

—総説—

特集：PGT-Aの是非

着床前遺伝子診断の現状と今後の課題
—生殖補助医療におけるPGT-Aの有用性とその効果—
The current status and future tasks of preimplantation genetic test
for aneuploidy
—the utility and effect in assisted reproductive technology—

河野 康志*・原田 枝美・山下 由貴・尾石 友子・溝口 千春・檜原 久司

Yasushi Kawano*, Emi Harada, Yuki Yamashita, Tomoko Oishi, Chiharu Mizoguchi and Hisashi Narahara

大分大学医学部産科婦人科 〒879-5593 由布市

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Oita University,
1-1 Idaigaoka Hasama-machi, Yufu, Oita 879-5593, Japan

要旨：近年、生殖補助医療においては体外受精・胚移植等の妊娠率や生児獲得率の向上を目指して preimplantation genetic test for aneuploidy (PGT-A) が広まりつつある。胚からの生検技術の進歩や分子生物学的手法の発達にともなってPGT-Aの診断精度が高まってきた。特に生殖年齢の高齢患者、原因不明反復流産や反復着床不全症例に対しては、妊娠率ならびに生児獲得率の向上や治療回数の削減に貢献するなど、その有効性について報告されてきた。一方で、卵巣予備能の低い症例やモザイク胚の取り扱いに関しては議論の余地が残っている。成績改善を目的としたPGT-Aを円滑に遂行するためには、医療従事者のみならず社会的な認知を得るためにも今後のさらなる研究成果が待ち望まれる。

キーワード：生殖補助医療、着床前遺伝子診断、胚生検、遺伝子解析、モザイク胚

Abstract: The use of the preimplantation genetic test for aneuploidy (PGT-A) to further the goal of improving the pregnancy rate and/or live birth rate has recently become widespread in assisted reproductive technology. The improving accuracy of the PGT-A is due to advances in biopsy techniques from the embryo stage and the development of molecular biological methods. Using the PGT-A has contributed to improvements in pregnancy and live birth rates, and reductions in the treatment frequency of patients of an advanced maternal age, unexplained repeated pregnancy loss and repeated implantation failure. However, the PGT-A's utility for the management of patients with diminished ovarian reserve or a mosaic embryo remains a matter of debate. In order for the PGT-A to be used more effectively for improving clinical outcomes, further studies are necessary to gain patients' and healthcare professionals' recognition of the PGT-A.

Key words: Assisted reproductive technology, Preimplantaion genetic test for aneuploidy, Embryo biopsy, Gene analysis, Mosaic embryo

はじめに

(受付 2020年8月4日／受理 2020年9月3日)
別刷請求先：〒879-5593 大分県由布市挾間町医大ヶ丘1-1
大分大学医学部産科婦人科

*To whom correspondence should be addressed.

e-mail: kawayas@oita-u.ac.jp

Preimplantaion genetic diagnosis (PGD) とは、体外受精・胚移植 (*in vitro* fertilization and embryo transfer: IVF-ET) を中心とした生殖補助医療 (assisted reproductive technology: ART) において、得られた胚の細胞を生検して遺伝子を解析し、胚移植前に異常胚を見出すことで正常と判断された胚

を移植するための技術である。1990年に世界初のPGDによる出産例が報告され¹⁾、本邦では2004年より臨床応用が認められた。当初は、病因となる胚の遺伝子を解析することで重篤な遺伝性疾患を有する児の出生を回避し、人工妊娠中絶等の母体の身体的、精神的負担を軽減することが目的であったが、近年ではARTにおいて染色体の異数性診断を目的としたpreimplantation genetic test for aneuploidy (PGT-A：以下、PGT-Aとして記載する)として広がりを見せている。すなわち、生殖年齢における高齢者、反復流産ならびに反復着床不全症例等に高率にみられる染色体の数的異常を持った胚を除外し、妊娠率の向上を目指すために用いられるようになってきた。実際に、この技術を用いることによるART成績の向上が報告されているが、施行においてはいくつかの問題点も存在する。本稿では、ARTにおけるPGT-Aの臨床的意義ならびに有用性について文献的考察を含めて述べたい。

1. PGT-Aの確立に至るまでの経緯

ART技術の発達とともに、1個の胚細胞から遺伝子を解析する技術が開発されてきた。WiltonとTrounsonはマウスの分割胚から割球を取り出す方法を報告した²⁾。その後、MonkらはLesch-Nyhan症候群のマウスモデルにおいてPGDのために栄養外胚葉 (trophectoderm: TE) からの生検技術を発展させた³⁾。さらには、Verlinskyらは放出された第一極体での遺伝子解析を行った⁴⁾。PGT-Aが導入された当初は、分割期胚から割球を生検し、fluorescence in situ hybridization (FISH) 法により染色体数の解析が行われていた。臨床においては効果が期待されていたが、症例が蓄積されるにつれ、PGT-Aを行わない場合と比較して妊娠率や生児獲得率は改善されないといった報告がなされた。

MastenbroekらはIVF症例への臨床試験を行い、35歳から41歳の症例に対し分割期胚を用いた臨床成績をPGT-Aを行った群と行わなかった群においてrandomized controlled trial (RCT) で検討した。FISH法によるPGT-Aを施行した群が施行しなかった群と比較し、症例あたりの妊娠継続率と生児獲得率においてそれぞれ10%の低下を認めた⁵⁾。この結果より、臨床におけるPGT-Aの有用性は低いと評価され、米国生殖医学会、米国産婦人科学会や英国不妊学会は、分割期胚生検とFISH法でのPGT-Aを推奨しないという声明を発表したが、欧州ヒト生殖医学会は研究デザインを変更して今後の検証を必要とするに留めた⁶⁾。この時点でのPGT-Aで臨床成績が得られなかった理由として、分割期胚生検の着床能への悪影響⁷⁾、分割期胚での高率なモザイク胚の検出^{8, 9)}、FISH法における解析の限界などが指摘されている。FISH法の限界としては、解析可能な染色体が12種くらいまでに限られていることが挙げられ、解析対象以外の染色体に異常がある場合は検出できないことが明らかとなった。

