

令和8年7月15日

# 日本卵子学会からの意見

令和8年7月15日

一般社団法人日本卵子学会

理事長 寺田幸弘

# 考え方

- 生殖補助医療で用いられる技術には、ゲノム編集技術等の範囲に含まれるものもある。
  - 他方で、現に生殖補助医療に用いられているものについては、科学的なエビデンスを踏まえ、その安全性が認められるものもある。
  - こうしたことから、生殖補助医療の現場で用いられている技術を
    - ①塩基等の切断・改変を行うもの（CRISPR/Cas9等）、
    - ②塩基等の化学修飾を行うもの（DNAメチル化酵素やヒストンアセチル化酵素に導入操作を用いるもの等）、
    - ③塩基等への結合を行うもの（CRISPRiやCRISPRa等）、
    - ④核酸の塩基等以外の物に作用するもの（シグナル伝達物質や低分子化合物等）、
    - ⑤その他（外来の核酸導入等）の形で区分し、文献等の精査を行ったうえで、【議論結果（規制の対象とすべきか）】、【その理由】をまとめた。
- ※なお、①に該当する技術について、特に検討を必要とする技術はなかった。

②塩基等の化学修飾

③塩基等への結合

議論結果) 下記の技術は規制対象 (胎内移植禁止) とすべき。

理由) 望ましくない遺伝子発現の観点から、CRISPR/dCas9, DNAメチル化酵素 (※)、ヒストンアセチル化酵素 (※)、CRISPRi, CRISPRa, 転写因子の導入は、その技術基盤から非特異的な遺伝子発現制御をおこしうするため。

※なお、核酸そのものではなく、酵素に対する影響 (④核酸の塩基等以外の物に作用するものに該当) ではあるものの、特定の「HDAC (ヒストン脱アセチル化酵素) 阻害剤」「DNAメチル化阻害剤」についても同様の扱いとすることが現時点では適切である。

参考文献 : DOI: [10.1093/gigascience/giy011](https://doi.org/10.1093/gigascience/giy011)

#### ④核酸の塩基以外の物に作用（細胞膜、転写因子等への作用）

##### 低分子化合物

議論結果）規制対象とする必要性はない。

理由）低分子化合物の薬理的介入まで広く規制対象に含めると、レチノイン酸などDNAメチル化やヒストン修飾を誘導する生理的な因子なども、エピゲノム修飾を介して遺伝子発現変化を引き起こし得ることから、規制対象が際限なく拡大してしまう可能性がある。その結果、胚培養自体が困難になる恐れがあるため。

④核酸の塩基以外の物に作用（細胞膜、転写因子等への作用）

ピエゾ駆動ICSI

議論結果）規制対象とする必要性はない。

理由）これまでの動物実験ならびに臨床研究の報告から、Piezo-ICSIについて安全性上の重大な懸念を示す科学的根拠は認められなかった。長年の臨床使用実績から、Piezo-ICSIは十分受容可能な安全性を有する技術である。

## 参考資料：

### 実施実態

Piezo-ICSIは、圧電素子による微細振動を利用して透明帯および卵細胞膜を穿刺する顕微授精法であり、1995年にマウス卵子のICSI成績改善のために開発された技術である[1]。従来のICSIでは卵細胞膜を鋭利なインジェクションピペットを機械的に押し込んで穿刺するため、卵子の変形や細胞質への機械的ストレスが生じる。一方、Piezo-ICSIでは微細振動により膜を効率的に穿破することから、卵子への物理的侵襲軽減が期待されている。Piezo-ICSIは、現在、動物実験および家畜繁殖において広く活用されている技術であり、臨床分野においても世界的に普及し、多数の臨床実績を有している。

1. Kimura Y., Yanagimachi R. Intracytoplasmic sperm injection in the mouse. Biol Reprod. 1995 Apr;52(4):709-20. doi: 10.1095/biolreprod52.4.709.PMID: 7779992

## 参考資料：

### 安全性

Piezo-ICSIは、マウス [1, 5]、ラット [2]、ブタ [3]、ウシ [4]など複数の哺乳動物種において一般的に適用されている。これらの研究では、Piezo-ICSI由来胚から正常な産仔が得られ、出生後の発育および繁殖能力も概ね正常であることが報告されている。特にマウスでは複数世代にわたる繁殖が確認されており、Piezo-ICSIが哺乳動物の発生および生殖機能に重大な悪影響を及ぼさないことを支持するエビデンスが蓄積されている [5]。

一部の動物実験において、ICSI後の胚でインプリント遺伝子のDNAメチル化変化が報告されているが、これらの変化は一過性であることが多く、次世代への影響は確認されていない [6]。また、ヒトにおいて臨床的意義のあるエピジェネティック異常、Piezo-ICSI特有のエピジェネティック異常の増加を示すエビデンスは存在しない。

2. Hirabayash M, Kato M, Aoto T, Sekimoto A, Ueda M, Miyoshi I, et al. [Offspring derived from intracytoplasmic injection of transgenic rat sperm](#). Transgenic Res. 2002 Apr;11(2):221-8. doi: 10.1023/a:1015210604906.PMID: 12054355
3. Katayama M, Rieke A, Cantley T, Murphy C, Dowell L, Sutovsky P, et al. [Improved fertilization and embryo development resulting in birth of live piglets after intracytoplasmic sperm injection and in vitro culture in a cysteine-supplemented medium](#). Theriogenology. 2007 Mar 1;67(4):835-47. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.10.015. Epub 2006 Nov 29.PMID: 17137619
4. Fuentes F, Aguila L, Pérez F, Muñoz E, Arias ME, Felmer R. Comparative analysis of Piezo-ICSI and conventional ICSI in bovine embryo development. Theriogenology. 2025 Jan 15;232:46-55. doi: 10.1016/j.theriogenology.2024.10.029. Epub 2024 Oct 31.PMID: 39509911
5. Yanagimachi R, Wakayama T, Kishikawa H, Fimia GM, Monaco L, Sassone-Corsi P. [Production of fertile offspring from genetically infertile male mice](#). Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Feb 10;101(6):1691-5. doi: 10.1073/pnas.0307832100. Epub 2004 Feb 2.PMID: 14757819
6. de Waal E, Yamazaki Y, Ingale P, Bartolomei M, Yanagimachi R, McCarrey JR. [Primary epimutations introduced during intracytoplasmic sperm injection \(ICSI\) are corrected by germline-specific epigenetic reprogramming](#). Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Mar 13;109(11):4163-8. doi: 10.1073/pnas.1201990109. Epub 2012 Feb 27.PMID: 22371603

## 参考資料：

### 安全性

複数の研究において[7-14]、Piezo-ICSIは少なくとも従来ICSIと同等以上の胚発生能を有すると考えられる。

また、ヒトを対象とした複数の研究において、妊娠率、着床率、流産率、生児獲得率は、従来ICSIまたはIVFと同等または良好な成績を示している[7, 9-15]。また、従来ICSIとの出生児を対象とした研究では、在胎週数、出生体重、先天異常率について差は認められていない [11]。さらに、IVF由来胚による出生児との比較においても、出生体重、在胎週数、周産期合併症、先天異常率について差は認められていない。また、Piezo-ICSI由来児に特異的な先天異常は報告されていない。

現在のPiezo-ICSIでは、水銀ではなくフロリナート等のフッ素系不活性液体やその他の生体適合性高密度液体が使用されている [7-15]。これらの慣性体について、卵子・胚毒性、生殖発生毒性を示した報告は確認されておらず、非水銀系慣性体に起因する有害事象は臨床的にも報告されていない。

