作成／更新日：令和 6 年 7 月 12 日

日本医療研究開発機構　成育疾患克服等総合研究事業
事後評価報告書

公開

Ⅰ．基本情報

研究開発課題名：（日本語）卵子活性化・タイムラプス・ERA の有効性・安全性検証による生殖補助医療のエビデンス創出

（英 語）Clinical impacts of artificial oocyte activation, time-lapse embryo monitoring and endometrial receptivity analysis on assisted reproductive technology

研究開発実施期間：令和 3 年 5 月 24 日～令和 6 年 3 月 31 日

研究開発代表者　氏名：（日本語）大須賀　穣

（英　語）Yutaka OSUGA

研究開発代表者　所属機関・部署・役職：

（日本語）国立大学法人東京大学 医学部附属病院 教授

（英　語）Professor, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

II. 研究開発の概要

（和文）

１．研究開発の概要

生殖補助医療の検査・治療のなかで、卵子活性化（AOA、Artificial Oocyte Activation）、タイムラプス（タイムラプス搭載型培養器）、子宮内膜受容能検査（ERA、Endometrial Receptivity Analysis）の3つについて、日本生殖医学会 JSRM と日本生殖補助医療標準化機関 JISART を活動基盤とする研究者を代表・分担研究者とし、両団体に加盟する研究協力施設において臨床研究を遂行した。先進医療であるタイムラプスおよび ERA については、保険適用へ向けた研究成果を早期に得ることを目的とした。これらの検査・治療の質を高めるための基礎研究も合わせて行った。

AOA については、治療における有効性・安全性を調べるため、後方視的コホート研究、卵子活性化により出生した児の予後に関する調査、卵子活性化薬剤の有効性・安全性に関する基礎的検討（マウス卵子等の利用）を行った。タイムラプスについては、治療における有効性を調べるため、後方視的コホート研究、前方視的コホート研究を実施した。また、タイムラプス画像による形態学的解析と胚の分子解析を通じてタイムラプスの有用性の機序の解析を行った。ERA については、ERA の有効性を調べるため、後方視的コホート研究、前方視的コホート研究を実施した。子宮内膜の組織学的解析・分子解析（ヒト子宮内膜およびマウスモデル）を通じて ERA や子宮内膜解析の有用性についての基礎的解析を行った。

研究統括は大須賀が担当し、AOA の研究は主に大須賀、久慈、山田、左、廣田が担当し、タイムラプスの研究は主に大須賀、寺田、塩谷、見尾、左、廣田が担当し、ERA の研究は主に大須賀、寺田、塩谷、京野、左、廣田が担当した。研究チームは互いに連携を取り機能的に研究を実施できたため、順調に成果が得られた。本研究の成果は、項目ごとに下記に記載した。

(1) 卵子活性化（AOA、Artificial Oocyte Activation）

まず、AOA の有効性と安全性評価のための 17 施設参加の多施設共同後方視的コホート研究を実施した。原因不明の低受精率(<50%)を示す ICSI サイクルを経験したカップルにおいて、AOA を実施した群は従来の ICSI 群と比較して着床率と出生率が高かった。特に、採卵歴がない若い患者ほど出生率が高く、AOA は ICSI で受精異常を認めた若いカップルにとって有望な治療法であることが示唆された。AOA 群と従来の ICSI 群の間で、流産、早産、胎児の先天形態異常率に差は見られなかった。次に、AOA により出生した児の予後を調べるため、周産期成績や出生児の神経学的発達に関する追跡調査を行ったが、AOA による負の影響は認められなかった。日本の ART 実施施設を対象としたアンケート調査により、AOA、ERA を含む Add-ons 技術が広く実施されている実態が明らかになった。基礎研究として、ヘキサメタリン酸ナトリウムが卵子のカルシウム濃度上昇を引き起こし、受精過程に類似した現象を誘発すること、カルシウムオシレーション遅延と多精子受精の関係が示され、AOA の最適化に応用できる可能性が示唆された。

