

Clinical pregnancy is significantly associated with the blastocyst width and area: a time-lapse study

臨床妊娠は胚盤胞の幅と面積に大きく関係している:タイムラプス研究

【概要】

単一胚移植後の妊娠率を維持するためには、胚の培養と選択を最適化することが重要であり、タイムラプスは胚の発生を順次確認でき、妨害が少ないことから重要な役割を果たす可能性がある。本研究では、胚盤胞面積と最大幅の形態学的評価を行い、これらのパラメーターが体外受精/顕微授精の妊娠成績と関連するかどうかを検討した。

本調査は、選択的単一胚盤胞移植(eSBT)を行った 664 名の患者を対象とした後ろ向き研究である。ES の描写ツールは、最大胚盤胞幅や胚盤胞面積などの特定の変数を測定するために使用した。その結果、胚盤胞幅[中央値(範囲) μm]は妊娠者 184(125-239)対非妊娠者 160(120-230)と面積[中央値(範囲) μm^2]は妊娠者 26,099(12101-45280)対非妊娠者 22,251(10992-37931)で妊娠者が有意($P < 0.01$)に大きかった。

単変量ロジスティック回帰分析を行ったところ、胚盤胞幅[OR=1.026,95%CI=(1.019,1.033)]は有意であり($P < 0.01$)、胚盤胞幅が $1\mu\text{m}$ 増加するごとに臨床妊娠率は 2.6%増加した。

胚盤胞面積[OR=1.00008,95%CI=(1.000006,1.00011)]でも有意であり($P < 0.01$)、胚盤胞面積が $1\mu\text{m}^2$ 増加するごとに、臨床妊娠率は 0.008%上昇した。

今回の結果は、胚盤胞の寸法と臨床妊娠率の間に明確な相関があることを示しているが、これらの観察を確認するためにはさらなる研究が必要である。

【はじめに】

胚盤胞は分化度が高く、3 日目胚から胚ゲノムが発達に寄与するため、胚盤胞の方が生存率や妊娠成立の可能性を評価する上で有用である可能性が示唆される。

形態評価は観察者間のばらつきが大きい可能性があるが、タイムラプスを用いた連続胚モニタリングの導入により、受精から胚盤胞形成までの過程を研究者が観察できるようになった。

この技術は胚の形態だけではなく、動態や形態的特徴によってスコア化することを可能にしたが、着床の可能性を示す胚盤胞の具体的な特性については知られていない。

過去に発表された研究では、6 日目に 1 個以上の孵化胚盤胞になった患者では、5 日目に孵化していない胚盤胞になった患者に比べ、着床率及び妊娠率が高かったと報告した。

また、最近の研究では、自然孵化した胚盤胞を移植するために、拡張胚盤胞の培養時間を延長することで、着床率や妊娠率が高くなることが報告されており、これらの結果として孵化状態に基づいて生存可能な胚を選択すれば、体外受精治療の成功確率を高めることができると示唆した。

さらに、内細胞塊(ICM)内の変性領域は、着床の可能性が低い可能性があり、胚の選択において胚盤胞の拡大が重要な要素であることに着目した研究もある一方で、別の研究では、患者年齢と TE のグレードのみが着床と出産に有意に関連することが示された。

【材料と方法】

本試験は、2014 年 1 月から 2019 年 9 月までエディンバラ王立病院(RIF)で実施された 664 の IVF/ICSI 周期を対象とした後ろ向き研究であり、全ての周期は、患者卵子を新鮮単一胚移植したもので、受精から約 112~118 時間後の 5 日目の朝に予定し、妊娠 7 週目に超音波検査で胎児心拍と胎嚢を確認した。

【卵巣刺激、採卵、受精、胚培養、スコアリング】

全ての患者は、ゴナドトロピン放出ホルモン(GnRH)アンタゴニスト(Cetrorelix0.5mg1 日皮下投与)またはGnRH アゴニスト(Buserelin0.5mL 皮下投与)治療による制御卵巣刺激を受けている。

経膈超音波検査で卵胞発育をモニターし、オビドレル 0.25mg を用いて3つの卵胞が18mm以上になった時点で排卵誘発を行い、オビドレル注入後35時間に経膈超音波ガイドで意識化鎮静化で卵子回収を行った。

受精後、正常受精した前核期胚をEmbryoScopeに割り付け、培養することになった。

受精時間は、ICSIまたはIVFを行った後の時間で表し、EmbryoViewerソフトウェア上で時間ゼロとして記録し、培養5日目にヒアルロン酸と組換えヒトアルブミンを含む移植培地(EmbryoGlue)を用いて選択的単一胚移植が行われた。