7. Yanagida K, et al. The usefulness of a piezo-micromanipulator in intracytoplasmic sperm injection in humans. Hum Reprod. 1999 Feb;14(2):448-53.
8. Takeuchi S, et al.. Comparison of piezo-assisted micromanipulation with conventional micromanipulation for intracytoplasmic sperm injection into human oocytes. Gynecol Obstet Invest. 2001;52(3):158-62.
9. Hiraoka K, Kitamura S. Clinical efficiency of Piezo-ICSI using micropipettes with a wall thickness of 0.625 µm. J Assist Reprod Genet. 2016 Apr;33(4):549.
10. Furuhashi K, et al. Piezo-assisted ICSI improves fertilization and blastocyst development rates compared with conventional ICSI in women aged more than 35 years. Reprod Med Biol. 2019 Aug 24;18(4):357-361.
11. Fujii Y, et al. Evaluation of the effect of piezo-intracytoplasmic sperm injection on the laboratory, clinical, and neonatal outcomes. Reprod Med Biol. 2020 Mar 18;19(2):198-205.
12. Zander-Fox D, et al. PIEZO-ICSI increases fertilization rates compared with standard ICSI: a prospective cohort study. Reprod Biomed Online. 2021 Sep;43(3):404-412.
13. Caddy M, et al. PIEZO-ICSI increases fertilization rates compared with conventional ICSI in patients with poor prognosis. J Assist Reprod Genet. 2023 Feb;40(2):389-398.
14. Zander-Fox D, et al. Improved fertilization, degeneration, and embryo quality rates with PIEZO-intracytoplasmic sperm injection compared with conventional intracytoplasmic sperm injection: a sibling oocyte split multicenter trial. Fertil Steril. 2024 Jun;121(6):971-981.
15. Hiraoka K, et al. [Pregnancy and perinatal outcomes following PIEZO-ICSI with vitrified-warmed single blastocyst transfer: a retrospective cohort study.](#) J Assist Reprod Genet. 2026 May 23.



④核酸の塩基以外の物に作用（細胞膜、転写因子等への作用）

人為的卵活性化処理

議論結果）規制対象とする必要性はない。

理由）カルシウムイオノフォアを用いた人為的卵子活性化（Artificial Oocyte Activation ; AOA）については、これまでの臨床報告やメタ解析において、流産、早産、胎児・出生児の先天異常、小児の発達異常が明らかに増加するという根拠は示されていない。

## 参考資料：

### 実施実態

人為的卵子活性化（Artificial Oocyte Activation ; AOA）は、ICSI後に卵子の活性化が十分に起こらず、受精卵が得られにくい症例に対して用いられる補助的手法である。AOAでは、卵子内のカルシウムイオン濃度を人為的に上昇させることで、受精の開始を促す。現在、細胞膜のCa<sup>2+</sup>透過性を向上させ、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を上昇させるカルシウムイオンフォア処理（calcimycin/A23187、ionomycin）、小胞体からのCa<sup>2+</sup>の放出を促進する。塩化ストロンチウム（SrCl<sub>2</sub>）がART用として市販されている（表1）。

厚生労働省が管理している匿名医療保険等関連情報データベース（NDB）によると、令和5年度における顕微授精の算定回数は100,500件、卵子調整加算の算定回数は15,472件であった。したがって、保険診療における卵子調整加算の算定回数は、顕微授精算定回数の15.4%に相当する。ただし、これらはいずれもレセプト上の算定回数であり、実施周期数や処理卵子数を直接示すものではない。また、自由診療で実施された症例は含まれていないため、実際のAOA実施件数は15,472件を上回る可能性があるが、その詳細は不明である。どの人為的卵子活性化法が選択されたかを示す公表資料は確認できなかったため、本邦におけるAOAの方法別実施割合は不明である。

表1) 本邦で購入できるAOA製品

| 製品名                            | 活性化物質                       | 会社・販売元           | 組成(各社HPより)                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------------------------|-----------------------------|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Calcium Ionophore              | Calcium ionophore / A23187系 | 北里コーポレーション       | Calcium Chloride / Calcium Ionophore / Dextran / DMSO / Gentamicin / Glucose / Magnesium Sulfate / Potassium Chloride / Potassium Phosphate / Sodium Bicarbonate / Sodium Chloride / Sodium Lactate / Sodium Pyruvate/Phenol Red or HEPES                         |
| Ionomycin                      | イオノマイシン                     | 北里コーポレーション       | Calcium Chloride / Calcium Ionophore / Dextran / DMSO / Gentamicin / Glucose / Magnesium Sulfate / Potassium Chloride / Potassium Phosphate / Sodium Bicarbonate / Sodium Chloride / Sodium Lactate / Sodium Pyruvate/ Phenol Red or HEPES                        |
| Oocyte Activation Medium       | イオノマイシン                     | MedTech Partners | 組成不明                                                                                                                                                                                                                                                              |
| カルシウムイオノフォア                    | カルシウムイオノフォア                 | 日本医化器械製作所        | カルシウムイオノフォア、NaCl, KCl, $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , $\text{NaHCO}_3$ , D(+)-Glucose, Na-pyruvate, Na-lactate, Phenol Red, HEPES, Gentamicin Sulfate salt, DMSO              |
| Ionomycin Solution / イオノマイシン溶液 | イオノマイシン                     | 日本医化器械製作所        | イオノマイシン、NaCl, KCl, $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , $\text{NaHCO}_3$ , D(+)-Glucose, Na-pyruvate, Na-lactate, Phenol Red, HEPES, Gentamicin Sulfate salt, DMSO, HSA (ヒト血清アルブミン) |

| 製品名                            | 活性化物質                          | 会社・販売元     | 組成(各社HPより)                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------------------------|--------------------------------|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Strontium chloride / 塩化ストロンチウム | Strontium chloride / 塩化ストロンチウム | 北里コーポレーション | Calcium chloride / Dextran / EGTA buffer / Gentamicin / Glucose / Magnesium sulphate / Potassium chloride / Potassium phosphate / Sodium bicarbonate / Sodium chloride / Sodium lactate / Sodium pyruvate / Strontium chloride/with Phenol red, without Phenol red, or with HEPES |

## 参考資料：

### 安全性

本邦18施設の多施設後方視的研究では、過去のICSIで受精率50%未満であった症例に対してICSI-AOAを実施した結果、出生率は通常ICSI群より高かった一方で、流産、早産、胎児先天異常の頻度は通常ICSI群と同程度であった [1]。また、出生児の先天異常に関するメタ解析では、ICSI-AOA児316例と通常ICSI児5506例を含む5研究が解析され、全先天異常率、染色体異常、非染色体異常のいずれについても、ICSI-AOA群で有意な増加は認められなかった。さらに、カルシウムイオノフォアAOAに関するsystematic review/meta-analysisでも、流産率、先天異常、出生児性比に明らかな悪影響は認められなかったと報告されている [2]。

小児発達については、12～60か月児を対象とした多施設横断研究において、ICSI-AOA出生児77例と通常ICSI出生児81例を比較し、日本語版ASQ-3により発達を評価した。その結果、コミュニケーション、粗大運動、微細運動、問題解決、個人・社会性の各領域に有意差は認められなかった [3]。

