

特集：卵子学会の歩み

生殖医療黎明期における日本卵子学会の役割

The role of JSOR in the initial stage of reproductive medicine in Japan

久保 春海

Harumi Kubo

東邦大学名誉教授 〒143-8540 大田区

Professor Emeritus, Toho University School of Medicine, 5-12-16 Omori-nishi, Ota, Tokyo 143-8540, Japan

はじめに

この度、はからずも日本卵子学会誌編集委員長の笠井剛先生から、「卵子学会の歩み」という特集の企画のために、私に当時の日本哺乳動物卵子学会の黎明期に関する原稿のご依頼があった。著者は日本哺乳動物卵子学会の前身である昭和48年の第14回卵子談話会から加入した。平成9年～13年まで理事長を務め、平成11年には第40回日本哺乳動物卵子学会記念大会を担当させていただいた。そして、平成21年に本学会の名誉会員にご推挙いただき、現役の役職を離れて10年近くが経過しているので、すでに記憶が薄れており、うろ覚えながら昔のことを思い出して本稿を著すこととなった。したがって、記憶違いや間違っただけの記述もあるやとささか不安でありますのでご指摘いただき、また失礼の段はご容赦を賜れば幸いです。

哺乳動物卵子談話会について

私が東邦大学医学部を卒業して林基之教授の産婦人科学教室に入局したのは1966年(昭和41年)であるが、その頃の日本卵子学会の前身は哺乳動物卵子談話会と称しており、日本の卵子研究は未だ始まったばかりだった。1960年(昭和35年)に獣医、畜産の分野の先生方がお互いに意見、技術交換、文献紹介などをしながら卵子研究を推進していこうという意図から始まったと大槻清彦先生が「哺乳動物卵子談話会の歩み」と題して哺乳卵研誌に書いておられる¹⁾。ではいつ頃、医師がこの談話会に参加したのかというと、東邦大学に第3代教授として1959年(昭和34年)に東京大学から赴任された故林基之先生が、当時卵子研究の先駆者であった東大助教授時代の1956年(昭和31年)に日本不妊学会(現日本生殖医学会)発会の端緒を作られて、学会事務所を東邦

大学産婦人科学教室に開設された。学会には産科、婦人科、泌尿器科、畜産系、基礎系の同学の士が相集い、ようやく卵子研究隆昌の兆しが顕著となった。そこで、先程の大槻先生と会われて談話会の話聞いて意気投合されてから、林先生とともに医局の医師等も1961年(昭和36年)の第2回卵子談話会から参加するようになり、林が「哺乳動物における直視下排卵現象の研究」を、また東大からの林門下生で助教授として赴任された故岩城 章が「家兎卵のオートラジオグラフィ」について報告した。第2回から9回までは東邦大学以外の医師の参加はなかったが、第10回からは慶應義塾大学の飯塚塚理八教授、鈴木秋悦助教授らのグループが参加されるようになった。

私が卵子談話会に初めて参加させていただいたのは、入局して7年目の1973年(昭和48年)に蒲田駅ビルホールで開催された第14回からであり、参加者も談話会発足当初の10名足らずから62名になっていた。その当時、わが国では未だヒト卵子の体外受精研究はほとんどなく、主に小動物であるマウス、ラット、家兎を用いた研究が主体であり、世界でもハーバード大学のLock and Menkinが1944年にヒト体外受精卵の作成を初めて報告し、1969年にEdwardsがヒトIVF受精卵の作成を報告したのがわずかにみられるのみだった。わが国でも1962年(昭和37年)に楊文勲らがヒト体外受精に成功したとして第3回談話会に報告していたが、精子受精能獲得の方法が不明であり、また雌雄前核形成をみておらず受精現象の確認が不十分であった。このため、いわゆる処女生殖卵の可能性もあった。そこで、林教授から私に与えられた最初の研究テーマも、教室の先輩であり現帝京大学溝の口病院院長の沖永洋子先生の家兎卵管卵を用いた体外受精研究の後を引き継いで、家兎卵管卵の加齢による体外受精成績への影響についてというものであった。この研究テーマの一部について1973年(昭和48年)には、第14回談話会に共同演者として「射精精液を用いた家兎卵管卵の体外受精」と題して発表した。そして、1974年にブエノスアイレスで開催された第8回世界不妊学会で「Fertilization *in vitro* using rabbit tubal ova in chemically

(受付 2018年11月2日/受理 2018年11月19日)

