

液体窒素非接触ガラス化法により凍結保存したヒト胚の発生能について

水野里志、大垣 彩、宮地志織、春木 篤、福田愛作、森本義晴

【目的】胚の凍結保存は、現在の生殖補助医療に欠かすことのできない技術の一つである。しかし、国内に広く普及している胚のガラス化凍結法は、胚を密封することなく液体窒素に投入する為、液体窒素内での細菌やウイルス感染の可能性を完全には排除できない。今回我々は、液体窒素の冷気で間接的に胚を冷却することで全く液体窒素に触れることなく凍結保存できる Rapid-i 法が、臨床に用いることができるのか検討したので報告する。【方法】検討 1：患者が廃棄処分を希望しその後の研究に同意の得られた前核期胚あるいは 3 日目の分割期胚を一度融解し、無作為に Cryotop 法 (C 法) あるいは Rapid-i 法 (R 法) に割り当て再凍結した。その後それぞれの方法で融解し、融解後の生存率と Day 5, 6 での胚盤胞到達率を比較した。検討 2：C 法あるいは R 法で凍結した胚盤胞の融解後の生存率および胚移植後の妊娠率を比較した。なお、2つの検討では両法ともに北里バイオファルマ社製の Vitorification 用凍結・融解試薬を使用した。【結果】検討 1：前核期胚を融解した場合の生存率、5 及び 6 日目での胚盤胞到達率はそれぞれ C 法:100%(35/35), 17.1%(6/35), 25.7%(9/35), R 法:100%(43/43), 14.0%(6/43), 25.6%(11/43) で有意な差は認められなかった。分割期胚の場合はそれぞれ C 法:100%(18/18), 27.0%(5/18), 55.6%(10/18), R 法:100%(18/18), 50.0%(9/18), 66.7%(12/18) で有意な差は認められなかった。検討 2：生存率及び妊娠率はそれぞれ、C 法:96.9%(94/97), 55.8%(48/86), R 法:94.1%(16/17), 43.8%(7/16) で有意な差は認められなかった。【結論】今回の検討から、Rapid-i 法による凍結融解した胚は、凍結時期に関わらず従来の方法と比べて同等の発育能力を融解後にも保持していることが示された。このため、液体窒素に胚が接触することなく胚の凍結保存ができる Rapid-i 法は、液体窒素内での細菌やウイルス感染を予防できる有効な方法と考えられる。