一方、ionomycinやA23187曝露後の動物胚またはヒト胚において、遺伝子発現やDNAメチル化の変化が報告されている [4, 5]。マウスモデルではAOA後にIgf2r/Airn関連のメチル化・発現変化や出生体重の低下が報告されているが、出生後の明らかな発育異常や次世代繁殖能の異常は認められていない [5]。SrCl<sub>2</sub>については一部の報告では出生児の発達に大きな異常は認められていない [6, 7]。しかし、症例数は少なく、長期発達や後世代影響を評価できる十分なデータはない。2024年のCochraneレビューでは、RCTにおいて先天異常をアウトカムとして報告した研究はなく、安全性、とくに出生児奇形や長期発達に関するデータは不足しているとされている [8]。

## 參考資料：

### 安全性

1. Akashi K, Yamada M, Jwa SC, Utsuno H, Kamijo S, Hirota Y, et al. Artificial oocyte activation using Ca(2+) ionophores following intracytoplasmic sperm injection for low fertilization rate. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1131808.
2. Shan Y, Zhao H, Zhao D, Wang J, Cui Y, Bao H. Assisted Oocyte Activation With Calcium Ionophore Improves Pregnancy Outcomes and Offspring Safety in Infertile Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Physiol*. 2021;12:751905.
3. Miyazaki K, Yamada M, Akashi K, Jwa SC, Utsuno H, Kamijo S, et al. Neurodevelopmental status of children aged 12 to 60 months conceived with artificial oocyte activation in a Cross-Sectional study. *Sci Rep*. 2025;15(1):27547.
4. Liang R, Fang F, Li S, Chen X, Zhang X, Lu Q. Is there any effect on imprinted genes H19, PEG3, and SNRPN during AOA? *Open Med (Wars)*. 2022;17(1):174–84.
5. Yin M, Yu W, Li W, Zhu Q, Long H, Kong P, et al. DNA methylation and gene expression changes in mouse pre- and post-implantation embryos generated by intracytoplasmic sperm injection with artificial oocyte activation. *Reprod Biol Endocrinol*. 2021;19(1):163.
6. Kyono K, Kumagai S, Nishinaka C, Nakajo Y, Uto H, Toya M, et al. Birth and follow-up of babies born following ICSI using SrCl<sub>2</sub> oocyte activation. *Reprod Biomed Online*. 2008;17(1):53–8.
7. Kim JW, Kim SD, Yang SH, Yoon SH, Jung JH, Lim JH. Successful pregnancy after SrCl<sub>2</sub> oocyte activation in couples with repeated low fertilization rates following calcium ionophore treatment. *Syst Biol Reprod Med*. 2014;60(3):177–82.
8. Kamath MS, Vogiatzi P, Sunkara SK, Woodward B. Oocyte activation for women following intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Cochrane Database Syst Rev*. 2024;12(12):CD014040.

④核酸の塩基以外の物に作用（細胞膜、転写因子等への作用）

未成熟卵体外成熟

議論結果）規制対象とする必要性はない。

理由）未成熟卵体外成熟(IVM, in vitro maturation)は国内外において既にARTの現場で用いられており、非IVM症例に比して、有害事象が明らかに増加するという報告は認められず、現時点で規制対象とする必要性はない。

## 参考資料：

### 実施実態

未成熟卵子(GV期・MI期)を体外で成熟させる技術で、PCOS患者に対する卵巣過剰刺激症候群回避目的、生殖補助医療や妊孕性温存目的の採卵時に回収された未成熟卵子に対する利用(レスキューIVM)、妊孕性温存目的の卵巣組織凍結時の卵巣組織卵子に対する利用、などで用いられる。

本邦におけるの生殖補助医療実施施設の内、IVMを実施している施設の割合は26.4-34.1%で、8000サイクル/年以上実施されている。日本のIVM実施施設86施設の中で、IVMによる妊娠症例を有する施設は51施設(59.3%)である。

55.6%のIVM実施施設では、IVMの際に一般ART培養液を使用しており、IVM専用培養液を導入している施設は44.4%である。

## 参考資料：

### 本邦で使用されているIVM専用培養液の詳細情報

| 培養液                                                                   | 培地組成・添加される化学物質                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Kitazato Culture Medium IVM for GV and MI stage oocytes</b>        | 塩化ナトリウム / 塩化カリウム / 塩化カルシウム / 硫酸マグネシウム / リン酸二水素ナトリウム / 炭酸水素ナトリウム / 酢酸ナトリウム / 硝酸鉄(III) / D-グルコース / 2-デオキシ-D-リボース / アデニン硫酸塩 / アデノシン-5'-リン酸 / アデノシン-5'-三リン酸 / グアニン / チミン / アミノ酸類 / 遺伝子組換えヒトアルブミン / 卵胞刺激ホルモン (FSH) / 黄体形成ホルモン (LH) / $\beta$ -エストラジオール / グルタチオン / コレステロール / ポリソルベート80 (Tween 80) / ゲンタマイシン <b>KITAZATO 製品サイト</b><br><a href="https://product.kitazato.co.jp/ja/products/ivf/culture-medium-ivm/">https://product.kitazato.co.jp/ja/products/ivf/culture-medium-ivm/</a>                                 |
| <b>SAGE™ In-Vitro Maturation Media Kit (Oocyte Maturation Medium)</b> | 無機塩類 / グルコース / ピルビン酸 / ゲンタマイシン / ビタミン / アミノ酸 / ヒト血漿タンパク / システアミン<br><b>CooperSurgical 製品サイト</b> <a href="https://coopersurgicalfertility-jp.com/wp-content/uploads/Ca-IVM-202404.pdf">https://coopersurgicalfertility-jp.com/wp-content/uploads/Ca-IVM-202404.pdf</a>                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>MediCult IVM® System IVM® Medium</b>                               | 無機塩類 / グルコース / ピルビン酸 / ゲンタマイシン / 炭酸水素ナトリウム / ビタミン / アミノ酸 / ナトリウム / ヌクレオチド / コレステロール<br><b>CooperSurgical 製品サイト</b> <a href="https://coopersurgicalfertility-jp.com/wp-content/uploads/Ca-IVM-202404.pdf">https://coopersurgicalfertility-jp.com/wp-content/uploads/Ca-IVM-202404.pdf</a>                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Origio IVM System</b>                                              | リプロダクティブ事業はクーパーサージカル・ジャパン株式会社に統合：上記SAGE™ In-Vitro Maturation Media Kit (Oocyte Maturation Medium) , SAGE™ In-Vitro Maturation Media Kit (Oocyte Maturation Medium)がHPに記載                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Cook® IVM Media</b>                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>CAPA-IVM culture medium</b>                                        | CAPA medium : prematuration / capacitation phaseではMediCult IVM mediumをベースにC-type natriuretic peptide (CNP / CNP-22) / エストラジオール / インスリン / rFSH / ヒトアルブミンを添加<br>IVM medium : maturation phaseではAmphiregulin (AREG) / rFSH / エストラジオール / インスリンをMediCult IVM mediumなどに添加<br>現在コマーシャルメディウムは販売されておらず、既存のIVM培養液に上記を添加されることが多い 上記は下記論文から<br>Vuong LN, et al. Live births after oocyte in vitro maturation with a prematuration step in women with polycystic ovary syndrome. J Assist Reprod Genet. 2020 Feb;37(2):347-357. |



## 参考資料：

### 安全性

システマティックレビューとメタアナリシスでは、IVMにて出生した児において、先天奇形発生率、出生体重、妊娠糖尿病頻度、早産率、小児発達(身体計測値・精神発達)は、対照と有意差がないと報告されている [1]。

