

先進医療 A 評価用紙 (第1-1号)

評価者 構成員: 新井 一 先生

先進技術としての適格性	
先進医療の名称	PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)
適応症	<input type="radio"/> A. 妥当である。 <input type="radio"/> B. 妥当でない。(理由及び修正案: )
有効性	<input type="radio"/> A. 従来技術を用いるよりも大幅に有効。 <input type="radio"/> B. 従来技術を用いるよりもやや有効。 <input checked="" type="radio"/> C. 従来技術を用いるのと同程度、又は劣る。
安全性	<input type="radio"/> A. 問題なし。(ほとんど副作用、合併症なし) <input type="radio"/> B. あまり問題なし。(軽い副作用、合併症あり) <input type="radio"/> C. 問題あり(重い副作用、合併症が発生することあり)
技術的成熟度	<input type="radio"/> A. 当該分野を専門とし経験を積んだ医師又は医師の指導下であれば行える。 <input type="radio"/> B. 当該分野を専門とし数多く経験を積んだ医師又は医師の指導下であれば行える。 <input checked="" type="radio"/> C. 当該分野を専門とし、かなりの経験を積んだ医師を中心とした診療体制をとっていないと行えない。
社会的妥当性(社会的倫理的課題等)	<input type="radio"/> A. 倫理的課題等はない。 <input type="radio"/> B. 倫理的課題等がある。
現時点での普及性	<input type="radio"/> A. 罹患率、有病率から勘案して、かなり普及している。 <input type="radio"/> B. 罹患率、有病率から勘案して、ある程度普及している。 <input checked="" type="radio"/> C. 罹患率、有病率から勘案して、普及していない。
効率性	既に保険導入されている医療技術に比較して、 <input type="radio"/> A. 大幅に効率的。 <input type="radio"/> B. やや効率的。 <input checked="" type="radio"/> C. 効率性は同程度又は劣る。
将来の保険収載の必要性	<input type="radio"/> A. 将来的に保険収載を行うことが妥当。 <input checked="" type="radio"/> B. 将来的に保険収載を行うべきでない。
総評	総合判定: 適・ <u>条件付き適</u> ・否  コメント: 2019年にLancetに掲載されたICSIとPICSIに関するRCT論文では、両者に妊娠率や出産率に有意差はみられず、PICSIを広く用いることは推奨できないと結論されている(Lancet 2019;416-22)。このLancet論文の結果を覆してPICSIの有用性を確認するにはかなりの困難が予測されることから、単独施設ではなく多施設共同のもとICSIとPICSIを比較するRCTを実施し日本発のエビデンスが創出されることを期待したい。

先進医療A評価用紙（第1-1号）

評価者 技術委員：北脇 城 先生

先進技術としての適格性	
先進医療の名称	PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)
適応症	<input type="checkbox"/> A. 妥当である。 <input type="checkbox"/> B. 妥当でない。（理由及び修正案： ）
有効性	A. 従来技術を用いるよりも大幅に有効。 <input type="checkbox"/> B. 従来技術を用いるよりもやや有効。 C. 従来技術を用いるのと同程度、又は劣る。
安全性	<input type="checkbox"/> A. 問題なし。（ほとんど副作用、合併症なし） <input type="checkbox"/> B. あまり問題なし。（軽い副作用、合併症あり） <input type="checkbox"/> C. 問題あり（重い副作用、合併症が発生することあり）
技術的成熟度	A. 当該分野を専門とし経験を積んだ医師又は医師の指導下であれば行える。 <input type="checkbox"/> B. 当該分野を専門とし数多く経験を積んだ医師又は医師の指導下であれば行える。 C. 当該分野を専門とし、かなりの経験を積んだ医師を中心とした診療体制をとっていないと行えない。
社会的妥当性（社会的倫理的問題等）	<input type="checkbox"/> A. 倫理的問題等はない。 <input type="checkbox"/> B. 倫理的問題等がある。
現時点での普及性	A. 罹患率、有病率から勘案して、かなり普及している。 <input type="checkbox"/> B. 罹患率、有病率から勘案して、ある程度普及している。 <input type="checkbox"/> C. 罹患率、有病率から勘案して、普及していない。
効率性	既に保険導入されている医療技術に比較して、 A. 大幅に効率的。 <input type="checkbox"/> B. やや効率的。 C. 効率性は同程度又は劣る。
将来の保険収載の必要性	<input type="checkbox"/> A. 将来的に保険収載を行うことが妥当。 <input type="checkbox"/> B. 将来的に保険収載を行うべきでない。
総評	総合判定： <input checked="" type="checkbox"/> 適 ・ 条件付き適 ・ 否  コメント：本来求められる妊娠率上昇や流産率減少については、世界的に十分なエビデンスが得られていない中で、本研究においても副次評価項目とし、良好胚形成率を主要評価項目としている点は、むしろ慎重な研究計画であり評価できる。