別刷請求先：〒150-0011 東京都渋谷区東3-15-12

NPO法人 日本不妊予防協会

e-mail: profhkubojp@yahoo.co.jp

defined media]と題して報告し、この研究結果は日不妊会誌(1977年)に原著論文として掲載された。博士号を取得後、生涯研究のテーマとして与えられたのは、教室の主題でもあるヒト体外受精に関するものであり、「ヒト卵子の採卵技術および体外受精環境の確立」という、当時ではこの仕事がかうまくいって不妊治療への臨床応用の道が開かれれば、世界初でありノーベル賞級のテーマであった。しかし、残念ながらこの研究が成就する前に林教授は病に倒れられ、1977年(昭和52年)2月19日にご逝去された。

わが国のヒト卵子研究の始まり

第15回談話会は記念大会として採卵テクニックのシンポジウムが行われ、馬、牛、猿、犬、猫、ラット、マウスまで11種類の哺乳動物の採卵テクニックが紹介された。しかし、ヒト卵子の採卵技術に関する報告はなかった。なぜなら、当時の採卵手段は、卵管閉塞や子宮内膜症などの婦人科疾患に対する開腹手術時に卵巣切片を採取して細切組織から卵子を回収するか、内視鏡診断時に卵巣を18 G注射針付きの注射器で穿刺して卵泡液を吸引し、偶然得られる卵子しかなかった。しかも、そのようにして得られた卵泡液中の卵丘細胞に含まれた未成熟なヒト卵子をみつけることは非常に困難であり、わが国でヒト卵子をみた人もその当時はあまりいなかった。そこで、まず採卵技術の確立を目指して日本の婦人科内視鏡研究の権威である故柴田直秀先生の下で、骨盤腔鏡(クルドスコープ)を用いて採卵する装置ならびにテクニックの開発に取り掛かった。試行錯誤しながら吸引装置や採卵針を自作し、吸引圧の調整や採卵針を改良しながらようやく安定した採卵率を挙げるのに数年を要したが、このような内視鏡技術を用いた採卵テクニックは今までの動物の採卵にはないテクニックであり、ヒトにおいて初めて開発された技術としてさらに発展し、腹腔鏡を用いた採卵方法へと進展していくのである。そして、この方法は1978年に世界最初のIVF児となったルーズ・ブラウンの誕生の際に、英国の産婦人科医で内視鏡専門医であるPatrick Steptoeも腹腔鏡による採卵を行っている。我々もこのテクニックによって採卵し、ヒト卵子に適した培養環境や培養液の研究を始めることになった。すでにこの時代から哺乳類に関する日本の生殖生理学は世界の最先端を行っており、多くの業績を挙げられた優秀な農学、畜産、生物系の先生方がおられた。これらの方々には談話会や不妊学会などで知己を得ており、このためマウス、ハムスター、家兔などの卵子の培養や精子の体外受精能獲得、媒精、体外受精法などの技術習得のために農学や獣医畜産関係の多くの先生方の研究室に直接お伺いして、色々みせていただいたり、お話を聞いたりして大変参考になった。明治大学農学部の故尾川昭三先生には家兔胚の体外培養法を、北里大学の豊田裕先生や福田芳詔先生にはマウス体外受精、日本大学農獣医学部の佐藤嘉兵先生にはハムスター卵子の体外受精法について、そして実中研の横山峯介先生にもマウス精子の受精能獲得について直接ご教授いただいた。これらの多

