

ISSN 1881-9028

日本IVF学会雑誌

Vol.22 No.2

2019

JSAR
Japan Society of Assisted Reproduction

論文

— 原著 —

- 加湿型培養器と比較した無加湿型培養器の有用性の検討 2
山上 一樹, 古橋 孝祐, 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

— 症例報告 —

- 反復する hatching 障害に対して AHA が有効であった一例 7
眞田 (ダハール) 佐知子¹, 中山 貴弘¹, 小濱 奈美¹, 澤田 守男², 畑山 博²
¹ 足立病院生殖内分泌医療センター / ² 足立病院産婦人科

加湿型培養器と比較した無加湿型培養器の有用性の検討

山上一樹, 古橋 孝祐, 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 〒650-0021 兵庫県神戸市中央区三宮町1丁目1-2 三宮セントラルビル

要旨： 培養器には加湿型と無加湿型が存在するが、それぞれの特性や実際の成績を比較した報告は多くはない。本研究では始めに加湿型および無加湿型培養器における培養成績および妊娠成績を比較した。加湿群(2PN=268個)と無加湿群(2PN=265個)の間で、分割率、良好分割率、継続培養胚当たりの胚盤胞発生率、胚盤胞当たりの良好胚盤胞率、化学妊娠率、臨床妊娠率および流産率に有意な差は認められなかった。続いて、2群における経日的浸透圧変動を比較した。加湿群の浸透圧は分注後0日目から6日目まで有意な変動は認められなかった一方で、無加湿群では分注後4日目、5日目にかけて経日的な浸透圧の上昇が認められた。以上のことから、無加湿型培養器では培養液浸透圧の上昇が認められたものの、培養成績および妊娠成績に影響せず、加湿型同様に培養に使用可能であることが示唆された。

キーワード： 加湿型培養器, 無加湿型培養器, 浸透圧

緒言

培養器には加湿型と無加湿型がある。加湿型培養器は湿度を維持することによって培養液蒸発を防止することができるため細胞培養等に広く普及しているものの、湿気による菌類の発生や、清掃および給水などの維持管理が煩雑であるといったデメリットを抱えている。

これに対し、無加湿型培養器は加湿型に比較すると菌類の発生を防止することができる上、給水や清掃の手間を省略でき、維持管理が容易である。加えて、加湿水のスペースが不要なことから、省スペースである場合が多い。これらの特長から、受精卵培養における無加湿型培養器の使用も考慮に入れる必要がある。

過去の報告によると、無加湿型培養器では、加湿型培養器と比較して培養液の浸透圧が上昇することが知られている。これに対し、Hadiらによって、浸透圧310 mmol/kgの培養液におけるマウス受精卵の4細胞以降への発生率は、浸透圧250 mmol/kg程度の培養液と比較して有意に低下することが報告されており、ヒトにおいても培養液の浸透圧の上昇が受精卵の発生に影響する可能性が示唆されている¹⁾。

しかしながら、実際に加湿型および無加湿型培養器の浸透圧変化や、ヒト受精卵培養成績および妊娠成績について比較した報告は少ない。そこで本研究では加湿群および無加湿群における受精卵培養成績および妊娠成績を比較するとともに、2群の培養液浸透圧の経日的測

定を行うことによって、無加湿型培養器の有用性を評価することを目的とした。

対象と方法

1. 対象

2017年4月から7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73症例(2PN=533個)を検討対象とした。

2. 採卵, 精子調整, 媒精, 移植

採卵した卵子はUniversal IVF Medium (Origio, Denmark) 中で採卵から3～5時間の前培養を行った。精子は横田ら²⁾の方法に従い、2層パーコール法で遠心分離を行い、良好な精子を回収した。IVFは精子濃度を 10×10^4 /mlに調整して媒精に供した。ICSIは前培養後に顆粒膜細胞を除去した卵子に、形態が正常な運動精子を不動化してマイクロマニピレーター(OLYMPUS, ON2-99D-3, Tokyo)を装着した倒立顕微鏡(OLYMPUS, IX-73)を用いて穿刺注入した。受精確認は媒精およびICSI後18～20時間に行った。

偶数個の2PN胚が得られた症例では、2PN胚を半数に分け、加湿型培養器(CPO2-2301, HIRASAWA, Tokyo)および無加湿培養器(Miri®Multi, Esco, Singapore)でそれぞれ培養した。2PN胚が奇数個得られた症例は、患者診察券番号の下1桁が偶数であれば加湿群へ、奇数であれば無加湿群へ多く振り分けた。同

一症例から得られた2PN胚を半数ずつ2群に分配して検討を行ったため、加湿群および無加湿群の間に患者背景の差は無いものと考えている。培養にはSAGE 1-step medium を用い、受精から2日目に培養液交換を行った。卵子、胚の培養は37℃、5.5%CO₂、5.0% O₂、89.5% N₂の気相条件下で培養を行った³⁾。

3. 分割期胚および胚盤胞の形態学的評価および統計学的解析について

分割期胚の評価はVeeckの分類⁴⁾を用いて行い、採卵日をDay 0とし、Day 2時、Grade 1, 2の4 cellおよびGrade 3以上の5 cell以上の胚を良好分割期胚とした。また、胚盤胞の評価はGardnerの分類⁵⁾を用いて、Grade 3BB以上を良好胚盤胞とした。Day 2時の分割率および良好分割率(4cellG2≤)、Day 5時の継続培養胚当たりの胚盤胞発生率および、胚盤胞当たりの良好胚盤胞発生率(G3BB≤)を比較検討した。また、得られた受精卵は急速ガラス化法により凍結保存し、単一凍結融解胚盤胞移植となった症例について、化学妊娠率、臨床妊娠率、流産率を比較検討した。統計学的解析には χ^2 検定を用い、P<0.05を有意差ありとした。

4. 浸透圧測定について

60mmディッシュ(Thermo Fisher Scientific, Tokyo)にSAGE 1-step medium[®](Origio, Denmark) 50 μ lを6スポット分注し、7mlのミネラルオイル(Irvine scientific, USA)で被覆した。分注1時間後(Day 0)から24時間おきにDay 6までの7点を測定日とした。1日当たり2枚のディッシュを使用するため、計28枚のディッシュを作成し、加湿型、無加湿型培養器それぞれに14枚ずつ静置した。測定時に各培養器から2枚ずつディッシュを取り出し、ディッシュ1枚当たり3スポット、計6スポットを無作為に選択、蒸気圧測定機(蒸気圧オズモメーター WESCOR 5600型, フェニックスサイエンス, Tokyo)を用いて浸透圧を測定し、平均値を算出した(n=6/day/培養器)。統計学的解析にはANOVA解析およびTukey-Kramerの多群比較を行い、P<0.05を有意差ありとした。

結 果

加湿群(2PN=268個)と無加湿群(2PN=265個)の間で、Day 2時での分割率(96.3% vs 98.1%; P=0.31)、良好分割率(50.4% vs 49.6%; P=0.86)、Day 5における継続培養胚当たりの胚盤胞発生率(55.1% vs 57.2%; P=0.66)、胚盤胞当たりの良好胚

盤胞率(48.2% vs 52.9%; P=0.47)に有意な差は認められなかった(図1, 図2)。また、両群間において化学妊娠率(57.7% vs 59.2%; P=0.88)、臨床妊娠率(46.2% vs 40.8%; P=0.59)および流産率(33.3% vs 25.0%, P=0.79)に有意な差は認められなかった(図3)。

加湿群の浸透圧はDay 0 からDay 6 まで、264.0 $\pm$ 6.2, 261.0 $\pm$ 6.1, 257.2 $\pm$ 1.8, 260.5 $\pm$ 6.1,

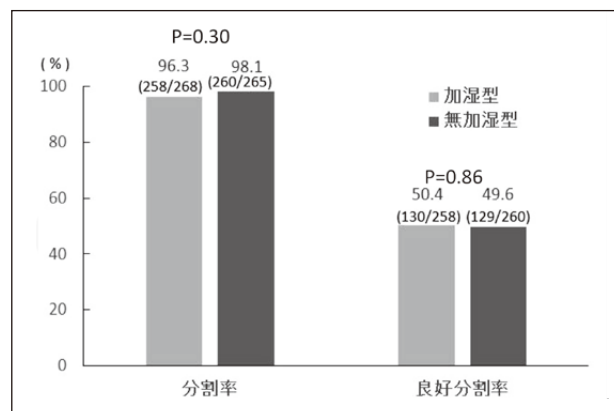


図1 Day 2における分割率および良好分割率

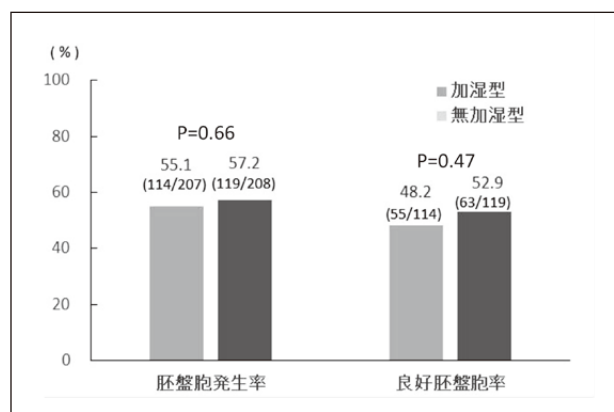


図2 Day 5における胚盤胞発生率および良好胚盤胞率

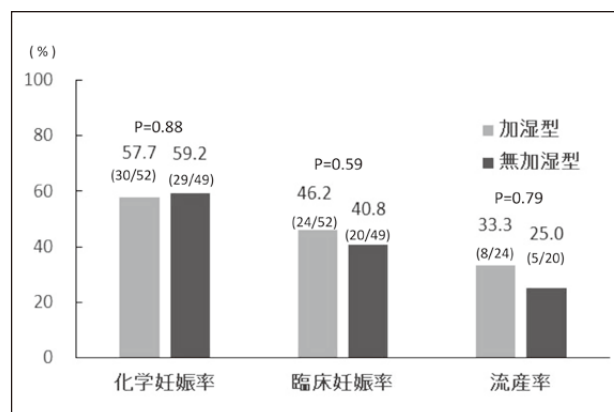


図3 妊娠成績

265.7±4.8, 257.3±2.7, 258.7±6.6 mmol/kgであり, 有意な変動は認められなかった. 一方で, 無加湿群では262.5±6.7, 270.8±15.3, 262.3±1.8, 265.0±1.6, 277.7±4.1, 281.5±7.9, 276.0±5.4 mmol/kgとなり, Day 0, Day 2と比較してDay 4およびDay 5に, また, Day 3と比較してDay 5に有意な浸透圧の上昇が認められた(図4).

考 察

本研究では, 培養成績, 妊娠成績において加湿型および無加湿型の間に有意な差は認められなかった. また, 体外受精および顕微授精における媒精方法ごとの成績にも差は認められなかった.

これまでに, 加湿型および無加湿型培養器の間に培養成績に有意な差は見られなかったとする報告がなされている^{6,7)}. 一方で, 無加湿群は加湿群と比較して受精卵当たりの胚盤胞発生率および良好胚盤胞発生率が有意に高い値を示した⁸⁾との報告も見られることから, ヒト受精卵培養における無加湿型培養器の使用は加湿型培養器と同等かそれ以上の成績が得られるものと考えられてきた. 本研究の結果においても, 無加湿型の培養成績および妊娠成績は加湿型と有意な差が認められなかったことから, 無加湿型培養器は加湿型培養器と同等の有用性があると考えられる. しかしながら, 近年, Fawzyらは無加湿条件においては良好分割率, 良好胚

盤胞発生率, 化学妊娠率および臨床妊娠率が有意に低下したと報告している⁹⁾. この報告では, 詳細な数値は記載されていないものの, 無加湿群における培養液浸透圧が培養14日目まで上昇し続けたと記述されている. 実際に, 本研究においても, 培養成績および妊娠成績が同等である一方で, 無加湿群の浸透圧は分注後経日的に上昇することが明らかになり, 過去の無加湿型培養器中の培養液浸透圧が経日的に上昇するとの報告と一致するものである¹⁰⁾. マウスの知見によると, マウス受精卵は浸透圧約290 mmol/kgであるM16培養液において2-cell blockが発生し, 4cell以降への発生が阻害される一方で, 浸透圧が約230~275 mmol/kgであるSimplex-optimized media (SOM) やSOM with increased K⁺ (KSOM) 等の培養液において2-cell blockは回避されることが知られている¹¹⁾. 加えて, 通常の浸透圧では2-cell blockを回避しうるKSOMの浸透圧を約300 mmol/kgまで上昇させた場合には2-cell blockが引き起こされることから, 培養液の浸透圧の上昇は哺乳類の初期胚発生に影響すると考えられている¹⁾. マウスの卵管液の浸透圧は血清と同程度である約290-310 mmol/kg¹²⁾であるため, M16 培養液(浸透圧約290 mmol/kg) は生理的な条件に近い浸透圧であるにも関わらず, 受精卵の初期発生を阻害することになる. このことから, 生体外での初期胚発生において, 培養液の浸透圧は卵管液よりも低い条件である必要があると考えられる. これに対し, 培養液交換を必要としないsingle

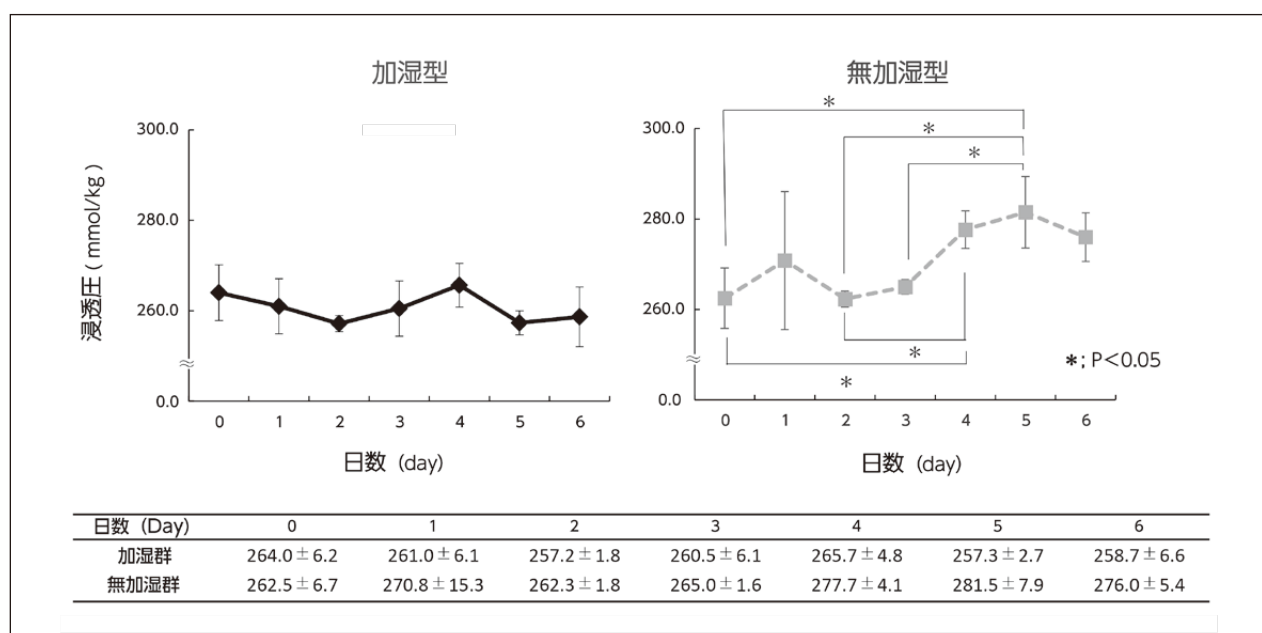


図4 浸透圧の経日的変動

step mediumの場合、経日的な浸透圧の上昇を考慮して製品の浸透圧は低く設定されている。実際に、ヒト卵管液の浸透圧は280～290 mmol/kgであることが知られている一方で¹³⁾、本研究に用いたSAGE 1-STEP mediumの浸透圧の品質保証範囲は257～273 mmol/kgである。本研究において、無加湿群における浸透圧は分注後4日目(277.7±4.1 mmol/kg)に0日目と比較して有意に上昇したものの、生理的な浸透圧より低いか同程度の状態にあり、初期胚発生に影響を及ぼさなかったものと考えられる。加えて、これまでに、浸透圧の上昇はスポットの液量に相関することが報告されている⁷⁾。本研究では50 µlにて浸透圧の測定を実施したが、より低容量で培養した場合、更に大きく浸透圧が上昇すると考えられる。前述のFawzyらのグループは15µlのドロップで受精卵を培養しており、本研究における測定結果以上に浸透圧が上昇したものと考えられ、その結果胚発生およびその後の妊娠成績に影響した可能性が示唆される。これらの結果および過去の報告から、培養条件を検討する際には、培養液の容量および実際の浸透圧の上昇を考慮する必要があると考えられる。

また、本検討では規格の異なる2社の培養器を検討に使用した。当院の培養方法において、加湿型培養器1台当たり2名の受精卵を培養している。本検討に用いた加湿型培養器は庫内一体型であるため、1名のディッシュを出し入れする際に生じる庫内の培養環境変化がもう一方の受精卵に影響を及ぼす可能性が考えられる。一方で、検討に用いた無加湿型培養器はチャンバーが分割されており、1チャンバーに1件の受精卵のみ培養可能であるため、加湿型と異なりドアの開閉が他の検体に与える影響が最小限となる。さらに、無加湿型培養器では加湿型と比較してドア開閉後のガスの回復が早いとされているため、培養環境の安定化において、加湿できないという点を除けば加湿型培養器よりも無加湿型培養器の方が構造的に優れているとする見方もある。本検討の結果に機器ごとの特性の違いが影響した可能性は否定できない。今後、培養器の構造的特徴を考慮したさらなる検討が必要であると考えている。

さらに、当院では、分注後3日目に相当する受精2日目に培養液交換を行っており、無加湿型において浸透圧が有意に上昇する以前のタイミングで培養液が交換されるため、培養成績に影響しなかった可能性が考えられる。また、ヒト受精卵の胚盤胞発生における浸透圧の許容範囲に関しては明らかにされていないものの、無加湿型で最も高い値を示した分注後5日目においてもその値は281.5±7.9 mmol/kgと生理的な値を大きく逸脱するものではなく、胚発生に影響するには至らないので

はないかと考えられる。本検討では培養液交換を行わない場合での成績を検討しておらず、今後の検討が必要であるが、少なくとも本検討において、無加湿型培養器は加湿型培養器と同等の培養成績および妊娠成績が得られることが明らかになった。

以上の結果および過去の報告から、培養液量や培養液交換などの培養条件について慎重に選択することが重要であるものの、ヒト受精卵培養において、無加湿型培養器は加湿型培養器同様の有用性があることが示唆された。

参考文献

- 1) Hadi T, Hammer MA, Algire C, Richards T, Baltz JM: Similar effects of osmolarity, glucose, and phosphate on cleavage past the 2-cell stage in mouse embryos from outbred and F1 hybrid females. *Biol Reprod*, 72: 179-187, 2005.
- 2) 横田梨恵・古橋孝祐・辻優大・大月純子・伊藤宏一・水澤友利・松本由紀子・若口昭次・塩谷雅英: 2種類の精子調整法における培養成績の比較. *日本 IVF 学会誌* 20: 21-24, 2017.
- 3) 角本知世・後藤栄・橋本洋美・泉陽子・江口素子・古橋孝祐・水田真平・田中里美・稲飯健太郎・片田雄也・宮田ちさと・米山雅子・黒田泰史・岸加奈子・松浦まき・後藤優介・東山龍一・成松美彩・松本由紀子・若口昭次・塩谷雅英: 2種類の培養液を用いた培養成績の検討. *日本臨床エンブリオロジスト学会講演抄録集・実技書*, 15: 24, 2009.
- 4) Veeck LL: Atlas of the human oocyte and early conceptus, 2nd ed, pp. 151-153, Williams & Wilkins Co, Baltimore, 1991.
- 5) Gardner DK and Schoolcraft WB: Towards reproductive certainty: Fertility & genetics beyond. *Proceedings of the 11th World Congress on in Vitro Fertilization & Human Reproductive Genetics*, pp. 347-371, Carnforth Parthenon Press, 1999.
- 6) 加藤泰宏・小熊惇平・奥原彩也香・佐藤渚・小川奈津・野尻由香・松浦大創・野村昌男・古井憲司: インキュベーターの違いによる培養成績の比較検討～加湿 VS ドライ～. *日本生殖医学会誌*, 63: S276, 2018.
- 7) 濱井晴喜・小野光樹子・寺村聡子・高田玲子・千川愛・中平理恵・岩橋和裕・早川ひとみ・大濱尚子・寺西明子・繁田実: 無加湿培養器の導入とその有効性について. *日本生殖医学会雑誌*, 57: S363, 2012.
- 8) 山本裕子・森本藍・大城章子・志田有加・榊原由佳・藤田智久・山口和香佐・俵史子: 胚培養において無加湿型インキュベーターは有効か?～無加湿型と加湿型インキュベーターの培養成績の比較検討から～. *日本卵子学会誌*, 31: S65, 2014.
- 9) Fawzy M, AbdelRahman MY, Zidan MH, Abdel Hafez FF, Abdelghafar H, Al-Inany H, Bedaiwy MA: Humid versus dry incubator: a prospective, randomized, controlled trial. *Fertil Steril*, 108: 277-283, 2017.
- 10) 湯本啓太郎・杉嶋美奈子・岩田京子・甲斐義輝・溝口千鶴・的場由佳・山内至朗・田中藍・岡田直緒・宮崎翔・経遠智一・中岡実乃里・松本郁美・森脇瞳・見尾保幸: 無加湿型インキュベータ使用時におけるミネラルオイル被覆培養液内の浸透圧変化. *日本生殖医学会誌*, 62: S105-106, 2017.

- 11) Baltz JM, Tartia AP : Cell volume regulation in oocytes and early embryos : connecting physiology to successful culture media. Hum Reprod Update, 16: 166-176, 2010.
- 12) Baltz JM : Connections between preimplantation embryo physiology and culture. J Assist Reprod Genet, 30: 1001-1007, 2013.
- 13) Sunde A, Brison D, Dumoulin J, Harper J, Lundin K, Magli MC, Van den Abbeel E, Veiga A : Time to take human embryo culture seriously. Hum Reprod, 31: 2174-2182, 2016.

反復する hatching 障害に対して AHA が有効であった一例

眞田 (ダハール) 佐知子¹, 中山 貴弘¹, 小濱 奈美¹, 澤田 守男², 畑山 博²

¹ 足立病院生殖内分泌医療センター 〒604-0837 京都市中京区間之町通押小路上る鍵屋町 481

² 足立病院産婦人科 〒604-0837 京都市中京区間之町通押小路上る鍵屋町 481

要旨: Assisted hatching(AHA)は、着床障害に対する治療法として、多くの施設で施行されている。ガイドラインが示されたものの、治療の有効性や適応については意見の分かれるところであり、各施設の判断に任されているのが現状である。今回、融解した胚盤胞のhatching障害を認め、ET前に急遽、AHAを行い妊娠に至った症例を経験したのでこれを報告する。38歳、0経妊。黄体化未破裂卵胞を繰り返すため、IVFを施行。5個の胚盤胞をDay5で凍結保存。凍結融解胚移植を施行する際、融解6時間後もhatching開始しておらず急遽AHAを行いETした。臨床的妊娠は成立したが、妊娠8週で自然流産となった。その後、2回目の凍結融解胚移植を行った。AHAを予定していなかったが、前回同様、hatching開始していなかったためAHAを行いETした。その後、妊娠成立し生児を得た。

キーワード: Assisted hatching(AHA), 凍結融解胚移植, 透明帯硬化, hatching 障害, 着床障害

緒 言

Assisted hatching (AHA) は、1990年にCohenらが発表して以来、着床障害に対する治療法として、多くの施設で施行されており^{1,2)}、高齢症例や胚移植反復不成功例、凍結融解胚において有効性が評価されている³⁻⁵⁾。しかし、現在のところ本治療法の明確な適応基準が無く、各施設での判断に任されているのが現状である。手技としても、zona thinningとzona drillingが提唱されており⁶⁾、それぞれに利点と欠点が指摘されている。このように、AHAの有効性や適応、方法については現在のところ一定の見解が得られていない状況である⁷⁾。

この要因として、AHAが有効な症例の出現頻度が低い可能性があり、症例ごとにAHAが必要であるか否かの検討が重要であると考えられる。今回、融解した拡張胚盤胞が透明帯の過伸展によるhatching障害を起こしている状態に遭遇し、移植前に急遽、rescue的なAHAを行い妊娠に至った症例を経験したので報告する。

症 例

38歳、0経妊0経産。結婚後3年間の不妊のため当院を受診し1年間不妊治療を行ったが、ほとんどの周期で黄体化未破裂卵胞(Luteinized Unruptured Follicle Syndrome, LUF)を繰り返して妊娠には至らなかった。

LUFによる排卵障害の適応のため、IVFを施行し、ショート法で10個の卵子を回収した。媒精法にて7個受精し、このうち5個が胚盤胞(Gardner分類3AB~4BB)に発生したためDay5で全て凍結保存した。この際、拡張胚盤胞の直径は320 μ mと巨大であったが全てhatchingを開始していなかった(図1)。凍結胚移植を行うために4BB胚を解凍し、6時間経過観察したところ透明帯の伸展によりhatching開始が期待できない状態(図2)であったため、急遽患者の同意を得て、Laser AHAを行い移植した。Laser AHAはOCTAX Laser Short System(Medical Technology; Germany)を用い、

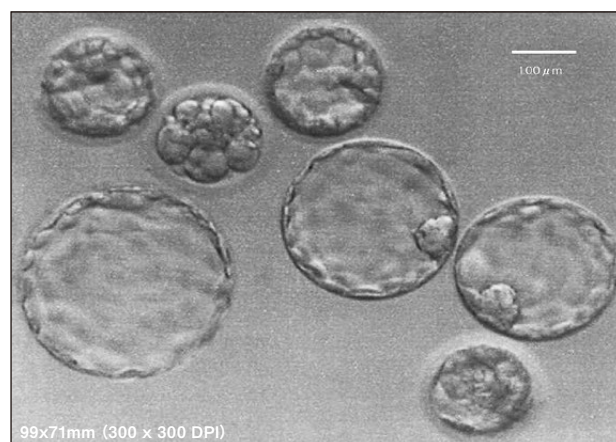


図1 Day5における凍結保存前の胚盤胞。拡張胚盤胞の直径は260~320 μ mと巨大であり、透明帯の菲薄化も著明であるが全てhatchingを開始していない。

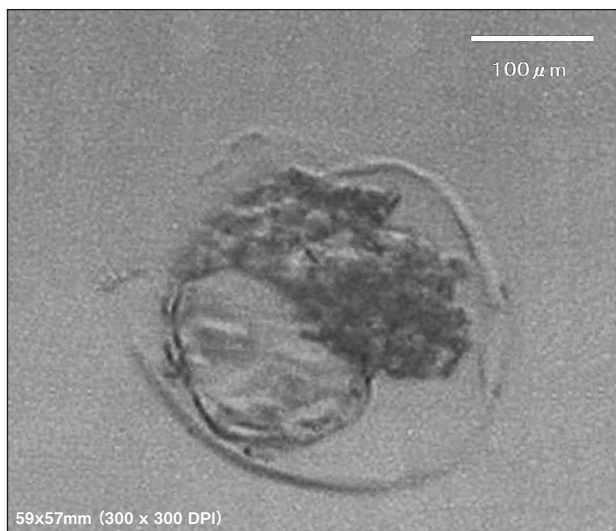


図2 第1回目解凍後の胚盤胞。透明帯は過伸展のため不整形である。この後、6時間観察するも胚盤胞実質の拡大にもかかわらず、透明帯は過伸展を続け hatching を開始できなかった。

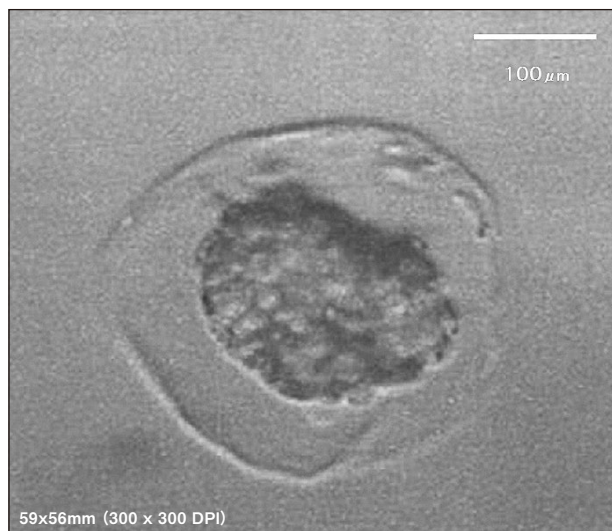


図3 第2回目解凍後の胚盤胞。前回同様、解凍6時間経過後も透明帯の伸展により hatching 開始が認められなかった。

1回照射時間を2.6msecとして4～5回照射により孔径約20 μm のzona drillingを行った。臨床的妊娠が成立したものの妊娠8週で自然流産となった。その後2回目の凍結胚盤胞移植を行った。AHAを予定していなかったが前回同様、解凍6時間経過後も胚盤胞直径360 μm にもかかわらずhatching開始が認められなかったため(図3)急遽Laser AHAを行い移植したところ妊娠成立し、その後の経過良好で妊娠41週で3,324gの男児を正常分娩した。

考 察

透明帯とは、13～15 μm の厚さをもつ糖タンパクで、受精から着床までの間で種々の重要な役割を果たしている⁸⁾。哺乳類のhatching現象は1929年に初めて観察された⁹⁾。胚の発育に伴う内部圧の上昇や胚より分泌される酵素などの作用により透明帯が伸展、非薄化・軟化され、一部に亀裂が生じて孵化する¹⁰⁾。そして2014年にTime-Lapseによる観察で、AHAによって胚盤胞がhatchingするまでの時間が短縮することや収縮回数が減少することがわかった¹¹⁾。

ART操作における媒精や胚培養環境、凍結融解操作が透明帯の硬化や肥厚の発生要因となることが報告されている¹²⁾。さらに透明帯の硬化や肥厚により引き起こされるhatching障害が形態良好胚盤胞移植時の着床不全の原因の一つになっていることも推測されている¹³⁾。AHAが適応とされている症例は、凍結融解