アメリカ生殖医学会はcommittee opinionとして、IVMによって出生した児の数は比較的少ないため、奇形や発達アウトカムに関するIVMの安全性については、まだ十分に評価できる段階にはない。しかし、初期の研究結果は安心できるものである。有望な新しいIVM法と標準的IVFの臨床成績を比較する大規模試験に加え、出生児の新生児期の健康状態および発達アウトカムに関する長期フォローアップ研究が必要であると言及している [2]。

レスキューIVM卵子の一部で、インプリント遺伝子のメチル化異常が報告されているが [3]、IVMは LIT1・SNRPN・PEG3・GTL2 のインプリンティングエラー増加と関連しないとの報告もある [4]。

1. Strowitzki T, et al. Maternal and neonatal outcome and children's development after medically assisted reproduction with in-vitro matured oocytes-a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update. 2021 Apr 21;27(3):460-473.
2. Practice Committee of ASRM. In vitro maturation: a committee opinion. Fertil Steril 2021; 115(5):1141-1157.
3. Shi X, Chen S, Zheng H, Wang L, Wu Y. Aberrant DNA methylation of imprinted loci in human in vitro matured oocytes after long agonist stimulation. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2013
4. Kuhtz J, et al. Human in vitro oocyte maturation is not associated with increased imprinting error rates at LIT1, SNRPN, PEG3 and GTL2. Hum Reprod. 2014;29(9):1995-2005.

#### ④核酸の塩基以外の物に作用（細胞膜、転写因子等への作用）

##### 胚共培養（自家細胞培養、胚のグループ培養）

議論結果）規制対象とする必要性はない。

理由）従前用いられていた技術であるが、これまでに、安全上の問題が生じたとの報告は認められていない。なお、顆粒膜細胞、卵管上皮、子宮内膜細胞などの自家体細胞と胚の共培養は、現在のARTではほぼ廃れ、標準培地に置き換わった技術である。また、胚のグループ培養は、かつては標準的な胚培養技術であったが、最近は個別培養が主流であり、実施施設は減少している。

## 参考資料：

### 実施実態

顆粒膜細胞、卵管上皮、子宮内膜細胞などの自家体細胞と胚の共培養は、胚発生率の改善、有害代謝物（アンモニア、乳酸等）の除去、成長因子・サイトカインの供給等の目的のため、1990年代～2000年代初頭に試みられていたが、効果の再現性が低い、品質管理の困難さ、感染などの安全性の問題などから、現在のARTではほぼ廃れ、標準培地に置き換わった技術である。

胚のグループ培養は、自家体細胞と胚の共培養と同様の目的のため、かつては標準的な胚培養技術であった。しかし最近では、胚培養液の改良による培養液成績の向上と、グループ培養下での発育不良胚からの有害因子の発生の問題、タイムラプスインキュベーターを用いて胚ごとの評価をするために個別培養が必要な状況などのため、実施施設は減少している。

### 安全性

自家細胞から胚発生に影響を与えるような物質の産生は考えられるが、遺伝子発現の誘導や次世代に影響するような病態発生については不明である。

胚のグループ培養では、発育不良胚からの有害因子の発生による胚発生能の低下は考えられるが、遺伝子発現の誘導や次世代に影響するような病態発生については不明である。

④核酸の塩基以外の物に作用（細胞膜、転写因子等への作用）

特殊培地（GM-CSF 添加培地・アミノ酸強化培地など）

1) GM-CSF 添加培地

議論結果）規制対象とする必要性はない。

理由）体外培養胚の質が体内発生胚と比べて劣ると言われている理由のひとつに、培養中の成長因子等の欠如が挙げられている。GM-CSF等の成長因子の培地への添加は、現在の培養環境を改善しARTの有効性・安全性の向上につながる可能性のある重要な取り組みであるが、そのエビデンスはいまだ十分ではないが、非臨床及び臨床において特筆すべき有害事象は報告されていない。

## 参考資料：

### 実施実態

CooperSurgicalが2 ng/mLのGM-CSFを加えたシーケンシャルメディア（前半用はEmbryoGen®、後半用はBlastGen®）とシングルメディウム（SAGE 1-Step™ GM-CSF）を製造販売している。メーカーのannual reportによると、EmbryoGenは2011年にCE markを取得し、40ヶ国以上で販売を開始している。また、米国の510(k) summaryによると、EmbryoGen®（510(k) number K120136）は2012年、組成修正後のEmbryoGen®（510(k) number K140317）は2014年、BlastGen®（510(k) number K152932）は2016年、SAGE 1-Step™ GM-CSF（510(k) number K172197）は2017年にFDAのclearanceを得ており、10年以上の臨床使用実績がある。GM-CSF添加培地の具体的な使用件数やシェアなどの統計データは、調べた限り存在しない。

### 培地組成及びGM-CSFに関する詳細情報

FDAの510(k) summaryによると、EmbryoGen®、BlastGen®、SAGE 1-Step™ GM-CSFはそれぞれ既存のシーケンシャルメディア（ORIGIO Sequential Cleav™、ORIGIO Sequential Blast™）及びシングルメディウム（SAGE 1-Step™）にGM-CSFを2 ng/mLで添加した組成となっている。

GM-CSFはCSFファミリーに属するサイトカインであり、造血細胞の増殖、分化、活性化に関与し、アポトーシス抑制因子としても知られている。GM-CSFは、月経周期の分泌期には子宮内膜の管腔上皮細胞と腺上皮細胞で、増殖期後期から分泌期初期-中期には卵管の内膜で最大に発現し、その後着床期には絨毛細胞と脱落膜によって産生され、単球、顆粒球、マクロファージ、樹状細胞を介して胚発生および初期妊娠の免疫調節に必要な走化性、貪食作用、細胞傷害作用、および抗原提示特性を促進する [1]。GM-CSFノックアウトマウスでは、胎児の発育と生存能力が損なわれることから、生殖におけるGM-CSFの重要性が示唆されている [2]。

1. Armstrong S, MacKenzie J, Woodward B, Pacey A, Farquhar C. Gm-csf (granulocyte macrophage colony-stimulating factor) supplementation in culture media for women undergoing assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* 2020:CD013497
2. Robertson SA, Roberts CT, Farr KL, Dunn AR, Seamark RF. Fertility impairment in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-deficient mice. *Biol Reprod* 1999; **60**:251-261.

## 参考資料：

### 安全性

マウス胚移植後の長期追跡試験において、GM-CSF添加培地で培養した胚から生まれた児は、GM-CSFを含まない場合と比べて、生後の体重推移や臓器重量が体内発生胚由来児に近いレベルになることが報告されている [1]。

Cochraneのシステマティックレビューとメタアナリシスでは、エビデンスレベルが低く不確実性が高いものの、多胎妊娠、早産、先天異常、異数性に関して有害事象の発生率の増加は報告されていない [2]。

ESHREのアドオンワーキンググループは、成長因子は効果を生み出すために正と負の両方の相乗作用で働くため、単一の成長因子を胚培養液に添加することは必ずしも有益な効果をもたらすとは限らないこと、適切に制御されない外因性成長因子は胚発生に悪影響を及ぼす可能性があること、最近の研究では胚培養液にGM-CSFを添加するとマウス着床前胚の栄養外胚葉細胞におけるNANOG転写因子の異所性発現だけでなく細胞数と細胞系譜の変化も引き起こされることを指摘している [3]。そのため、GM-CSF添加培養液の潜在的な利点とリスクをより深く理解するためさらなる研究が必要であると結論付けている。

