

ワークショップテーマ『単一培養液と逐次培養液～私の施設ではこうしている』

当クリニックにおける培養液の選択方法

医療法人三慧会 IVF なんばクリニック

清野 頼十

1978 年に世界で初めて体外受精児が得られた。その際、使用されたのは体細胞培養用の複雑な組成の培養液であった。その後、マウス初期胚培養液、ヒト卵管組成をベースにした培養液が使用された。そして卵管内と子宮内のグルコースとピルビン酸濃度が異なるというコンセプトから sequential culture medium (逐次培養液) が開発され、ヒト胚を胚盤胞まで培養することが臨床レベルで可能となった。さらに、1 個胚移植が可能となり、生殖医療の抱える多胎妊娠を解決する道が開けた。また、哺乳類初期胚研究のパイオニアである Biggers 先生がマウスで開発した KSOMaa をベースにした single step medium (単一培養液) がヒト生殖医療に採用された。逐次培養液は胚の発育における栄養要求性に合わせて培養液組成を分割期と胚盤胞期で変化させる培養液であり、単一培養液は胚が必要とする栄養素は胚自らが選択して取り込むという考えで開発され、分割期から胚盤胞期まで同じ組成で培養する培養液である。全く反対のコンセプトで開発された培養液であるが、現在までのところ臨床成績において優劣をつけることはできない。

培養液を管理するという点から考えると、逐次培養液は分割期胚用と胚盤胞期胚用の 2 種類の培養液を用意する必要が生じる。一方、単一培養液は 1 種類の培養液で済むことから、管理において単一培養液に軍配があがる。また、逐次培養液は培養液を必ず交換しなければならない。そのため、胚に対して培養液組成の違いによるストレスやインキュベータ外での操作によるハンドリングストレスといった影響を与えることになる。異論はあるが、単一培養液は培養 3 日目の交換も基本的には不要とされているため、培養液の交換によって生じる様々なストレスを抑えることができる。交換をせずに長期間培養すると胚のアミノ酸代謝やアミノ酸の崩壊によって生じるアンモニアの発生が危惧されるが、現在市販されている培養液は安定なジペプチドが使用されているか、発生したアンモニアを除去するような工夫がなされており、アンモニア蓄積のリスクは抑制されている。さらに、インキュベータ内顕微鏡による連続形態変化記録を行う場合、交換の必要のない単一培養液は利便性に優れている。

当クリニックでは培養液の品質管理やリスクマネジメントの観点より受精卵の培養液は常に 2 種類以上用意している。採卵数が 8 個以上の場合、受精卵を 2 群に分けてスプリット培養を行い、万一、一方の培養液に問題が生じた場合でもすべての受精卵に影響を及ぼさないようにしている。また、培養成績データを蓄積し、週間、月間および培養液の製造番号毎でデータ集計を行い、培養成績の低下を迅速に検出し、低下が継続する場合には培養液を変更する。

本ワークショップでは当クリニックの数年間における胚培養実績に基づいた各種培養液による培養成績を報告するとともに培養液選択方法について紹介する。