胚移植例¹⁴⁾、胚移植反復不成功例¹⁵⁾、高齢症例である。特に高齢者や凍結胚で、内分泌的变化、周辺組織からの溶解酵素の欠如が生じ、それによるhatching障害が引き起こされている可能性がある¹²⁾。また、AHAが有効であると考えられる透明帯の変化として、肥厚(17 μm 以上)、色調変化、変形、硬化が挙げられる。硬化以外の変化は判定しやすいが、質的異常とされる硬化についての評価は困難である。

AHAの有効性に関しては様々な議論があるが、American Society for Reproductive MedicineよりAHAに関するガイドライン¹⁶⁾が2014年に発表された。そこでも、反復不成功例においては、臨床的妊娠率の改善傾向が見られるとされている。しかし、AHAと多胎妊娠との関連性も示唆されており、全症例に施行すべきではないと警告されている¹⁷⁾。当院では、主に形態良好胚盤胞を用いた凍結融解胚移植が反復不成功であった症例をAHA適応としている。今回の症例は年齢や既往回数、透明帯肥厚などの適応ではなかったが、凍結時の胚盤胞がかなりの拡張発生を行っていたにもかかわらずhatching開始していなかった点と、融解6時間後も透明帯過伸展のため胚盤胞がhatching不可能な状態となっていることを考慮し、hatching障害の診断で急遽rescue的なAHAを行った。このhatching障害の原因としては、透明帯の異常な過伸展性と胚盤胞側の透明帯融解酵素の分泌不全が推測される¹⁸⁾。本症例がLUFを繰り返していたことも留意すべき点ではある。種々のサイトカインが排卵のメカニ

ズムに関与し、血管透過性の亢進やコラゲナーゼなどの蛋白分解酵素の産生を刺激するとされている¹⁹⁾。そこでLUFを繰り返す症例に、一連の排卵ネットワークに関与するサイトカインの異常がみられ、そのことがhatching障害にも影響している可能性も考えたが、LUFとhatching障害との関連性を示唆した報告は今のところない。

本症例ではhatching障害が2度にわたり観察されたことより、明らかに胚側の要因によるhatching障害が発生していたものと考えられた。また、AHAが妊娠成立に有効であったものと推測された。拡張胚盤胞が透明帯の過伸展によりhatchingを開始できない症例が認められたことにより、今後拡張胚盤胞のhatching開始の有無を移植前に評価することが重要である可能性が示された。そして、このような症例にはrescue的なAHAが有効であると考えられる。

参考文献

- 1) Cohen J, Elsner C, Kort H, Malter H, Massey J, Mayer MP, Wiemer K.: Impairment of the hatching process following IVF in the human and improvement of implantation by assisting hatching using micromanipulation. *Hum Reprod*, 5: 7-13, 1990.
- 2) Cohen J, Malter H, Fehilly C, Wright G, Elsner C, Kort H.: Implantation of embryos after partial opening of oocyte zona pellucida to facilitate sperm penetration. *Lancet*, 332: 162, 1988.
- 3) Jelinkova L, Pavelokova J, Strehler E, Paulus W, Zivny J, Sterzik K.: Improved implantation rate after chemical removal of zona pellucida. *Fertil Steril*, 79 (6): 1299-1303, 2003.
- 4) Mantoudis E, Podsiadly BT, Gorgy A, Venkat G, Craft IL.: A comparison between quarter, partial and total laser assisted hatching in selected infertility patients. *Hum Reprod*, 16 (10) : 2182-2186, 2001.
- 5) Petersen CG, Mauri AL, Baruffi RL, Oliveira JB, Massaro FC, Elder K, Franco JG.: Implantation failures: success of assisted hatching with quarter-laser zona thinning. *Reprod Biomed Online*, 10 (2) :224-229, 2005.
- 6) Yano K, Kubo T, Ohashi I, Yano C.: Assisted hatching using a 1.48- μ m diode laser: Evaluation of zona opening and zona thinning techniques in human embryos. *Reproductive medicine and biology*, 5: 221-226, 2006.
- 7) Nishino E, Moriwaki T, Yoshii K, Udagawa Y.: Chemical removal of zona pellucida versus laser assisted hatching after repeated failures of assisted reproductive technology. *Reprod Med Biol*, 5: 263-267, 2006.
- 8) Mohamad Eid Hammadeh, Constanze Fisher-Hammadeh Refaat Ali.: Assisted hatching in assisted reproduction: a state of the art. *J Assist Reprod Genet*, 28: 119-128, 2011.
- 9) Lewis WH, Gregory PW.: Cinematographs of living developing rabbit-eggs. *Science*, 69 (1782) : 226-229, 1921.
- 10) De Vos A, Van Steirteghem A.: Zona Hardening, Zona Dorling and Assisted Hatching: New Achievements in Assisted Reproduction. *Cells Tissues Organs*, 166: 220-227, 2000.
- 11) Goto M, Iwase A, Furusawa N, Kobayashi H, Kato N, Saito A, Mori M, Osuka S, Kondo M, Nakamura T, Nakahara T, Matsumoto H, Kikkawa F.: Time-lapse observations to analyze the effects of assisted hatching. *Reprod Med Biol*, 13: 217-221, 2014.
- 12) Lulu A. Al-Nuaim, Julian M. Jenkins. Assisted hatching in Assisted reproduction. *Obstet Gynecol Int J*, 109: 856-862, 2002.
- 13) Cohen J.: Assisted hatching of human embryos. *J In Vitro Fertil Embryo Transf*, 8: 179-190, 1991.
- 14) Vanderzwalmen P, Bertin G, Debauche Ch, Standaert V, Bollen N, van Roosendaal E, Vandervorst M, Schoysman R, Zech N.: Vitrication of human blastocysts with the Hemi-Straw carrier: application of assisted hatching after thawing. *Hum Reprod*, 18 (7) : 1504-1511, 2003.
- 15) Magli MC, Gianaroli L, Ferraretti AP, Fortini D, Aicardi G, Montanaro N.: Rescue of implantation potential in embryos with poor prognosis by assisted zona hatching. *Hum Reprod*, 13: 1331-1335, 1998.
- 16) Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine and Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology: Role of assisted hatching in vitro fertilization: a guideline. *Fertil Steril*, 102 (2) : 348-351, 2014.
- 17) Schieve LA, Meikle SF, Peterson HB, Jeng G, Burnett NM, Wilcox LS.: Does assisted hatching pose a risk for monozygotic twinning in pregnancies conceived through in vitro fertilization? *Fertil Steril*, 74 (2) : 288-94, 2000.
- 18) Polani B, Seshagiri, Venkatappa Vani, Pathak Madhulika: Cytokines and Blastocyst Hatching. *Am J Reprod Immunol*, 75: 208-217, 2016.
- 19) Shimada M, Umehara T, Hoshino Y.: Roles of epidermal growth factor (EGF)-like factor in the ovulation process. *Reprod Med Biol*, 15: 201-216, 2016.

第22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

メインテーマ

Seek for quality ART

～上質なARTの探求～

会期

2019年10月5日(土)～6(日)

会場

JR九州ホール及び会議室



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)	20
学術集会長挨拶 (第22回 日本IVF学会 学術集会長 / 蔵本 武志)	21
Program	22
会場アクセス	24
フロアマップ	25
お知らせ	26

Symposium 1 「ART を行うための理想的な培養液とは」

座長：IVF 大阪クリニック / 福田 愛作
近畿大学 / 三谷 匡

体外培養着床前胚の発生に及ぼす脱イオン化血清アルブミンの効果	28
株式会社 日本医化器械製作所 顧問開発研究員 / 山田 雅保	
ARTと培養液：培養は安全ではない	29
蔵本ウイメンズクリニック 研究室主任 / 村上 正夫	

ART Basic Lecture

座長：九州大学 / 山内 伸彦

生殖研究から探る生命の「始まり」と「終わり」.....	30
国立成育医療研究センター 生殖細胞医療研究部 室長 / 宮戸 健二	

生殖再生医療の進歩と今後の発展

座長：兵庫医科大学 / 柴原 浩章
セントマザー産婦人科医院 / 田中 温

ヒト生殖細胞試験管内誘導研究の現状と展望	31
京都大学 ヒト生物学高等研究拠点 拠点長/医学研究科・機能微細形態学 教授/ iPS細胞研究所連携併任研究者 / 斎藤 通紀	
生殖細胞誘導システムを構築するための動物細胞を用いた前衛的研究	32
九州大学医学研究院 ヒトゲノム幹細胞医学分野 教授 / 林 克彦	

日本臨床エンブリオロジスト学会

「よくわかる! 精巣内精子(細胞)の採取と選別 ～工夫、コツ、こだわり～」

座長：三宅医院 / 沖津 摂
加藤レディスクリニック / 上野 智

患者適応および精細管の状態から TESE の精細管処理を考える	33
リプロダクションクリニック大阪 培養部 部長 / 水田 真平	

当院におけるMD-TESEおよびROSIの実際	34
セントマザー産婦人科医院 / 竹本 洋一	
つじクリニックのTESE：精子回収予測と精子処理の実際	35
天神つじクリニック / 成吉 昌一	
顕微授精の成功率を上げるために ～実験動物における顕微授精の視点から～	36
理化学研究所 / 越後貴 成美	

我が国の生殖医療の課題と今後の方向性

	座長：大分大学 / 植原 久司 九州大学 / 加藤 聖子
着床前遺伝子診断の日産婦臨床研究の方向性	37
徳島大学大学院 医歯薬学研究部長 / 苛原 稔	
生殖医療の未来を考える ―生殖医学の進歩の中で―	38
内閣官房参与／慶應義塾大学 名誉教授／福島県立医科大学 副学長 / 吉村 泰典	

反復着床不全への対応（同時通訳）

	座長：山口大学 / 杉野 法広 広島HARTクリニック / 向田 哲規
The maternal factor in the embryonic implantation process: the microbiome and endometrial receptivity ..	39
The University of Valencia / Carlos Simón	
Time-lapse technology to improve the chances for poor-prognosis patients	41
ilabcomm GmbH創設者・CEO / Markus Montag	

Luncheon Seminar

	座長：福岡大学 / 宮本 新吾
新時代の ART はどこへ向かうのか?	43
埼玉医科大学産科婦人科 教授 / 石原 理	

オーストラリア生殖医学会 交換講演（同時通訳）

	座長：HORACグランフロント大阪クリニック / 森本 義晴
Polarised light microscopy of Meiotic Spindles in ICSI	44
FSA President / Michael Chapman	

がんと生殖医療

	座長：久留米大学 / 牛嶋 公生
がん・生殖医療の今後の展望	46
聖マリアンナ医科大学 産婦人科学 教授 / 鈴木 直	

Symposium 2「ART を受ける現代女性が抱える問題点とその解決策」

①働く女性のための解決策 ②卵巣予備能低下 (DOR) に対する解決策

座長：アイブイエフ詠田クリニック / 詠田 由美

松田ウイメンズクリニック / 松田 和洋

Random start ovarian stimulation の新しい展開 ～ medical indication から social indication へ ～ 47

フェニックス アート クリニック 院長 / 藤原 敏博

クロミフェン低刺激周期での診療の工夫 ～個々の症例に対してどう対応していくか～ 48

加藤レディースクリニック 院長 / 加藤 恵一

卵巣予備能低下症例に対する回収卵子数を増やす工夫 49

杉山産婦人科 理事長 / 杉山 カー

一般演題〔口頭発表〕

O-1 (当演題は取り下げとなりました) 50

O-2 メラトニンの卵巣加齢に対する予防効果および投与開始時期の検討 50

山口大学大学院医学系研究科産科婦人科学 / 田村 博史

O-3 胞胚腔形成時の遊離割球及びフラグメント除去 (Embryo Plasty) の有効性 51

広島HARTクリニック / 寄田 朋子

O-4 ヒト胚では8-16分割になる際に1-4番目に分裂を開始した細胞がICMになる 51

英ウィメンズクリニック, 岡山大学 / 大月 純子

O-5 多核胚とDirect Cleavage胚の臨床成績 52

蔵本ウイメンズクリニック / 渡辺 瞳

O-6 タイムラプスを用いたヒト1前核胚および2.1前核胚の解析 52

小牧市民病院 生殖医療センター / 糸井 史陽

O-7 発光ダイオード (LED) 光源がICSI成績に及ぼす影響について 53

英ウィメンズクリニック / 山上 一樹

O-8 体外受精における精液酸化還元電位を用いた受精予測 53

神奈川レディースクリニック / 長谷川 久隆

O-9 患者は必ずしも治療継続のために凍結胚を保管している訳ではない 54

松田ウイメンズクリニック / 末永 めぐみ

O-10 不妊治療を受けた妊婦の「妊娠リスクスコア」による周産期予後 54

英ウィメンズクリニック / 藤井 美喜

O-11 挙児希望女性における亜鉛不足の現状とプレコンセプションケアにおける課題 55

豊橋市民病院産婦人科 / 宮本 絵美里

O-12 プラセンタエキス含有サプリメント摂取は胚培養成績を改善するか？	55
仙台ARTクリニック / 山田 健市	
O-13 液体窒素タンクが破損した際に生じる外観・液体窒素量・内部温度の変化	56
IVF大阪クリニック / 小橋 朱里	
O-14 凍結直前の収縮胚盤胞が臨床成績へ与える影響	56
浅田レディースクリニック / 村上 加奈	
O-15 拡張した孵化胚盤胞をガラス化凍結する際に行う至適収縮処理法の考察	57
新橋夢クリニック / 大久保 毅	
O-16 当院における分割胚の融解時期による臨床妊娠率への影響	57
園田桃代ARTクリニック / 小林 正知	
O-17 精巣内精子と射出精子を用いたICSIの臨床成績の比較	58
醍醐渡辺クリニック / 川辺 美里	
O-18 ICSI時の紡錘体観察は培養成績を向上させるのか	58
英ウィメンズクリニック / 井頭 千明	
O-19 細胞膜が低伸展性だった卵の発育能は低い	59
岡山二人クリニック / 花谷 美香	
O-20 40歳以上患者におけるPiezo-ICSIの有用性について	59
英ウィメンズクリニック / 岸 加奈子	
O-21 電気刺激法とカルシウムイオノファーによる卵子活性化に関する研究	60
セントベビークリニック / 藤江 周一朗	
O-22 高プロラクチン血症の治療後にIVF成績は改善するのか？	60
IVFなんばクリニック / 村井 未来	
O-23 採卵決定日にLHサージ開始した採卵周期におけるレルゴリクスの排卵抑制効果の検討	61
杉山産婦人科 新宿 / 中尾 佳月	
O-24 増加する就労女性患者に対する当院の取り組み～ランダムスタート法による調節卵巣刺激法の活用～	61
蔵本ウィメンズクリニック / 加藤 裕之	
O-25 反復着床障害症例に対する子宮内膜受容能診断 日付診からEndometrial Receptivity Analysis (ERA [®])へ 当院での検討	62
ソフィアレディースクリニック水道町 / 平井 佐和子	
O-26 プロゲステロン膣坐薬別のHRT-ET周期での血中プロゲステロン濃度測定の必要性	62
後藤レディースクリニック / 藤岡 美苑	
O-27 凍結胚移植時の各種黄体ホルモン製剤による血中プロゲステロン値と妊娠成績の検討	63
仙台ARTクリニック / 品川 真澄	
O-28 自動タイムラプスインキュベーターにタイムラプス歴10年の培養士スキルは活かせるか	63
豊橋市民病院総合生殖医療センター / 古井 憲作	

O-29	Direct Cleavage由来胚でも形態良好胚盤胞であれば妊娠率は低下しない	64
	つばきウイメンズクリニック / 坂井 和貴	
O-30	Day4胚盤胞は第一選択か?～融解胚移植における胚盤胞の選択順位～	64
	ARTクリニックみらい / 安田 忠頼	
O-31	(当演題は取り下げとなりました)	65
O-32	次世代シーケンサー (NGS) を用いた流産絨毛組織の解析の検討	65
	広島HARTクリニック / 後藤 優介	
O-33	胞胚腔内残存割球における臨床成績と予後の検討	66
	高橋ウイメンズクリニック / 小島 勝志	
O-34	OPN由来胚盤胞の臨床成績についての検討	66
	高橋ウイメンズクリニック / 渡辺 慶	
O-35	C-IVF由来の1PN胚だけではなくICSI由来の1PN胚も臨床的に有用である	67
	浅田レディースクリニック / 辻 暖永	
O-36	当クリニックにおける10年間の人工授精 (21,606周期) の検討	67
	高橋ウイメンズクリニック / 前島 滯	
O-37	運動精子選別装置「ミグリス」と従来法における精子調整法の比較	68
	英ウイメンズクリニック / 鈴木 理恵	
O-38	受精予測式を用いたIVF, ICSIの受精方法選択と実際の臨床成績	68
	英ウイメンズクリニック / 江夏 徳寿	
O-39	自宅から精液持参する場合, 受精方法変更リスクが冬季で上昇する	69
	IVFなんばクリニック / 佐藤 学	
O-40	培養液開封後の経過日数が胚の培養成績に及ぼす影響	69
	九州大学産婦人科 / 遠藤 祐子	
O-41	反復ART症例における抗酸化物質添加培養液の有効性についての比較検討	70
	つばきウイメンズクリニック / 笹峯 梢	
O-42	初期胚培養のGM-CSF使用は, 凍結融解胚移植周期において妊娠率向上に寄与する	70
	聖マリアンナ医科大学 産婦人科学 / 古山 紗也子	

学術集会 共催・協賛企業・後援一覧	71
日本IVF学会雑誌発行における投稿論文募集のお知らせ	72
日本IVF学会雑誌 投稿規定	73
一般社団法人 日本IVF学会 定款	75
一般社団法人 日本IVF学会 役員	81
編集委員会	82

ごあいさつ

第22回日本IVF学会学術集会は蔵本武志大会長のもと、福岡で開催されます。本学会は、ARTを取り扱う唯一の学会として、長年にわたって親しまれて参りました。本学会の歴史の長さそして影響力の大きさを顧みますとそれは本邦のARTの歴史そのものであったと言っても過言ではありません。蔵本大会長は、第22回のテーマとして「Seek for Quality ART」を掲げられました。生殖医療が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る中、原点に立ち返って「Quality」の大切さを再確認することは、我が国の「ART」の状況を的確に捉えたものと言えます。

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との共催、そして40演題を越すOral Presentationとともに国内のみならず海外演者によるState-of-the Artのプログラムが予定されています。まさにテーマである「Seek for Quality ART」に相応しい国際的な大会になるものと確信しております。

いまさら言うまでもなく、福岡は観光、ショッピング、グルメと、どれをとっても素晴らしい所です。そして10月の福岡は一年を通じて最高のシーズンを迎えます。IVFに関係しておられる皆様、どうか福岡まで足を運ばれ、基礎から臨床の先生方の貴重なお話、そして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、ともに「Seek for Quality ART」について語り合いましょう。プログラムを見ていただけるとお分かりいただけますが、どれも聞き逃したくないものばかりです。多くの方のご参加を切にお待ちしております。

令和元年秋

一般社団法人 日本IVF学会
理事長 塩谷 雅英

ごあいさつ

日本 IVF 学会は、ART の有効性と安全性の向上を目的に、国内外の最新の知見を共有し、活発な議論のもと生殖医療従事者の研鑽に 20 年来努めてまいりました。そして今回平成から令和に元号が変わった記念すべき年に第 22 回日本 IVF 学会学術集会を福岡で開催する運びとなり、大会長を務めさせていただくことをたいへん光栄に存じます。

わが国の ART 治療周期数は年々増加の一途をたどり約 45 万件に達し、ART による出生児数も累計で 50 万人を超え、今年年間約 18 人に 1 人が ART によって生まれています。治療件数ならびに技術水準においてもわが国は、世界をリードする立場にあると言っても過言ではありません。しかしその一方で、少子高齢化、晩婚化・晩産化の傾向は否めず、その結果難治症例が増えており、技術の進歩に反して ART の妊娠率が低下しているのが現状です。

生殖医療の治療の対象が単に患者だけではなく、その子孫や家族にまで及ぶものであることを考えるときに、我々医療従事者は改めて責任の重さを痛感するとともに、常に現状に満足することなく、より安全で質の高い治療を追求しなければならないと常々感じております。そこで今回の本学術集会のテーマは『Seek for quality ART ～上質な ART の探求～』と題して、ART 全般を網羅し、臨床・研究・患者サイドからより満足のいく ART について考えたいと思います。

内容は、1 日目に培養液に関するシンポジウム、また共生細菌やエクソソームが生殖に関わる役割について、ES/iPS 細胞を用いた生殖細胞作出など、最新の研究結果についてご講演いただきます。2 日目は、日本及び世界の ART の最新の情勢、日本が今後進むべき方向性や課題について、がんと生殖医療について、着床不全の対策についての講演や、働く女性に優しい生殖医療について 3 施設からの発表によるシンポジウムを予定しています。またオーストラリア生殖医学会からの交換講演として Michael Chapman 先生に Poloscope を用いた ICSI についてご講演頂きます。

10 月 5 日（土）の懇親会では会場近くのホテル日航福岡におきまして、博多屋台風九州一円の名物料理と美味しいお酒を取り揃えての歌姫による素晴らしいコンサートをお楽しみください。限られた時間ではございますが、どうぞ博多の夜も満喫してください。

会場のある JR 博多シティは JR 博多駅直結で鉄道の便もよく、さらに福岡空港から地下鉄で約 5 分と全国各地からのアクセスも非常に恵まれております。一人でも多くの皆様のご参加を心よりお待ち申し上げます。

令和元年秋

第22回 日本 IVF 学会
学術集会長 蔵本 武志

2019 年 10 月 5 日 (土)

第1会場 9階 JR九州ホール

時間	区分／テーマ	演題	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	学術集會会長挨拶	Seek for quality ART	蔵本武志 (蔵本ウィメンズクリニック)
13:10～13:50	Symposium1 「ARTを行うための理想的な培養液とは」	体外培養着床前胚の発生に及ぼす脱イオン化血清アルブミンの効果	山田雅保 (株式会社 日本医化器械製作所)
		ARTと培養液:培養は安全ではない	村上正夫 (蔵本ウィメンズクリニック)
13:50～14:20	ART Basic Lecture	生殖研究から探る生命の「始まり」と「終わり」	宮戸健二 (国立成育医療研究センター)
14:20～14:40	Coffee break		
14:40～15:10	生殖再生医療の進歩と今後の発展	ヒト生殖細胞試験管内誘導研究の現状と展望	斎藤通紀 (京都大学)
15:10～15:40		生殖細胞誘導システムを構築するための動物細胞を用いた前衛的研究	林 克彦 (九州大学)
15:40～16:00	Coffee break		
16:00～18:00	日本臨床エンブリオロジスト学会 「よくわかる! 精巣内精子(細胞)の採取と選別 ～工夫、コツ、こだわり～」	患者適応および精細管の状態からTESEの精細管処理を考える	水田真平 (リプロダクションクリニック大阪)
		当院におけるMD-TESEおよびROSIの実際	竹本洋一 (セントマザー産婦人科医院)
		つじクリニックのTESE:精子回収予測と精子処理の実際	成吉昌一 (天神つじクリニック)
		顕微授精の成功率を上げるために ～実験動物における顕微授精の視点から～	越後貫成美 (理化学研究所)
18:30～20:30	懇親会 ホテル日航福岡「都久志の間」～九州各地の名物料理をご堪能ください～		

2019 年 10 月 6 日 (日)

第1会場 9階 JR九州ホール

時間	区分／テーマ	演題	演者
9:00～9:30	我が国の生殖医療の課題と今後の方向性	着床前遺伝子診断の日産婦臨床研究の方向性	苛原 稔 (徳島大学)
9:30～10:00		生殖医療の未来を考える 一生殖医学の進歩の中で一	吉村泰典 (内閣官房参与／慶應義塾大学名誉教授／福島県立医科大学副学長)
10:00～10:20	Coffee break		
10:20～11:00	反復着床不全への対応 (同時通訳)	The maternal factor in the embryonic implantation process: the microbiome and endometrial receptivity	Carlos Simón (The University of Valencia)
11:00～11:30		Time-lapse technology to improve the chances for poor-prognosis patients	Markus Montag (ilabcomm GmbH)
11:40～12:40	Luncheon Seminar	新時代のARTはどこへ向かうのか?	石原 理 (埼玉医科大学)
12:40～13:00	Coffee break		
13:00～13:30	年次総会および優秀演題表彰		
13:30～14:00	オーストラリア生殖医学会 交換講演 (同時通訳)	Polarised light microscopy of Meiotic Spindles in ICSI	Michael Chapman (FSA President)
14:00～14:30	がんと生殖医療	がん・生殖医療の今後の展望	鈴木 直 (聖マリアンナ医科大学)
14:30～14:50	Coffee break		
14:50～15:55	Symposium2 ARTを受ける現代女性が抱える問題点とその解決策 ①働く女性のための解決策 ②卵巣予備能低下(DOR)に対する解決策	Random start ovarian stimulation の新しい展開 ～medical indicationからsocial indicationへ～	藤原敏博 (フェニックス アート クリニック)
		クロミフェン低刺激周期での診療の工夫 ～個々の症例に対してどう対応していくか～	加藤恵一 (加藤レディースクリニック)
		卵巣予備能低下症例に対する回収卵子数を増やす工夫	杉山カー (杉山産婦人科)
15:55～16:00	閉会の辞／次期会長挨拶		向田哲規 (広島HARTクリニック)

	座長	専門医機構 領域講習受講単位
	福田愛作（IVF大阪クリニック）	
	三谷 匡（近畿大学）	
	山内伸彦（九州大学）	
	柴原浩章（兵庫医科大学）	○
	田中 温（セントマザー産婦人科医院）	
	沖津 摂（三宅医院）	
	上野 智（加藤レディースクリニック）	

第2会場 10階 会議室		
時間	区分／演者	座長
13:20～13:56	口頭演題発表 A 4 題 (O-1 ～ 4)	浅田義正（浅田レディースクリニック）
13:56～14:32	口頭演題発表 B 4 題 (O-5 ～ 8)	吉田仁秋（仙台 ART クリニック）
14:32～15:08	口頭演題発表 C 4 題 (O-9 ～ 12)	田村博史（山口大学）
15:08～15:44	口頭演題発表 D 4 題 (O-13 ～ 16)	吉田淳（木場公園クリニック）
15:44～16:29	口頭演題発表 E 5 題 (O-17 ～ 21)	渡邊良嗣（福岡山王病院）
16:29～16:56	口頭演題発表 F 3 題 (O-22 ～ 24)	江頭活子（九州大学）
16:56～17:23	口頭演題発表 G 3 題 (O-25 ～ 27)	三田尾 弘（久留米大学）
16:00～17:00	理事会（9階 会議室 2）	

	座長	専門医機構 領域講習受講単位
	楳原久司（大分大学）	○
	加藤聖子（九州大学）	
	杉野法広（山口大学）	○
	向田哲規（広島HARTクリニック）	
	宮本新吾（福岡大学）	○
	森本義晴（HORACグランフロント大阪クリニック）	
	牛嶋公生（久留米大学）	
	詠田由美（アイブイエフ詠田クリニック）	○
	松田和洋（松田ウイメンズクリニック）	

第2会場 10階 会議室		
時間	区分／演者	座長
9:00～9:27	口頭演題発表 H 3 題 (O-28 ～ 30)	神谷博文（神谷レディースクリニック）
9:27～9:45	口頭演題発表 I 2 題 (O-31 ～ 32)	矢野浩史（矢野産婦人科）
9:45～10:12	口頭演題発表 J 3 題 (O-33 ～ 35)	古賀文敏（古賀文敏ウイメンズクリニック）
10:12～10:48	口頭演題発表 K 4 題 (O-36 ～ 39)	井上善仁（井上善レディースクリニック）
10:48～11:15	口頭演題発表 L 3 題 (O-40 ～ 42)	竹内一浩（竹内レディースクリニック）

