

知っておきたいPGT-Aの基礎知識

医療法人 絹谷産婦人科
院長 絹谷 正之

今回の内容

1.「染色体数的異常」と妊娠

2.着床前胚の遺伝学的検査

- PGT-A ステップ① 胚生検
- PGT-A ステップ② 遺伝学的解析
- PGT-A ステップ③ 移植胚の選択

3.PGT-AとART成績

4.PGT-Aの課題

- ①細胞生検による胚へのダメージ
- ②モザイク胚の取り扱い
- ③判定の正確性
- ④児の長期フォロー

5.日本における着床前診断

着床前胚の遺伝学的検査法

① PGD (Preimplantation Genetic **Diagnosis**)

原因遺伝子座、染色体の明確な遺伝性疾患に対して着床前の胚を診断して、**遺伝的健常児を出産する目的で実施される受精卵診断**。

② PGS (Preimplantation Genetic **Screening**) ≡ PGT-A

胚の生検細胞の染色体分析、遺伝子解析を行い、de novoの変異を検査し、**Viabilityの高い胚を選別**する。遺伝性疾患の非保因者の**受精卵の染色体の数的異常の検出**。
海外では高齢女性、着床障害、反復流産、重度男性不妊などが適応。

着床前胚の遺伝学的検査法名

- ① PGD (Preimplantation Genetic **Diagnosis**)
- ② PGS (Preimplantation Genetic **Screening**)

狭義の「着床前診断」
=PGD(PGT-M, PGT-SR)
「着床前スクリーニング」
=PGT-A

広義の「着床前診断」
=PGT(着床前検査?)

PGT (Preimplantation genetic **testing**)

遺伝学的異常の検出やHLAタイピング
のための卵子や胚のDNA解析

(1) PGT-A: Preimplantation genetic testing **for aneuploidy**
着床前染色体異数性検査

(2) PGT-M: PGT **for monogenic/single gene defects**
着床前単一遺伝子欠損検査

(3) PGT-SR: PGT **for structural rearrangements**
着床前染色体構造異常検査

PGS
}

PGD
}

「PGT-A」の基本的な考え

ステップ① 胚生検



ステップ② 遺伝学的解析
(胚の染色体の数的異常の有無)



ステップ③ 移植胚の選択



着床率



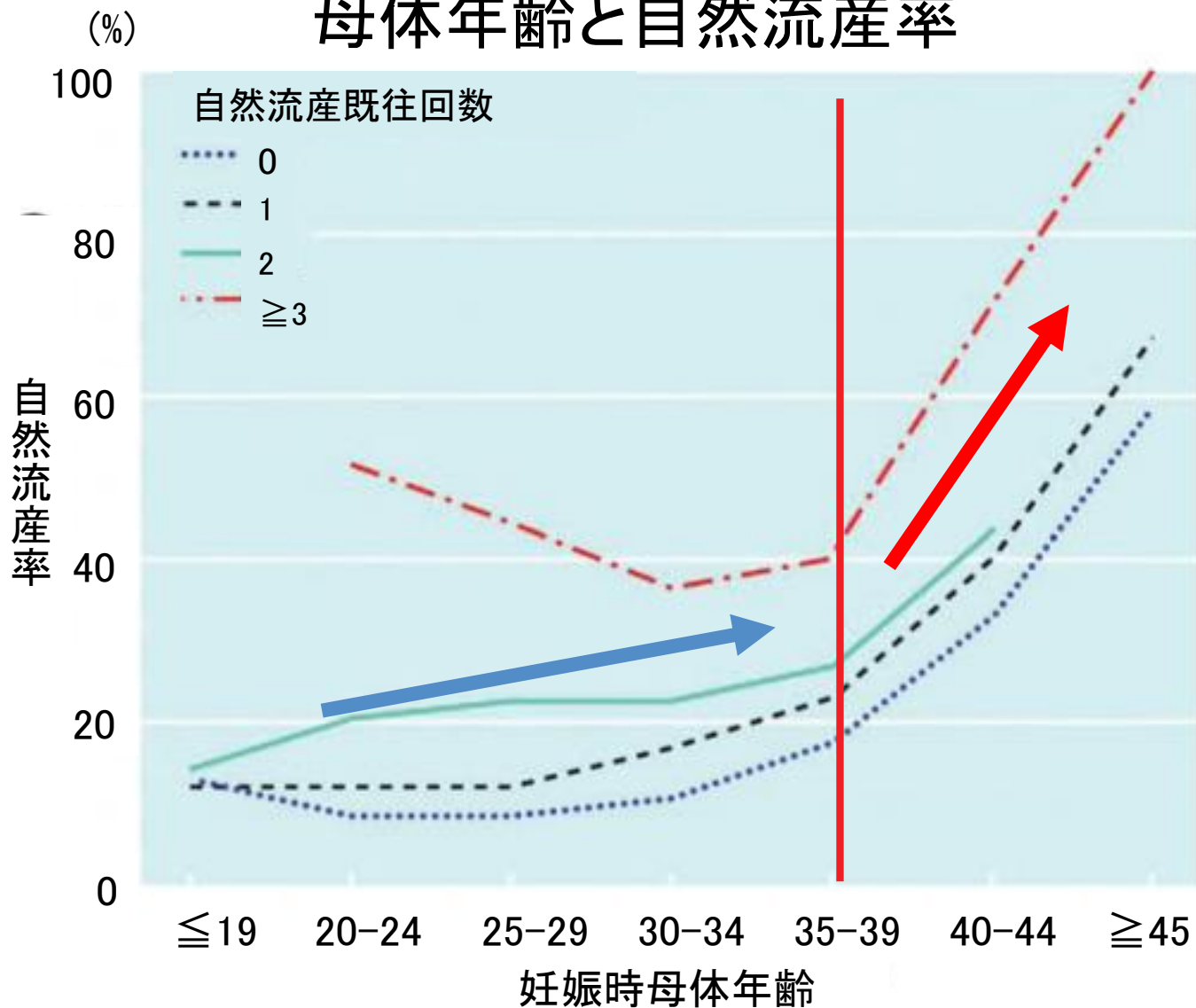
流産率



胚の
形態的・動態的
評価

1.染色体数的異常と妊娠

母体年齢と自然流産率



加齢



卵子の質の低下

- 透明帯の硬化
- 囲卵腔の狭小化
- 表層粒の移動・放出
- 遺伝子発現の制御の変化
- 卵成熟因子の減少
- 紡錘体の拡張
- Caイオンの減少

染色体分配異常



受精率



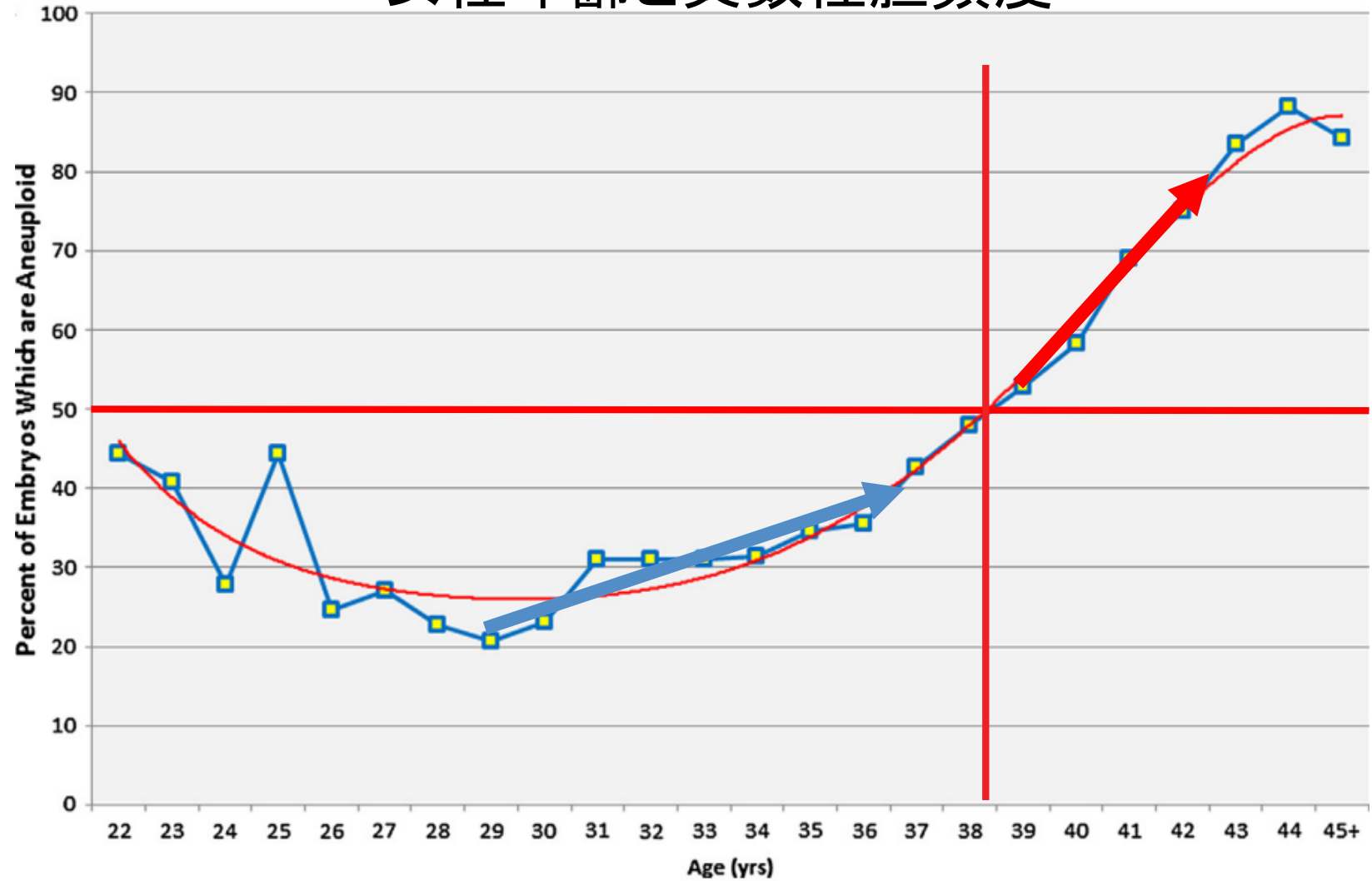
胚盤胞発生率



流産率

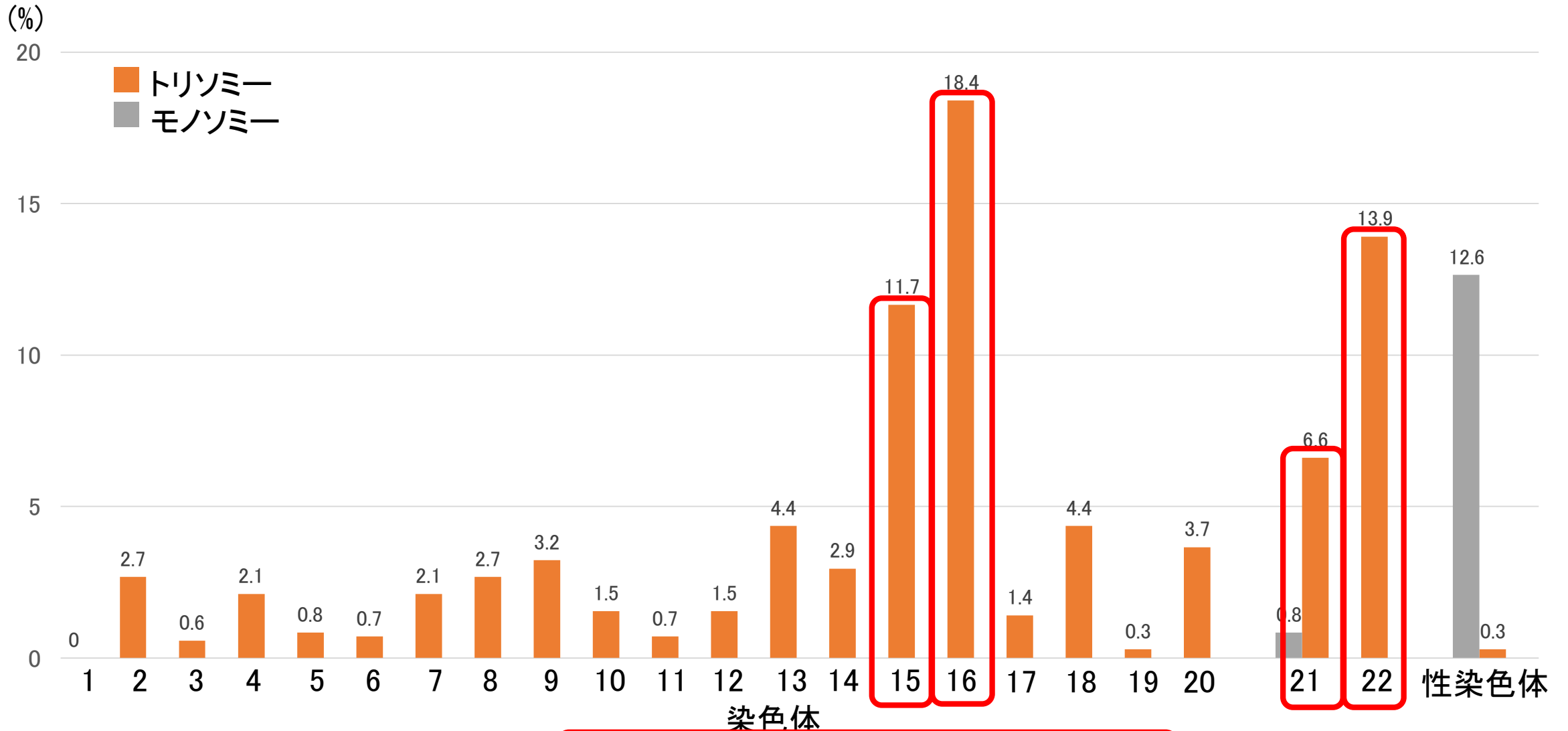


女性年齢と異数性胚頻度



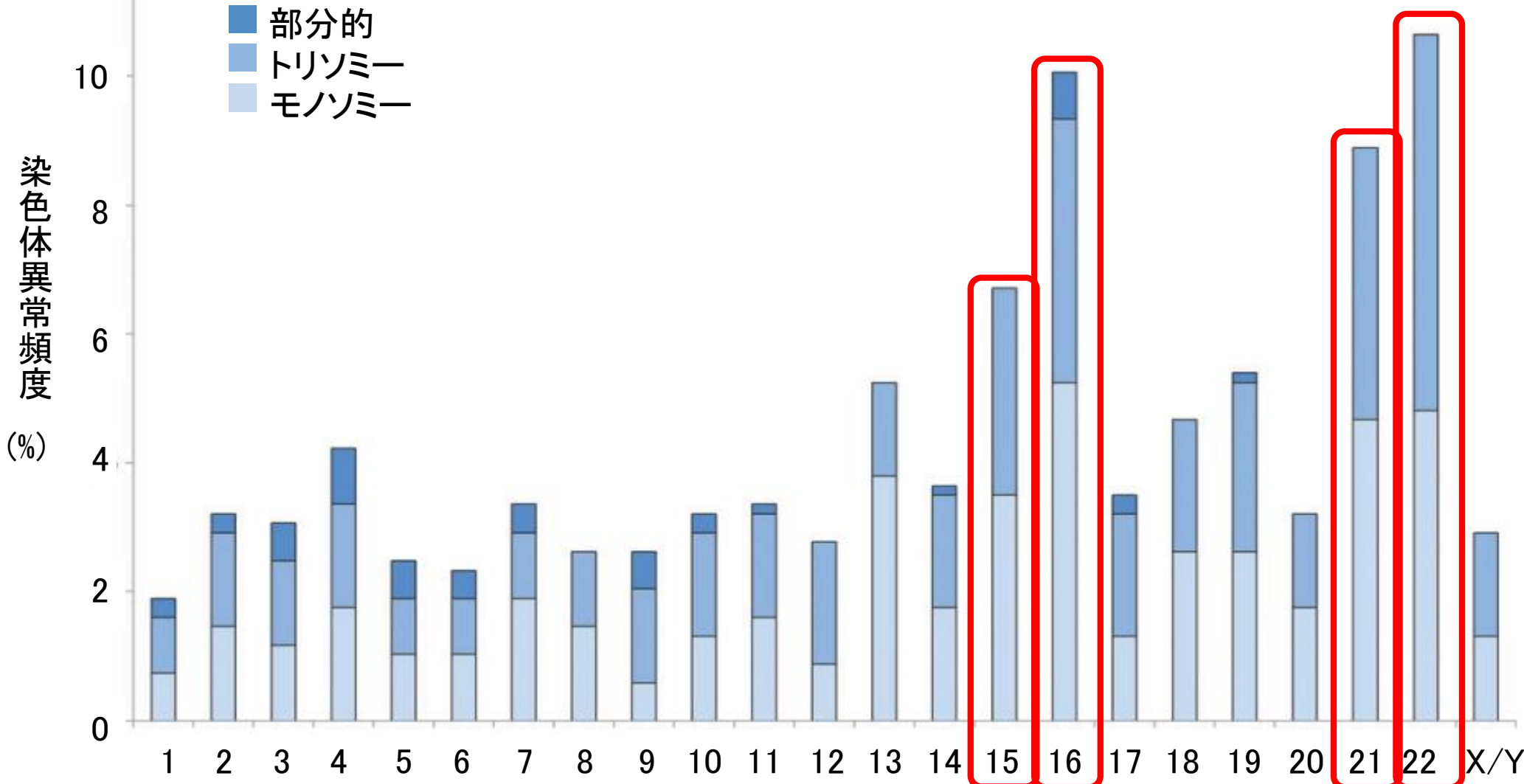
Blastocysts (equivalent to Gardner score of 3~6), TE biopsy, quantitative PCR or SNP array