その後、胚盤胞でTEから採取した5～10個の細胞を検体として全染色体の数的異常の解析 (comprehensive

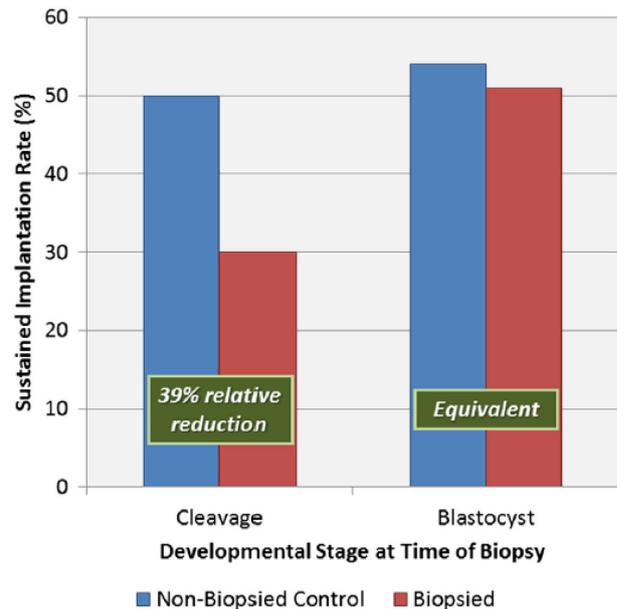


図1 分割期胚と胚盤胞生検後の着床率の相違

分割期胚ならびに胚盤胞より生検し、その後の着床率を検討した。分割期胚生検では着床率が有意に減少した。一方で、胚盤胞生検の着床率はコントロール群と同等であった。文献7)より引用。

chromosome screening: CCS) が行われるようになった。Scottらは生検する検体として分割期胚の割球と胚盤胞のTEを用いて比較検討し、その結果、生検された分割期胚は移植後の着床率が低く、TEの生検では移植後の着床率に影響を及ぼさないことが示された (図1)⁷⁾。また、胚盤胞であれば、day5、day6、day7であってもTEの生検は移植後の着床能に影響を認めず¹⁰⁾、その後と同様な報告が続き、胚盤胞のTE生検による解析精度の向上、モザイク胚の割合の低下、着床能への影響の低減ならびに全染色体を解析することによる偽陰性の減少が期待され、ARTにおけるPGT-Aの臨床応用への期待が高まった。

一方、分子生物学的手法の発展としてのCCSの方法には、comprehensive genomic hybridization microarrays (aCGH)、single-nucleotide polymorphism microarrays (SNP arrays)、quantitative PCR (qPCR)、next generation sequencing (NGS) などの解析方法が報告された¹¹⁾。aCGH、SNP arraysやNGSは、DNAの全ゲノム増幅 (whole genome amplification: WGA) が必要となるため、CCSの解析精度はWGAで増幅されたDNAの質によるところが大きく、WGAの技術の安定がPGT-Aの診断精度向上に強く関わっている¹²⁾。

このような、生検技術の革新と分子生物学の進歩が相まって、現在のPGT-Aの診断精度が向上したといえる。

2. これまでの臨床研究の経緯

胚盤胞のTE生検を施行しaCGHで解析した観察研究¹³⁾

や分割期胚の割球あるいはTEの生検によるCCSを行い、結果の精度を検討した研究¹⁴⁾により、PGT-Aの診断精度は高くPGT-Aを用いた場合に妊娠率や生児獲得率が上昇したことから、その後のRCTなどを含む臨床研究への道筋が付けられた。

RCTのうち最初の112例を用いた検討では、PGT-Aを施行した胚盤胞とコントロールとして形態学的に良好な胚盤胞を比較した。425個の胚盤胞からTEを生検しaCGHで解析し、191個(45%)がaneuploid胚であった。胚移植周期あたりの妊娠率はコントロール群では46%であったが、euploid胚を移植したPGT-A施行群では71%であった¹⁵⁾。次のRCTでも胚盤胞を用いてCCSを施行し、形態良好胚を移植したコントロール群では移植胚あたりの着床率が48%であったが、euploid胚を移植したPGT-A施行群では66%の着床率を得ており、胚移植周期あたりの生児獲得率はコントロール群が68%でありPGT-A施行群は85%であった¹⁶⁾。3番目のRCTでは、形態良好胚盤胞の2個移植をコントロールとして、PGT-Aを施行した胚盤胞の単一胚移植との成績を比較した。胚移植周期あたりの妊娠率はPGT-A施行単一胚移植群で61%、(コントロールとしての)PGT-A非施行の形態良好胚盤胞2個移植群で65%であり、多胎妊娠率はそれぞれ0%と48%であった¹⁷⁾。分割期胚によるRCTもあり、PGT-Aを施行した場合としない場合とで流産率の減少や妊娠までの治療期間短縮に有意差がでている¹⁸⁾。さらに、胚盤胞移植を行った3つのRCTのメタアナリシスでは、有意にPGT-Aの臨床的有用性が証明された(図2)¹⁹⁾。