くの先生方の哺乳類の体外受精、培養法の知識と技術をもとに、ヒト卵子の体外受精のための培養液の開発や受精・培養環境の整備等に着手した。

ヒト卵子の採卵後の成熟培養で卵核胞の崩壊、第1極体放出、媒精後の受精現象すなわち第2極体放出、雌雄前核形成の確認、そして卵分割を観察し、日本で初めてヒト卵子の体外受精に成功して、1976年10月に第21回日本不妊学会総会においてシンポジウム「ヒト卵子の体外受精について」で「受精—比較生物学的アプローチ」と題して報告した。その後、1977年に日不妊会誌に原著論文「ヒト卵胞卵の体外受精」を発表した。この報告は、わが国において最初のヒト卵胞卵を用いた体外受精として認められているが、この報告に対して京都大学農学部の研究者から、受精現象の確認には雌雄前核形成のみでは不十分であり、雄性前核の近傍に受精精子の尾部を確認することが必要であるのご指摘をいただいた。しかし、卵実質内の精子尾部を確認するためには前核期卵を固定包埋して電顕切片を作る必要があり、それ以降の発生を確認することができなくなる。これに対して我々は、ヒト体外受精胚の評価には第1、第2極体の囲卵腔内への放出、雌雄前核形成、正常な発生速度(第2極体放出10–12 h、雌雄前核形成15–18 h、第1分割24–36 h)、割球の平等な均一性が重要であると考えていた。この評価法は日本卵子学会の胚培養士講習会テキストにも記載されており、現在の生殖補助医療(ART)の臨床における初期胚の形態学的評価法と一致している。ヒト体外受精は胚の移植を前提とした研究であり、受精から正常な胚発生の経過を観察することが目的となるので、動物実験と異なり切片を作製して電顕で精子尾部を確認することは胚を破壊することになり、この目的にそぐわないと考える。その後我々は研究を継続して、ヒト卵胞卵の成熟方法や射精精子の*in vitro*での受精能獲得(capacitation)方法について、さらに研究を行った。1979年(昭和54年)に友愛会館で行われた第20回卵子談話会記念大会では、卵子の体外受精と凍結保存の話題を集めて行われ、岩城章が「人卵の体外受精の現状」と題して、これまでの我々の研究成果をもとに特別講演を行った。そしてこの記念大会以降、医学系大学からの出題が多くなり、それに伴って参加者数も130名以上に急増していった。その間、著者はカリフォルニア大学サンフランシスコ校の放射線生物学研究所のPedersen教授の下にポスドクとして留学し、着床に関する研究を1978–1981年まで約3年間行った。この研究成果は、1985年第25回卵子研究会において「マウス誘起着床遅延モデルの胚発生について」というテーマで報告している。

体外受精の臨床応用の始まり

世界初の体外受精—胚移植(IVF-ET)の臨床応用は、英国の産婦人科医で内視鏡専門医であるPatrick Steptoeと生殖生理学者のRobert Edwardsらによる、1978年7月25日のルーズ・ブラウンの誕生によってもたらされた。しかし、わが国では1980年代頃までは社会一般にIVF-ETには反対

の気運が強く、林も敬虔なカトリックのクリスチャンとしてIVF胚の移植には消極的であったので、IVF-ETを臨床に応用する段階には至っていなかった。しかし、1980年(昭和55年)に入ると第21回談話会で慶應義塾大学の鈴木秋悦は「ヒトの体外受精研究と今後の問題について」と題して講演し、わが国のIVF-ETの臨床応用に関する今後の方向性を示した。これを受けて、慶應義塾大学の故飯塚理八教授を初代会長とする日本受精着床学会が1982年(昭和57年)に発足して、この設立をもって本邦のIVF-ETのゴーサインとすると宣言した²⁾。これによってIVF-ETの臨床応用の気運が高まり、1983年に東北大学の故鈴木雅洲教授らの生殖医療グループがIVF-ETによるわが国での出生児第1号の誕生を発表した。それに引き続いて、慶應義塾大学系の東京歯科大学市川病院で大野虎之進教授らが第2号を、徳島大学の森崇英教授らが第3号を、そして我々もそれに続いて都内の大学病院で初めてのIVF-ET児の誕生を報告している。このように、ルイーズ・ブラウンの誕生以来、わが国でも続々とIVF-ETの臨床応用の気運が高まり、大学病院から一般市中病院にも広がりを見せるようになった。1983年の第24回談話会には、名古屋の可世木病院の故可世木辰夫先生がご専門の婦人科内視鏡の技術を生かして「ヒトIVFのための卵採取の経験」と題して第24回談話会に発表された。さらに、米国でIVF専門クリニックを開業している故ポール・片山を招聘してその技術を習得するべく、第1回ポール・片山セミナーを主催され、積極的にIVF-ETを取り入れられて、わが国の一般病院でのIVF-ETによる不妊治療の嚆矢となられた。この会は毎年開催され、第2回は東邦大学産婦人科が主催し、第3回目以降は石川県の加藤レディースクリニックの前身である永遠幸レディースクリニックで加藤修会長によって行われたと記憶している。この会はわが国のIVF専門クリニックの発展に寄与することが大きかった。また、第24回談話会では鈴木秋悦先生の司会で「体外受精」のシンポジウムが開催され、東北大学産婦の星合昊が「体外受精の臨床応用」について、著者が「ヒト精子受精能について」と題してシンポジストとなって討論を行った。星合昊は昭和57年2月より6か月間英国ロンドンのウィンストン教授の下で卵管形成術手技、腹腔鏡手技を習得するとともに、英国のIVF-ETに関する倫理論争の実態や経過を調査して、東北大学でのIVF-ET成功に大きく貢献した³⁾。昭和59年の第25回からは、会の名称を卵子談話会ではなく、哺乳動物卵子研究会とすることが世話人会で決定し、総会で諮られて承認された。理事長制となり初代理事長に日本大学の佐久間勇次教授、副理事長に東邦大学の岩城章が就任した。この会では米国留学から帰国して慶應義塾大学から東海大学産婦に移籍した小林善宗が「ヒト体外受精卵の電子顕微鏡による観察」を、また井上正人が「精子の透明体結合と先体反応」について報告している。彼等はその後も東海大学で多くのIVF-ETの実績を挙げられて卵子研究会や不妊学会に多くの報告をしている。小林氏には米国留学中にもお付き合いいただいたが、若くして夭折されてしまった。井上氏は東海大