イタリア不妊・不妊症・生殖医学会（SIFES-MR）は、GM-CSFによる有害な結果は報告されていないものの、これまでのデータは培地への添加を全面的に支持しているわけではないことを指摘している [4]。そのため、GM-CSFのような成長因子を加えた培養液は、研究の枠組みの中で引き続き検討されるべきであると結論付けている。

1. Sjöblom C, Roberts CT, Wikland M, Robertson SA. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor alleviates adverse consequences of embryo culture on fetal growth trajectory and placental morphogenesis. *Endocrinology* 2005; **146**:2142-2153.
2. Armstrong S, MacKenzie J, Woodward B, Pacey A, Farquhar C. Gm-csf (granulocyte macrophage colony-stimulating factor) supplementation in culture media for women undergoing assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* 2020;CD013497.
3. group EA-ow, Lundin K, Bentzen JG, Bozdog G, Ebner T, Harper J, Le Clef N, Moffett A, Norcross S, Polyzos NP, Rautakallio-Hokkanen S, Sfontouris I, et al. Good practice recommendations on add-ons in reproductive medicine†. *Hum Reprod* 2023; **38**:2062-2104.
4. Cimadomo D, Cozzolino M, Busnelli A, Carosso A, Conforti A, Massarotti C, Spadoni V, Vaiarelli A, Venturella R, Vitagliano A, Zacà C, Borini A. IVF add-ons: Effectiveness, efficiency, safety, and additional costs – a position statement by the sifes-mr. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2025; **313**:114609.

#### ④核酸の塩基以外の物に作用（細胞膜、転写因子等への作用）

特殊培地（GM-CSF 添加培地・アミノ酸強化培地など）

#### 2) アミノ酸強化培地

議論結果）規制対象とする必要性はない。

理由）胚培養液は、エピゲノムが再構築される時期の胚を培養する特性上、児の長期的な健康状態に影響を及ぼす可能性を否定できないが、現時点で有害事象との関連性は明確ではない。

胚を体外で培養することは、生体内の生理的環境との乖離を必然的に伴うため、胚に何らかのストレスや適応応答を強いることは避けられない。しかし、ARTが不妊患者に多大なベネフィットをもたらしている事実と、ART誕生から約半世紀の間、顕在化していない後世代へのリスクとを比較した場合、当該培地使用によるベネフィットはリスクを上回ると判断するのが現段階では妥当である。

## 参考資料：

### 実施実態

ARTにはアミノ酸を含まないHTF培地 やアミノ酸としてグルタミンのみを含むBasal XI HTF培地 などが胚培養に用いられていた時期があったが、現在のART施設では、複数のアミノ酸が付加（強化）されたシングルメディウム（シングルステップメディウム、ワンステップメディウムとも呼ばれる、1細胞期から胚盤胞期まで単一組成で培養）かシーケンシャルメディア（前半と後半で組成を変更して培養）が用いられている。これらの培養液は、世界で年間4百万周期実施されているART治療に不可欠である。製造販売している主な会社は、CooperSurgical（アメリカ）、Vitrolife（スウェーデン）、Nexpring Health（アメリカ）、FertiPro（ベルギー）、Genea Biomedx（オーストラリア）、北里コーポレーション（日本）、ナカメディカル（日本）、扶桑薬品工業（日本）などが挙げられる。これまで、各社培養液の性能比較がおこなわれてきたが、現時点では、特定の培養液の使用を支持または否定する十分な根拠はない [1-3]。

### 培地組成及び各成分に関する詳細情報

シーケンシャルメディアやシングルメディウムを構成する成分とその役割等の情報を表 1に示す。各成分の具体的な濃度は商業上の理由で開示されていないが、Zagersらが2025年に分析結果を報告しており [4]、製品間で各成分の濃度が大きく異なる場合があることがわかっている（例えば、マグネシウム、リン酸、グルコース、乳酸、ピルビン酸、アミノ酸は製品間で濃度差が5倍以上ある、表 2）。なお、各成分の濃度は、非生理的なものではなく、生体液であるヒト血液もしくはヒト卵管液、ヒト子宮液の濃度に基づいて設定されていると考えられる（表 2）。

1. Dieamant F, Petersen CG, Mauri AL, Comar V, Mattila M, Vagnini LD, Renzi A, Petersen B, Ricci J, Oliveira JBA, Baruffi RLR, Franco JG, Jr. Single versus sequential culture medium: Which is better at improving ongoing pregnancy rates? A systematic review and meta-analysis. *JBRA Assist Reprod* 2017; **21**:240-246.

2 Sfontouris IA, Martins WP, Nastri CO, Viana IGR, Navarro PA, Raine-Fenning N, van der Poel S, Rienzi L, Racowsky C. Blastocyst culture using single versus sequential media in clinical IVF: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Assist Reprod Genet* 2016; **33**:1261-1272.

3. Youssef MM, Mantikou E, van Wely M, Van der Veen F, Al-Inany HG, Repping S, Mastenbroek S. Culture media for human pre-implantation embryos in assisted reproductive technology cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2015:Cd007876.

4. Zagers MS, Laverde M, Goddijn M, de Groot JJ, Schrauwen FAP, Vaz FM, Mastenbroek S. The composition of commercially available human embryo culture media. *Hum Reprod* 2025; **40**:30-40.



表1 ヒト胚培養液の組成及び役割等の詳細情報

\*シーケンシャルメディアは前半用と後半用のいずれかに添加されているかで判定

| 分類      | 成分名                                                                    | 役割等の詳細情報                                                                                             | ヒト胚培養液に添加されているか？* |
|---------|------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 無機塩類    | ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、塩素、リン酸、炭酸                                      | 細胞の生存に不可欠                                                                                            | ほぼ全ての培養液に添加       |
| 糖       | グルコース                                                                  | 8細胞期以降の主要なエネルギー基質、血液と比べて卵管液の濃度は低い(表2)                                                                |                   |
| 有機酸     | ピルビン酸、乳酸                                                               | 第一卵割、第二卵割に必要なエネルギー基質、血液と比べて卵管液の濃度は高い(表2)                                                             |                   |
| 非必須アミノ酸 | アラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、プロリン、セリン                               | エネルギー源、生合成の前駆体、細胞内pH調整因子、浸透圧調整因子、抗酸化因子として作用、血液と比べて卵管液・子宮液の非必須アミノ酸(アスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、セリン)の濃度は高い(表2) |                   |
| 必須アミノ酸  | アルギニン、シスチン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、バリン |                                                                                                      |                   |
| アミノ酸誘導体 | グルタミンジペプチド(アラニルグルタミンもしくはグリシルグルタミン)                                     | グルタミンの代わりに使用し保管・培養中のアンモニアの産生を抑制                                                                      |                   |
| 蛋白質     | ヒト血清アルブミン(HSA)                                                         | 脂肪酸や微量元素等の搬送体として作用するほか、胚の培養容器等への物理的な吸着・損傷を防止                                                         |                   |
| キレート剤   | EDTA                                                                   | 環境から培地に混入する微量元素をキレートし胚発育が抑制されるのを防止                                                                   |                   |
| 抗菌薬     | ゲンタマイシンもしくはペニシリン・ストレプトマイシン                                             | 微生物の増殖を防止                                                                                            |                   |
| 有機酸     | クエン酸                                                                   | キレート剤としての効果を期待して添加                                                                                   | 一部の培養液に添加         |
| アミノ酸誘導体 | タウリン                                                                   | 細胞内pH調整因子、浸透圧調整因子、抗酸化因子として作用、血液と比べて卵管液・子宮液の濃度は高い(表2)                                                 |                   |
| 蛋白質     | $\alpha_1$ 、 $\beta$ -グロブリン                                            | 多種多様なタンパク質を含む血清分画製剤であり、代替血清としてHSAと合わせて使用                                                             |                   |
| ビタミン    | コリン、葉酸、イノシトール、ニコチンアミド、パントテン酸、ピリドキサール、リボフラビン、チアミン                       | 体細胞の培養には不可欠だがヒト胚培養における必要性は不明確                                                                        |                   |
| 抗酸化剤    | アセチル-L-カルニチン、 $\alpha$ -リポ酸、N-アセチル-L-システイン                             | 体外環境中の酸化ストレスから胚を保護                                                                                   |                   |
| 成長因子    | GM-CSF                                                                 | 後述                                                                                                   |                   |
| ホルモン    | インスリン                                                                  | 体細胞の無血清培養時の添加剤として汎用されているがヒト胚培養における必要性は不明確                                                            |                   |
| 多糖類     | ヒアルロン酸                                                                 | 後述                                                                                                   |                   |
| pH指示薬   | フェノールレッド                                                               | pHの異常を視覚的に判定                                                                                         |                   |