また、CCSを用いたPGT-Aの臨床成績について4件のRCTおよび7件の観察研究に対して別のメタアナリシスもある。RCTの解析では、PGT-A施行群は形態良好胚移植群に比較して、着床率、生児獲得率ならびに多胎妊娠率に有意な改善がみられ、流産率も減少していた。また、観察研究では着床率、臨床妊娠率および継続妊娠率に有意な改善がみられ、流産率や多胎妊娠率も減少し生児獲得率以外の項目に有意な改善がみられた²⁰⁾。すなわち、CCSによるPGT-Aを併用することでARTの治療成績が改善することが示された。

3. PGT-Aの有効性が報告された病態

ARTにおけるPGT-Aの有効性については、生殖年齢における高齢者、原因不明の反復流産症例ならびに反復着床不全症例などに対する臨床的な効果を検証することが求められるため、各病態についてこれまで報告された臨床成績を述べる。

1) 生殖年齢における加齢

Aneuploid胚の割合は、26～30歳では20～27%であるが、31～43歳まで増加し続け、約85%で横ばいとなる²¹⁾。形態的に良好な胚盤胞にもaneuploid胚は存在し、35歳以下の流産歴がない女性でも胚盤胞のうち45%がaneuploid胚であったとの報告もある¹⁵⁾。先の研究では、26～37歳で

は胚盤胞のaneuploid胚率は2～6%であるが、42歳で33%、44歳では53%に達するとも報告している²¹⁾。

卵巣予備能との関係では、AMH濃度(<1.50 ng/mL, 1.50～<5.60 ng/mL, ≥5.60 ng/mL)で分けた場合、aneuploid胚の割合はそれぞれ66.7%、42.9%、50.0%で、AMH低値ではaneuploid胚の割合は有意に高く、35歳以上の症例でも同様の結果であった。一方、35歳未満の症例では有意差はみられなかったことから²²⁾、AMH低値は高齢でaneuploid胚が増加するリスクと関連していることが示唆される。Advanced maternal age (AMA)の症例ではPGT-Aを施行すべきと考えられており、施行することにより着床率が増加し流産率が低下したとする臨床成績の報告がみられる。また、euploid胚の単一胚を移植すると多胎率は低下し²³⁾、euploid胚の移植では年齢が上昇しても胚移植周期あたりの着床率には変化がない^{24, 25)}。

38～41歳の症例を対象とし、day3で分割期胚生検しaCGHで解析したのち胚盤胞まで培養した検討では、PGT-Aは生児獲得率が高いだけでなく、流産率を低下させ、生児獲得までの胚移植回数を減らし、妊娠までの時間を短縮させることが示された¹⁸⁾。AMAでは不妊の原因にaneuploid胚が関連しており、精度の高いPGT-Aを施行することによって妊娠までの期間を短縮できる可能性が示唆された。

2) 原因不明反復流産

IVFを施行された少なくとも5%の症例において、妊娠20週までに2回もしくはそれ以上の回数反復流産(repeat pregnancy loss: RPL)がみられる。原因としては、遺伝学的、形態学的、内分泌学および免疫学的異常が考えられている。しかしながら、半数以上の症例は病因が明らかでないことが多く、原因不明のRPLは効果的な治療法がないため、臨床的には対応に難渋する。

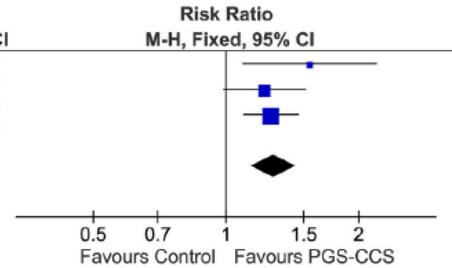
これまでの後方視的な研究成果から、胎児の羊水検査や絨毛採取により染色体分析をしたところ、流産歴のない女性ではaneuploidの割合は1.3%であり、1回から3回の流産歴のある女性では、それぞれ1.6%、1.8%、2.1%とaneuploidの割合が増加した²⁶⁾。同様の報告も散見されることより²⁷⁾、aneuploid胚が流産を引き起こす原因と考えるならば、原因不明のRPLに対してPGT-Aは有効性が期待できる。

分割期胚を生検しPGT-Aを施行した場合と、自然妊娠例での流産率の比較では、自然に流産する割合はPGT-A施行群が9%であるのに対し、自然妊娠群が28%であった²⁸⁾。また、2,282個の胚を調べた報告では、そのうちおよそ60%がaneuploid胚であり、euploid胚を移植した場合には着床率45%であり、そのなかで92%が妊娠継続し、流産率は6.9%であった。予測値としてRPL症例において未検の胚を移植した場合の流産率が33.5%、不妊症患者群において流産率は23.7%となるため、RPL症例においてPGT-Aを施行した場合には流産率が低くなる可能性が示唆される²⁹⁾。

(A)

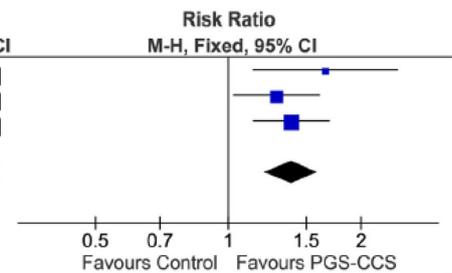
Clinical implantation rate

Study or Subgroup	PGS-CCS		Control		Weight	Risk Ratio
	Events	Total	Events	Total		M-H, Fixed, 95% CI
Yang et al. 2012	39	55	22	48	13.3%	1.55 [1.09, 2.20]
Forman et al. 2013	55	87	89	172	33.9%	1.22 [0.98, 1.52]
Scott et al. 2013	107	134	103	163	52.7%	1.26 [1.09, 1.46]
Total (95% CI)		276		383	100.0%	1.29 [1.15, 1.45]
Total events	201		214			
Heterogeneity: Chi ² = 1.34, df = 2 (P = 0.51); I ² = 0%						
Test for overall effect: Z = 4.27 (P < 0.0001)						