学教授から山王病院院長、卵子学会理事長などを歴任され、現在は杉山医院名誉院長をされているが、著者は今も長くお付き合いさせていただいている。特に記憶に残るのは、わが国で未だヒト卵子の顕微授精が行われていなかった頃、この技術を男性因子に応用する必要性を痛感し、井上氏と相談して1998年に第1回顕微授精セミナーを立ち上げた。このセミナーは第4回まで続けられ、これらの実績をもとに日産婦倫理委員会に顕微授精の実施ができるように働きかけ、翌年の1992年には日産婦見解が発表され、男性因子や受精障害の症例に限って顕微授精の臨床応用が可能となった。同じ年にベルギーのPalermoが顕微授精(ICSi)による妊娠出産を初めて報告した。そして1994年に福島県立医科大学の柳田らが日本におけるICSiによる初めての妊娠出産例を報告している。平成元年に開催された第30回卵子研究会からは、理事長は北里大学の豊田裕先生に交代されたが、前理事長の佐久間先生が「卵子研究30年の歩み」と題して研究会の歴史を振り返っておられます。そのなかで卵子の研究は、家畜もヒトも胚移植を共通のテーマとして農学、医学、生物学の研究者により研究会(談話会)を中心に研究が進められた。そして30余年にわたって生命科学のパイオニアとして大きな役割を果たしてきた。その結果、「現在では家畜の胚移植はすべて家畜に応用され、また、ヒトにおいてもIVF-ET、GIFT、microfertilizationなどの手法が開発された。さらにまた家畜およびヒトも胚の凍結保存が可能となった」と述べておられる⁴⁾。そして、この頃からヒトIVF-ETに関する多くの報告が発表されるようになった。柳田らがヒト精子のHyperactivationについて、京都大学の辰巳らがヒト胚凍結保存について、東海大学の小林らが外来ベースIVF-ETについて報告している。さらに卵研誌に掲載された論文を内容別に比較すると最も多かったのは、IVF-ETに関するもので21.6%であり、ついで精子の機能に関するものが15.7%あった。そして、参加者数も昭和60年以降さらに増加し、第30回までに平均参加者数は160-170名前後に達していた⁴⁾。

生殖医療の展開

平成3年の第32回大会より、哺乳動物卵子研究会は哺乳動物卵子学会と名称を変更し、それまでは東京都内の会場で開催していたのを大会長の地元の会場で開催するようになった。その先駆けとなったのが、山形大学廣井教授が上山温泉の月岡ホテルで開催された第33回卵子学会であった。参加者は温泉ホテルで温泉につかり、山形の名物料理を堪能し、和風の会場で喧々諤々討論したのを覚えている。

わが国のIVF児第1号を誕生させた鈴木雅洲は、第28回卵子研究会の特別講演で「国際的な立場からみて、IVFがどの程度進んでいるかということを考慮すると、少なくともヒトに対する臨床としてのIVFの技術開発は終わったものと考えられる⁵⁾」と述べているが、第30回から著者が大会長をさせていただいた第40回までの10年間に世の中は昭和から平成となり、この間に生殖医療の技術も各段に進歩して