**表2 ヒト胚培養液及び生体液の各成分の濃度**

HSA以外はmMを表記。各報告から最小値-最大値を抜粋。Zagersらの分析値はready-to-use培養液のうち手作業でサプリメントを添加していないものを抜粋。NDは未測定成分。

| 分類          | 成分名            | シーケンシャルメディア<br>(前半用) | シーケンシャルメディア<br>(後半用) | シングル<br>メディウム | ヒト血液<br>基準値 | ヒト卵管液       | ヒト子宮液       |
|-------------|----------------|----------------------|----------------------|---------------|-------------|-------------|-------------|
| 無機塩類        | ナトリウム          | 137.2-147.4          | 133.0-146.8          | 132.1-142.2   | 135.0-147.0 | 129.0-156.1 | 110.0-143.8 |
|             | カリウム           | 2.3-5.6              | 2.6-5.5              | 2.8-5.5       | 3.6-5.0     | 4.3-21.2    | 17.2-25.8   |
|             | マグネシウム         | 0.2-1.9              | 0.2-1.8              | 0.2-2.0       | 0.7-1.0     | 0.5-0.6     | 1.8         |
|             | カルシウム          | 1.1-1.6              | 1.1-2.0              | 1.1-2.7       | 2.2-2.5     | 1.1-2.4     | 0.8-1.7     |
|             | 塩素             | 111.5-121.2          | 107.1-120.4          | 105.1-122.4   | 98.0-108.0  | 109.4-137.4 | 82.3-111.0  |
|             | リン酸            | 0.02-0.27            | 0.24-1.02            | 0.14-0.54     | 0.26-0.47   | 1.68-2.79   | 3.30        |
|             | 炭酸             | ND                   | ND                   | ND            | 22.0-26.0   | 20.0        | ND          |
| 糖           | グルコース          | 0.3-0.5              | 1.0-3.3              | 0.2-2.1       | 3.9-6.1     | 0.5-6.2     | 3.2-5.7     |
| 有機酸         | 乳酸             | 2.1-19.3             | 2.1-18.7             | 1.0-14.8      | 0.4-1.8     | 3.1-10.5    | 5.9-6.6     |
|             | ビルビン酸          | 0.19-0.33            | 0.07-0.18            | 0.19-0.47     | 0.03-0.10   | 0.11-0.32   | 0.08-0.10   |
| 非必須<br>アミノ酸 | アラニン           | 0.07-0.29            | 0.10-0.43            | 0.04-0.24     | 0.22-0.49   | 0.08-0.35   | 0.51-1.57   |
|             | アスパラギン         | 0.00-0.09            | 0.02-0.09            | 0.01-0.05     | 0.04-0.08   | 0.02-0.06   | 0.03        |
|             | アスパラギン酸        | 0.00-0.14            | 0.05-0.64            | 0.02-0.15     | 0.000-0.003 | 0.017-0.142 | 0.230       |
|             | グルタミン酸         | 0.02-0.14            | 0.05-0.13            | 0.06-0.16     | 0.00-0.06   | 0.07-0.67   | 1.16        |
|             | グリシン           | 0.02-5.61            | 0.05-5.87            | 0.04-0.21     | 0.12-0.30   | 0.03-1.14   | 0.96-2.83   |
|             | プロリン           | 0.01-0.12            | 0.05-0.13            | 0.02-0.11     | 0.09-0.24   | 0.11-0.12   | 0.22        |
|             | セリン            | 0.00-0.11            | 0.05-0.11            | 0.02-0.12     | 0.07-0.12   | 0.03-0.22   | 0.22        |
| 必須<br>アミノ酸  | アルギニン          | 0.00-0.05            | 0.12-0.35            | 0.18-0.35     | 0.05-0.11   | 0.09-0.24   | 0.14-0.33   |
|             | シスチン           | ND                   | ND                   | ND            | 0.03-0.06   | 0.05-0.06   | 0.00        |
|             | グルタミン          | 0.09-0.21            | 0.07-0.38            | 0.00-0.28     | 0.39-0.60   | 0.02-0.54   | 0.23        |
|             | ヒスチジン          | 0.00-0.01            | 0.04-0.10            | 0.01-0.09     | 0.05-0.08   | 0.06-0.07   | 0.10-0.20   |
|             | イソロイシン         | 0.00-0.02            | 0.17-0.22            | 0.00-0.21     | 0.04-0.10   | 0.02-0.04   | 0.11-0.24   |
|             | ロイシン           | 0.00-0.02            | 0.17-0.19            | 0.02-0.20     | 0.09-0.16   | 0.05-0.10   | 0.19-0.38   |
|             | リジン            | 0.02-0.03            | 0.16-0.21            | 0.04-0.22     | 0.11-0.22   | 0.04-0.22   | 0.30-0.64   |
|             | メチオニン          | 0.00-0.11            | 0.05-0.06            | 0.00-0.05     | 0.02-0.04   | 0.01-0.03   | 0.00-0.05   |
|             | フェニルアラニン       | 0.00-0.02            | 0.09-0.12            | 0.01-0.18     | 0.05-0.07   | 0.02-0.06   | 0.00-0.16   |
|             | スレオニン          | 0.00-0.02            | 0.03-0.15            | 0.00-0.17     | 0.07-0.17   | 0.04-0.13   | 0.12        |
|             | トリプトファン        | 0.00-0.01            | 0.02-0.03            | 0.00-0.03     | 0.03-0.05   | 0.01-0.03   | 0.04        |
|             | チロシン           | 0.00-0.02            | 0.10-0.16            | 0.00-0.11     | 0.04-0.08   | 0.02-0.06   | 0.00-0.17   |
|             | バリン            | 0.00-0.02            | 0.17-0.21            | 0.01-0.21     | 0.16-0.28   | 0.02-0.15   | 0.19-0.36   |
| アミノ酸<br>誘導体 | タウリン           | ND                   | ND                   | ND            | 0.03-0.06   | 1.27-1.73   | 4.24-11.70  |
| タンパク質       | HSA<br>(mg/mL) | 4.2-4.7              | 3.8-4.6              | 2.8-9.0       | 38.0-53.0   | 0.1         | 0.1-0.4     |

## 参考資料：

### 安全性

ARTでは、卵巣刺激や体外受精・顕微授精、胚培養、胚生検、凍結融解など、配偶子や着床前胚に様々な介入をおこなう。これらの介入は、配偶子や胚の代謝や遺伝子発現、エピジェネティックなどの変化を引き起こし、出生児の長期的な健康や成人期の疾病リスクに影響を与えることが懸念されている。

胚培養液も例外ではなく、後世代への影響が示唆されているが、ヨーロッパ生殖医学会（ESHRE）の培養液ワーキンググループの報告によると、これまで集積されたエビデンスでは胚培養液の組成が児の長期的な健康にとって問題となるかどうかは明確ではなく、今後の大規模な前向き無作為化比較試験（RCT）が必要だと結論付けられている [1]。

1. Sunde A, Brison D, Dumoulin J, Harper J, Lundin K, Magli MC, Van den Abbeel E, Veiga A. Time to take human embryo culture seriously†. *Hum Reprod* 2016; **31**:2174–2182.