会場アクセス

JR 博多駅 構内図



JR九州ホール及び会議室（JR 博多駅より直結）
住所：〒812-0012 福岡市博多区博多駅中央街1番1号
TEL：092-292-9258

■ JR 博多駅

● 飛行機をご利用の場合

福岡市地下鉄空港線 福岡空港駅から姪浜・唐津方面行き、地下鉄博多駅下車徒歩3分

■ 学会受付（JR 博多シティ 10F）

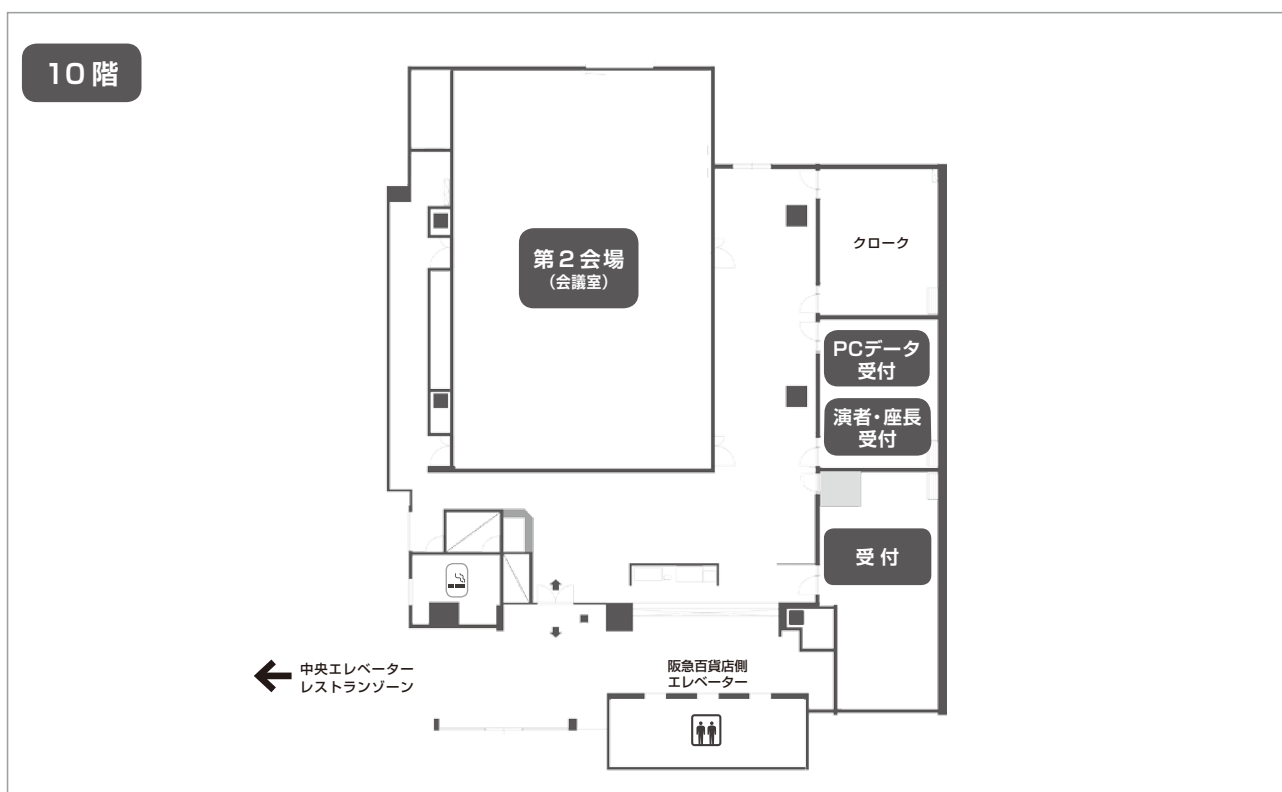
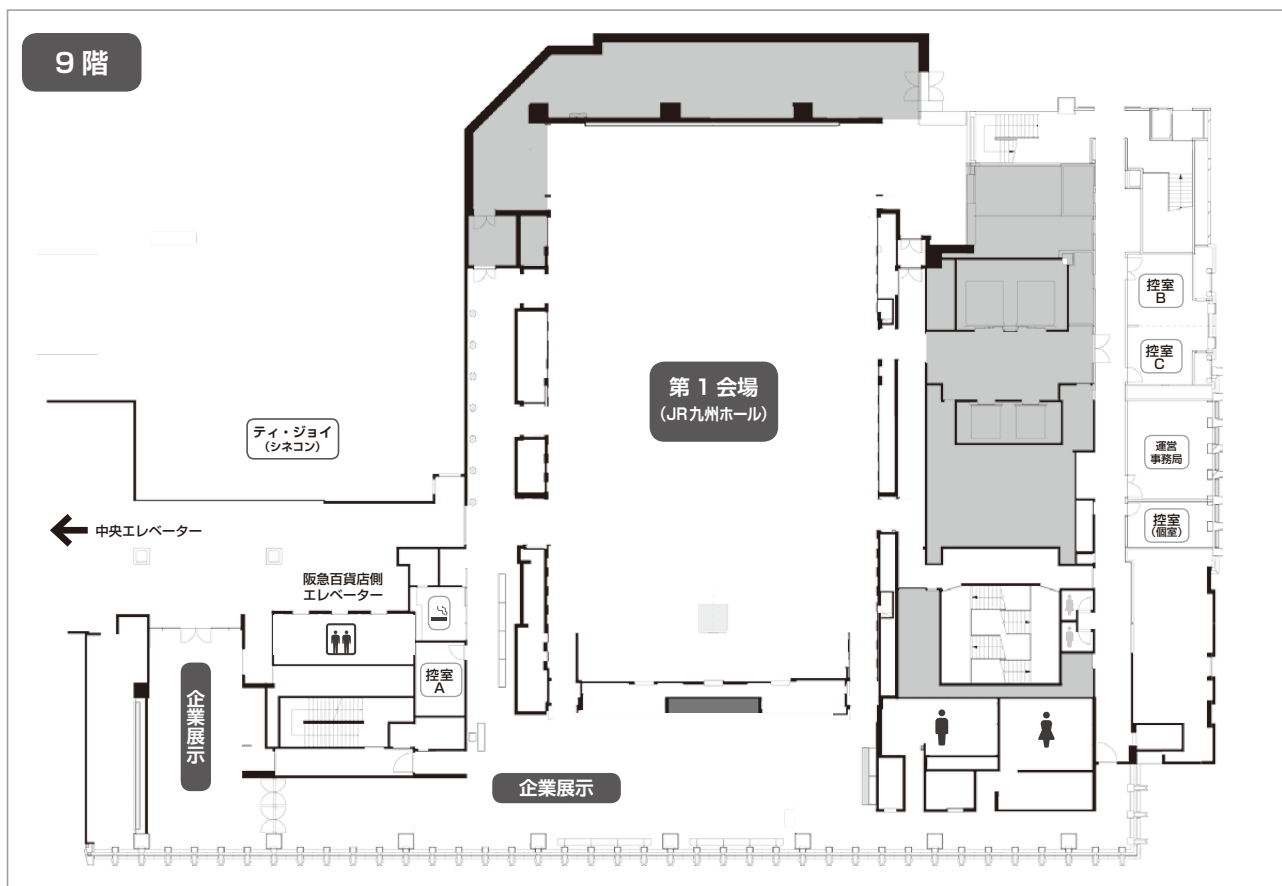
博多駅の【博多口側】から会場へお越し下さい。

- 『中央エレベーター』もしくは『博多阪急百貨店側（博多口）エレベーター』をご利用下さい。
- 「アミュプラザ博多」「博多阪急百貨店」内のエスカレーターも併せてご利用下さい。

※2日目、10月6日（日）の朝は、阪急百貨店側（博多口）エレベーターと中央エレベーターが8：00よりご利用いただけます。

フロアマップ

JR 九州ホール及び会議室



お知らせ

第22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

●概要

会期：2019年10月5日（土）12：55～6日（日）16：00

会場：JR九州ホール及び会議室

〒812-0012 福岡市博多区博多駅中央街1番1号 TEL:092-292-9258

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

			事前参加登録割引 (2,000 円割引)	当日
大会参加費	会員	医師	20,000 円	22,000 円
		医師以外	10,000 円	12,000 円
	非会員	医師	23,000 円	25,000 円
		医師以外	13,000 円	15,000 円
懇親会	一律 3,000 円			

※事前参加登録割引は2019年9月14日（土）12：00までのお申込みに適用されます。

●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円で販売いたします（数に限りがございます）。

●専門医などの出席証明について

1) 日本産科婦人科学会専門医研修出席証明

「e 医学会カード」による専門医研修出席証明を行いますので、会員の皆様は、「e 医学会カード」をご持参ください。

2) 日本産婦人科医会研修参加証

研修参加証シールを発行いたします。（1日1枚）

3) 日本生殖医学会生殖医療専門医

日本生殖医学会生殖医療専門医更新ポイント5点が加算されます。当日受付にて芳名帳を用意いたします。会員カードをご提示のうえご記名をお願いいたします。

4) 日本専門医機構単位付与講習

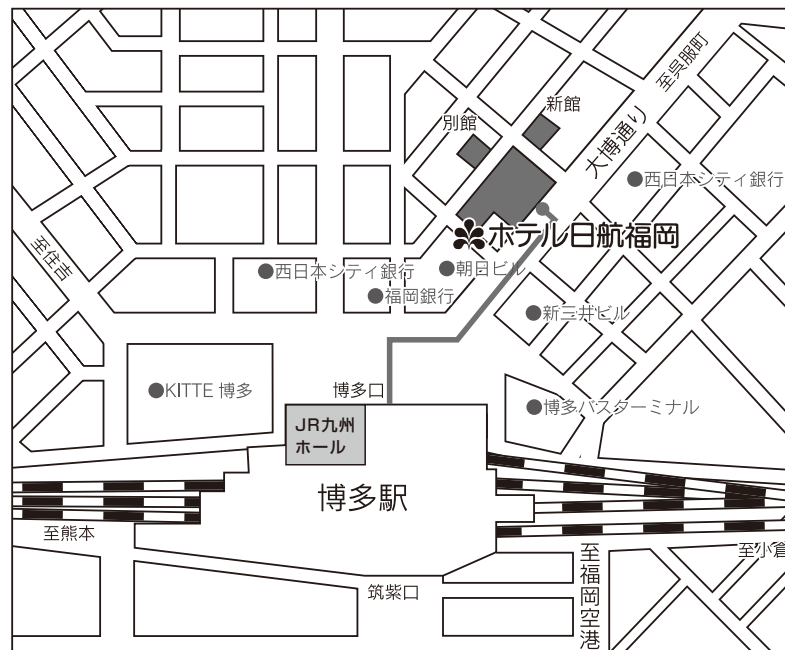
「e 医学会カード」による講習受講証明を行いますので、「e 医学会カード」をご持参ください。日本専門医機構学術集会参加単位3ポイントが付与されます。また、プログラム「専門医機構領域講習受講単位」に○印がついているセッション（2日間合計5セッション）については、それぞれ1セッションごとに1ポイントの日本専門医機構産婦人科領域講習受講単位が付与されます。

●懇親会

日時：10月5日（土）18：30より

会場：ホテル日航福岡3階「都久志の間」

懇親会会場アクセス（JR博多駅博多口より徒歩3分）



体外培養着床前胚の発生に及ぼす脱イオン化血清アルブミンの効果



山田 雅保

(株)日本医化器械製作所
顧問開発研究員

略 歴

1978年3月 岡山大学大学院農学研究科畜産学専攻修了
4月 創和会重井医学研究所研究員
1979年9月 岡山大学医学部第一病理学研究生
1987年9月 岡山大学医学博士を取得
1990年5月 米国カリフォルニア大学ロサンゼルス校分子生物学研究所研究員
1992年6月 京都大学農学部畜産学科助教授
2000年4月 京都大学大学院農学研究科応用生物科学専攻准教授
2019年4月 (株)日本医化器械製作所顧問開発研究員

血清アルブミンは、膠質浸透圧調節や、微量成分のキャリアーとしての働き、そしてアミノ酸の供給源など、多様な作用を持っている。近年、血清アルブミンがそのレセプターに結合することで細胞内シグナル伝達因子や転写因子を特異的に活性化させることから、細胞の増殖、分化への関与が示唆されている。ところが、血清アルブミンは胚発生のある卵管液の主要タンパク質であるにもかかわらず、胚発生におけるその役割については未だに不明な点が残されている。この原因の一つに、市販の血清アルブミンには胚の着床前発生にとって有害な Zn^{2+} や Cu^{2+} などの重金属イオンのような物質がごく微量混入していることが原因の一つと考えられる。実際これまでに、このような混入物質を除去するために、イオン交換樹脂による脱イオン化処理が試みられており、脱イオン化ウシ血清アルブミン(deionized BSA, dBSA)にヒト骨髄細胞のコロニー形成やヒトES細胞の分化誘導を促進する活性が認められている。本講演では、体外培養での受精胚および体細胞核移植胚の発生に及ぼす脱イオン化血清アルブミンの促進効果について述べる。

マウス受精胚の体外培養では、金属キレート剤であるEDTAと合成ポリマーであるPVPを含むKSOM培地(KSOM+)が一般に使用されている。EDTA不含KSOM培地(KSOM-)では、ICRやddY系マウスの受精胚は2細胞期で発生を停止する。また、AKR系マウスでは、KSOM+培地でも2細胞期での発生停止現象が起こり、その解除には培地からリン酸を除去する必要がある。しかし、KSOM-培地においてもdBSAの添加によって、上記のいずれの系統のマウス受精胚も2細胞期を超えて高率に胚盤胞期へ発生する。

マウス体細胞核移植胚の発生もdBSAによって促進される。ホノルル法では、ドナー体細胞(卵丘細胞)を高濃度のPVPを含むインジェクション液とともに除核卵母細胞内に注入することによって再構築胚が作成される。PVPは細胞内で分解されないことから、

その発生に悪影響を及ぼす懸念が持たれる。そこで、PVPの代わりにdBSAを注入したところ、再構築胚の前核期および2細胞期でのヒストンH3K9およびH4K12のアセチル化レベルの増強とともに、着床前発生のみならず着床後のクローン産仔への発生が促進された。以上述べたdBSAの受精胚および体細胞核移植胚の発生を促進する活性は、脱イオン化ヒト血清アルブミンに存在し、無処理血清アルブミンや脱イオン化処理γグロブリンには認められない。従って、脱イオン化血清アルブミンの胚発生促進メカニズムは明らかではないが、体細胞核移植胚に注入された場合、それは胚性ゲノム活性化時期における遺伝子発現のエピジェネティック制御を介して胚発生を促進することが示唆される。

ARTと培養液：培養は安全ではない



村上 正夫

蔵本ウイメンズクリニック
研究室主任

略 歴

1999年	山口大学大学院連合獣医学研究科終了
1999～2002年	米国ルイジアナ州立大学アニマルサイエンス学部ポスドク
2002～2004年	山口大学大学院ベンチャービジネスラボラトリーポスドク
2004～2006年	大阪大学微生物病研究所実験動物施設助手
2007～2009年	中国青島農業大学研究員
2009年～	蔵本ウイメンズクリニック研究室主任

当院では、ヒトIVFのモデルに主にウシ胚を用い、より安全で効果的な培養液の検討を行っている。私がウシIVFの実験を始めた1995年当時、IVFは、広く人々の貴重なタンパク源になるウシを効率よく増やす、あるいは遺伝子導入（や後の体細胞クローン）技術と組み合わせ、ミルクから医薬品（血液凝固因子等）を大量生産するなど、新しく実用的な仕事に感じた。しかし、当時の技術では、IVF胚は体内由来胚と形態や発育動態が大きく異なる（発育異常が起こる）のが文献や現場体験ですぐに分かった。これには桑実胚～胞胚腔形成の異常（premature blastulation）、胚質（耐凍能）低下、過大仔などがあり、大きな原因の一つに、胚盤胞形成を促すため培養液に加える全血清が挙げられた。その後の研究蓄積で、低酸素培養やアミノ酸添加も普及し、現在ヒトIVFでは、品質管理された血清不在の市販液で良好胚が培養できる。しかし、血清アルブミンや代替血清などの血清由来成分は依然添加されており、上述に関連する危険性は否めない。また、いくら培養環境が改善されても、健康な体内環境には遠く及ばず、胚にとって不自然な環境なのには変わりはない。ここでは、過去の経緯を基に、今我々が取り組んでいる培養液の検討の意義と概略も一部紹介したい。

生殖研究から探る生命の「始まり」と「終わり」



宮戸 健二

国立成育医療研究センター
生殖細胞医療研究部室長

略 歴

1990年 4月～1994年 3月 九州大学医学研究科分子生命科学専攻(理学博士)
1994年 4月～1997年 3月 東海大学医学部研究員
1997年 4月～2000年 3月 久留米大学分子生命科学研究所研究員
2000年 4月～2003年 8月 大阪大学微生物病研究所助手
2002年11月～2006年 3月 JST さきがけ21 研究員兼任
2003年 9月～2010年 3月 国立成育医療センター研究所生殖医療研究部室長
2010年 4月～現在 国立成育医療研究センター生殖細胞医療研究部室長
2015年～現在 連携大学院教授(東京農業大学農学研究科)
2016年～現在 非常勤講師(筑波大学グローバル教育院)
2019年～現在 連携大学院准教授(埼玉大学理学研究科)

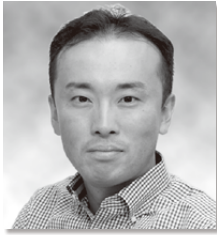
卵は有限な細胞である。一方、精子は卵に比べて体内で大量に作ることができるが、運動できない精子は自分の力では卵にたどり着くことはできない。しかしながら、生殖補助医療(ART)では運動できなくても、1個の精子があれば、細胞質内精子注入法(ICSI法)を用いて子供が誕生することが可能である。さらに、受精卵を凍結し、融解して施術に用いることが、ARTの分野でも一般的になってきた。しかしその結果、いくつかの問題点が出てきた。

日本産婦人科学会に登録された不妊治療ビッグデータの解析から、凍結融解胚を用いた場合、自然分娩に比べて新生児の体重が50グラム、新鮮胚を用いたARTで産まれた新生児に比べて100グラム体重が重くなることがわかった。出産時の体重増加は、低体重に比べて発育の点からは良いとも考えられるが、その後の体重や健康に問題がないか今のところ不明である。また、50グラムや100グラムといった一定の体重差が存在することから、特定の臓器に凍結融解の影響が出ていることも危惧される。特に、脳に障害が出た場合、発達障害や発達遅延につながる危険性がある。そのため、現在の技術の安全性を向上させるために、さらなる改善、または全く異なる原理に基づいたARTの確立が必要になるかもしれない。

こうした状況の中、生殖研究を出発点として、様々な研究開発の芽が産まれている。例えば、精子を「女性の腫瘍をターゲットにした抗がん剤の運び屋」といった研究も行われている。精子の本来の目的は、DNAを特定の目標(すなわち卵)に届け、卵と融合してその中身を注ぎ込むことにある。鞭毛をもつ精子は、これを自律的に行っている。さらに精子は、生殖器官内部の敵対的な状況(免疫系の攻撃による破壊)に抵抗するための装備ももっている。一方、腔内にはLactobacillus属などの乳酸菌が共生細菌として存在することが知られている。さらに、反復着床不全においては有意に子宮内膜炎の発症が見られ、抗生剤投与によって、移植あたり10%程度の妊娠率が

改善するとの報告がある。こうした結果から、正常な共生細菌が妊娠の成立に重要であると推測される。つまり、共生細菌が産生するD-アミノ酸が生殖機能におよぼす役割が注目されるようになってきている。さらには、近年注目されている細胞外微粒子であるエクソソーム(特にマイクロエクソソーム)の研究も生殖分野で進んでいる。今回は、生殖の基礎研究について、「精漿、共生細菌、ミトコンドリア、エクソソーム」の役割に絞って紹介し、今後の生殖研究の動向について議論したい。

ヒト生殖細胞試験管内誘導研究の現状と展望



斎藤 通紀

京都大学
ヒト生物学高等研究拠点
拠点長
医学研究科・機能微細形態学
教授
iPS細胞研究所連携併任研究者

略 歴

1995年	京都大学医学部卒業
1999年	京都大学大学院医学研究科修了[博士(医学)(月田承一郎教授)]
1999～2003年	Gordon Institute, Travelling Research Fellow/Senior Research Associate (Azim Surani教授)
2003～2009年	理化学研究所発生・再生科学総合研究センターチームリーダー
2009年～	京都大学大学院医学研究科教授
2011～2018年	科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業 ERATO 研究総括
2018年～	京都大学 iPS細胞研究所連携併任研究者
	京都大学高等研究院教授／ヒト生物学高等研究拠点拠点長

生殖細胞は、精子・卵子に分化し、その融合により新しい個体を形成、我々の遺伝情報やエピゲノム情報を次世代に継承する細胞である。生殖細胞の発生機構の解明は、遺伝情報継承機構・エピゲノム制御機構の解明や幹細胞の増殖・分化制御技術の開発、不妊や遺伝病発症機序の解明につながる。

我々は、培養ディッシュ上で、マウスES細胞/iPS細胞から、精子・卵子、さらには健常な産仔に貢献する能力を有する始原生殖細胞様細胞を誘導する技術を開発した。また本培養系を用いて、始原生殖細胞を誘導する転写・シグナル機構の解明、エピゲノムリプログラミングの本態の解明、始原生殖細胞の増殖法の開発、始原生殖細胞から精子幹細胞の試験管内誘導、卵母細胞分化・減数分裂誘導機構の解明などに成功した。また、これら成果を基盤に、ヒトiPS細胞からヒト始原生殖細胞様細胞を誘導する技術を開発した。また、ヒト生殖細胞の試験管内誘導技術を発展させるため、実験動物として使用しうる霊長類の中でヒトに最も近縁のカニクイザルを用いた研究を推進し、マウス・サル・ヒトにおける多能性スペクトラムの発生座標を解明、霊長類生殖細胞系譜が初期羊膜を起源とすることを見出した。さらに、最近、ヒト始原生殖細胞様細胞を卵原細胞に成熟させ、エピゲノムリプログラミングを誘導することに成功した。

本講演では、ヒト生殖細胞試験管内誘導研究に関する我々の最新の研究成果と今後の展望を議論したい。

生殖細胞誘導システムを構築するための 動物細胞を用いた前衛的研究



林 克彦

九州大学大学院
医学研究院
ヒトゲノム幹細胞医学分野
教授

略 歴

2004年	理学博士(東京理科大学)
2004～2005年	大阪府立母子保健総合医療センター常勤研究員
2005～2009年	ケンブリッジ大学ガードン研究所研究員
2009～2014年	京都大学医学研究科講師(2012年より准教授)
2011～2014年	京都大学iPS細胞研究所特任講師(兼任)
2011～2015年	科学技術振興機構さきがけ研究員(兼任)
2014年～	九州大学大学院医学研究院教授

体外培養下でES細胞やiPS細胞から精子や卵子を作り出すことができれば、配偶子形成メカニズムの解明や、個体の作製に貢献する。我々はこれまでにマウスのES/iPS細胞から機能的な卵子を分化誘導する体外培養法を開発した。この培養系ではES/iPS細胞を始原生殖細胞(生殖細胞系列の起源)に一旦分化させたのちに、胎仔卵巣の体細胞と再凝集して疑似卵巣を作製する。これらの疑似卵巣を培養膜上に保持することにより、ES/iPS細胞由来の始原生殖細胞は卵母細胞へ分化し、最終的には第二極体を放出した成熟卵子へと分化する。これらの卵子のいくつかは、野生型の精子と受精したのちに、個体にまで発生する。一方で、ES/iPS細胞から分化させた始原生殖細胞は胎仔精巣と再凝集すると精原細胞となることが知られている。それらの精原細胞は成体の精巣への移植により、受精可能な精子に分化する。

これまで述べたように、ES/iPS細胞から誘導される配偶子をヒトにおいて利用することは近い将来のように思われるが、実際には倫理的な課題はもとより、技術的な課題が多く存在する。技術的な課題は二つに大別され、ひとつは種間(マウスとヒト)の違いをどう埋めるかという課題、もうひとつは配偶子分化培養システムそのものの問題をどう解決するかという課題である。後者について具体的な問題点を挙げると、胎仔卵巣・精巣を必要としていること、培養下における配偶子の分化過程が生体内のものと異なること、発生率が極めて低いこと、などが挙げられる。これらはまず動物実験をもって解決すべき課題であり、我々はこれらの課題に取り組んでいる。

本会では卵母細胞系列の体外再構築の紹介や、それらをより確立されたシステムにする試み、培養系を用いた卵母細胞分化メカニズムの解明について最近の知見をもとに紹介したい。

患者適応および精細管の状態から TESEの精細管処理を考える



水田 真平

リプロダクションクリニック大阪
培養部部長

略 歴

2003年3月 藤田保健衛生大学衛生学部卒業
4月 藤田保健衛生大学大学院保健学研究科(修士課程) 分子遺伝学専攻入学
2005年3月 藤田保健衛生大学大学院保健学研究科(修士課程) 修了
4月 英ウィメンズクリニック入職
2010年1月 英ウィメンズクリニック培養部門リーダー
2012年2月 英ウィメンズクリニック退職
2012年2～5月 英国 IVF Hammersmith にて研修
2013年1月 リプロダクションクリニック大阪入職、開設担当部長
9月 リプロダクションクリニック大阪胚培養室室長
2017年2月 リプロダクションクリニック大阪、東京培養部部長兼任(現在に至る)
2019年4月 兵庫医科大学大学院医科学専攻(博士課程) 産科学婦人科学教室入学

男性の100人に1人は無精子症と言われており、その原因は大きく分けて2つある。精路が閉塞しているか精管が無い閉塞性無精子症(OA)、およびクラインフェルター症候群、Y染色体微小欠失(AZF欠失)、抗ガン化学療法後や停留精巣固定術後、原因不明で造精機能が著しく低下している場合などの非閉塞性無精子症(NOA)である。無精子症患者が児を得るには、精巣内精子採取術(TESE)が有用となる。日本では2016年に、TESE-ICSIが2,799周期実施されており、TESE件数は不明で、患者適応やICSI後の成績、出生児数も集積されていない。本発表では、TESEおよびTESE-ICSIの治療成績を患者の原因別に示し、症例別の精細管の状態や精子調整や探索方法、成績改善に向けた対処方法を、精子および卵子へのアプローチも含めお話をしたい。

当院は2013年9月に開院し、2019年4月までの間に1,532件のTESEを実施し、患者適応別に精子回収率およびその後の治療成績は大きく異なっていた。例えば、OAの精子回収率は100%で、培養成績は良好、症例あたりの臨床妊娠率は85%を越える。一方、NOAのうち、クラインフェルター症候群およびAZFc欠失の症例では回収率53%と82%と高率だが、培養成績は不良で、症例あたりの臨床妊娠率は61%および64%と低率であった。成績が異なる理由は、得られる精子の数とその質によるものであると考えられる。精子を数多く回収できた場合、質の良い運動精子を選別することが可能だが、精子数が非常に少ない場合では、非運動精子を使用せざるを得ないこともある。そのため、選別し得る数の精子を効率よく探索することが重要である。OAの場合、精巣のどの部位から精細管を採取しても均一であり、精細管の一部をランダムに採取するconventional TESEによって多数の精子を回収できる。NOAの場合、精細管が均一の場合と不均一の場合があるため、顕微鏡下で白く太く屈曲している精細管を狙って採取するmicro TESEが有用で、不均一症例の方が精子回収率は高く、胚

培養士による精子探索も容易である。不均一な症例では、太い精細管のみを採取することで、精子の割合が多い懸濁液となり、精子の探索も容易になり、良好精子の選別も比較的可能となる。それに対して精細管が均一な症例はmaturation arrest傾向で、精子を認めないか、精細胞に対して精子の割合が極めて少ないことが多く、精子の探索は極めて困難で時間を要する。

我々はこれまでの経験から、TESEの方法や精子の調整方法は、上記の様な精細管の状態に応じて適切に対応する必要があると考えている。精子数が多い場合は精子に負荷をかけないシンプルな遠心処理、精子数が少ない場合は精子のロス減らした処理、精細胞が多く精子の相対量が少ない場合は、フィルトレーションなどにより精子を抽出する、などである。

また、質が良くない精子であっても、いかに精子を選別し、成績を向上させるかも考えなければいけない。非運動精子を使用した場合の成績は非常に不良であるが、妊娠に至る症例も存在する。精子の選別はペントキシフィリンを使用した精子の賦活化、HOSTや形態による選別法が主流であり、カルシウムイオノフォアなどを使用した卵子活性化も併用される。当院でのこれらの使用方法や、治療成績の比較もお示ししたい。

当院における MD-TESE および ROSI の実際



竹本 洋一

セントマザー産婦人科医院

略 歴

1984年3月 美萩野臨床医学専門学校卒業
4月 芳野病院勤務
1985年5月 九州臨床検査センター勤務
1988年1月 安田循環器科医院勤務
1990年5月 セントマザー産婦人科医院勤務

臨床検査技師(1984年4月)、胚培養士(2006年5月)

MD-TESE における培養士の役割は非常に重要と思われる。採取された精細管を処理していかに早く精子を見つけることが出来るか、回収された精子をどのようにして凍結保存するか、精子が見つからなければ次に何をすべきかなど迅速な対応が要求される。今回、当院におけるMD-TESE, MESA, ROSI の実際について、またROSIに関する取り組みについて発表する。

1. MD-TESE, MESA

閉塞性無精子症症例の場合、精巣上体精子回収法(MESA)を行う。MESAによって回収された精子は精子数も運動性もTESEとは比較にならないほど良好で、凍結方法も射出精子と同様に行うことが可能で簡便である。自家製のガラス製の極細針で怒張した精巣上体管を穿刺し精子を回収し凍結保存する。

非閉塞性無精子症症例の場合、MD-TESEを行う。

術者により手術用顕微鏡下で太く蛇行があり良好な精細管を片側または両側の精巣から10～15か所採取し、直ちに10%SPS-HTF培養液ドロップ内にて27G針で精細管をほぐし倒立顕微鏡下で精子を検索する。

精子が見つかった場合、運動性及び形態、精子数を確認し受精可能な精子を回収の後、クライオトップを用いた極少数精子凍結法にて凍結保存を行う。

精子が見つからなかった場合、コラゲナーゼおよびトリプシンドロップにて精細管をほぐし精子細胞の検索を行う。

ここで重要な事は、精子細胞と他の細胞、特に精祖細胞との鑑別である。十分なトレーニングを積むことで精子細胞の鑑別は可能となるのでMD-TESEに携わる培養士は鑑別技術を身に付けていただきたいと思う。

採取した組織は酵素処理を施し、精細管内細胞を分離回収し細胞浮遊液を作製する。処理後の細胞の状態を確認し、エチレングリコールとスクロースを主成分とした凍結媒液を加えてプログラムフリーザーにて緩慢凍結法により凍結する。

2. ROSI

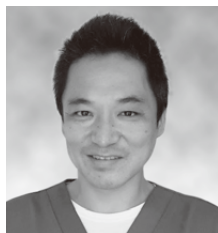
凍結しておいた精子細胞を33℃の温湯で急速融解し洗浄後ROSIドロップにペレットを注入し精子細胞を回収してROSIを行う。

精子細胞の成熟度により、Sa～Sb2であればROSIの際に卵子活性化が必要である。成熟度がSc～Sdと進んでいる場合は活性化を必要としない。卵子活性化法には種々の方法があるが当院では電気刺激による卵子活性化を行っている。活性化装置はNEPAGENE社のLF-201を用いて、AC5V10secDC120V/mm99μsecの条件下でマニトールを主成分とする活性化液にて電気パルスを行く。現在ROSI後の受精率、胚発生率向上のための検討を行っているのでその結果についても報告したい。

3. まとめ

- 1) 閉塞性無精子症が疑われる場合はMESAを優先すべきと考えている。TESEによって回収された精子と比べ精子数、運動性、成熟度共に射出精子と同等レベルの精子であると考えられるからである。
- 2) TESEによって回収された精子の凍結保存はその凍結法により融解後の精子回収率、運動性が大きく異なるので重要と考えられる。
- 3) 精子が見つからなくても精子細胞が見つければROSIの技術により子供を授かることができるが、妊娠率は低く流産率が高い傾向があるので更なる技術向上に取り組んでいる。

つじクリニックの TESE：精子回収予測と精子処理の実際



成吉 昌一
天神つじクリニック

略 歴

1992年 3月 岐阜医療技術短期大学（現：岐阜医療科学大学）卒業
1993年 4～11月 臨床病態医学研究所病理組織診断部門
1993年12月～2003年6月 西村泌尿器科病院
2003年 7月～ 天神つじクリニック

臨床検査技師，日本超音波医学会超音波検査士（泌尿器領域）
日本超音波医学会 Young Investigators Award 最優秀演題賞（2005）
米国生殖医学会（ASRM）年次総会ポスター部門 Second Prize（2017）

無精子症は，一般男性の1%，不妊男性の15%にみられるとされ，閉塞性無精子症（OA）と非閉塞性無精子症（NOA）に大別される．両者は精子の回収率に大きな差があるため，その鑑別は極めて重要である．