流死産絨毛・胎児組織の染色体異数性頻度



対象: 自然流産した流死産絨毛・胎児組織 1502例 (正倍数性553例、核型異常949例:63%)
Gバンド法にて解析。その他、三倍体103例、四倍体22例

胚の各染色体の異数性発生頻度



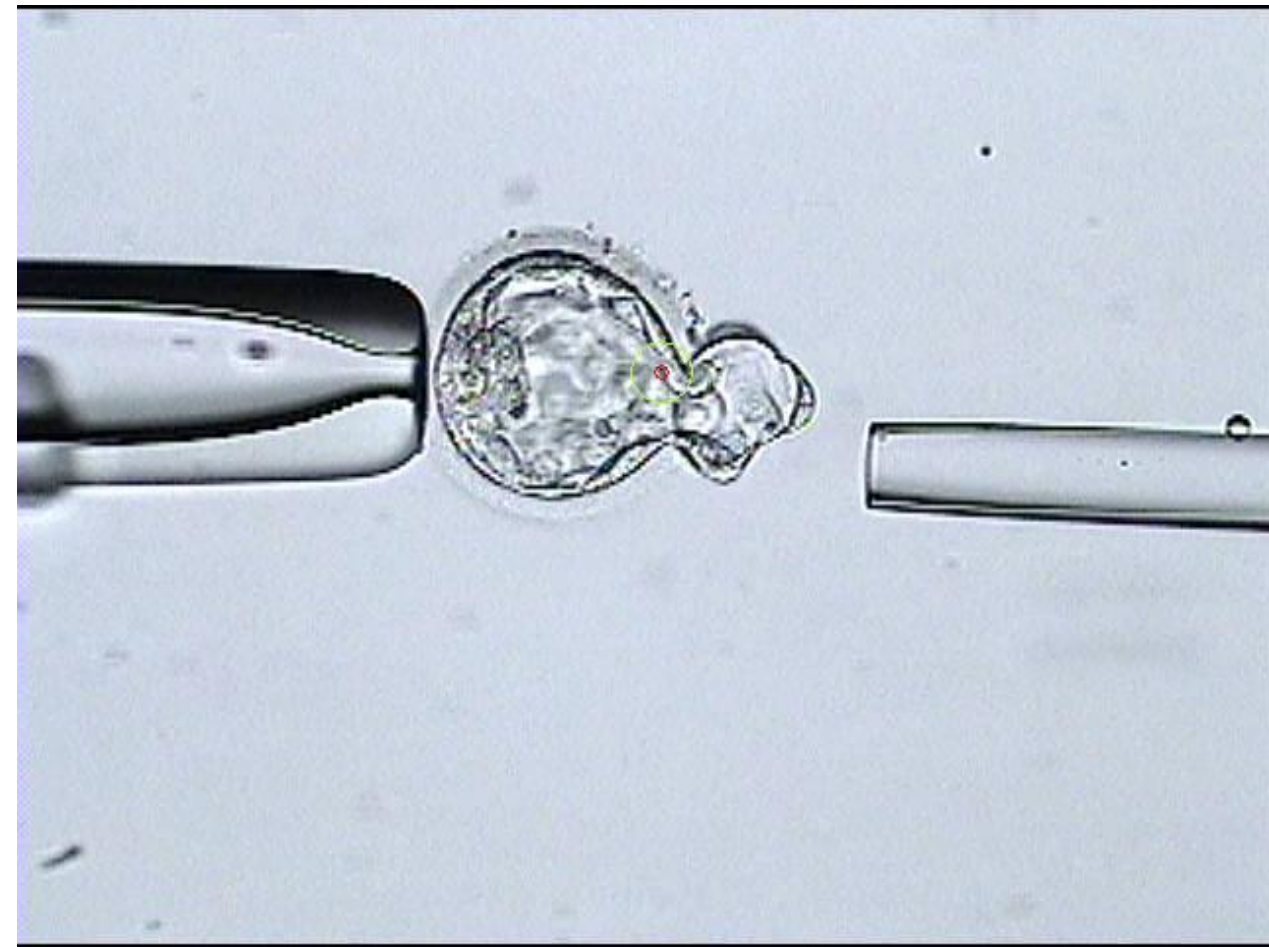
患者: 37.8歳 (range 37.3-38.6)

TE biopsy, aCGH

2.着床前胚の遺伝学的検査

PGT-A ステップ①
胚生検

生検方法③(動画、胚盤胞)



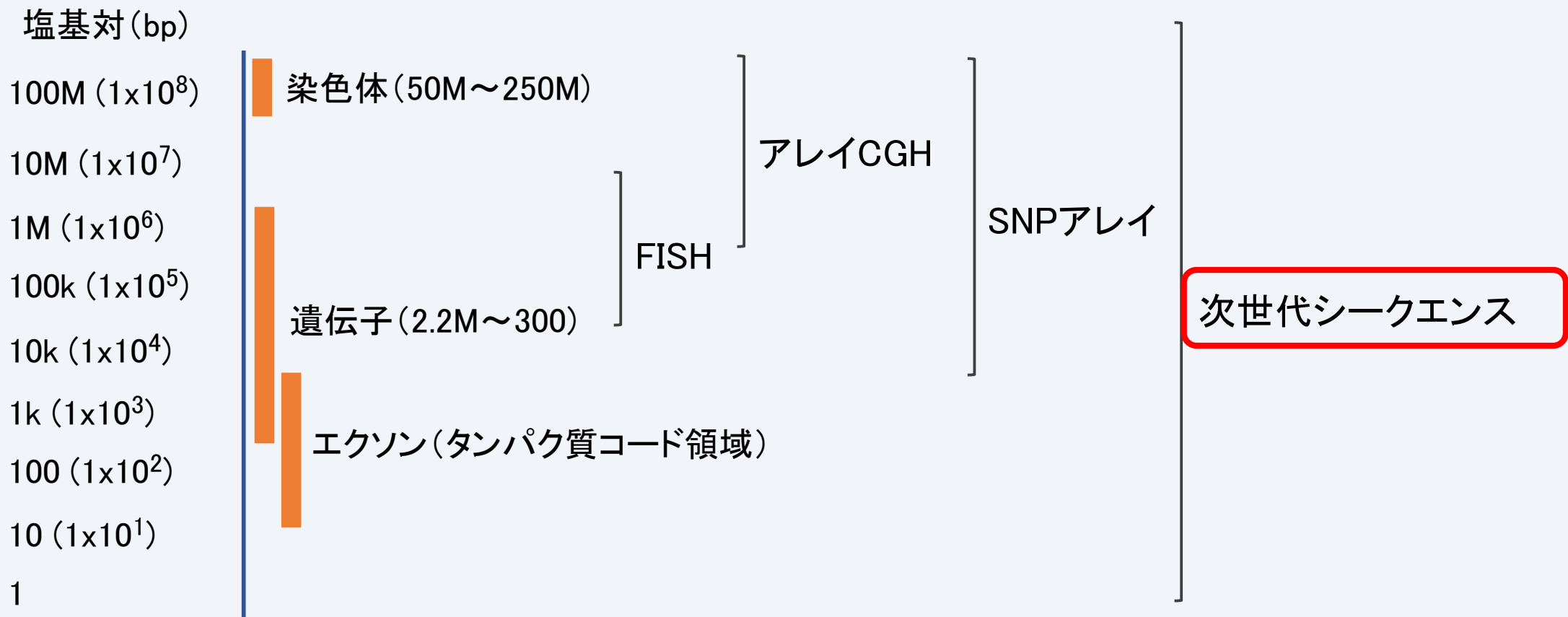
Flicking method
(フリック法)



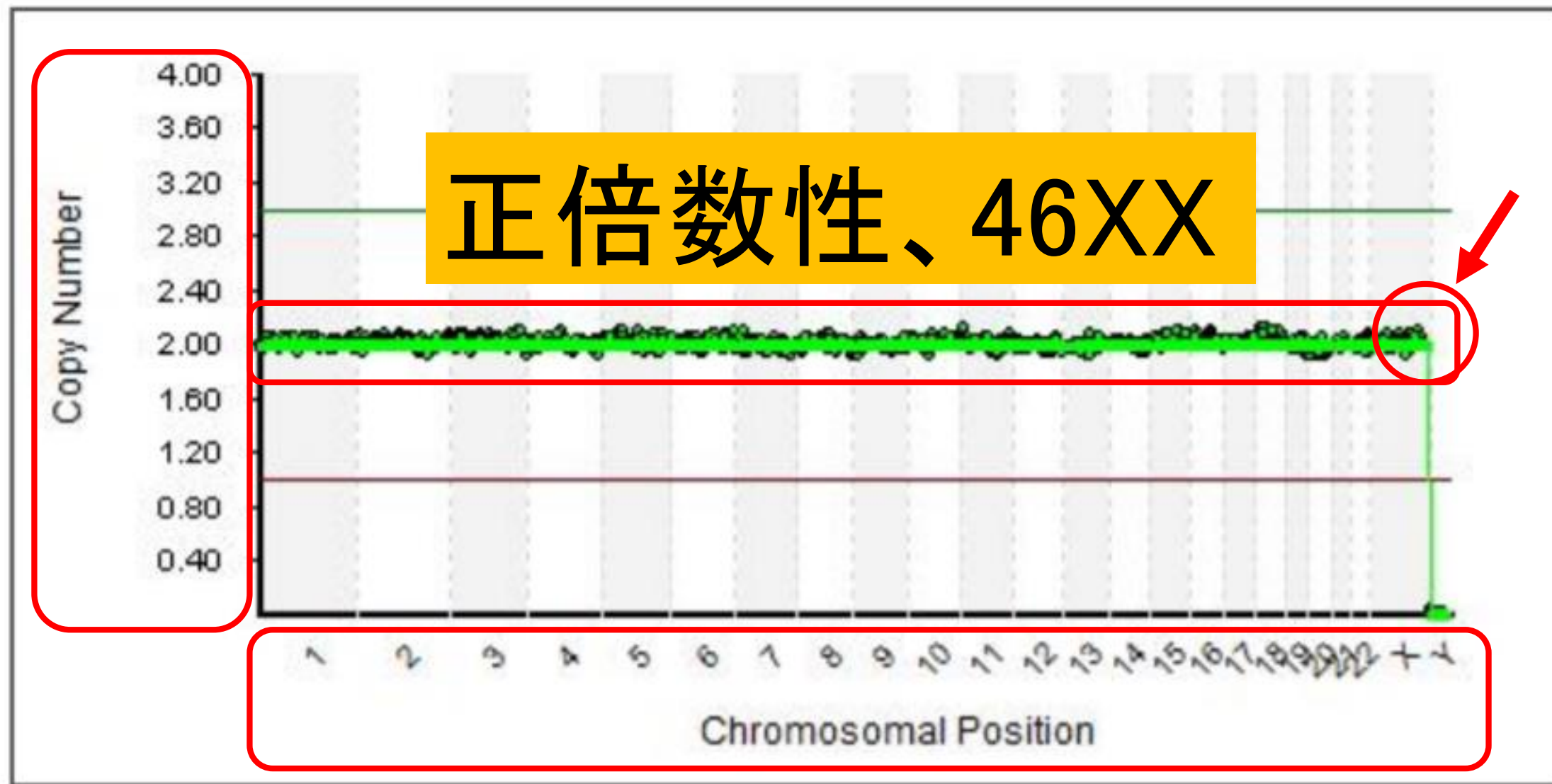
Pulling-stretching method
(レーザー法)

PGT-A ステップ②
遺伝学的解析

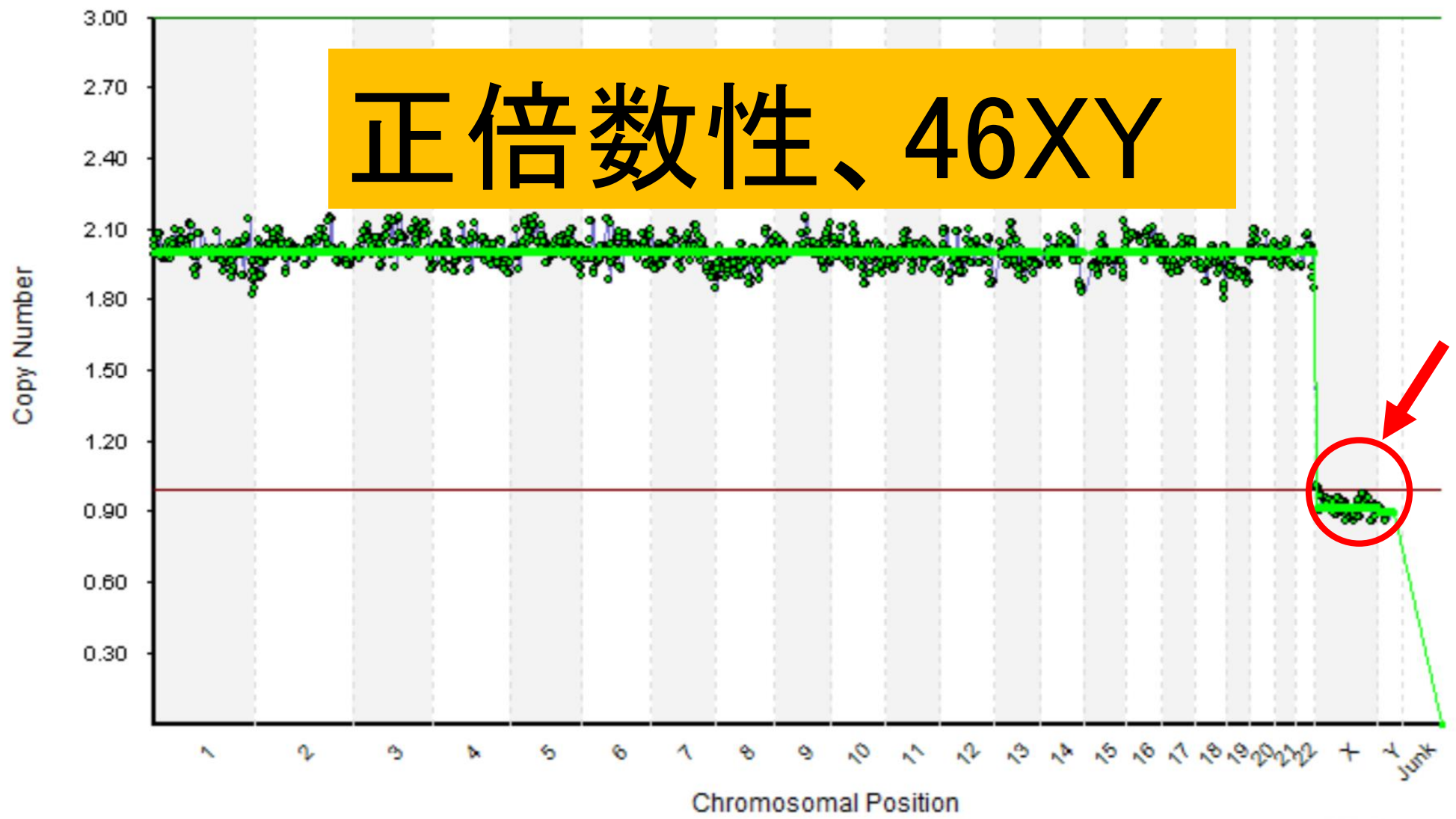
着床前胚の遺伝学的解析方法の種類と解析可能域



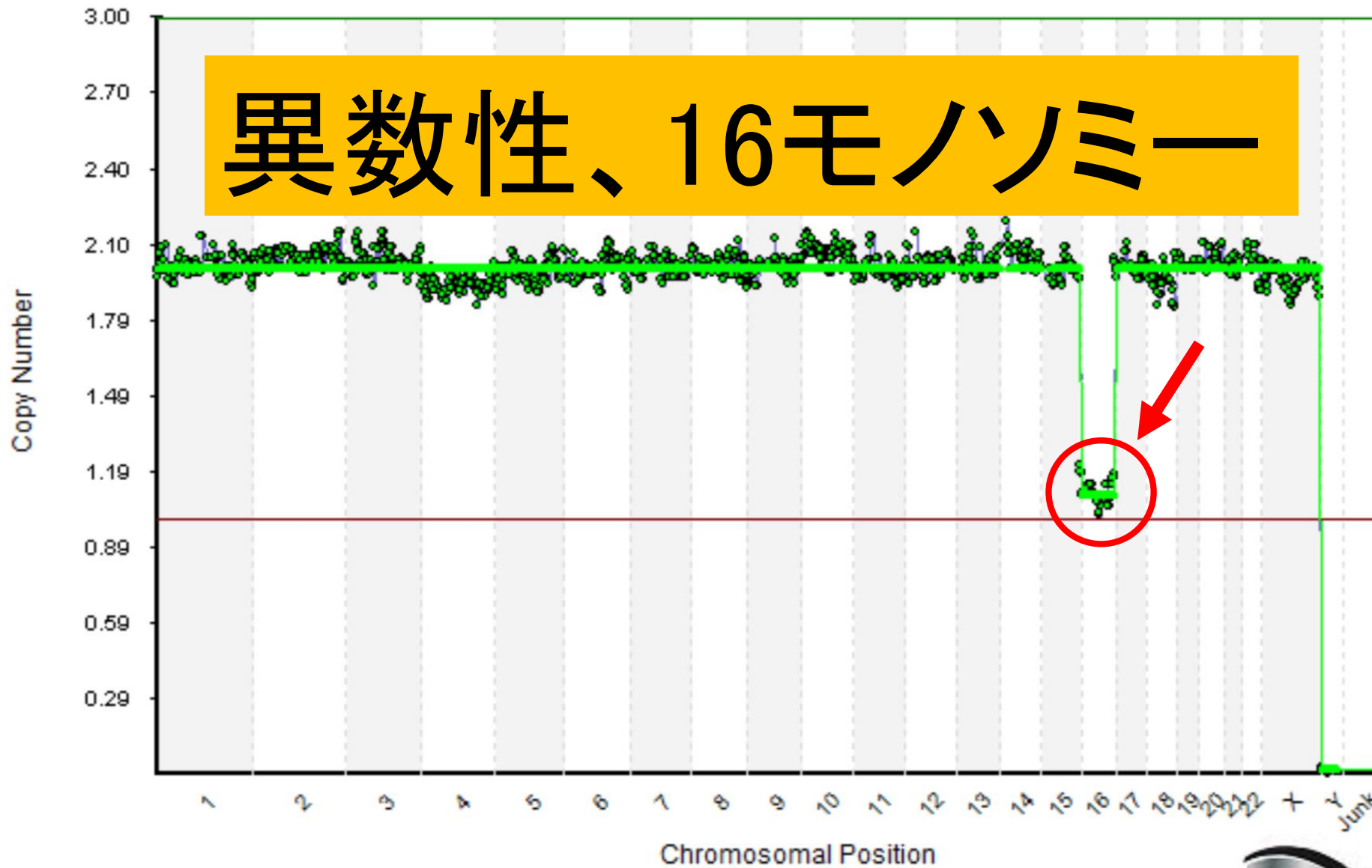
次世代シーケンス解析 (Next generation sequencing: NGS)法による解析結果