いった。まず、採卵方法はIVFが臨床応用された当初は全て内視鏡採卵であったが、1980年代に入ると経腹超音波採卵が23%、内視鏡採卵が77%となり、1980年代後半に経腔超音波プローブが開発されると、経腹超音波採卵から侵襲性が少ない経腔超音波採卵に変化していった。これにより、従来1日入院が必要であったが、外来ベースによるIVF-ETが可能になった。この採卵方法は、我々が開発したクルドスコープによる経腔直視下採卵よりも簡便であり、現在では世界中で経腔超音波断層法による外来採卵が主流になり、わが国のART専門クリニックが発展する基になっている。成熟卵胞からの卵子回収方法も初期は自然周期によるLHサージを確認して24-32時間後に採卵するスケジュールであったが、採卵が休日あるいは深夜になることもあって、次第に調節卵巣刺激法 (controlled ovarian stimulation; COH) が行われるようになってきた。COHに用いられるゴナドトロピン製剤も更年期女性尿から採取されたhMGが変わって遺伝子改変によるrecombinant FSH (recFSH) が用いられるようになって不純物等の異物混入による副作用が減少した。1980年代前半にGnRH analogが開発されると、long法やshort法によってpremature LHサージをコントロールして、任意の日時に採卵する方法が行われるようになり、わが国でも1989年に臼井によってGnRH analogue/pure FSH併用法として日産婦誌に初めて報告された⁶⁾。この方法は、1990年代にGnRH antagonistが開発されるまでCOHの一般的手法として広く用いられてきた。小林らも1990年度のGnRH agonist-hMG-hCG法による採卵で妊娠率が対周期あたり27.7%、hMG-hCG法では0%、cc-hMG-hCG法では6.9%と卵研誌に報告している。胚移植も初期胚(D2-D3胚)2-4細胞期移植が主流であった。その理由として、体外における培養環境や培養液が長期培養に不適であったことや胚-子宮内膜相関における着床の窓(WOI)とのsynchronizeの問題が挙げられる。このため小林らは、培精後13時間の前核期胚を腹腔鏡で卵管膨大部に戻し、卵管内環境で胚を発生させるIVF-ETRを開発して1988年の卵研誌に報告している。その後培養技術の進歩により、初期胚移植からD4胚(桑実期胚)へ、そしてD5胚(胚盤胞期)移植へと次第に進化していった。東邦大学の雀部らは、1991年4月の卵研誌にIVFの余剰胚をインフォームドコンセントを得てHTF培地とHamsF10培地でそれぞれ培養し、胚盤胞への発生率はHTFで14.7%、HamsF10で27.1%、このうちハッチング率は22.2%と報告している。その後、Gardnerらにより連続型胚培養液が開発されると後期胚までの発生率がより向上するようになった。

京都大の辰巳らは、1989年4月の卵研誌に、妊娠率を向上させる最も有効な方法は多くの受精卵を子宮内に戻すことであり、hMG-hCGによるCOHで採卵し、3個迄の胚移植をすることにより妊娠率は目覚ましく向上したが、多胎妊娠も増えたことを報告している。このため多くの胚のなかからどの胚を選択移植するか、また多胚移植による多胎妊娠の問題を解決するにはどうするかが問題となり、これ

が胚凍結保存の導入の背景となったとしている。凍結保存胚による初めての妊娠出産例は1984年にオーストラリアのモナッシュ大学で報告された。同1984年5月に日本産科婦人科学会では「ヒト精子、卵子、胚を取り扱う研究に関する見解」のなかで凍結受精卵を容認するコメントを出している。その後、1989年に東京医大で凍結受精卵による妊娠がわが国で初めて報告された。1985年にRall and Fahyによって簡便な超急速冷凍法(vitrification)が開発され、哺乳動物胚の凍結保存に応用され産仔が得られると緩慢凍結法と比較して簡便で高価な機器が不要であり、胚の生存率が高く信頼性が高いことが立証された。このためヒト胚にも応用され、1996年に山形大学の太田らのvitrificationによる凍結胚による出産例に続いて、2000年には横田、桑山、向田、Choi, D.H.らが相次いでヒト胚盤胞のvitrificationによる凍結保存で出産例を報告している。この胚盤胞培養法の進化とvitrificationによる胚盤胞凍結保存法の開発が、現在最もARTによる妊娠率向上に貢献しているといっても過言ではない。

第40回日本哺乳動物卵子学会について

1999年(平成11年)5月27日から2日間、シェーンバハ砂防会館にて第40回記念大会を著者が大会長として開催させていただいた。生殖医療の未来、21世紀への展望を俯瞰できるような企画にしたいと思いつつ、多くの優れた演者、座長、そして会員、関係者の皆様のご協力により、実り多い内容となり無事に終えられたことを、この場をお借りして感謝申し上げます。