OAは精路の閉塞や欠損により精液中に精子を認めない状態で，造精機能には問題がないと考えられるが，その診断は精巣容積が正常でFSH値の上昇がなければOAというような単純なものではない．OAの診断には超音波検査（US）が不可欠であり，われわれは初診時に陰嚢USで精巣網－精巣上体－陰嚢部精管の中核側精路を，経直腸的USで精管膨大部－精囊－射精管の尿道側精路を詳細に観察し，両側精路に通過障害の所見を認めればOAと診断している．当然ながら精路通過障害に造精機能障害を合併している症例はありうるが，USで両側の精路閉塞が明らかで，FSHの上昇もなければ，精子回収率はこれまでのところ100%である．

術前診断でOAとされれば，生検で精細管を採取する．採取された精細管は10%血清加HTF溶液0.3mlを入れたディッシュに浮遊し，手術場に隣接した検査室のクリーンベンチへ運ばれる．精細管を滅菌フロストスライドガラスですり合わせてmince液を作成し，倒立顕微鏡（400倍）で観察し，精子の運動性やおおよその数，形態を直ちに執刀医に報告し，その情報はスタッフや患者に共有される．精巣内精子の存在が確認されれば，次に精巣上体の穿刺・吸引を試みる．採取された精子を含むmince液に10%血清加HTF溶液を追加して0.5mlに調整し，同量のExtra Sperm FreezeTMと合わせてメンクチューブに分注し，室温で15分間静置してから凍結する．OA精子については，エオジンY染色により凍結前および凍結融解後の精子生存率を確認している．

NOAは造精機能障害による無精子症である．USで両側の精路に通過障害の所見がなければ，低ゴナドトロピン性性腺機能低下症を除き，microdissection TESE（micro-TESE）による精巣内精子回収を計画す

るが，USでNOAと診断されても造精機能が正常な症例がまれに存在する（例えば精巣内精路閉塞）．Micro-TESEによるNOAの精巣内精子回収率は一般に30-40%で，これまで精巣容積やFSH，インヒビンBなどの値から，精子回収の予測が試みられてきたが，単独でもそれらを組み合わせたスコアでも信頼に足る予測因子はなかった．われわれはUS画像の明るさとコントラストを調整する独自の方法で精細管径を評価してきた．精細管径を0 μ m/100 μ m/200 μ m/250 μ m/300 μ mに分類すると，全体の精子回収率が30%であるのに対し，径250 μ m以上の精細管が描出される症例の精子回収率は63%であり，術前の精子回収予測因子として非常に有用と考えられる．

NOAでは，精子回収率にこだわらず，顕微授精に向けて質の高い精子を提供することを第一に迅速な精子処理を心がけており，精子へのダメージを最小限に留めるため，遠心分離や酵素処理などは行っていない．精細管を眼科用セーレで細切し，OAと同様に滅菌フロストスライドガラスですり合わせてmince液を作成，顕微鏡下に観察し，精子や細胞の有無，精子があれば，その数，運動性や形態を直ちに執刀医に報告し，OA同様に凍結する．精子がなければディッシュ内のmince液を見直し，それでも見つからない場合はmince液を集めて再度時間をかけて検鏡する．

本講演では，USによる無精子症の精子回収予測とTESE時の精子処理の実際について報告したい．

顕微授精の成功率を上げるために ～実験動物における顕微授精の視点から～



越後貫 成美

理研バイオリソース研究センター
遺伝工学基盤技術室

略 歴

1995～2002年 国立予防衛生研究所(現：国立感染症研究所)入所
1999年 筑波大学大学院修士課程医科学研究科修了
2002年 理化学研究所バイオリソース研究センター入所
現在に至る

ヒトの生殖補助医療に精子を用いた顕微授精技術(ICSI)が導入されてから30年近くが経過した。一般的にICSIは体外受精(IVF)が困難な場合に適用されることが多い。一方、実験動物において顕微授精技術が適用される場面は、ヒトと同様に自然交配やIVFによる産仔獲得が望めないケースに加え、発生学研究の一手法としても利用されている。特にマウスにおいては、ICSI以外にも伸張精子細胞(ELSI)、円形精子細胞を用いた顕微授精(ROSI)、一次精母細胞を用いた顕微授精での産仔獲得が報告されている。卵子の安定した品質により、マウス顕微授精法は他の動物種に比べて高い産仔率が期待できるが、用いる雄の繁殖状況や精細胞の状態によって顕微授精に用いる精子・精細胞をその都度選択している。例えば、精巣上体尾部に精子が存在していても一定期間繁殖が成立していない個体であれば、その精子は細胞学的に死滅している可能性が高い。この場合、実験には精巣内精子または精細胞を選択する。また、凍結保存された精子・精細胞に加え、2-3日低温にて保存された精巣上体および精巣由来の精子・精細胞でも顕微授精により産仔が得られている。凍結精子を利用する場合、 K^+ -richな細胞浮遊液を用いることで Na^+ の流入を防いで細胞へのダメージを極力抑えることが重要である。また、精細胞を用いる場合は、細胞採取時の温度や培養液等に配慮している。このように、用いる精子や精細胞の状態に応じた細胞処理法や顕微授精法をその都度的確に判断することで受精率の向上が期待できる。

しかしベストの条件下においても、産仔を得る効率は一般的に、 $IVF > ICSI > ELSI > ROSI > 一次精母細胞$ を用いた顕微授精の順となる。その理由としてgeneticな原因とepigeneticな原因が考えられる。たとえば、ROSI胚においてはDNAメチル化状態がIVFやICSI胚と異なること、一次精母細胞由来胚では卵子内で生じる減数分裂時に染色体分裂異常が発生しやすいことなどが報告されている。また、正常

に生まれても何らかの顕微授精の影響が残る可能性がある。ヒトの生殖補助医療においては、自然妊娠との相違が調べられることが多いので、IVFとICSIの比較はあまり行われていない。一方、マウスでは、両者の比較が多く行われている。例えば、ICSI胚では、発生過程から出生時に至るまで5%程度の遺伝子に発現変化が誘導されること、成体マウスの行動量に有意な減少が認められることなどが明らかにされている。以上のような知見は、実験動物を用いた顕微授精技術の詳細な研究が進むことで得られるものであり、生殖補助医療分野の発展にも貢献すると考えられる。特に精細胞由来胚の低産仔率の解明および改善が進むことは、今後ヒトにおいても症例数の増加が予想される精細胞を用いた顕微授精への応用に役立つと思われる。本発表では、げっ歯類以外でも、小型霊長類マーモセットのELSI・ROSIおよび補助的な卵子活性化法についても知見が得られたので、併せて報告したい。

着床前遺伝子診断の日産婦臨床研究の方向性



苟原 稔

徳島大学大学院
医歯薬学研究部長

略 歴

1979年 3月 徳島大学医学部医学科卒業
1991年 10月 徳島大学講師(医学部附属病院産科婦人科)
1995年 8月 講師休職にて米国メリーランド大学医学部産婦人科研究員(～1996年7月)
2001年 4月 徳島大学助教授(医学部産科婦人科学講座)
7月 徳島大学教授(医学部産科婦人科学講座)
2010年 4月 徳島大学病院長(～2011年3月)
2013年 4月 徳島大学医学部長(～2017年3月)
徳島大学大学院医歯薬学研究部長(現在に至る)

1998年、日本産科婦人科学会(日産婦)は「着床前診断に関する見解」を公表し、着床前遺伝子診断(PGT)を臨床研究(研究的要素の強い医療行為で有用性が明確でない医療)として実施することにした。対象を、①重篤な遺伝性疾患を出産する可能性のある遺伝子ならびに染色体異常を保因する場合と、②均衡型染色体構造異常に起因すると考えられる習慣流産、に限定し、日産婦倫理委員会内に審査小委員会を設置して1症例毎に妥当性の審査を行い、いわゆるPGT-Mを実施してきた。一方、特に優生学的な課題に配慮してスクリーニング行為は禁止としてきた。

20年間のPGT-Mでは約700症例が認可されているが、臨床研究で行う見解を定め、1症例毎に審査を行う体制を維持するなど、倫理に配慮してきた日産婦の姿勢は、本邦でのPGTの定着に重要なステップであったと考えている。しかし、開始から20年が経過し、高年齢の挙児希望女性が増加し異数性染色体異常を原因とする流産が増加し、習慣流産や高年齢女性でARTが反復不成功である例などで、染色体異数性のチェックを目的としたPGT-Aへの期待が高まっている。

PGT-Aを臨床応用するには、この医療技術が日本社会に広く理解される環境整備が肝要である。そのためには、まず臨床的有用性を示すこと、またPGT-Aを行う上での医療体制の整備を検討すること、さらに、技術に内在する倫理や社会的問題の議論を行うことが必要である。

そこで、臨床的有用性の検証と医療体制の整備を検討するため、日産婦はPGT-A特別研究を行ってきた。すなわち、反復ART不成功例と原因不明習慣流産症例を対象として、アレイCGHによるPGT-Aを、比較対象試験により、妊娠予後を改善するかを検討項目にして、特別臨床試験を実施した。2019年3月には試験が終了し、現在成績をまとめて論文化中である。

パイロット的なRCT試験が終了したので、日産婦は次のステップの臨床試験を計画している。対象は、①ART反復不成功例、②反復流産例、③構造異常や

異数性による流産の既往例とし、3～5年程度を目安にして基本的にオープン試験で実施することになっている。早急に研究参加施設を選択するとともに、今回は、結果の標準化を図るため検査受託施設も選択する予定である。検査施設には、内部精度管理とともに外部精度管理を定期的に行って、結果の標準化を担保することを考えている。

生殖医療の未来を考える—生殖医学の進歩の中で—



吉村 泰典

内閣官房参与
慶應義塾大学名誉教授
福島県立医科大学副学長

略 歴

1975年 慶應義塾大学医学部卒業
1983年 米国ペンシルバニア病院research fellow
1984年 米国ジョンスホプキンス大学instructor
1995年 慶應義塾大学医学部産婦人科教授
2013年 内閣官房参与(少子化対策・子育て支援担当)
2014年 慶應義塾大学名誉教授
2015年 福島県立医科大学副学長(業務担当)

2007年日本産科婦人科学会理事長(～2011年), 2010年日本生殖医学会理事長(～2014年)

2011年日本産科婦人科内視鏡学会理事長(～2015年)

松本賞, 日本産科婦人科学会栄誉賞, 福澤賞

近年の生殖医学の進歩には目覚ましいものがあり、生殖現象の解明のみならず、ヒトの生殖現象を操作する新しい技術も開発されている。現代の生殖医学の発展は遺伝学の進歩に負うところが大きい。遺伝学は生命情報の継承と個体間の多様性を研究する生物学の中心的な学問分野であり、人類遺伝学は人間の理解を基本理念として、遺伝学の立場から科学、医療、社会への貢献を通して、より良い人類の未来を目指す学問分野である。

遺伝子改変動物を用いれば、培養細胞や試験管内ではみられないダイナミックな高次生命現象を個体レベルで観察・解析することができる。特にヒトと同じ哺乳類に属するマウスは、体外受精や胚移植などの生殖補助技術が早くから確立されたこともあり、古くから遺伝子改変マウスがつくられている。これらは、遺伝子機能解析ツールとしてだけでなく、ヒト疾患の病態モデルとして生命科学や医学研究の礎を担っている。ゲノム編集は遺伝情報の書き換えを容易にしてきた。受精卵を使えば、体ができていく過程で起きる遺伝情報の異常と病気との関係などを解明するのに有用であり、不妊症や遺伝性難病の予防・治療に道を開くとの期待は大きいものがある。

再生医学の生殖医療への応用を考えた場合、無精子症や早発月経のような絶対不妊などの生殖機能障害を持つ個人から、ヒト胚性幹細胞(ヒトES細胞)、iPS細胞(induced Pluripotent Stem cell)を樹立し、配偶子へ分化させることが可能となれば、精子や卵子の提供を受けることなく、子どもを持てる時代が到来するかもしれない。しかし、生殖医療は、他臓器の再生医療と異なり世代の継承に関与しており、個体にとどまらないという特殊性をもっていることを忘れてはならない。

今後、生殖医療をどのように発展させていくかは、人間の智慧が問われるところである。

The maternal factor in the embryonic implantation process: the microbiome and endometrial receptivity



Carlos Simón

Department of Obstetrics and Gynecology, Valencia University; IGENOMIX foundation/INCLIVA, Valencia, Spain
Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Baylor College, TX, USA

Biography

Board Certified and Professor of Ob/Gyn at the University of Valencia, Spain; Adjunct Clinical Professor, Department of Ob/Gyn, Stanford University School of Medicine, USA; and Baylor College of Medicine, USA & Scientific Director of Igenomix.

As a clinician-scientist his main interest is the understanding of the human embryonic implantation process, considering as key elements the embryo, the maternal endometrium, and the cross-communication between them using different scientific perspectives. He is author of 445 publications in international peer-review journals, adding up to an accumulated impact factor of 2,146.37. His papers have received a total of 18,732 cites with an average of 42 cites/paper. His H-Index is 74 and he is editor of 19 books (one best seller and one awarded as Highly Commended, BMA Book Awards 2018). He has been Director of 38 PhD Thesis.

The quality of his work has been recognized by the American Society of Reproductive Medicine, the Society for Gynecological Investigation, the Spanish Society of Obstetrics & Gynecology, and the Spanish Fertility Society. He received the Prize Jaime I in Medical Investigation in 2011, and the ASRM Distinguished Research Award in 2016.

Pubmed Publication List: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/myncbi/simon_c

ResearchID: G-2186-2014. <http://www.researcherid.com/rid/G-2186-2014>

Google Scholar: https://scholar.google.es/citations?user=nA_MhRMAAAAJ&hl=es

Personal Website: www.carlos-simon.com

The endometrium is a hormonally regulated organ that is non-adhesive to embryos throughout most of the menstrual cycle in humans. Endometrial receptivity refers to a hormone-limited period in which the endometrial tissue acquires a functional and transient ovarian steroid-dependent status allowing blastocyst adhesion. Functional genomic studies of human endometrium in natural cycles have demonstrated that endometrial receptivity is an active process involving up- and down-regulation of hundreds of genes.

Personalized medicine is a well-accepted concept in reproductive medicine except for the endometrial factor that is still neglected. Our group has developed the endometrial receptivity analysis (ERA), composed by the transcriptomic signature of 238 genes using Next Generation Sequencing (NGS) coupled to a computational predictor capable of diagnosing the window of endometrial receptivity regardless of its histological appearance.

The discovery of microbial communities inhabiting the whole female reproductive tract has challenged the traditional view of human fetal development in a sterile environment. Technical advances have facilitated the study of the bacterial microbiome in

the upper and lower genital tract, as well as the role of such bacteria in women's health and fertility. The microbiota in the urogenital tract of healthy reproductive age women is mainly composed of bacteria from the *Lactobacillus* genus; however, structural or compositional variations of this microbiota, that could occur throughout a women's life in response to intrinsic and extrinsic factors may impact the function of reproductive organs.

In this presentation we will update the diagnostic and therapeutic efficiency of ERA in patients with implantation failure (IF), through personalization of the day of embryo transfer (pET) as well as the results of our international RCT to investigate the reproductive outcome of infertile women under 38 year (BMI of 18.5-30 and AFC > 8) s in their first IVF/ICSI cycle with elective blastocyst transfer randomly allocated to be performed in a fresh cycle, after freezing all embryos or after identification of the personalized WOI with the ERA test (pET).

Finally, the investigation of endometrial bacterial communities has revealed that the endometrial cavity is not sterile. The presence of a Non-*Lactobacillus*-dominated microbiota (NLD) (<90% *Lactobacilli*) or pathogens responsible for chronic endometritis in infertile patients are associated with decrease

reproductive outcome in terms of implantation, pregnancy and live birth rates.

This work was supported by the EU FP7-PEOPLE-2012-IAPP grant SARM, No. 324509.

The discovery of microbial communities inhabiting the whole female reproductive tract has challenged the traditional view of human fetal development in a sterile environment. Technical advances have facilitated the study of the bacterial microbiome in the upper and lower genital tract, as well as the role of such bacteria in women's health and fertility. The microbiota in the urogenital tract of healthy reproductive age women is mainly composed of bacteria from the *Lactobacillus* genus; however, structural or compositional variations of this microbiota, that could occur throughout a women's life in response to intrinsic and extrinsic factors may impact the function of reproductive organs. Non-lactobacilli dominant microbiome in the uterine cavity has been associated with poor reproductive IVF outcomes, by increasing implantation failure and miscarriage. For this reason, assessment of the endometrial microbiome has been proposed to be considered in infertile patients with implantation failure to improve our understanding and develop personalized strategies to improve clinical results. This presentation will focus on the current knowledge of the endometrial microbiome and their functional relevance in the reproductive process.

Time-lapse technology to improve the chances for poor-prognosis patients



Markus Montag

ilabcomm GmbH
創設者 / CEO

略 歴

Ruprecht-Karls 大学(ドイツ・ハイデルベルグ)生物学卒業
1991 ~ 1992 年 シンガポール国立大学病院 リサーチフェロー
1993 ~ 1995 年 Würzburg IVF センター (ドイツ) 研究室長
1995 ~ 2011 年 ボン大学(ドイツ) IVF 研究室長
2011 ~ 2013 年 ハイデルベルグ大学 IVF 研究室長
2011 年 ~ ilabcomm GmbH 創設者 / CEO
(ilabcomm 社は生殖医療および生物学の分野のコンサルティング会社)

学術的専門分野

受胎能の保護-卵巣組織バンキング, 着床前遺伝子スクリーニング(PGS)極体生検,
Time-lapse Imaging, 偏光顕微鏡, 生殖補助医療技術におけるレーザーの応用

背景

予後不良の患者は、一般的に授かる可能性が低いといは非常に低い。自然もしくは生殖医療後であっても、根本的な理由は多岐にわたる可能性があり、免疫学的、子宮内膜および発生学的な問題が含まれる。実際のところ、妊娠に至らない原因を常に特定することは不可能であり、そのため、特定の治療アプローチを定めることが困難な場合もある。

健康な子宮内膜に加えて、その胚も同様に重要であり、様々なファクターがimplantation potentialに影響を与えている可能性がある。これらのファクターのいくつかは、例えば配偶子形成中の染色体分離エラーによって引き起こされるaneuploidyといった様に簡単に相伝される。一部の患者は、着床し健児になる可能性がある染色体的に正常な胚を得られる可能性が劇的に減少する均衡転座を生じる。関与する染色体によっては、このグループの患者は一般的な自然の周期において、繰り返しの着床不全を経験する可能性がある。最後に、卵巣予備機能が乏しいもしくは、低卵巣反応のために非常に少数の卵母細胞を有する女性は、予後不良患者の大きな割合を構成している。

タイムラプスはどのように機能するか？

予後不良の患者では、発生胚に最大の可能性を与えるため、すべてのステップを最適化しなければならない。そして妊娠までの時間を短縮するために、患者コホート内で各胚のimplantation potentialを定量化することを目指すべきである。これは、体外培養コンセプトとしてTime-lapseテクノロジーがどのように有用であることを示している。すなわち、可能な限り最良な胚発生環境状態にするための安定化およびコントロールを実現し、同時にこの最良な培養環境を妨げずにできる限りの胚に関する情報の収集が可能となる。

Time-lapse と PGT-A の相乗効果

高い割合で異数性胚が得られる患者は、予後が悪い

と考えられる。PGT-Aは正倍数性胚の診断に使用することができるが、すべての正倍数性胚が同じimplantation potentialを持っているわけではない。それ故、Time-lapseから得られる更なる情報を基にした選択基準を正倍数性胚に適用することでPGT-Aプログラムをより有効なものにすることが可能である(Lee et al., 2019; Lim et al., 2019)。このような情報は、動態的(kinetic)や形態的な(morphological)クライテリアで構成されており、特定のアルゴリズム(Gibbons et al., 2019)によって評価される。さらに近年ではディープラーニングモデルを適用する完全に自動化されたシステムさえも寄与している(ran et al., 2019)。言うまでもなく、これらの新しい技術の恩恵は、PGT-Aを凌ぎほぼすべての患者に適用する。

Time-lapseは卵母細胞が少ない低反応患者に有益か？

Time-lapseテクノロジーの利点は多くの場合、胚の選択にあるため、単一の患者から多くの卵母細胞および胚が得られるかどうか依存すると考えられている。それでは非常に少ない卵母細胞しか得られない低反応患者のような予後不良患者へのTime-lapseの使用はどのようなだろうか？このような患者では、培養後に胚が1つしか残っていないために移植胚を選択することが不可能な場合がしばしばあることは明らかである。しかしながら、Time-lapseが統合されたスタンドアロンシステムは、非常に安定した、妨げられない培養条件と同義語である。この培養効果から得られる利点は、近年、低刺激周期(低反応患者のように、時には1つの胚だけが利用可能な場合もある)においても報告されている。興味深いことに、標準的な培養システムと比較してTime-lapseによる利益は、胚盤胞形成率には現れず、胚盤胞の利用率および、さらに重要なのは、継続妊娠率が有意に高かったことである(Ueno et al., 2019)。

Time-lapseテクノロジーは、一部の予後不良患者の

可能性を改善し，一般的には胚の発生をサポートすると結論付けることができる．さらなる改善としては，様々な技術を組み合わせることであり，その良い例としてTime-lapseとPGT-Aの相乗効果が期待される．

Gibbons et al., Hum Reprod 2019; 34 Supp 1: i237-i238.

Lee et al., Hum Reprod 2019; 34 Supp: i208-i209.

Lim et al., Hum Reprod 2019; 34 Supp: i87-i88.

Tran et al., Hum Reprod 2019; 34: 1011-1018.

Ueno et al., Reprod Biol 2019; doi: 10.1016/ j.repbio. 2019.03.004. [Epub ahead of print].

新時代の ART はどこへ向かうのか？



石原 理

埼玉医科大学産科婦人科
教授

略 歴

1980年 3月 群馬大学医学部医学科卒業
6月 東京大学医学部付属病院研修医(産婦人科)
1985年 9月 東京大学医学部産婦人科助手(文部教官)
1988年 12月 埼玉医科大学総合医療センター産婦人科助手
1989年 10月 英国ロンドン大学王立医学大学院ハーマスミス病院客員研究員
1991年 6月 埼玉医科大学総合医療センター講師(産婦人科)
1999年 2月 同上助教授(産婦人科)
2002年 5月 埼玉医科大学産科婦人科学教室教授(埼玉医大総合医療センター兼任)

ルイズ・ブラウン誕生から40年が過ぎ、新技術であった顕微授精やガラス化法による胚凍結なども含め、生殖医療(ART)は、世界的に日常化・一般化したといえる。今日に視座をおく時、新時代のARTは、これから先どこへ向かうのだろうか？

地球規模でARTを見るならば、治療周期数など「数的拡大」は、当面継続することが常識的には予想できる。なぜなら世界最大の人口を持つアジア地域、そして急速な経済発展を実現しつつあるアフリカ地域において、これまでARTへのアクセスを持たなかった人々が多数存在するからだ。

一方、アジア・アフリカ地域を含め、「数的拡大」について懸念せねばならない最大の課題は、実はそれぞれの国における国内経済格差である。北中南米諸国において低所得層がARTへ十分なアクセスを持たない現状は、アジア・アフリカの多くの国において、何もしなければ同様な未来を招いてしまう潜在的危険性を示唆している。そして、この課題は、振り返ってみれば、私たちの住んでいる日本にも、かなり当てはまっているという現実がある。

それでは、ARTの「質的拡大」、すなわち画期的な技術革新や治療パラダイムを根本的に変えてしまう薬剤、機器などの出現は、今後あるのだろうか。これを予測することは難しい、というより、とてもできるはずがないというべきだ。そして、「質的拡大」＝「ARTの成功」に結び付く可能性をもつ技術として、今日もっとも注目されているのは、胚の「遺伝情報」にフォーカスしたPGTと胚発育の「形態と時間」にフォーカスしたタイムラプスである。これらは、いわばひとつひとつの胚についての、「静的背景」と「動的背景」情報の取得であると、ほぼ言い換えることができる。しかし、さらに言うならば、いずれも方法論としては、「情報量の拡大」→「確率と統計に基づくアルゴリズム」に基づく展開にすぎないとして、まとめることも可能なのだ。

本講演では、これらの認識を前提として、ARTの

安全性と有効性・有用性の評価、そして継続的モニタリングの重要性をご理解いただくために必要な、最新情報をお知らせする予定である。

Polarized light microscopy of Meiotic Spindles in ICSI



Michael Chapman
FSA President

Professor Michael Chapman is one of Australia's most highly profiled and respected fertility specialists. He is a busy clinician who has personally been involved in fertility care resulting in over 3000 pregnancies. His academic position enables him to be at the forefront of new advances in treatment which he applies in his practice at the earliest opportunity.

He has a high public profile due to his tireless efforts to ensure access to Assisted Reproductive Technology (ART) for all Australians, as a vocal patient advocate and senior medical academic training practitioners of the future.

When Chair of the IVF Directors Group he was instrumental, working closely with the Federal Government, to ensure access to ART treatment remained clinically protected as a doctor-patient medical decision. Today he is one of the country's leading media commentators on reproductive health.

Michael graduated from the University of Adelaide, after which he specialised in obstetrics and gynaecology. He then moved to the UK, developing extensive experience in infertility, hormonal disorders and assisted reproductive technology (ART). Michael became a Fellow of the Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. He gained his Doctorate of Medicine at the University of London, where he was appointed Professor of Obstetrics and Gynaecology at Guy's Hospital.

After 15 years abroad, Michael returned to Australia as Professor in the School of Women's and Children's Health at the University of New South Wales, and St George Public Hospital, Kogarah – a role he continues today. He is heavily involved in training and education at all levels and is an examiner for the Certificate in Reproductive Endocrinology and Infertility for the Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists, of which he is a Fellow.

Michael's depth of experience comes from extensive international roles having established and run IVF services in London, Naples, Jeddah and Sydney. He lectures regularly at national and international meetings, has over 190 scientific publications and many book chapters. His particular interests are in IVF, polycystic ovarian syndrome (PCOS), recurrent miscarriage and menstrual problems.

Michael currently holds the following posts, Clinical Director for Women's and Children's Health, St George Hospital President of the Fertility Society of Australia Immediate Past President, Australian and New Zealand Society of Reproductive Endocrinology and Infertility Clinical Director IVFAustralia Southern Sydney.

The Meiotic Spindle

The meiotic spindle as a marker of embryo viability is gaining traction in the field of ART. The spindle is a highly dynamic cytoskeletal structure comprised of microfilaments and microtubules (Kim et al.1998). Continual polymerisation and depolymerisation of its microtubule constituents render it morphologically fluctuant depending on the stage of meiosis. At metaphase II it is normally described as a barrel-shaped, symmetrical structure with pointed, anastral poles, radially oriented at the periphery of the oocyte).

Ploidy is, to a large degree, contingent on the dynamic forces of the meiotic spindle. However, the assembly of tubulin units which constitute microtubules are highly sensitive to physical changes such as temperature and pH, as well as physiological

changes such as ageing. These changes result in the disassembly of the spindle, corrupting normal spindle dynamics and chromosomal organisation. It is therefore unsurprising that oocyte meiosis is a highly error-prone process, with up to 20% of oocytes displaying aneuploidy due to chromosomal nondisjunction and premature sister chromatid separation. Segregation errors give rise to aneuploid embryos, which in turn are predisposed to unsuccessful fertilisation, maturation arrest, spontaneous abortion, developmental anomalies, and genetic diseases. These findings have thus established the premise for the meiotic spindle as a marker for an oocyte's developmental potential.

The Spindle Under Polarised Light Microscopy

Conventional light microscopy, while non-invasive and capable of sustaining oocyte viability, fails to

provide sufficient contrast to accurately differentiate the meiotic spindle from the translucent cytoplasm. Polarised light microscopy offers a non-invasive method of spindle visualisation by exploiting the refractive properties of its molecular architecture. The meiotic spindle is an anisotropic structure that, when subjected to polarised light, diverges the beam into two orthogonal planes. This occurs as the spindle microtubules, arranged in parallel arrays, cause the beam's optical path to traverse at varying speeds, in turn shifting the plane of light. The specimen under scrutiny appears dark, except for its anisotropic structures, allowing them to be visualised. This intrinsic optical property is coined birefringence and can be quantified and known as retardance. Higher retardance values correlate with greater levels of macromolecular compactness and structural organisation, which in turn suggest higher order alignment and better organised structures. Evenly-distributed birefringence is also a positive indicator of spindle health.

The Meiotic Spindle as a Predictor of Fertility Outcomes

Many studies have supported the role of the meiotic spindle in appropriately distributing genetic material. As such, it follows that the visualisation of the meiotic spindle at the time of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) correlates with improved fertility outcomes. A number of studies have demonstrated a significant increase in fertilisation rates amongst present-spindled oocytes relative to absent-spindled oocytes.

These results were in contradiction with other studies which found no statistically significant difference in fertilisation rates.

Of the reviewed studies investigating blastulation rates as an outcome, all purported a statistically significant correlation between meiotic spindle presence and increased blastocyst formation.

Two of the three studies comparing the effect of spindle presence on embryo quality found a significantly increased proportion of high-quality embryos derived from spindle present oocytes relative to those that were absent. Conversely, Others have found this increase in the formation of high-quality embryos to be statistically insignificant.

Three of the four reviewed studies found that a significantly higher proportion of oocytes with spindles

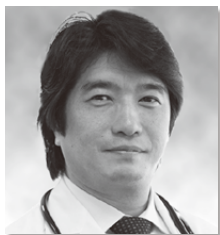
achieved a clinical pregnancy, relative to those without spindles. Moreover, we found that, amongst the oocytes which resulted in a clinical pregnancy, spindle density was significantly higher ($30 \pm 1.23\text{nm}$) compared to those that did not ($2.5 \pm 0.7\text{nm}$) ($p=0.02$).

Few studies have investigated the difference in fertility outcomes between spindles based on morphology as opposed to presence. We developed a classification system and found that 90% of normal-spindled oocytes were successfully fertilised compared to 72% of oocytes with morphologically abnormal spindles ($p<0.001$). Our more recent prospective cohort study also observed the ploidy of embryos with normal and abnormal spindles. The abnormal class was further stratified into dysmorphic, translucent, telophase and non-visible spindles. Translucent and non-visible spindles yielded significantly lower proportions of euploid embryos of 9.9% (OR 0.25, 95% CI 0.13-0.46) and 13.5% respectively (OR 0.35, 95% CI 0.19-0.63) relative to the other two groups ($p\leq 0.001$).