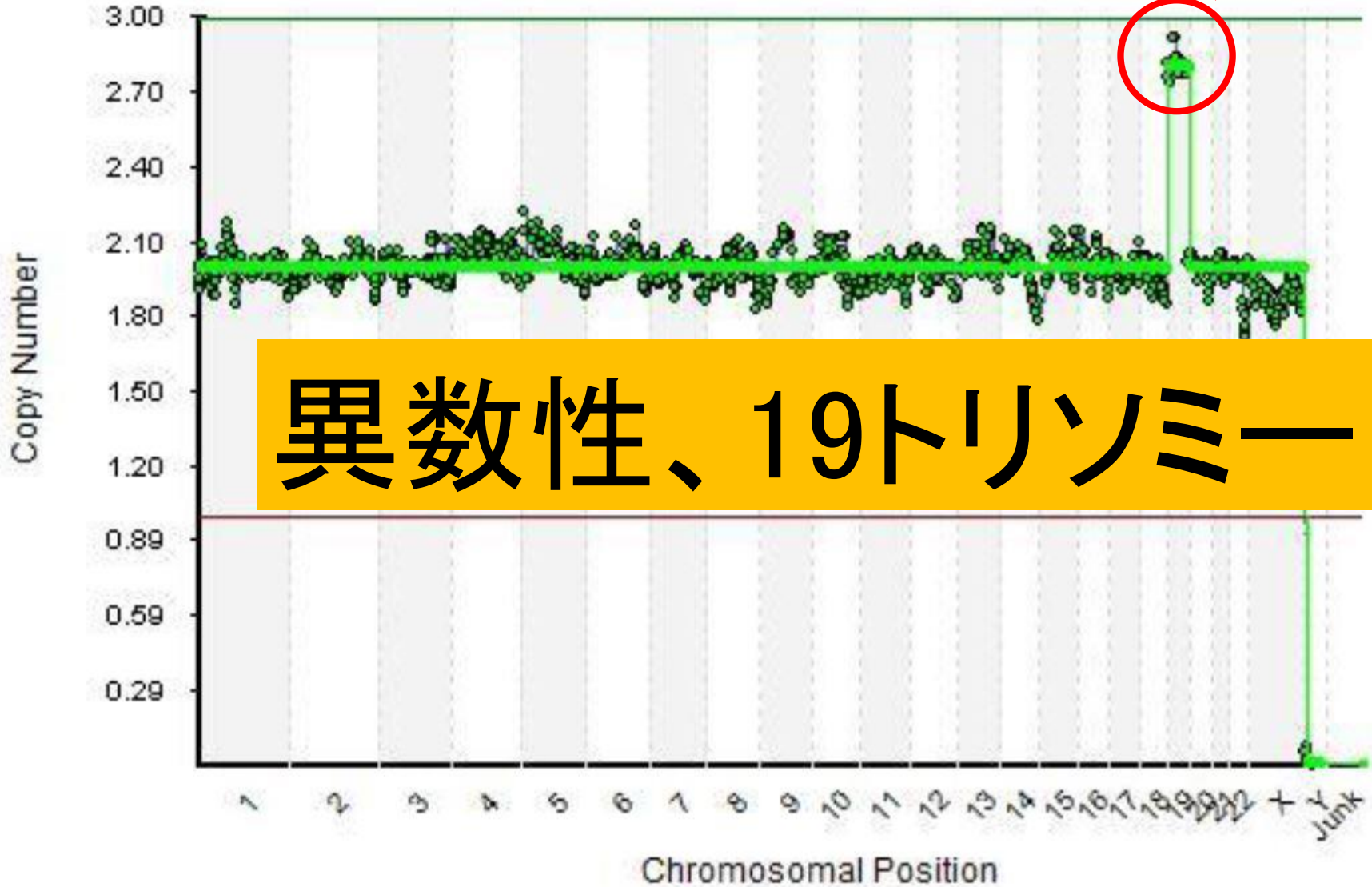


正倍数性、46XY



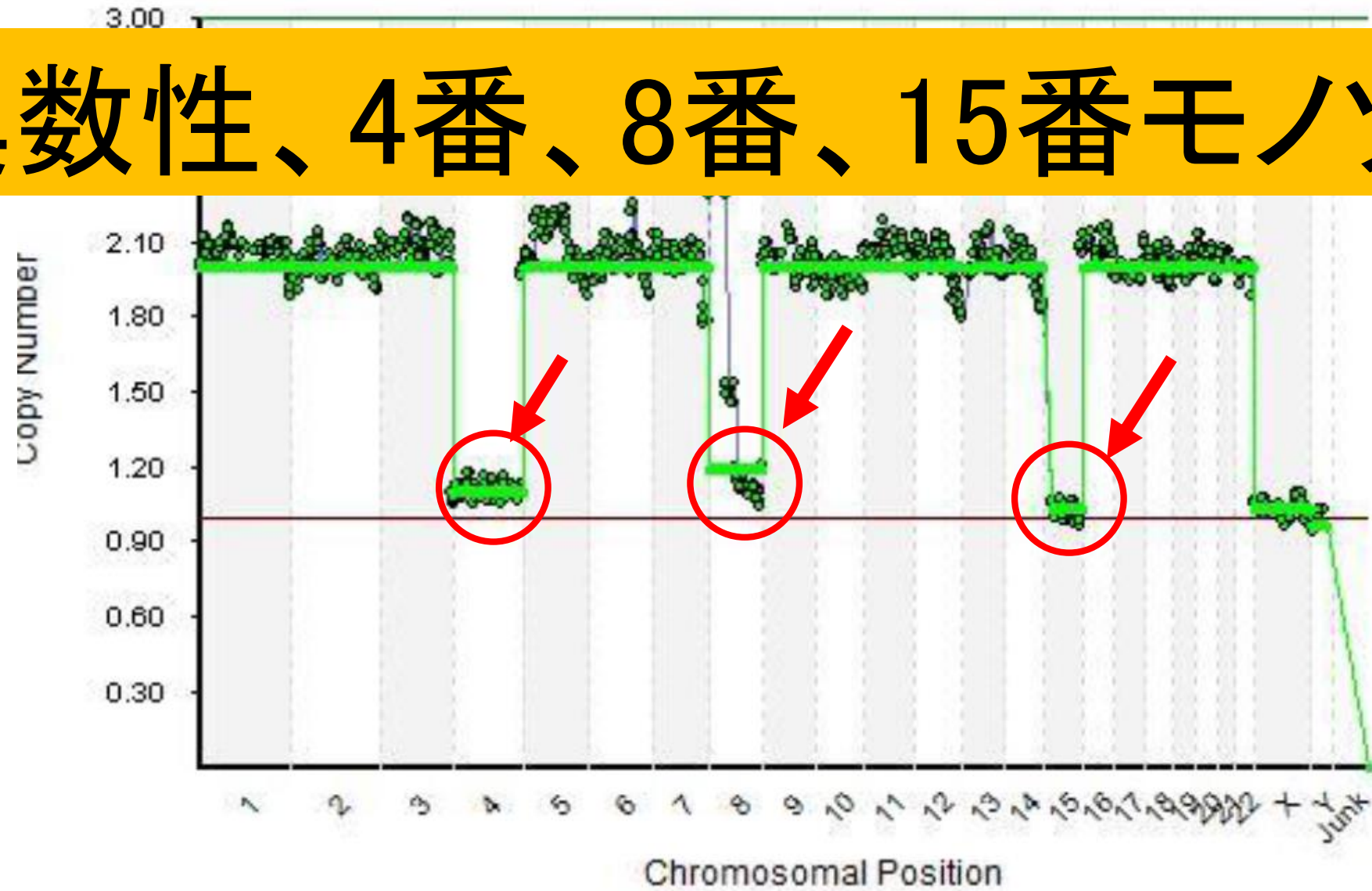
異数性、16モノソミー



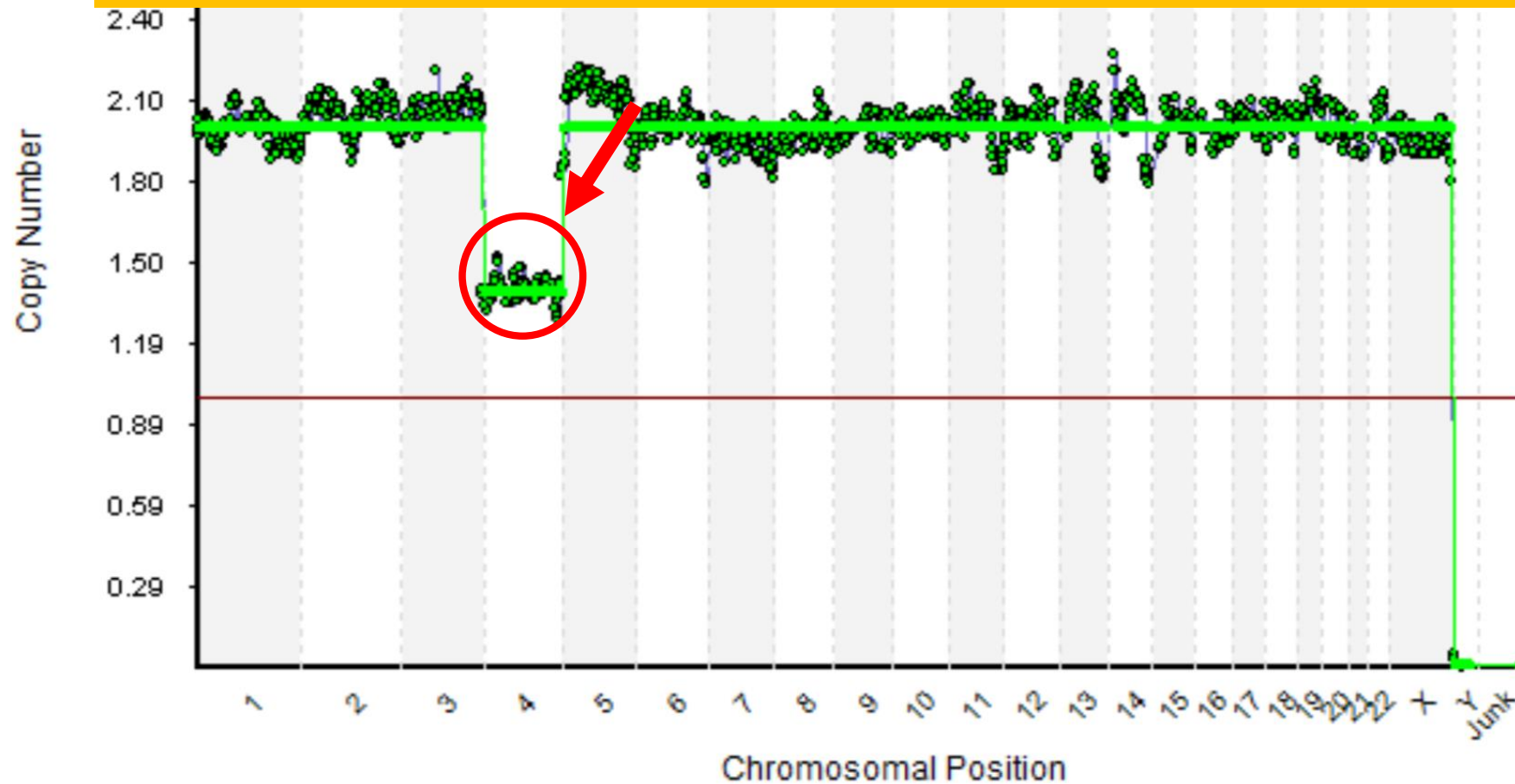


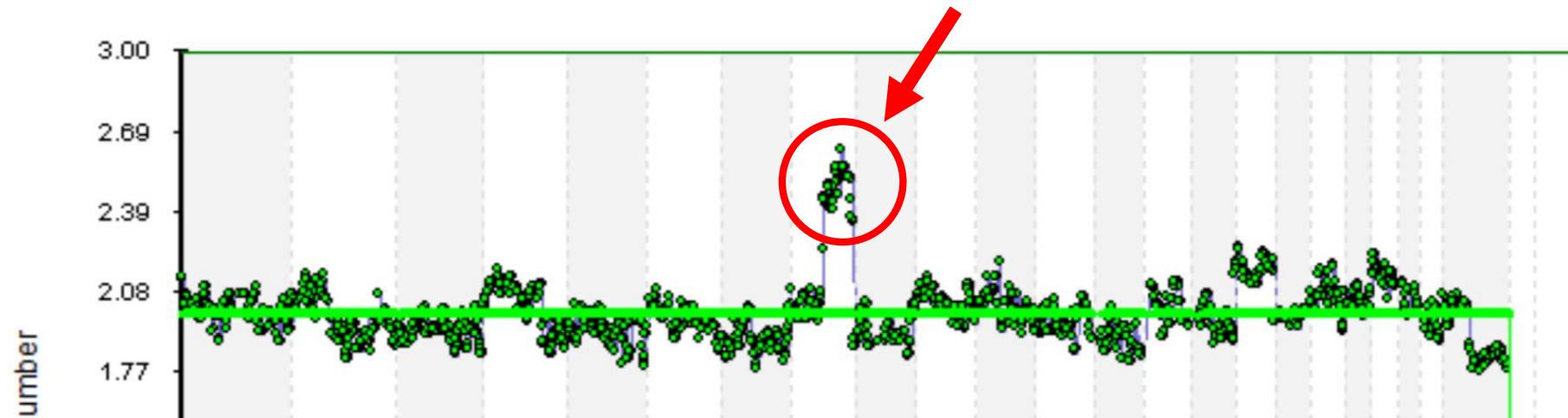
異数性、19トリソミー

異数性、4番、8番、15番モノソミー

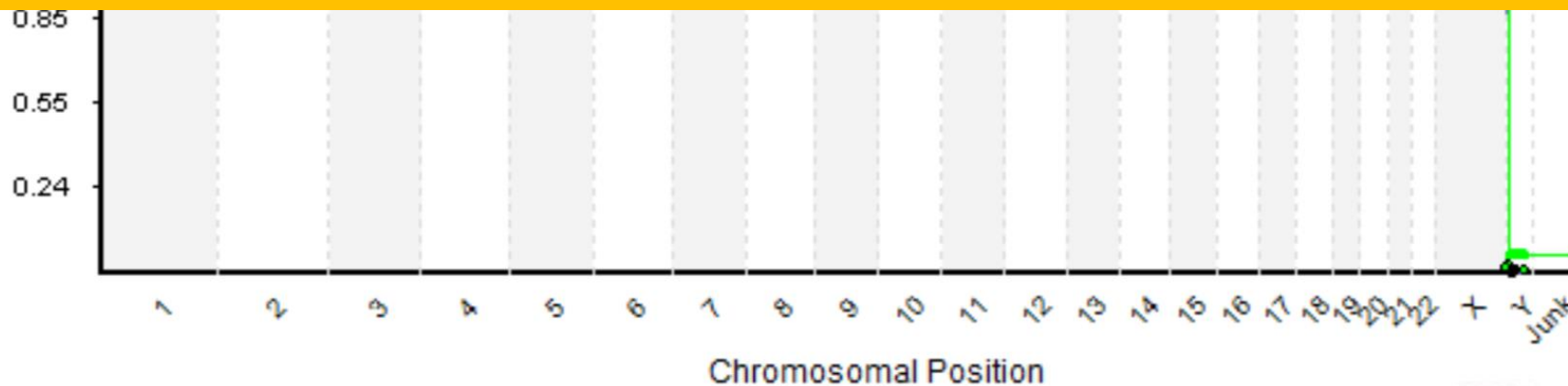


4番染色体モザイク(60%)



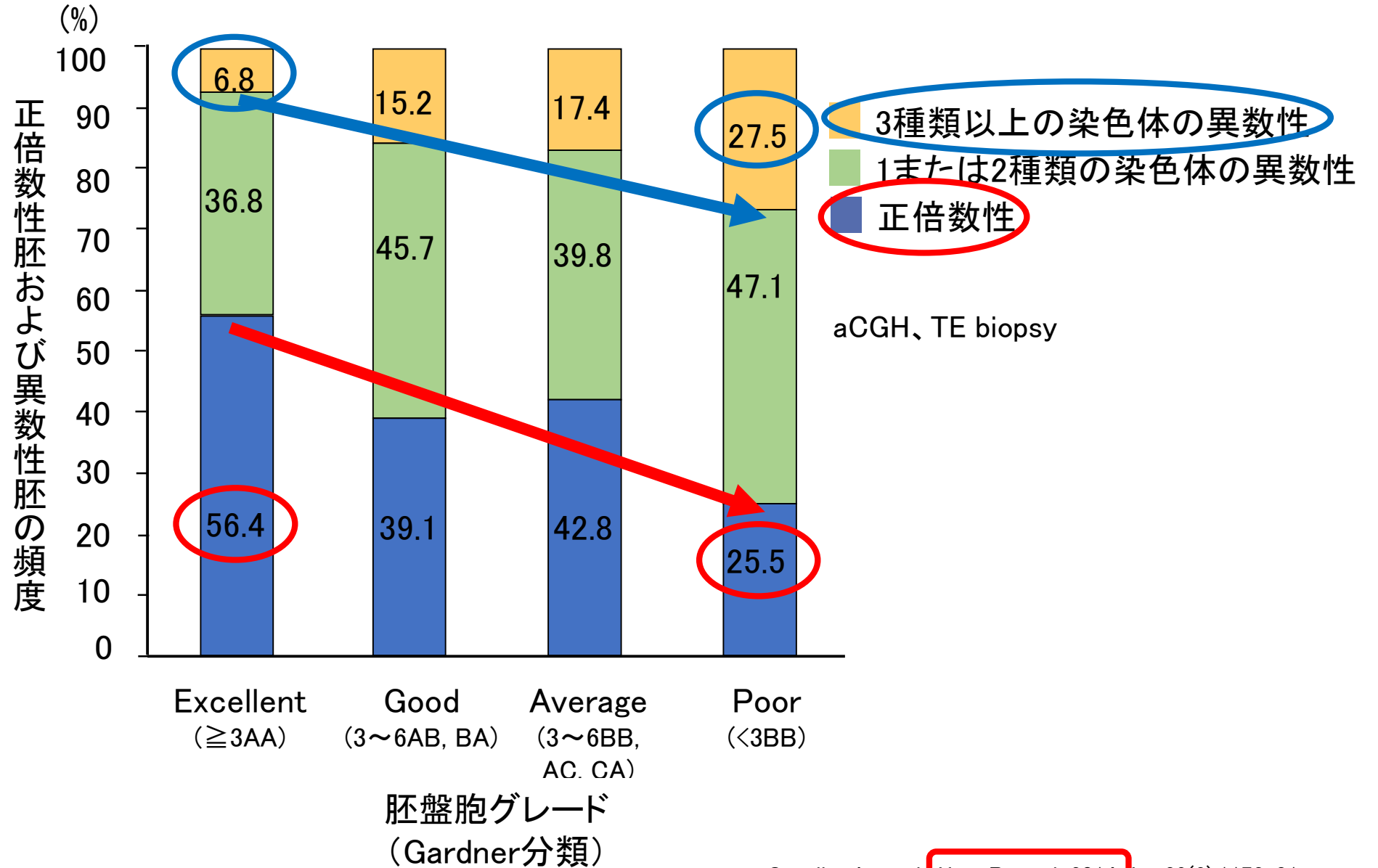


8番染色体部分的モザイク(50%)