当該技術の医療機関の要件（案）

評価者 構成員： 新井 一 先生

先進医療名： PCSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)	
適応症： 胚移植を受ける不妊症患者（胚移植後に反復して流産を認めたもの、あるいは奇形精子を伴うものに限る）	
<b>I. 実施責任医師の要件</b>	
診療科	<input type="checkbox"/> 要（産婦人科、産科、婦人科または女性診療科）・不要
資格	<input type="checkbox"/> 要（日本産婦人科学会認定産婦人科専門医であり、かつ日本生殖医学会認定生殖医療専門医であること）・不要
当該診療科の経験年数	<input type="checkbox"/> 要（5）年以上・不要
当該技術の経験年数	<input type="checkbox"/> 要（2）年以上・不要
当該技術の経験症例数 注1)	実施者〔術者〕として（10）例以上・不要 〔それに加え、助手又は術者として（ ）例以上・ <input type="checkbox"/> 不要]
その他（上記以外の要件）	
<b>II. 医療機関の要件</b>	
診療科	<input type="checkbox"/> 要（産婦人科、産科、婦人科または女性診療科）・不要
実施診療科の医師数 注2)	<input type="checkbox"/> 要・不要 具体的内容：常勤の日本産科婦人科学会認定産婦人科専門医が1名以上配置されていること。
他診療科の医師数 注2)	要・ <input type="checkbox"/> 不要 具体的内容：
その他医療従事者の配置 （薬剤師、臨床工学技士等）	<input type="checkbox"/> 要（胚を扱うことができる技術者）・不要
病床数	要（ ）床以上）・ <input type="checkbox"/> 不要
看護配置	要（ 対1看護以上）・ <input type="checkbox"/> 不要
当直体制	要（ ））・ <input type="checkbox"/> 不要
緊急手術の実施体制	要・ <input type="checkbox"/> 不要
院内検査（24時間実施体制）	要・ <input type="checkbox"/> 不要
他の医療機関との連携体制 （患者容態急変時等）	<input type="checkbox"/> 要・不要 連携の具体的内容：緊急の場合その他当該療養について必要な場合に対応するため、他の保険医療機関との連携体制を整備していること。
医療機器の保守管理体制	要・ <input type="checkbox"/> 不要
倫理委員会による審査体制	<input type="checkbox"/> 要・不要 審査開催の条件：倫理委員会が設置されており、必要な場合に事前に開催すること。
医療安全管理委員会の設置	<input type="checkbox"/> 要・不要
医療機関としての当該技術の実施症例数	<input type="checkbox"/> 要（10 症例以上）・不要
その他（上記以外の要件、例：遺伝カウンセリングの実施体制が必要 等）	
<b>III. その他の要件</b>	

## 先進医療A評価用紙（第1-2号）

頻回の実績報告	要（ 月間又は 症例までは、毎月報告）・不要
その他（上記以外の要件）	

注1) 当該技術の経験症例数について、実施者〔術者〕としての経験症例を求める場合には、「実施者〔術者〕として（ ）例以上・不要」の欄に記載すること。

注2) 医師の資格（学会専門医等）、経験年数、当該技術の経験年数及び当該技術の経験症例数の観点を含む。例えば、「経験年数〇年以上の△科医師が□名以上」。なお、医師には歯科医師も含まれる。

## 先進医療会議事前評価構成員からの指摘事項に対する回答 1

先進医療技術名：PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)

令和3年12月28日

所属・氏名：医療法人社団神徳会 芝公園かみやまクリニック  
神山 洋

以下の点について検討し、必要に応じて関連書類についても修正してください。

1. 2019年に、ICSIとPICSIのRCT論文がLancetに掲載されました。同論文では、流産率は有意に低下したものの妊娠率や出産率に有意差はみられず、PICSIを広く用いることは推奨できないと結論がなされています。提出された参考文献リストには、このLancetの論文は引用されていません。今回の申請ですが、1施設で症例数にも限りがあるなかでLancetの結果を凌駕する結果を期待するのは厳しいように思うのですが、いかがでしょうか。

### 【回答】

ご指摘をいただきありがとうございます。ご指摘いただいた論文(David Miller et al. Lancet 2019; 393: 416-22)につきましては、先進医療届出書の文献情報に追加させていただきます。こちらの論文はPICSIはあまり薦められないという立場をとっておりますが、その理由としてはご指摘にあったとおり主要評価項目が37週以降の出生率であり、PICSI群とstandard ICSI群で差が無かったためであると考えられます。しかしながら、本文中で流産率はPICSI群でstandard ICSI群より有意に低かったと認めており、流産率がなぜ有意に下がるのかは改めて検討が必要であるとも述べています。我々はPICSIが全ての症例に効果があるのではなく、特定の症例を行うことで効果が高まると考えており、過去の論文からPICSIを行うことで流産率が下がるという報告が多く見受けられたため、対象患者を反復流産症例と致しました。また、2013年にWorriLOWらがHuman Reproductionで報告した論文ではHBAスコアを組み合わせることでPICSIの成績が大きく改善されたとされています。本研究でもHBAスコアを対象患者に行うことでHBAスコア別にPICSIの有用性を評価することも可能となっております。すなわち、本研究はPICSIをどの患者に行うのが有効なのかを確かめるという意味合いが強く、Davidらの論文を完全に踏襲するものではないと考えております。