Although there exists no definitive consensus, current data suggests that the presence of the spindle apparatus with good morphological features is an indicator for more favourable fertility outcomes.

Our other area of interest has been the potential to improve fertilisation rates with ICSI. In our data fertilisation rates were improved by the use of PLM because it ensures spindle damage can be avoided at the time of sperm injection.

がん・生殖医療の今後の展望



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
1996年4月～1998年9月 米国カリフォルニア州バーナム研究所留学
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
2005年8月 聖マリアンナ医科大学講師
2011年4月 聖マリアンナ医科大学教授

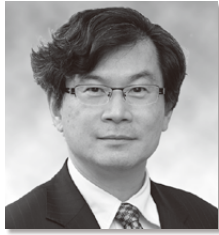
日本産科婦人科学会専門医・指導医, 日本がん治療認定医, 日本婦人科腫瘍学会専門医・指導医, 日本臨床細胞学会細胞診専門医, 緩和ケアの基本教育に関する指導者(日本緩和医療学会)
日本産科婦人科学会代議員, 日本婦人科腫瘍学会常務理事(教育), 日本産科婦人科遺伝子診療学会理事, 日本緩和医療学会代議員, 婦人科腫瘍の緩和医療を考える会副理事長, AYAがんの医療と支援のあり方研究会理事, 日本生殖医学会代議員, 日本受精着床学会常務理事(編集), 日本生殖心理学会理事, 日本がん・生殖医療学会(JSFP)理事長, 厚生労働省がん診療提供体制のあり方に関する検討会構成員(令和元年(2019)6月～), Asian Society for Fertility Preservation(ASFP) President, International Society for Fertility Preservation(ISFP) Board Member, Journal of Adolescent and Young Adult Oncology誌Editorial Board Member, Journal of Assisted Reproduction and Genetics誌Editorial Board Member, Reproductive Endocrinology誌Editorial Board Member

がん・生殖医療とは、小児、思春期・若年(AYA)がん患者に対する妊孕能温存(生殖機能温存)を目指した医療がその定義となる。アルキル化剤などを含む化学療法レジメンや放射線照射による性腺毒性により、残存する原始卵胞や精子の数が減少し、最終的にがん患者の妊孕能(生殖機能)が喪失する場合がある。医療の進歩と共にがん患者の生存率が改善された現状において、がんサバイバーシップ向上のためがん治療開始前に妊孕能温存(生殖機能温存)に関する情報を、がん患者とその家族に提供することが重要である。しかしながら一般不妊治療と異なり、がん・生殖医療はその対象が「がん患者」となることから、何よりもがん治療を優先とすることで患者や家族の自己決定をいかに促すことができるか(子どもをもたない選択に関しても)、慎重な対応が必要となる。本邦においては、2017年7月に日本癌治療学会によって、「小児、思春期・若年がん患者の妊孕性温存に関する診療ガイドライン2017年度版」が刊行された。本邦初の本領域に関するガイドラインは1つの総論と8つの領域に渡ってCQに対する推奨を示した世界初の本領域に関する内容となっている。

がん・生殖医療の今後の課題として、以下の6つを掲げる；①がん・生殖医療におけるインフォームドアセント(小児、思春期)ならびにインフォームドコンセントの指針など治療選択のための体制整備、②妊孕性温存を希望しなかった患者や妊孕性温存療法の適応外となった患者に対する配慮、2012年頃以前にがん治療を受療したがんサバイバーのQOL維持と向上を目指した医療介入、③がん・生殖医療のさらなる啓発と情報発信の促進(がんサバイバーによるピアサポートを含む)、④妊孕性温存療法に対する公的助成金補助制度の検討、⑤がん・生殖医療に関わる専門医療従事

者の育成、⑥がん・生殖医療の技術革新。さらに、がん患者に対する生殖医療に関する情報を提供する「がん・生殖医療連携ネットワーク」が全国各地に存在していないこと(地域格差)、がん治療医と生殖医療を専門とする医師との密な連携が十分でない、また十分でない施設もあること(施設間格差)、さらに生殖医療が保険診療ではないことから生殖医療を選択する際のがん患者の経済的負担など解決すべき課題も明確化されている。本講演では、がん・生殖医療の今後の展望に関して概説させて頂く。

Random start ovarian stimulation の新しい展開 ～ medical indication から social indication へ～



藤原 敏博

フェニックス アート クリニック
院長

略 歴

1985年 東京大学医学部卒業
2005年 東京大学講師
2006年 東京大学医学部附属病院周産母子診療部IVFセンター長
2008年 山王病院リプロダクション・婦人科内視鏡治療センターセンター長
及び国際医療福祉大学大学院教授
2018年 フェニックス アート クリニック院長

日本産科婦人科学会専門医・指導医, 日本生殖医学会生殖医療専門医, 日本産科婦人科内視鏡学会技術認定医〔腹腔鏡・子宮鏡〕, 日本内視鏡外科学会技術認定医
日本生殖医学会代議員, 日本受精着床学会理事, 日本IVF学会理事, 日本産科婦人科内視鏡学会評議員, 日本卵子学会評議員, 日本不妊カウンセリング学会理事長

ARTにおける最初のステップは、調節卵巣刺激(controlled ovarian stimulation: COS)となる。これは卵胞の多発性かつ同調性発育を促して、成熟卵数を増加することにより治療周期あたりの妊娠率増加を図ることが目的である。従来(そして現在も多くの場合は)、COSは月経や消退出血開始直後からスタートするのが通例であった。これはこの時期では卵胞及びホルモン(FSH, LH, E2, P4)の状態がリセットされており、感覚的にもスタートを切るのが適していると考えられたからにほかならない。実際に幾つかのプロトコールが考案されているが、複数の成熟卵を獲得するという当初の目的は十分に達成できているといえる。

一方、近年では悪性腫瘍を患った生殖年齢女性に対して、卵子にダメージを与える化学療法や放射線療法を開始する前に卵子あるいは卵巣組織を採取・凍結保存して、原疾患の寛解後にこれらを利用して妊娠を図る、いわゆる癌生殖医療が広く用いられるようになってきている。この際、原疾患の治療開始まで時間的猶予の少ない血液ガン(白血病や悪性リンパ腫)では、次の月経を待ったり消退出血を起こしたりすることなく直ちに採卵へ向かってスタートを切ることが求められる。これを可能としたのが排卵周期における時期にかかわらずCOSを開始するrandom start ovarian stimulation (RSOS)である。本法が画期的であるのは、既に発育卵胞があったり排卵後で黄体ホルモン分泌があったりする状態でも、十分にCOSならびに成熟卵獲得が可能である点である。こうして癌生殖医療領域で応用されてきたRSOSであるが、これを通常不妊患者のARTにおいて適用することも可能である。適応として考えられるのが、仕事をもち時間的に融通がききづらい患者である。受診してARTの適応があると診断されその施行に同意し、即座にCOS開始を希望されるケースがある。この場合、RSOSを用いることにより患者のモチベー

ションを損なうことなく即座に採卵へ向けてのスタートを切ることができ、また少しでも早期に治療を開始できる点からも、年齢が高い患者群においても効率的であると考えられる。

このようにRSOSのmedical indication から social indicationへの適応拡大により、時間的猶予の少ない働く女性においても効率の良い治療の提供が可能となると期待される。

クロミフェン低刺激周期での診療の工夫 ～個々の症例に対してどう対応していくか～



加藤 恵一

加藤レディスクリニック
院長

略 歴

2000年 金沢大学医学部医学科卒業
金沢大学医学部附属病院
2001年 国立金沢病院
2002年 国立病院東京災害医療センター
2004年 金沢大学医学部附属病院
NEW HOPE FERTILITY CENTER (ニューヨーク)
2005年 金沢大学医学部附属病院
2009年 加藤レディスクリニック
2013年 加藤レディスクリニック院長、現在に至る

クロミフェンクエン酸塩 (CC) は、内因性のホルモン分泌を抑制せず間接的に卵巣刺激を行う薬剤である。安価であり、比較的緩徐に刺激することができるため、低卵巣刺激法では第一選択薬となることが多い。多くの症例ではCC単独で排卵誘発を行うことになるが、症例によっては、少量のゴナドトロピン製剤 (Gn) を併用する場合もある。プロトコールのポイントとして、月経3日目にホルモン測定や超音波検査を行い、治療に適した周期であることを確認の上CC投薬を開始する。Gnを併用する場合には月経8日目にホルモン測定および卵胞計測を行い、必要に応じて投与を行うが、その場合でも通常75～150単位を隔日投与するのみで十分である。次回以降の診察で十分な卵胞発育を確認した時点で採卵日を決定する。CCによるLHサージ抑制効果のため通常は2日後に採卵することとなるが、LHサージの発来状況によっては翌日の採卵が必要となることがある。近年は胚盤胞全胚凍結が増えてきているため、採卵後は翌周期まで来院は不要となるが、適応に応じて、子宮内膜厚や卵巣腫大などの状態を確認の上、新鮮分割期胚移植も一定数行っている。胚移植後7日目または10日目に全例血清 β -hCGの測定を行い、微量でも β -hCGが検出された症例については、子宮外妊娠の鑑別のため再検査を行っている。

プロトコールに挙げた来院指定日はどれも重要であるため省略しづらく、また患者それぞれの月経周期も異なるため融通をきかせづらい面もある。今回のテーマの一つである“働く女性のための解決策”という意味では、診療時間の延長や土日祝日を含めた治療施設の体制を充実させることがまず重要であり、その上で来院不可能日の診察を省略した場合に起こりうるデメリットを医師および患者双方が理解して進めることが大事である。

次に“DOR”に対しては特効薬的な治療法は乏しいことが現実である。このような症例には低卵巣刺激法が選択されることが多いが、その点ではフレキシ

ブルな対応が可能である。CCを使用するのか完全自然周期で行うのか、またホルモン補充を行ってFSHを抑制する必要があるのか、これらを組み合わせて行うのかなど、個々の症例や治療周期、その時々状況に応じて多様な選択肢が生まれうる。DORについては画一的な対応は困難なため、症例提示の上、解説させていただく予定である。

卵巣予備能低下症例に対する回収卵子数を増やす工夫



杉山 カー

杉山産婦人科
理事長

略 歴

1994年 東京医科大学卒業
1999年 当時より生殖医療に従事、北九州セントマザーに国内留学し体外受精の基礎を学ぶ
2001年～ 杉四会理事長
不妊治療専門杉山レディースクリニック開院(実家の分娩施設、杉山産婦人科併設)
2007年 杉山産婦人科世田谷開院(分娩、生殖医療、内視鏡手術を行う総合施設)
2011年 杉山産婦人科丸の内開院
2017年～ 杉一會理事長
2018年 杉山産婦人科新宿開院

ARTの成功を左右する因子は、染色体正常の胚細胞を獲得することである。染色体正常胚が得られる確率は女性の年齢に依存しており、我々が想像しているよりは低率である。つまり、ARTで上記の正常胚を得るためには多くの卵子を確保することが必要となってくる。卵巣予備能低下(DOR; diminished ovarian reserve)症例とは、卵巣予備能が低下した状態の女性のことをさし、通常、卵巣刺激には低反応である。女性の年齢が進むとDORとなるが、40歳未満の女性でもDOR症例が存在する。DOR症例の特徴としては低AMH値、月経中のFSH値高値、胞状卵胞数が少ない等を挙げることができる。このような症例は通常、卵巣刺激をしても低反応を示しART治療そのものが難治性となってくる。また、DOR症例の一部に卵巣刺激に対して不均一な卵胞発育を示すことがある。本講演では、月経中の高FSH症例に対する対策として、エストロゲン補充下クロミッド刺激法(E2+CC)と、不均一な卵胞発育となった場合の2段階採卵法について、我々の施設で行っている方法を紹介する。

採卵を行う周期の月経3日目のFSH値 $\geq 20\text{IU/L}$ の場合、通常の卵巣刺激を行っても低反応が予測され、この原因は高FSH状態である。よってまずE2製剤を使用してFSH値を低下させ、その後E2製剤を併用しながらクロミフェンで卵巣刺激を行う方法である。この方法のメリットは注射の排卵誘発剤を使用しないので患者様の経済的・身体的負担が低いことであり、デメリットとしては採卵に至るまで時間を要する(≥ 14 日)こと、クロミフェンを長く使用するため新鮮胚移植は行えないこと、である。経済的・身体的負担が低いため、低反応となった場合でも患者様の徒労感は少なくはなると考えられる。

大小不同の不均一な卵胞発育を示す症例に遭遇することは珍しくない。通常、大きい卵胞に基準を合わせて採卵が組まれる。この場合、小さいほうの卵胞が13mm以下の場合、穿刺をしても成熟卵が得られる

可能性は極めて低い。しかしながら、DOR症例にしてみれば、とても貴重な卵胞である。それで、このような場合は、小さい方は穿刺せず残し、大きい方の卵胞のみを採卵し、採卵日から刺激を追加し、卵胞を発育させてから2回目の採卵を行う方法である。本方法を行うことで、回収卵子数の増加が期待できる。

上記の2通りの方法は、DOR症例に対するとし有効であると考えられ、本講演では日々の診療に役立つような具体的な方法を概説する。

当演題は取り下げとなりました

O-2 メラトニンの卵巣加齢に対する予防効果および投与開始時期の検討

田村 博史, 城崎 舞, 田村 功, 竹谷 俊明, 杉野 法広
山口大学大学院医学系研究科産科婦人科学

【目的】

卵胞数の減少や卵の質の低下に起因する卵巣の加齢は、不妊領域最大の課題であるが有効な対処法はない。我々は松果体ホルモンのメラトニンが卵胞液中に存在し、その抗酸化作用で卵子を保護していることを報告してきた。近年メラトニンは、その抗酸化作用からアンチエイジングホルモンとして注目されており、メラトニンの長期投与で卵巣の加齢を予防できるかどうか、またメラトニンの投与開始時期の違いによる効果を検討した。

【方法】

①13週齢雌ICRマウスをメラトニン投与群(M群)とコントロール群(C群)の2群に分け、43週までメラトニン水(100 μ g/ml)または水を飲水させ飼育し、排卵数、体外受精の受精卵数、胚盤胞数、卵巣組織の卵胞数を計測した。卵巣組織より抽出したRNAを用いて、各遺伝子発現をマイクロアレイ法、PCR法にて検討した。

②投与開始時期の影響を見るため23週(M23群)または33週(M33群)から43週までメラトニンを投与して同様の検討を行った。

【結果】

- ①M群では、排卵数は加齢に伴い減少したが、M群では低下が軽減していた。受精率、胚盤胞到達率も加齢に伴う低下がM群では軽減していた。卵巣の各発育段階の卵胞(原始、一次、二次、胞状)数はC群に比し、M群で高値を示した。また、加齢に伴い発現が低下し、かつメラトニン投与でその低下が阻止される遺伝子群の解析では、リボゾームのタンパク合成、抗酸化機構、DNA修復、オートファジーに関与するものが抽出された。長寿遺伝子(sirtuin1,3)の発現およびテロメア長はM群で増加していた。
- ②M23群では排卵数、受精卵数、胚盤胞数はC群に比較し多かった。一方、M33群ではC群と差は認めなかった。

【考察】

メラトニンの長期投与によって、加齢に伴う卵胞数、排卵数の減少、胚発育の低下が防止できた。抗酸化作用、リボゾーム機能維持、DNA修復機構、sirtuin、テロメア、オートファジーなどの多様な機序がメラトニンの卵巣加齢予防に関与している可能性がある。また、卵巣加齢の予防効果は23週から開始では認めたが、33週から開始では認めず、生殖期後半からのメラトニン投与では卵巣加齢予防効果に乏しいと思われる。

O-3 胞胚腔形成時の遊離割球及びフラグメント除去(Embryo Plasty)の有効性

寄田 朋子, 後藤 優介, 渡邊 華, 戸水 桐子, 田口 新, 原田 祐紀, 近藤 希衣, 向田 哲規
広島 HART クリニック

【目的】

当院では現在, 全ての胚を Time Lapse Cinematography (TLC; Primo Vision™, Embryo Scope+™; Vitrolife) で観察している。従来の定点観察では判明し難い胚発達過程の現象の一つに, 胞胚腔形成に関係しない遊離割球や細胞割球間の fragmentation (frag) が多く存在する場合, 胞胚腔形成時の細胞割球同士の融合阻害現象や圧迫所見がある。それらの胚盤胞 (BL) は形態学的評価による胚質低下や, 胞胚腔が拡張収縮する経過で変性に至る所見が多く認められる。このため胚質低下を改善する目的で, 遊離割球や frag が接する部分の透明帯を LAH (Laser Assisted Hatching) により大きく開口することを Embryo Plasty (EP) と定義した。EP の施行により胞胚腔拡大に伴って遊離割球や frag が胚外に押し出されることによる胚盤胞発達に対する改善効果について検討した。

【対象・方法】

2017年7月～2019年5月に遊離割球による胞胚腔形成時の圧迫や frag が全割球容積の 30～50%に見られた胚に EP を施行した 141 周期 262 個の胚を EP 施行群とし, 2017年1～6月に同様な所見があるが EP を施行しなかった 38 周期 64 個の胚を対照群とし後方視的に解析した。EP は Day4 で施行し, Day5 での胚盤胞発達率, Gardner 分類で 3BB 以上の良好胚盤胞率, Hatching/Hatched 率を比較検討した。

【結果】

胚盤胞発達率, 良好胚盤胞率, Hatching/Hatched 率は EP 施行群 83.2% (218/262), 54.6% (119/218), 59.9% (157/262) で, 対照群 67.2% (43/64), 18.6% (8/43), 0.0% (0/64) であり, 胚盤胞発達率, 良好胚盤胞率で有意に EP 施行群が高い結果となった。

【考察】

遊離割球や frag によって胞胚腔形成阻害や細胞割球同士の融合阻害が起こり胚盤胞の収縮・拡張後の生存性が低下していた胚が, EP を施行することで胚盤胞発達率や Hatching/Hatched 率が有意に上昇した。それにより形態学的に低評価となり治療に供されなかった胚が Hatched の段階の胚盤胞に至り新鮮胚盤胞移植やガラス化保存が可能になり結果的に臨床成績の改善に寄与することが示唆された。また EP の適応となる遊離割球や frag の把握, その施行時期の決定は従来の定点観察では不可能であり, TLC による胚発達の全過程の連続的な観察が必要不可欠であり TLC を用いて胚観察することの有用性も示された。

O-4 ヒト胚では 8-16 分割になる際に 1-4 番目に分裂を開始した細胞が ICM になる

大月 純子^{1,2)}, 岩崎 利郎¹⁾, 江夏 徳寿¹⁾, 片田 雄也¹⁾, 古橋 孝祐¹⁾, 塩谷 雅英¹⁾

1) 英ウィメンズクリニック

2) 岡山大学生殖補助医療技術教育研究センター

【背景】

ヒト胚は受精から 5 日目に胎児になる内細胞塊と主に胎盤となる栄養外胚葉に分かれるが, 4 日目までの分割球の運命は全く分かっていない。Refractile body (RB) は, ヒト卵細胞質内に出現する異常形態の一つであり, 脂質を含む顆粒様物質の複合体であり, リポフスチンの自家蛍光を有し, 大きなものは周囲に膜形成があることが透過型電子顕微鏡観察により判明している (Otsuki et al., JARG, 2007)。また, RB は胚発生過程で消失することなく, 大きさの変化も殆ど見られない。今回我々は, タイムラプス観察を行った受精卵のうち, 大きな RB を含む割球を後方視的に追跡し, ICM に至る細胞の定義を発見したので報告する。

【方法】

2013 年 6 月から 2018 年 12 月までの期間にタイムラプス観察を行い胚盤

胞に到達した胚のうち, 直径 5 μ m 以上の大きな RB を有し, 2-4-8-16 (morula) の正常分割後に胚盤胞になった胚のうち, 胚盤胞まで RB の挙動を追うことが出来た 201 個の胚を対象とし, 分割順序と位置に関する解析を行った。

【結果】

2-4 細胞時の 1 番目, 2 番目に分割した割球内に存在した RB が ICM に行く確率はそれぞれ, 20.0% (20/100), 18.6% (19/101), 4-8 細胞時の 1-4 番目ではそれぞれ, 24.1% (13/54), 28.1% (16/57), 10.3% (4/39), 11.8% (6/51), 8-16 細胞時の 1-8 番目ではそれぞれ, 35.1% (13/37), 39.8% (8/26), 26.9% (7/26), 30.4% (7/23), 5.3% (1/19), 4.8% (1/21), 4.0% (1/25), 0% (0/24) であった。クラスター分析にて, 早く細胞分裂が始まったクラスターが ICM になりやすく, 分裂期によって有意な差があった。また, 早く分裂を開始した上位 50% が有意に ICM に到達することが判明した ($p < 0.001$)。ICM をエンドポイントとした単変量ロジスティック回帰分析では 4-8 cell 分割時, 8-16 cell 分割時ともに有意に ICM を予測する因子であったのに対し, 多変量ロジスティック回帰分析では 4-8 cell 分割時が交絡因子として除外され, 8-16 cell 分割時のみが予測因子 (オッズ比: 16, CI: 4.1-63, $p < 0.001$) となった。

【結論】

本研究の結果から, ICM になる細胞は 8-16 分割時に決まり, 8-16 細胞時に分割の早いものから順番に 1-4 番目までに分裂した細胞が ICM に辿り着くことができる能力を獲得することが明らかとなった。

0-5 多核胚とDirect Cleavage胚の臨床成績

渡辺 瞳, 水本 茂利, 田中 啓子, 戸野本 知子, 長尾 洋三, 仲宗根 巧真, 奥田 紗矢香, 後藤 美緒, 一木 巴恵, 大坪 可奈子, 蔵本 武志
蔵本ウイメンズクリニック

【目的】

近年タイムラプスの普及により, これまでの定点観察ではあまり観察されることのなかった多核胚や異常卵割についての知見が多く報告されている。

当院では以前より多核胚(MNB)とDirect Cleavage(DC)について検討を行っており, MNBとDCを共に認めた胚の胚盤胞発生率は低率であり, またMNBが認められた症例においてDCが起こりやすいことを報告した(2018年日本生殖医学会)。

今回はそれらの臨床成績を比較し, MNBとDCに対する明確な胚評価基準を定めることを目的とした。

【対象および方法】

2018年1月から2019年3月に当院で採卵し胚盤胞凍結を行い, 2019年4月までに単一融解胚盤胞移植を行った701周期(平均年齢35.6歳)を対象とした。対象を以下の4群に分け, 臨床的妊娠率および流産率を比較した。①多核もDirect Cleavageも認めなかった胚(Control群)

661周期, ②多核のみを認めた胚(MNB+群)28周期, ③Direct Cleavageのみを認めた胚(DC+群)7周期, ④多核とDirect Cleavageを共に認めた胚(MNB+DC+群)5周期とした。なお, 凍結胚盤胞が複数個ある場合の移植胚の選択は, ガードナー分類で上位の胚とした。

【結果】

各群の平均年齢はControl群, MNB+群, DC+群, MNB+DC+群でそれぞれ35.6±3.8歳, 37.3±4.4歳, 38.3±2.1歳, 34.0±2.6歳となり, Control群に比べMNB+群が有意に高かった(P=0.03)。

総採卵回数は, Control群, MNB+群, DC+群, MNB+DC+群でそれぞれ1.4±1.0回, 2.2±1.7回, 3.0±3.3回, 3.0±1.8回で, Control群に比べMNB+群(P=0.03)とMNB+DC+群(P=0.0006)で有意に多かった。

臨床的妊娠率はControl群, MNB+群, DC+群, MNB+DC+群それぞれ373/661(56.4%), 16/28(57.1%), 3/7(42.9%), 3/5(60.0%)となり, 流産率は83/373(22.3%), 7/16(43.8%), 2/3(66.7%), 1/3(33.3%)であった。

【考察】

臨床的妊娠率はすべての群で差はなかったが, 流産率はControl群に比べMNB+群(P=0.09), DC+群(P=0.25), MNB+DC+群(P=0.81)が高い傾向にあった。しかし, この結果は患者の年齢と採卵回数に差があったことによるものと考えられる。

今回の検討ではDC+群, MNB+DC+群の移植症例数が少なく, MNBとDCに対する明確な胚評価基準を定めることはできなかった。今後さらに症例数を増やし患者背景の偏りを調整し, 引き続き比較検討を継続していく。

0-6 タイムラプスを用いたヒト1前核胚および2.1前核胚の解析

糸井 史陽, 藤田 京子, 山口 桂子, 関友 望, 秋田 寛佳, 藤井 詩子, 池田 沙矢子, 佐野 美保
小牧市民病院 生殖医療センター

【目的】

体外受精や顕微授精後に, 前核が1個のみの胚(1PN)や通常サイズの前核2個と小さい核1個が観察される胚(2.1PN)が散見され, それらの胚盤胞の中には正常な胚が含まれており, 妊娠および出産例が報告されている(Capalbo et al., 2017)。当院でも1PNと2.1PN由来胚はタイムラプスにて, 前核サイズの測定や胚盤胞までの胚発生状況の観察を行っている。今回, 1PNと2.1PNの発生頻度および胚発生率などを解析したので報告する。

【対象と方法】

2018年6月から2019年7月に当院で採卵および体外受精(cIVF)または顕微授精(ICSI)を行った129周期496個を解析対象とした。まず, 受精操作後, タイムラプス画像にて受精判定を行い, 1PNと2.1PNの前核サイズを測定し, その発生頻度や胚発生率を解析した。

【結果】

1PNの発生頻度は2.4%で, 受精方法別では, cIVFで5.9%とICSI(0.6%)よりも有意に高かった(P<0.01)。1PNの平均サイズは, 面積729 μm^2 , 直径31 μm であった。1PNの胚発生率は, 2PNと比べて低い傾向であったが, その中で胚盤胞に成長した1PNの平均サイズは, 面積836 μm^2 , 直径34 μm であった。次いで, 2.1PNの発生頻度は, 2.4%(体外受精1.8%, 顕微授精2.8%)で, 1PNや多前核(4.6%)と同程度であった。2.1PNの小さい核の平均サイズは, 面積155 μm^2 , 直径14 μm 。2.1PNの通常様の前核は, 面積, 直径ともに正常受精卵のそれと同等であった。また, 2.1PNが観察された周期の女性年齢は40.5歳で, 2.1PNのなかった周期(37.7歳)よりも有意に高かった(P<0.05)。2.1PNの胚発生率は, 胚盤胞形成率54.5%, 良好胚盤胞率9.1%で, 2PN(69.8%, 36.0%)と比べて有意差はなかったものの低い傾向であった。

【考察】

1PNの発生は受精方法が影響し, 2.1PNは女性年齢が影響している可能性が示唆された。また, 最近1PN由来胚に関する大規模なデータが報告され胚盤胞を移植すると2PN由来の胚盤胞と同等の臨床成績であることが報告されていること(Si et al., 2019), 本邦では臨床での着床前検査などの解析は原則禁止されているため, 1PN胚や2.1PN胚の選別方法として前核サイズの測定や, 胚盤胞まで培養することが有効である可能性が考えられる。しかし, まだ報告例が少ないことから, これらの胚を移植する場合には患者に対してしっかりと説明をしたうえで2PN由来胚よりも優先順位を下げるなど慎重に扱う必要がある。

O-7 発光ダイオード(LED)光源が ICSI 成績に及ぼす影響について

山上 一樹, 古橋 孝祐, 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】

卵子に対する光暴露はアポトーシス頻度を増加させるため、体外での胚操作時には光暴露の影響を最小限に留めることが望ましい。近年、発光ダイオード(LED)の普及により、顕微鏡の光源にもLEDを選択することが可能になっている。LEDは消費電力が少なく長寿命であるといった特徴から様々な分野で使用されているが、ヒト卵子をLED光源に曝露した場合の影響についての報告はほとんどない。そこで本検討では、LED灯あるいはハロゲン灯を接続した同型の倒立顕微鏡を用いて、光源の違いが顕微授精(ICSI)成績に与える影響について前方視的に比較検討を行った。

【方法】

2018年5月～12月に顕微授精を実施した547周期(1,637個)を対象とし、患者毎に無作為にハロゲン灯の倒立顕微鏡(ハロゲン群)、又はLED灯の倒立顕微鏡(LED群)に振り分けてICSIを施行した。どちら

の群も倒立顕微鏡はOLYMPUS社:IX73、インジェクションシステム:TAKANOME(NARISHIGE)を使用し、光源以外は同一の機材を用い、受精率、変性率、分割率、良好分割率(4cellG2 $\leq$)、継続培養胚当たりのD5、D6胚盤胞発生率、D5良好胚盤胞率(G3BB $\leq$)を比較検討した。

【結果】

ハロゲン群:242周期(778個)の平均年齢は39.2 $\pm$ 4.6歳、LED群:305周期(859個)の平均年齢は40.0 $\pm$ 4.6歳であった。培養成績は順に受精率(83.0% vs 87.0% p=0.026)、変性率(6.4% vs 5.7% p=0.540)、分割率(91.5% vs 95.2% p=0.005)、良好分割率(53.0% vs 50.4% p=0.348)、D5、D6胚盤胞発生率(47.0% vs 50.9% p=0.227) D5良好胚盤胞率(45.8% vs 40.1% p=0.260)であり、受精率、分割率においてLED群が有意に高い値となった。

【考察】

今回の検討により、顕微授精におけるLEDの使用は受精および初期発生に影響を与えることが示唆され、顕微授精の成績向上の一助となる可能性が考えられた。光源メーカーによると顕微鏡に使用されるLEDはフィルタ制御によってハロゲン灯に近い分光特性を持つとのことであり、本検討における成績の差は各光源の波長の違いによるものではないと考えられる。また、一般的にLEDは発熱が抑えられるとされているため、今回の成績の改善と熱の関連について、更なる検討が必要であると考えている。

O-8 体外受精における精液酸化還元電位を用いた受精予測

長谷川 久隆¹⁾, 鈴木 亮祐¹⁾, 塚本 佳奈¹⁾, 菊本 晃代¹⁾,
小林 充¹⁾, 京谷 利彦¹⁾, 西尾 愛美¹⁾, 湯村 寧²⁾,
櫻井 友義¹⁾, 齋藤 優¹⁾, 小林 淳一¹⁾

