

**第 26 回**  
**日本臨床エンブリオロジスト学会**

Web 開催  
**学術大会**



会 期

2021年1月9日(土)～1月22日(金)

# 第 26 回 日本臨床エンブリオロジスト学会 Web 開催 学術大会

## 目 次

大会長挨拶 .....4

---

### 【学術大会】

#### 招請講演

『PGT-A: Past, Present, and Future』.....6

Dr. Carmen Rubio (Igenomix)

#### 特別講演

『2 万 8 千年前のマンモスの DNA は目覚めるか？

太古の DNA で生命現象を再現、古生物学の新たな扉を開く』.....7

三谷 匡(近畿大学 生物理工学部 遺伝子工学科・生物理工学研究科)

#### 教育講演 1

エンブリオロジストが知っておくべき妊娠時の免疫環境 .....9

中川 浩次(杉山産婦人科新宿)

#### 教育講演 2

受精卵における雌雄前核の意義 .....11

北島 智也(理化学研究所生命機能科学研究センター)

#### 教育講演 3

How to presentation エンブリオロジストが学術論文を書くには.....12

上野 智(加藤レディスクリニック)

シンポジウム 1 「エンブリオロジストはこれからどう進むべきかーキャリアチェンジの経験からー」

1. エンブリオロジストのキャリアデザインを考える .....	14
白築 章吾(メルクバイオフーマ株式会社)	
2. 少しの勇気が未来を変える～これからの担うエンブリオロジストの方々へ～ .....	16
岡本 加奈子(クックメディカルジャパン合同会社)	
3. エンブリオロジストのこれから.....	18
武田 信好(株式会社 IVF ラボ)	

シンポジウム 2 「データから見た培養液」

1. 生存能を最適化するとは？～Vivo 成分で抗酸化システムを構築できる臨床の時代～..	20
松本 嶺 (ヴィトロライフ株式会社)	
2. 培養液がヒト染色体に及ぼす影響について .....	21
千葉 誠(オリジオ・ジャパン株式会社)	
3. L-カルニチンを科学するー抗酸化作用とエネルギー代謝における役割ー.....	22
西山 輝紀(メルクバイオフーマ株式会社)	
4. 培養液、成分に全集中！Taurine .....	23
岡本 加奈子(クックメディカルジャパン合同会社)	
5. 低乳酸一液式培地の紹介.....	24
宮澤 純也(富士フィルム和光純薬株式会社)	

カレントトピックス 1 「PGT-A」

1. NGS を用いた PGT-A ーWGA からデータ解析までー.....	25
小林 護(木場公園クリニック)	
2. 低侵襲なバイオプシーを目指して-生検細胞数と染色体解析結果から考える.....	27
中野 達也(IVF なんばクリニック)	

カレントトピックス 2 「酸化ストレス」

1. 生殖医療と酸化ストレス .....	29
鍋田 基生(つばきウイメンズクリニック)	
2. ART における酸化還元電位.....	31
長谷川 久隆(神奈川レディースクリニック)	

カレントトピックス 3 「AI と ART」

1. AI の活用から見える培養業務の未来ーTime Lapse 画像を用いた Deep learning 技術による前核数自動検出システムの開発ー .....	33
福永 憲隆(浅田レディースクリニック)	

2. 人工知能補助による顕微受精時の良好精子特徴分析と精子 Grading 法の開発 .....35  
湯村 寧(横浜市立大学附属市民総合医療センター)

動画で解説 1 「私の Piezo-ICSI」

1. 私の Piezo-ICSI 最新版—セッティングと頭部注入の見直し— .....37  
平岡 謙一郎(亀田 IVF クリニック幕張、亀田総合病院)
2. 私が Piezo-ICSI 時に注意していること .....40  
古橋 孝祐(英ウィメンズクリニック)

動画で解説 2 「私の Biopsy」

1. 広島 HART クリニック ART Labo における TE-biopsy の実際 .....42  
後藤 優介(広島 HART クリニック)
2. Laser & Pulling 法 .....44  
水田 真平(リプロダクションクリニック大阪・東京)

## 大会長挨拶

第 26 回 日本臨床エンブリオロジスト学会

### 大会長 渡邊 英明

(杉山産婦人科 検査室 学術培養部長)



この度、第 26 回日本臨床エンブリオロジスト学会学術大会 大会長を務めます杉山産婦人科の渡邊と申します。当初、今大会は 2021 年 1 月 9 日、10 日に国際医療福祉大学 赤坂キャンパスにてワークショップも含め開始予定でした。しかし、2020 年初頭から新型コロナウイルス感染症が全国に広がり、4 月には政府より緊急事態宣言が発令されました。一時は感染拡大がやや収まりましたが、8 月には第 2 波と思われる感染拡大が起こり、今現在は第 3 波が懸念されております。このような感染状況を鑑み、参加者の皆様の安全を第一に考え学術大会は、オンデマンド配信による Web 開催とし、従来行っていたワークショップは中止とさせて頂きました。大会直前まで中止も含めて議論し、会員の皆様へのお知らせが遅くなってしまったこと、この場を借りてお詫び申し上げます。

また、我々日本臨床エンブリオロジスト学会の使命として患者様の配偶子を取り扱う技術の伝播・伝承が挙げられますが、この伝播・伝承の場であるワークショップを開催できないこと、重ねてお詫び申し上げます。大会長として忸怩たる思いはありますが、皆様にはどうぞご理解を頂ければと思います。しかしながら、学術大会に関しましては、テーマを「今、エンブリオロジストに必要な技術と知識」として、ご参加頂きました皆様に少しでもお役に立てるプログラム、またオンデマンド配信の良さを実感できる形式を模索して参りました。

招請講演では、日本臨床エンブリオロジスト学会で初めて海外の演者をお招きいたしました。現地開催であれば同時通訳を予定しておりましたが、今回は日本語に翻訳した内容をテロップとして講演動画に流しております。スライドごとにリアルタイムで内

容が流れますので、より分かり易いご講演になるよう工夫しております。特別講演、教育講演では、その領域の最先端を走っていらっしゃる先生にご講演をいただきます。また、シンポジウム 1,2 ではエンブリオロジストに身近な問題をテーマに掲げ、カレントトピックス 1,2,3 ではまさに近年話題の内容をピックアップしご講演頂きます。動画で解説のご講演では、少しでも技術的な話題を会員の皆様にお届けしたく、トップスキルをお持ちの先生に動画を用いて解説頂きます。

2 週間の配信期間がありますので、ご自身の時間で講演を聞くことができることも、オンデマンド配信のメリットの一つだと思います。会員の皆様はじめ多くの方のご参加を心よりお待ちしております。

## 招請講演



### PGT-A: Past, Present, and Future

Dr. Carmen Rubio  
Igenomix HQ PGT 部門

The most common genetic abnormality identified in human embryos is aneuploidy. This abnormality is particularly common among embryos produced by in vitro fertilization (IVF), where more than half are aneuploid. For this reason, identifying the euploid embryos with the highest potential to implant and establish ongoing pregnancy is crucial. New molecular technologies have emerged in recent years to improve aneuploidy detection, and the latest one, Next Generation Sequencing, has allowed the identification of mosaicism in trophectoderm biopsies. On the other side, there have been different attempts to overcome trophectoderm biopsy to diagnose the chromosomal content of the embryos. Some groups started with the analysis of blastocoel fluid obtained by aspiration with a thin micropipette as a less invasive approach than TE biopsy. Later on, some groups proposed a “true” non-invasive approach consisting in the study of the spent culture media to analyze the embryonic cell free DNA released by the embryo during the latest stages of preimplantation development. After the first publications, several studies have compared the results in trophectoderm biopsies with the results of the spent culture media, to establish the concordance rates among both approaches. Our group have developed a non-invasive approach, Embrace, to prioritize the embryos for transfer based in the analysis of the spent culture media. This would represent a global strategy for every IVF patient who wants to increase the chance of having a healthy baby at home.

---

#### - 略歴 -

スペインバレンシア大学にて生殖医療分野における PhD 取得後、20 年以上にわたり着床前診断である染色体異数性およびモザイク胚に関する研究に従事。その功績により Igenomix HQ の PGT 部門のディレクターとして現職に至る。

## 特別講演



### 2 万 8 千年前のマンモスの DNA は目覚めるか？太古の DNA で生命現象を再現、古生物学の新たな扉を開く

三谷 匡

近畿大学生物理工学部遺伝子工学科・大学院生物理工学研究科  
生物工学専攻

現在姿を消してしまった生物は、進化の過程を刻んだ遺伝情報や生きていた時代の環境に適応した情報、逆に絶滅の要因に関する情報などを秘めている。永久凍土中に眠るケナガマンモス (*Mammuthus primigenius*) は、その中でも最も注目される生き物であり、世界中で全ゲノム情報の解読と、その情報をもとに寒冷な環境に適応した生理的、解剖学的特徴に関する研究がなされてきた。しかし、化石に残された生命の設計図「DNA」を収めている細胞核が生物学的に機能するのかわかっていなかった。近畿大学は、1996 年からロシアのマンモス研究チームと共同でマンモスに関する研究に取り組んできた。今回、2010 年に発見された“Yuka”の組織を用いて、最新の生命情報解析技術と体細胞核移植技術、ライブセルイメージング技術を駆使して、マンモスの生物情報の解析を行うとともに、細胞核の生物学的活性に対する検証を試みた。

“Yuka”のゲノム解析を行いアフリカゾウと比較した結果、全体の 0.7%にあたる約 2,700 万箇所の一塩基置換が存在した。また、その一部はマンモスにみられる特徴的なアミノ酸置換であることが判明した。次に、“Yuka”の骨髄ならびに筋肉組織を用いてタンパク質解析を行った結果、先行研究を大幅に上回る 869 種類ものタンパク質の特定に成功した。その中には、ヒストンやラミン等の核内タンパク質も含まれていた。さらに、コラーゲンの脱アミドの割合から、骨髄に比べ筋肉組織の方がより良好な保存状態であることが示された。