#### ④核酸の塩基以外の物に作用（細胞膜、転写因子等への作用）

##### 高濃度ヒアルロン酸含有培養液

議論結果）規制対象とする必要性はない。

理由）高濃度HA含有培養液の臨床使用が始まってから20年以上経っているが、これまで明確な有害事象は認められておらず、出生率等を高める効果があることが報告されている。高濃度HA含有培養液は、保険診療下で胚移植される件数のうち約60%で用いられており、現在のARTにおいて不可欠な培養液となっているため、現時点で使用を制限するような規制を設けるべきではない。

## 参考資料：

### 実施実態

Vitrolifeが0.5 mg/mLのヒアルロン酸（HA）を添加した胚移植用培地EmbryoGlue（510(k) number K031015）を開発し2003年にFDAのclearanceを得ている。その1年前にはメーカーが資金提供したRCTが実施され、0.5 mg/mL HAを含むEmbryoGlueは0.125 mg/mL HAを含むG2™ version3と比べて着床率が有意に上昇し妊娠率が上昇傾向にあることが報告されている [ 1 ]。2020年のCochraneのシステマティックレビューとメタアナリシスでは、0.5 mg/mL HA含有培地を用いて胚移植すると、HA非含有もしくは0.125 mg/mL HA含有培地を用いた場合と比べて、妊娠率、多胎妊娠率、出生率の有意な上昇が認められている [ 2 ]。高濃度HA含有培養液はVitrolifeのほか、北里コーポレーションやナカメディカル、扶桑薬品工業などから製造販売されている。

日本生殖医学会の生殖医療ガイドライン2021年版では高濃度HA含有培養液の推奨レベルはBとされており、2022年からはじまったARTの保険適用では当該培養液を用いた胚移植術に1,000点の診療報酬点数が加算されることになった。厚生労働省が管理している匿名医療保険等関連情報データベース（NDB）によると、2022年4月から2024年3月までの診療報酬点数算定回数は胚移植術が454,734回であったのに対し、高濃度HA含有培養液加算は270,740回であった。つまり保険診療では胚移植全体のうち59.5%で高濃度HA含有培養液が用いられていることになる。

1. Schoolcraft W, Lane M, Stevens J, Gardner DK. Increased hyaluronan concentration in the embryo transfer medium results in a significant increase in human embryo implantation rate. *Fertil Steril* 2002; **78**:S5.
2. Heymann D, Vidal L, Or Y, Shoham Z. Hyaluronic acid in embryo transfer media for assisted reproductive technologies. *Cochrane Database Syst Rev* 2020:CD007421.

## 参考資料：

### 培地組成及びヒアルロン酸に関する詳細情報

FDAの510(k) summaryによると、EmbryoGlueはシーケンシャルメディアG-2™ version 3に0.5 mg/mL HAを加えた組成になっている。メーカー情報によると、扶桑薬品工業のHiGROW OVIT Plus HAは、シングルメディアウムHiGROW OVIT Plusに平均分子量1,800 kDaのHAが0.5 mg/mLで加えられている。北里コーポレーションのEmbryoNidaは0.5 mg/mL HAが加えられている。他のメーカーのHA濃度は開示されていない。

HAは、D-グルクロン酸とN-アセチル-D-グルコサミンの残基が交互に結合した直鎖状のグリコサミノグリカン（GAG）のひとつであり主に細胞外マトリクス（ECM）を構成している。他のGAGの分子量は5-50 kDaであるのに対し、HAの分子量は100-10,000 kDaと桁違いに大きい。HAの生物学的効果はその分子量によって異なり、高分子量HAは複数のCD44に結合してクラスター化する、もしくはCD44をshieldingし、Hippo/MST1経路を介して、細胞保護、組織維持、抗炎症、増殖抑制、抗アポトーシスなどを誘導する。一方、断片化された低分子量HAは、TLR2/4やCD44に結合してRASやPI3K経路を介して炎症や細胞走化、増殖等を促進する。HAはROSと直接反応する、もしくはROS産生に関わる金属イオンと結合することで抗酸化作用を示すことが報告されている。

雌性生殖器内のHA濃度は動物種により異なり、ブタ卵管液は0.0039-0.0104 mg/mL、ウシ卵管液は0.04-1.83 mg/mL、ウシ子宮液は0.32-0.59 mg/mLである。HA濃度は一定ではなく、ブタやウシの卵管液では発情期、ヒト子宮内膜では着床期に上昇する。CD44やReceptor for HA-mediated motility（RHAMM）のようなHA受容体は、マウス胚、ウシ胚及びヒト胚の全ての発生ステージで発現が認められている。

受精48時間後のウシ胚の培養液にヒアルロニダーゼ（HYAL）2を加えると非添加と比べて胚盤胞到達率が向上し、そこに抗CD44抗体を加えるとHYAL2の効果がキャンセルされることから、HAやその断片はCD44等の受容体を介して胚に作用すると考えられている [1, 2]。培養液へのHA添加がなぜ着床を促すかは明確ではないが、子宮液と近い粘性になることで子宮液との混和性が向上することや [3]、CD44受容体を介して胚の質や子宮環境が改善すること [4-6]、胚と子宮の両方のCD44受容体にHAが結合して接着剤のような役割をすること [6]などが要因ではないかと考えられている。

## 参考資料：

### 培地組成及びヒアルロン酸に関する詳細情報

1. Marei WFA, Salavati M, Fouladi-Nashta AA. Critical role of hyaluronidase-2 during preimplantation embryo development. *Mol Hum Reprod* 2013; **19**:590-599.
2. Fouladi-Nashta AA, Raheem KA, Marei WF, Ghafari F, Hartshorne GM. Regulation and roles of the hyaluronan system in mammalian reproduction. *Reproduction* 2017; **153**:R43–R58.
3. Schoolcraft W, Lane M, Stevens J, Gardner DK. Increased hyaluronan concentration in the embryo transfer medium results in a significant increase in human embryo implantation rate. *Fertil Steril* 2002; **78**:S5.
4. Ruane P, Buck C, Babbington P, Aboussahoud W, Berneau S, Westwood M, Kimber S, Aplin J, Brison D. The effects of hyaluronate-containing medium on human embryo attachment to endometrial epithelial cells in vitro. *Hum Reprod Open* 2020; **2020**:1–10.
5. Kong CS, Ordoñez AA, Turner S, Tremaine T, Muter J, Lucas ES, Salisbury E, Vassena R, Tiscornia G, Fouladi-Nashta AA, Hartshorne G, Brosens JJ, et al. Embryo biosensing by uterine natural killer cells determines endometrial fate decisions at implantation. *FASEB J* 2021; **35**:e21336.
6. Unfer V, Tilotta M, Kaya C, Noventa M, Török P, Alkatout I, Gitas G, Bilotta G, Laganà AS. Absorption, distribution, metabolism and excretion of hyaluronic acid during pregnancy: A matter of molecular weight. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2021; **17**:823-840.

