

巻頭言

私たちが携わる生殖医療の場では、医師（産婦人科・泌尿器科）、看護師、胚培養士、カウンセラー（遺伝・心理）などの複数の職種の方々が、拳児を切望するクライアントに対する最高水準のチーム医療の提供を目標とし、これまで実践してきました。その際には各施設におけるマニュアルだけでなく、各個人が培ってきた経験にも基づき、また時にはガイドラインやマニュアルを参考とし、適切な生殖医療が提供されているものと推察されます。

以前私は、日進月歩の生殖医療に永年従事されてきた先人の医師たちが、さまざまな工夫と努力の末にたどり着き習得されたスキルを後進に惜しみなく伝授する目的で、『不妊症・不育症診療 その伝承とエビデンス』という書籍を、同じ中外医学社から2019年11月に出版致しました。幸いなことに、将来の生殖医療をリードする若手世代ばかりでなく、中堅～ベテラン世代の先生方からも、今まで気がつかなかった斬新な手法や考え方も学ぶことができたこと、非常に好評を博してきました。

そこで本テキストでは類似の発想に基づき、読者の対象を主に培養業務に携わる胚培養士の方々として、全国の経験豊富な胚培養士の皆様、あるいは培養室業務に造詣が深い基礎系の先生方や生殖医療担当医に、「ラボテクニクの伝承」として秘伝の技につき御執筆いただきました。これからを担う若手の胚培養士の皆様は、ご所属先で先輩方から丁寧な指導を受ける機会はおありでしょうし、それだけでも日常業務においては十分すぎるかとは思いますが、本書では日頃講演を担当されるような大先輩方も含むエキスパートから、秘技を学ぶチャンスとしてご活用いただけることを確信しています。

なお総論編では、「生殖補助医療（ART）の必須知識」を整理する目的で、各領域でご活躍されている国内外における第一人者の先生方にご執筆を賜りました。これらの情報を活用していただき、日頃の業務だけでなく、職種間のカンファレンスなどの議論の場でもお役にいただけましたら、望外の喜びです。

本書の刊行にあたり、ご多忙な中ご執筆頂いた先生方に衷心より感謝を申し上げます。また本書の企画以来、中外医学社の皆様方からは献身的なご協力、ご指導をいただきましたことに、深く感謝を申し上げます。

令和4年1月

兵庫医科大学医学部産科婦人科学講座主任教授
兵庫医科大学病院生殖医療センター長

柴原浩章

① ART 総論

1

女性不妊症と ART

女性の平均初婚年齢の上昇により、従来からの三大不妊原因（排卵因子・卵管因子・男性因子）に加え、卵子の老化に伴う「年齢因子」による不妊症が占める割合は年々増加している。このような晩婚化による不妊症の増加は、これまで社会的にはあまり認識されてこなかった。

一方でわが国は社会的にも経済的にも、安心して産み・育てる環境はいまだ十分には整備されているとはいえない。しかも晩婚化にもかかわらず、カップルの妊活の開始はけっして早いとはいえない由々しき現況もある。そこでこのような現状を鑑み、最近不妊症の定義は、努力しても1年以上にわたり子どもを授かることができないカップルと、従来からの定義より1年短縮された。このような問題点は先進国では共通であり、WHOでも同様に不妊症の定義を1年と見直している。

現時点ではこれにもまして、体外受精・胚移植法（*in vitro* fertilization-embryo transfer: IVF-ET）や卵細胞質内精子注入法（intracytoplasmic sperm injection: ICSI）をはじめとする生殖補助医療（assisted reproductive technology: ART）は自費診療であることから、クライアントの経済的負担が大きいことが問題となっている。平成19（2007）年から特定不妊治療費助成制度が導入されたものの、所得制限・年齢制限などを課して一部のカップルだけを支援してきた不平等な制度は、ようやく2021年に入り見直され、加えて2022年度からはできるかぎり保険でカバーする方向で検討が進み、深刻な少子化とそれによる人口激減問題が可及的速やかに解決する一助となることが期待されている。

1 不妊症診療の基本

不妊症の診療において、来院したカップルに対して原因も突き止めることなく、いきなり不妊治療を開始するのではなく、まず原因を診断するため一連の検査を行い、診断に基づく治療の提案を原則とする。したがってARTの適応は、それ以外に妊娠できる方法がないと判断されたカップルに限定されている。