マンモス筋肉組織から細胞核を選別・回収し観察したところ、ヒストンやラミンの局在を認め、細胞核の構造が 2 万 8 千年の時を経ても保持されていることが示された。そこで、マンモスの細胞核をマウス卵子へ移植し、ライブセルイメージング技術を用いて観察した。すると驚くべきことに、マンモスの染色体にヒストン H2B が取り込まれ、続いて tubulin の集積による紡錘体の形成、つまり細胞分裂の直前の姿へと変化する様子が観察された。さらに、マウス卵子の活性化後、マンモスの染色体の一部が分離しマウス前核に取り込まれていく姿を捉えることに世界で初めて成功した。また、興味深いことに、リン酸化ヒストン H2A.X の観察から、マウス卵子のもつ DNA 修復機構によりマンモス DNA の損傷が修復されている可能性が示された。

本研究により、マンモスの細胞核が永久凍土の中で 2 万 8 千年もの間、生物学的活性を保持していたことが初めて明らかとなった。さらに、マウス卵子がもつ修復能力によって DNA の損傷が修復される可能性が示唆された。本研究は、生物学的活性を保持している細胞核が古生物の化石中に存在することを世界で初めて実証した先駆的な成果であり、古生物学と進化生物学において止まった時を再び動かす革新的な研究領域の開拓に資することが期待される。

- 略歴 -

- 1986 年 3 月 京都大学農学部畜産学科卒業
- 1988 年 3 月 京都大学大学院農学研究科畜産学専攻博士前期課程修了
- 1991 年 3 月 京都大学大学院農学研究科畜産学専攻博士後期課程修了  
農学博士(京都大学)
- 4 月 明治乳業(株)ヘルスサイエンス研究所 研究員
- 1995 年 2 月 PPL Therapeutics Inc. (Virginia, USA) 出向(至平成 8 年 8 月)
- 1998 年 9 月 国立小児病院小児医療研究センター実験外科生体工学部 研究員
- 1999 年 10 月 徳島大学分子酵素学研究センター情報細胞学部門 助手
- 2002 年 4 月 近畿大学先端技術総合研究所 講師
- 11 月 ジーンコントロール株式会社 取締役(兼任・至平成 25 年 6 月)
- 2005 年 4 月 近畿大学先端技術総合研究所 助教授
- 2011 年 4 月 近畿大学先端技術総合研究所 教授
- 2018 年 4 月 近畿大学生物理工学部遺伝子工学科 教授

- 学会活動 -

- 日本受精着床学会・常務理事・編集委員長
- 日本 IVF 学会・理事
- 日本生殖医学会・代議員

## 教育講演 1



エンブリオロジストが知っておくべき妊娠時の免疫環境

中川 浩次

杉山産婦人科新宿

### 受精卵は semi-allograft なのに母体から拒絶されない

妊娠の成立は、移植学的に「semi-allograft」である受精卵が子宮の脱着膜に着床することである。受精卵は、半分は自己のものであるが、半分は他人(男性側)のもの、つまりは非自己であるため、semi-allograft と考えることができる。この semi-allograft である受精卵は移植された女性からみれば、異物と認識され拒絶されることが予測されるが、通常、何の問題もなく子宮内膜に着床する。

さらに近年、提供卵子を用いた治療も行われている。これらは完全非自己の受精卵ではあるが、問題なく子宮内膜に着床し、母体から拒絶されことなく妊娠は継続する。臓器移植の場合、移植を受ける前から免疫抑制剤等を使用して拒絶反応を抑制しておかないと、移植片が生着しないことは想像に難くない。では、いかにしてこの妊娠成立における不思議な免疫状態が作成されるのであろうか？

### 妊娠成立時の免疫状態 — 免疫拒絶の抑制 —

妊娠の成立時には、「免疫拒絶の抑制」と「免疫寛容の誘導」の2つの現象が生じている。孵化した胚盤胞が子宮内膜に接着したのち、胚盤胞の栄養外胚葉層に由来する栄養膜細胞が子宮間質へ向かって侵入する。2種類の trophoblast (syncytiotrophoblast と villous cytotrophoblast) が存在するが、これらは直接母体側のリンパ球と接することはない。一方、これらとは別に子宮間質には、EVT (extravillous trophoblast) が存在し、これが子宮間質の血管壁にも侵入し、母体の血液と直接接触する。この際に EVT が母体のリンパ球に晒されることとなる。EVT には HLA-A や HLA-B は発現していないため CTL (細胞障害性細胞) の標的から外れるが、HLA-G を発現しているため NK 活性を抑制する。

### 妊娠成立時の免疫状態 — 寛容の促進 —

ヘルパーT 細胞の働きは妊娠成立時の「寛容の促進」に働いている。その主役を担っているのが1型ヘルパーT (Th1) 細胞と2型ヘルパーT (Th2) 細胞である。妊娠の成立は、このバランスが Th2 細胞へとシフトすることが重要であると考えられている。この Th2 細胞優位にしているのが、黄体ホルモンであるプロゲステロン (P4) である。P4 はプロゲステロン・レセプター (PR) と結合することにより子宮内膜を脱着膜化する。さらに、不活性型のコルチゾンを活性型のコルチゾールに変換する酵素である 11 $\beta$  HSD1 (11 $\beta$  水酸化ステロイド脱水素酵素 type 1) の発現を非常に亢進させる。その結果、黄体から産生される P の増加は、子宮内膜局所においてコルチゾールの飛躍的な増加を引き起こすこととなる。コルチゾールや P4

は、レチノイド(ビタミン A)代謝経路を介してヘルパーT 細胞の Th1 細胞への分化を抑制し、一方、Th2 細胞への分化を促進し、Th1/Th2 バランスは Th2 優位にシフトし、妊娠成立に有利な免疫状態が局所で完成することになる。

### おわりに

妊娠の成立には、異物を受け入れるための非常に理にかなった免疫環境が作られている。胚を扱う者すべてが、この免疫環境を理解して日々の診療に従事することを期待したい。

---

### - 略歴 -

1965 年5月 徳島県徳島市生まれ  
1990 年3月 自治医科大学卒業  
5月 徳島大学医学部産婦人科にて研修開始(オーベン;苛原稔先生)  
10月 徳島県立中央病院(研修医)  
1992 年4月 徳島県立三好病院産婦人科 医員  
1994 年4月 木沢村国保木沢診療所 所長  
1996 年4月 徳島大学医学部産婦人科 医員  
生殖生理班(チーフ:山野修司先生)に属し、  
ART の臨床及び研究に従事  
2000 年4月 徳島大学医学部附属病院 助手  
2001 年4月 愛媛県立中央病院産婦人科医長  
2002 年5月 国立成育医療研究センター 不妊診療科 医員  
2008 年4月 医療法人社団杉四会 杉山産婦人科生殖医療科  
2018 年1月 医療法人社団杉一会 杉山産婦人科 院長  
現在に至る

### - 資格 -

1990 年 医師免許  
2000 年 学位取得  
学位論文「精子不動化抗体陽性症例では、胚の quality は ART 成績に影響しない」Fertil Steril 1999; 72: 1055-1060  
2007 年 生殖医療専門医  
2008 年 産婦人科内視鏡技術認定医

### - 所属学会 -

日本産科婦人科学会、日本生殖医学会、日本受精着床学会(理事)、日本 IVF 学会、日本卵子学会、日本産婦人科遺伝学会、日本カウンセリング学会  
ヨーロッパヒト生殖会議(ESHRE)、アメリカ生殖免疫学会(ASRI)

## 教育講演 2



### 受精卵における雌雄前核の意義

北島 智也

理化学研究所生命機能科学研究センター

染色体分配研究チーム

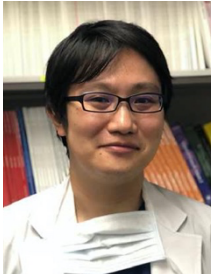
胚発生は受精卵より開始する。受精卵は、二つの異なるサイズの前核を形成し、これら 2 つの前核は異なる転写活性化やクロマチン再編成の過程をたどる。これらに重要な役割を果たしていると考えられているのが、ヒストン修飾をはじめとするエピジェネティックマークの制御である。受精によって精子からもたらされた父方のクロマチンは、まず脱凝縮した後、前核サイズの成長とともにいくつかのエピジェネティックマークを獲得していく。一方で、卵子からもたらされた母方のクロマチンは、受精前から豊富なエピジェネティックマークを有しており、前核サイズの成長の過程においても比較的安定に保持される。どのようにこれらの異なるプロセスが一つの細胞の中で同時に達成されているのか、またその生物学的な意義は、はっきりと理解されていない。我々は、マウス受精卵を用いて、雄性前核と雌性前核のサイズ制御とエピジェネティックマーク制御の関連性について調べている。これまでのデータから、雄性前核と雌性前核が 2 つに分かれて形成されることで両者間のサイズ競合が可能となり、そのことが適切なエピジェネティックマーク制御に重要であることが分かってきた。前核を一つしか持たない受精卵(1PN)はこの機構を用いることができず、エピジェネティックマーク制御に影響を及ぼす。受精卵における前核形成とエピジェネティックマークの制御について紹介しながら、新しいデータをもとに二つの前核が形成されることの意義について考察したい。

---

#### - 略歴 -

- 2004 年 東京大学分子細胞生物学研究所 助手
- 2007 年 European Molecular Biology Laboratory (EMBL) Heidelberg  
博士研究員
- 2012 年 理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター
- 現在 (現・生命機能科学研究センター) 染色体分配研究チーム チームリーダー
- 2018 年 理化学研究所 生命機能科学研究センター 副センター長
- 現在
- 2020 年 京都大学大学院生命科学研究科分子病態学分野 客員准教授
- 現在

## 教育講演3



### How to presentation

エンブリオロジストが学術論文を書くには

上野 智、加藤 恵一

加藤レディスクリニック

エンブリオロジストは、主に生殖細胞を扱い、胚の様子を観察し、必要であれば凍結保存をするという、体外受精を遂行する上で重要な役割を担っている。さらに近年は、自施設の臨床データを用いての学会発表もエンブリオロジストが積極的に行うようになってきた。また、学術論文を執筆し、学位取得するエンブリオロジストも見られるようになった。