Sustained implantation rate (> 20 weeks gestation)

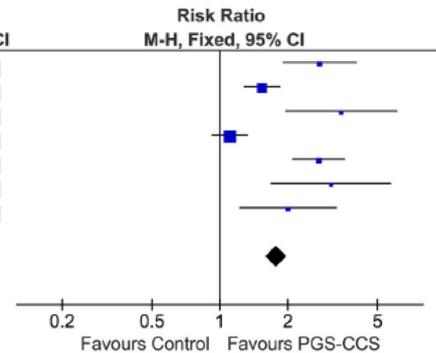
Study or Subgroup	PGS-CCS		Control		Weight	Risk Ratio
	Events	Total	Events	Total		M-H, Fixed, 95% CI
Yang et al. 2012	38	55	20	48	14.5%	1.66 [1.14, 2.42]
Forman et al. 2013	54	87	83	172	37.8%	1.29 [1.03, 1.61]
Scott et al. 2013	89	134	78	163	47.7%	1.39 [1.14, 1.70]
Total (95% CI)		276		383	100.0%	1.39 [1.21, 1.60]
Total events	181		181			
Heterogeneity: Chi ² = 1.29, df = 2 (P = 0.53); I ² = 0%						
Test for overall effect: Z = 4.61 (P < 0.00001)						



(B)

Clinical implantation rate

Study or Subgroup	PGS-CCS		Control		Weight	Risk Ratio
	Events	Total	Events	Total		M-H, Fixed, 95% CI
Sher et al. 2009	36	94	43	311	8.8%	2.77 [1.90, 4.04]
Schoolcraft et al. 2010	62	90	134	299	27.5%	1.54 [1.27, 1.85]
Fishel et al. 2011	31	112	15	187	5.0%	3.45 [1.95, 6.10]
Forman et al. 2012	86	140	101	182	38.9%	1.11 [0.92, 1.33]
Keltz et al. 2013	30	57	253	1321	9.3%	2.75 [2.10, 3.60]
Greco et al. 2014	28	41	9	41	4.0%	3.11 [1.68, 5.75]
Lee et al. 2015	28	55	16	63	6.6%	2.00 [1.22, 3.29]
Total (95% CI)		589		2404	100.0%	1.78 [1.60, 1.99]
Total events	301		571			
Heterogeneity: Chi ² = 51.50, df = 6 (P < 0.00001); I ² = 88%						
Test for overall effect: Z = 10.31 (P < 0.00001)						



Sustained implantation rate (> 20 weeks gestation)

Study or Subgroup	PGS-CCS		Control		Weight	Risk Ratio
	Events	Total	Events	Total		M-H, Fixed, 95% CI
Sher et al. 2009	34	94	39	311	14.9%	2.88 [1.94, 4.29]
Forman et al. 2012	77	140	76	182	54.6%	1.32 [1.05, 1.65]
Lee et al. 2015	25	55	12	63	9.2%	2.39 [1.33, 4.29]
Feichtinger et al. 2015	29	110	60	403	21.2%	1.77 [1.20, 2.62]
Total (95% CI)		399		959	100.0%	1.75 [1.48, 2.07]
Total events	165		187			
Heterogeneity: Chi ² = 13.10, df = 3 (P = 0.004); I ² = 77%						
Test for overall effect: Z = 6.48 (P < 0.00001)						

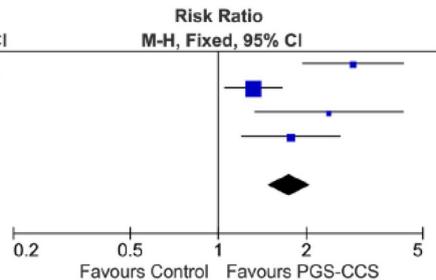


図2 CCSを用いたPGT-Aの着床率における効果

(A) RCTにおいて胚盤胞生検 (TE) による PGT-A 施行群は形態による移植胚選択群に比較して着床率が有意に改善した。(B) 観察研究において分割期胚, 極体生検ならびに胚盤胞生検 (TE) による PGT-A 施行群は形態による移植胚選択群に比較して着床率は有意に改善した。文献19)より引用。

3) 反復着床不全

反復着床不全 (Repeat implantation failure: RIF) は、ESHRE PDG Consortiumによる定義がある。すなわち、形態良好胚を3個以上胚移植、もしくは10個以上の胚を複数回胚移植したにも関わらず、超音波検査で妊娠5週以降に胎嚢確認ができないものとされる³⁰⁾。RIFは患者に対して何周期もARTを施行する精神的、身体的ストレスがかかるだけでなく、医療費も高額になる。すべてのRIFが胚の異常によるものではないが、多くの患者は異数性の染色体異常を持ち³¹⁾、それが異常胚の発生へとつながり、不成功を繰り返すため、IVFの回数も多くなる。

