内の上清を一挙に除去することができる。そのため、素早い上清除去と精子ペレットの再汚染防止も期待される。本研究は、精子調整の手技の簡易化を目的とし、ラピッツを用いた精子調整法の臨床的有用性を検討した。

【方法】

精液検査後破棄予定となった精液を、患者の同意のもと供試検体とした。検討 1: 同一精液検体を従来の遠沈管 (従来群) とラピッツ (ラピッツ群) に等量に分け、連続密度勾配遠心法による精子調整後の所見を比較した。検討 2: 菌浮遊液を作成し従来群とラピッツ群において遠心処理後、沈

渣液を寒天培地に播種し細菌培養を行い、従来群とラピッツ群の細菌除去能を評価した。検討 3: 新人スタッフおよび熟練スタッフにおいてラピッツを用いた連続密度勾配遠心法による精子調整を行い、処理後の所見を比較することで技術介入度を評価した。

【結果】

検討 1: 処理前の精液量は 2.8 ± 1.3 ml、運動精子濃度は $30.3 \pm 17.3 \times 10^6$ /ml、精子運動率は $53.5 \pm 10.9\%$ であった。処理後の従来群とラピッツ群の運動精子濃度 ($\times 10^6$ /ml) は、各 17.0 ± 14.7 、 14.3 ± 13.1 、精子運動率 (%) は、各 78.5 ± 11.7 、 87.2 ± 11.5 、処理時間 (秒) は、各 51.4 ± 8.0 、 37.5 ± 5.6 であり、ラピッツ群において精子運動率と処理時間が有意に改善した ($p < 0.01$)。検討 2: 処理後の沈渣液を播種して形成された細菌コロニー数は、各 16.0 ± 2.1 、 6.0 ± 0.6 であり、ラピッツ群において有意に高い細菌除去能を示した ($p < 0.01$)。検討 3: 熟練スタッフと新人スタッフにおける精子調整後の所見は、運動精子濃度 ($\times 10^6$ /ml) は、各 7.7 ± 4.4 、 5.7 ± 2.7 、精子運動率 (%) は、各 81.1 ± 17.5 、 76.8 ± 23.6 であり、全ての項目において有意差はなかった。

【結論】

ラピッツは遠心処理後内筒を抜去するのみで容易に上清除去が可能であり、精子調整時間は有意に短縮した。また、ラピッツ群の精子運動率および細菌除去能が従来群と比較し高かったことから、ラピッツは、上清除去後に管壁面の夾雑物が精子ペレットに混入することを回避できることが示唆された。さらに、新人スタッフでも容易に良好な結果を得ることが出来たことから、ラピッツを用いた精子調整法は臨床的に有用であると考ええる。

P-11 2種類のSingle Culture Mediumを用いた培養成績の比較

阿部 亜佳音, 武田 信好, 鈴木 寛規, 船山 麻由子,
佐藤 百合子, 田中 可子, 三箇島 睦美, 鈴木 雅美,
小田原 靖

ファティリティクリニック東京

【目的】

現在、培養液交換が不要なSingle Culture Medium(SCM)が各社から販売されている。当院でもSequential Mediumと数種類のSCMとの培養成績の比較を行い、SCMの有用性を示してきた。しかし、SCMの中でも培養後の発生に有意差が認められるものもあり、各施設の培養環境に適したmediumを使用する必要があると思われる。本研究では、ONESTEP medium®(ナカメディカル社:以下、NAKA)と、同じくSCMであるGeri® 1-step medium(Genea BIOMEDX社:以下、Geri)を用い、培養成績を比較・検討した。

【方法】

2017年6月～7月に採卵を行い、hCG投与後38～39時間で裸化処理を行った時点で、MⅡ卵が2個以上得られた30～45歳(39.6±3.5)、25

症例を対象とした。ICSI後の卵子をランダムに2群に分け、A群:NAKA(78個)、B群:Geri(66個)で作製した培養用ドロップで個別にて胚盤胞培養を行い、それぞれの胚盤胞到達率、良好胚盤胞率を比較した。受精確認時に両群に正常受精卵がない症例は検討から除外し、良好胚盤胞は3BB以上とした。培養は37.0℃、6.0%CO₂、5.0%O₂の条件下で、ミニインキュベータ(COOK社)もしくはEmbryoScope®(VitroLife社)にて行った。なお、1症例につき1枚の培養用ディッシュを使用し、培養環境は両群とも同等の状態とした。

【結果】

各群の正常受精率は、A群:73.1%(57/78)、B群:83.3%(55/66)であった。胚盤胞到達率、良好胚盤胞率は、それぞれA群:71.9%(41/57)、54.4%(31/57)、B群:69.1%(38/55)、47.3%(26/55)で、各成績に有意差は認められなかった。

【結論】

当院では、これまでに比較してきた数種類のSCMの培養成績から、最も安定し成績が良好であったNAKAを主軸に使用してきた。今回、新たにGeriと比較し、良好胚盤胞率ではNAKAが高い傾向にあるものの有意差は認められず、胚盤胞到達率では同等の成績となった。Geriは他のSCMに比べ1製品あたりの容量が多く、分注後数日間使用することで培養成績の低下が懸念されたが、特に影響なく良好な成績が得られた。今後、症例数を増やし、さらなる検討を行っていきたい。

P-12 紡錘体観察有無による受精率の変化

川崎 友貴, 拝野 貴之, 押尾 真紀子, 石澤 亜希, 笠原 佑太,
白石 絵莉子, 鴨下 桂子, 岡本 愛光

東京慈恵会医科大学

【目的】

当施設では2015年9月から新たに紡錘体可視化装置を導入し、紡錘体を避けて顕微授精(ICSI)を施行するようになった。ICSI施行直前に紡錘体を観察したところ、紡錘体が観察できる卵だけでなく紡錘体が観察できない染色体凝集期間の卵も確認することができた。染色体凝集期間の卵に対しては、数時間の追加培養を行い紡錘体が形成された後ICSIを施行することが望ましい。他施設において卵丘細胞除去直後に紡錘体の有無を観察し、紡錘体が観察できない場合1時間の追加培養を行った後にICSIを施行することで受精率の向上がみられた。今回我々は、30分の追加培養でも受精率が変化するか試みた。

【方法】

2015年10月～2017年5月の間に当施設において紡錘体観察の後にICSI

を施行した177症例310周期(747個)を対象とした。採卵5時間後に卵丘細胞を除去し、第一極体放出を確認し、ICSI施行前に紡錘体が観察できた群を紡錘体観察可能卵群(sp+群)、紡錘体が観察できなかった群を紡錘体観察不可能卵群(sp-群)とし、受精率を比較した(検討1)。さらに、紡錘体が観察されず30分の追加培養後ICSIを施行した追加培養群(culture群)における受精率の変化を観察した(検討2)。

【結果】

検討1) 紡錘体観察ができたsp+群と紡錘体観察ができなかったsp-群の受精率はそれぞれ75.8%(455/600)、56.6%(64/113)であり、sp+群がsp-群と比較し有意に高率であった。

検討2) 30分の追加培養後にICSIを施行したculture群の受精率は76.5%(26/34)であり、sp-群と比し受精率の向上がみられた。またsp+群と比し受精率は同等であった。

【考察】

今回の検討では受精率のみの評価であるが、ICSI直前に紡錘体を観察できなかった場合、短時間の追加培養であっても成績向上が期待できると考えられた。今後は供試卵数を増やし受精率の検討を続けると共に、胚発生率、妊娠率、ICSI直前の紡錘体観察不可能卵に対する追加培養時間の検討を行うことで、さらなる臨床成績の向上を目指したいと考えている。