

| 胚を高濃度ヒアルロン酸含有培地で培養することで胚の発育が向上する



Noah ART Clinic
武蔵小杉

川島 健一 先生

【略歴】

2015 年 東洋大学大学院 生命科学研究科修了
2015 年 医療法人社団永遠幸 新橋夢クリニック 勤務
2016 年 医療法人社団 オリブ会
オリブレディースクリニック 麻布十番
(現 麻布モンテアルクリニック) 勤務
2018 年 医療法人社団 隆聖会 Noah ART Clinic
武蔵小杉 培養室主任
現在に至る。

【資格等】

日本卵子学会認定 生殖補助医療胚培養士

【所属学会等】

日本卵子学会、日本受精着床学会
日本生殖医学会、日本 IVF 学会
ASPIRE (アジア太平洋生殖医学会)

■ はじめに

ヒアルロン酸 (hyaluronic acid: HA) はグルクロン酸と N-アセチルグルコサミンから構成される二糖類です。HA はヒアルロニダーゼ (hyaluronidase: HYAL) や紫外線によって分解されることで様々な分子量の HA が産生され、分子量の違いによって機能にバリエーションが生じることが報告されています※ 1。

現在、HA は生殖医療において胚移植時の着床改善や ICSI の精子選択における成熟精子の選択を目的として用いられています。一方で、HA には CD44 などのレセプターを介して MAPK や PI3K-Akt 経路の活性化※ 2 や抗酸化※ 3、浸透圧調節を行う※ 4 などの機能もあり、機能や種類の多さから未だ不明な点が多いです。

当院で使用している平均分子量 180 万の HA を高濃度 (0.5mg/mL) 含む培養液 HiGROW OVIT Plus HA (OHA) は主に胚移植用として用いられていますが胚培養用としても使用されています。しかしながら、培養成績に関する報告は多くありません。

自施設での先行研究で、今回の検討に用いたヒアルロン酸を含有している胚培養液 A (以下 A) と全くヒアルロン酸が含まれていない HiGROW OVIT Plus の検討を行っていますが、その結果では A を用いて胚培養を行った群において培養成績の向上が認められました。

そこで、本研究では平均分子量 180 万の HA を高濃度 (0.5mg/mL) 含む OHA を胚培養に用いた場合、胚の発育に対してどのような影響があるかを明らかにするため解析を行いました。

■ 対象と方法

2025 年 3 月から 2025 年 7 月の期間に採卵を行い、タイムラプスにて培養を行った受精卵 1,194 個を対象としました。A と OHA の 2 種類を用い、c-IVF および ICSI 後に平均妻年齢は 34.9 歳の同一患者で同一周期に得られた受精卵を A 群と OHA 群に半分ずつランダムに振り分け、培養液毎の 2PN 率、胚盤胞率 (Gardner 分類 3BC 以上)、良好胚盤胞率 (Gardner 分類 3BB 以上)、胚盤胞の平均 iDA score の平均値を解析しました。

ICSI 及び c-IVF で媒精後 Day0 にて正常受精卵を各培養液に移し替え、無加湿、CO₂ 6%、O₂ 5%、N₂ 89%、37℃ の条件で胚盤胞培養しました。なお、1 つの培養液量は 180 μL で最小 1 個、最大 8 個の胚をタイムラプス専用ディッシュで共培養しました。また、被覆するオイルはヘビータイプのオイルを用いて 1.6mL 被覆しました。

受精方法別比較の際の ICSI での年齢層別の解析の比較には Fisher の正確確率検定を用い、それ以外の比較には χ² 検定を用いて有意差の判定を行い p<.05 を有意差ありとみなしました。

■ 結果

A 群と OHA 群で比較解析したところ、全背景では 2PN 率は 64.4%(369/573) vs 59.7%(371/621)、胚盤胞率は 49.1%(181/369) vs 62.5%(232/371) で OHA 群が有意に高く (p<.001)、良好胚盤胞率は 65.2%(118/181) vs 72.4%(168/232) と OHA が高い傾向がありました (p=.15) (図 1)。また、胚盤胞の平均 iDA score は 5.3 vs 5.3 で群間での差はありませんでした (p=.87) (図 5)。