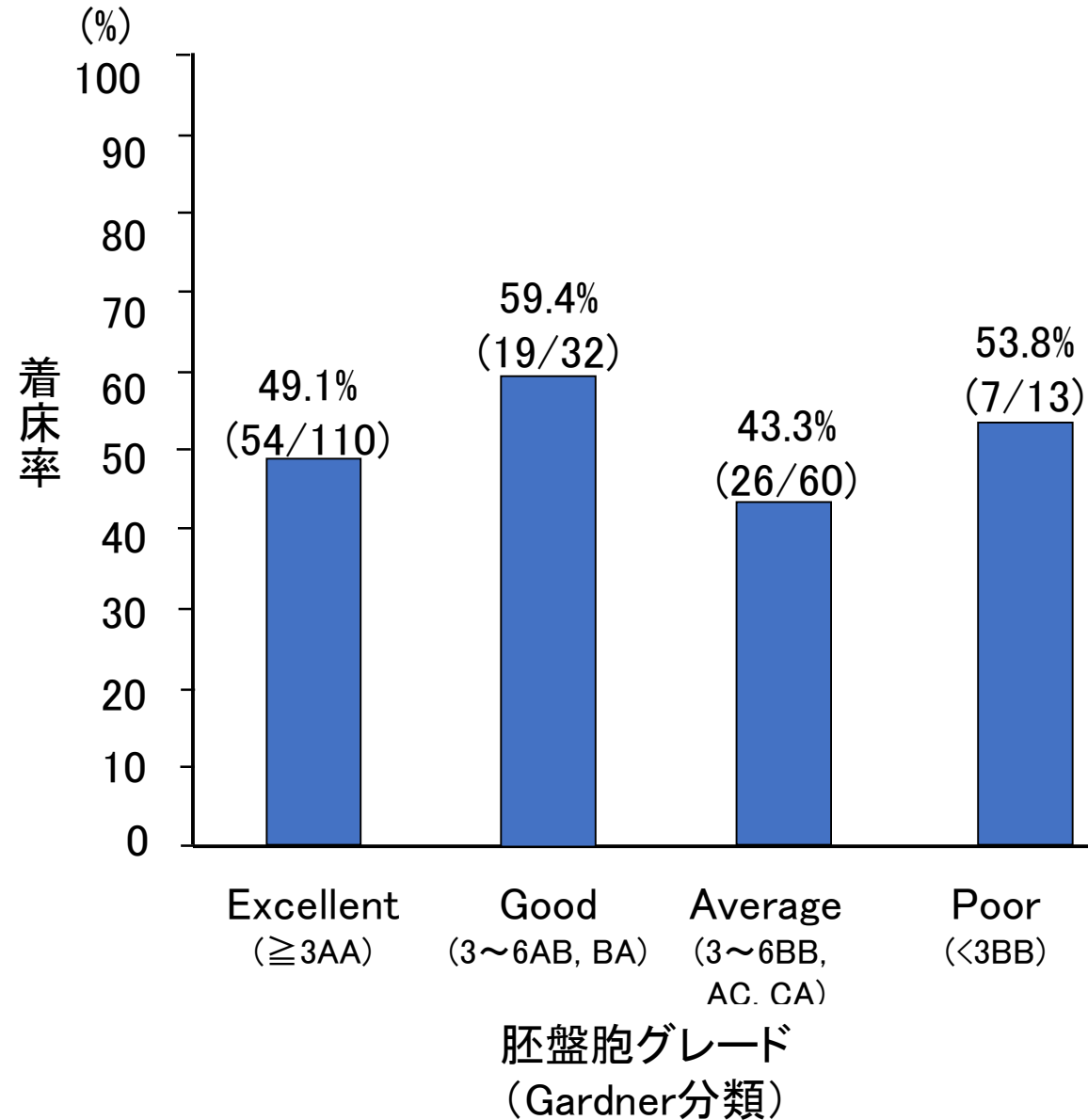


PGT-A ステップ③
移植胚の選択

胚盤胞グレードと倍数性

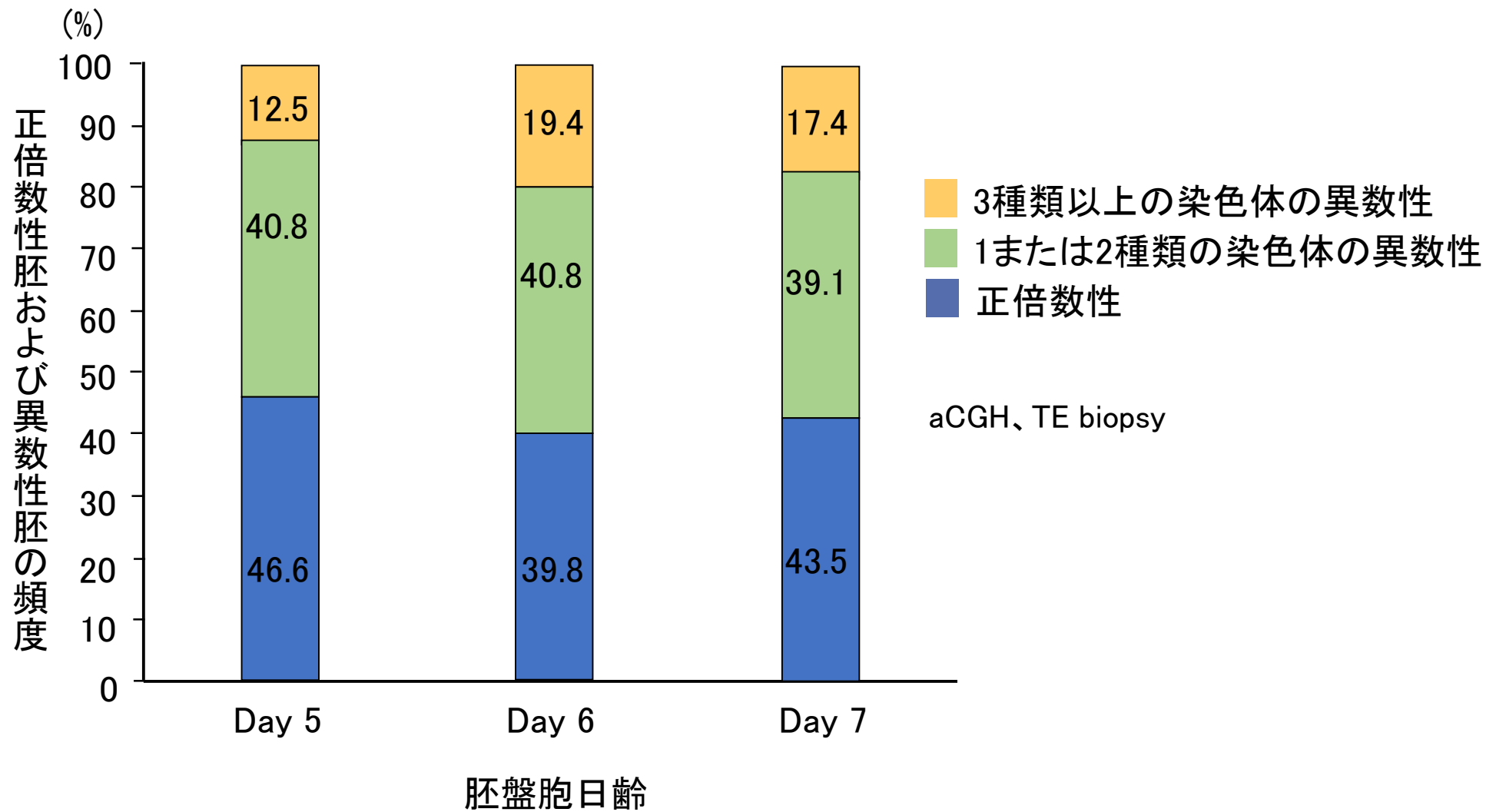


正倍数性胚盤胞の形態学的分類と着床率



aCGH、TE biopsy
女性年齢: 37.8歳

胚盤胞日齢と倍数性



～仮想症例～

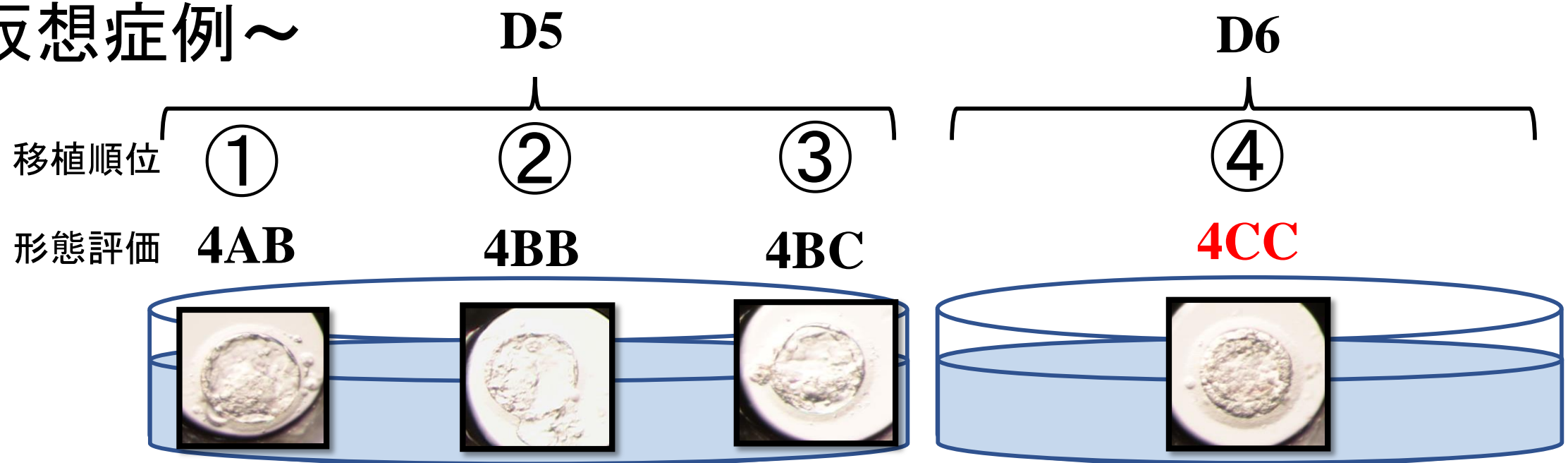
年齢 : 39歳

不妊原因 : 男性因子 (高度乏精子症、原発性不妊症)

治療歴 : 採卵2回、胚移植6回、臨床的妊娠2回 (いずれも流産)
化学的流産1回

今回の治療 : アンタゴニスト法
採卵 10個 (成熟卵 7個)
ICSI→2PN2PB 6個
胚盤胞培養実施

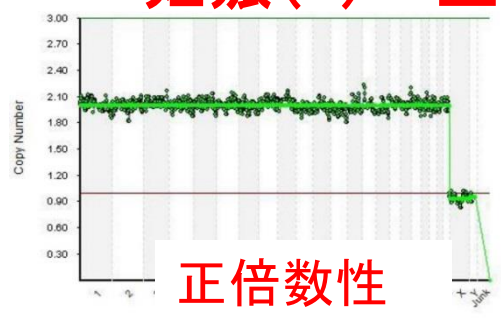
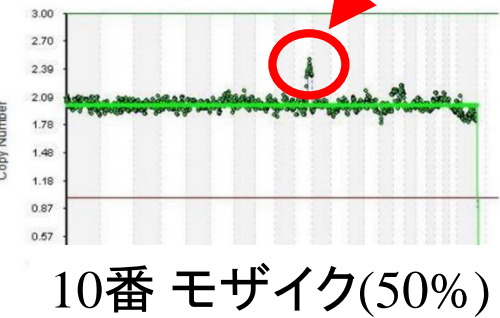
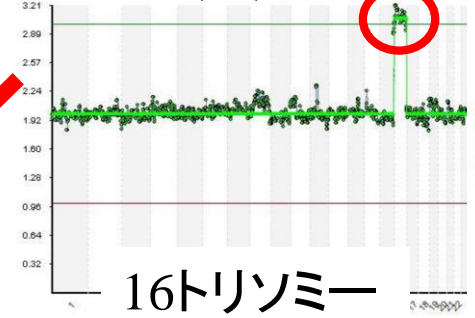
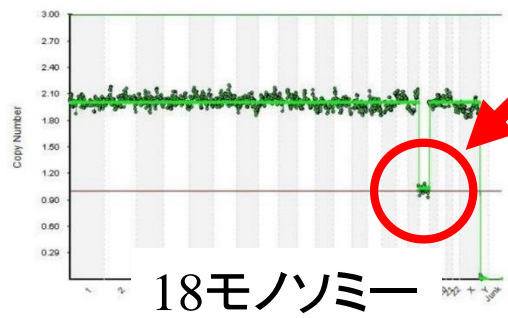
～仮想症例～



1回目胚移植 2回目胚移植 3回目胚移植 4回目胚移植

もし PGT-Aを実施していたら

妊娠(-) 流産 流産 妊娠(+)->生産(健児)



3.PGT-AとART成績

PGT-Aの生児獲得率に対する効果 (FISH法, meta-analysis)

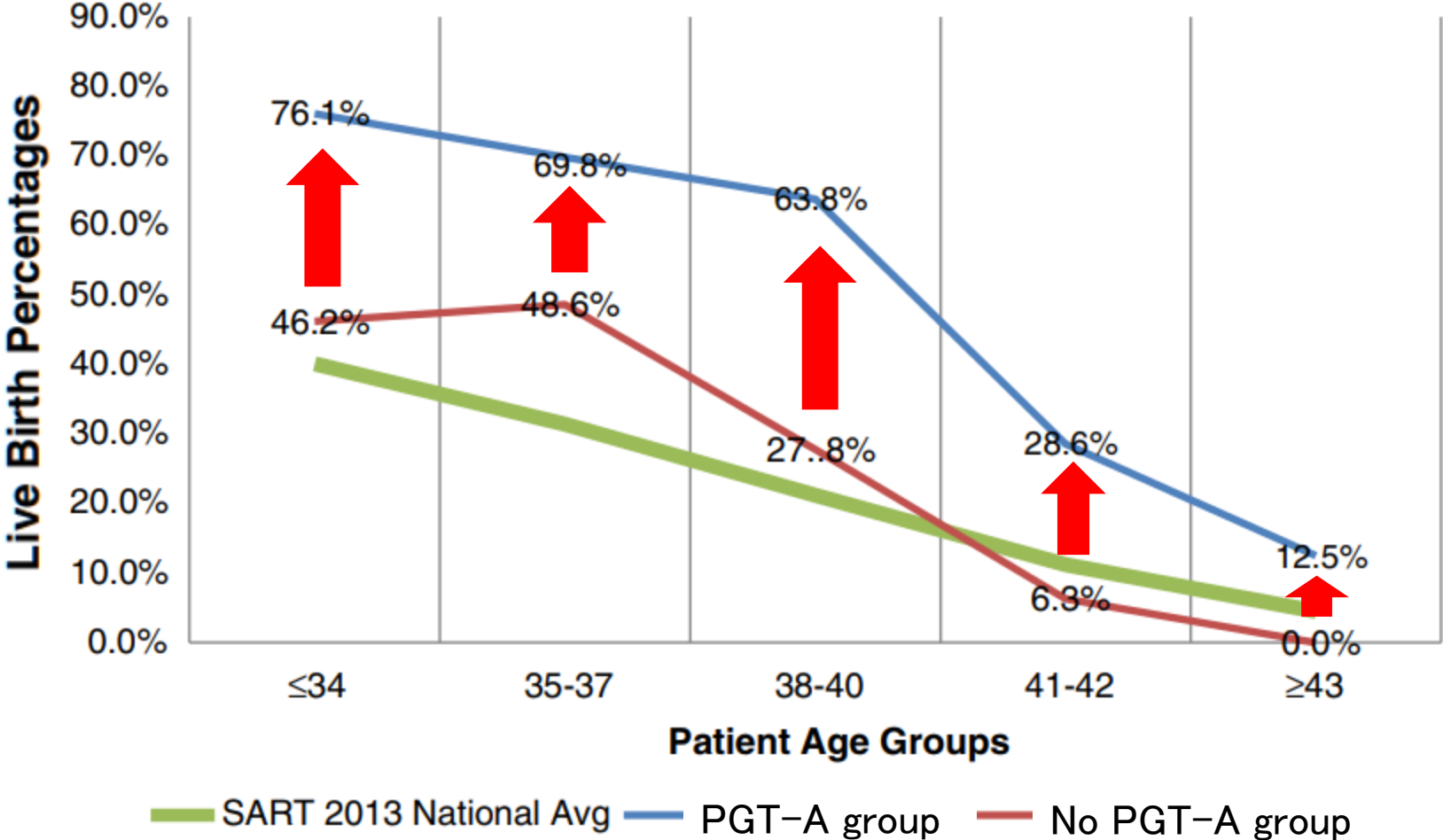


*1: 35歳以上

*2: 正常核型、39歳未満など

年齢別 PGT-AとART成績

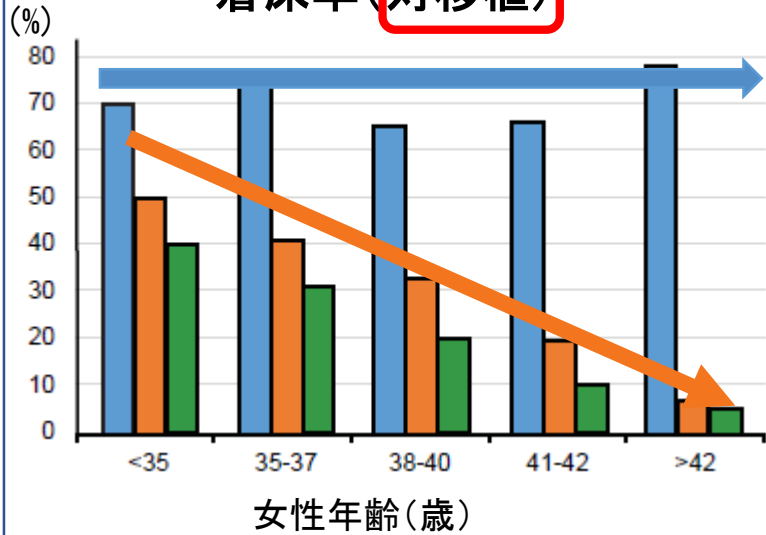
aCGH,
TE biopsy,
cryo ET



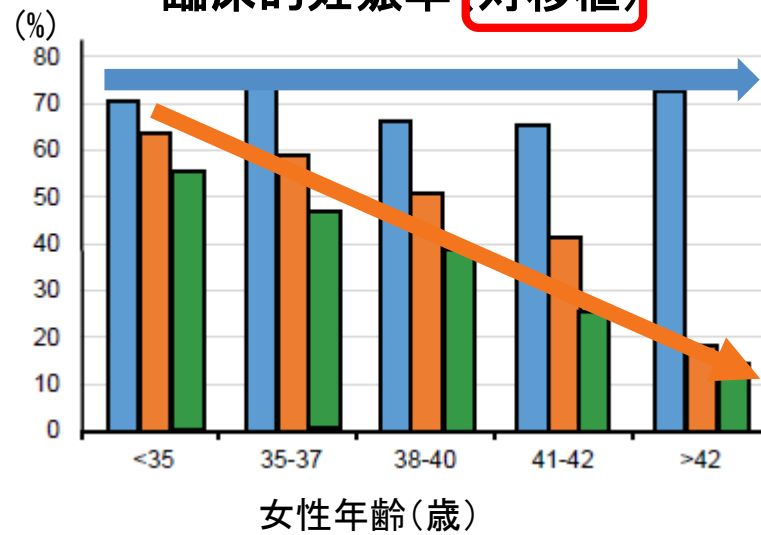
SART: Society for Assisted Reproduction Technology (in United States)

着床率、妊娠率、生児獲得率に対するPGT-Aの有用性

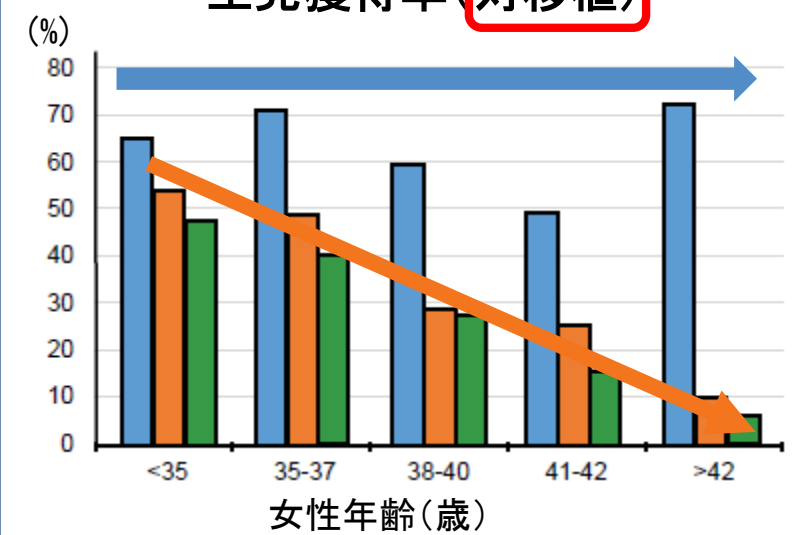
着床率 (対移植)