RIFに対しては、良好胚を選択するためにいくつかの方法が用いられており、胚盤胞培養、assisted hatchingなどが胚移植の成績改善に繋がるとされてきた。胚盤胞におけるFISH法を用いた検討では、40歳以下のRIFと41～44歳の高齢不妊群を対象とした臨床成績の報告がある。高齢不妊群では、PGT-A施行群で患者あたりの生児獲得率が有意に高くなり、RIF群でも有意差は認めないもののPGT-A施行群で患者あたりの生児獲得率が高かった³²⁾。また、36歳以下のRIFでaCGHを用い、単一の胚盤胞移植を施行した検討では、euploid胚の割合がRIFのPGT-A施行群とRIFでないPGT-A施行群でそれぞれ46.2%と51.8%であった。胚移植周期あたりの臨床妊娠率と移植胚あたりの着床率は、RIFのPGT-A施行群でそれぞれ68.3%と68.3%、PGT-A非施行群で22.0%と21.2%、RIFではないがPGT-A施行群で70.5%と70.5%となり、RIFのPGT-A非施行群で有意に低い結果となった³³⁾。類似した報告が散見されていることより、aneuploidy胚はRIFの原因にもなっている可能性があるため、RIFにおけるPGT-Aの有用性が示唆されている。

4. モザイク胚の取り扱い

モザイク胚とは、ひとつの胚のなかに染色体数が正数性と異数性の系列の細胞が混在するものをいう。分割期胚は細胞分裂が早くS期であることが多いため、モザイクの頻度は、胚盤胞に比較すると高いとされており、このことが分割期胚での診断精度に影響を与えることが指摘されている。染色体分析において、胚全体の細胞が異数体の場合は減数分裂時のエラーに起因するため、その頻度は年齢に依存するが、モザイク胚の場合は受精後の体細胞分裂のエラーが原因のため、年齢の影響は受けないとされる。

Euploid胚が得られるほどの採卵数が確保できない場合や卵巣予備能の低い患者では、モザイク胚の移植も選択肢となる。aCGHでeuploid胚盤胞が得られない症例を対象として、モザイク胚盤胞を移植し、移植胚あたり44%の着床率、33%の生児獲得率が得られた報告がある。このなかで、すべての児は絨毛生検にて正常核型であることが確認されている³⁴⁾。その後、症例数を増やしてモザイク胚を移植する検討が始まり、健康な児を得たという臨床成績が得られるようになった。モザイク率が50%以下の胚盤胞は50%以上の胚盤胞と比較して胚移植周期あたりの妊娠継続率はそれぞれ

表1 モザイク胚移植における臨床成績

Clinical outcomes.			
Outcome	Euploid, n (%)	Mosaic, n (%)	P value
Embryos transferred	251	78	
Transfers	250	77	
Positive beta-hCG	160 (64.0)	37 (48.1)	.017
Biochemical pregnancies	24 (9.6)	8 (10.4)	.98
Embryos implanted	137 (54.6)	30 (38.5)	.02
Early abortions/ET	20 (8.0)	6 (7.8)	.85
Ongoing clinical pregnancies/ET	116 (46.4)	23 (30.0)	.019
Pregnancies to term	116 (46.4)	23 (30.0)	.014
Babies born	117 (46.6)	24 (30.8)	.019

Spinella. Chromosomal mosaicism influences IVF outcome. Fertil Steril 2017.

Comparison of clinical outcomes in embryos with <50% versus ≥50% mosaicism.

Outcome	Mosaicism, n (%)		P value
	< 50%	≥50%	
Mosaic embryos transferred	45	33	.078
Transfers	44	33	.1
Positive beta-hCG	26 (59.1)	11 (33.3)	.044
Biochemical pregnancies	5 (11.4)	3 (9.1)	.95
Embryos implanted	22 (48.9)	8 (24.2)	.039
Early abortions	3 (6.8)	3 (9.1)	.95
Ongoing clinical pregnancies/ET	18 (40.9)	5 (15.2)	.021
Pregnancies to term	18 (40.9)	5 (15.2)	.021
Babies born	19 (42.2)	5 (15.2)	.021

Spinella. Chromosomal mosaicism influences IVF outcome. Fertil Steril 2017.

文献35)より引用。

40.9%と15.2%、生児獲得率は38%と19%であり、50%以下のモザイク胚盤胞移植で有意に高かったと報告されている(表1)³⁵⁾。その一方で、モザイク率が40%以上の胚盤胞は妊娠継続率が低下するため、胚移植を優先すべきでないとの報告もある³⁶⁾。また、34歳以下の症例から得られたモザイク胚は高齢者に比較して予後が良いといった結果もあり³⁷⁾、どのような背景から得られた、どのような割合のモザイク胚であれば移植してよいかを判断するには慎重な対応が求められ、今後のさらなるデータの蓄積が待たれる。

おわりに

これまでの研究や臨床成績から、PGT-Aは生検技術の開発と分子生物学的解析技術の向上によって臨床での有用性が注目されるようになり、RCTによる有効性、原因別不妊症に対する有効性、モザイク胚の評価と取り扱いに加えて胚移植回数や医療経費での患者負担の軽減(図3A, 3B)³⁸⁾についても報告されてきた。

胚盤胞におけるTE生検とCCSによるPGT-Aは、卵巣予備能の良好な患者において、複数ある良好胚盤胞のなかから着床能の高いものを選択するのに有効性を発揮する。また、不要な胚移植の回避により生児獲得までの治療期間の短縮につながることや、移植胚数を減らしても妊娠率を低下させないため多胎妊娠防止に効果がある。一方で、高齢で卵巣予備能の低い患者、反復流産や反復着床不全症例にお