(2) タイムラプス（タイムラプス搭載型培養器）

10 施設参加の多施設共同後方視的コホート研究では、通常培養器とタイムラプス（搭載型培養器）の成績 4990 周期を比較した。タイムラプス群では、受精判定不能胚率の低下、正常受精胚の良好胚盤胞到達率向上、凍結融解胚移植あたりの妊娠率向上、が認められた。タイムラプスは受精判定の正確性向

上、良好胚の選別、妊娠率の向上に寄与することが示唆された。3 施設参加の前方視的コホート研究では、370 名(438 周期)の不妊症患者が参加し実施した。タイムラプス群では、形態良好な初期胚率の向上、良好胚盤胞到達率の向上、受精判定不能胚の消失、が見られた。タイムラプスにより正常分割胚と異常分割胚の識別が可能となることや詳細な胚発生情報を得られること等の利点により、タイムラプスは通常培養器と同等以上の臨床成績を示した。基礎研究では、タイムラプスを用いたマウスおよびヒトの初期胚のライブイメージング技術を開発した。DNA および細胞骨格系を可視化し、タイムラプス画像と実際の細胞分裂を紐付けることが可能となった。本研究により、タイムラプスが臨床的な有用な Add-ons であることが示されたことに加え、タイムラプス画像が胚の細胞分裂をどのように反映しているかを明らかにする新たな方法論が構築された。

(3) 子宮内膜受容能検査（ERA、Endometrial Receptivity Analysis）

後方視的コホート研究では、929 例の ERA 検査実施症例を解析した。年齢上昇に伴い非受容期判定の割合が増加し、長期不妊や喫煙と非受容期判定に正の相関が見られた。ERA 後の臨床的妊娠率は受容期群と非受容期群で同等だった。前方視的コホート研究では、42 歳以下の反復胚移植不成功患者を対象に、ERA 群 220 例と対照群 382 例を比較した。全年齢および 37 歳以上の妊娠率に有意差は見られなかったが、37 歳以上では ERA 群でやや良好な傾向があった。基礎研究では、着床能の新たな分子マーカーとして LIF と COX2 に着目した。LIF は子宮上皮遺伝子を制御して着床を調節し、COX2 はプロスタグランジン産生を介して胚浸潤に関与することが明らかとなった。これらの結果から、ERA の有効性には限界があり、LIF や COX2 などの新たな分子マーカーが着床能評価に有用である可能性が示唆された。

２．顕著な成果

（1）受精障害に対する卵子活性化の有効性と安全性のエビデンス構築

概要：（200 字程度）多数の卵子を使用して評価した多施設共同研究を実施し、ICSI における受精障害に対してカルシウムイオノフォアを用いた卵子活性化（AOA）の併用により、受精率から出生率まで臨床成績が改善し、周産期予後に有害効果が見られないことを示した、世界で初めての研究である。この研究は受精障害カップルのみを対象とし、外科的治療を要する男性不妊因子を除外することで、以前の研究で見られた不均一性を除外することに成功した。併せて、周産期および出生児の神経学的予後に関する郵送調査を行い、中・長期的な児への負の影響がないことを初めて明らかにした。

（2）タイムラプス搭載型培養器の有用性のエビデンス構築

概要：（200 字程度）多施設共同の後方視的研究により、タイムラプスによる受精判定不能胚率の低下、正常受精胚の良好胚盤胞到達率向上、凍結融解胚移植あたりの妊娠率向上、が示され、多施設共同の前方視的研究により、タイムラプスによる形態良好な初期胚率の向上、良好胚盤胞到達率の向上、受精判定不能胚の消失、が示された。タイムラプスにより異常分割胚の識別が可能となることや詳細な胚発生情報を得られること等の利点を通じて、タイムラプスは通常培養器と同等以上の臨床成績を示した。

