

## 着床前診断を目的とした割球採取及び胚凍結時期の検討

大垣 彩

医療法人三慧会 IVF 大阪クリニック

目的：当院では平成18年2月より均衡型染色体構造異常に起因する習慣流産症例の着床前診断（PGD）を実施しており現在までに43周期15症例を経験した。PGDでは形態良好な3日目胚から1割球を採取し診断を実施、割球採取後の胚は胚盤胞まで培養して凍結、次周期以降に融解胚移植を実施するのが一般的である。しかしながらPGDで正常もしくは均衡型構造異常を示す胚であっても、胚盤胞まで発育せず胚移植に至らない症例を少なからず経験する。そこで、今回我々は均衡型染色体構造異常の患者において、正常もしくは均衡型と診断した胚をより高率で移植する目的で、割球採取の時期及び胚凍結の時期を再検討した。

対象：患者の同意が得られた廃棄希望凍結胚のうち形態良好な2日目胚128個（A群）、3日目胚96個（B群）、5日目胚50個（C群）を対象とした。

### 方法：

- ① 割球採取を実施しその成功率を比較した。
- ② 割球採取が成功した胚をA群は更に3群に分類して培養し2日目・3日目・5日目それぞれのステージで移植可能胚のみ凍結、B群は2群に分類し3日目又は5日目まで培養し凍結、C群は割球採取が成功した胚をすべて5日目で凍結した。それぞれの胚が融解後に、凍結時と同等のグレードである率（完全回復率）を比較した。

### 結果：

- ① 割球採取成功率は、A群は100% (128/128)、B群は100% (96/96)、C群は96% (48/50)で、C群で有意に低くなった。
- ② A群で割球採取が成功した128個のうち42個を2日目で、43個を3日目まで培養し移植可能胚37個を、43個を5日目まで培養し胚盤胞19個の凍結し、融解後の完全回復率はそれぞれ95.2% (40/42)、86.5% (32/37)、100% (19/19)であり3日目凍結で低い傾向にあった。B群の96個のうち48個を3日目で、48個を5日目まで培養し胚盤胞22個の凍結融解後の完全回復率はそれぞれ100% (48/48)、95.5% (21/22)で差は認めなかった。C群の凍結融解後の完全回復率は89.6% (43/48)であった。

考察：2日目胚で割球採取を実施した場合、割球採取成功率は高いものの、凍結融解後の完全回復率が2日目および3日目凍結で低くなった。2日目胚は割球の

サイズが大きいため割球採取に伴う透明帯の開口部が大きくなり、その開口部から割球が飛び出すことが原因であると考えられた。

3日目胚での割球採取は成功率も高く凍結融解の完全回復率も高率であった。また、胚盤胞まで培養した場合の胚盤胞到達率は48.8% (22/48)であった。

5日目で割球採取を実施した場合は、割球採取成功率だけでなく凍結融解後の完全回復率も低かった。胚盤胞は細胞間接着が強固であるため、割球採取は分割期胚よりも成功率が低くなったと考えられる。以上のことより FISH 法での PGD において正常もしくは均衡型構造異常を示した胚を、より高率に移植するためには割球採取および胚凍結は3日目胚で実施することが望ましいと思われた。しかしながら、PGDにおいてアレイ CGH 法などの導入が可能となれば、胚盤胞での細胞採取が診断精度の上昇に有効と考えられ、今後は胚盤胞における細胞採取について技術も含めて検討していきたい。