エンブリオロジストが論文を書くことの意義として考えられることは、学位取得によるキャリアアップや自施設で開発した新しい方法を世間に公表することでその正当性を示すことである。エンブリオロジストの社会的立場が、今後どのように変化していくかは非常に不透明であり、その中で学術論文の発表などで少しでも実績を積むことは、非常に重要になってくると考えられる。また、新しい方法によって治療成績の向上が見られ、それを論文化することで、他の有識者(レビュアー)による評価を経るので科学的に認められたことになり、根拠に基づく医療(Evidence-based medicine: EBM)を提供できることになり、自施設の業績としてだけでなく、患者にとっても安心して新しい方法を用いた体外受精を受けることができる。

エンブリオロジストにとって、学術論文を執筆・発表することは学会発表よりも数段ハードルが高いものとなっている。なぜならば、学術論文の執筆は学会発表よりも多大な労力を必要とするため、通常業務と並行して執筆を行うことが非常に難しいからである。

一般的な臨床系の学術論文を書く順序は、①計画を立てる(テーマの選択)②データの取得(臨床で利用)③データ解析④学会発表 or 論文執筆となる。このような方法は前方視的研究となるため、良い研究になりやすいが、入念な準備が必要となるため研究の遂行が難しいこともある。一方、すでに存在しているデータを解析する後方視的解析は、データの信頼性は前方視に比べると低いですが、データの取得および解析が容易である。そのため、初めて論文を書くエンブリオロジストは、ここからスタートするのが良いのではないかと考えられる。

また、他の人とデータ解析の結果を議論することや、作成後の論文の推敲を行ってもらうことは、良い論文を作成する上で非常に大切である。一人でデータを解析し、一人で結果の解釈を行う場合には見えないものが必ずある。これを他の人(論文査読を行っている人が良い)が見ることで、そのデータに欠けているものを見つけることができる。論文は執筆するだけでなく、査読ありの学術誌に掲載されることにより、初めて価値のあるものとなるため、この作業は重要であると考えられる。

本講演では、エンブリオロジストが論文を書く際に必要な上記のことや苦労したことなどを情報として提供し、これから論文を書いていく方に少しでもお役に立てればと思う。

- 略歴 -

- 2007 年 明治大学大学院農学研究科 博士前期課程修了
- 2007 年 加藤レディースクリニック 入職
- 2014 年 培養部 主任
- 2017 年 博士(学術)取得 岡山大学大学院環境生命科学研究科
- 2019 年 生殖補助医療管理胚培養士

- 役職 -

日本臨床エンブリオロジスト学会 理事

## シンポジウム 1 「エンブリオロジストはこれからどう進むべきか ーキャリアチェンジの経験からー」



### エンブリオロジストのキャリアデザインを考える

白築 章吾

メルクバイオフーマ株式会社 メディカル本部

Medical Science Liaison

現在、本邦において生殖補助医療(ART)の登録施設数は 622 施設であり、この数は人口および国土面積あたりの施設件数を考慮すると、世界でも突出した施設数である。また 2018 年の総治療周期数は 454,893 件であり、総治療周期数は過去最高であった。また 2018 年における ART によって誕生した児の数は 56,979 人となり、少子化傾向にある日本においてその割合は出生数全体の約 6%に達し、この割合は年々増加している。2020 年 9 月に首相は、少子化対策の一環として、不妊治療の保険適応の対象とする方針を示し、ART は社会的にもますます注目浴びる分野となりつつあるが、その ART の根幹をなすのはエンブリオロジストの存在であるといっても過言ではない。

現在、不妊治療に従事しているエンブリオロジストの数は、約 1500 名程度であると推測されている。そのバックグラウンドは多岐にわたり、臨床系、生物系、工学系などさまざまであるが、エンブリオロジストのキャリアそのものについての議論はほとんどないのが現状ではないだろうか。また社会環境の急激な変化に伴い、就労環境についても予測不能な時代となり、ART 施設においても、後継者の不在、患者背景の変化やコロナ禍などの変化に対応せざるを得ない状況となっている。そのためエンブリオロジストにおいても自分自身のキャリアをどのようにデザインし、実行していくかを個人が考えなくてはいけない状況になりつつあると考えられる。

キャリアとは一般的に、「経歴」、「経験」、「発展」さらには、「関連した職務の連鎖」等と表現され、時間的持続性ないし継続性を持った概念を指す言葉である。現在、エンブリオロジストとして働かれている方のキャリアを考えたときに大きく分けて3つが挙げられる。1 つは部内における職位の上昇等の垂直移動的なキャリア、2 つ目は他の ART 施設へ移るといったキャリア、3 つ目は他業種に移るといったキャリアである。演者は 3 つ目のキャリアを選択した。5 年間不妊治療クリニックで勤務し、その間に博士号の学位を取得した。学位取得後は、海外留学し、研究を続けるか迷ったが、不妊治療領域の製品を扱う製薬会社へ Medical Science Liaison (MSL)として転職し、現在に至っている。MSL は、製品の販売活動を担当する職種から独立し、担当する疾患領域における最新の科学知識に基づき、社外医科学専門家と同じ科学者同士の立場で医学的・科学的情報の交換並びに意見交換を行う職種である。その活動は、医療の質の向上と患者利益の最大化に寄与することを目的としている。本目的を遂行する上で、ART 施設での勤務経験や学位取得時に得られた経験は、かけがえのないものとなっている。

本セミナーでは、演者の経験およびエンブリオロジストをバックグラウンドとして持つ海外の同僚達の経験をもとにエンブリオロジストのキャリアをどのようにデザインしていくのかについて紹介したい。

---

- 略歴 -

- 2009 年 東京農業大学農学部畜産学科卒業
- 2011 年 東京農業大学農学研究科畜産学専攻博士前期課程修了(修士)  
神畑養魚株式会社 入職
- 2012 年 医療法人社団暁慶会 はらメディカルクリニック 入職
- 2017 年 東京農業大学大学院農学研究科畜産学専攻博士後期課程修了  
(畜産学博士)  
メルクセローノ株式会社(現メルクバイオフーマ株式会社) 入職  
現在に至る

## シンポジウム 1 「エンブリオロジストはこれからどう進むべきか ーキャリアチェンジの経験からー」



少しの勇気が未来を変える  
～これからの担うエンブリオロジストの方々へ～

岡本 加奈子

クックメディカルジャパン合同会社

MedSurg(メド・サージ)部門

- Reproductive Health 事業部 Clinical Specialist

私が COOK 社に入社して早 5 年が経ちました。大学卒業後、エンブリオロジストとしてクリニックに勤務したのが最初の社会経験で、数回の転職と大学院での進学・研究を経て今に至ります。

全て計画的に進んできたのかと言うと、全くそうではありません。ラボに勤務していた頃は、まさか自分が大学院に行き、その後会社に入り外国人と英語で話さなければいけない環境になるとは夢にも思っていませんでした。ただ 1 つだけ、“とにかくやってみる”、これだけはどうな時であっても実行してきたつもりです。

研究をしてみて、臨床を離れ、さらに海外とのコミュニケーションを持つようになり、色々見えてきたことがいくつもあります。

1 つ目は、臨床における学びの限界。

大学院では他の院生に比べ研究センスもなく理解度も最悪だったため、失敗を繰り返しました。でも、その失敗から学んだことが多いのです。臨床では、決して失敗は許されません。成功の経験のみから学ぶことの難しさを、今は理解することができます。

2 つ目は、海外との違い。

現職に就くことで海外を知る機会に恵まれましたが、とにかく大小色々なところで違いを感じます。決して海外が全て勝っているわけではありません。違いを知り、良いものを取り入れることができれば、臨床に役に立つのではないかと思います。

3 つ目は、意思表示の弱さ。

これは私自身が克服しようと努力しているところでもあります。分からないことを質問する、自分の意見を言う、自分と違う意見があればディスカッションをする・・・日本人にはなかなかハードルが高いのですが、スキルアップのためには避けては通れないと痛感しています。

このように書くと、とても大きな壁に向かい、とてつもない努力をしなければいけないのかと感じてしまうかも知れませんが、決してそうではありません。自分には無理！関係ない！と思っていることを、まずやってみる。小さくてもやってみることから始めてみればよいのです。

例えば、学会で質問をしてみる。大勢の前で恥ずかしければ、セッション後に演者を追っかけて話してみるのも良いですし、それも難しければ、メールを送ってみても良いのです。先輩エンブリオロジストの先生方は、快く対応して下さいと思います。

海外の情報が知りたいときは、週一で海外学会のサイトを覗いてみるのはどうでしょう。英語が読めないなんて気にする必要ありません。パッと見ただけで、得ることができる情報もあります。(今なら、コロナ関連の情報が出ている等)

行動を起こしてみると、世界は少しずつ広がります。努力は視野を広げ、皆さんの糧となり、臨床に寄与することになります。

私も、いつでも質問や情報交換、ディスカッションなど大歓迎ですよ！

[Kanakanako.okamoto@cookmedical.com](mailto:Kanakanako.okamoto@cookmedical.com)

---

- 略歴 -

- 2003 年 神戸大学医学部保健学科(検査技術科) 卒業  
蔵本ウイメンズクリニック 入職
- 2006 年 純真短期大学 入職
- 2008 年 九州大学大学院医学系学府後期博士課程(ゲノム創薬) 入学  
九州大学(産婦人科) 入職
- 2012 年 九州大学大学院医学系学府後期博士課程(ゲノム創薬) 単位取得退学
- 2015 年 Cook Japan 株式会社 (現クックメディカルジャパン合同会社) 入職

## シンポジウム 1 「エンブリオロジストはこれからどう進むべきか ーキャリアチェンジの経験からー」



### エンブリオロジストのこれから

武田 信好

株式会社 IVF ラボ

日本におけるエンブリオロジストは、30 年程の歴史があり比較的新しい職業である。

当講演ではエンブリオロジストの“無限の可能性とこれから”について考えてみたい。

一つ目は、科学者または開発者としての可能性である。エンブリオロジストは、動物を用いた基礎の研究と違い、ヒトの発生を間近で見ることのできる点において誰よりも（医師よりも）有利な立場にいる。すなわち我々には、仕事をする中での新発見や新発想のチャンスがある。これらが新研究や新発明に発展、さらには特許技術にも繋がる可能性も考えられる。また、企業と共同研究・共同開発にもって行ければ、この業界に対して多大なる貢献ができるであろう（ビジネスとして成立）。このようにエンブリオロジストには技術者としての面と科学者・開発者としての側面も併せ持つ。しかし、毎日ただ単に目の前のルーチンワークをこなすだけでは何も変わる訳はなく、観察眼・発想力が試される。