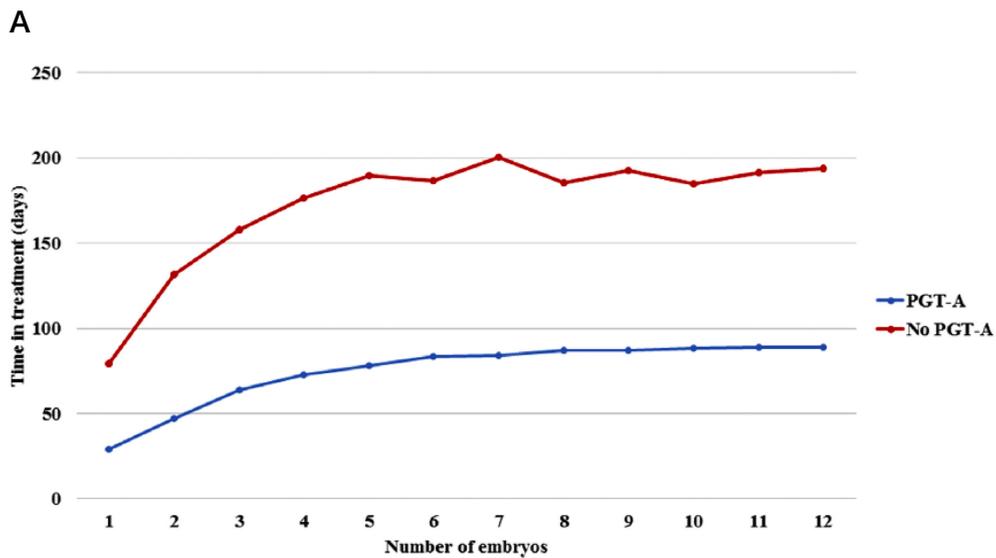


図3A PGT-Aの有無と妊娠までの治療期間
PGT-Aを行うと治療期間は短縮する. 文献38)より引用.

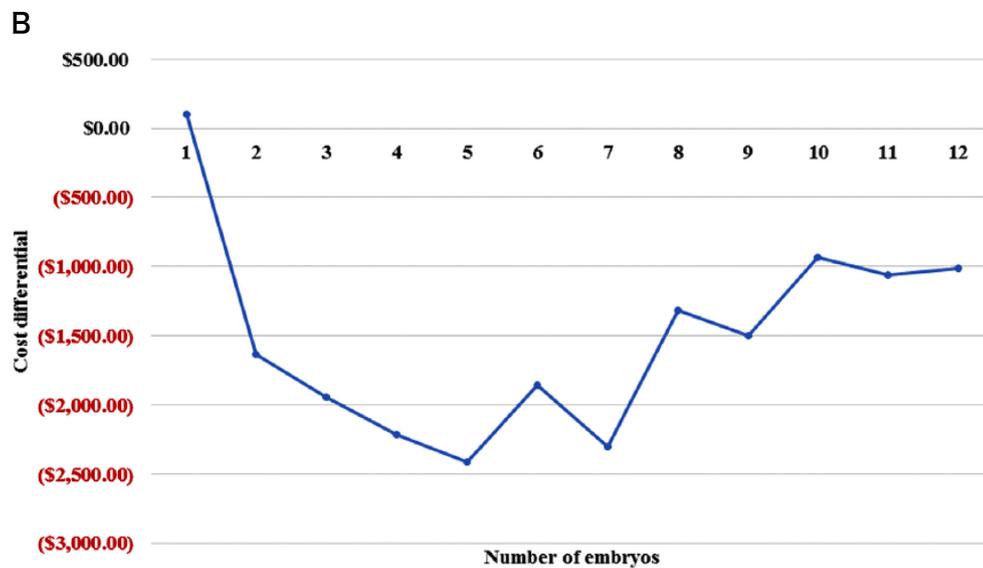


図3B PGT-A施行例における妊娠までの費用
複数の胚盤胞が得られた症例は, PGT-Aを行うと医療経費が軽減される. 文献38)より引用.

ける採卵周期あたりの生児獲得率改善に対する効果は明らかではない。

日本産科婦人科学会ではARTにおけるPGT-Aの効果を検証するために、「反復ART不成功例」および「原因不明反復流産」を対象とし、生児獲得率改善と流産率減少を主要評価項目とした「PGT-Aの有用性に関する多施設共同研究」を進めてきた。その結果、患者あたりの生児獲得率の改善はみられなかったが、妊娠までの胚移植の回数を減少させることは有効であり一定の評価がなされた³⁹⁾。

ARTの成績改善を目的としたPGT-Aを施行するにあたり、医療従事者のみならず社会的な認知を得るためにも今後のさらなる研究成果が待ち望まれる。

文献

- 1) Handyside, A.H., Kontogianni, E.H., Hardy, K. and Winston, R.M. (1990): Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*, 344, 768-770.