受精方法別に比較解析したところ、c-IVF 群では 2PN 率は 60.3%(276/458) vs 54.9%(267/486)、胚盤胞率は 53.3%(147/276) vs 65.9%(176/267) で OHA 群が有意に高く (p=.0035)、良好胚盤胞率は 68.0%(100/147) vs 69.9%(123/176) と OHA が高い傾向がありました (p=.81) (図 2)。また、胚盤胞の平均 iDA score は 5.5 vs 5.3 で群間での差はありませんでした (p=.82) (図 5)。

ICSI 群では 2PN 率は 80.9%(93/115) vs 77.0%(104/135)、胚盤胞率は 36.6%(34/93) vs 53.8%(56/104) で OHA 群が有意に高く (p=.022)、良好胚盤胞率は 52.9%(18/34) vs 80.4%(45/56) と OHA 群が有意に高くなりました (p=.012) (図 3)。また、胚盤胞の平均 iDA score は 4.7 vs 5.7 で OHA 群が有意に高い結果になりました

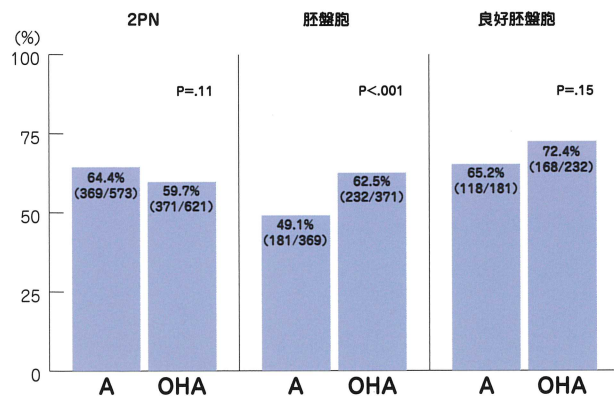


図 1. 全背景の培養結果

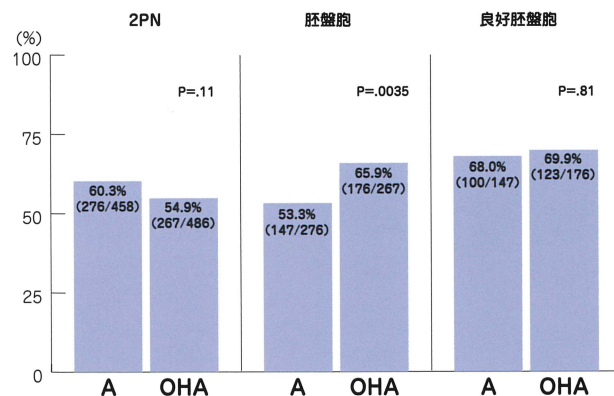


図 2. c-IVF 群の培養結果

た(p=.02) (図5)。ICSI 群の結果を年齢で区切って比較解析したところ、35歳未満では全背景と同様、良好胚盤胞率は OHA 群が有意に高く (p=.0053)、35歳以上群では有意な差は見られませんでした (図4)。

■ 考察

OHA は胚の発育を促進することが示唆されました。

HA は低分子であれば細胞増殖、高分子であれば抗酸化作用や免疫の制御を行うことが示唆されています※1。ウシにおいて HA 添加が胚盤胞率を向上させること※5や、HYAL2 を培養液に添加することで HA から低分子 HA が産生され胚や卵子に作用すること※6が示唆されています。

また、ヒトにおいて HYAL や CD44、HA 合成酵素に関連する遺伝子が胚発生のほとんどの段階で発現していることが報告されています※7。つまり、OHA で培養することで潤沢な高分子 HA と胚自身の HYAL によって分解された低分子 HA が共存する環境になることで胚の発育が向上するのではないかと考えられました。IVF 群では胚盤胞率・良好胚盤胞率の有意な向上が見られず ICSI 群では胚発生率向上が顕著にみられた理由として、ICSI によって生じた透明帯の孔が HA の透明帯通過、及び、細胞修復に影響を与えた可能性が考えられますが、詳細は透明帯に生じた孔や培養後の培養上清の解析が必要となり、今後の検討課題であると考えています。

本研究は1施設で行われ、当院の治療方針より凍結する胚盤胞の基準を Gardner 分類 3BC 以上と定めているため、3BC 以上の胚のデータを反映しています。そのため、Gardner 分類 3BC 未満の胚も含めた培養成績については、今後のさらなる検討の余地があると考えています。