臨床的妊娠率 (対移植)



生児獲得率 (対移植)

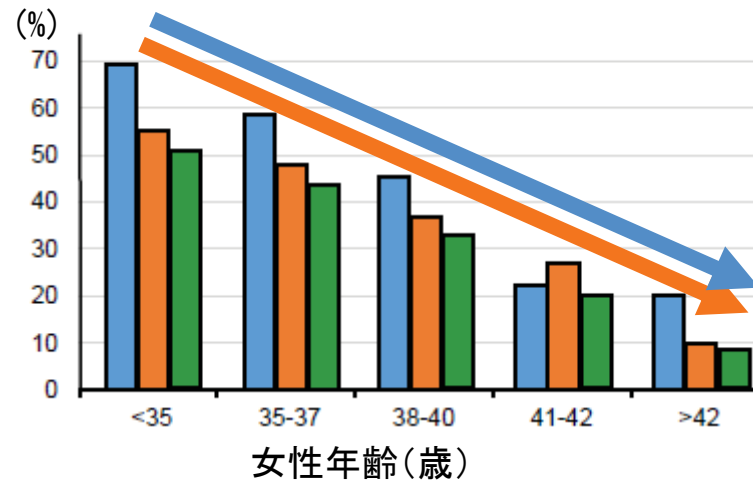


- 凍結胚融解移植 (PGT-A*実施)
- 凍結胚融解移植 (PGT-A実施せず)
- 新鮮胚移植 (PGT-A実施せず)

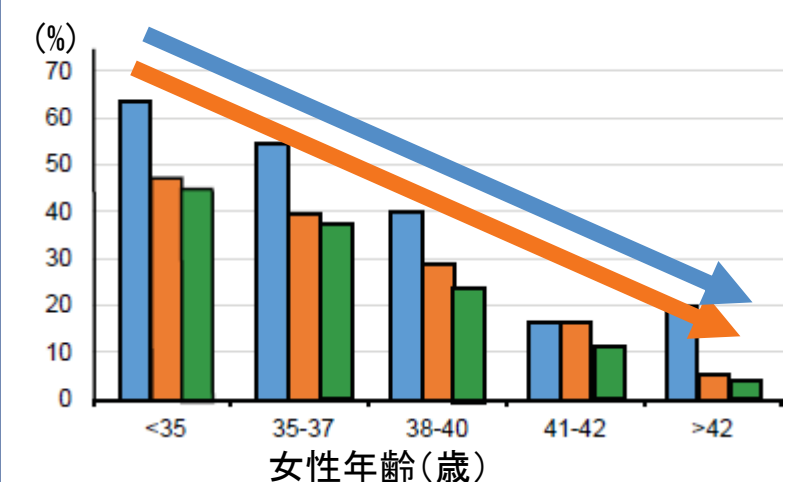
*24-chromosome

SNP-based PGT-A,
TE biopsy



臨床的妊娠率 (対採卵)



生児獲得率 (対採卵)



反復流産に対するPGT-Aの有用性

Parameter	IVF/PGS (n = 158 attempts)	IVF/No PGS (n = 40 attempts)	P-Value
Maternal age (year)	37.3 ± 3.9	37.6 ± 4.3	0.67
No. oocytes per cycle	16.6 ± 8.5	11.9 ± 7.9	0.003 ^c
No. 2PN embryos per cycle	9.8 ± 5.5	5.6 ± 5.0	<0.001 ^c
No. Blastocysts per cycle	5.7 ± 3.2	1.7 ± 2.3	<0.001 ^c
Clinical pregnancy rate ^a n (%)	72 (46)	16 (40)	0.60
LB rate ^a n (%)	57 (36) 	6 (15)	0.01 ^d
CM rate ^b n (%)	10 (14) 	8 (50)	0.003 ^d
Cycles with surplus embryos n (%)	89 (56)	21 (53)	0.72
Mean no. surplus embryos, cumulative per patient	2.2 ± 2.6	3.0 ± 4.6	0.22

Data are mean ± SD unless stated otherwise.

^aRate calculated per attempt, defined previously.

^bRate calculated per pregnancy.

^cStatistically significant for $P < 0.05$, unpaired two-tailed Student's t test.

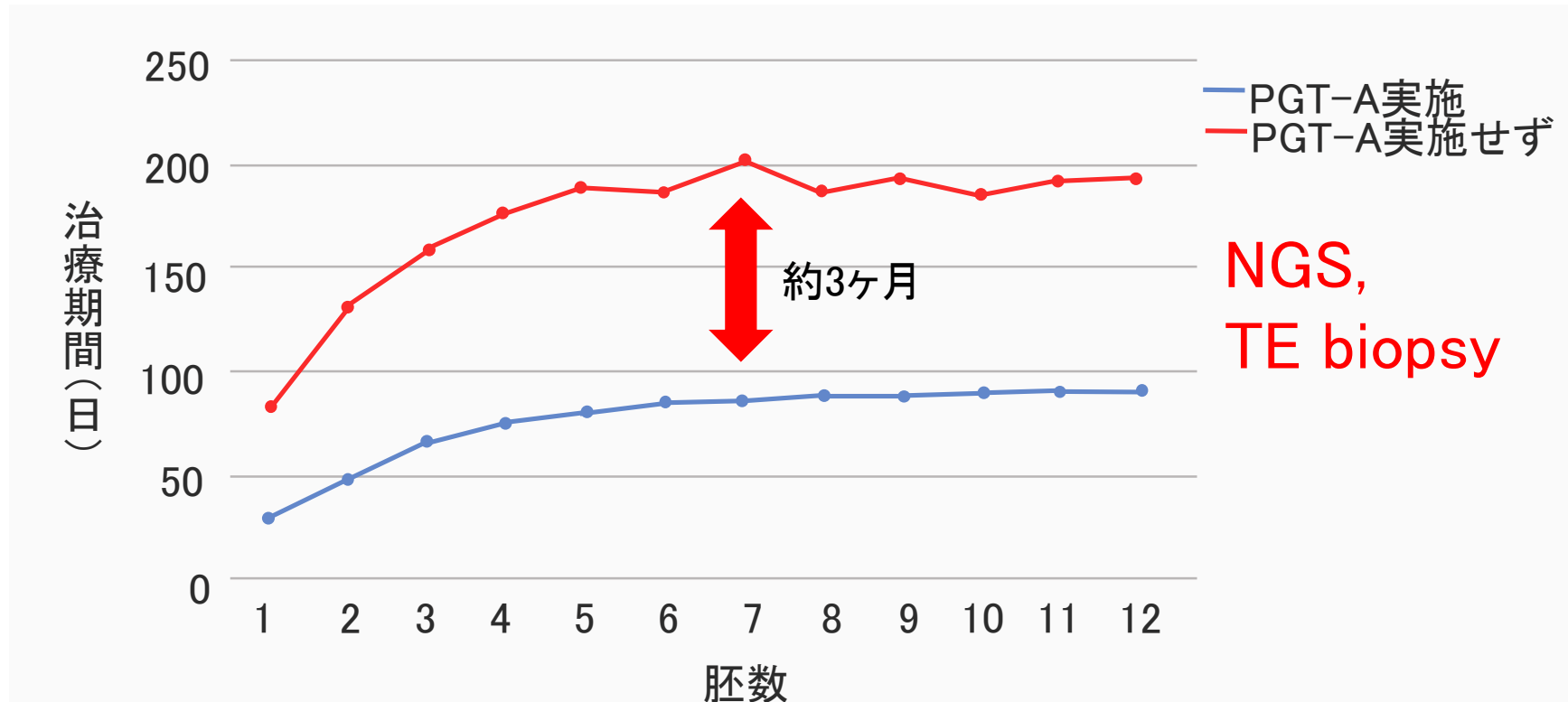
^dStatistically significant for $P < 0.05$, Fisher's exact test.

CM: clinical miscarriage

患者背景: 2回以上の流産(妊娠6~20週)、37.1歳

aCGH,
TE biopsy,
cryo ET

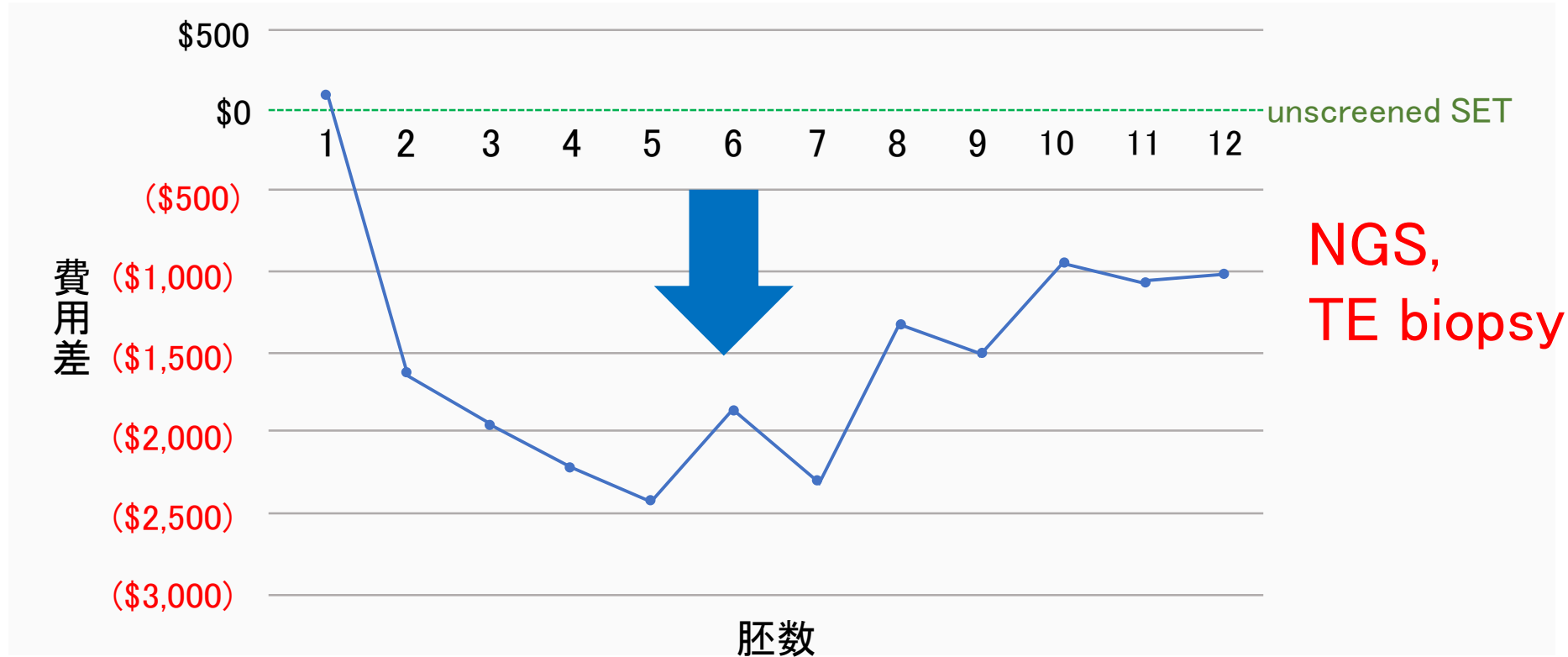
PGT-A実施と最終転帰までの治療期間



エンドポイント: 生児獲得か、または同採卵周期の全てのコホート胚を胚移植したことによる終了のいずれか。
異数性胚は胚移植せず。

PGT-A実施と最終転帰までの費用

(Euploid single embryo transfer (SET) vs. unselected SET)



エンドポイント: 生児獲得か、または同採卵周期の全てのコホート胚を胚移植したことによる終了のいずれか。

含まれる費用(US \$): ①PGT-A (TE生検: \$1,000、PGT-A(NGS)/胚: \$150)