特別講演には国立がん研究センター総長(現名誉総長)で実験発がん研究の第一人者である杉村 隆先生にお願いして、「がん関連遺伝子と癌化—がん研究が発生学より学ぶべきもの—」と題して講演いただいた。杉村先生は東大を卒業後にがん治療の道に進まれましたが、がんの根本的治療には発がんの基礎的研究が必要であることを痛感され、国立がん研究センターに移られた。発生と癌との関連性について先生は、発生は受精から分割を繰り返して増殖、分化し、個体を形成するが、がんは増殖するが分化はしないか、異常な分化をすることが両極端である。癌は遺伝子、epigeneticあるいはアポトーシスの異常によって引き起こされるが、それには外因性、内因性または遺伝性の要因が関与している。発生にもこれらの要因が複雑に絡み合っており、正常、異常の個体が形成される。最近、外因性DNAのtransporterとしてICSIによって精子にDNAをくっつけて注入し、個体や臓器にtransgenesisを起こさせる手段が開発され、発がんや発生分化の研究に役立っている。この方法を用いれば、異常な胚に正常なDNAを注入して治療することが可能である。これは遺伝子治療というよりも遺伝子予防と呼ぶべきであろう。このアイデアは現在の受精卵遺伝子編集の考え方に相通じるものであり、すでに約20年前にこのような方法を考えておられたのかと敬服する次第である。

招請講演Iでは、米国ウイスコンシン州ミルウォーキーでAdvanced Institute of FertilityというART専門クリニック

を開業しているポール片山 & Alyce 夫妻に米国における提供卵子による ART の実情をお話いただいた。まず、ポール片山が講演され提供卵子は 1984 年に初めて米国で実施されたこと、現在 72% のクリニックは提供卵子を行っており、全 ART 周期の 8% は提供卵子によるものであり、特に 35 歳から提供卵子の率は 5% から、45 歳で 35%、50 歳では 62% に上昇するとされている。次に、アリス片山が法律家（弁護士）の立場から、米国では提供卵子は 5 つの州で認められており、カリフォルニア州では法律で egg sharing のみ認められていること、提供卵子には 1 時間 25 ドルで平均 56 時間位の拘束料として、1,400 ドルくらい支払われるのに対して、精子提供の場合は 1 時間 25 ドルだが、拘束時間は 1 時間なので 25 ドルしか支払われないこと、すなわち、提供卵子に対する謝礼ではなく、提供するために拘束された時間に対しての謝礼である。このため、金銭のみを目的として卵子提供をすることはできない。提供者は egg sharing か、18 歳以上で妊孕性のある選ばれた女性、親族、友人などに限られる。そのほか倫理的に問題となる提供者は、被雇用者から雇用者、娘から母親、金銭目的の若年女性などのケースは拒否されること、提供卵子によって生まれた子の母親は提供者か受容者か法律による規制はなく、両者の agreement が重要である。しかし、提供卵子による生殖では法律上の両親が生まれてくる子供に対する義務と責任を負う必要がある。凍結胚の提供は、離婚女性の場合や希望した子供の数だけ出産できた女性がドナーとなる。提供初期胚 (D2/3) では 33% の妊娠率 (ET) であるが、胚盤胞 (D5) では 56% の妊娠率であった。

27 日（第 2 日目）の招請講演 I では、University of California San Francisco (UCSF) の Dr. Meri Firpo がヒト多能性幹細胞 (hPS) の由来と分化について講演し、多能性胚性幹細胞の分化能と 5–10 年後の近未来において hPS の応用性について講演された。hPS の由来はヒト胎児生殖腺由来の始原生殖細胞 (PGS) と胚盤胞由来の内部細胞塊 (ICM) である。hPS の多能性の証明は *in vitro* での血液細胞、心筋細胞、神経細胞等への多分化能の証明と免疫欠損マウスへの移植による奇形種の形成である。このような hPS の作製は将来ヒト初期発生の基礎研究、未知の遺伝子や蛋白の発見、臓器（組織）移植のための組織作製、環境毒性物質試験などに応用されるであろうと述べた。

招請講演 II では、Monash 大学の Henry Sathanathan が ICSI による受精胚の電顕的考察について講演した。ICSI 精子の尾部は中片部下部下で切断され、中片部、中心粒は正常に保たれている。ICSI によって卵細胞質に取り込まれた精子は、卵が GV 期のように未熟であっても先体反応が起き、頭部の膨化、クロマチンの拡散、卵細胞内 SER による雄性核膜の再生が起こる。ICSI による卵子へのダメージとして、卵細胞質が針によって突き刺され、押し込まれること、それにより陥凹や空胞ができること、精子が先体反応を起こさなまま注入されることで先体酵素が細胞質内に取り込まれること、培養液、PVP、ミネラルオイル、パーコール等が

