

ICSI時卵膜伸展不良でも穿刺方法で変性率は減らせる

○今井 和美、奥 裕嗣、紺谷 渚、北川 晴香、篠原 三佳
貴志 瑞季、岡本 裕子、金森 真希、山口 晶子、田中 舞弥

医療法人紀映会 レディースクリニック北浜



目的 ICSI時穿刺の際、卵細胞質膜の伸展を認めない胚(以下伸展不良胚)の場合、回復が得られず変性を起こす可能性が高くなる。当院のICSIによる変性率5.6%の内訳を示した(図1)。膜伸展レベルをA-Dに分類した結果、伸展不良胚で有意に高率で変性を起こした。またICSI時形態的な異常所見が認められた場合に卵膜の状態に影響はあるのかを示した(表2)。変性率の差はなく、卵膜の状態とは関係はないと考えられ形態的な所見での予測は困難であった。そこで今回、伸展不良胚の変性率を減らすべく、穿刺方法の工夫により減らせるか検討するため、膜の伸展は穿刺場所により異なるのか、従来と異なる穿刺方法を試みたので報告する。

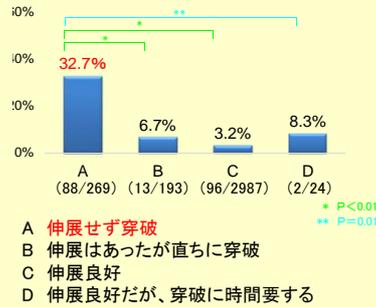
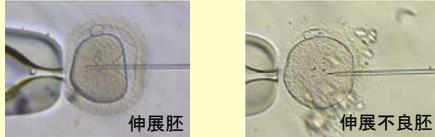


表2 ICSI時認めた形態所見毎の変性率

形態所見	%
Zona	5.6 (5/89)
Vacuole	6.4 (3/34)
Mem.	9.3 (4/43)
Size	0.0 (0/3)
PVS	7.1 (8/113)
SERC	8.5 (7/82)
Granular	7.4 (20/271)
Cell	4.8 (3/62)
Oval	7.0 (8/115)

図1 卵膜伸展レベルによる変性率

対象と方法 ICSI時期を第1期(2015年8月~2016年8月)と第2期(2016年9月~2017年5月)とし伸展不良胚に対する穿刺方法を第2期より変更した。第1期の従来法では伸展不良胚(n=269)であった場合、その時点で精子注入を行い(従来法)、第2期(n=54)では新法として吸引をかけずneedle抜去し、反対方向から再穿刺を試みた(新法)(図3)。膜伸展部位が得られるまで再穿刺2回を限度に行ったが、今回の検討は再穿刺を1回までの卵子を対象とした。採卵後3時間前培養を行い、80IU/mlヒアルロニダーゼで裸化後、直ちにICSI実施した。精子の調整は密度勾配法で得た精子をSwim-up法により回収を行いPVPを用いたICSIを施行した。ICSI方法は穿刺後、卵膜吸引し穿刺する方法で行った。受精確認は19~20時間後に受精確認を行い、2前核確認された胚を正常受精とした。ICSI needleは両時期ともに術者によりMicrotech社4.5μmとCOOK社4.7μmの2種類異なるものを使用した。両時期の伸展不良胚における正常受精率、変性率、異常受精率、D2良好胚率、D5胚盤胞率およびD5良好胚盤胞率について検討した。また新法での凍結融解胚移植の臨床妊娠率について検討した。D2良好胚はVeek分類のG2以上、良好胚盤胞についてはGardner分類により3BB以上と定義した。第2期の凍結胚盤胞移植による臨床的妊娠については胎嚢の確認を持ってすると定義した。検定はχ²乗検定で行った。

