

Ⅱ. クリニカルカンファランス—これだけは知っておきたい

1. 不妊治療の最前線—多胎妊娠を予防するために

1) 胚盤胞移植

東邦大学医学部
産科婦人科学第1講座講師
安部 裕司

座長：山梨医科大学教授
星 和彦

1978年ヒト体外受精8細胞期胚を子宮内に移植し挙児が得られて以来、媒精後2～3日目(D2/3)の2～8細胞期胚を子宮内へ移植することが一般的となってきた。このような早期移植の理由として体外培養胚の発育遅延による子宮内膜環境との位相差を最小限にし、体外環境に対する暴露時間を短縮することが挙げられる。しかし通常この時期の胚は卵管内に存在しこのような早期移植は非生理的状态といわざるを得ない。したがって妊娠率を上昇するためには多数の胚を移植することとなるが、そのため多胎妊娠が増加し、その周産期管理や減数手術などによる患者の精神的、肉体的重圧が問題となっている。これら多胎妊娠を予防するには移植胚数を制限することである。生理的な着床環境に viable な胚を選別し移植すれば妊娠率を低下させずに移植胚数を制限することが可能となる。これらを解決する目的で、近年培養液の改良とともに胚盤胞移植が広く行われるようになってきた。胚盤胞移植における利点は、生理的に子宮腔内に存在する胚盤胞を子宮腔内に移植することにより胚のステージと子宮内環境を一致させることができ、また培養時間延長のため胚の淘汰による良好胚の選別が可能な点である。しかしその反面、一卵性双胎の発生や培養時間延長による胚への影響、laboratory work の負担などが懸念されている。これらに対する基礎および臨床データを呈示し、さらに単一胚移植の可能性について検討を加えた。

D2/3移植胚数と多胎率(表1)

当院における1997年から2001年の移植胚数と多胎率を表1に示した。なお1998年以降移植胚数は3個までとし、さらに1999年以降は原則2個までと制限している。2個胚移植においては多胎率15.3%、3個胚移植では多胎率23.2%と3個胚移植で有意に高い多胎率であった。さらに品胎以上の発生率は3個胚移植で3.2%であったのに対し2個胚移植以下では認められていない。

良好胚移植数と多胎率(表2)

Veck 分類で G2以上の良好胚の移植胚数と多胎率を表2に示した。良好胚を2個移植

Blastocyst Transfer

Yuji ABE

The 1st Department of Obstetrics & Gynecology, School of Medicine, Toho University, Tokyo

Key words : ART · Blastocyst transfer · Embryo transfer · SCE ·

Multiple pregnancy

(表 1) D2/3 移植胚数と多胎率

97～01 東邦大学

移植胚数	移植周期数	妊娠周期数	単胎	双胎	品胎
1	56	4 (7.1)	4	0	0
2	318	117 (36.8)	78 (66.7)	18 (15.3)	0
3	150	63 (42.0)	38 (60.3)	13 (20.6)	2 (3.2)
4	8	3 (37.5)	2	1	0

(表 2) D2/3 のグレーディングと多胎妊娠

≥ G2	移植周期数	妊娠周期数	単胎	双胎	品胎
2	132	62 (47.0)	40 (64.5)	10 (16.1)	0
1	104	34 (32.7)	21 (61.8)	6 (17.6)	0
0	86	24 (27.9)	19 (79.2)	3 (12.5)	0

東邦大学

した場合の妊娠率は47.0%であった。また多胎率は16.1%，1個移植17.6%，0個移植12.5%と有意差は認められなかった。

以上のことより多胎妊娠予防のためには品胎防止であれば2個胚移植で充分対応でき得ると考えられるが単胎希望であれば、より着床率の高い胚盤胞移植が必要となってくる。

胚盤胞移植

近年ヒト胚盤胞移植が行われるようになり、8細胞期以前と以降の胚に対する栄養源などを考慮された Sequential medium が開発され臨床応用されるようになってきた。Early cleavage medium に共通する特徴は低グルコース (0.5M) 濃度、低浸透圧 (260mOsm) であり、Late cleavage medium は高グルコース濃度である。Schini and Bavinster¹⁾ はハムスター2細胞期胚の初期発生に対しグルコース添加はその発生率を低下させると報告している。しかし、8細胞期以降の後期発生においてはグルコース添加が重要となってくる。われわれはマウスの体外受精4細胞期胚を用い Early cleavage medium の中でグルコースを含まない Cook cleavage を用い培養実験を行ったところ胚盤胞への発育は認められなかった (0/23)。しかしコントロールとして Late cleavage medium である Cook Blastocyst を用いたところ57.1% (12/21) の胚が胚盤胞へ発生した。以上のことより胚の各ステージにおける至適環境を供給する Sequential medium は良好胚盤胞を得るために重要な要因となりえる。

現在各施設において5% O₂または20% O₂のが採用されている。酸素毒性を考え5% O₂が推奨されつつあるが、混合ガス使用のためそのランニングコストなどの点よりその有効性が検討されている。Dumoulin et al. (1999)²⁾によると D2/3ET においては5%、20% O₂において両群間に受精率、妊娠率、着床率に有意差は認められていないが、D5ET における胚盤胞形成率、胚盤胞細胞数、25細胞以上を有する胚盤胞率は5% O₂が高率であると報告している。

以上のことより良好胚盤胞を得るためには Sequential medium を使用し、5% O₂気相下で培養することが推奨される。他に培養液の開発や、オイル使用の有無さらには培養シャーレに複数胚同時培養を行うなどさまざまな工夫がなされ報告されている。