二つ目は、教育・支援者としての可能性である。エンブリオロジスト（胚培養士）の資格制度は、日本臨床エンブリオロジスト学会（2001 年）と日本卵子学会（2002 年）により開始され世の中に認知されつつある。しかし、資格の認定を受けても技術的な錬度や理論的な理解に乏しい者も多く見られる。その理由は、医療技術として教える教育機関がほとんどないことが挙げられる（一部の大学にあるのみ）。よって多くのエンブリオロジストは、体系的に学ぶ機会に恵まれないまま、就業してから上司や先輩から教育を受けたり・自主的学習をしたりするなどして技術を習得している。この現状を補完すべく教育・情報交換の場として当学会をはじめ他の関連学会がその役割を担っているが、エンブリオロジストの教育としては限界がある。私がエンブリオロジストの支援会社（ラボのマネジメントと技術的なコンサルテーション）を始めたのはこのような状況の改善に役に立てればと思ったからである。これまでの日本において、ART ラボに対するコンサルテーションを専門に行う職業は一般的ではなかったが、海外においてはポピュラーな職業である。きっかけになったのは、日本に JISART（日本生殖補助医療標準化機関）が設立されたときにオーストラリア RTAC（生殖技術認定委員会）のコンサルタントとして来日したエンブリオロジストのジム キャット氏との出会いであった。氏は私の就業年数から将来どうするのかと質問されて、コンサルタントとしての道を薦めてくださった（老後の話が出る年齢になった？）。これは、IVF 業界の成果を最適化するための QMS システムの実装に特化したコンサルティングビジネスであり、必要とされる仕事だと感じた次第であった。

最後に、エンブリオロジストの仕事は奥が深くとても極めることはできないが、楽しい自身の“これから”を考えていただきたい。

- 略歴 -

- 1986 年 埼玉医科大学付属医学技術専門学校臨床検査科卒業  
医療法人社団スズキ病院(現 医療法人社団スズキ記念病院)
- 1997 年 小田原ウイメンズクリニック(現 ファティリティッククリニック東京)
- 2012 年 東北大学大学院農学研究科応用生命科学専攻動物生殖科学分野修了

- 資格 -

臨床検査技師免許、生殖補助医療胚培養士、臨床エンブリオロジスト  
博士(農学)東北大学

## シンポジウム 2 「データから見た培養液」



生存能を最適化するとは？  
～Vivo 成分で抗酸化システムを構築できる  
臨床の時代～

松本 嶺  
ヴィトロライフ株式会社

IVF ラボで利用される胚培養の関連技術の進歩は胚盤胞率、妊娠率、生産率、健児獲得率などの胚の生存能 (viability) に関連する各指標の改善をもたらしてきた。さらに胚培養そのものの技術的進歩に加え、近年では遺伝子発現分析、プロテオーム分析、更には代謝によるエピジェネティック変化を対象としたメタボロエピジェネティック分析 (Metaboloepigenetics: / Gardner et al., 2016) を利用しての良好胚判定法の可能性に関する新たな知見の蓄積も進んでいる。

IVF ラボにおける胚培養については、In Vivo での胚発生の条件を理解することから始まり、その知見を In Vitro へと反映させることで進歩改良が進められてきた。ヒト生殖細胞用の培養液は Quinn らの HTF (Quinn et al., 1985) に始まり、その後 In Vivo での胚発生条件をより良く反映する調製の培養液であるシーケンシャル培養液 (G1/G2) により良好胚獲得率は大幅に改善された (Gardner et al., 1997)。さらに近年では初期胚におけるエネルギー代謝、アミノ酸の代謝、ヒアルロン酸の役割、そしてグルタチオンを始めとする抗酸化分子の役割に関するより詳細な研究も進められている。とくに、胚培養液に抗酸化剤を添加することの利点についてマウス胚を用いた試験では、In Vivo 条件下にも存在する  $\alpha$ -リポ酸、カルニチン、システインといった成分を添加することで、胚盤胞の細胞数の有意な増加や胎児の重量や頭殿長などが In Vivo に近づいたことが報告された (Truong et al., 2016)。その後、ヒト胚を対象とした前方視的な多施設共同ランダム化試験からは患者年齢 35 歳以上の場合における臨床妊娠率の向上が見られたことが報告されている (Gardner et al., 2020)。

初期胚の細胞内の代謝経路の生化学的な理解に基づく基礎研究の成果、そして動物実験および臨床試験の結果から、胚培養液への抗酸化剤の添加による胚培養条件のさらなる最適化は今後もさらに進むものと考えられる。本発表では、“胚の生存能”を前提とし、最新の臨床データを交えながら培養液について言及していきたい。

## シンポジウム 2 「データから見た培養液」



培養液がヒト染色体に及ぼす影響について

千葉 誠

オリジオ・ジャパン株式会社 製品技術担当

皆さんは培養液に何を求めていますでしょうか？

果たして高い胚盤胞率が得られる培養液が、最も優れた培養液なのでしょうか？

着床前診断の普及と共に、受精卵の遺伝子解析技術の向上したことで、これまで解らなかった遺伝子・染色体の詳細な情報が明らかになりつつあります。その一つとして『染色体モザイク』と呼ばれる現象があり、染色体モザイクは受精卵の10～20%の割合で存在しているといわれています。このモザイク現象の要因は様々ですが、培養環境が影響を及ぼしているのではないかという考えが提唱されています。

ヨーロッパ不妊学会において、海外の大手遺伝子解析メーカーから公表された報告では、培養環境の異なる施設ごとにモザイク発生率は異なっており、施設が使用する培養液が影響しているのではないかという、俄かに信じ難い衝撃的な内容でした。

ところが、それ以降も海外からは培養液間でモザイク率が異なるという結果が報告されており、国内でも関連性のありそうな情報が報告されています。

培養液に要因があった場合、いったい何が影響しているのでしょうか？

残念ながら今のところは全世界でも解明されておられません。

しかしながら、染色体モザイクの多くは、減数分裂及び有糸分裂のエラーによって起こる現象であり、染色体の分離には紡錘体に含まれる動原体や中心体、紡錘糸の動態が大きく関与することが知られています。

紡錘体の変化に関与する成分に着目し、これまでの報告からわかってきた、いくつかの“要因となりうる可能性”について、各社、各製品の組成と比較しながら考えてみたいと思います。

## シンポジウム 2 「データから見た培養液」



L-カルニチンを科学する  
- 抗酸化作用とエネルギー代謝における役割 -

西山 輝紀

メルクバイオフーマ株式会社

L-カルニチンは、生体の脂質代謝に関与するビタミン様物質で、アミノ酸から生合成される誘導体である。近年、培養液に L-カルニチンを添加する報告があり、培養液中の L-カルニチンの役割はフリーラジカルのスカベンジャー（抗酸化作用）との長鎖脂質酸のミトコンドリア酸化のサポートの 2 つと言われている。<sup>1</sup> 本発表では L-カルニチンを培養液に添加することの意義を基礎研究と臨床研究の両方の側面から解説する。

マウスの研究では Abdelrazik et al. が L-カルニチンを胚培養液に添加することで培養成績を向上させることを報告している。<sup>1</sup> ヒト胚の培養においては、Tanaka らが良好胚盤胞率が全年齢と 40 歳未満のグループにおいて L-カルニチン含有群で有意に高くなることを報告している。<sup>2</sup> Kim らも同様に良好胚率、良好胚盤胞形成率が有意に向上すると報告している。<sup>3</sup>

また、L-カルニチンは IVM にも効果があるという報告されており、Zare, et al. は L-カルニチンを IVM 培養液に添加することで成熟率・胚盤胞形成率が向上し、遺伝子発現に影響を与えると報告している。<sup>4</sup> Sovrnigo, et al. らは複数の抗酸化剤を IVM 培養液に別々に添加し、成熟率と胚盤胞形成率を比較することで、IVM における抗酸化剤の添加は酸化ストレスを減少させることによって胚盤胞形成率を向上させると報告している。<sup>5</sup> 越智らは L-カルニチンを含有した培養液(Gems Fertilization Medium)を精子調整および媒精に用いて培養成績に与える影響を報告しており、未熟卵子を体外成熟させ ICSI した胚の胚盤胞到達率に有意な改善 ( $p < 0.01$ ) が認められている。<sup>6</sup>

L-カルニチンを胚培養液に添加することで培養成績の向上、IVM の成績向上が期待できる。メルクバイオフーマ株式会社が販売する体外受精用胚培養液 Gems (Genea embryo media suite, Genea Biomedx, オーストラリア) には抗酸化作用と脂質代謝の促進を目的として L-カルニチンが含有されている。長い歴史を持つ Genea の最新の培養液をデータとともに紹介していきたい。

1. Abdelrazik et al. Fertil Steril, 91(2), 589-596, 2009.
2. Tanaka et al. Fertil. Steril, 106(3), Sup e107, 2016.
3. Kim, et al. J. Obstet. Gynaecol. Res., 44(11) 2059-2066, 2018.
4. Zare, et al. Int J Reprod BioMed, 15(12), 779-786, 2017.
5. Sovrnigo, et al. Reprod Dom Anim, 52, 561-569, 2017.
6. 越智ら, 第 60 回日本卵子学会, O-77, 2019.