②新鮮胚移植: \$1,050

③胚凍結: \$1,000

④凍結胚融解移植周期: \$3,812

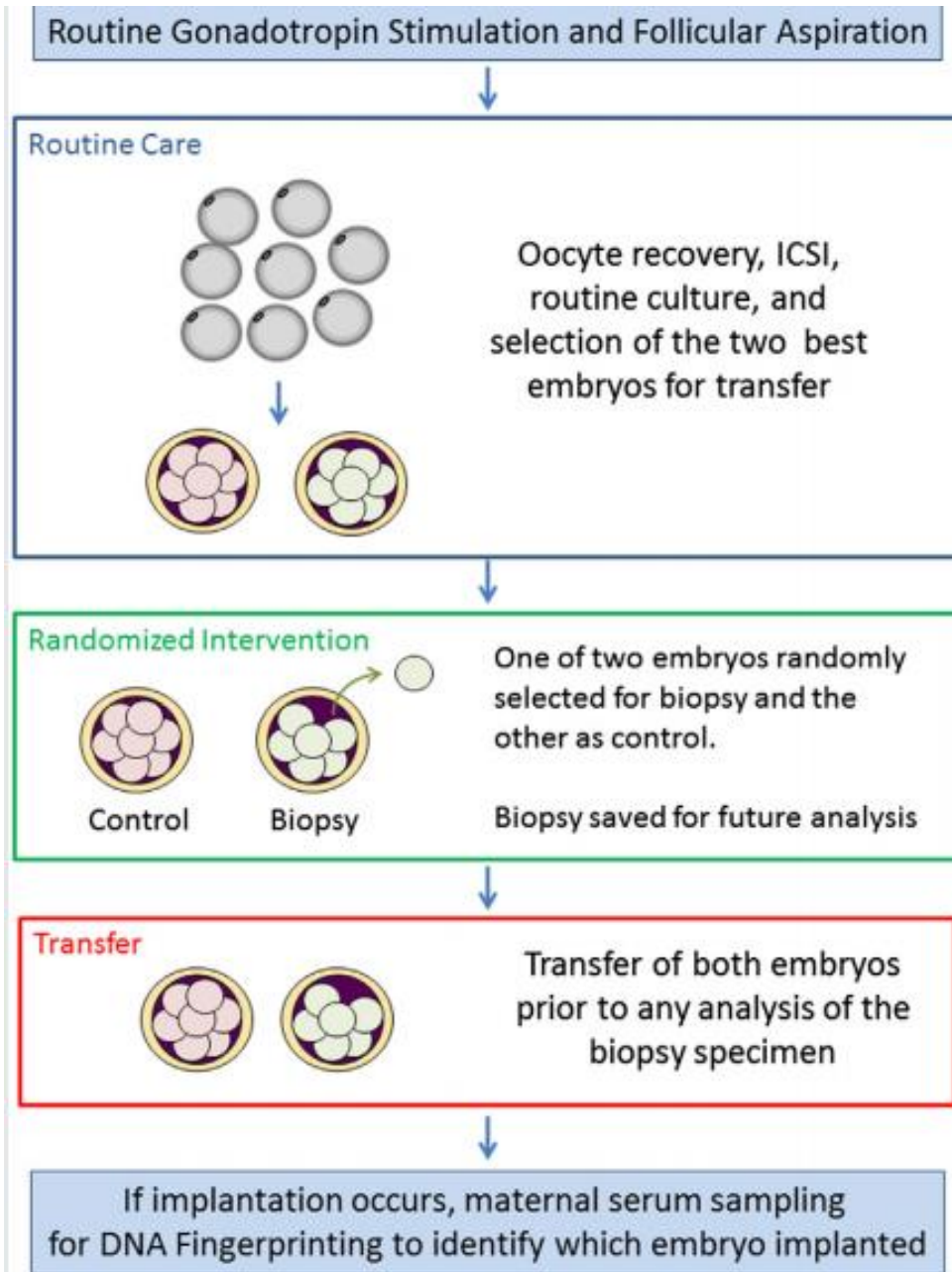
⑤D&C: \$1,304

4.PGT-Aの課題

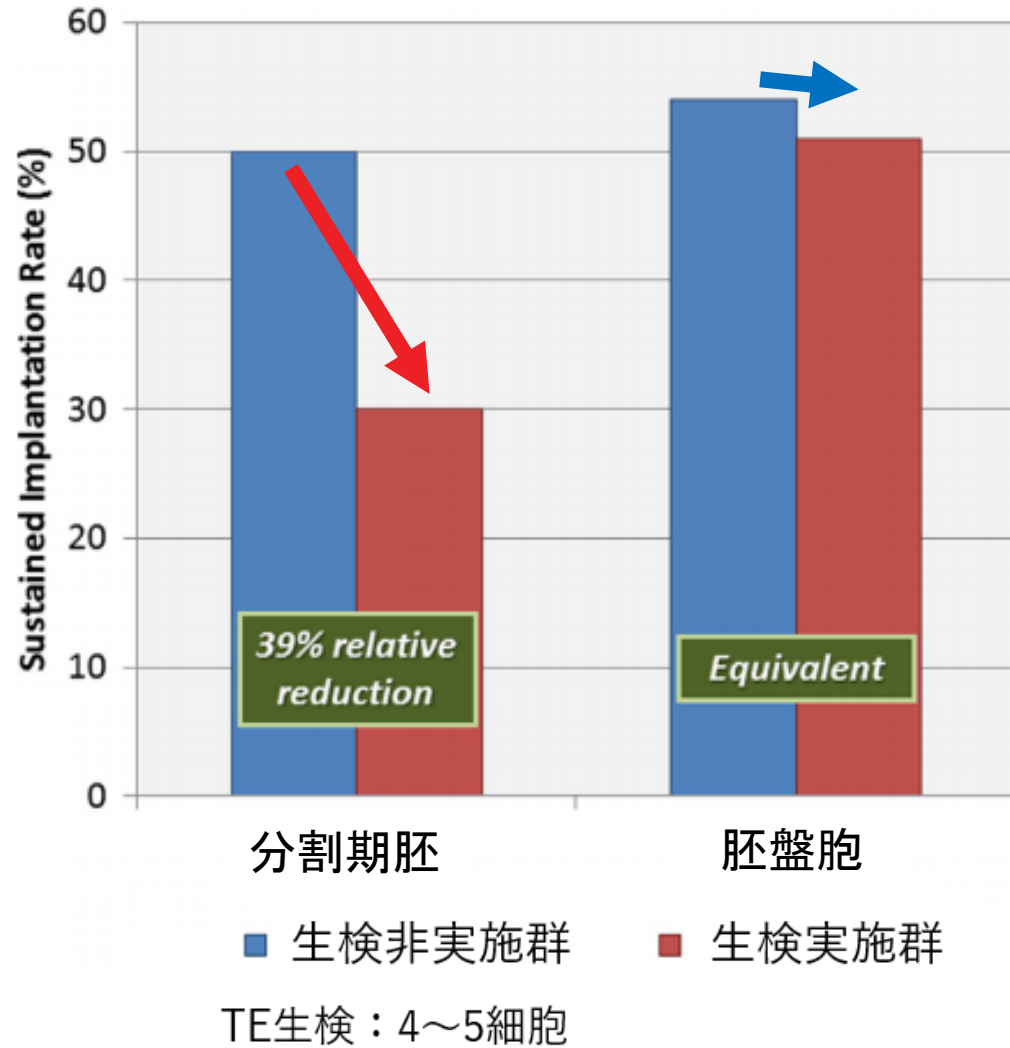
PGT-Aにより生じる課題

- ①細胞生検による胚へのダメージ
- ②モザイク胚の取り扱い
- ③正診性
- ④児の長期フォロー

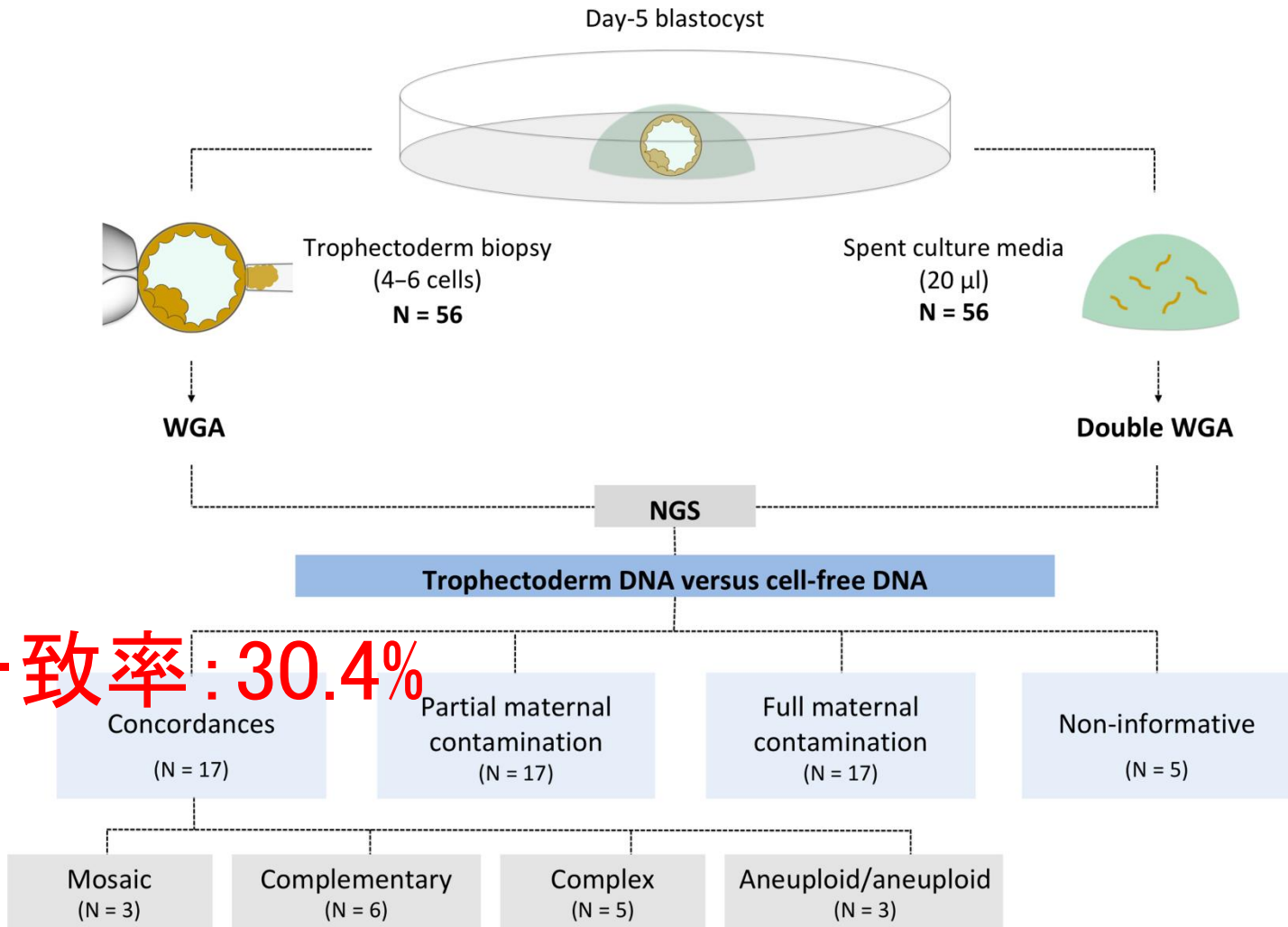
①細胞生検による胚へのダメージ



割球生検、胚盤胞生検後の着床率



培養液中のcell free DNAによる着床前診断(NGS法)



一致率: 30.4%

Table 1 Concordance of trophectoderm DNA and cell-free DNA (N = 56).

Sample	Trophectoderm DNA	Cell-free DNA
<i>Concordances</i>		
<i>Aneuploid-mosaic</i>		
CL640 ⁺	-15 XY	-15mos XY
CL660 ⁺	-21 XY	-21mos XY
CL838	-4 XY	-4mos XYY
<i>Aneuploid-complementary</i>		
CL668 ⁺⁺	-15 -16 XY	+15mos +16mos XX
CL676 ⁺⁺	+10 +15 XX	-10 -15 XX
CL678 ⁺⁺	+19 XX	-19mos XX
CL696 ⁺⁺	+15 XY	-15mos XX
CL842 ⁺⁺	-11 -13 XX	+11 +13 XX
CL852 ⁺⁺	-15 XX	+15 XX
<i>Aneuploid-complex</i>		
CL710 ⁺⁺	+16 -19 XX	-1 +16 XX
CL750 ⁺	+16 -22 XY	+3 +4 +5 +6 -14p -22 XX
CL776 ⁺⁺	+14 -22 XY	-1p +20 +22 XX
CL850 ⁺⁺	-16 XY	-16 -17 XX
CL870	+2 -21 +22 XY	-22mos XX
<i>Aneuploid-aneuploid</i>		
CL628 ⁺	+6 -20 XX	+10 X0
CL700 ⁺⁺	+13q XX	+19 -22 XX
CL836 ⁺⁺	+17mos+22 XY	+16 +20q XX

胞胚腔液中のcell free DNAによる着床前診断(NGS法)

胞胚腔液、TE、ICMの染色体分析一致率(NGS法)

Comparison	Concordant	Partially concordant	Discordant
BF vs. ICM	40.0% (4/10)	30.0% (3/10)	30.0% (3/10)
BF vs. TE	40.0% (4/10)	40.0% (4/10)	20.0% (2/10)
TE vs. ICM	85.7% (12/14)	7.1% (1/14)	7.1% (1/14)

BF: 胞胚腔液、TE: 栄養外胚、ICM: 内部細胞塊

Tšuiiko O. et al., Fertil Steril. 2018 Jun;109(6):1127-34.

胚培養液や胞胚腔液を用いた着床前診断の注意点

1.培養液のサンプリング時期について

- ① sequential mediumやcontinuous mediumを使用することによるcell-free DNAへの影響が不明瞭
D3培養液交換によりcell-free DNAが減少する(増幅に影響する)可能性あり
胚盤胞培養液が異数性検査の精度が高い可能性あり
- ② 培養液交換により卵丘細胞や母体由来の細胞を除去することができるメリットあり
→ DNA増幅を考慮して、どの時期に培養液をサンプリングするかについて検討必要

2.cell-free DNAの由来について

- ① 母体由来のDNAのcontaminationが起こり得る → 卵丘細胞の厳密な除去が必要
- ② 父方由来のDNA contaminationを避けるためICSI胚が適切
- ③ 自己修復機構によって異数性細胞が培養液中に排出される可能性あり

3.DNA増幅法について

WGA法がcell-free DNA増幅に利用される頻度が高いが、増幅法の違いによる解析率に差がある

- ・MDA法: Genome coverageは広い(約70%)が、増幅バイアスが問題。
- ・PCR baseの増幅: Genome coverageが狭く(約40%)、配列依存性バイアスが問題。
- ・MALBAC法: Genome coverageが広い(~93%)。allele drop outが少ない。 → cell-free DNA解析に適している。

胞胚腔液や胚培養液を用いた着床前診断の問題点



胞胚腔液や培養液中のcell-free DNAと胚ゲノムの一致率の低さ

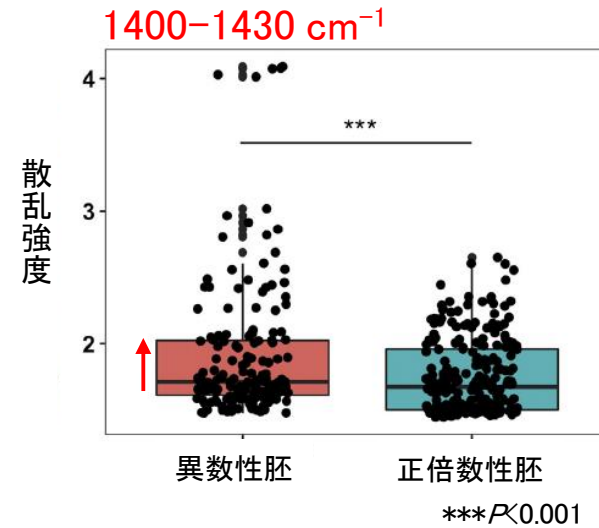
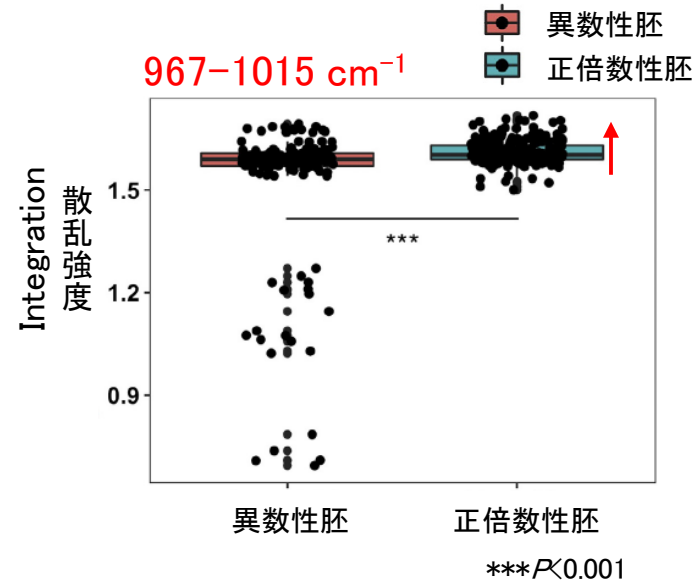
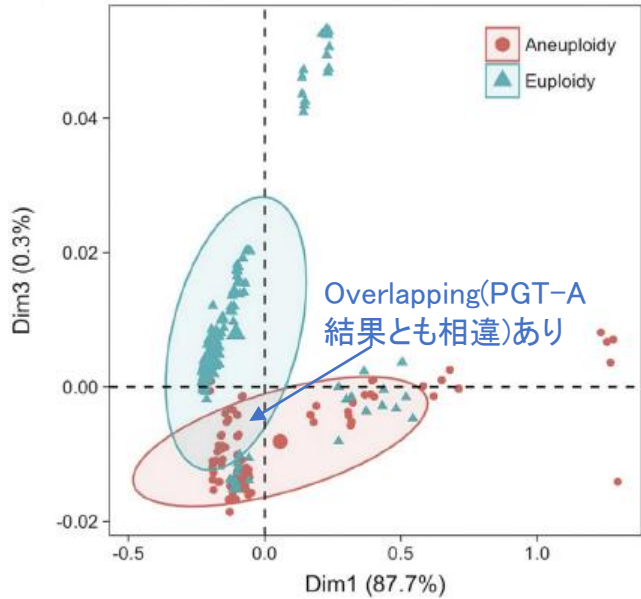
<要因>

- ①DNA量の少なさ
- ②DNAの質(完全性)の低さ
- ③母体由来DNAのcontaminationによる診断精度の低下
- ④モザイク胚由来DNAによる診断精度の低下
- ⑤cell-free DNAが全ゲノムを反映していない

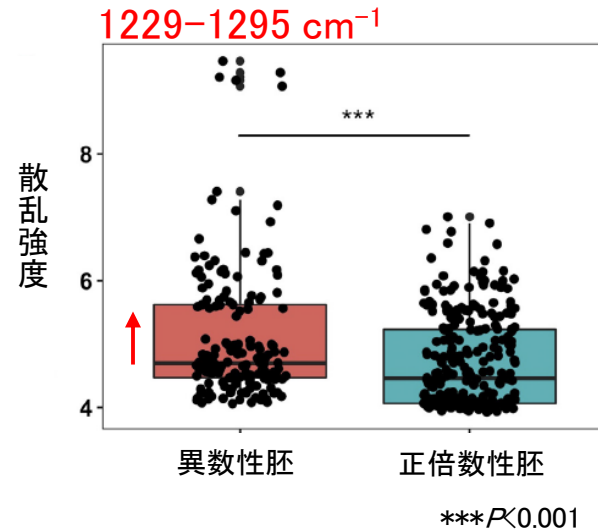
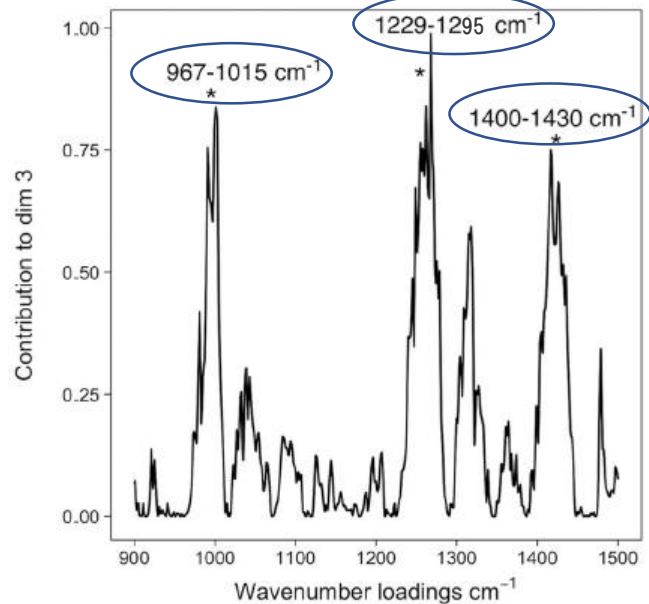


Cell-free DNAから胚全体を反映するゲノムの情報を得る方法の確立が必要

胚培養液を用いたラマン分光法による倍数性異常胚の検出



正倍数性胚と異数性胚で差がある波数

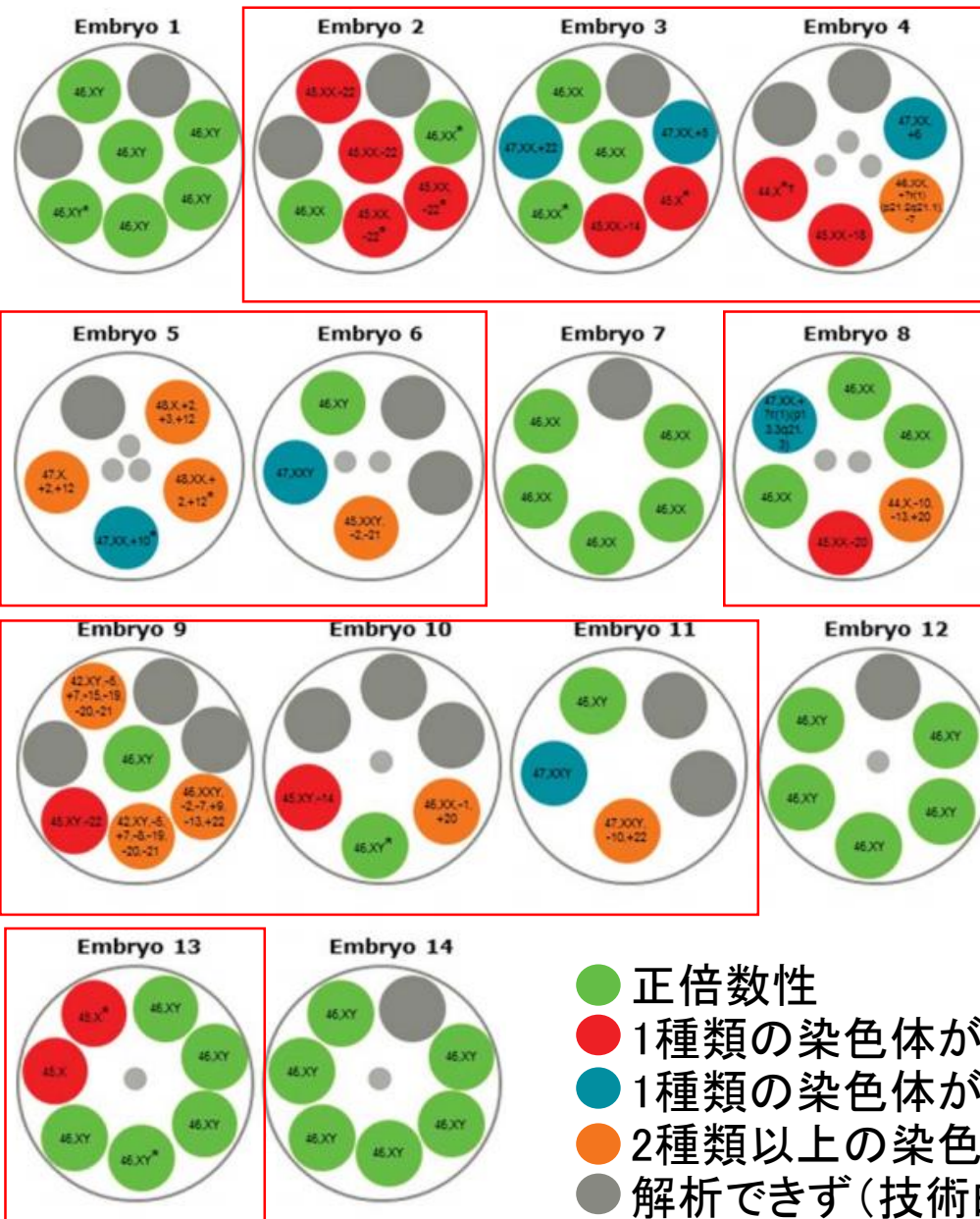


ラマン分光法のメリット

- ① 非侵襲的
- ② 少量 (1-7 μ l) の培養液で分析可能
- ③ 迅速 (1検体あたり5分)
- ④ 安価 (\$20)

②モザイク胚の取り扱い～初期胚と胚盤胞(TE)のモザイク率

異数性細胞の割合
 ~20%: 正倍数性
 20~80%: モザイク
 80%~: 異数性



初期胚

正倍数性胚	4/14 (28.6%)
<u>モザイク胚</u>	<u>10/14 (71.4%)</u>

女性年齢 31.3歳(29-35歳)

70細胞(D3胚14個)をaCGHにて解析

胚盤胞







正倍数性胚	643/1,547 (41.6%)
異数性胚	634/1,547 (40.9%)
<u>モザイク胚</u>	<u>270/1,547 (17.5%)</u>

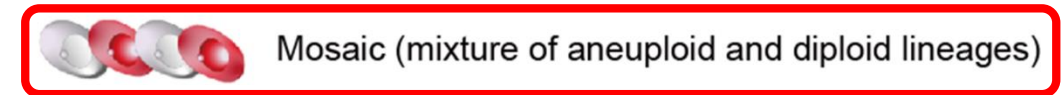
女性年齢 36.5歳(28-47歳)

TE biopsy, NGSにて解析

②モザイク胚の取り扱い

モザイク胚種類と発生頻度

Type	Type 1	Type 2	Type 3	Type 4	Type 5	
						
Percentage	28%	52%	7%	3%	3%	7%
Number	8	15	2	1	1	2
TE ploidy	Euploid	Aneuploid	Mosaic	Euploid	Mosaic	Mosaic
ICM ploidy	Euploid	Aneuploid	Mosaic	Mosaic	Euploid	Aneuploid
Confined mosaicism	No	No	No	Yes	Yes	Yes