- 2) Wilton, L. and Trounson, A.O. (1986): Viability of mouse embryos and blastomeres following biopsy of a single cell. *Proceedings of the 18th Annual Conference, Australian Society for Reproductive Biology*. Brisbane, Australia.
- 3) Monk, M., Muggleton-Harris, A.L., Rawlings, E. and Whittingham, D.G. (1988): Pre-implantation diagnosis of HPRT-deficient male and carrier female mouse embryos by trophectoderm biopsy. *Hum. Reprod.*, 3, 377–381.
- 4) Verlinsky, Y., Ginsberg, N., Lifchez, A., Valle, J., Moise, J. and Strom, C.M. (1990): Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis. *Hum. Reprod.*, 5, 826–829.
- 5) Mastenbroek, S., Twisk, M., van Echten-Arends, J., Sikkema-Raddatz, B., Korevaar, J.C., Verhoeve, H.R., Vogel, N.E.A., Arts, E.G.J.M., de Vries, J.W.A., Bossuyt, P.M., Buys, C.H.C.M., Heineman, M.J., Repping, S. and van der Veen, F. (2007): In vitro fertilization with preimplantation genetic screening. *N. Engl. J. Med.*, 357, 9–17.
- 6) Harper, J., Coonen, E., De Rycke, M., Fiorentino, F., Geraedts, J., Goossens, V., Harton, G., Moutou, C., Budak, T.P., Renwick, P., SenGupta, S., Traeger-Synodinos, J. and Vesela, K. (2010): What next for preimplantation genetic screening (PGS)? A position statement from the ETHRE PGD Consortium steering committee. *Hum. Reprod.*, 25, 821–823.
- 7) Scott, R.T.Jr., Upham, K.M., Forman, E.J., Zhao, T. and Treff, N.R. (2013): Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: a randomized and paired clinical trial. *Fertil. Steril.*, 100, 624–630.
- 8) Treff, N.R., Su, J., Tao, X., Levy, B. and Scott, R.T.Jr. (2010): Accurate single cell 24 chromosome aneuploidy screening using whole genome amplification and single nucleotide polymorphism microarrays. *Fertil. Steril.*, 94, 2017–2021.
- 9) Mertzani, A., Wilton, L., Cheng, J., Spits, C., Vanneste, E., Moreau, Y., Vermeesch, J.R. and Sermon, K. (2013): Microarray analysis reveals abnormal chromosomal complements in over 70% of 14 normally developing human embryos. *Hum. Reprod.*, 28, 256–264.
- 10) Capalbo, A., Rienzi, L., Cimadomo, D., Maggiulli, R., Elliott, T., Wright, G., Nagy, Z.P. and Ubaldi, F.M. (2014): Correlation between standard blastocyst morphology, euploidy and implantation: an observational study in two centers involving 956 screened blastocysts. *Hum. Reprod.*, 29, 1173–1181.
- 11) Brezina, P.R., Anchan, R. and Kearns, W.G. (2016): Preimplantation genetic testing for aneuploidy: what technology should you use and what are the differences? *J. Assist. Reprod. Genet.*, 33, 823–832.
- 12) 佐藤 剛 (2018) : 特集「生殖医療」知っておきたい最新トピックス 着床前スクリーニング (PGS). *産と婦*, 85(3): 277–282.
- 13) Schoolcraft, W.B., Fragouli, E., Stevens, J., Munne, S., Katz-Jaffe, M.G. and Wells, D. (2010): Clinical application of comprehensive chromosomal screening at the blastocyst stage. *Fertil. Steril.*, 94, 1700–1706.
- 14) Scott, R.T.Jr., Ferry, K., Su, J., Tao, X., Scott, K. and Treff, N.R. (2012): Comprehensive chromosome screening is highly predictive of the reproductive potential of human embryos: a prospective, blinded, nonselection study. *Fertil. Steril.*, 97, 870–875.
- 15) Yang, Z., Liu, J., Collins, G.S., Salem, S.A., Liu, X., Lyle, S.S., Peck, A.C., Sills, E.S. and Salem, R.D. (2012): Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. *Mol. Cytogenet.*, 5, 24.
- 16) Scott, R.T.Jr., Upham, K.M., Forman, E.J., Hong, K.H., Scott, K.L., Taylor, D., Tao, X. and Treff, N.R. (2013): Blastocyst biopsy with comprehensive chromosome screening and fresh embryo transfer significantly increases in vitro fertilization implantation and delivery rates: a randomized controlled trial. *Fertil. Steril.*, 100, 697–703.
- 17) Forman, E.J., Hong, K.H., Ferry, K.M., Tao, X., Taylor, D., Levy, B., Treff, N.R. and Scott, R.T.Jr. (2013): In vitro fertilization with single euploid blastocyst transfer: a randomized controlled trial. *Fertil. Steril.*, 100, 100–107.e1.
- 18) Rubio, C., Bellver, J., Rodrigo, L., Castellón, G., Guillen, A., Vidal, C., Giles, J., Ferrando, M., Cabanillas, S., Remohí, J., Pellicer, A. and Simón, C. (2017): In vitro fertilization with preimplantation genetic diagnosis for aneuploidies in advanced maternal age: a randomized, controlled study. *Fertil. Steril.*, 107, 1122–1129.
- 19) Dahdouh, E.M., Balayla, J. and García-Velasco, J.A. (2015): Comprehensive chromosome screening improves embryo selection: a meta-analysis. *Fertil. Steril.*, 104, 1503–1512.
- 20) Chen, M., Wei, S., Hu, J. and Quan, S. (2015): Can Comprehensive Chromosome Screening Technology Improve IVF/ICSI Outcomes? A Meta-Analysis. *PLoS One*, 10, e0140779.
- 21) Franasiak, J.M., Forman, E.J., Hong, K.H., Werner, M.D., Upham, K.M., Treff, N.R. and Scott, R.T.Jr. (2014): The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil. Steril.*, 101, 656–663.
- 22) Jiang, X., Yan, J., Sheng, Y., Sun, M., Cui, L. and Chen, Z.J. (2018): Low anti-Müllerian hormone concentration is associated with increased risk of embryonic aneuploidy in women of advanced age. *Reprod. Biomed. Online*, 37, 178–183.
- 23) Grifo, J.A., Hodes-Wertz, B., Lee, H.L., Amperloquio, E., Clarke-Williams, M. and Adler, A. (2013): Single thawed euploid embryo transfer improves IVF pregnancy, miscarriage, and multiple gestation outcomes and has similar implantation rates as egg donation. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 30, 259–264.