今後は、より背景を特定しどのような背景に寄与するのかについての検討や、妊娠率についての検討などを進めたいと考えています。

参考

- ※1 Zalusko, FT., et al., *Aging Res. Rev.*, 2021
- ※2 R., Zhu, et al., *Placenta*, 2013
- ※3 Hashimoto, K., et al., *Inflamm. Res.*, 2006
- ※4 J., Necas, et al., *Vet. Med.*, 2008
- ※5 J., Block, et al., *Theriogenology*, 2009
- ※6 Marei, WFA., et al., *Mol. Hum. Reprod.*, 2013
- ※7 Ruane, P., et al., *Hum. Reprod. Open*, 2020

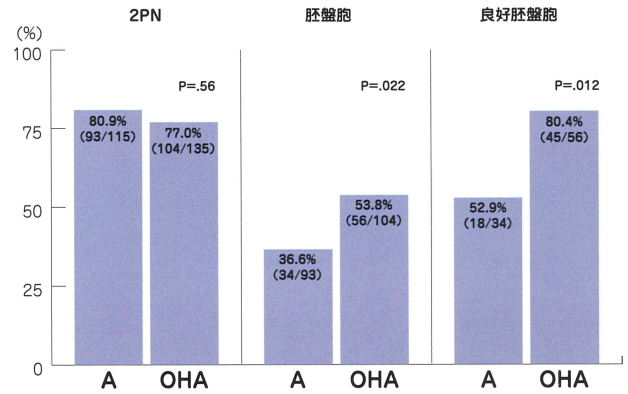


図3. ICSI 群の培養結果

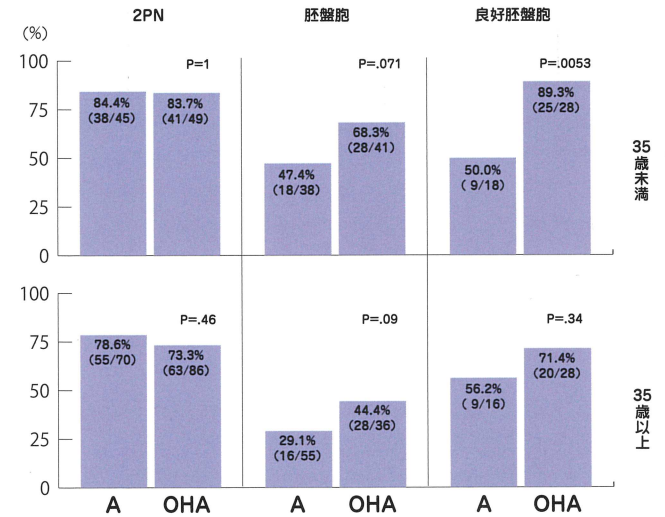


図4. 妻年齢別の ICSI 群の培養結果

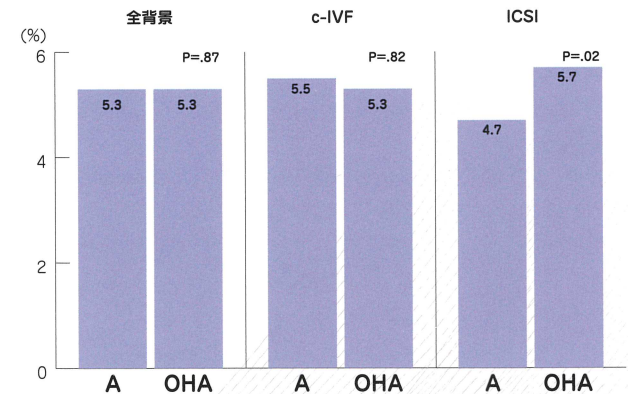


図5. 群ごとの平均 iDA score

HiGROW OVIT Plus HA

胚培養と胚移植にワンステップで使える高濃度ヒアルロン酸含有 (0.5 mg/mL) 培養液



HiGROW OVIT Plus HA

使用目的	胚培養 (前核期～胚盤胞期)、胚移植など
保存方法	2～8℃ (冷蔵)・遮光
包装単位	10mL × 2
使用期限	製造後 180 日



試供品のお申込み



扶桑薬品工業ホームページ

問合せ先
扶桑薬品工業株式会社 機器診断薬・ART 部
E-mail : higrow@fuso-pharm.co.jp
Tel : 06-6969-1131 (平日 9:00～17:30)
Fax : 06-6962-0173