【胚盤胞形態学的評価】

胚盤胞は、外側の外胚葉(TE)細胞の球状の層で構成され、密に詰まったICMを含む内胚葉腔を取り囲んでいる。

胚移植前に全ての胚盤胞の形態学的評価を受精後112~118時間の間に行った。

EmbryoViewerソフトウェアを使って、胚盤胞の最大幅を記録した(図5a,b)

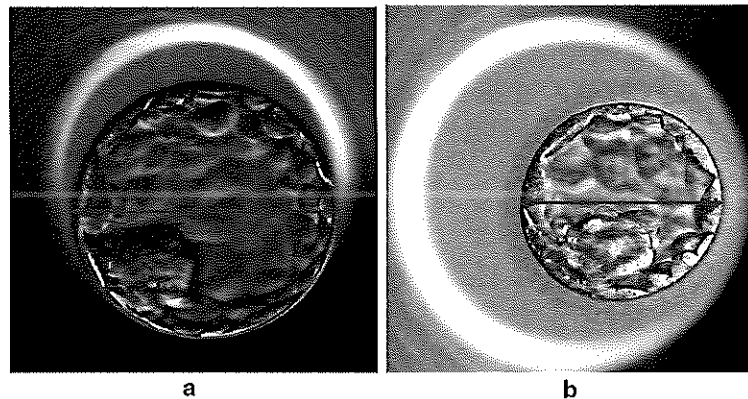
図:5 a) Blastocyst maximum

width 205 μm

図:5 b)

Blastocyst maximum width

148 μm



胚盤胞の最大幅(透明帯を除く)は、1つの平面上で4種類の測定を行い、その平均値を算出した。

同様に、胚盤胞の断面積を注釈するために、EmbryoScopeの直径計測ツールを使用し、1つの平面で1回の測定が行われた。

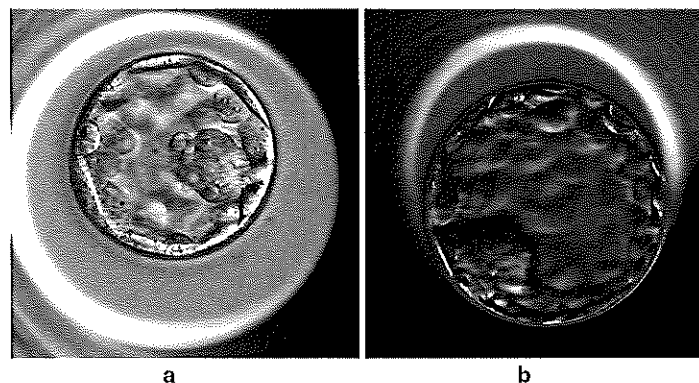
胚盤胞面積は、透明帯が占める領域を除いたTEの外側の境界線間で算出した。(図6a,b)

図:6 a) Blastocyst area

19,704 μm^2

図:6 b) Blastocyst

area 33,549 μm^2

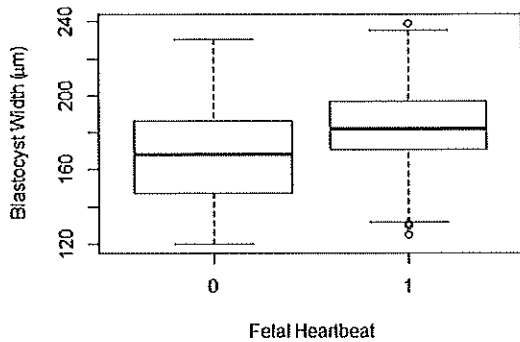


胚盤胞の6.6%(44/664)は、胚盤胞が測定から外れていたり、胚盤胞の形状が完全な円形でなかったり、胚盤胞が発生中に崩壊していたりして、形態評価に含めることができなかったものがわずかにあり、これらのグループは除外された。

データは臨床妊娠率(CPR)との関連で分析を行った。

【統計解析】

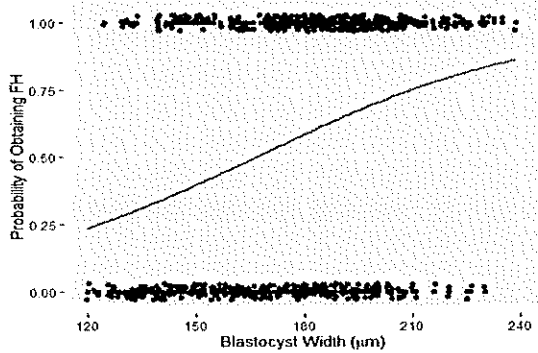
P<0.01 の水準で統計的に有意であるとみなし、さらに妊娠 7 週目の臨床妊娠率で評価した。妊娠者と非妊娠者では、採卵数に有意な差はなかった。



その結果(図 1)、移植した胚盤胞幅は、妊娠者 184 μm (125-239)、非妊娠者 160 μm (120-230)で妊娠者の方が有意に大きかった(P<0.01)。