1) 神奈川レディースクリニック

2) 横浜市立大学付属市民総合医療センター 生殖医療センター

【目的】

酸化ストレスは、精子の細胞膜やDNAの損傷を引き起こし男性不妊の原因の一つとなることが報告されている。MioxsysTM systemは精液中の酸化ストレスを酸化還元電位(ORP; mV)として数値化し、酸化力と抗酸化力を総合的に評価できる。本研究では、採卵初回でsplit媒精を選択した周期において、ORP値を用いた受精予測が可能か後方視的に検討した。

【方法】

2019年4-7月のsplit施行19周期、成熟卵266個を対象とした。精液ORP値を測定し、精子濃度で割った値を標準化ORP(sORP; mV/106 sperm/ml)とし、①精液所見の各種パラメーターとsORP値の相関、②cIVF受精予測因子探索の為の多変量解析およびROC曲線によるsORPカットオフ値の算出、③sORPカットオフ値前後のcIVFおよびICSIの

受精率について解析した。

【結果】

平均年齢は35.7 $\pm$ 4.3歳であった。平均sORP値は2.1 $\pm$ 2.0 mV/106 sperm/mlであった。受精率はcIVF 67.0%(75/112)、ICSI 91.6%(141/154)であり、cIVFで有意に低率であった。相関解析の結果、sORP値は精液所見の各種パラメーターのうち、精液量、頭部振動数に対し正の相関を示し、総精子数、総運動精子数、精子濃度、運動精子濃度、運動率に対して負の相関を示した。多変量解析の結果、sORP値はオッズ比0.42(P=0.001)であった。cIVFの受精におけるsORP値のカットオフは2.23 mV/106 sperm/mlであり、AUCは0.69であった。cIVFにおける受精率は、sORPカットオフ値未満の症例(79.2%)に比較し、カットオフ値以上の症例(40.0%)で有意に低率であった。ICSIにおける受精率は、カットオフ値未満の症例(94.1%)と、カットオフ値以上の症例(86.8%)で有意な差は認められなかった。

【考察】

sORP値は精子数、運動率と負の相関を示し、cIVFにおける受精の予測因子となり得ることが示唆され、男性不妊症に関する指標として有用であると考えられた。sORPカットオフ値を2.23 mV/106 sperm/mlとした場合、cIVFではカットオフ以上の症例で受精率が有意に低下し、ICSIでは受精率に有意な差は認められなかった。初回split適応症例のうちsORP値が2.23 mV/106 sperm/ml以上の症例では、ICSIを選択することで受精率を大きく向上させる可能性が示唆された。

O-9 患者は必ずしも治療継続のために凍結胚を保管している訳ではない

末永 めぐみ, 篠原 真理子, 山口 弓穂, 上拾石 富士代, 岩下 夢美, 永光 理紗, 伊藤 正信, 松田 和洋
松田ウイメンズクリニック

【目的】

これまで医療者側は患者が将来の産子希望のために凍結胚の保管期限を更新していると考えてきた。しかし、凍結胚の保管を数年継続してきたにもかかわらず、胚移植を行うこと無く、治療終結を迎える症例が往々にある。そこで、継続保管の更新理由と患者背景の関係を明らかにすることで、凍結胚を保管中の患者支援のあり方への再考の一助とすることを目的としてアンケート調査を実施した。

【方法】

2018年6月から2019年5月の期間に凍結胚の期限更新手続きのために妻が来院した194症例を対象に無記名式アンケートを実施し、回収ボックスにて回収した(回収率96.9%)。アンケート内容は患者自身の現在の状況(年齢・保管胚数・養育中の子供数・更新回数)、今回の更新理由(治療の継続または再開を考えている・継続か破棄の決断ができなかった・妊娠中のため出産まで保管したい・その他の4択式)、自由記述欄の構成とした。

O-10 不妊治療を受けた妊婦の「妊娠リスクスコア」による周産期予後

藤井 美喜, 江夏 徳寿, 苔口 昭次, 塩谷 雅英
英ウィメンズクリニック

【目的】

出産施設を併設していない当クリニックは、妊娠7～10週頃に産科のある出産施設に妊婦を紹介している。リスクがある場合には緊急時に対応できる出産施設を選択することが必要であるが、どのようなリスクが周産期予後に影響を及ぼすか明確でない。そこで、出産された方がどのような周産期予後になったのか調査し、妊娠リスクスコアと比較検討し、出産施設選択の参考とする。

【方法】

2014年2月～2015年3月に当クリニックで実施している妊娠初期セミナーを受講し、出産施設を決めている妊婦を対象にアンケートを実施した。2004年に厚生労働省研究班が作成した「初期妊娠リスク自己評価」を含めたアンケート用紙を配布回収し、リスク評価した。妊娠リスクスコアは18項目について妊婦自身が項目をチェック、点数化する。その評価は、高リスク群4点以上、中リスク群2～3点、低リスク群0～1点である。その後追跡調査として、患者からの出産後報告や出産施設

【結果】

患者の凍結時年齢は平均34.5±3.8歳(25-43)、保管胚数は平均3.7±3.4個(1-25)、養育中の子供数は平均1.2±0.6人(0-3)、更新回数は平均1.9±0.9回(1-4)、更新時年齢は平均36.4±3.8歳(26-44)であった。更新理由の内訳としては継続・再開73%、決断できず23%、妊娠中2%、その他2%であった。次に、今後の治療を継続・再開希望群と決断できないまま保管継続とした群において患者背景の比較を行った。凍結時年齢は有意差を認めないものの、継続再開群と比較して決断できない群で35歳以上の割合が増加傾向であった。保管個数は2群間に違いを認めなかった。養育中の子供数は2人以上になると決断できない群が有意に増加した。更新回数は4回目で決断できない群が有意に増加した。更新時年齢は30-34歳では継続・再開群が有意に多く、年齢の上昇とともに決断できない群が増加傾向であった。また自由記述の項目では「色々な思いを乗り越えてきたので破棄できない」「自分の精神的な面からなかなか再開できない」「気持ちの整理をしたい」などの意見が見られた。

【結論】

治療再開や継続に迷いをもちつつ、凍結胚の保管継続を更新している患者が一定数いることが明らかとなった。迷いを持つ傾向のある患者は更新時に年齢・子供数・更新回数を重ねた症例であり、前子の出産などにより通院から遠のいていることが考えられる。そのため治療期間外であっても今後の方針に関して相談できるサポート体制を周知することが患者自身の自己決定を促すと思われる。

の返書より、周産期予後と妊娠リスク評価を比較検討した。

【結果】

妊娠初期アンケート回収は392例に対し、出産報告は244例(62.2%)であった。妊娠リスクスコアは高リスク群80.7%、中リスク群14.4%、低リスク群4.9%であった。出産時年齢は平均36.8歳、出産週数は平均38.9週、出生児体重は平均3,051gであった。分娩様式は経膈分娩59.0%、帝王切開40.6%、IUFD0.4%であった。出産施設別に高リスク群の割合をみると、病院(NICUあり)では84.8%(56/66)、病院(NICUなし)79.8%(79/99)、産科クリニック78.5%(62/79)と高次機能病院で高リスク群が高かった。帝王切開の割合は高リスク群44.2%(87/197)が最も多く、中リスク群25.7%(9/35)、低リスク群25.0%(3/12)であった。

妊娠リスクスコア項目のうち周産期予後(帝王切開、早産、低出生体重児)に関連する独立した因子を求めるために多重解析を行った結果、高齢妊娠、体外受精、前回出産時合併症が帝王切開のリスクを上昇させる独立した因子と考えられた。オッズ比、95%信頼CIはそれぞれ、高齢妊娠(1.12, 1.04-1.20)、体外受精(1.71, 1.10-2.66)、前回出産時合併症(1.74, 1.09-2.79)であった。早産、低出生体重児については独立した予測因子はみられなかった。

【考察】

高リスク群に属するほど帝王切開が多くみられたこと、高齢妊娠、体外受精、前回出産時合併症は帝王切開のリスクを上げることから、妊娠リスクスコアは出産施設を考慮する際の一つの指標となると考えられた。

O-11 拳児希望女性における亜鉛不足の現状とプレコンセプションケアにおける課題

宮本 絵美里¹⁾、安藤 寿夫²⁾、古井 憲作¹⁾、山田 友梨花¹⁾、植草 良輔¹⁾、國島 温志¹⁾、長尾 有佳里¹⁾、矢吹 淳司¹⁾、梅村 康太¹⁾、岡田 真由美¹⁾、河井 通泰¹⁾

1) 豊橋市民病院産婦人科

2) 豊橋市民病院総合生殖医療センター

【目的】

食材の選択肢が豊富で少人数世帯の増加した現代社会は、偏った食生活に陥りやすく、晩婚晩産化や長時間労働や間違ったダイエットにより慢性的かつ特定の栄養素不足が是正されないまま不妊治療やARTを受療する女性が増加していると想定される。亜鉛は300余種の酵素の活性中心元素として働いている必須微量元素であり、生殖機能全般にも影響することは自明ともいえるが、プレコンセプションケアにおける栄養管理の盲点となっているのではと考えた。亜鉛欠乏が食事やサプリメントでは短期間に改善困難なことから亜鉛製剤が2017年に保険適用となり、今や有効な治療手段となったことから、亜鉛欠乏の実態を調査し治療により短期に正することを研究の初期目的とした。

【方法】

当院生殖外来初診女性のスクリーニング検査項目ならびにART受療女性に6ヶ月毎におこなう「術前検査」項目に血清亜鉛を追加し、

96名全員の説明同意を得て自費採血した。採血7日以内の亜鉛製剤内服と採血当日の亜鉛含有サプリメント摂取を避けて採血を実施し、80 μ g/mL未満の女性に対しては結果の説明(日本臨床栄養学会診療指針2018に基づき60 μ g/mL未満を亜鉛欠乏(A)、60～80 μ g/mLを潜在性亜鉛欠乏(B)とし、欠乏による症状と妊娠時の需用増、薬剤内服の必要性、改善後の食生活のあり方等)を行った。生殖医療は続行しつつ亜鉛製剤100mg/日を60日(A)もしくは30～45日(B)連日内服させ、改善評価を行なった。

【結果】

スクリーニング検査にて血清亜鉛を測定した96名のうち、正常である80 μ g/mL以上であったのは9名(9.4%)のみで、60～80 μ g/mLの(B)が64名(66.7%)、60 μ g/mL未満の(A)が23名(24.0%)であった。年齢、BMI、サプリメント摂取の有無との関連は明らかでなかった。(A)と(B)を合わせた87名の中で、上述の説明の結果亜鉛製剤を実際に処方したのは39名であり、そのうち22名で処方後の血清亜鉛再検が施行済みであった。再検結果では正常10名、(B)9名、(A)3名であり、(A)から正常への改善が5名、(B)から正常への改善が5名、(A)から(B)への改善が4名、改善を認めなかった者が8名であった。

【考察】

亜鉛は今回スクリーニング検査を行なったほとんどの患者に充足しておらず、妊娠を目指すにあたっての不足のみならず、ARTをはじめとした生殖医療の成績にも悪影響を及ぼしている可能性が示唆された。

【結論】

亜鉛欠乏をプレコンセプションケアに組み入れ、拳児を望む女性には亜鉛製剤を用いて速やかに改善を図る必要がある。

O-12 プラセンタエキス含有サプリメント摂取は胚培養成績を改善するか？

山田 健市、菊地 裕幸、岸田 拓磨、菅野 弘基、岸田 理英、佐藤 那美、結城 笑香、吉津 葵、佐々木 郁弥、片桐 未希子、吉田 仁秋
仙台ARTクリニック

【目的】

ARTにおいて、体質、卵質改善の為、サプリメントや鍼灸等の統合医療を利用している患者は多くなってきている。特に高齢患者は、サプリメント利用が顕著である。プラセンタエキス含有サプリメントのプラリエ(メニコン社)は、L-カルニチン、 α -リポ酸、コエンザイムQ10、レスベラトロール、葉酸も配合しており、抗酸化成分による体質改善が期待できる。しかしながら、サプリメントは食品の一つであり、その有効性には懐疑的な面もある。そこで本研究では、プラリエ摂取の有効性を評価する為、摂取前後における胚培養成績を比較検討することを目的とした。また、40歳以上患者では、サプリメント摂取率が比較的高いことから、40歳以上患者について同様に検討を行った。

【方法】

2016年5月から2019年2月、当院にてART(ICSI)を実施したプラリエ摂取前104周期(平均年齢37.6歳)、摂取後481周期(平均年齢39.0歳)について、正常受精率、Day3良好胚率、Day5/6胚盤胞発生率、

Day5/6良好胚盤胞発生率の比較検討を行った。次に、40歳以上患者のプラリエ摂取前30周期(平均年齢41.7歳)、摂取後258周期(平均年齢41.9歳)について、同様に検討を行った。Day3良好胚は、6cell以上かつフラグメンテーション30%以下、Day5/6良好胚盤胞は、ガードナー分類3BB以上とした。

【結果】

プラリエ摂取前後における正常受精率は69.7%、73.3%、Day3良好胚率は66.5%、64.1%、Day5/6胚盤胞発生率は53.2%、55.0%、Day5/6良好胚盤胞発生率は22.3%、27.3%であった。摂取前後に有意差を認めなかった。次に、40歳以上患者のプラリエ摂取前後における正常受精率は67.4%、74.1%、Day3良好胚率は73.8%、71.6%、Day5/6胚盤胞発生率は39.4%、45.2%、Day5/6良好胚盤胞発生率は15.2%、20.5%であった。40歳以上でも有意差を認めなかったが、摂取後に正常受精率、Day5/6胚盤胞発生率、Day5/6良好胚盤胞発生率が上昇する傾向があった。

【考察】

プラリエ摂取により、特に40歳以上患者では、有意差は認められないものの正常受精率、胚盤胞発生率、良好胚盤胞発生率が上昇する傾向があった。これらの上昇傾向は、プラリエの成分に含まれている種々の抗酸化物質の働きによると判断される。プラリエ摂取は、卵質低下を最小限に抑え、胚培養成績の維持向上、ひいては児の獲得に繋がる可能性があると考えられる。しかし、今回の検討は摂取前後での胚培養成績の比較であり、摂取期間や客観的なバイオマーカーの測定等、より詳細な検討が今後必要である。

O-13 液体窒素タンクが破損した際に生じる外観・液体窒素量・内部温度の変化

小橋 朱里¹⁾, 入江 真奈美¹⁾, 水野 里志¹⁾, 明角 一平²⁾, 福田 愛作¹⁾, 森本 義晴³⁾

1) IVF 大阪クリニック
2) 株式会社アステック
3) HORAC グランフロント大阪クリニック

【目的】

胚の凍結保存は、生殖補助医療に欠くことのできない技術の一つである。凍結保存には保存タンクが必須であるが、その重要性に関わらずタンク管理について明確な情報は無い。タンクに事故が起きたら、被害は重大である。2018年にアメリカで2件のタンク事故が報道され、オハイオ州の事故では約950人の4,000個の凍結胚が影響を受けたとされている。当院でも、補充用タンクであったが、タンクが破損し液体窒素(LN₂)が枯渇したことを経験しているため、タンクに破損が起きないと言い切れない。今回我々はLN₂を満たしたタンクを破損させ、起きた変化を観察することで、どのようにタンクを管理すべきか考察した。

【方法】

検討には、廃棄予定の10L保存タンク3台を使用した。これらにLN₂を満たし、タンク中で実際に胚が保存される位置に温度計を設置した。タンクの真空弁、溶接部、あるいは入口部に、それぞれ直径2mmの穴を開けることでタンクの真空断熱を解除し、外観の観察、LN₂の残量

およびタンク中の温度を経時的に測定した。測定は、断熱解除から温度が、保存胚に脱ガラス化が起きるとされる-80℃に上昇するまで1時間毎に行った。ただし、最初の1時間及び温度が-196℃から上昇し始めてからは15分毎に測定した。コントロールは、破損前のタンクで24時間毎に7日間同様の測定を行った結果を用いた。

【結果】

外観は、全てのタンクで観察開始から15分以内に蓋に霜、本体表面に結露が認められ、この状態は測定終了まで保たれていた。LN₂は、破損箇所間で最初の60分のみ減少量に差がみられたが、それ以降枯渇するまでは全てのタンクで約4cm/hで減少した。温度は、LN₂の残量がタンクの底から約1cmになるまで-196℃を保っていたが、そこから上昇が始まり、上昇開始から45～80分で-80℃に達した。測定開始から温度が-80℃に達するのに要した時間は、真空弁を破損した場合では7時間54分、溶接部では9時間23分、入口部では8時間3分であった。コントロールは、7時間で満タン時より2cm、LN₂の液面が低下したが、外観と温度に変化はなかった。

【考察】

今回測定開始から温度が-80℃まで上昇するまでの時間は、破損箇所の違いにより最大1時間30分ほどの差があった。しかし、この差によりタンク破損発見後の対応に違いはないと考えている。今回の検討より、タンクの破損を発見した場合胚救出まで数時間以内の猶予があることが示唆された。さらにタンクに破損が起こった場合、破損直後から外観に兆候が現れるため容易に気付くことができる。破損はタンクに動きのある業務中に起きる可能性が高いと考えられるため、業務中は定期的にタンクの外観を確認することが重要である。さらに、損傷の兆候を見つけた時のため、保存胚の移動先や予備のLN₂を確保しておくことも必要である。

O-14 凍結直前の収縮胚盤胞が臨床成績へ与える影響

村上 加奈¹⁾, 北坂 浩也¹⁾, 吉村 友邦¹⁾, 福永 憲隆^{1,2)}, 浅田 義正^{1,2)}

1) 浅田レディースクリニック
2) 浅田生殖医療研究所

【目的】

胚盤胞凍結は胞胚腔の収縮・拡張を確認しながら行うが、凍結直前に収縮していた胚盤胞は体積回復の見極めが難しく、最適な平衡液浸漬時間を超過している可能性がある。事実、マウスにおいては、平衡液浸漬時間が長くなるほど胚盤胞生存率は低下するとの報告もある(Valdez CA et.al, J Reprod Fertil, 1992)。そこで、本研究では凍結直前に収縮していた胚盤胞の凍結方法を改善させるために臨床妊娠率、流産率を解析した。

【方法】

2013年1月～2018年12月に培養5日目or6日目で良好胚盤胞(Gardner's Scoreの≥3BB)の凍結を行い、単一融解胚移植を施行した6,046症例11,247周期を対象とした。凍結は推奨されるプロトコールに従い、平衡液で一度収縮を確認し胚の体積が回復した時点(最大15分)でガラス化液へ投入後、1分でガラス化を完了させる方法とした。検討1：凍結直前に収縮していた胚盤胞(S群)、非収縮胚盤胞(N群)

の2群に分け臨床成績を比較した。

検討2：S群とN群において融解後4時間の培養後に体積が回復した胚盤胞の割合を算出し、体積が回復および収縮していた胚盤胞における臨床妊娠率、流産率の比較を行った。

【結果】

検討1：S群の妊娠率は36.3%(53/146)に対しN群では45.8%(5055/11034)と有意に高かった(p<0.05)。流産率は35.8%(19/53)に対し21.9%(1106/5055)となり、N群は有意に低かった(p<0.05)。検討2：融解後の体積回復胚盤胞の割合はS群79.5%(116/146)、N群91.9%(10142/11034)となりS群で有意に低かった(p<0.05)。体積回復胚盤胞の妊娠率はS群44.0%(51/116)、N群47.8%(4848/10142)、流産率はS群35.3%(18/51)、N群21.8%(1057/4848)と差はなかった。体積非回復胚盤胞の妊娠率はS群6.7%(2/30)、N群23.2%(207/892)となりS群で有意に低く(p<0.05)、流産率はS群50.0%(1/2)、N群23.7%(49/207)と差はなかった。

【考察】

両群共に、融解後の体積非回復胚盤胞の妊娠率は低値であり、S群においては融解後の体積回復の割合は有意に低く、流産率が高かったことから、平衡液浸漬時間が最適ではなく耐凍剤による負の影響があったと考えられる。今後は、全症例タイムラプス運用を活用し胚盤胞の体積が回復してから凍結を開始できる臨床業務体制の構築、または非収縮胚盤胞(N群)の平均的な平衡液浸漬時間を基準とした凍結方法を検討していきたい。

O-15 拡張した孵化胚盤胞をガラス化凍結する際に行う至適収縮処理法の考察

大久保 毅, 林 輝明, 恩田 知幸, 松尾 涼子, 田口 智美, 大見 健二, 瀬川 智也
新橋夢クリニック

【目的】

胚盤胞のガラス化において、胞胚腔内液は氷晶形成によるダメージ要因になるため、胞胚腔内外において凍結液との効率的な置換が胚の生存率および妊娠率の向上に繋がる。そのため胚盤胞をガラス化凍結する直前に、ピペッティングによる人工的な収縮(PAS)処理を施して胞胚腔内容積を小さくすることが融解後の高い生存率、妊娠率を得るために重要である。しかしPAS処理による栄養外胚葉細胞(TE)のダメージは胚盤胞径が大きくなるほど有意に高くなることが分かったため、TEダメージを出来るだけ少なくするためには胚盤胞径が大きいほど慎重なPAS処理が要求される。そこで我々はより妊娠性の高い胚を得るためのPAS法について検証するために、拡張期の孵化胚盤胞をPAS処理した際の収縮形態とダメージ率および妊娠成績に関する関連性を後方視的に解析した。

【方法】

2017年3月より2019年2月にかけて採卵を施行した1,341周期を対象とし

た、良好胚盤胞(TE数12個以上)まで発育した拡張期胚盤胞1,598個は全てレーザーによる人工的孵化処理を行った後にPASを施行し、cryo top法によるガラス化凍結を施行した。PAS前の胚盤胞径が平均以上(200 μ m以上)の孵化胚盤胞739個のうち、PAS後に胞胚腔が完全収縮した群(完全PAS)と胞胚腔が完全に収縮していない群(不完全PAS)についてTEダメージ率と移植あたりの妊娠成績を比較した。

【結果】

胚盤胞径が200 μ m以上の拡張期孵化胚盤胞にPASを施行した結果、完全PAS群が610個、不完全PAS群が129個であった。完全PAS群および不完全PAS群における凍結前のTEダメージは42.8%(261/610)および20.2%(26/129)であり、完全PAS群で有意に高いTEダメージが認められた($P<0.001$)。

同様に融解後生存率は99.2%(605/610)および99.2%(128/129)、妊娠率は43.0%(260/605)および54.7%(70/128)であり、妊娠率は不完全PAS群が有意に高かった($P<0.05$)。

【考察】

PASを行うことは融解後の高い生存率を得るために必須の前処理であることは間違いないが、数回のPASを行っても胞胚腔が完全に収縮しない例も少なからず見られる。しかしながら、今回のような特に胚盤胞径の大きい胚では、過度のPAS処理によってTEに不必要なダメージを与えている可能性が考えられた。従って、胚盤胞径に合わせた適切な内径のピペットによる穏やかな操作はもちろんのこと、不完全PASであってもTEダメージを最小限に止めることの方が妊娠率のさらなる向上に繋がると示唆された。

O-16 当院における分割胚の融解時期による臨床妊娠率への影響

小林 正知, 関和 瞳, 髭 友希, 山下 千波, 石寄 健奨, 森中 美友, 川本 真, 佐々木 真紀, 小柳 良子, 園田 桃代
園田桃代 ART クリニック

【目的】

近年ARTにおいて分割胚よりも胚盤胞移植の方が妊娠率が高いことから、凍結融解胚盤胞移植が増加している。しかし、胚盤胞に発生しなかった場合や、施設の凍結基準に満たず凍結キャンセルとなり胚移植に至らない場合もあるため、分割胚移植の方が有用であることも多い。以前我々は凍結融解胚移植における融解から胚移植までの時間の違いによる妊娠率への影響について報告したが、分割胚の割球数別での検討はしていなかった。今回我々は分割胚について割球数別に融解時期による臨床妊娠率への影響について検討した。

【方法】

検討1 2013年1月以降に当院にて凍結保存したDay3分割胚 Veeck 分類5分割G3以上の胚を用いて、2015年9月から2017年7月までに胚融解を移植前日あるいは当日に無作為に分けて単一融解分割胚移植を行った548周期について割球数別の臨床妊娠率(胎嚢確認)を検討した。
検討2 2017年7月から2019年5月までに前日融解した5分割胚および6

分割胚と当日融解した7分割以上胚に分けて単一融解分割胚移植を行った649周期について前日融解と当日融解の臨床妊娠率を比較した。

【結果】

検討1において前日融解と当日融解の妊娠率はそれぞれ30.2%(71/235)、29.7%(93/313)と有意差はなかった。5分割胚、6分割胚、7分割以上胚の前日融解の妊娠率はそれぞれ16.7%(2/12)、22.2%(6/27)、32.1%(63/196)、当日融解の妊娠率はそれぞれ13.0%(3/23)、18.4%(7/38)、32.9%(83/252)と融解時期に関わらず7分割以上胚で高い傾向を示した。また5分割、6分割胚はともに当日融解よりも前日融解の方が妊娠率が高い傾向を示した。検討2において前日融解した5分割、6分割胚と当日融解した7分割以上胚の妊娠率はそれぞれ10.0%(2/20)、10.2%(6/59)、27.0%(154/570)と当日融解の方が有意に高くなった($P<0.01$)。前日融解した胚について、移植当日までに割球数が増加した群と前日と同じ割球数のままであった群の妊娠率は5分割、6分割ともに移植当日までに割球数が増加した群の方が高い傾向を示した。

【考察】

5分割、6分割胚の融解日を移植前日にすることによる妊娠率への影響はなかった。5分割、6分割胚の妊娠率は低調であったものの、妊娠に至った胚に関しては移植当日までに割球数が増加している傾向がみられた。そこで当院ではすでに5分割胚に関してはDay3での凍結を送り良好胚盤胞に発生したら移植の対象としているが、今後は6分割胚についても同様に検討していきたい。

O-17 精巣内精子と射出精子を用いた ICSI の臨床成績の比較

川辺 美里, 野々口 耕介, 人見 裕子, 小川 優紀, 藤川 恵理, 久保田 健, 山口 剛史, 田村 出, 渡邊 由美子, 石川 弘伸, 渡邊 浩彦
慶應渡辺クリニック

【目的】

ICSIには正常形態の精子を選別することが重要であるが、症例によっては運動精子が少なく、また形態不良精子が多いとICSIでの精子選別に苦慮することがある。精巣内精子は射出精子と比べるとDNA損傷や酸化ストレスなど少ないが運動精子も少ないので不動精子の中から生存精子を探さなくてはならない。このように射出精子、精巣内精子には長所もあるが欠点もあり特に精巣内精子回収法は侵襲性が強いことが挙げられる。しかし当院では無精子症以外でも精液所見が不良で射出精子でのICSIで結果が出ない場合に精巣内精子回収法(TESE)も視野に入れている。そこで当院において同一患者で射出精子、TESE精子を用いたICSIの臨床成績について検討することにした。

【方法】

2014年7月から2019年6月までの5年間でTESEと射出精子によるICSIを受けた10症例についてTESE群と射出精子群の授精率、胚盤

胞到達率、臨床妊娠率、流産率を比較して検討することにした。

【結果】

10症例で患者年齢は29歳から45歳。総周期数は31周期でTESE群16周期、射出精子群17周期であった(同一周期でTESE、射出精子両方使用した症例が2周期あり)。TESE群では全ての症例で運動精子は確認できずペントキシフェリンで運動性を示した精子を用い射出精子群では運動精子が確認できたので出来るだけ形態良好な精子を用いてICSIを行った。授精率、胚盤胞到達率はTESE群で64.6% (64/99), 32.8% (21/64)であったのに対し射出精子群は75.0% (81/108), 74.1% (60/81)であった。臨床妊娠率と流産率はTESE群で75.0% (6/8), 33.3% (2/6)であり射出精子群では43.8% (7/16), 42.9% (3/7)であった。最終的に生児を獲得したのはTESE群4症例、射出精子群3症例であった。

【考察】

授精率、胚盤胞到達率は射出精子群が高かったが臨床妊娠率はTESE群の方が高く、流産率はTESE群が低い結果になった。このことはTESE群では精子の障害が少なかったということと逆に射出精子群と比べて精子探索に時間がかかっていることが関係しているかもしれない。TESE群と射出精子群との比較で優劣はつけがたいがTESE群は射出精子でのICSIを2周期程行い着床しないか流産に終わったためTESEに切り替えて成功している。このように射出精子やTESEにこだわらず数周期行っても結果が出ない場合、精子回収法を変更してみることも必要と考えられた。しかし今回生児を獲得した症例は37歳以下であったことから母体年齢も考慮して治療を進めることも重要である。

O-18 ICSI時の紡錘体観察は培養成績を向上させるのか

井頭 千明, 古橋 孝祐, 岩崎 利郎, 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】

卵子の第一減数分裂において、第一極体はanaphase Iに放出がはじまりtelophase Iに至って完全に放出される。しかし、この時点ではまだM IIスピンドルの形成はなく、prophase IIを経て初めてM II卵となる。一般的にICSIは、第一極体の放出を確認できた卵をM II期として実施するが、第一極体の観察だけでは、anaphase I～prophase IIの卵をM II卵と鑑別することは容易ではない。従って、ICSIに先立ってM IIスピンドルの有無を観察し、観察できない卵は数時間の培養を行いM IIスピンドルの出現を待ってからICSIを行うことで成績の向上を期待できるとの考えがある。そこで今回我々はICSI時の紡錘体観察の有用性について検討したので報告する。

【方法】

検討期間：2018年8月～2019年5月。検討対象：初回ICSIを施行し

た169周期914個の卵。650個に紡錘体観察を実施したところ(観察群)、600個にM IIスピンドルを認め(M II群)、50個にはM IIスピンドルを認めなかった(非M II群)。264個は紡錘体観察を実施せず従来通りICSIを実施した(非観察群)。非M II群のうち35個は2時間の追加培養後にICSIを行い(培養群)、15個に対しては、培養を行わずICSIを行った(非培養群)。培養群は2時間の追加培養後に、M IIスピンドルの有無にかかわらずICSIを実施した。紡錘体の観察は位相差顕微鏡Nikon ECLIPSE Ti2-Uを用い、maturation triggerから38～41時間後に実施した。

【結果】

観察群、M II群、非M II群、培養群、非培養群、非観察群の成績は、それぞれ正常受精率：74.3%, 74.5%, 72.0%, 62.9%, 93.3%, 79.9%, D5胚盤胞発生率：56.2%, 57.5%, 41.4%, 42.1%, 40.0%, 51.0%であった。観察群と非観察群の比較では、両群に有意な差は認めなかった。さらに、培養群と非培養群の比較でも、有意な差は認めなかった。