## シンポジウム 2 「データから見た培養液」



### 培養液、成分に全集中！Taurine

岡本 加奈子

クックメディカルジャパン合同会社

ラボ業務は不妊治療において重要であることは言うまでもありません。ラボ担うエンブリオロジストの行動・判断は臨床成績に大きな影響を及ぼします。

遺伝子検査などの新たなテクノロジーが不妊分野へ進出してきている昨今ですが、どのような状況になろうとラボ業務で大切なことは一貫して“胚発生のための良い環境を保つこと”、です。

この目的のためエンブリオロジストがやるべきことは、

- 1) 質の良い道具を選ぶこと、
- 2) その道具がきちんとワークしているかを管理すること
- 3) 自身のテクニック・スキルを磨くこと(トレーニング)
- 4) 基礎知識・最新情報の習得(座学)

に集約されるのではないかと思います。

技術職においてスキルやテクニックを磨くことは花形のステップと言えるでしょう。エンブリオロジストも技術のエキスパートですので、3)に注目することが多いかと思います。また2) 道具の管理に関しては、日々の業務より学び経験することも多いと思います。では1)はどうでしょう？ 良い道具を選ぶこと、これはなかなか難しいものです。判断にはしっかりした基礎知識に加え、新しい情報を積み重ねておく必要があります。つまり4)の座学は、1)と関連していることとなります。

例えば、胚培養の要である培養液。一つ一つの成分がどのような機能を持ちどういう働きをしているのかを知らなければ、何が培養液に必要なのか、どれがご自分のラボに最適なのかを判断できません。最適な培養液を選び出すためには、多くの基礎知識と情報が必要となるのです。ですが、分かっているも 1 人で勉強するのはとても難しい・・・これは私がエンブリオロジストとして勤務していた頃感じていたことです。

私自身がこのように感じていたからこそ、これまで basic science の視点から多くのセミナーを行ってきました。特に培養液に関連するセミナーでは、構成成分の中でも Key Player である糖質、アミノ酸に着目してきましたが、今回は脇役、中でも Taurine に注目し、さらに深く掘り下げていきたいと思います。

一部ではアミノ酸として分類されていますが、正式にはアミノ酸ではない Taurine。この謎めいた物質が ART においてどんな重要な役割を果たしているのか・・・基礎知識を交えつつ、文献の情報をご紹介しますながら、今回も楽しくお話しさせていただきたいと思います。

## シンポジウム 2 「データから見た培養液」



### 低乳酸一液式培地の紹介

宮澤 純也

富士フイルム和光純薬株式会社 ART 営業課

#### ①CSCM-NX の組成特長

KSOMaa をベースとしたシンプルな組成となっており、乳酸濃度を低減している。

#### ②乳酸濃度低減化の背景

ガードナー氏論文【BIOLOGY OF REPRODUCTION62,16-22 (2000)】によると、マウス胚では乳酸濃度の減少に伴い、ピルビン酸代謝量が増加した。製造元の FUJIFILM Irvine Scientific 社は本結果に着目し、乳酸の至適濃度を 1mM に決定した。つまり、初期胚ではピルビン酸代謝量が増加する事で、TCA Cycle が効率良く機能でき、初期胚代謝ストレスの軽減が期待出来る。一方、後期胚ではグルコース消費増加に伴い、解糖系によって蓄積し得る乳酸濃度の低化、即ち抗酸化作用が期待出来る。この現象は、乳酸は酵素の働きにより、可逆的にピルビン酸へ変換されているが、乳酸濃度の低減化を図る事で L/P 比を崩さず、ミトコンドリア機能障害を起こさない事によるものである。

#### ③海外臨床データ

米国内 2 つのラボに於ける PGT-A (NGS 解析) 実施時、他社シーケンシャルメディアウムと CSCM-NX との比較 (LabA)、並びに当社製品 CSCM と CSCM-NX との比較 (LabB) 試験結果より、CSCM-NX 使用群の正倍数体割合が有意に増加していた。なお、本結果は、BUR を指標とした形態学的評価では有意差が無くとも、正倍数体割合では有意差が示唆されている点が興味深い。更にこれらは移植時、着床率結果についても、CSCM-NX 使用群に於いて有意差が示唆された。

#### ④考察

乳酸濃度低減化により、初期胚段階から代謝ストレスが軽減され、初期段階から遺伝子修復エラーが減少。その為、PGT-A (NGS 解析) 結果、モザイク胚が減少し、正倍数体の割合が増加した可能性が考えられる。

#### ⑤最後に

以上より、形態学的な評価だけでなく、真の意味で良好胚を得られる手助けとなり得る CSCM-NX を是非、臨床にお役立ていただきたい。

## カレントトピックス 1 「PGT-A」



NGS を用いた PGT-A – WGA からデータ解析まで –

小林 護

木場公園クリニック リサーチ部

高齢女性や反復流産、反復着床不全を示す不妊症患者に対する着床前胚の異数性検査 (preimplantation genetic testing for aneuploid: PGT-A) の有効性が明らかとなっている。現在、その手法として次世代シーケンサー (NGS) を用いた PGT-A が世界的に主流となっている。

日本では昨年末より日本産科婦人科学会による「PGT-A 特別臨床研究」が開始され、その評価が期待されている。当院では、研究分担施設および解析実施施設として当該研究に参加しており、PGT-A にかかる全ての作業を in house にて実施している。

本講演では、NGS を用いた PGT-A に関し、栄養外胚葉 (TE) 細胞バイオプシー後の操作 (全ゲノム増幅 (WGA) –Library 調整–シーケンス–データ解析) についての当院での実施例を紹介し、それを通して注意点等を提起したい。

NGS による PGT-A には複数の手順や多くの試薬を必要とし、どの行程で間違いが起きても正確な結果を得ることはできない。また、1 回のシーケンスで複数の検体を扱うため、取り違いや操作ミスは絶対に許されない。そのため、PGT-A の一連の工程は必ず、実施者と確認者の二人で確認しながら作業し、すべての工程は専用の記録用紙とパソコンに記録している。

PGT-A の出発点となる WGA は全工程中最も重要な操作である。WGA の失敗はシーケンスの失敗に直結し、バイオプシーした TE 細胞以外の DNA のコンタミネーションは不正確な結果を招く。同時に、バイオプシー後の確実かつ正確なチュービングが WGA 成功の必須条件となる。

シーケンス用の DNA (Library) の調整では、多種類の試薬を必要とし、添加量も微量である。更に、工程数が多いため、ひとつひとつの試薬と操作を確認し、細心の注意を持って作業を実施している。

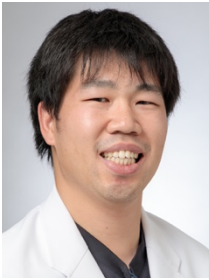
また、得られた結果についても必ず複数名によるチェックを実施し、検体と結果の取り違いがないことを確認している。

講演の後半では PGT-A 実施に関する注意点等について文献や国際学会からの情報を紹介するとともに、結果の解析や取扱いについても具体的なデータを示しながら解説を加えたい。

- 略歴 -

- 2003 年 3 月 日本大学大学院生物資源科学研究科 博士後期課程 修了  
(学位(生物資源科学))
- 2003 年 4 月 東邦大学医学部 研究員
- 2004 年 1 月 東邦大学医学部 客員助手
- 2005 年 9 月 北里大学医療衛生学部 研究員
- 2007 年 2 月 株式会社生物資源応用研究所
- 2010 年 5 月 木場公園クリニック リサーチ部

## カレントトピックス 1 「PGT-A」



低侵襲なバイオプシーを目指して  
-生検細胞数と染色体解析結果から考える

中野 達也

IVF なんばクリニック 生殖技術部門

現在の着床前診断(Preimplantation genetic testing:PGT)では Next Generation Sequencing (NGS)等の全ゲノム増幅を必要とする技術に変わり、多くの細胞数を用いることで診断効率が向上する。そのため、胚生検の時期も 3 日目の分割期胚から、より多くの細胞が得られる胚盤胞の栄養膜細胞(TE)生検が主流となってきた。しかし、胚からの細胞生検は少なからず侵襲性がある。そのため、胚盤胞形態や生検細胞数によっては着床率の低下が懸念されるが、少数細胞では DNA 増幅不良やモザイク診断のリスクがある。そこで、生検後の胚盤胞が高い生存性を維持しつつ、安定した染色体解析を行える生検方法を構築するため、胚盤胞生検技術の研究や臨床データによる後方視的な検討を行った。

### 【高い生存性を維持した胚盤胞生検技術の確立】

まずは生検細胞数が胚に及ぼす影響(胚盤胞形態評価、生検後や凍結融解後の生存性)を調べた。胚盤胞の総細胞数は 50~100 細胞以上であるため、胚盤胞生検による数細胞の損傷が胚全体へ影響することは少ないと考えられる。しかし、物理的に細胞間接着を切ることとなるため、胚盤胞及び生検細胞の生存性にどのように影響を与えるかは不明である。例えば、初期の胚盤胞では生検細胞数によっては TE 細胞の減少が多くなり、胞胚腔の再拡張に影響を及ぼすことも考えられる。そこで、生検細胞数の違いによる胚盤胞の生存性を比較することで、より侵襲性の低い方法を検討した。さらに、胚盤胞生検後に生存を確認するためには培養し胞胚腔の再拡張をみる必要がある。しかし、これを行うことで培養時間の延長と胞胚腔の再形成による凍結融解への影響を懸念されるため、胚盤胞生検後の凍結融解へ及ぼす影響も検討した。

### 【生検細胞数などから考える臨床成績の考察】

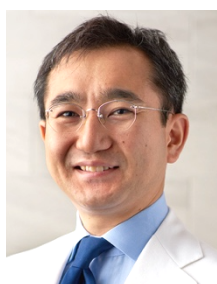
上記の検討で生検細胞数と胚盤胞の生存性に関する知見は得られたが、生検細胞数などが解析精度に及ぼす影響は調べられていない。そこで PGT を実施する際に記録しているおおよその生検細胞数や生検動画等を用いて、生検細胞数や細胞の状態が解析精度(DNA 増幅や染色体モザイクなど)に及ぼす影響及び、胚移植後の着床への影響を比較した。

本講演ではこのような検討をもとに胚盤胞生検技術において低侵襲かつ安定した解析精度を目指した胚盤胞生検について述べたい。

- 略歴 -

- 2010 年 3 月 近畿大学大学院 生物理工学研究科 生物工学専攻 博士前期課程  
修了
- 2010 年 4 月 医療法人三慧会 IVF なんばクリニック 入職
- 2011 年 6 月 生殖補助医療胚培養士 取得
- 2017 年 4 月～ 近畿大学大学院 生物理工学研究科 生物工学専攻  
博士後期課程 在学中
- 現在 医療法人三慧会 IVF なんばクリニック 生殖技術部門 主任