(図 1)

年齢、採卵数、不妊原因などはいずれも両群間で差がなかった。移植した胚盤胞幅が 184 μm 以上の女性の平均採卵数は 11.7 個だったのに対し、移植した胚盤胞幅が 160 μm 未満の女性の平均採卵数は 11.6 個であった。

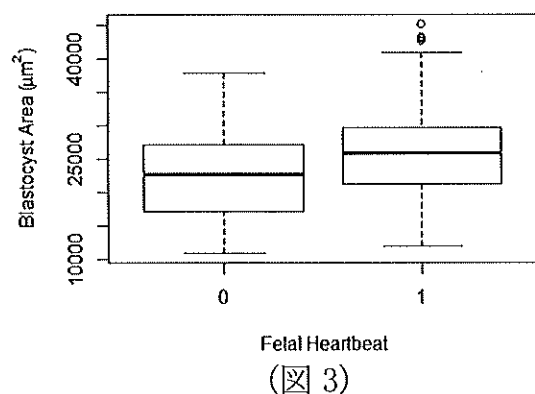


単変量ロジスティック回帰分析を行った結果、臨床妊娠率は胚盤胞幅が広いほど高くなり、P<0.01 で有意であることがわかった(図 2)。

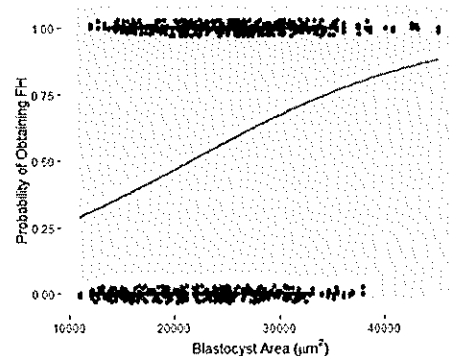
(図 2)

これは、胚盤胞幅が 1 μm 増加するごとに、臨床妊娠率が 2.6%増加することを示している。非妊娠者の胚盤胞面積 22,251 μm^2 (10,992-37,931)に対して、妊娠者の胚盤胞面積 26,099 μm^2 (12,101-45,280)で有意に大きく、また単変量ロジスティック回帰でも有意であることがわかった(P<0.01;図 3 及び図 4)。

胚盤胞面積が 1 μm^2 増加するごとに、臨床妊娠率が 0.008%増加するというデータがある。



(図 3)



(図 4)

【ディスカッション】

選択的単一胚盤胞移植において、臨床妊娠と最大胚盤胞幅との間に統計的に有意な($P < 0.01$)関係があることを示している。

これは、胚盤胞面積でも同様であり、胚盤胞面積が $>25,000\mu\text{m}^2$ は、面積 $<25,000\mu\text{m}^2$ に比べて臨床妊娠率が高く($P < 0.01$)、詳細な解析によると、胚盤胞幅が $1\mu\text{m}$ 増加するごとに、臨床妊娠率が2.6%増加することがわかった。

幅 $184\mu\text{m}$ 以上、面積 $26,000\mu\text{m}^2$ 以上の選択的単一胚盤胞移植に伴う高い妊娠率は、胚選択手順の最適化に役立つと考えられる。

従来の形態学的評価は、移植用胚と選別に適用される最も一般的な方法であるが、過去10年間で、タイムラプスから得られたデータは、胚の生存率と着床の可能性の潜在的マーカーとして新しい形態学的評価を同定することができた。

拡大グレードは胚盤胞の大きさに直接関係するため、結果を評価したところ、臨床妊娠した患者の胚盤胞幅の中央値は、妊娠しなかった患者の $160\mu\text{m}$ ($120-230$)に対して $184\mu\text{m}$ ($125-239$)で有意に大きかった。ICMとTEのグレードが高いほど、拡大グレードが高いことを発見し、ICMの質の向上はTEの質の向上と頻繁に関連しており、胚盤胞の発生段階、ICM、TEの間に相互依存関係がある可能性が高いことを示している。

【結論】

本研究では、形態学的測定に基づき、胚盤胞の幅と面積が大きくなるにつれて臨床妊娠の可能性が徐々に高くなることを報告している。

この研究は、レトロスペクティブな研究であり、それに伴う限界があるが、着床と妊娠転帰の予測因子として形態学的胚盤胞評価を関連づけた最初の研究である。

予備的知見は、移植のための胚選択に、グレーディングシステムに加えて、5日目の胚盤胞の幅と面積の形態学的評価が使用される可能性を示唆している。

特に、移植に選択できる胚盤胞が複数ある場合には、着床や臨床妊娠率の予測に有用である。

この結果は、選択的単一胚盤胞移植による体外受精・顕微授精治療後の転帰を予測する、新規で客観的な胚盤胞のグレーディングシステムの確率に利用できるかもしれない。