細胞質内に注入されることなどの悪影響が考えられる。遺伝学的リスクとして、染色体異常、特に性染色体異常が受け継がれ子孫に妊孕能の障害が遺伝されることなどが考えられるとした。近年、クラインフェルター症候群や Y 性染色体遺伝子欠失等の症例でも ICSI によって子供を持つことが可能となり、このような心配が現実になってきている。また、ART のなかでも ICSI によって出生した児では、成人すると血管障害や高血圧が多くなるのが統計的に明らかになってきており、ART によって出生した児の長期予後が次第に明らかになるにつれて、様々な副作用がみつかれる可能性もあることを示唆している。シンポジウムは 3 題設定され、シンポジウム I は凍結の up to date と題して、今後のヒト胚の凍結保存の必要性と方法について討論が行われた。1972 年に Whittingham らが最初にマウス胚で成功した緩慢凍結 (slow cooling) 法が動物胚などの凍結保存の主流であるが、設備が高価であり、凍結開始から保存までの時間が 2 時間以上と保存操作にかかる時間が長いことなどが欠点であり、臨床にはなかなか応用する施設が少なく、平成 7 年度では ART 施設の 1/3 以下であり、平成 8 年度になってようやく 101 施設（約 1/3）が凍結保存を行うようになってきた。しかし、凍結胚移植の比率も新鮮胚移植に比較すると 12–13% にすぎなかった。これらの欠点を克服する手段として、1985 年に Rall らのガラス化凍結保存法が開発されてヒト胚にも段々応用されるようになってきた。東大医科学研究所の中尾は、マウス胚を vitrification 法で約 10 万個以上保存し、融解後の生存率は 90–100% であり、移植による妊娠率は 50–60% であった。そして胚盤胞期でも凍結融解後 84.7% の胚が生存しており、産仔率も 60.4% であったと報告した。ヒト胚の slow cooling による凍結融解では、慶應義塾大学の久慈らは融解胚移植あたりの妊娠率は 13.2%、胚当たりの着床率 5.2%、take-home-baby-rate は 10.8% であったと報告している。山形大学の太田は、ヒト胚の vitrification 法による凍結保存を行って 4 例の妊娠、そのうち 1 例が国内で初めての出産に至ったことを報告した。その後、ヒト胚盤胞の vitrification についての討論があったが、ヒト胚盤胞の原形質膜がマウス胚と異なり凍結剤の透過性が悪く浸透が少ないので、現時点ではヒト胚盤胞の vitrification は困難であると結論された。

シンポジウム II は卵の遺伝子診断、宇都宮大学の吉澤はヒト IVF 胚の 3 前核胚は 56% が正常 2 倍体であり、3 倍体は 31%、そのほかはモザイクであったと報告した。また ICSI による不受精卵の染色体検査では、ほとんどが卵子活性化後か前核形成前に発生が停止していることが判明した。慶應義塾大学の土屋は着床前診断に極体診断が有用であるか否か、極体の異数性頻度、極体からの疾患遺伝子診断、すなわち単一細胞からの Nested PCR の診断精度、そして極体を用いた Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) の診断ストラテジーについて考察した。極体の異数性は胚の形態的分類によって異なり、Veck の第 III 分類では 36% と高頻度に認められる。また、極体診断では 1.7% に誤診断が生じ正診

率は98.3%となった。このため割球診断と組み合わせることによって99.9%まで正診率を上げることが可能である。続いて、東邦大学の雀部がART胚の遺伝的加重をPGDで診断が可能かどうかについて報告した。De novoの染色体異常胚のうち比較的遺伝的加重が重くなる倍数性の異常、高度のモザイク、異数体を検索するプローブとして13/16/18/21/22/X/Y/の7つの染色体について検討した。これらの7つのプローブセットを用いて、予備実験として自然流産胎児の染色体解析を行った結果、65%の染色体異常を診断できることが明らかになった。これに基づいて生検割球に対する2-step FISH法を行い、第1段階で13/18/21/X/Y/のプローブを用い、第2段階で16/22/のプローブを用いた。相互転座症例では、切断部位の特定を行い、切断部位付近の既知の塩基配列の検索を行う、ゲノムライブラリーのスクリーニングをしてニクトランスレーションでクローンの標識をして、FISHを行いシグナルと切断部位との位置関係を検討した。この分野の発展は目覚ましく、現在ではFISH法は殆ど用いられず、定量的PCR法、アレイ比較ゲノムハイブリダイゼーション (aCGH) 法、次世代シーケンサーを用いて胚の異数性、倍数性異常を検索している。しかし、ARTでの着床前スクリーニング (PGT-A) の有用性は未だ確定されておらず、全ての不妊症患者に対して胚盤胞生検とPGT-Aを日常的に使用することを推奨するためのエビデンスは不十分である⁷⁾。