## 参考資料：

### 安全性

2020年のCochraneシステマティックレビューとメタアナリシスでは、高濃度HA含有培養液の使用によって有意に多胎妊娠率が上昇することが示されているが、これは着床を促すHAの効果と複数胚移植という治療方針が組み合わさった結果だと考えられており [1]、当該培地を使用する際は単一胚移植が推奨されている。その他、子宮外妊娠や胎児・胚の異常などの有害事象の発生率に高濃度HA含有培養液が明確な影響を与えることは確認されていない。

ESHREのアドオンワーキンググループは、高濃度HA含有培養液の使用により臨床成績が向上することや有害事象が認められていないことを受け、当該培地の使用を推奨している [2]。

SIFES-MRは、ESHRE、イギリスのHuman Fertilisation and Embryology Authority (HFEA)、インドのIndian Society of Assisted Reproduction (ISAR) のガイドライン等を参照したうえで、高濃度HA含有培養液の使用を支持するエビデンスは存在するものの、すべての患者、特に反復着床不全を経験した患者においては、より強力なデータが必要であると結論付けている [3]。

1. Heymann D, Vidal L, Or Y, Shoham Z. Hyaluronic acid in embryo transfer media for assisted reproductive technologies. *Cochrane Database Syst Rev* 2020;CD007421.

2. group EA-ow, Lundin K, Bentzen JG, Bozdog G, Ebner T, Harper J, Le Clef N, Moffett A, Norcross S, Polyzos NP, Rautakallio-Hokkanen S, Sfontouris I, et al. Good practice recommendations on add-ons in reproductive medicine†. *Hum Reprod* 2023; **38**:2062-2104.

3. Cimadomo D, Cozzolino M, Busnelli A, Carosso A, Conforti A, Massarotti C, Spadoni V, Vaiarelli A, Venturella R, Vitagliano A, Zacà C, Borini A. IVF add-ons: Effectiveness, efficiency, safety, and additional costs – a position statement by the sifes-mr. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2025; **313**:114609.



#### ④核酸の塩基以外の物に作用（細胞膜、転写因子等への作用）

##### レーザー補助孵化

議論結果）規制対象とする必要性はない。

理由）レーザーアシステッドハッチング（laser-assisted hatching: LAH）は、適切な設備、標準化された手技、単一胚移植を中心とした現代的ART運用、ならびに継続的な転帰モニタリングの下で実施される場合、少なくとも短期的な母体・周産期・新生児安全性に関して、重大な有害性を示す根拠は認められない。

参考資料：

実施実態

LAHは、胚移植前にレーザーを用いて透明帯を部分的に菲薄化または開孔し、胚盤胞の孵化を補助する操作である。匿名医療保険等関連情報データベース（NDB）によると、2023年4月から2024年3月までの診療報酬点数算定回数はアシステッドハッチング加算の全国算定回数は 173,950回であり、2023年度には日本の胚移植症例の約7割でアシステッドハッチングが算定されていた。

LAHに関する詳細情報

| 文献                                                   | 対象・方法                                     | 安全性評価項目                            | 主な結果                                                                     | 安全性評価                        |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| 1. Alteri et al., Fertil Steril, 2024<br>ALADDIN RCT | 2施設RCT、凍結融解胚盤胞移植698例。LAH群352例、対照群346例。    | 生児出生、臨床妊娠、流産、多胎、早産、産科・新生児合併症、先天異常。 | 生児出生：105/352（29.8%）vs 101/346（29.2%）。RR 1.02、95%CI 0.86–1.19。            | 短期周産期・新生児安全性に明確な有害シグナルなし。    |
| 2. Curfs et al., Hum Reprod, 2023                    | 多施設二重盲検RCT、反復着床不全患者592例。LAH群297例、対照群295例。 | 累積生児出生、妊娠、継続妊娠、流産、一卵性双胎、出生児大小奇形。   | 累積生児出生：77/297（25.9%）vs 68/295（23.1%）。RR 1.125、95%CI 0.847–1.494、P=0.416。 | 反復着床不全集団でも有害性を示す明確な増加は確認されず。 |
| 3. ASRM/SART Practice Committee, Fertil Steril, 2022 | 米国生殖医学会・SARTによる診療ガイドライン。既存RCT・レビューを評価。    | 生児出生、臨床妊娠、多胎等。                     | 新鮮ART周期で生児出生率を有意に改善しない中等度の根拠。凍結胚移植や予後不良例では根拠不十分。                         | 安全性上の重大な禁忌としては位置づけられていない。    |
| 4. Alteri et al., BMJ Open, 2020<br>ALADDIN protocol | ALADDIN試験プロトコル。                           | 流産、多胎、早産、産科・新生児合併症等を事前規定。          | 安全性を含む副次評価項目が事前に明確化。                                                     | 後続RCTの評価設計の妥当性を補強。           |

## 参考資料：

### 安全性

前出の文献1： RCTでは、 1,480 nmダイオードレーザーにより透明帯の一部を処理する方法が用いられ、単一凍結融解胚盤胞移植698例において、出生児出生率および周産期・新生児関連評価において、対照群との差を示す結果は得られていない。 また、副次評価項目である流産、多胎、早産、産科合併症、新生児合併症、先天異常にも対照群との有意な差はなかった。

前出の文献2：多施設二重盲検RCTでは、反復着床不全患者592例において、流産、一卵性双胎、出生児大小奇形が安全性関連指標として評価され、LAHの有害性を示す明確な差は報告されていない。

現時点の主要RCTおよびガイドラインから、適切な機器・手技管理下で行うLAHについて、短期的な母体・周産期・新生児安全性に明確な有害事象は認められていないが、長期児発達に関する十分な根拠は限定的である。

## ⑤その他（外来の核酸（遺伝情報）の導入）

議論結果）核置換（紡錘体・前核・極体）によるMitochondrial Replacement Techniquesについては規制対象（胎内移植禁止）とすべきだが、自家幹細胞等由来のミトコンドリアを卵子内に注入する方法は規制対象から除外すべき。

理由）国際幹細胞学会の基準では、カテゴリー2（多方面からの厳正な審査の上実施可能）に分類されており、ミトコンドリアヘテロプラズミーに代表されるように、ゲノムDNAとミトコンドリアDNAの不適合による代謝異常が次世代に影響する可能性を否定できないため。

自家幹細胞等のミトコンドリアを卵子内に注入する方法は、細胞からミトコンドリアを抽出する際にミトコンドリアが損傷し、移植細胞内で増殖しない可能性があるが、ヘテロプラズミーの問題は生じない。また、供試する幹細胞が細胞年齢的に若齢である限りはミトコンドリア変異の蓄積も少なく、自家幹細胞を過継代しない限りはリスクは低いため。

参考文献： <https://www.isscr.org/guidelines>

## ⑤その他（外来の核酸（遺伝情報）の導入）

議論結果） mRNA, ncRNA (miRNA, siRNA, shRNA, lncRNA) の導入については規制対象（胎内移植禁止）とすべき。

理由） 望ましくない遺伝子発現の観点から、コードまたはターゲットする遺伝子配列によっては、胚や胎児の異常つながるような遺伝子発現または発現量変化を誘導する可能性があるため。また、ncRNAについては、非特異的な遺伝子発現制御をおこしうるため。