## カレントトピックス 2 「酸化ストレス」



### 生殖医療と酸化ストレス

鍋田 基生

つばきウイメンズクリニック 理事長・院長

酸素はヒトが生きていくために不可欠な分子であるが、一方で毒性を有する諸刃の剣であり、生体中には、酸素の毒性を緩和、消失させる機構が存在する。電子伝達系においては呼吸で得た酸素の数パーセントから必然的に活性酸素種が生成される。しかし、生体中には抗酸化酵素や抗酸化物質が存在し、過剰の活性酸素を消去することで身体を防御している。活性酸素の過度な生成はタンパク質や脂質、核酸などに酸化的ダメージを与え、細胞毒性や様々な疾患の原因となる。加齢や激しい運動、過食や精神的ストレス、紫外線や排気ガスなど、様々な要因で活性酸素の生成系と消去系のバランスが崩れ酸化ストレスとなっている。近年、血清中の酸化ストレス値 (d-ROMs) および抗酸化力値 (BAP) が簡便に測定できるようになり、当院では血清中の酸化ストレス値および抗酸化力値の測定を不妊治療目的に受診した患者のスクリーニング検査に組み込み、不妊症のすべての患者に対し酸化ストレスの評価を行っている。血清中の酸化ストレスと受精および胚発育との関連性についての評価や、酸化ストレス改善のための方策、酸化ストレスの改善が妊娠成績へ与える影響などを解析した結果を報告する。

---

#### - 略歴 -

- 2001 年 3 月 久留米大学医学部医学科卒業
- 6 月 愛媛大学医学部産科婦人科学入局
- 2004 年 4 月 市立八幡浜総合病院
- 2010 年 3 月 愛媛大学大学院医学系研究科博士課程修了 医学博士
- 4 月 愛媛大学医学部附属病院 助教・生殖医療部門主任
- 6 月 愛媛大学医学部附属病院 講師
- 2015 年 4 月 愛媛大学医学部 非常勤講師
- 10 月 医療法人ヒューマンリプロダクション つばきウイメンズクリニック  
理事長・院長
- 2019 年 4 月 兵庫医科大学医学部産婦人科 非常勤講師

#### - 所属学会・資格等 -

医学博士、産婦人科専門医・指導医、生殖医療専門医、管理胚培養士、  
女性ヘルスケア専門医・指導医、一般社団法人 JISART (日本生殖医療標準化機関)

理事、日本卵子学会代議員、日本レーザーリプロダクション学会評議員、  
生殖バイオロジー東京シンポジウム世話人、産婦人科 PRP 研究会世話人

- 受賞歴 -

日本生殖医学会学術奨励賞、中国四国産科婦人科学会学術奨励賞（八木賞）、  
愛媛医学会賞、愛媛医学会奨励賞

## カレントトピックス 2 「酸化ストレス」



### ART における酸化還元電位

長谷川 久隆

神奈川レディースクリニック

酸化ストレスは、活性酸素種(reactive oxygen species: ROS) の過剰な生産または抗酸化物質の欠乏により発生する。精液中の酸化ストレスは男性不妊の指標の一つと言われており、精液中の高い ROS は細胞膜や DNA の損傷による精子の質の低下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。精液中の酸化ストレスの評価法はこれまで、ROS、抗酸化能、脂質過酸化マーカーについてそれぞれ単体を測定する方法が用いられてきた。不妊男性では精液中の ROS が高く、抗酸化物質の濃度が低いことが報告されているが、酸化ストレスは酸化物質の活性が抗酸化物質の活性を上回る酸化還元状態を指し、精液中の酸化力のみではなく、抗酸化力(還元力)とのバランスを総合的に評価することが望ましい。

2016 年 Agarwal らにより報告された MiOXSYS™ system は、酸化力と抗酸化力の関係の指標である酸化還元電位 (static oxidation reduction potential: sORP)として精液中の酸化ストレスを数値化する機器である。sORPは精子濃度、運動率、運動速度などの精液所見のパラメーターと逆相関を示し、妊孕性に関与していることが報告された。これまで先行研究により、ROS の体外受精における低受精の予測因子としての可能性が示されている。我々は、新規酸化ストレスマーカーである sORP を用いて体外受精における受精予測が可能か検討を行った。

体外受精における媒精法は、一般的に原精液の精子濃度、精子運動率および総運動精子数などのパラメーターにより決定されている。しかし多変量解析の結果、本検討に用いた split 媒精適用となった精液所見良好な症例においては、いずれのパラメーターも cIVF の受精と有意な関連は認められなかった。一方、sORPは受精に有意な関連が認められた。カットオフを  $2.23 \text{ mV}/10^6 \text{ sperm/ml}$  とした場合、cIVF でのみ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。これらのことから、精液所見が良好な症例の cIVF において sORP は受精の独立した強力な予測因子であり、sORP を媒精法の決定に用いることの有用性が示唆された。

さらに、sORP が  $1.4 \text{ mV}/10^6 \text{ sperm/ml}$  以上の症例では、採精から精子調整までの時間の延長が受精および胚発育に負の影響を与えるという知見も得ている。

sORP の測定はごく少量の精液を使用し、リアルタイムで結果が得られる。これは、採卵当日の IVF ラボにおける酸化ストレス評価に非常に有用であり、従来の原精液のパラメーターに加え、治療に用いる原精液の酸化ストレス状態を考慮した精液調整や媒精法の決定を可能にするものと考えられる。

- 略歴 -

- 2005 年 日本大学 生物資源科学部 応用生物科学会 卒業
- 2007 年 日本大学大学院 生物資源科学研究科 応用生命科学専攻 卒業
- 2007 年 東北大学病院産婦人科 技能補佐員
- 2010 年 神奈川レディースクリニック
- 2018 年 フェニックス アート クリニック
- 2018 年 神奈川レディースクリニック
- 
- 2014 年 秋田大学大学院 医学系研究科 在学中  
～現在

## カレントトピックス 3 「AI と ART」



AI の活用から見える培養業務の未来

– Time Lapse 画像を用いた Deep learning 技術による  
前核数自動検出システムの開発 –

福永 憲隆、浅田 義正

浅田レディースクリニック

今日に至るヒト胚の培養は改良の繰り返しであった。培養液では HTF から始まり、Sequential Medium の開発、そして Single Step Medium へと進んできた。この変化は培養期間の長期化を表している。HTF は初期胚までの培養しか耐え得ることはできず、Sequential Medium の開発によって初めて臨床的な胚盤胞培養が可能となった。しかし、培養期間の長期化にデメリットがあった。それは胚培養士が多くの技術的な操作を行うことで体外における卵管内環境の再現が常に不安定になることだった。この問題を解決させるために Single Step Medium が開発されてきた。

現在では、Time Lapse インキュベーターと連続培養可能な培養液の選定、更に WOW Dish の導入により前核から胚盤胞まで胚を空気中へ晒すことのない完全連続培養系を確立することができている。しかし、Time Lapse インキュベーターは得られる画像データが膨大な量となりその全てを annotation し定量化することは困難である。そこで我々は近年医療分野でも研究されている Deep learning 技術を用いた AI による画像解析に着目した。Deep learning 技術は画像解析の分野でも注目を集めている新しい AI 技術である。この技術は人間の脳の神経回路を模した深い構造でアルゴリズムを構成し、学習を繰り返すことで検出精度を大幅に向上できる技術として期待されている。我々は大日本印刷株式会社との共同研究にて、この技術を活用した新しい胚評価に向けた研究を進めてきた。まず取り掛かったのは媒精から前核消失までの画像を解析し前核とその個数を自動で検出するアルゴリズムの開発を目指した。前核検出の研究を最初に手掛けた理由は胚培養士が目で確認する作業に問題があれば貴重な受精卵を失う可能性を示唆したからである。実際に Time Lapse 機器を使用しない培養環境では正確な受精判定はできないことが明らかとなっている。

前核を自動検出させるためには、得られた画像を Deep learning のネットワークに入力し、入力画像の学習データから特徴の抽出と分類をすることで前核の存在と個数の確率を高速に推定することが可能になる。前核数を検出するアルゴリズムは入力した Time Lapse 画像に対して前核数を出力するニューラルネットとして実現させた。このニューラルネットは、胚培養士が評価した前核数を教師データとし、Deep learning によって学習させた。これまでの研究により 2 前核検出率は 99% に達し胚培養士の前核評価と非常に高い相関性を示す検出精度となっている。更に多前核の検出にも成果が出ている。本来、胚培養士の前核評価は経験を積み身に付ける技術であるが Deep learning による機械学習はその精度が短期間で胚培養士に近づいた事になる。

AI の活用は医療だけではなく生活のすべてに応用され始めている。胚培養士の業務はこれまでの 20 年で遂げた進化とは別次元の進化がこの先 20 年で起こると予想され、その

多くが IT を駆使した自動化や人工知能の応用であることは言うまでもない。この進化は胚培養士の経験と知識を最先端の科学と融合させ医療の質と成績向上に繋げていく新しい挑戦と認識している。

---

- 略歴 -

- 1999 年 北里大学 獣医畜産学部 畜産学科卒業
- 1999 年 医療法人社団 レディースクリニック京野 培養室入社
- 2000 年 医療法人社団 レディースクリニック京野 培養室主任
- 2003 年 東北大学大学院 農学研究科 博士課程入学
- 2004 年 レディースクリニック京野退社
- 2006 年 東北大学大学院 博士課程修了 博士(農学)授与  
医療法人浅田レディースクリニック入社  
培養研究部 部長
- 2018 年 医療法人浅田レディースクリニック 副院長  
培養研究部 部長(兼任)

日本卵子学会／日本生殖医学会認定 管理胚培養士  
北里大学獣医学部非常勤講師

## カレントトピックス 3 「AI と ART」



### 人工知能補助による顕微受精時の良好精子特徴分析と精子 Grading 法の開発

湯村 寧<sup>1</sup>、山本 みずき<sup>1</sup>、齋藤 満里奈<sup>1</sup>、西真 裕子<sup>1</sup>、  
上野 寛枝<sup>1</sup>、黒田 晋之介<sup>1</sup>、竹島 徹平<sup>1</sup>、  
村瀬 真理子<sup>1</sup>、濱上 知樹<sup>2</sup>