【考察】

ICSI時の紡錘体観察の有用性に関して否定的な結果を得た。その理由の第一は、紡錘体可視化率が92%と高かったこと、第二として、M IIスピンドルの形成を認めない卵でも遜色の無い受精率および胚盤胞発生率が得られたことをあげることができる。anaphase I～prophase IIの卵はM IIスピンドルの出現を待ってからICSIをするべきという考えには再検討の余地がある。

O-19 細胞膜が低伸展性だった卵の 発育能は低い

花谷 美香, 高橋 浩美, 井上 聖子, 田口 可奈, 川原 結貴,
新藤 知里, 川上 典子, 平田 麗, 小坂 由紀子, 羽原 俊宏,
林 伸旨

岡山二人クリニック

【目的】

ICSI実施時に、細胞膜にピペットを挿入すると同時に破膜が起こる低伸展性の卵子はその後の変性率が高いことが知られている。しかし胚発育についての報告は多くない。また、低伸展卵が多い周期が見られるが、同時に採卵された膜正常卵の胚発育についての詳細は不明である。そこで今回は、卵細胞膜の伸展性による胚発育、および低伸展卵と同時に採卵された膜正常卵の培養成績を検討した。

【方法】

2014年6月から2017年6月までに当院でGnRH agonist法またはGnRH antagonist法による調節卵巣刺激を行った症例のうち、採卵回数3回以下、ICSI実施数が5個以上の771症例903周期を対象とした。ICSI実施時にピペットを細胞質に挿入したと同時に破膜が見られた卵子を不良群、卵細胞質にピペットを挿入し、押し進めている時に破膜がおきた卵子を中間群、十分な伸展の後、吸引をかけることにより破膜がおきた卵子を正常群とし、それぞれの培養成績および妊娠率について比較した。

また、不良卵を含まない周期の膜正常卵をA群、不良卵を含むが30%未満であった周期の膜正常卵をB群、不良卵が30%以上であった周期の膜正常卵をC群とし、それぞれの培養成績および妊娠率について比較した。

【結果】

不良群、中間群、正常群のそれぞれの2PN率は42.2%, 68.8%, 81.4%, 変性率は46.2%, 14.9%, 2.8%だった。不良群の2PN率は他群と比較して低率であり ($P<0.05$)、変性率は高率だった ($P<0.05$)。Day5胚盤胞到達率は44.9%, 51.6%, 56.7%, 良好胚盤胞到達率は15.7%, 21.7%, 25.4%であり、不良群のDay5胚盤胞到達率および良好胚盤胞到達率は正常群と比較して低率だった ($P<0.05$)。また単一融解胚盤胞移植での妊娠率 (妊娠継続中含む) および流産率に各群間の差はみられなかった。A群、B群、C群のそれぞれの2PN率は81.9%, 81.2%, 68.9%, 良好分割率は70.3%, 69.0%, 58.1%であり、C群の2PN率は他群と比較して、良好分割率はA群と比較して低率だった ($P<0.05$)。Day5胚盤胞到達率、良好胚盤胞到達率、単一融解胚盤胞移植での妊娠率 (妊娠継続中含む) および流産率に差はみられなかった。累積生産率は59.5%, 61.2%, 32.3%でありC群は他群と比較して低率だった ($P<0.05$)。

【結論】

細胞膜が低伸展性だった卵子は正常卵と比較し、受精率だけでなく胚盤胞到達率も低かったが、融解胚盤胞移植後の妊娠率は正常卵と同等であった。また低伸展卵が多かった周期の累積生産率は低く、同一採卵周期の膜正常卵の受精率も低かった。細胞膜の伸展性は胚発育と関連していることが示唆された。

O-20 40歳以上患者における Piezo- ICSIの有用性について

岸 加奈子, 古橋 孝祐, 片田 雄也, 角本 知世, 角 知英,
岩崎 利郎, 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】

生殖補助医療において、卵細胞質内精子注入法 (intracytoplasmic sperm injection; ICSI) は必須の技術である。ICSIの際には精子を卵細胞質内へ注入する為に、インジェクションニードルで透明帯を押し破った上で、卵細胞質膜の破膜が必須である。この卵細胞質膜を破膜するためには、ニードル内へ卵細胞質を吸引して破膜する方法 (conventional-ICSI: 以下c-ICSI)、又はPiezoパルスを使用して破膜する方法 (Piezo-ICSI) がある。近年ヒト卵子においてPiezo-ICSIの有用性が報告され、我々も過去に高齢患者におけるPiezo-ICSIの有用性について報告した (2015年日本卵子学会、2018年日本IVF学会)。今回、2019年1月より40歳以上患者においてPiezo-ICSIを実施するよう治療方針を変更した結果、培養成績の向上に寄与したかどうか前年と比較したのでここに報告する。

【方法】

2018年1月～3月にc-ICSIを実施した218周期 (528個) をc-ICSI群と

し、2019年1月～3月にPiezo-ICSIを実施した288周期 (773個) をPiezo群とし、後方視的に検討を行った。また、本検討にはEppendorf社製のPiezoドライブ (PiezoXpert) を用いた。検討項目は受精率、2PN率、変性率、良好分割率 (4cellG2以上)、D5胚盤胞発生率、D5良好胚盤胞率 (G3BB以上)、D5・D6胚盤胞発生率とし、それぞれ比較検討を行った。

【結果】

c-ICSI群の平均年齢は 42.7 ± 2.1 歳、Piezo群の平均年齢は 42.9 ± 2.1 歳であり、両群において患者背景に有意差は認められなかった。培養成績は順に受精率 (82.0% vs 85.1% $p=0.134$)、2PN率 (72.0% vs 77.6% $p=0.020$)、変性率 (5.3% vs 6.1% $p=0.56$)、良好分割率 (54.4% vs 53.2% $p=0.72$)、D5胚盤胞発生率 (25.2% vs 36.6% $p=0.0011$)、D5良好胚盤胞率 (33.8% vs 32.3% $p=0.82$)、D5・D6胚盤胞発生率 (39.2% vs 45.8% $p=0.078$) であり、2PN率、D5胚盤胞発生率においてPiezo群が有意に高い値となった。

【考察】

本検討結果より、40歳以上患者におけるPiezo-ICSIの有用性が確認出来たことから、Piezo-ICSIは加齢に伴う脆弱な卵子において、より少ないダメージでICSIが可能となり培養成績の向上に寄与出来ることが示唆された。今後はPiezo-ICSIが妊娠率の向上に寄与出来るかどうかの検討も行っていきたい。

0-21 電気刺激法とカルシウムイオンファアによる卵子活性化に関する研究

The oocytes activation by electric pulse stimulation versus Calcium ionophore after Intracytoplasmic sperm injection.

藤江 周一朗, 庄司 圭佑, 三上 勇人, 佐々木 雅弘
セントベビークリニック

【Purpose】

The present study was conducted to examine differences in the activation of human oocytes by electrical pulse versus the calcium ionophore.

【Methods】

The oocytes were activated electrically 30 min after ICSI.

Oocytes, suspended in a phosphate-buffered saline were placed between two parallel electrodes in an electric chamber, and were subjected to a single, square DC pulse. Stimulated oocytes were immediately transferred back to HTF medium.

The oocytes were exposed to A23187 for 30 min immediately transferred back to HTF medium.

【Results】

Seven hundred forty-one ICSI cycles were included in the study. The fertilization rate by was statistically significantly higher in the electro activated group as compared with in the the calcium ionophore (71% vs 48%). The oocyte degeneration rate was not statistically significantly different between the two groups (17% vs 28%).

【Conclusion】

The electric pulse activation seems to be more useful method than Calcium ionophore in cases of repeated failed fertilization after ICSI.

0-22 高プロラクチン血症の治療後にIVF成績は改善するのか？

村井 未来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

【背景】

高プロラクチン(PRL)血症は、排卵障害、月経異常、黄体機能不全や流産の原因になり、PRL正常な患者に比べ胚質が低下する。当院では高PRL血症患者にはカバサルまたはテルロンを処方しPRLの分泌を抑え体外受精を行っている。今回、高PRL血症治療後の患者の体外受精成績を調べた。

【方法】

高PRL血症投薬治療中の患者と過去に診断され現在正常化している患者を高P群とし、当院で2017年1月から2018年12月に体外受精を行った39歳以下の高P群109人とPRL正常な患者(正常群)1,014人を対象に刺激周期採卵(ST)と低刺激周期採卵(MS)のICSI, Conventional-IVF(c-IVF)で分け、それぞれ成熟率、正常受精率、移植可能胚率を比較した。また同期間に移植を行った39歳以下の高P群124人の患者と正常群1,264人をSTの胚移植とMSの胚移植で分け、

それぞれ移植後の妊娠反応陽性率と化学流産、GS率、FHB率を比較した。

【結果】

ICSIを行った高P群で正常群に比べ成熟率が低下した(77.8% vs. 74.1%, $P<0.05$)。c-IVFを行った患者で成熟率に差はなかった(84.3% vs. 85.4%)。また高P群と正常群で受精率に差はなかった(ICSI: 80.0% vs. 78.6%, c-IVF: 81.1% vs. 79.3%)。移植可能胚率はMSの高P群で低下した(ICSI: 82.6% vs. 57.7%, c-IVF: 75.9% vs. 43.2%, $P<0.05$)。STとMSの移植可能胚率に差はなかった(ICSI: 76.3% vs. 78.2%, c-IVF: 69.9% vs. 67.9%)。高P群の妊娠反応陽性率は正常群に比べST(57.6% vs. 44.0%, $P<0.05$)、MS(41.7% vs. 36.8%, $P<0.05$)ともに低下した。化学流産、GS率、FHB率に差はなかった。

【考察】

高P群の受精方法によって成熟率に差がありICSIで低かったことから、高PRL血症では採卵当日の卵成熟が遅れることが示唆された。c-IVFでは翌日に成熟確認するため成熟率の差が埋まったと考えられる。本検討では、高PRL血症治療後であっても胚発生や妊娠に影響があり、特にMSの胚で差は顕著に見られた。高PRL血症の患者で妊娠反応陽性率は低下したものの、妊娠後の経過に差はなかったことから可能であれば刺激周期で多くの卵子を獲得し、治療を進めることが望ましいと考えられる。

O-23 採卵決定日にLHサージ開始した採卵周期におけるレルゴリクスの排卵抑制効果の検討

中尾 佳月, 黒田 恵司, 月花 瑤子, 板倉 彰子, 森山 梓, 壽圓 裕康, 堀川 隆, 小代 裕子, 高見澤 聡, 中川 浩次, 杉山 カー

杉山産婦人科 新宿

【目的】

クロミフェン等を用いた卵巢低刺激法など、排卵抑制を併用しない卵巢刺激では、採卵前にLHサージ・排卵が起こり採卵キャンセルとなることがある。そのため、排卵抑制を目的として、上昇したLHを抑制するGnRHアンタゴニスト製剤や、プロスタグランジン産生を阻害するNSAIDsを投与することがある。2019年3月発売の経口GnRHアンタゴニスト製剤(レルゴリクス)は、従来のGnRHアンタゴニスト注射薬より安価で投与が容易である。その利便性から、今後使用増加が予想されるレルゴリクスの排卵抑制効果を検証した。

【方法】

2018年12月から2019年5月、卵巢低刺激法による採卵周期において、

採卵2日前のLH値が10mIU/mL以上に上昇した183周期のうち、基礎LH値が高値の卵巢予備能低下症例と多嚢胞性卵巢症候群の20周期を除外した163周期を対象とした。採卵2日前にレルゴリクスを投与した27周期(R群)、2日前にGnRHアンタゴニスト注射薬を投与した10周期(G群)、1日前にNSAIDs(メロキシカム)を内服した102周期(M群)、2日前にレルゴリクスと1日前にメロキシカムを内服した24周期(R+M群)の4群を後方視的に比較検討した。

【結果】

R群、G群、M群、R+M群の年齢は、 36.9 ± 4.3 , 36.2 ± 4.5 , 39.3 ± 5.0 , 38.6 ± 5.0 歳、採卵2日前のLH値は、 18.1 ± 6.0 , 15.2 ± 2.5 , 18.5 ± 7.1 , 20.4 ± 6.6 mIU/mLであり、4群間において有意差はなかった。一方、採卵時の既排卵率は、40.7% (11/27周期)、0% (0/10周期)、14.7% (15/102周期)、20.8% (5/24周期)であり、R群はG群、M群と比較して有意に高かった($p=0.016$, 0.0027)。

【考察】

採卵決定日にLHサージを認めた場合、レルゴリクスによる排卵抑制効果はあまり期待できない。経口剤による吸収および血中濃度上昇の遅延が考えられる。LHサージを抑制する目的でGnRHアンタゴニスト製剤を投与する場合は、速やかな効果が期待できる注射製剤が適している。

O-24 増加する就労女性患者に対する当院の取り組み～ランダムスタート法による調節卵巢刺激法の活用～

加藤 裕之, 吉岡 尚美, 小川 尚子, 大塚 未砂子, 村上 貴美子, 水本 茂利, 大坪 瞳, 蔵本 武志
蔵本ウイメンズクリニック

【目的】

共働き世帯の増加により、不妊患者における就労女性の割合が増加している。当院の患者の80%は就労女性であり、50%は常勤のフルタイムで仕事を行っている。このような現代患者のニーズに合わせて治療を行うには、通院日数を減らすなどの配慮が必要となる。当院では就労女性患者へのサポート体制を整備するため、両立支援外来を開設している。同外来経由後の診療現場においては、月経開始時期を問わずスタートできるランダムスタート法(以下ランダム法)などを活用して、患者個別のニーズに合わせて計画ARTを行なっている。今回、これらの計画ARTが就労女性のストレス軽減に寄与するかを検討した。また計画ARTの選択肢であるランダム法の臨床成績を通常のGnRHアンタゴニスト法(以下アンタゴニスト法)と比較検討した。

【方法】

2018年5月1日～2019年2月28日において、当院両立相談外来経由で計画ARTを行った30名を対象とし、計画ARTのストレスへの有効性について質問紙調査を行った。

次に2018年1月1日～2019年1月31日において、アンタゴニスト法で採

卵した252症例を対象とし、月経1～3日目よりスタートした189症例(C群)と、月経6日目以降の卵泡期よりスタートしたランダム法15症例(F群)、黄体期よりスタートしたランダム法48症例(L群)の臨床成績を検討した。

【成績】

両立支援外来の受診患者30名のうち計画ARTを行った18周期の内訳は、ランダム法4周期、前周期ホルモン補充による月経調整14周期であった。計画ARTを施行した70%の患者が通常治療に比較してストレスや負担が減り、80%の患者が計画ARTなら仕事との両立可能との回答を得た。

C群、F群、L群において、年齢、AMH値、BMIに有意差はなく、採卵数は、15.8, 13.6, 11.7個と、L群のみ有意に少なかった。スタート時の卵泡数も同様に、15.2, 18.3, 12.2個と、L群のみ有意に少なかった。採卵率、成熟率、受精率に有意差は認めなかった。ゴナドトロピン投与日数及び総投与量は、9.8, 9.9, 11.1日、2321, 2823, 3091 IUとL群のみ有意に多かった。単一胚盤胞移植当たりの臨床的妊娠率は、55.1, 70.0, 69.1%であり有意差は認めなかった。

【結論】

計画ARTは、不妊治療と仕事の両立を必要とする患者のストレスを軽減する有効な支援であると思われた。アンタゴニスト法においては、スタート時期は臨床的妊娠率に影響を与えなかった。採卵数の有意差は、スタート時の卵泡数に由来すると思われた。計画ARTにおけるランダム法は患者個別のニーズに対応し易く、臨床的結果に影響を与えない有効な調節卵巢刺激法であり、増加する就労女性のストレス軽減にも寄与すると思われた。

O-25 反復着床障害症例に対する子宮内膜受容能診断 日付診からEndometrial Receptivity Analysis(ERA®)へ 当院での検討

平井 佐和子, 隈本 正太郎, 森下 眞依子, 岩瀬 あい,
西川 由華里, 邑上 沙瑠子, 佐多 良章, 遊木 靖人,
津野 晃寿, 岩政 仁

ソフィアレディースクリニック水道町

【目的】

反復着床障害症例では、子宮内膜受容可能期間(IW:implantation window)のずれがある可能性が指摘されている。IWの評価として当院では2012年から2017年まで子宮内膜日付診を行っており、2018年よりERA(ERA® Igenomix, Valencia, Spain)を導入した。両者の臨床成績を後方視的に検討し、考察する。

【方法】

2012年2月～2017年3月に日付診を行った11症例と2018年9月～2019年5月にERAを行った17症例の妊娠成績について検討を行った。日付診はHRT周期で黄体ホルモン開始日を0日目として5日目の内膜を採取し、病理学的に排卵後(POD)何日目か診断した。POD5を受容期とし、それ以外を非受容期とした。ERAはHRT周期で黄体ホルモン投与開始後120時間の子宮内膜を採取した。120時間での胚盤胞移植推奨群

を受容期(Receptive)とし、それ以外を非受容期(Non Receptive)とした。

【結果】

日付診群の年齢は38.2(±3.3)歳で検査前移植回数は4.6(±3.1)回であった。受容期が9.1%(1/11症例)、非受容期が90.9%(10/11症例)で内訳がPOD3:7例、POD2-3:1例、POD2:3例であった。移植日を遅らせて胚盤胞移植を行った10症例26周期で臨床的妊娠率は26.9%と検査前の6.5%と比較し有意に改善した(p=0.016)。ERA群の年齢は37.8(±5.2)歳で検査前移植回数は2.9(±0.3)回であった。受容期29.4%(5/17症例)、非受容期70.6%(12/17症例)で内訳は12h Early Receptive:4例、24h Pre Receptive:4例、48h Pre Receptive:2例、12h Late Receptive:1例、24h Post Receptive:1例であった。至適移植時期に胚盤胞移植を行った7症例8周期で臨床的妊娠率は50.0%と検査前の6.1%と比較し有意に改善した(p=0.0005)。

【考察】

反復着床障害対策として日付診は有意差を持って臨床妊娠率を向上させた。しかし、当院の2013～2016年の35-42歳のART1058周期の臨床妊娠率38.1%と比較し、満足のいくものではなかった。ERAは症例数が少ないものの、良好な結果が得られている。当院では非受容期が7割と諸々の報告よりも割合が高かった。これはERA検査前の臨床的妊娠率が6.12%(3/49周期)でbiochemical pregnancy率が36.73%(18/49周期)であったことと併せて考えると興味深い。更なる症例の蓄積は必要だが、ERAは反復着床障害症例に有用な検査であると考えられた。

O-26 プロゲステロン膣坐薬別のHRT-ET周期での血中プロゲステロン濃度測定の必要性

藤岡 美苑, 泉 陽子, 清水 純代, 石橋 里恵, 田口 美里,
林 綾乃, 植松 亜也佳, 平田 貴美子, 中西 桂子, 後藤 栄
後藤レディースクリニック

【目的】

近年、HRT-ET周期(HRT周期)にプロゲステロン(P)の膣坐薬を用いる場合には血中P値(P値)の測定は不要という報告があるが、当院はHRT周期にP値を測定し膣坐薬の適量を再決定することは有用であると報告し、SEET日(D2又はD3)とET日(D5又はD6)にP値を測定し、膣坐薬の増量を決定している。

本研究ではP膣坐薬の種類が違う場合でも同様の結果となるのか、ウトログスタン膣用カプセル(USP)とルティナス膣錠(LSP)を用いて、各使用HRT周期でのP値と妊娠成績の関連性を後方視的に検討した。

【方法】

当院初回ETかつSEET法を併用し、良好胚盤胞を凍結融解胚移植したHRT周期を対象とした。HRT周期は月経開始2日目よりエストラジオールを開始し、15日目よりP補充を開始した。良好胚盤胞はday5でGardner分類G3AAまたはG4以上とした。

〈検討1〉2012年1月～2019年4月に、USP(1200mg/日)を使用した794周期のうち、SEET日とET日にP値<9ng/mlだった41周期(A群)、SEET日にP値<9ng/mlかつET日にP値≥9ng/mlだった72周期(B群)、SEET日にP値≥9ng/mlかつET日P値<9ng/mlだった48周期(C群)、SEET日とET日にP値≥9ng/mlだった633周期(D群)に分け比較した。〈検討2〉2015年9月～2019年4月にLSP(300mg/日)を使用した108周期のうち、SEET日にP値<9ng/mlかつET日にP値≥9ng/mlだった12周期(E群)、SEET日とET日にP値≥9ng/mlだった96周期(F群)に分け比較した。

【結果】

〈検討1〉A、B、C、D群間で平均年齢に有意差はなかった。臨床妊娠率はA群39.0%(16/41)、B群58.3%(42/72)、C群56.3%(27/48)、D群61.0%(386/633)でD群がA群に比べ高率(P<0.01)であった。流産率は12.5%、9.5%、18.5%、20.2%で4群間に有意差はなかった。〈検討2〉E、F群間で平均年齢に有意差はなかった。臨床妊娠率はE群25.0%(3/12)、F群40.6%(39/96)で有意差はなかった。流産率は0.0%、23.1%で有意差は認められなかった。

【考察】

USP周期ではSEETとET両日にP値が≥9ng/mlだった群が両日にP値が<9ng/mlだった群より臨床妊娠率が有意に高かったことより、USPを使用したHRT周期の妊娠率とP値は関連性があり、SEET日およびET日にP値を測定することは有用であると示唆された。LSP周期ではSEET日およびET日にP値による妊娠成績の有意差は認められなかったが、さらに症例数を増やして検討をする必要がある。

0-27 凍結胚移植時の各種黄体ホルモン製剤による血中プロゲステロン値と妊娠成績の検討

品川 真澄, 片桐 未希子, 吉田 仁秋
仙台ARTクリニック

【目的】

ホルモン補充周期下の凍結融解胚移植時の経陰黄体ホルモン製剤には、剤形や投与回数異なる製剤が複数ある。当院では以前の院内製剤のプロゲステロン膣坐剤のほか、ルテウム、ルティナス、ウトロゲスタンを使用している。患者のライフスタイルや希望に合わせ薬剤を選択しているが、これらの製剤間での妊娠率や血中プロゲステロン値を比較した報告を認めていない。そこで当院での各種使用成績を比較検討した。

【方法】

2017年1月から2019年4月、当院にてホルモン補充周期下に凍結融解胚移植を行った周期のうち、単一良好胚盤胞移植(Gardner分類3BB以上)、患者年齢40歳未満、内膜厚8mm以上の827周期に限定して比較検討を行った。プロゲステロン膣坐剤(800mg/日)群550周期、ルテウム(800mg/日)群125周期、ルティナス(300mg/日)群55周期、ウトロゲスタン(600mg/日)群97周期であった。検討項目は妊娠率、流産率、

妊娠継続率(10週以上まで妊娠継続したもの)と、胚移植1週間後と2週間後の血中プロゲステロン値とした。また、全群における妊娠者と非妊娠者の血中プロゲステロン値についても検討した。

【結果】

4群の妊娠率、流産率、妊娠継続率は、プロゲステロン膣坐剤群で55.1%、24.1%、79.2%、ルテウム群で46.4%、17.2%、82.8%、ルティナス群で41.8%、17.4%、87.0%、ウトロゲスタン群で49.5%、31.3%、75.0%で、各群間に有意差は認めなかった。また、胚移植1週間後と2週間後の血中プロゲステロン値は、プロゲステロン膣坐剤群で16.8 ng/mL、16.1 ng/mL、ルテウム群で18.4 ng/mL、16.5 ng/mL、ルティナス群で13.4 ng/mL、12.3 ng/mL、ウトロゲスタン群で11.8 ng/mL、10.9 ng/mLであった。各群内での1週間後と2週間後の値に有意差は認めなかったが、プロゲステロン膣坐剤とルテウムがルティナスとウトロゲスタンに比べ有意に高値であった。妊娠者と非妊娠者の血中プロゲステロン値は、それぞれ1週間後が17.1 ng/mL、15.2 ng/mL、2週間後が16.1 ng/mL、14.5 ng/mLであり、妊娠者のほうが両者共に有意に高値であった。

【結語】

本検討では、プロゲステロン膣坐剤群とルテウム群、また妊娠者で有意に血中プロゲステロン値が高値であったが、製剤間で妊娠成績に有意な差を認めなかった。ホルモン補充周期下に凍結融解胚移植を行う際、経陰黄体ホルモン製剤の選択は、妊娠成績に影響を及ぼさないことが判明した。

0-28 自動タイムラプスインキュベーターにタイムラプス歴10年の培養士スキルは活かせるか

古井 憲作, 安藤 寿夫, 鈴木 範子
豊橋市民病院総合生殖医療センター

【目的】

タイムラプスインキュベーターは日常臨床への応用開始後約10年が経過し、画質等の向上を実現し自動分析化による人工知能的能力を搭載した次世代型が発売された。今回、この新しいテクノロジーの革新的要素とされる分割期胚段階での胚盤胞発生予測の妥当性と発展性をタイムラプス経験を重ねてきた胚培養士による同様の予測と比較検討した。

【方法】

胚診断機能を備えた自動化タイムラプスインキュベーター Geri+/Geri Assess[®] 2.0・Eeva[™]3.0 software(メルクバイオファーマ社)を用いた。各胚の第1胚分割から68時間経過後の細胞数を入力することにより74項目の特性分析より5段階のEevaスコアがアウトプットされた。これとは独立して68時間後までのタイムラプス画像により10年間のタイ

ムラプス経験を有する胚培養士1名が、Eevaスコアを知らない状態で各胚に対して同様の5段階スコアをつけた。胚盤胞期まで発生させた胚について、両スコアを比較した。

【結果】

Eevaと胚培養士の両方が最も良いスコア1をつけた分割期胚では94.8%(55/58)が胚盤胞に到達した。Eevaスコアが1だった胚培養士スコアが2・3・4・5だった場合の胚盤胞発生は、それぞれ66.7%(8/12)・75.0%(9/12)・0%(0/1)・0%(0/1)だった。逆に胚培養士スコアが1だったがEevaスコアが2・3・4・5だった場合の胚盤胞発生は、それぞれ79.2%(19/24)・63.6%(7/11)・40.0%(2/5)・該当胚0だった。両方のスコアが1だった場合の胚盤胞到達率94.8%(55/58)は、片方のみスコア1だった場合の68.2%(45/66)と比較して有意に(P=0.00018)高かった。

【考察】

Eevaによる評価はタイムラプス画像を見慣れていて経験が豊富な胚培養士による評価と一致することが多かった一方で、評価が分かれることも一部にあった。どちらが優れているということよりも、評価が一致した場合の発生予測が確度を大幅に高めたことから、現段階で有用な情報をすでに提供しているEevaが今後さらに進化可能であることが示唆された。Eevaスコアの有用性がタイムラプス経験を積んだ胚培養士による独立した評価を加えるとともに向上した。

0-29 Direct Cleavage由来胚でも形態良好胚盤胞であれば妊娠率は低下しない

坂井 和貴, 伊木 朱有美, 野手 健造, 久保 敏子, 笹峯 梢, 長谷川 麻理, 佐々木 容子, 須賀 真美, 鵜久森 夏世, 兵頭 慎治, 鍋田 基生

つばきウイメンズクリニック

【目的】

タイムラプス装置の普及により、従来の形態学的評価に加え、胚の分割様式や発生速度などの動的観察が可能となった。一連の動的観察を行うことによって、1個の割球が3個以上に分割するようなDirect Cleavage(DC)胚がある程度の割合で見られることが明らかとなってきた。DC胚はその後の胚発生が不良ともいわれるが、形態良好胚盤胞になることもあり不明な点も多い。今回はDC胚由来の形態良好胚盤胞の妊娠率について正常分割(Normal Cleavage: NC)胚由来の形態良好胚盤胞と比較検討した。

【方法】

患者同意のもと、2018年9月から2019年1月までに当院で形態良好胚盤胞を単一凍結胚移植した103周期を対象とした。移植はホルモン補

充周期または自然周期で行い、胚が胚盤胞に至った日数にかかわらず黄体ホルモン投与開始日から5日後に行なった。また、融解した胚盤胞はLaser Assisted Hatchingを併用し、透明帯を約40%開孔して移植した。形態良好胚盤胞は3BB以上と定義した。

【結果】

移植した形態良好胚盤胞103個のうち23個(22.3%)がDC胚であった。臨床妊娠率はDC群39.1%(9/23)、NC群55.0%(44/80)であり両群間に有意差はなかった。Day4胚盤胞ではDC群30.0%(3/10)、NC群58.5%(24/41)であり両群間に有意差はなかった。Day5胚盤胞ではDC群46.2%(6/13)、NC群51.3%(20/39)であり両群間に有意差はなかった。

【考察】

DC胚であっても形態良好胚盤胞であればNC胚の胚盤胞と同程度の妊娠率が期待できることが分かった。発育速度を考慮した妊娠率もDay4胚盤胞、Day5胚盤胞どちらを移植した場合もDC胚由来とNC胚由来で同程度の妊娠率であった。DC胚は胚盤胞到達率が低下するともいわれているが、それが何故なのか不明な点も多い。DC胚由来であっても胚盤胞であれば着床前診断による正常胚の割合はNC胚と同程度であるという報告もあり(Zhan Q *et al.*,2016)、本結果はそれに矛盾しないものであった。今回の検討では、DC胚由来胚であっても、形態良好胚盤胞であれば妊娠率は低下しないことが分かった。今後はその後の妊娠経過を追跡する予定である。

0-30 Day4胚盤胞は第一選択か？ ～融解胚移植における胚盤胞の選択順位～

安田 忠頼, 坂本 朱華利, 杉浦 百香, 丸岡 沙織, 古川 美穂, 白井 美希, 清水 雅司, 村田 朋子, 村田 泰隆
ART クリニックみらい

【目的】

当院ではこれまで従来型インキュベーターで胚盤胞形成を確認し、5～6日目以降に凍結保存を行ってきた。2018年1月より、タイムラプスインキュベーターを導入してからDay4で完全胚盤胞に至った胚盤胞を凍結するようになった。Day4胚盤胞は高い妊娠成績が得られると報告もあり、Gardner分類3BB以上の良好胚盤胞は優先的に移植胚として選択した。今回、良好胚盤胞におけるDay4及びDay5胚盤胞の移植成績について後方視的に比較、移植胚の選択順位を検討した。

【方法】

2018年1月～2019年3月に、Day4及びDay5で凍結したGardner分類3BB以上の良好胚盤胞を単一融解胚移植した1,202周期を対象とした。

検討①では、対象を凍結日数とICMの評価で、4ICM-A群(161周期)、4ICM-B群(45周期)、5ICM-A群(765周期)、5ICM-B群(231周期)に分類した。