- 24) Harton, G.L., Munné, S., Surrey, M., Grifo, J., Kaplan, B., McCulloh, D.H., Griffin, D.K. and Wells, D. (2013): Diminished effect of maternal age on implantation after preimplantation genetic diagnosis with array comparative genomic hybridization. *Fertil. Steril.*, 100, 1695–1703.
- 25) Platteau, P., Staessen, C., Michiels, A., Van Steirteghem, A., Liebaers, I. and Devroey, P. (2005): Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in women older than 37 years. *Fertil. Steril.*, 84, 319–324.
- 26) Bianco, K., Caughey, A.B., Shaffer, B.L., Davis, R. and Norton, M.E. (2006): History of miscarriage and increased incidence of fetal aneuploidy in subsequent pregnancy. *Obstet. Gynecol.*, 107, 1098–1102.
- 27) Rubio, C., Simón, C., Vidal, F., Rodrigo, L., Pehlivan, T., Remohí, J. and Pellicer, A. (2003): Chromosomal abnormalities and embryo development in recurrent miscarriage couples. *Hum. Reprod.*, 18, 182–188.
- 28) Musters, A.M., Repping, S., Korevaar, J.C., Mastenbroek, S., Limpens, J., van der Veen, F. and Goddijn, M. (2011): Pregnancy outcome after preimplantation genetic screening or natural conception in couples with unexplained recurrent miscarriage: a systematic review of the best available evidence. *Fertil. Steril.*, 95, 2153–2157.
- 29) Hodes-Wertz, B., Grifo, J., Ghadir, S., Kaplan, B., Laskin, C.A., Glassner, M. and Munné, S. (2012): Idiopathic recurrent miscarriage is caused mostly by aneuploid embryos. *Fertil. Steril.*, 98, 675–680.
- 30) Harton, G., Braude, P., Lashwood, A., Schmutzler, A., Traeger-Synodinos, J., Wilton, L. and Harper, J.C. (2011): ESHRE PGD consortium best practice guidelines for organization of a PGD centre for PGD/preimplantation genetic screening. *Hum. Reprod.*, 26, 14–24.
- 31) Pehlivan, T., Rubio, C., Rodrigo, L., Romero, J., Remohí, J., Simón, C. and Pellicer, A. (2003): Impact of preimplantation genetic diagnosis on IVF outcome in implantation failure patients. *Reprod. Biomed. Online*, 6, 232–237.
- 32) Rubio, C., Bellver, J., Rodrigo, L., Bosch, E., Mercader, A., Vidal, C., De los Santos, M.J., Giles, J., Labarta, E., Domingo, J., Crespo, J., Remohí, J., Pellicer, A. and Simón C. (2013): Preimplantation genetic screening using fluorescence in situ hybridization in patients with repetitive implantation failure and advanced maternal age: two randomized trials. *Fertil. Steril.*, 99, 1400–1407.
- 33) Greco, E., Bono, S., Ruberti, A., Lobascio, A.M., Greco, P., Biricik, A., Spizzichino, L., Greco, A., Tesarik, J., Minasi, M.G. and Fiorentino F. (2014): Comparative genomic hybridization selection of blastocysts for repeated implantation failure treatment: a pilot study. *Biomed. Res. Int.*, 2014, 457913.
- 34) Greco, E., Minasi, M.G. and Fiorentino, F. (2015): Healthy babies after intrauterine transfer of mosaic aneuploid blastocyst. *N. Engl. J. Med.*, 373, 2089–2090.
- 35) Spinella, F., Fiorentino, F., Biricik, A., Bono, S., Ruberti, A., Cotroneo, E., Baldi, M., Cursio, E., Minasi, M.G. and Greco, E. (2018): Extent of chromosomal mosaicism influences the clinical outcome of in vitro fertilization treatments. *Fertil. Steril.*, 109, 77–83.
- 36) Munné, S., Blazek, J., Large, M., Martinez-Ortiz, P.A., Nisson, H., Liu, E., Tarozzi, N., Borini, A., Becker, A., Zhang, J., Maxwell, S., Grifo, J., Babariya, D., Wells, D. and Fragouli, E. (2017): Detailed investigation into the cytogenetic constitution and pregnancy outcome of replacing mosaic blastocysts detected with the use of high-resolution next-generation sequencing. *Fertil. Steril.*, 108, 62–71.
- 37) Munné, S., Grifo, J. and Wells, D. (2016): Mosaicism: “survival of the fittest” versus “no embryo left behind”. *Fertil. Steril.*, 105, 1146–1149.
- 38) Neal, S.A., Morin, S.J., Franasiak, J.M., Goodman, L.R., Juneau, C.R., Forman, E.J., Werner, M.D. and Scott, R.T.Jr. (2018): Preimplantation genetic testing for aneuploidy is cost-effective, shortens treatment time, and reduces the risk of failed embryo transfer and clinical miscarriage. *Fertil. Steril.*, 110, 896–904.
- 39) Sato, T., Sugiura-Ogasawara, M., Ozawa, F., Yamamoto, T., Kato, T., Kurahashi, H., Kuroda, T., Aoyama, N., Kato, K., Kobayashi, R., Fukuda, A., Utsunomiya, T., Kuwahara, A., Saito, H., Takeshita, T. and Irahara, M. (2019): Preimplantation genetic testing for aneuploidy: a comparison of live birth rates in patients with recurrent pregnancy loss due to embryonic aneuploidy or recurrent implantation failure. *Hum. Reprod.*, 34, 2340–2348.