1) 横浜市立大学附属市民総合医療センター 生殖医療センター

2) 横浜国立大学工学部 工学研究院

2015 年度日本産科婦人科学会の調べでは年間約 133,000 件の顕微受精が行われている。顕微受精では卵に注入する精子の形状や運動性が妊娠成績を左右するといわれるが、選別は胚培養士が洗浄された精液中の精子の形状・大きさ・運動性などを観察し総合的に良好な精子を選別している。形状のよい精子、運動性の高い精子と受精率・良好胚到達率・妊娠率との相関を調べた報告は多数見られすでに臨床でも応用されているが、選別について統一化された判断基準はなく胚培養士のこれまでの経験によるところが大きい。そのために施設間、地域間で選別法、選別結果に格差が生じている可能性もある。人工知能が人間の知識・経験などの因子を学習し、その分野の熟練者と同レベル以上の能力をもつという事例は多くの分野でも報告されている。人工知能による映像認識は一般的に対象となる物体の映像(ラベル)を記憶させその特徴を学習する形で行われ、最終的には人工知能自らがその対象を認識できるようになる。まず我々は人工知能が精子を識別することが可能かを共同研究者の濱上とともに検証した。結果として人工知能の精子判別の正答率(True positive rate:TPR)は 87%、その後も識別率は 99%まで向上している。

その結果を受けてわれわれは今回の研究を行なっているが、機械学習により「良好精子」の物理的特徴抽出を行い、その良好な精子の特徴因子を利用して各精子の格づけ(Grading)を行いたいと考えている。方法としては顕微受精時の精子浮遊液の映像内の精子に対し、経験ある胚培養士がその精子を 5 段階にわけてラベルづけを行い、精子のデータを横浜国大の人工知能が学習し特徴分析を行う。抄録作成時点で全国の 5 つの不妊クリニック、12 名の胚培養士が研究に参加しており、発表時にはその進捗状況を報告したい。

今まで胚培養士の経験と主観によるところが大きかった選別方法が数値化され、基準となる良好精子の特徴・情報を共有できるようになれば胚培養士が選別に有する時間やその方法を習得する時間も短縮し、良好精子選別における培養士間の技術格差軽減ひいては不妊治療成績の向上にもつながる。加えて形状と運動性良好な精子・不良な精子の映像が蓄積されればそれを利用して若手胚培養士への教育システムを作成することもできる。また精子に Grade がついた場合、その Grade と精子の質(DNA fragmentation や受精能力など)、その他の精液中の物質や受精・妊娠成績との相関が証明されれば、この Grading システムはあらたな精子の評価法として男性不妊診療・研究にも応用できると考えている。

- 略歴 -

1993 年 横浜市立大学医学部卒業

1995 年 横浜市立大学泌尿器科学教室入局

以後、神奈川県・静岡県内施設の泌尿器科を経て

2008 年 横浜市立大学附属市民総合医療センター泌尿器・腎移植科助教

2018 年～ 現在 生殖医療センター泌尿器科 准教授

2020 年～ 横浜市立大学附属市民総合医療センター 副病院長

博士(医学)日本泌尿器科学会 専門医・指導医ならびに代議員

日本生殖医学会 泌尿器科領域生殖医療専門医ならびに学会幹事

日本アンドロロジー学会 評議員

日本がん・生殖医学会 幹事

## 動画で解説 1 「私の Piezo-ICSI」



### 私の Piezo-ICSI 最新版 — セッティングと頭部注入の見直し —

平岡 謙一郎

亀田 IVF クリニック幕張、亀田総合病院、  
亀田医療技術専門学校、東京医科歯科大学

Piezo-ICSI は顕微授精技術の一つで、先端が平坦な ICSI ピペットの中に慣性体としてオペレーションリキッド(比重:約 1.8)を入れて、ピエゾ素子により ICSI ピペット全体を超高速度前進運動させることで、精子不動化・透明帯開孔・卵細胞質膜の破膜を半自動的に行うものである。これらの操作を手動ではなく半自動的に行えることから、術者間の技術が均一化され、また、卵子の状態のバラつきに左右されない安定した受精成績および胚発育を得られることが報告されている<sup>1-5)</sup>。

Piezo-ICSI を正しく、安定して行うためにはセッティング、特に、ICSI ピペットのインジェクションホルダへの装着が鍵となる。スクリューキャップタイプのインジェクションホルダはセッティングでバラつきが出やすいため、Piezo-ICSI の操作が不安定になりやすいこと、セッティングに時間が掛かることが大きな課題であった。これに対して、グリップヘッドタイプのインジェクションホルダはセッティングが標準化されていることから、Piezo-ICSI の操作が安定し、セッティングに掛かる時間が短縮することが期待される。当クリニックにて、スクリューキャップタイプとグリップヘッドタイプ 2 種類のインジェクションホルダの ICSI ピペットのインジェクションホルダへの装着時間を比較した結果、スクリューキャップタイプは  $69.9 \pm 4.4$  秒であったのに対し、グリップヘッドタイプは  $40.3 \pm 3.5$  秒となり、ICSI 針のインジェクションホルダへの装着時間はグリップタイプがスクリューキャップタイプに比べて有意に短くなった (Mean  $\pm$  SD;  $P < 0.0001$ ) (未発表データ)。

卵細胞質内への精子注入方法は ICSI 後の受精成績・胚発育へ大きく影響すると考えられる。Piezo-ICSI において頭部注入と尾部注入の受精成績および胚発育を比較した結果、両群の間に有意差は認められなかったものの、受精率は頭部注入に比べて尾部注入が 4% 高く、3 日目良好胚率も頭部注入に比べて尾部注入が 2% 高かったことから、この比較試験以降、全例、尾部注入を行ってきた<sup>6)</sup>。しかし、尾部注入は精子注入時に卵細胞質内への注入液量が多くなるのが欠点であり、細胞分裂時に多くのフラグメンテーションを吐き出す症例に関しては、精子注入時の卵細胞質内への注入液量が少ない頭部注入が良い発育を期待出来るのではとの考えから、数は少ないものの、同一患者さんの卵子を無作為に 2 群に分け、頭部注入と尾部注入の受精成績および胚発育を比較した。その結果、受精率は変わらないものの胚盤胞率、良好胚盤胞率共に頭部注入が尾部注入に比べて高い傾向を示した(未発表データ)。以上の結果を受けて、全例、精子注入向きを尾部注入から頭部注入に切り替えた。しかし、一見同じように見える頭部注入には様々なバリエーションがあ

り、良かれと思って実施していた手技が、実際は受精率を下げる事態を招いた事例が何例も見られたことから頭部注入法の見直しを行った。

本講演ではグリップタイプのインジェクションホルダへの ICSI ピペットの装着方法、また、Piezo-ICSI における精子注入法の見直しの経緯を提示し、現時点における当クリニックの Piezo-ICSI の最新版を紹介する。

#### 引用文献

- 1) Yanagida K, Katayose H, Yazawa H, Kimura Y, Konnai K, Sato A. The usefulness of a piezo-micromanipulator in intracytoplasmic sperm injection in humans. *Hum Reprod.* 1999 Feb;14(2):448-53. doi: 10.1093/humrep/14.2.448.
- 2) Takeuchi S, Minoura H, Shibahara T, Shen X, Futamura N, Toyoda N. Comparison of piezo-assisted micromanipulation with conventional micromanipulation for intracytoplasmic sperm injection into human oocytes. *Gynecol Obstet Invest.* 2001;52(3):158-62. doi: 10.1159/000052965.
- 3) Hiraoka K, Kitamura S. Clinical efficiency of Piezo-ICSI using micropipettes with a wall thickness of 0.625  $\mu$  m. *J Assist Reprod Genet.* 2015 Dec;32(12):1827-33. doi: 10.1007/s10815-015-0597-9.
- 4) Furuhashi K, Saeki Y, Enatsu N, Iwasaki T, Ito K, Mizusawa Y, Matsumoto Y, Kokeyuchi S, Shiotani M. Piezo-assisted ICSI improves fertilization and blastocyst development rates compared with conventional ICSI in women aged more than 35 years. *Reprod Med Biol.* 2019 Aug 24;18(4):357-361. doi: 10.1002/rmb2.12290.
- 5) Fujii Y, Endo Y, Mitsuhashi S, Hayashi M, Motoyama H. *Reprod Med Biol.* Evaluation of the effect of piezo-intracytoplasmic sperm injection on the laboratory, clinical, and neonatal outcomes/ 2020 Mar 18;19(2):198-205. doi: 10.1002/rmb2.12324.
- 6) Hiraoka K, Kitamura S, Otsuka Y, Kawai K, Harada T, Ishikawa T. Effects of sperm direction in Piezo-ICSI on oocyte survival, fertilization, embryo development and implantation ability in humans: A preliminary study. *J Obstet Gynaecol Res.* 2018 Oct;44(10):1963-1969. doi: 10.1111/jog.13727.