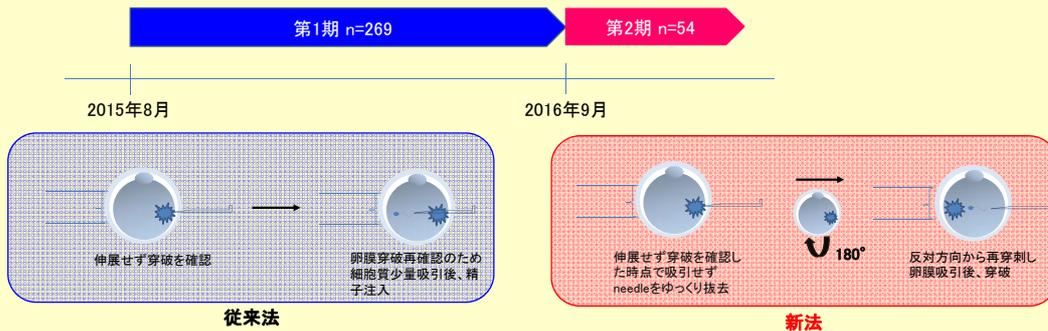


図3 検討時期と伸展不良胚の穿刺方法

結果 1期と第2期の膜伸展不良胚の正常受精率は49.8%(69/269)、72.2%(39/54)、変性率は32.7%(88/269)、14.8%(8/54)と有意差を認め、正常受精数の増加を認め、変性卵数が減少し改善された(図4)。異常受精率は7.4%(20/269)、7.4%(4/54)で同等であった。さらにD2良好胚率は39.3%(48/122)、35.9%(14/39)、D5胚盤胞率は51.3%(39/76)、57.7%(15/26)、胚盤胞あたりのD5良好胚盤胞率は69.2%(27/39)、60.0%(9/15)と有意差を認めず、再穿刺による発育の影響は認めなかった(図5)。第2期の伸展不良胚にて正常受精が得られ、凍結胚盤胞移植を実施した症例は3例で、3例ともに陽性であった。全症例 on goingである(表6)。

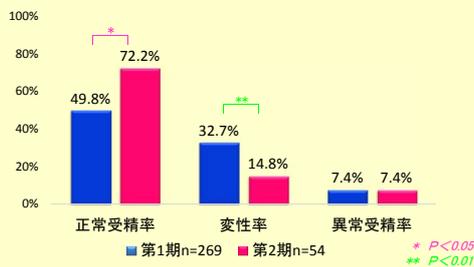


図4 第1期2期の受精成績

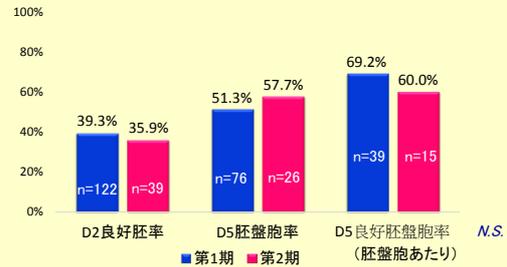


図5 第1期2期の培養成績

表6 第2期新法での凍結融解胚移植の成績

年齢	ART回数	OPU数	ICSI数	伸展不良胚数	伸展不良胚正常受精数	伸展不良胚BL grade	移植stage	妊娠有無	予後
39	1	5	5	2	2	BL5AA (D5),com(D6)	BL5AA	陽性	on going
34	1	3	2	1	1	BL4BA (D5)	BL4BA(AH)	陽性	on going
27	1	15	13	2	2	BL5AB (D5),BL4BB(D5)	BLSAB	陽性	on going

考察 膜の伸展は場所により異なる可能性が示唆されたことにより、穿刺した際、伸展が得られなかった場合は卵細胞質の吸引を行わず、速やかに抜去することが重要であると考えられた。変性を誘発する要因として卵細胞質が流動し、弱い細胞膜が損傷し、回復が困難になると考えられた。また変性率が低下し受精卵の増加を認め、発育に影響はなかったことから、本法は有用性があると考えられた。新法により得られた胚盤胞を移植後、妊娠を得ることができた。現在全例 on goingである。受精卵獲得において本法は有用であると考えられた。また、本法検討時伸展不良時に吸引をせずneedle抜去する際、インジェクション操作により細胞質が僅かながら流動し再穿刺するも、伸展不良部分からの細胞膜損傷が認められた卵子が存在した。よって、伸展不良を瞬時に判断すること及び、以降のインジェクション操作を正確に行うことは本法を行う上で必要不可欠である。