検討②では、凍結日数とTEの評価で、4TE-A群(114周期)、

4TE-B群(92周期)、5TE-A群(583周期)、5TE-B群(413周期)に分類し、臨床妊娠率、継続妊娠率を比較した。

【結果】

検討①では、臨床妊娠率は、4ICM-A群52.8%、4ICM-B群51.1%、5ICM-A群49.3%、5ICM-B群43.3%だった。継続妊娠率は、4ICM-A群36.0%、4ICM-B群37.8%、5ICM-A群37.4%、5ICM-B群29.4%で5ICM-A群と5ICM-B群間($P<0.05$)に有意差が見られた。

検討②では、臨床妊娠率は、4TE-A群59.6%、4TE-B群43.5%、5TE-A群52.7%、5TE-B群40.0%で4TE-A群と4TE-B群間($P<0.05$)、4TE-A群と5TE-B群間($P<0.01$)、5TE-A群と5TE-B群間($P<0.01$)に有意差が見られた。継続妊娠率は、4TE-A群40.4%、4TE-B群27.2%、5TE-A群40.3%、5TE-B群28.6%で4TE-A群と5TE-B群間($P<0.05$)、4TE-A群と4TE-B群間($P<0.05$)、4TE-B群と5TE-A群間($P<0.05$)、5TE-A群と5TE-B群間($P<0.01$)にそれぞれ有意差が見られた。

【考察】

ICMの評価においてday4とday5の凍結日数の違いで、臨床妊娠率、妊娠継続率に差はなかった。しかし、TEの評価では、凍結日数に関わらずTEがBよりもAの方で継続妊娠率が有意に高かった。Day4及びDay5の良好胚盤胞では、凍結日数に関係なくTE評価がAの胚盤胞から移植することで、挙児獲得までの期間を短縮できる可能性がある。また、Day4でTE評価がB以下の場合、Day5まで延長培養し、TE評価を向上させることで、移植成績が改善するか、今後検討していきたい。

当演題は取り下げとなりました

O-32 次世代シーケンサー (NGS) を用いた流産絨毛組織の解析の検討

後藤 優介¹⁾, 寄田 朋子¹⁾, 渡邊 華¹⁾, 戸水 桐子¹⁾,
田口 新¹⁾, 原田 祐紀¹⁾, 近藤 希衣¹⁾, 森田 幸孝²⁾,
向田 哲規¹⁾

1) 広島 HART クリニック

2) ジーンリサーチ

【目的】

初期流産の原因のうち約60%が染色体の数的異常が原因と言われており、年齢の上昇に伴いその割合も増加していく。現在、流産絨毛組織の染色体解析はG-BAND法が一般的にもちいられている。G-BAND法では解析時に細胞の培養が必要となり、結果が得られるまで一般的に2～3週間かかり、細胞の培養が不成功の場合は解析ができない可能性がある。一方で近年PGTなどに用いられる次世代シーケンサー (NGS) による流産絨毛組織の解析が可能となっている。NGSではG-BAND法で必要な細胞培養は必要なく、より迅速な解析が可能である。今回当院における流産絨毛組織のNGS解析を行ったので報告する。

【対象と方法】

2018年10月～2019年6月に流産手術を行い、流産絨毛組織が確認できた9症例についてNGSにより解析を行った。このうち1症例は2段階胚移植後、胎嚢が2個確認できたがその後2個とも発生停止となった為2つの絨毛組織を解析した。採取した組織は絨毛組織の確認後、血液成分等を除去したのちに組織の一部を解析に使用した。NGSの解析は外部解析機関に委託した。

【結果】

平均年齢は39.3歳だった。NGSによる解析の結果、Normalが40% (4/10)、Abnormalが60% (6/10) であり、解析不能症例はなかった。各染色体の異常頻度は2番染色体のTrisomyが1例、13番染色体のTrisomy (partial) が1例、16番染色体のTrisomyが3例、20番染色体のTrisomyが1例だった。性染色体はXXが80% (8/10)、XYが20% (2/10) だった。

【結論と考察】

今回の結果からNGSで流産絨毛組織の解析が問題なく行えることが示唆された。NGSではG-BAND法で行う細胞培養が必要なく、より迅速な解析結果が得られると考えられる。また、顕微鏡下で絨毛組織を確認し、その一部の細胞のみで解析が行える為、母体由来細胞の混入を減らせることができ、より正確な解析が可能であると考えられる。

O-33 胞胚腔内残存割球における臨床成績と予後の検討

小島 勝志, 岡部 美紀, 中野 俊, 明石 佐奈子, 山内 久美子, 塩谷 仁之, 東野 志保, 杉浦 朝治, 渡辺 慶, 藤田 真紀, 高橋 敬一
高橋ウイメンズクリニック

【目的】

胚盤胞まで発育した胚の腔内に割球が残っていることがしばしば見られる。割球が残る原因は明らかとなっていないが、妊娠率・流産率に影響があるという報告もある。そこで当院において残存割球の有無による臨床成績とその予後を検討した。

【方法】

2009年1月から2018年12月までの10年間に当院で単一凍結胚移植を行い、Gardner分類3BB以上であった4,882周期を対象に、凍結時に割球を認める群：割球群(285周期、平均年齢 37.0 ± 3.9 歳)と認めない

群：コントロール群(4,597周期、平均年齢 36.0 ± 4.2 歳)に分けて検討した。それぞれの群で年齢別(30歳未満, 30～34歳, 35～39歳, 40歳以上)の妊娠率, 流産率, 移植あたりの継続妊娠率の比較検討を行った。統計解析は χ^2 検定で行い、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

【結果】

割球群VSコントロール群の年齢別の結果は、30歳未満の妊娠率(83.3% VS 68.7%), 流産率(0% VS 16.0%), 継続妊娠率(83.3% VS 57.7%), 30～34歳の妊娠率(60.5% VS 61.0%), 流産率(15.4% VS 13.8%), 継続妊娠率(49.3% VS 52.6%), 35～39歳の妊娠率(48.9% VS 50.0%), 流産率(10.9% VS 19.8%), 継続妊娠率(43.5% VS 40.1%), 40歳以上の妊娠率(26.7% VS 32.5%), 流産率(55.0% VS 34.0%), 継続妊娠率(12.0% VS 21.5%)であった。すべての項目で有意な差は得られなかった。

【考察】

今回の検討において、胚盤胞の残存割球による臨床成績には影響をおよぼさないことが示唆された。治療期間を短くし、早く結果を得る為にはよりよい胚を移植時に選択する必要がある。今回の結果より移植胚を選択する上で、残存割球の存在は考慮すべき優先項目ではないと考えられる。

O-34 OPN由来胚盤胞の臨床成績についての検討

渡辺 慶, 岡部 美紀, 中野 俊, 山内 久美子, 明石 佐奈子, 塩谷 仁之, 東野 志保, 杉浦 朝治, 前島 滯, 藤田 真紀, 高橋 敬一
高橋ウイメンズクリニック

【目的】

OPN由来胚の臨床利用については今現在も様々な議論が続いている。培養をするにあたり前核が確認できない胚は染色体異常が疑われるため優先的に移植には用いられていない。だがOPN由来の胚であっても正常受精胚であるという報告も複数見られる。

当院では受精確認時にOPN胚であった場合続けて培養を行い、胚盤胞に至ったものを凍結保存している。その後移植胚を選択する時、凍結胚がOPN由来胚のみ残っている場合に、患者のインフォームドコンセントを得た上でOPN由来胚の移植を行っている。

今回、OPN由来胚を用いた当院での臨床成績について検討した。

【方法】

2009年1月から2018年12月までの10年間に当院で単一凍結融解胚盤胞移植を行った2PN由来胚7,065周期(平均年齢 36.3 ± 3.90)とOPN

由来胚213周期(平均年齢 37.6 ± 3.88)を対象に妊娠率, 流産率, 継続妊娠率(移植あたり), 継続妊娠あたりの出産率の比較検討を行った。検討に用いたOPN由来胚はタイムラプスを使用せず、翌日の受精確認時にOPNであったものを用いた。

統計解析は χ^2 検定で行い、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。

【結果】

妊娠率, 流産率, 継続妊娠率は、2PN由来胚で45.0%(3179/7065)、20.0%(636/3179)、36.0%(2543/7065)、OPN由来胚で43.7%(93/213)、26.9%(25/93)、31.9%(68/213)であった。出産率は2PN由来胚で55.9%(1422/2543)、OPN由来胚で63.2%(43/68)であった。妊娠率, 流産率, 継続妊娠率, 出産率の全ての項目で2PN由来胚とOPN由来胚の間に有意差は認められなかった。出産結果を確認できたOPN由来胚43例中「声帯麻痺」が1例あった。染色体異常児, 奇形児は認めなかった。

【考察】

以上の結果より、OPN由来胚であっても胚盤胞まで到達した胚であれば受精確認時にPNの存在を確認出来なかっただけで正常な受精をしていると考えられる。また、妊娠率, 流産率, 出産率は2PN由来胚と同等の結果となった。当院で確認出来た出産に至った例でもOPN由来胚で染色体異常児, 奇形児は認められなかった。このことから胚盤胞に至ったOPN由来胚は正常受精胚であるとして、凍結胚移植する際の胚の選択枝の一つとなり得ると考えられる。

O-35 C-IVF由来の1PN胚だけではなくICSI由来の1PN胚も臨床的に有用である

辻 暖永¹⁾, 北坂 浩也¹⁾, 野老 美紀子¹⁾, 福永 憲隆^{1,2)}, 浅田 義正^{1,2)}

1) 浅田レディースクリニック

2) 浅田生殖医療研究所

【目的】

ARTにおいて低率ではあるが1前核(1PN)胚が形成される。その発生機構は未だ不明な点が多く、また臨床的に有用であるか否か統一した見解がないのが現状である。当院ではこれまでにLive cell imaging技術を用いることで、マウスおよびヒトにおいて1PNの中には雌雄両ゲノムを含む胚が存在することを明らかにしてきた。またそれら雌雄両ゲノムを含む胚の中には胚盤胞まで発生する胚が一定数存在する。しかしながら近年、ICSI由来の1PN(1PN-ICSI)胚は移植しても挙児が得られないという報告や1PN-ICSI胚の全ては染色体異常であり移植の対象とすべきではないという報告が散見される。そこで本研究では胚盤胞形成率、臨床妊娠率、流産率および産児の有無を指標に1PN-ICSI胚の臨床的有用性を再評価した。

【方法】

2013年1月～2018年12月までに採卵を行い1PN-ICSIを形成した

3,618個を対象とし胚盤胞形成率を算出した。またGardner分類で3以上(CCを含まない)の胚はガラス化凍結を行い、移植周期に1PN-ICSI胚盤胞の単一胚移植を行った217周期を対象とし、臨床妊娠率、流産率および産児数を算出することで臨床的有用性を評価した。なお同期間にICSI/C-IVF後に得られた2PN胚およびC-IVF後1PN(1PN-cIVF)を形成した胚を対照区とした。

【結果】

1PN-ICSIの出現率は2.8%(3618/127728)であり1PN-cIVFより有意に低かった(4.6%:1044/22799)。1PN-ICSIにおける胚盤胞形成率は14.8%(525/3547)であり1PN-cIVFの26.5%(274/1035)、2PNの62.0%(22420/36189)と比べそれぞれ有意に低かった。また臨床妊娠率は24.4%(53/217)であり1PN-cIVFの36.6%(41/112)、2PNの40.2%(4802/11947)と比べそれぞれ有意に低かった。しかしながら流産率においては30.2%(16/53)であり1PN-cIVFの34.1%(14/41)、2PNの23.3%(1119/4801)と比べて差はなかった。また、1PN-ICSI胚の移植において現在までに21名の産児が確認できている。

【考察】

1PN-ICSI胚の胚盤胞形成率は低い。それは染色体異常を含む胚の多くが胚盤胞までの発生過程で淘汰され、雌雄両ゲノムを含む1PN胚が胚盤胞に達した可能性がある。その結果、流産率には差がなく、これまでに複数症例において産児が確認されている。故にICSI-1PN胚の全てが異常な胚とは言えず、胚盤胞まで培養することで臨床的に有用であると言える。

O-36 当クリニックにおける10年間の人工授精(21,606周期)の検討

前島 滯, 岡部 美紀, 中野 俊, 明石 佐奈子, 山内 久美子, 塩谷 仁之, 東野 志保, 杉浦 朝治, 小島 勝志, 藤田 真紀, 高橋 敬一

高橋ウイメンズクリニック

【目的】

人工授精(AIH)は、不妊治療において比較的低コスト・低リスクで実施することが可能である。体外受精へ移行する前段階に多くの不妊カップルに選択される治療法であるが、AIHの必要性や実施回数については多くの議論がされている。今回当院で施行した10年間のAIH症例の成績をまとめ、妊娠例と非妊娠例について妻年齢・AIH施行回数・精液所見の観点から検討を行った。

【方法】

2009年1月から2018年12月までの10年間に、当院で人工授精を行った21,606周期(平均年齢36.1±4.4歳)を対象とした。精子調整には複

層密度勾配遠心法を用いた。統計解析にはt検定を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

【結果】

妊娠例は1,425例あり、妊娠率は周期あたり6.6%であった。妻の年齢別の妊娠率は30歳未満では9.5%(150/1579)、30～35歳未満では8.8%(560/6346)、35～40歳未満では6.7%(86/8702)、40歳以上では2.5%(125/4934)となった。妊娠例の周期の平均回数は 2.8 ± 2.8 回であり、累積妊娠率は2回目で57.6%、3回目で73.0%、4回目で83.1%、5回目で90.0%、6回目で94.7%となった。

妊娠例と非妊娠例において精液所見での検討では、精液量・処理後回収率については有意な差は認められなかった。精子濃度・精子運動率・総運動精子数では非妊娠群と比べ妊娠群が有意な差が認められた。

【結論】

妻年齢が高齢になるにつれAIHによる妊娠率は低くなり40歳以上では2.5%となった。また、これまでの報告にあるように累積妊娠率は5～6回目には大きな変化が見られなくなった。妊娠例と非妊娠例では精子濃度・精子運動率・総運動精子数において有意な差が認められた。以上のことから、妻年齢が高い症例や精液所見が悪い症例にはAIHよりも高い妊娠率が獲得できる体外受精への早めのステップアップを勧めることが推奨される。

O-37 運動精子選別装置「ミグリス」と従来法における精子調整法の比較

鈴木 理恵, 岸 加奈子, 山上一樹, 古橋 孝祐, 江夏 徳寿, 岩崎 利郎, 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】

ARTにおける精子調整方法には、密度勾配遠心分離法、洗浄濃縮法及びswim up法などが用いられている。一方で、これらを伴う調整方法では遠心分離を行うため精子に対して物理的ダメージを与えることやDNA fragmentationの増加が懸念されている。

そこで本検討では、Migration-Gravity Sedimentation Method(以下:MS)原理を利用した遠心分離を行わない運動良好精子を選別する装置「ミグリス」(株式会社メニコン)に着目した。これは、外筒と内管の2重構造を有しており、精液の上に調整液を充填することにより運動精子のみが調整液に移動することを利用し、内側の管の底に運動精子を集めることができる装置である。このミグリス(以下:MS法)で調整した精子、密度勾配遠心分離法(以下:従来法)で調整した精子において、各調整方法の精子濃度、精子運動率及びDNA fragmentation index(以下:DFI)を比較検討したので報告する。

【方法】

液量1.6ml以上、運動精子濃度1000万/ml以上の廃棄精液30検体を

対象とした。精子調整に使用した培養液は、Universal IVF Medium(以下:UIM, Origio Denmark)を用いた。まず、検体を1.6ml採取し、2倍希釈後、液量を3.2mlに統一した。そのうち0.2mlを原精液群とし、残り3.0mlを従来法とMS法に、それぞれ半量に分けて調整を行った。従来法では、Percoll®(Sigma Aldrich Japan)を用いて2層(90%, 45%)密度勾配遠心分離法を施行し、上清除後UIMを用いて調整液を回収した。更に10検体の原精液を従来法とMS法に分け、精子DFIの評価を行った。精子DFIの評価には、Halosperm®G2(Halotech DNA)を使用した。染色後、光学顕微鏡にて300個の精子を観察しDFIを測定した。

【結果】

調整後の平均運動精子濃度は、従来法1,050万/ml、MS法510万/mlとなり、MS法は従来法よりも有意に低かった。しかしながら、調整後の平均精子運動率は従来法79.5%、MS法89.7%とMS法において有意に高かった。またDFIは、原精液23.6%に対し、従来法10.8%、MS法1.8%となり、両群とも原精液より有意に低率となった。またMS法は従来法と比較し、DFIが低い傾向にあった。

【結論】

平均運動精子濃度は、従来法の方が高いが平均精子運動率はMS法の方が高かった。また、DFIは、MS法のみならず、従来法でも原精液より有意に低率となった。一方でMS法は、従来法と比較し低率な傾向となった。以上のことから、遠心分離を行わないMS法は、従来法より運動精子を選別し、精子へのダメージが少ない調整法であることが示された。

既往IVFの成績や患者希望で受精方法を変更した症例も除外した。

【結果】

対象となったART周期および回収卵は2018年4～6月576周期2,895個と2019年4～6月552周期2,902個であった。2018年群と2019年群における平均年齢、ART回数はそれぞれ38.3±4.8歳vs39.6±4.8歳、2±5.6回vs2±3.3回と両群間に差を認めなかった。IVF、ICSI、Splitの内訳はそれぞれ388例(67.4%)、114例(19.8%)、74例(12.8%)vs126例(22.8%)、220例(39.9%)、206例(37.3%)と2019年群においてIVFが減少しICSI、Splitが増えていた。受精率、正常受精率は86.3%vs89.0% $p<0.01$ 、73.5%vs79.3% $p<0.01$ と2019年群で有意に高かった。受精卵中の分割率、良好分割率は89.6%vs90.8% $p=0.15$ 、51.5%vs54.0% $p=0.10$ と両群に差を認めなかったが、継続培養卵中の胚盤胞率は56.5%vs62.5% $p<0.01$ と2019年群で有意に高かった。また、移植もしくは凍結できた卵の割合(胚利用率)も60.7%vs64.9% $p<0.01$ と2019年群において有意に高かった。

【考察】

受精予測式を基に受精方法を決定した2019年群において有意に受精率が向上していた。この事はIVFで受精率の低い事が見込まれる症例をICSIへと誘導した結果と考えられる。では全例ICSIにしても良いのかと考えると、各群の中で2019年のIVF施行群が最も受精率、胚利用率が高くなっており、IVFの方が良好な成績を見込める症例がある事を示唆する。今回の検討では受精率だけでなく胚盤胞率、胚利用率も向上しており適切な受精方法の選択が受精後の胚形成にも好影響を与える可能性が示唆された。

O-38 受精予測式を用いたIVF、ICSIの受精方法選択と実際の臨床成績

江夏 徳寿, 岸 加奈子, 古橋 孝祐, 江夏 宜シエン, 岡本 恵理, 水澤 友里, 山田 聡, 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】

近年の精子運動解析システム(CASA)は精子数や運動率以外にも運動速度や頭部振幅など、精子運動の質についても計測する事が可能となっている。しかしながら、これらの値が臨床上どのように活用できるのかについての明確な基準はない。当院では以前より精液所見や年齢などのデータを蓄積、解析しIVF、ICSIの受精率を予測する受精予測式を作成してきた。2019年4月より、この受精予測式を基にした受精方法選択を臨床に導入しており、その臨床成績について検討した

【方法】

受精予測式(精子運動指数、曲線速度、頭部振幅、採卵個数を基に算出)を用いて受精方法を決定した2109年4～6月におけるART成績と精子濃度、運動率、運動精子濃度、精子運動指数を用いて受精方法を決定していた2018年4～6月のART成績を比較した。IVM-CISI、TESE-ICSI、レスキューICSIの成績は除いて検討した。また

O-39 自宅から精液持参する場合、受精方法変更リスクが冬季で上昇する

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】

体外受精を行う上で夫婦の協力が必要であるが仕事の関係上、夫の来院は困難な場合には自宅から精液を持参して治療を行うケースも多い。その場合、季節の条件が持参精液に与える影響は最小限にとめたい。とくに体外受精(c-IVF)の場合、精子運動性低下や十分な精子回収ができないなどの要因により顕微授精変更の影響が懸念される。そこで本検討では、c-IVF 予定で自宅から精液持参の場合の各季節の気温が与える影響について調べた。

【方法】

2017年から2018年にc-IVFを行った1,630周期を対象にした。精液持参の場合は朝8-10時頃に自宅から持ち込まれた後に精液調整を行った。精液は密度勾配遠心とSwim-up法によって分離精製し、調整後に運動精子が 7.5×10^6 /mlを下回る際には顕微授精(ICSI)に変更し

た。本検討では1ヶ月単位または季節(春:3-5月, 夏:6-8月, 秋:9-11月, 冬:12-2月)に分けのICSI変更率の推移を調査しその際の精液所見パラメーターを比較した。

【結果】

検討期間の大阪の冬の月平均最低気温は $1.3-11.1^{\circ}\text{C}$ であった。月ごとのICSI変更率は、25.0-56.9%と変動があり、季節ごとのICSI変更率は冬の変更率は52.4%と最も高く他の季節(32.8-36.7%)に比べ有意に上昇した($P<0.01$)。冬の前精液の総精子数(51.1×10^6 /ml)は、他の季節($44.5-56.4 \times 10^6$ /ml)に比べ変化がなかったが、運動率は他の季節に比べ有意に低下した(38.5 vs. 44.9-50.6, $P<0.05$)。また、冬の精子運動指数SMIは夏に比べ有意に低下した(94.3 vs. 127.4, $P<0.05$)。冬のICSI変更になった場合の正常受精率は元々ICSIの症例と比較して差はなかった(83.6 vs. 81.2)。院内採取の精液の場合、ICSI変更率は季節の差はなかった(25.4-28.8%)。

【考察】

外気温が低下する冬場には特に精子運動率が低下していた。運動性が低下することで密度勾配遠心の際に分離精製される精子が減少しICSIに変更になっているものと考えられる。患者要因ではない不必要なICSIを回避すること、患者負担を増やさないためにも冬場の自宅からの精液輸送に対する工夫や患者への注意喚起が必要であると考えられた。

O-40 培養液開封後の経過日数が胚の培養成績に及ぼす影響

遠藤 祐子, 水本 真夕, 井上 令子, 磯邊 明子, 江頭 活子, 加藤 聖子

九州大学産婦人科

【目的】

ARTで使用されている市販の培養液は、未開封かつ有効期限内であればメーカー基準の品質が保証されている。当院ではART症例数が少ないため、一度開封した培養液を複数回に分けて使用しており、その使用期限を開封後14日以内としている。しかし、一度開封した培養液は、コンタミネーションの危険性や培養液組成が変化する可能性がある。今回これまでの培養液管理を見直すため、培養液開封後の経過日数が胚の培養成績に影響を及ぼすか後方視的に検討した。

【方法】

2016年9月から2019年6月までに当院にてIVFを施行し、2PNが得られた59周期を対象とした。受精確認後、Continuous Single Culture Complete with HASまたはContinuous Single Culture-NX Complete(FUJIFILM Irvine Scientific)で作製した培養用ディッシュで分割期または胚盤胞期まで培養した。培養用ディッシュ作

製当日に培養液を開封した周期(0日群)、開封後1-7日経過した周期(1-7日群)、開封後8-13日経過した周期(8-13日群)でのDay2またはDay3での良好胚率を比較した。分割期胚凍結後、継続培養胚当たりのDay5またはDay6の良好胚盤胞率を比較した。また、それぞれの新鮮胚移植もしくは凍結融解胚移植における臨床妊娠率を検討した。有意差検定は、t検定(良好分割率・良好胚盤胞率)と χ^2 検定(臨床妊娠率)を用いた。

【結果】

Day2またはDay3での良好胚率は、0日群95.1%(77/81)と比較して、1-7日群84.2%(101/120)および8-13日群76.0%(19/25)で有意に低下した。Day5またはDay6での良好胚盤胞率は、0日群48.4%(15/31)、1-7日群35.9%(14/39)、8-13日群42.9%(3/7)となり各群間での有意な差は得られなかった。分割期胚移植における臨床妊娠率は、0日群10.5%(2/19)、1-7日群12.0%(3/25)、8-13日群33.3%(1/3)、胚盤胞移植では、0日群16.7%(1/6)、1-7日群14.3%(1/7)、8-13日群50%(1/2)であり、それぞれ差はなかった。

【考察】

良好胚盤胞率と臨床妊娠率に差は認められなかったが、Day2またはDay3での良好胚率は0日群と比較して1-7日群および8-13日群で有意に低下したことから、開封後の日数経過とともに培養成績に影響を及ぼすことが示唆された。今回の検討により、これまで開封後14日としていた使用期限を今後開封後7日として培養液を管理していくことが、より多くの移植可能胚を得るために妥当であると考えられる。

O-41 反復 ART 症例における抗酸化物質添加培養液の有効性についての比較検討

笹峯 梢, 伊木 朱有美, 久保 敏子, 野手 健造,
長谷川 麻理, 坂井 和貴, 佐々木 容子, 須賀 真美,
鵜久森 夏世, 兵頭 慎治, 鍋田 基生
つばきウイメンズクリニック

【目的】

近年, 酸化ストレスによる胚のフラグメンテーションの増加・分割遅延など, 胚発生への悪影響が指摘されている。その対策の1つとして, 抗酸化物質を添加した培養液を使用することにより, マウスの胚発生改善が報告されているが, ヒト胚での培養に関する報告は少ない。そこで当院では, 1回目の採卵で妊娠に至らなかった症例に対して, 採卵2回目以降の培養方法の選択肢の1つとして, 抗酸化物質添加培養液が有効かどうか比較検討を行った。

【対象・方法】

2015年10月から2019年6月まで当院にて採卵を行った症例のうち, 2回以上採卵を行った123症例321周期を対象とした。

採卵1回目の培養では抗酸化物質非添加のシングルステップメEDIUM (A群: 123周期), 採卵2回目以降は抗酸化物質添加のシングルステッ

プメEDIUM (B群: 198周期) をそれぞれ用いて, split法またはICSIのみを行い, Day7まで胚培養を行った。2群間における, 2PN率, 胚盤胞到達率, 良好胚盤胞到達率について培養成績の比較検討を行った。

【結果】

各群における採卵時の平均年齢は, A群およびB群で各々 38.6 ± 4.0 歳, 40.0 ± 4.0 歳であった。split症例におけるc IVF実施卵あたりの2PN率は, A群およびB群で各々 42.9%, 46.6%, 胚盤胞到達率は各々 49.1%, 56.6%, 良好胚盤胞到達率は各々 28.3%, 48.3% で, いずれもB群が高い傾向が示され, 良好胚盤胞到達率においては有意に高かった ($P < 0.05$)。split症例におけるICSI実施卵あたりの2PN率は, A群およびB群で各々 77.2%, 75.7%, 胚盤胞到達率は各々 47.6%, 69.9%, 良好胚盤胞到達率は各々 28.6%, 44.3% であり, 胚盤胞到達率および良好胚盤胞到達率において有意差はないものの, B群が高い傾向であった。ICSIのみの症例においての2PN率は, A群およびB群で各々 67.3%, 68.5%, 胚盤胞到達率は各々 52.5%, 34.4%, 良好胚盤胞到達率は各々 29.0%, 40.6% であり, 良好胚盤胞到達率において有意差はないもののB群が高い傾向であった。

【考察】

採卵時の培養における抗酸化物質添加培養液の使用は, 非添加培養液よりも良好胚盤胞になりやすい傾向が示された。このことから抗酸化物質添加培養液を用いることで周期あたりの良好胚盤胞をより多く獲得でき, 良好胚を移植できる可能性が高まるのではないかと考えられた。

胚移植時の培養液にEmbryoGenは使用していない。統計処理はカイ二乗検定を用いた。

【結果】

EmbryoGen使用(以下Gen)群および非使用群における良好胚到達率は, 初期胚において各41.8% (173/414), 45.2% (322/713), 胚盤胞において各11.4% (31/299), 10.3% (56/543) であり, 両群に有意差は認められなかった。新鮮胚移植における妊娠率は, 各18.2% (4/22), 9.8% (4/41) であり, Gen群において有意差は認められないものの, 高い傾向にあった。凍結融解胚移植における妊娠率は, 各28.4% (19/67), 9.6% (11/114) であり, Gen群において有意に高率であった ($p < 0.01$)。また媒精方法別の検討したところ, c IVFの妊娠率は, 各20.0% (6/30), 12.0% (6/50) であり有意差は認められなかったが, ICSIにおける妊娠率は, 各33.3% (13/39), 10.6% (7/66) となり, Gen群において有意に高い結果となった ($p < 0.01$)。

【考察】

生体内ではGM-CSFは, 腔内射精の免疫応答により卵管内での濃度が上昇することがわかっている。そのため, 生体内では初期胚の時期にGM-CSF高濃度環境にあることが予測される。今回の検討では良好胚到達率には有意な差は認められなかったが, 胚移植あたりの臨床妊娠率が有意に上昇した。また, その傾向はICSIにおいて顕著であり, 初期胚培養においてGM-CSF含有培養液は妊娠率の上昇に寄与する可能性が示唆された。

O-42 初期胚培養のGM-CSF使用は, 凍結融解胚移植周期において妊娠率向上に寄与する

古山 紗也子, 杉下 陽堂, 洞下 由記, 柏木 恵, 松山 夏美,
中嶋 真理子, 鈴木 由妃, 澤田 紫乃, 岩端 秀之,
高江 正道, 鈴木 直
聖マリアンナ医科大学 産婦人科学

【目的】

近年着床不全や流産の原因の一つとして, 顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)濃度が低値であることが報告されている。GM-CSF含有培養液を胚移植周期に用いることで妊娠率向上に寄与することが知られているが, 採卵周期におけるGM-CSFの使用が妊娠率に与える影響については報告がなく, 今回後方視的検討を行った。

【対象・方法】

2013年1月～2018年12月に当院にて採卵を行なった症例のうち, GM-CSF含有培養液(EmbryoGen/Oligio社)の使用に同意が得られた, 374周期, 82症例, 1,127個の胚を対象とした。c IVFまたはICSIを行い, Day1からDay3までの初期胚培養期間においてEmbryoGenを使用し, 新鮮胚移植または凍結融解胚移植を行なった。当院では