NGS法

対象胚盤胞: ICM grading \geq BかつTE grading \geq C

②モザイク胚の取り扱い～モザイク胚の移植(単一胚盤胞移植)

Patient No.	Chromosomal Constitution	Mosaicism† percent	Karyotype‡	Clinical Outcome
1	arr(4)x1,(10)x1	40	46,XX	Baby healthy at birth
2	arr(6)x1,(15)x1	50	46,XX	Baby healthy at birth
3	arr(2)x1	40	46,XX	Baby healthy at birth
4	arr(2)x1	35	46,XY	Baby healthy at birth
5	arr(5)x1	50	46,XX	Baby healthy at birth
6	arr(5)x1,(7)x1	40	46,XX	Baby healthy at birth
7	arr(11)x1,(20)x3,(21)x3	30	NA	No pregnancy
8	arr(1)x1,(6)x3,(10)x3,(12)x3,(13)x3,(14)x3,(21)x3	50	NA	No pregnancy
9	arr(3)x1,(10)x3,(21)x3	35	NA	No pregnancy
10	arr(1)x3	50	NA	Biochemical pregnancy§
11	arr 9p21.2q34.3(26,609,645-140,499,771)x3	45	NA	Biochemical pregnancy§
12	arr(15)x3	30	NA	No pregnancy
13	arr(18)x1	50	NA	No pregnancy
14	arr(18)x1	50	NA	No pregnancy
15	arr(18)x1	40	NA	No pregnancy
16	arr(4)x1	50	NA	No pregnancy
17	arr(5)x3	40	NA	No pregnancy
18	arr 10q21.3q26.3(67,216,644-134,326,648)x3	50	NA	No pregnancy

aCGH,
TE biopsy

18 women for whom IVF had resulted in no euploid embryos.
Blastocyst, aCGH NA: not available. 核型:絨毛検査による

One hundred mosaic embryos transferred prospectively in a single clinic: exploring when and why they result in healthy pregnancies

Victor AR. et al., Fertil Steril. 2019 Feb;111(2):280–93

モザイク胚を100周期移植 (BL, Cyo ET) → 胎児心拍(+): 30周期 (Birth: 19周期*、Ongoing: 11周期)

*うち1例は23週で破水・新生児死亡(児に異常なし)

モザイク胚移植のうち30%は妊娠継続・出生

モザイク胚が出生に至る原因

- ① TE生検によるPGT-Aは胚全体の核型を反映していない
- ② モザイク率はTEの生検箇所やTE/ICMで異なる
- ③ 生検やWGA、NGSの過程で起こるtechnical errorによるモザイクの誤診
- ④ 異数性細胞の増殖能低下やアポトーシスによる自己修復

②モザイク胚の取り扱い～モザイク種類および異数性細胞の割合と着床率

		異数性細胞の割合(%)	周期数	着床率 (n)	p値
モザイクを呈する染色体	≥3種類	20-40	17	12% (2)	NS
		>40-80	4	0% (0)	
モザイクの種類	2種類	20-40	22	41% (9)	NS
		>40-80	7	57% (4)	
	全染色体モノソミー	20-40	28	50% (14)	NS
		>40-80	6	33% (2)	
	全染色体トリソミー	20-40	17	65% (11)	NS
		>40-80	3	0% (0)	
部分的異数性	20-40	25	40% (10)	NS	
	>40-80	14	43% (6)		
1種類(全染色体)	20-40	45	56% (25)	.059	
	>40-80	9	22% (2)		
		低モザイク率 20-40, all	109	42% (46)	NS
		高モザイク率 >40-80, all	34	35% (12)	
染色体種類と異数性領域	≥3種類		21	10% (2)	<.005
	2種類		29	45% (13)	
	1種類		54	50% (27)	
	部分的		39	41% (16)	
関与する染色体数	1種類		93	46% (43)	<.005
	2種類		29	45% (13)	
	≥3種類		21	10% (2)	
合計			143	41% (58)	

②モザイク胚の取り扱い～PGDISの声明

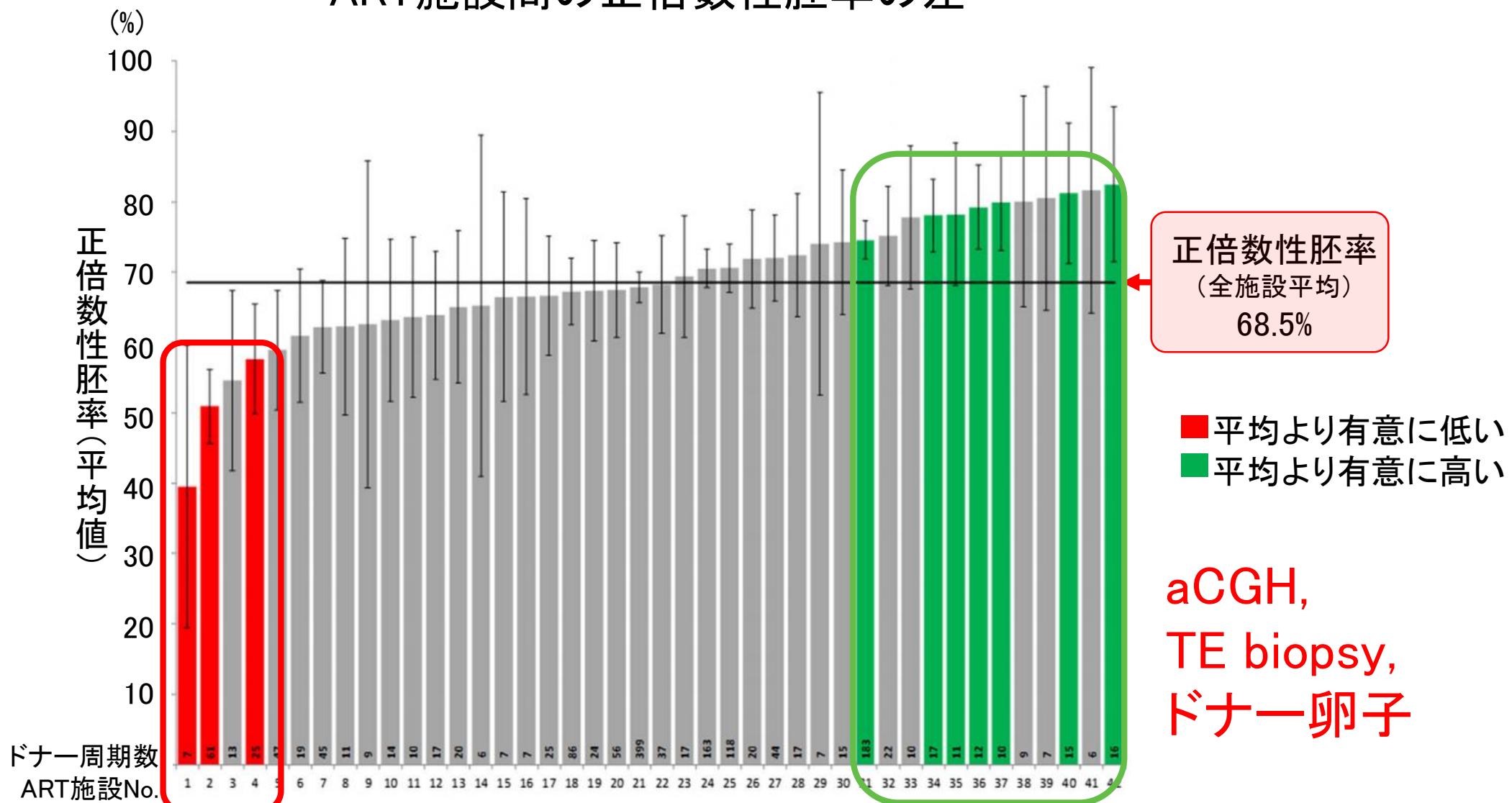
Preimplantation Genetic Diagnosis International Society (PGDIS) (2016)

Suggested guidelines to prioritize mosaic embryos for transfer

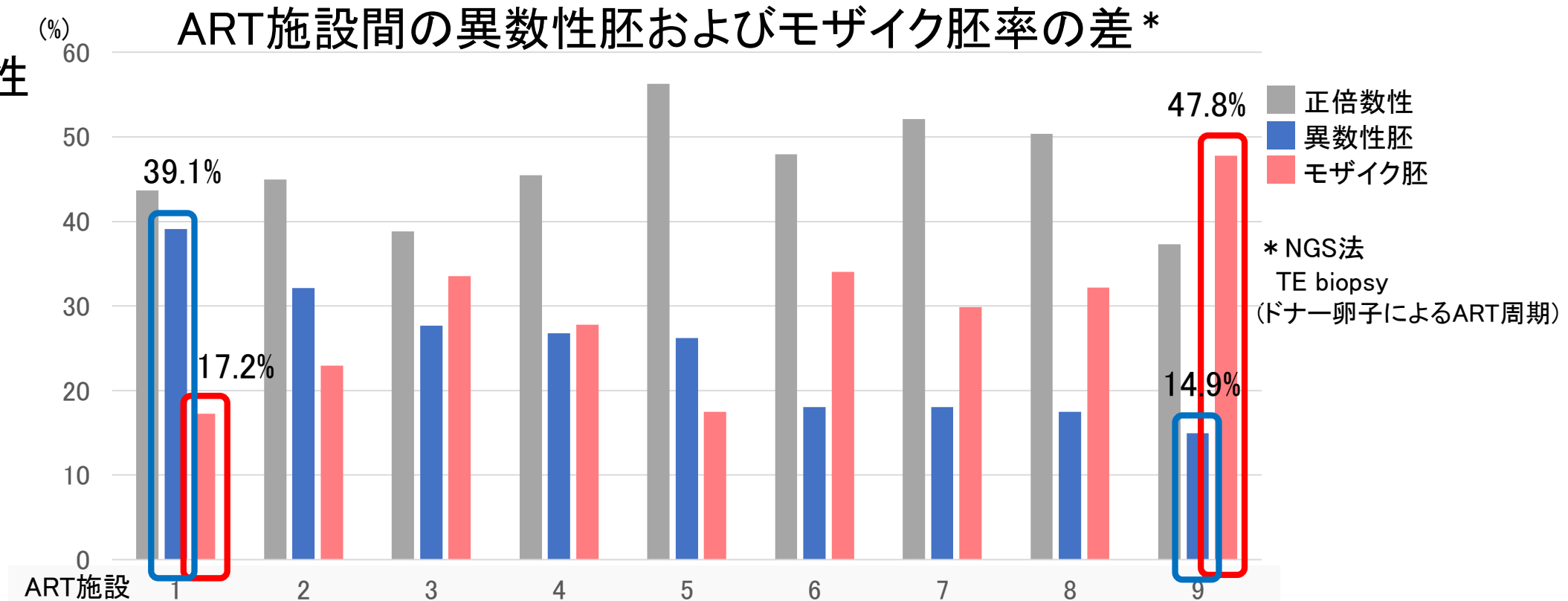
- ①モザイク**モノソミー** (mosaic euploid/monosomy) : 移植 (45,Xを除く)
(背景:モノソミーの流産は少なく、そのほとんどが45,X。稀に21モノソミーがある。)
- ②モザイク**トリソミー** (単一の染色体で):モザイクのレベルと染色体種類を考慮して移植
 - 1.移植可能トリソミー: 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 19, 20, 22番染色体、X, Y染色体
 - 2.片親性ダイソミー (14, 15番染色体:Prader-Willi症候群、Angelman症候群) と子宮内胎児発育不全に関連するトリソミー (2, 7, 16番染色体)は優先順位を下げる
 - 3.生存可能なトリソミー(13, 18, 21番染色体) は最も優先順位を下げる

③判定の正確性

ART施設間の正倍数性胚率の差*



③判定の正確性



ART施設	ドナー平均年齢 (歳)	正倍数性胚 (%)	異数性胚 (%)	モザイク胚 (%)
1	22.9 ± 1.4	43.7 ± 20.2	39.1 ± 19.2	17.2 ± 12.2
2	24.0 ± 2.3	45.0 ± 28.1	32.1 ± 26.9	22.9 ± 13.6
3	25.4 ± 3.0	38.8 ± 20.9	27.7 ± 19.8	33.5 ± 15.1
4	26.1 ± 2.6	45.5 ± 23.3	26.7 ± 17.1	27.8 ± 26.3
5	25.5 ± 2.4	56.3 ± 25.1	26.2 ± 22.9	17.5 ± 18.7
6	25.4 ± 3.1	47.9 ± 24.6	18.1 ± 21.0	34.0 ± 21.7
7	25.3 ± 2.4	52.1 ± 27.7	18.1 ± 19.0	29.9 ± 26.6
8	24.0 ± 2.0	50.4 ± 21.6	17.5 ± 10.7	32.2 ± 19.8
9	25.3 ± 2.4	37.3 ± 22.2	14.9 ± 12.2	47.8 ± 21.3

$p=0.005$

$p=0.169$

$p=0.018$

$p<0.001$

NGS,
TE biopsy,
ドナー卵子

モザイク胚の移植に関する見解 (PGDIS)

PGDIS Newsletter, May 27, 2019

①ART施設あたりのモザイク胚率: 5-10%

10%を超える場合は、誘発法や培養法、解析方法の見直しが必要

②生検技術

Background noiseを減らす
胚へのダメージを最小限に留める → 5細胞～10細胞が適切

レーザー法 → 細胞同士の接着面で切り離す

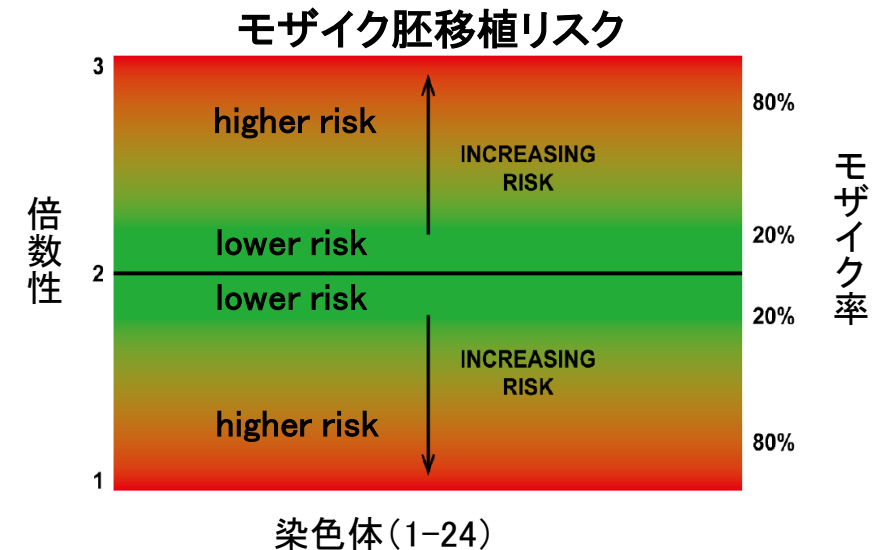
③解析技術

異なる方法では結果が一致しない (baselineやモザイクの判定能に差がある)

→ 特定のPlatformを使用する

④モザイク胚移植

限局した生検は残りの細胞の核型を反映しない



④ 児の長期フォロー～児に対するPGTの影響

Human Reproduction, Vol.29, No.9 pp. 1968–1977, 2014
Advanced Access publication on July 3, 2014 doi:10.1093/humrep/deu165

2014年

human
reproduction

ORIGINAL ARTICLE *Psychology and counselling*

Cognitive and psychomotor development of 5- to 6-year-old singletons born after PGD: a prospective case–controlled matched study

C. Winter^{1,2,*}, F. Van Acker³, M. Bonduelle², S. Desmyttere²,
F. De Schrijver², and J. Nekkebroeck^{1,2}

¹Department of Developmental and Lifespan Psychology, Vrije Universiteit Brussel (VUB), Pleinlaan 2, Brussels 1050, Belgium ²Centre for Medical Genetics, UZ Brussel, Vrije Universiteit Brussel (VUB), Laarbeeklaan 101, 1090 Brussels, Belgium ³Open Universiteit, Heerlen, The Netherlands



5～6歳時の**心理社会的発達過程**は、PGD群、ICSI群、自然妊娠群で**同等**であった。

Human Reproduction, Vol.30, No.5 pp. 1122–1136, 2015
Advanced Access publication on March 6, 2015 doi:10.1093/humrep/dev036

2015年

human
reproduction

ORIGINAL ARTICLE *Psychology and counselling*

Psychosocial development of full term singletons, born after preimplantation genetic diagnosis (PGD) at preschool age and family functioning: a prospective case-controlled study and multi-informant approach

C. Winter^{1,2,*}, F. Van Acker³, M. Bonduelle², S. Desmyttere²,
and J. Nekkebroeck^{1,2}

¹Department of Developmental and Lifespan Psychology, Vrije Universiteit Brussel (VUB), Pleinlaan 2, 1050 Brussels, Belgium ²Centre for Medical Genetics, Reproduction and Genetics, Reproduction - Genetics and Regenerative Medicine, Vrije Universiteit Brussel (VUB), UZ Brussel, Laarbeeklaan 101, 1090 Brussel, Belgium ³Artesis, Plantijn Hogeschool, Lange Nieuwstraat 101, 2000 Antwerpen, Belgium



PGDにより出生した児の就学前の**認知発達度**は、ICSI群および自然妊娠群と**同等**であった。

5.日本における着床前診断

日本における着床前診断(日本産科婦人科学会見解等の推移)

- 1998年 日本産科婦人科学会「**着床前診断**」に関する見解」
着床前診断を臨床研究として位置付け
適応対象: **重篤な遺伝性疾患に限る**(遺伝情報の網羅的なスクリーニングを目的としない)
当該機関の倫理委員会と学会の許可を要する
- 2004年 学会が**初めて**着床前診断の申請を承認(慶応義塾大学、Duchenne型筋ジストロフィー)
- 2006年 **染色体転座に起因する反復・習慣流産**が着床前診断の審査対象に含まれる(**対象の拡大**)
(2013年) (NIPT臨床研究開始)
- 2014年 「着床前スクリーニング」の臨床研究開始
- 2015年 診療施設と解析施設の分離を許可(アレイCGHでの解析を承認)
- 2017年 「日本産科婦人科学会PGS特別臨床研究(PGSの有用性に関する多施設共同研究)」開始
対象: 反復ART不成功、原因不明習慣流産(反復流産を含む)
評価項目: 生児獲得率、流産率
- 2018年 着床前診断を「臨床研究」→「**医療行為**」と変更
実施施設: 認定登録制、学会での審査が先に変更
- 2019年 「PGS特別臨床研究」パイロットスタディー終了
→着床前診断認定施設(約70施設)による「PGT-A臨床研究」(症例登録制)開始へ(?)

