

## 着床前診断における細胞採取を目的とした透明帯開口時期及び細胞採取法の検討

大垣 彩

IVF 大阪クリニック

目的: 染色体構造異常に起因する習慣流産に対する着床前診断(PGD)が臨床応用され、FISH 法(Fluorescence In Situ Hybridization)だけでなく CGH 法 (Comparative Genomic Hybridization) も日本産科婦人科学会で承認されるようになった。胚のモザイクの影響を受けにくいことから、CGH 法では胚盤胞で細胞採取を実施することが一般的である。しかし、胚盤胞が収縮から回復せず細胞採取に至らないことや、移植周期に融解した胚が生存していないことを経験した。そこで、胚に与える影響を少なく細胞採取を実施することを目的とし、透明帯開口時期及び細胞採取法を検討した。

方法: ①形態良好な 3 日目胚の透明帯を ZILOS-tk (HAMILTON 社)で開口し 5 日目で胚盤胞に到達した胚と、5 日目の胚盤胞で透明帯を開口した胚の孵化率を比較し、透明帯開口時期を検討した。②胚盤胞の孵化部分を、アスピレーションピペットで吸引しレーザー照射する方法(A 法)、吸引しアスピレーションピペットの先端部にレーザーを数回照射後、照射部分をホールディングピペットにこすりつける方法 (B 法)、Bio-Cut Blade (フェザー社)を用いて切断する方法 (C 法) で細胞採取を実施し、細胞採取成功率、細胞採取後の凍結融解生存率含めた利用可能胚率を比較した。なお、本検討には患者の同意が得られた廃棄希望凍結胚を使用した。

結果: ①胚盤胞で開口した胚の孵化率は 88.9%(40/45)であった。翌日に 1 個の胚で孵化を確認したものの、4 個の胚は孵化に至らなかった。3 日目で開口した胚の胚盤胞到達率は 80.0%(52/65)で、その孵化率は 100%(52/52)で有意に高かった。②細胞採取成功率は A 法 95.5%(21/22)、B 法 100.0%(23/23)、C 法 95.5%(21/22)で、利用可能胚率は A 法 86.4%(19/22)、B 法 100.0% (23/23)、C 法 90.9%(20/22)で、B 法が A 法に比べて高い傾向にあった。

考察: 3 日目に透明帯を開口することで、胚盤胞に到達した全ての胚で孵化が確認できた。ICM から孵化する胚も見られたが、その割合は 1.9%と低く細胞採取も可能であった。胚盤胞で開口した場合、胚細胞が収縮を起こし複数回の観察が必要になることや、拡張せず細胞採取に至らないこともあり、透明帯開口は 3 日目に実施することが望ましいと考えた。細胞採取法においては細胞採取成功率に差は認めなかったものの、レーザー照射のみで細胞採取を実施した場合の凍結融解後の生存率が低いことから、レーザー照射後にホールディングピペットにこすりつける方法が、実際の PGD で有効であると考えた。しかし、孵化部分が小さい場合にはアスピレーションピペットでの吸引と同時に胚細胞の収縮が起き、細胞採取ができないこともあり、十分な孵化を確認して実施することが必要である。