---

#### - 略歴 -

- 1998 年 広島県立大学大学院修士課程卒業
- 2007 年 生物生産学博士号取得
- 2000 年 絹谷産婦人科クリニック 培養室長
- 2010 年 荻窪病院 虹クリニック 培養室長
- 2014 年 亀田総合病院 ART センター 副センター長(兼務)
- 2015 年 東京医科歯科大学非常勤講師(兼務)
- 2016 年 亀田 IVF クリニック幕張 培養室室長(兼務)
- 2019 年 亀田医療技術専門学校非常勤講師(兼務)

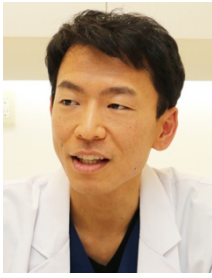
#### - 資格等 -

生殖補助医療管理胚培養士

- 受賞歴 -

- 2010年 Laser Therapy 優秀論文賞
- 2012年 日本臨床エンブリオロジスト学会フェリング・ファーマ賞
- 2014年 日本卵子学会 学術奨励賞
- 2015年 生殖バイオロジー東京シンポジウム 優秀演題賞
- 2018年 米国不妊学会 (ASRM) ビデオ賞

## 動画で解説 1 「私の Piezo-ICSI」



私が Piezo-ICSI 時に注意していること

古橋 孝祐

英ウィメンズクリニック

胚培養士が習得すべき技術のなかで、顕微授精手技は最も高度な技術の一つであることは議論の余地の無いことであり、手技の巧拙によって受精卵の数が減ることもあれば、増えることもあるため、その技術は非常に重要である。当院では安定した高い受精率かつ、低い変性率を達成できる手技を習得できるよう教育プログラムを構築している。2000 年の開院以来、当院において顕微授精操作は、Conventional ICSI を第一選択としてきたが、1995 年に Yanagimachi らによってマウスにおける Piezo-ICSI の有用性が報告され、1998 年には、Yanagida らによって Piezo-ICSI の有用性がヒトにおいても報告された。それらの報告を受け当院でも Piezo-ICSI の有用性を検討した結果、42 歳以上の患者において Piezo-ICSI で培養成績の向上を認めた。これ以降、当院では老化した卵子において Piezo-ICSI がより有効であろうと考えている。

Piezo-ICSI を実施する際に私が注意していることは、安定した穿刺が可能となるベストなセッティングを毎回再現することであると考える。これは基本的なことのように感じるが、臨床の場で毎回確実に再現することは簡単ではないと感じる手技者もいるだろうと推測している。我々は過去に Piezo-ICSI を導入したが受精率及び胚盤胞発生率の向上が認められず、Conventional ICSI を第一選択に戻したという経緯がある。この原因として、当ラボでは Conventional ICSI を迅速に行う技術を習得することを第一の目標としていたため、Piezo-ICSI を実施する際に必要とされる精緻なセッティングに違和感を覚える者もあり、その結果、施行者間に技術のバラツキが生じ、成績に負の影響があったと考察した。その後、技術のバラツキがないようにするため、手技者は熟練技術者一人に固定し Piezo-ICSI の有用性を再検討した結果、35 歳以上症例において、有意な培養成績の向上を認めた。また、更なる成績向上を目指すために PiezoXpert<sup>®</sup> (Eppendorf 社)を導入した。この Piezo 機器は、時間のかかるセッティングが短時間で可能となり、また先に述べたセッティングの再現性が高く、スタッフの技術の標準化がより可能となった。これらの改善を行い、2019 年より 40 歳以上症例の顕微授精は Piezo-ICSI を行うという治療方針に変更した結果、前年(2018 年)と比較し有意な培養成績の向上が確認出来た。このように Piezo-ICSI といってもその技術が未熟であれば、良好な成績は期待出来ないが、安定した Piezo-ICSI 技術を確立さえすれば、胚発育の向上が期待出来ることが示唆された。本講演では私が Piezo-ICSI 時に注意していることについて言及していきたい。

- 略歴 -

- 2005 年 3 月 北里大学獣医畜産学部卒業(現:北里大学獣医学部)  
4 月 英ウィメンズクリニック 入職  
2011 年 4 月 英ウィメンズクリニック 培養部門 主任  
2016 年 4 月 英ウィメンズクリニック 培養部門 部長  
2019 年 4 月 英ウィメンズクリニック 培養部門 統括部長

日本卵子学会認定胚培養士、日本臨床エンブリオロジスト学会認定臨床エンブリオロジスト、日本不妊カウンセリング学会認定体外受精コーディネーター、医療福祉検定協会認定医療環境管理士、医療福祉検定協会認定医療福祉環境アドバイザー、第一種衛生管理者

## 動画で解説 2 「私の Biopsy」



### 広島 HART クリニック ART Labo における TE-biopsy の実際

後藤 優介

広島 HART クリニック

IVF ラボ遺伝子診断部門主任

現在、日本産科婦人科学会による PGT-A の臨床研究が行われており、ART Labo の業務における Biopsy 技術の重要性は高まってきている。近年は企業や学会主催による Biopsy の講習が頻繁に行われており、Biopsy 技術の習得の機会は増えてきているが、胚盤胞の Biopsy (TE-Biopsy) は透明帯開口のタイミングやカットの方法に複数の手法があり、現時点で絶対的なものは決まっておらず、どの手法を選択するかはそれぞれのラボの方針や状況により異なっている。当院では初期のころは Day3 で透明帯を開口し、Day5,6 に開口部から Hatching してきた細胞を Biopsy していた。しかしながら、Day3 に透明帯を開口する場合、培養している全ての胚を開口しなければならず、インキュベーター外での操作時間が長くなってしまふ。また、胚盤胞発達の過程で ICM から Hatching してくる場合も多く、この場合は Biopsy が難しくなってしまうという問題がでてきた。そこで透明帯の開口をコンパクション形成後の胚のみに行うことにした。そうすることで不必要な透明帯開口を減らし、インキュベーター外に培養 dish を出す時間を軽減することができた。しかしながら ICM からの Hatching という問題点は解決できなかった。また胚盤胞発達前に透明帯開口を行う一番の問題点は胚全体の細胞が少ない状態で Hatching を始めてしまい、Biopsy がその後の胚の生存性に影響を与えてしまう可能性があるという点である。これらの問題点を解決するために現在当院で行っている TE-Biopsy の手法は、①胚盤胞まで透明帯の開口はせず、胞胚腔が拡張し細胞が十分増加した拡大胚盤胞に達した時点で Laser Artificial Shrinkage (LAS) により胞胚腔を収縮させる。②LAS による胞胚腔の収縮を確認後、ICM の位置を確認しながら ICM から離れた位置の透明帯を開口し、TE を Biopsy する。という手法を選択している。この手法であれば ICM の位置を確認しながら Biopsy をする場所のコントロールができ、細胞が十分に増えてから Biopsy の施行が可能のため、胚に対する Biopsy の影響をより軽減できると考えている。

TE-Biopsy を施行するにあたって、胚の発達速度や LAS の反応の状態はいつも最適の状態とは限らず、状況に応じた臨機応変な判断が求められる。特に適切なタイミングで TE-Biopsy を施行するためには胚盤胞発達の過程を注意深く観察する必要があり、Time Lapse Monitoring (TLC) での培養、観察は必要不可欠である。また、現在の Labo 業務において TE-Biopsy ほど侵襲的な操作は存在しない。その為、安易に全ての胚に Biopsy を施行するのではなく、どのタイミングで Biopsy を施行するのか？ Low Grade の胚にも Biopsy を施行するのか？ Biopsy をせずに凍結するのか？ など患者様の背景等も考慮した上で Biopsy 施行の決定をしていかなければならない。このように TE-Biopsy を他の Labo 業務と並行しな

がら行っていく為には、Labo 全体のワークフローをしっかりと考え、構築していくことが重要である。

本講演では当院で行っている TE-Biopsy について実践的に解説したい。

---

- 略歴 -

- 2006 年 3 月 東京農業大学短期大学部生物生産技術学科卒業
- 2009 年 3 月 帝京大学理工学部バイオサイエンス学科卒業
- 2009 年 4 月 医療法人社団 英ウイメンズクリニック入職
- 2016 年 9 月 医療法人ハート 広島 HART クリニック入職(現在に至る)

## 動画で解説 2 「私の Biopsy」

### Laser & Pulling 法



水田 真平

リプロダクションクリニック大阪・東京

1990 年に X 連鎖性遺伝性疾患に対して臨床実用が始まった受精卵遺伝子検査は、近年では受精卵染色体スクリーニング(PGT-A)に応用され、ART におけるオプションの一つとなっている。PGT の需要は国や地域によって大きく異なるが、米国では 2016 年に約 27%(43,653 周期)の採卵周期で PGT が実施された。日本では、PGT 実施認定された施設のみで、対象症例を限定した臨床研究として実施されており、需要は増加傾向である。そのため近年では、Trophectoderm (TE) Biopsy をテーマにした技術講習会も数多く開催され、エンブリオロジストとして身につけておくべき技術の一つとなっている。本ワークショップでは、TE Biopsy による胚への負の影響を低減するための TE biopsy 技術、特に当院で行なっている Laser & Pulling 法について、実際の手技を供覧しながら注意点やトラブルシューティングも含めてお話ししたい。

PGT が実施された当初は Day 3 の割球を 1 個採取し、FISH にて解析を行っていたが、PGT-A の需要増加とともに方法が改良され、現在では胚盤胞の TE を採取し、NGS で解析するのが主流となっている。Biopsy の方法は最近になっていくつかの方法を比較した報告がなされているが、未だデータは少なく、同じ方法であっても施設によって細部が異なるため単純な比較は困難である。例えば今回紹介する Laser & Pulling 法についても、透明帯の開口法、Biopsy 実施タイミング、Laser の照射回数や照射箇所などが異なる。当院の方法は、透明帯の開口は Day 3 に、囲卵腔が比較的広い箇所に  $\phi 10\mu\text{m}$  で行なっている。タイムラプスインキュベーターで培養し、Day 5 以降に十分に細胞数が増え、開口部から Herniation している胚から Biopsy を行う。Biopsy 時は、内径  $25\mu\text{m}$  のピペットを取り付け、TE を少しだけ吸引し、引き伸ばしながら、出力 500ms (約  $\phi 9\mu\text{m}$ ) で、可能な限り細胞の間隙に Laser を 1 回照射し、引き伸ばし、再度 Laser を繰り返して徐々に TE を胚から剥がす。この際、採取細胞はダメージのない 5 細胞前後を目標としている。TE 分離後は、速やかに胚を培養液に戻す。その後、TE を 1% PVA で洗浄し、PBS (-) を加えた PCR tube 中に入れる。フラッシュ遠心で tube 底に落とした後、フタが開かない程度にパラフィルムを巻いて  $-20^{\circ}\text{C}$  で保管する。冷凍庫への保管が完了し次第、胚は再拡張を待たずに凍結を行う。

TE Biopsy では少なからず細胞を傷害することになるため、技術の習得には鍛錬が必要であり、その習熟度により胚への影響が出るであろうことを常に意識すべきである。また、Biopsy 時の胚盤胞は非常に個性に溢れ、行なう度に異なる変化を見せる。どのような状況にも対応できるように、様々な方法、トラブルシューティングを身に付けておく必要があると同時に、焦らず、パニックにならないことも非常に大切である。

- 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)分子遺伝学  
専攻修了  
4 月 英ウィメンズクリニック 採用
- 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  
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 開設担当部長 採用  
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  
リプロダクションクリニック東京 培養部 部長 兼任
- 2019 年 4 月 兵庫医科大学大学院 医科学専攻 産科学婦人科学教室(博士課程)  
現在に至る