着床前胚遺伝的解析の歴史

1967年	Edwards & Gardner	動物胚の性別診断(ウサギ、アセトオルセイン染色による性染色体染色、胚盤胞TE)
1978年	Edwards & Steptoe	世界初IVF baby誕生
1989年	Handyside et al.	PGD臨床応用(X連鎖劣性遺伝病、PCR法(+in situ hybridization)、分割期胚)
1990年	Verlinsky et al.	極体生検法の開発(α 1-antitrypsin deficiency、PCR法、未受精(MII)卵)
1990年	Grifo et al.	FISH法による染色体検査(X、3番染色体)の開発(分割期胚)
1990年	Handyside et al.	PGD baby 誕生(副腎白質ジストロフィー、X連鎖性精神遅滞、PCR法、分割期胚)
1992年	Palermo et al.	ICSI baby 誕生
1992年	Griffin et al.	FISH法による性染色体数解析法の開発(X, Y染色体)(分割期胚)
1993年	Munné et al.	FISH法による染色体異数性解析(X, Y, 18, 13, 21番)の開発(分割期胚)
1995年	Verlinsky et al.	染色体異数性(FISH, 極体, X, 18 and/or 13/21)解析によるIVF baby 誕生(=PGS)
2004年	Boer et al.	胚盤胞生検の開発

1997-1998年 392 PGT cycles → 2011~2012年 11,481 PGT cycles (ESHRE PGT Consortium data)

2007年 4,293 PGT cycles → 2011~2012年 10,407 PGT cycles (CDC and SART data)

2008年 8,673 PGT cycles (30か国) → 2011年 12,614 PGT cycles (31か国)(ICMART data)

CDC: Centers for Disease Control and Prevention, SART: Society for Assisted Reproduction Technologies

ICMART: International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies

The use of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A): a committee opinion

PGT-Aに関するASRM委員会意見 (2018年)

Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology

American Society for Reproductive Medicine, Birmingham, Alabama



Fertil Steril. 2018 Mar;109(3):429-436.

異数性解析とeSETによる生児獲得率の上昇や多胎の抑制効果が報告されており、PGT-Aの有用性が期待できる。ただし、RCTによる報告が少なく、特にART周期スタート時から患者をランダムに選択したRCTを行う必要がある。

- false-positive
- 胚へのダメージについて
- D3から胚盤胞までの間の正倍数性胚の喪失について
- どの解析法が適しているか
- cost-effectiveness
- 凍結保存の役割と影響
- 妊娠までの時間
- 反復流産、ART不成功、女性年齢についてなど特定のsubgroupに対する有用性
- 累積妊娠率
- total reproductive potential per intervention


まとめ(私見)

PGT-Aの「光」:

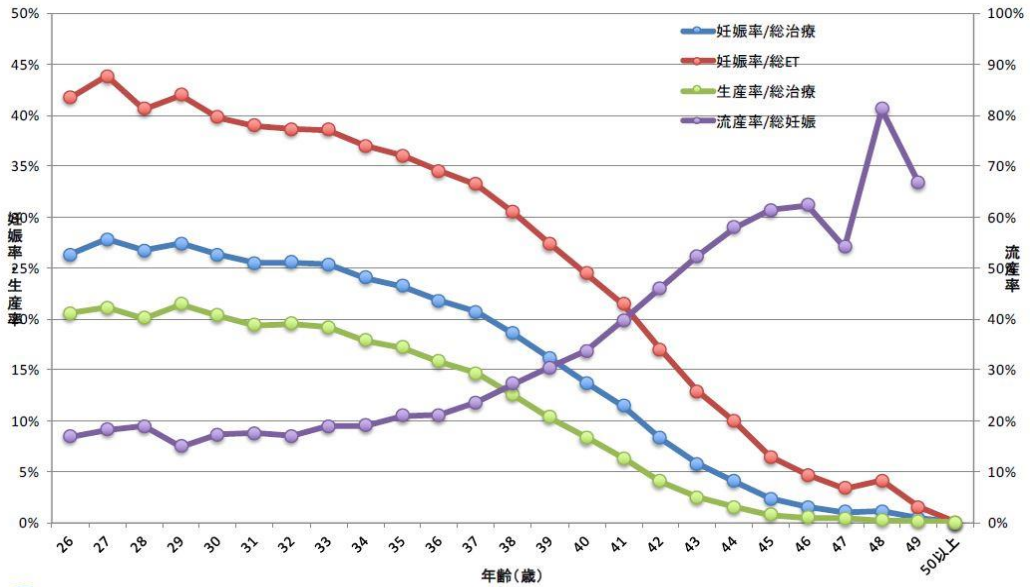
- ・胚移植あたり生児獲得率 
- ・流産率 

(胚評価法の一つで、形態的・動態的評価より信頼性が高い)

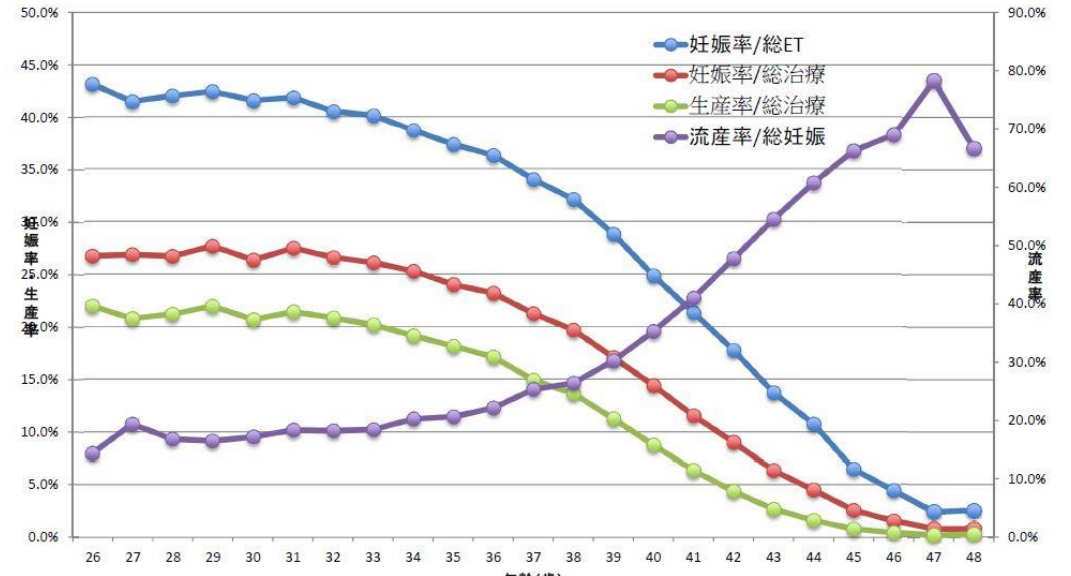
PGT-Aの「影」:

- ・治療あたりの生児獲得率は改善しない
- ・ARTリスク
- ・胚生検による胚ダメージ(+胚盤胞培養、胚凍結)
- ・偽陰性、偽陽性の可能性(モザイク、ICM≠TE)
- ・費用 

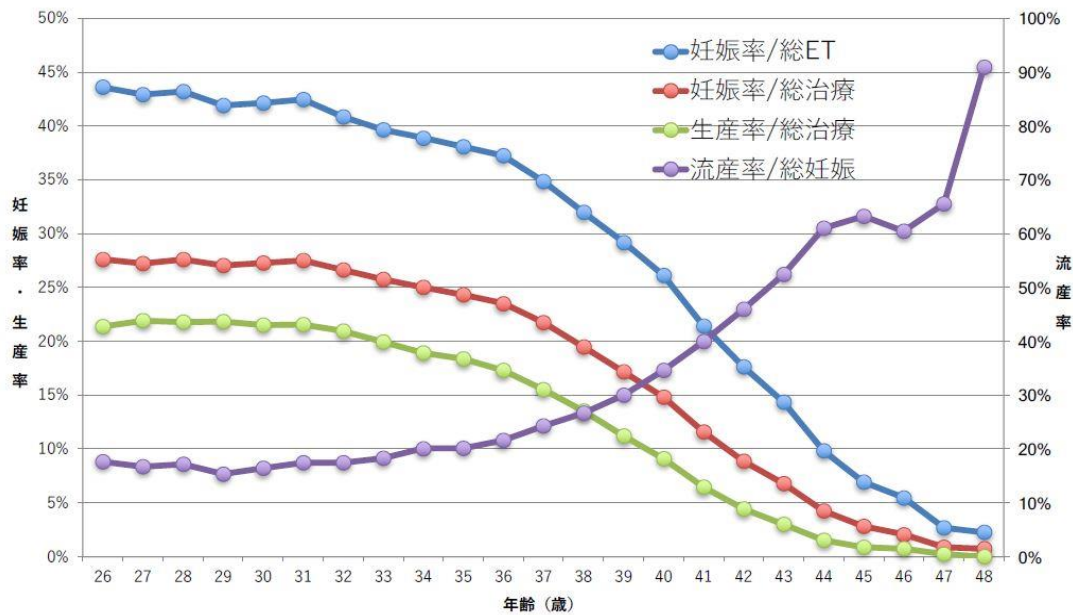
ART妊娠率・生産率・流産率 2013



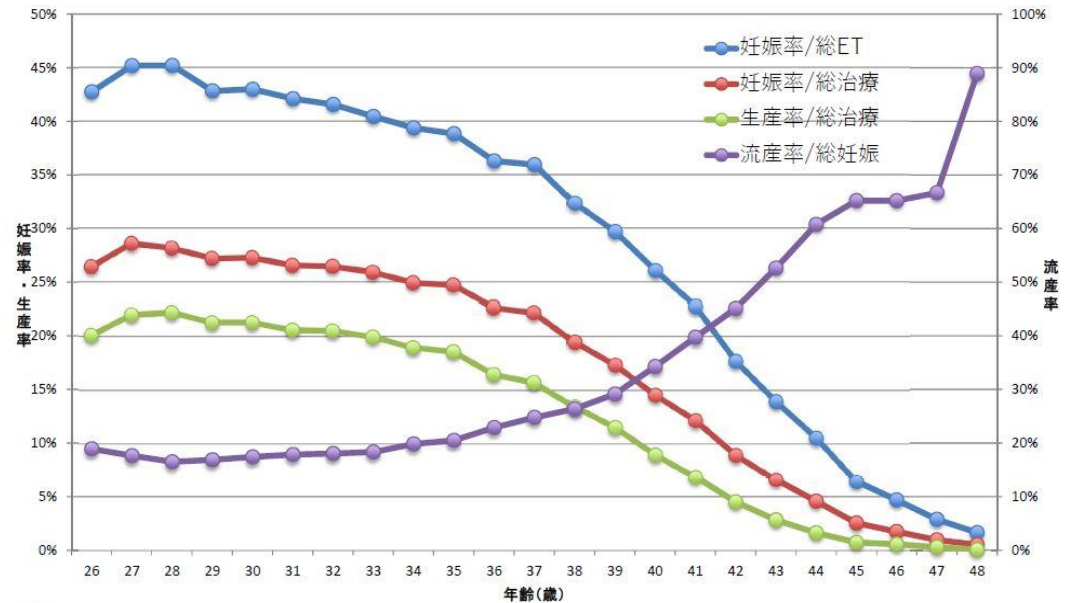
ART妊娠率・生産率・流産率 2014



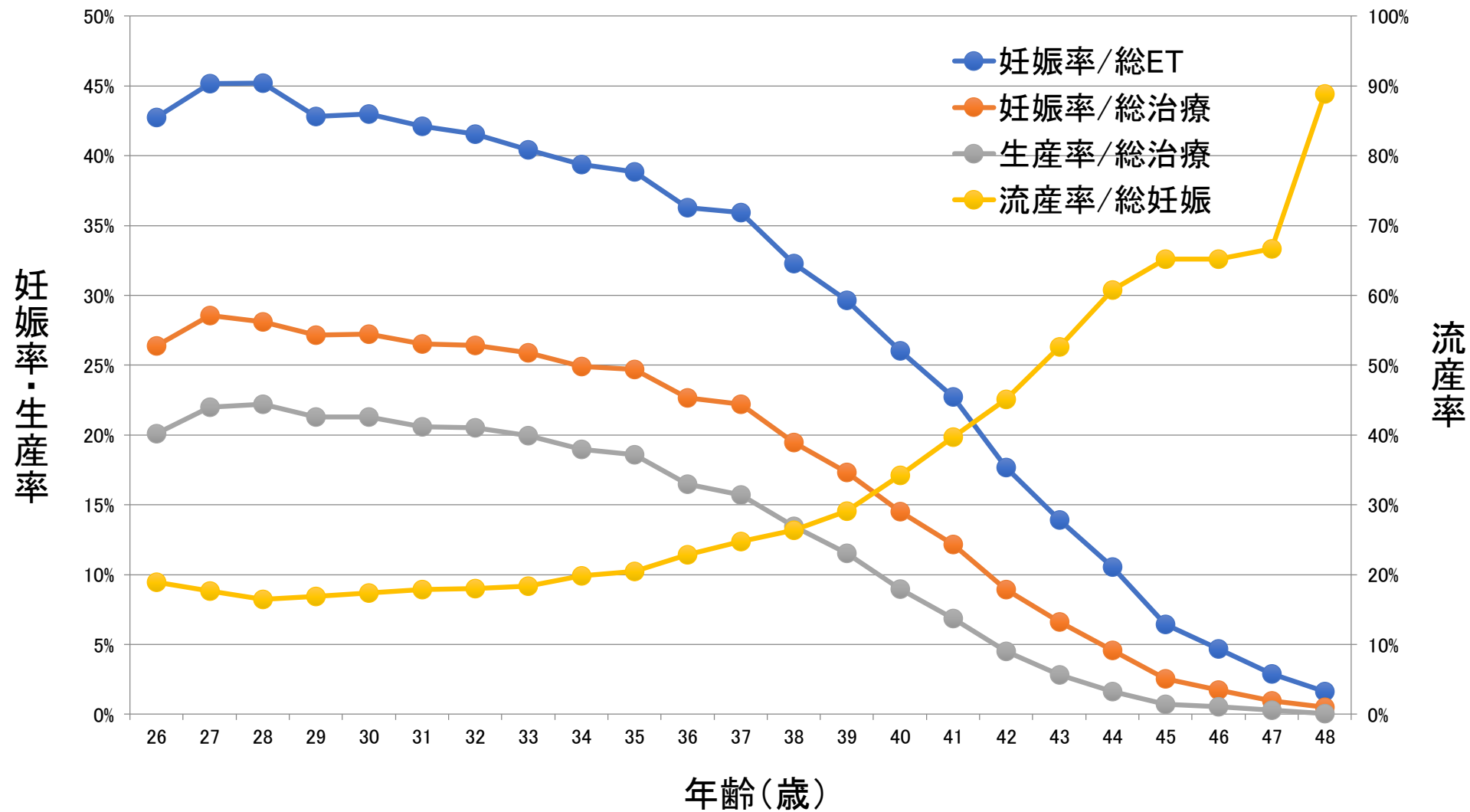
ART妊娠率・生産率・流産率 2015



ART妊娠率・生産率・流産率 2016

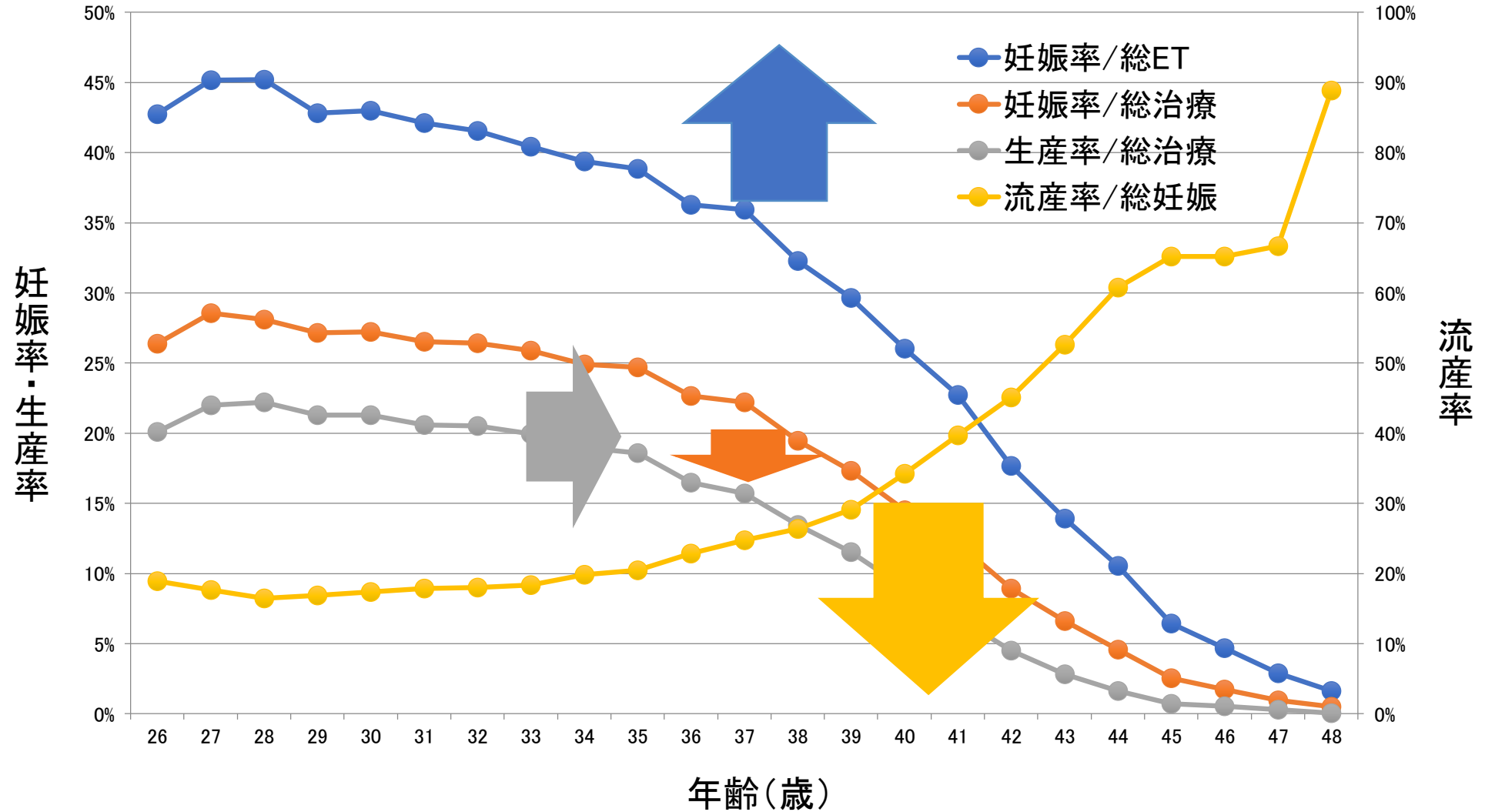


ART妊娠率・生産率・流産率 (2016年全国)



日本でPGT-Aが広く実施されると、

(国)



PGT-Aの今後(私見)

- ステップ①: 胚生検(ART、胚盤胞培養、胚凍結)
いかに「侵襲」を減らせるか→非侵襲的な方法?
- ステップ②: 遺伝学的解析
今のDNA増幅、NGSは決して万能ではない
→遺伝・解析の専門家の関与
- ステップ③: 移植胚の選択
解析結果の判定精度管理
(モザイク胚の対応、偽陰性、偽陽性の可能性: ICM≠TE)
- カウンセリング体制の整備
- 適応は?

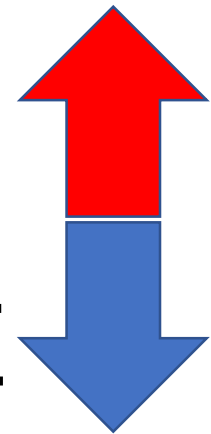
PGT-Aによる「胚選別」

胚生検(侵襲)
解析結果解釈(モザイク胚等)

妊娠できる胚の

純度

絶対量



ご視聴ありがとうございました！

資料請求、ご質問等は

→ mkinutani@kinutani.orgへご連絡下さい。