ただし女性は35歳を超えるころから一気に妊孕能が低下する¹⁾。20～24歳の女性の

ART 総論

5

生殖補助医療胚培養士の役割と現状

1 概要

1983年に、本邦初の体外受精児の誕生が東北大学の鈴木雅洲らより報告されて以降、不妊症治療への生殖補助医療（ART）の導入が加速し、日本産科婦人科学会の見解に基づくART登録施設数は、2005年には600超となった。並行しART治療周期数は飛躍的に増加し続け、2018年には年間45万周期を超え、本邦は世界有数のART大国となっている^{1~3)}。ARTによる不妊症治療の普及を後押しした社会的背景には、男女雇用均等法（1986年）や男女共同参画社会基本法（1999年）の施行、女性雇用者数の増加、晩婚化と晩産化の進行による潜在的需要の高まりなど本邦特有の事象との関わりが指摘されている。ART治療周期数の増加に伴い、臨床現場では産婦人科医以外にも、生殖細胞（主に卵子、精子）や受精卵/胚を体外で適切に取り扱える医療技術者のニーズが高まり、専任業務として胚培養士が定着していった。ARTに対する社会的受容が浸透する過程で、治療成績に影響を及ぼす生殖細胞や受精卵/胚を扱う医療技術者の質の保証と社会的立場の担保の必要性が高まり、2000年代初期に学会認定資格として「生殖補助医療胚培養士」が創設された。本稿では、胚培養士の役割と現状、認定資格制度について述べる。

2 胚培養士の主な役割

胚培養士の主な役割は、責任医師の監督指導の下で、採取された生殖細胞（主に卵子、精子）や受精卵/胚に、適切な操作や培養を施したのち、患者への移植が可能な状態にして、医師に受け渡すことである。培養士の実務年数や技術力、ART登録施設の治療周期数や専門性などにより各施設でカスタマイズされているが、おおむね以下の1)~5)の項目があげられる。

1) 専任技術

- ① 採取された生殖細胞または受精卵/胚の回収・洗浄、質・グレードの評価。
- ② 媒精〔体外受精（IVF）、卵細胞質内精子注入法（ICSI）〕。

① 精子検査と精子調整法

4

精子調整法

1 概要

精液は、精子と精漿によって構成されている。腔内に射精された精子は、子宮頸管から子宮内を通過して受精の場である卵管膨大部に達するまでに、どのような選別のシステムが働いているのかを想像すると興味深い。精子調整は、自然の選別システムとはまったく異なる人工的な方法で良好精子を選別することになるが、精漿と採取時または尿路感染症などから混入した細菌などを取り除き、受精能を有するであろう良好精子（運動性かつ形態的にも良好）を選別することが目的である。主な精子調整法について解説する。

2 精子調整法

精液検査の結果および治療方針によって精子選別法を選択している（表1¹⁾。また、調整方法の簡便化・単純化を考慮した独自の考えを反映させたものであり、参考としていただきたい。

表1 精子調整法の選択基準

・ IVF or Split 媒精の指示があるとき
良好運動精子数 28×10^6 /全精液 < : DGC+swim-up→IVF or split 施行
良好運動精子数 $10 \sim 28 \times 10^6$ /全精液 : DGC+swim-up→IVF or split 施行, ICSI に変更
良好運動精子数 10×10^6 /全精液 > : DGC→ICSI に変更
・ ICSI の指示があるとき（良好運動精子数に関係なく）: DGC→ICSI 施行
・ 凍結精子を使用（凍結前のデータに関係なく）: DGC→ICSI 施行
・ 高度乏精子症（TESE, MESA 含む）: DGC（クッション法）→ICSI 施行
※ DGC: density gradient centrifugation 密度勾配遠心法
※ 良好運動精子: WHO マニュアル第 6 版準拠 直線速度 $25 \mu\text{m}/\text{sec}$ 以上, 37°C ²⁾
目視検査の場合、おおよそだが速度が速く直進性がある精子

3 IVM 採卵

10 mm 程度の小卵卵より採取を行う IVM 採卵では、IVF 採卵よりも低い吸引圧で回収している。一定の圧で吸引が可能なことや、採取するチューブの保温が可能なことから、当院では吸引器を用いて採卵を行っている。ラウンドチューブに採取された卵胞液は、温度低下を防ぐために、パスボックス内で保温しておいたヒートブロックに入れ、検卵に用いている。

