

非侵襲的な着床前診断(ni-PGT)の有効性の検討

中野達也¹、内堀翔¹、佐藤学¹、中岡義晴¹、森本義晴²

¹医療法人三慧会 IVF なんばクリニック

²医療法人三慧会 HORAC グランフロント大阪クリニック

目的: 近年、培養液(SCM)や胞胚腔(BF)中に存在する cell-free DNA (cfDNA)を用いた非侵襲的な PGT が検討されている。そこで、本研究では安定した NGS 解析ができる cfDNA 量を調べるため、BF 及び SCM の cfDNA 濃度を測定した。また、cfDNA と同一の胚から得た TE および BL の DNA を比較することで一致性を評価した。

方法: 患者同意を得た廃棄凍結 BL(30 個)を融解し、30μl の培養液ドロップで 24 時間培養した。BF は ICSI 針で胞胚腔より吸引し 10μl の滅菌水に溶解し、SCM は全量を PCR tube に回収した。その後、透明帯を開口し拡張した BL より TE 生検を行い、生検後の BL は透明帯を除去し染色体解析に供した。検討 1 では回収した BF と SCM の cfDNA 濃度を Real-Time qPCR を用いて測定した。検討 2 では回収した SCM、TE、BL を NGS にて染色体解析を行った。

結果: 【検討 1】BF と SCM に含まれる平均 cfDNA 総量は 7.9 ± 2.9 pg と 132.2 ± 18.0 pg で、SCM で有意に高かった。【検討 2】SCM 及び TE の BL との一致率を比較した結果、SCM で 66.7%、TE で 100.0%と TE で有意に高かった。そのうち、性染色体と異数性の BL との一致率に差はなかった(SCM: 95.2%と 90.9%、TE: 100.0%と 100.0%)。一方で、正倍数性の胚盤胞との一致率は SCM で 40.0%、TE で 100.0%と有意に高く、不一致のすべてがモザイクであった。

考察: 本検討により SCM には十分な cfDNA が存在したが、BF からは 1 細胞と同程度の cfDNA 量しか回収できず、正確な染色体解析の実施は難しいと考えられた。また、正倍数性胚における SCM の一致率は 40.0%と低率であり、不一致のすべてが低頻度モザイクであった。そのため、SCM には一部異数性の細胞やアポトーシス細胞由来等の cfDNA が存在し、検査精度に影響することが示唆された。