(表3) 胚盤胞のグレーディングと妊娠

97～01 東邦大学

≥ 3AA	移植周期数	妊娠周期数	胚移植数	胎嚢数	胎児数
2	26	16 ^{ab} (61.5)	53	24 ^{cd} (45.3)	22 ^{ef} (41.5)
1	38	12 ^a (31.6)	55	12 ^c (21.8)	7 ^e (12.7)
0	23	6 ^b (26.1)	36	6 ^d (16.7)	4 ^f (11.1)

a, b: $p < 0.05$ c, d, e, f: $p < 0.01$

胚盤胞のグレーディング

現在胚盤胞のステージを6段階にさらにICMおよびTrophectodermの形態を3段階に分類したGardnerの分類³⁾が一般的に用いられている。Gardner et al.によると移植胚が3AAすなわち胞胚腔が胚全体に及びICMが多数の細胞より形成され密集しTrophectodermも多数の細胞からなりその結合が密である胚盤胞を移植するとその妊娠率は高率となることを報告し、3AA以上を良好胚盤胞としている。

胚盤胞のグレーディングと妊娠率 (表3)

胚盤胞移植における良好胚盤胞の数と妊娠率を表3に示した。2個の良好胚盤胞を移植できた群では周期あたりの妊娠率は61.5%、着床率45.3%、胎児形成率41.5%と1個、0個移植群に比べ有意に高率であった。

胚盤胞のグレーディングと多胎妊娠

Gardnerの胚盤胞におけるグレーディングで3AA以上の良好胚を2個移植した場合の多胎率は50%と1個移植(8.3%)、0個移植(16.7%)と比較し高率であり、さらに一卵性双胎と考えられる品胎を認めた。以上のことより良好胚盤胞の着床率は45.3%と高率であり多胎予防を目的とした単一胚移植の可能性が示唆された。

胚盤胞移植の問題点

1) 体外受精-体外培養の胚への影響 (表4)

体外受精-体外培養の胚への影響を検討するためにマウス胚を用い環境変異原物質を鋭敏に感知する姉妹染色分体交換(SCE)を指標に体内受精胚と比較した。体外受精-体外培養胚でSCE数が上昇しており、胚に対し何らかの影響がある可能性が示唆された⁴⁾。

2) 胚盤胞移植と一卵性双胎

胚盤胞移植において一卵性双胎発生頻度の上昇が報告されている。当院においても超音波診断であるが、移植周期あたり2.3%(2/84)、妊娠周期あたり5.9%(2/34)の一卵性双胎の発生を認めている。

(表4) 培養時間とSCE

体外受精-体外発育	No. of cells counted	SCEs/cell $m \pm S.D.$
桑実胚	16	8.8 $\pm$ 6.4
胚盤胞	26	6.3 $\pm$ 2.2
体内受精-体内発育	No. of cells counted	SCEs/cell $m \pm S.D.$
桑実胚	25	4.7 $\pm$ 2.3
胚盤胞	46	4.1 $\pm$ 1.9

(表5) D2/3の胚形態と胚盤胞形成率(D5)

Veeck 分類	培養胚数	胚盤胞発育数 (%)	3AA 以上の胚盤胞数 (%)
G1	18	10 ^{a,b,c} (55.6)	7 ^{d,e} (38.9)
G2	19	4 ^a (21.1)	3 (15.8)
G3	47	13 ^b (27.7)	4 ^d (8.5)
G4	48	8 ^c (16.7)	3 ^e (6.3)

a, b, d: $p < 0.05$ c, e: $p < 0.01$ 東邦大学

移植胚選別を目的とした胚盤法移植 (表5)

G1における胚盤胞形成率は55.6%と G2, 3, 4における胚盤胞形成率と比し有意差を認めた。また3AA 以上の良好胚盤胞形成率は38.9%であり G3, 4群と比し有意差を認めた。しかしながら, D2/3時に G4と判定された胚より16.7%の胚が胚盤胞へ発育し, さらに3AA 以上の良好胚盤胞に6.3%発育していた。以上のことより通常胚盤法移植を行う場合 D2/3時点で良好胚が複数個存在することを条件としている施設が多くみられるが, われわれは D2/3時に良好胚が認められない場合, 移植胚を選択する目的でわれわれはインフォームドコンセントの後胚盤胞移植を行っている⁵⁾。

まとめ

品胎予防には D2/3 2個胚移植で対応可能であるが, 単胎希望においてはより着床率の高い胚盤胞単一胚移植の臨床応用が推奨される。しかし, 胚盤胞移植は培養期間が長期に亘るため今まで以上厳格な培養条件の Quality control が必要となり, またヒト早期胚に対する培養環境の至適性が確立されていない現在において胚盤胞移植は症例を選択し慎重に行うべきと思われる。

《参考文献》

1. Schini S, Bavinster BD. Two-cell block to development of cultured hamster embryos is caused by phosphate and glucose. Biol Reprod 1988 ; 38 1183—1192
2. Dumoulin JCM, Meijers CJJ, Bras M, et al. Effect of oxygen concentration on human in-vitro fertilization and embryo cultured. Hum Reprod 1999 ; 15 : 465—469
3. Gardner DK, Phil D, Lane M, et al. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome : towards a single balastocyst transfer. Fertil Steril 2000 ; 73 1155—1158
4. 安部裕司. マウス体外受精卵の移植成績に及ぼす環境因子と子宮内膜相関の検討. 日産婦誌 1988 ; 40 : 821—827
5. 安部裕司, 中野由起子, 渋井幸裕, 他. ヒト桑実期/胞胚期移植の臨床的検討. 日不妊会誌 2000 ; 45 : 37—41