採取された卵胞液がある程度溜まったら、70 μm のセルストレーナー (Falcon) の底側から卵胞液を通す。細胞成分が多く、セルストレーナーに卵胞液が詰まりやすくなった場合、新しいセルストレーナーを用いる。卵胞液を通し終えたら、洗浄用の培養液を流し、血液成分を除去する (図1)。35 mm ディッシュなどに HEPES 培養液を入れておき、セルストレーナーの底面を浸けて上下に振るようにして、細胞を培養液中に浮遊させる。卵子がセルストレーナーに付着している可能性もあるため、別のディッシュに少量の培養液を入れ、セルストレーナーを浸漬しておく。

IVM 検卵では、IVF 検卵と異なり、卵丘細胞が密に付着した卵丘卵子複合体 (cumulus-oocyte complex: COC) が回収されるため、卵子が識別しにくく、検卵には時間と経験を要する。COC サイズに合わせて回収できるよう 150~500 μm 程度のピペットを数種類用意しておき、いったん HEPES 培養液に卵子を回収する。卵子がある程度回収したら、平衡化済みの IVM 培養液が入ったディッシュに卵子を移し、洗浄後 100 μL のドロップ内に最大 5 個程度の卵子を入れ、6% CO_2 、5% O_2 、37°C にて 24 時間 IVM 培養を開始する。

卵子は、卵丘細胞が複数層付着しているものだけではなく、未発育もしくは採卵での吸引により裸化卵子に近いものもあり (図2)、卵丘細胞の付着程度によって成熟率や発生率が異なる。hCG 投与などにより卵丘細胞が膨化した卵子が採取される場合もあり、倒立顕微鏡下にて、可能な範囲で GV 核を確認してから成熟培養を行うよう

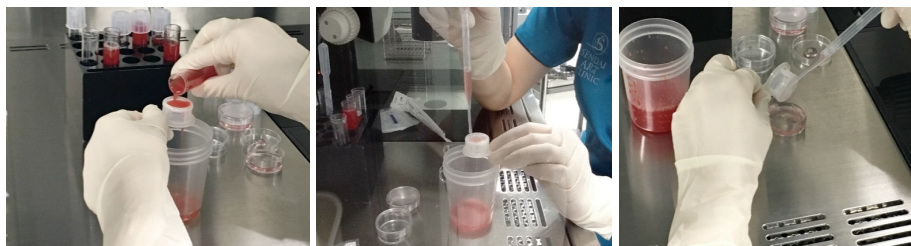


図1 セルストレーナーを用いた検卵の様子

3

凍結受精卵・配偶子の管理方法 ——重量計を用いた液体窒素残量確認や、 バーコードを用いた保管管理

1 概要

平成30年度の日本産科婦人科学会報告では、生殖補助医療における出生児56,617人のうち約85%が凍結融解胚移植である¹⁾。がん治療後の妊孕性温存を目的とした配偶子の凍結も増加している。受精卵，配偶子の凍結保存には凍結保存容器が使用されているが，その重要性にかかわらず，容器の管理方法や保存検体の管理は各施設において手探りの状態である。凍結容器の破損事故では，2018年にアメリカで2件の事故が報告されており，オハイオ州の事故では4,000個の凍結卵子や受精卵が全滅したと報道された。日本国内においても液体窒素の枯渇事故が報告されている²⁾。患者の意思に反し，誤廃棄してしまったという事故の報道も散見される。当院（セント・ルカ産婦人科）での凍結容器の管理方法と，バーコードを用いた検体および同意書の管理方法を紹介する。

2 凍結保存容器の管理

凍結保存容器は，以前から広く使用されている10～40Lの移動が可能な凍結容器と，近年では容器自体の移動が不可能な超大型凍結タンクも使用されるようになった。大型タンクでは液体窒素の自動供給が可能であるものもあり，日常業務を行ううえでのメリットも大きい³⁾が，非常時の検体の移動先の確保やメンテナンス時には検体の移動が必要なことから，当院では主に40Lサイズの保冷機能のみの従来型の凍結容器を



図1 ロードセル（重量計）に設置した凍結容器

床の四角い枠の1つ1つがロードセルである。