（3）タイムラプスを用いたマウスおよびヒトの初期胚のライブイメージング技術の開発

概要：（200 字程度）基礎研究により、タイムラプスを用いたマウスおよびヒトの初期胚のライブイメージング技術を開発した。DNA および細胞骨格系を可視化し、タイムラプス画像と実際の細胞分裂を紐付けることが可能となった。タイムラプス画像が胚の細胞分裂をどのように反映しているかを明らかにする新たな方法論が構築された。

（4）子宮内膜受容能検査（ERA）の有効性の限界

概要：（200 字程度）多施設共同の後方視的および前方視的研究により、ERA 実施による妊娠率の上昇は明らかでなく、ERA の妊娠成績改善に及ぼす影響は限定的であることが示された。後方視的研究では、年齢上昇に伴い非受容期判定の割合が増加し、長期不妊や喫煙と非受容期判定に正の相関が見られた。前方視的研究では、全年齢および 37 歳以上の妊娠率に有意差は見られなかったが、37 歳以上では ERA 群でやや良好な傾向があった。

（5）ERA 以外の着床能を示す分子マーカーの開発

概要：（200 字程度）着床能の新たな分子マーカーとして LIF と COX2 に着目して行った基礎研究で、LIF は子宮上皮遺伝子を制御して着床を調節し、COX2 はプロスタグランジン産生を介して胚浸潤に関与することが明らかとなった。これらの結果から、ERA の有効性には限界があり、LIF や COX2 などの新たな分子マーカーによる新たな着床能評価法の可能性が示唆された。

（英文）

Research Overview

This study focused on three aspects of assisted reproductive technology (ART): Artificial Oocyte Activation (AOA), Time-lapse Imaging, and Endometrial Receptivity Analysis (ERA). The research was conducted by representatives from the Japan Society for Reproductive Medicine (JSRM) and the Japan Institution for Standardizing Assisted Reproductive Technology (JISART), with the aim of improving these techniques and gathering data for potential insurance coverage.

1. **AOA Research**
- Conducted a retrospective cohort study to assess efficacy and safety
- Investigated outcomes of children born through AOA
- Performed basic research on AOA agents using mouse oocytes and ovarian granulosa cells

2. **Time-lapse Imaging Research**
- Conducted retrospective and prospective cohort studies to evaluate effectiveness
- Analyzed the mechanism of time-lapse imaging through morphological and molecular studies of embryos

3. **ERA Research**
- Conducted retrospective and prospective cohort studies to assess effectiveness
- Performed histological and molecular analysis of the endometrium

Significant Findings

1. **Efficacy and Safety of AOA for Fertilization Failure**
   - ✧ Multi-center study showed improved clinical outcomes from fertilization to live birth rates with AOA
   - ✧ No adverse effects on perinatal outcomes or neurological development of children born through AOA
2. **Usefulness of Time-lapse Incubators**
   - ✧ Retrospective study showed reduced unfertilizable embryo rates, improved good-quality blastocyst rates, and increased pregnancy rates with time-lapse imaging
   - ✧ Prospective study demonstrated improved early-stage embryo quality and good-quality blastocyst rates
3. **Development of Live Imaging Technique for Early Embryos**
   - ✧ Created a method to visualize DNA and cytoskeleton in mouse and human embryos
   - ✧ Enabled correlation between time-lapse images and actual cell division processes
4. **Limitations of ERA**
   - ✧ Multi-center studies showed limited improvement in pregnancy rates with ERA
   - ✧ Retrospective study found increased non-receptive diagnoses with age, and correlations with long-term infertility and smoking
   - ✧ Prospective study showed no significant difference in pregnancy rates, with a slight positive trend in women over 37
5. **Development of New Molecular Markers for Implantation**
   - ✧ Identified LIF and COX2 as potential new biomarkers for endometrial receptivity
   - ✧ LIF regulates uterine epithelial genes for implantation, while COX2 influences embryo invasion through prostaglandin production

This research provides valuable insights into the effectiveness and limitations of AOA, time-lapse imaging, and ERA in assisted reproductive technology, while also suggesting new avenues for improving implantation assessment.