シンポジウムⅢは培養条件と胚発生についてであった。このなかでは現代ARTの技術に通じる報告として、加藤レディースクリニックの寺元は胚移植について講演した。胚移植の適応としては、初期胚移植の反復不成功例や着床不全と思われる症例等である。培養液はD3まではP1 + SSS、それ以降胚まではBlst medium + SSSで培養してD5に移植した。妊娠成績としては桑実期胚では0% (0/36)であったが、初期胚では2.9% (1/35)、そして拡張期胚では53.3% (16/30)であった。しかし、胚移植でも10回以上移植した症例には妊娠は認められなかった。胚移植の利点として少数良好胚移植であり多胎予防や外妊予防、胚発育段階と子宮内膜の同期性に関連して胚の凍結保存法の確立と応用などが挙げられるとした。

生殖医療の今後について

生殖医学は、発生・再生に関わる組織や細胞の形態・機能の解明と、それらの異常による生殖機能障害の原因を究明するscience中心の概念であり、細胞遺伝学や生殖生理学などの基礎的、疫学的evidenceに基づいた学問である。一方、生殖医療とは、不妊夫婦の生殖障害の原因を探求し、不妊因子に基づいた最適と考えられる治療手段によって挙児を叶えさせる医療である。しかし、evidenceだけが患者にとって唯一の真実ではない。不妊の病態の理解にはEvidence based medicine (EBM) が適しているが、不妊の悩みや葛藤を理解するにはNarrative based medicine (NBM) が重要であり、EBMとNBMは車の両輪のようにお互いに

補完し合うものであろう。患者が語るストーリーから不妊夫婦の背景を理解して、治療計画や方法選択に役立てることができる。さらに、クリフム臨床胎児医学研究所所長の夫律子先生は、超音波診断、胎児診断の国際的な専門医であり、胎児の超音波学的形態と発する声無き声、すなわちストーリーを聞いて理解することで、その子の将来を予測することができるとしてEBMとNBMを実践している。ARTに携わる者は、医師も胚培養士も生命の起源である胚の形態や発生率などのevidenceだけでなく、培養している胚が出している声無き声のストーリーを顕微鏡下で聴けるようになればその胚の将来が自ずと見えてくるはずである。

わが国の生殖医学は、1970年代後半から実験動物の生殖生理学からヒト生殖医療の研究、技術開発に重点が移って、その役割の大半は医科系大学が担うこととなった。しかし21世紀にはいると生殖医療は増々高度化、多様化していき、大学での研究開発には時間的、経済的、人材的に余裕が乏しくなっていく。それに対して、ART施設はどんどん増加し設備や環境も充実して、不妊患者数の増加と相まって、施設数、治療周期数は今や世界一のレベルに達している。島津製作所の田中耕一氏は、タンパク質の質量分析の新しい技術開発を評価されて、2002年にノーベル化学賞を受賞された。彼は「イノベーションの本来の意味は異分野融合であり、大学より企業のほうが環境が整っている。基礎研究は大学が担い、企業がそれを実用化するという役割分担が日本では常識とされるが産学の役割分担の発想はもはや古いといわざるを得ない」と述べている。一般ART施設であれ大学であれ、世界と競争できる次世代の人材を育成するためには、その存在自体が刺激となる優れたリーダーの存在とその能力を十分に引き出すための環境が整っていなければならない。そのための日本卵子学会の役割は大きい。

文 献

- 1) 大槻清彦 (1984) : 哺乳動物卵子談話会の歩み. 哺乳動物卵子研究会誌, 1: 1-6.
- 2) 油井秀樹 (2016) : 体外受精の臨床応用と日本受精着床学会の設立. 科学誌研究, 55: 118-132.
- 3) 鈴木雅洲 (1983) : 体外受精—成功までのドキュメント. pp. 45-47, 共立出版, 東京.
- 4) 佐久間勇次 (1989) : 卵子研究30年の歩み. 哺乳動物卵子研究会誌, 6: 11-14.
- 5) 鈴木雅洲 (1987) : IVF-ERの展望. 哺乳動物卵子研究会誌, 4: 73-77.
- 6) 白井 彰 (1989) : 体外受精—胚移植/卵管内配偶子移植プログラムにおけるGnRH agonist, pure FSH併用法を用いた卵胞刺激法について. 日本産科婦人科学会雑誌, 41: 1431-1438.
- 7) Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology (2018): The use of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A): a committee opinion. Fertil. Steril., 109, 429-436.