また、ご指摘を踏まえて、本施設の研究計画とは別に、日本生殖医学会等の関係学会が関与して、多施設共同研究を実施する方向で調整をいただいております。こちらの旨を明記するよう、ロードマップを修正いたしました。

2. PICSI は、生殖医療ガイドライン等の記載を踏まえると、あくまでヒアルロン酸を含む培地を用いてヒアルロン酸結合試験を行う医療技術であると理解しております。一方で、今回の先進医療実施届出書においては、本技術は SpermSlow の使用を前提とした記載となっております。SpermSlow が薬機法の定めるところの医薬品・医療機器等には該当せず、医療技術として PICSI を実施するのであれば、誤解を与えないよう、SpermSlow の使用を前提としない記載に修正をしてください。

【回答】

ご指摘をいただきありがとうございます。ご指摘のとおり、PICSI はヒアルロン酸を含む培地を用いてヒアルロン酸結合試験を行う医療技術となっております。誤解を与えないよう、先進医療実施届出書の関連する箇所につきまして、修正をいたしました。

3. 先進医療実施届出書には申請者が関わった SpermSlow に関する論文が引用されていません(日本受精着床学会雑誌 27(1) 90-95, 2010)。申請者のクリニックにおいて、2008 年から 2009 年の間に実際に ICSI を実施した臨床例を用いて、SpermSlow 使用群と通常群を比較対比する研究となっておりますが、この論文には倫理委員会の承認に関する記載がどこにもありません。この論文は今回の申請の根拠になる研究であり、これが倫理委員会の承認なしに行われたとすれば問題のように思えますが、倫理委員会における承認がされた上で実施されたものなのでしょうか。

【回答】

ご指摘をいただきありがとうございます。日本受精着床学会雑誌に掲載された研究につきましては、2007 年 12 月 19 日に院内で研究計画の倫理的・科学的妥当性について検討し、適切と判断した上で実施いたしました。

なお、2021 年 11 月 13 日に開催した倫理委員会において PICSI の前方視的研究計画の審議を行った際に、当該論文も含めて、倫理的・科学的妥当性の観点から適切であると判断がされました。

以上

## 先進医療の内容 (概要)

先進医療の名称 : PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)
適応症 : 胚移植を受ける不妊症患者 (胚移植後に反復して流産を認めたもの、あるいは奇形精子を伴うものに限る)
<p>内容 :</p> <p>(先進性)</p> <p>ICSI における精子の選別は、手技を行う胚培養士が顕微鏡下で精子の形態と運動性を評価し選別を行う形態学的選別が主流である。しかしながら、形態学的に best looking な精子が必ずしも良好な精子とは限らないとの報告がある。さらに ICSI では in vivo や体外受精の過程で自然に行われている成熟精子の選別を省略してしまっている。このことから、形態学的評価のみで精子を選別し ICSI を行うと本来卵子の中に侵入できない未成熟な精子が注入されてしまう可能性がある。その結果として、受精率や胚の発生率が低下し流産率が増加するという報告もある。</p> <p>卵子に注入する精子は成熟を完了していることが望ましい。成熟を完了した精子は、原形質膜の再構築、細胞質の押し出し、核の成熟が起きていて高密度のヒアルロン酸レセプターが発現しており透明帯とヒアルロン酸の両方に結合することができる。この特徴を利用して生理学的に精子を選別する方法が Huszar らにより報告され、PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection) として広く行われるようになった。ヒアルロン酸を利用した精子選別は特別な器具や染色は必要なく簡便であり、選別した精子を直ちに使用することが可能である。すなわち PICSI は、精子の形態学的評価だけではなく、成熟度をその場で判別しながら卵子に注入できるという点で従来の ICSI よりも先進性がある。</p> <p>(概要)</p> <p>1) 対象及びランダム化</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ICSI 適応患者で、ICSI 後に反復流産や着床不全がみられた患者。または、夫が奇形精子症の患者を対象とする。説明後同意が得られた対象を ICSI 群と PICSI 群の 2 群にランダムに振り分ける。</li> </ul> <p>2) 卵子・精子の処理</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・採卵の 3 時間後にヒアルロニダーゼを使用して裸化を行い。第一極体が放出されている卵子を成熟卵とし、ICSI の対象とする。</li> <li>・採卵の朝に採精してもらい 15~30 分液化させた後マクラーカウンティングチャンバーで一般精液検査を行う。正常形態率は精液の塗抹標本作成後に Diff-Quik で染色を行い、strict criteria に準じて求める。</li> <li>・精子の処理は Isolate2 層法で行い、再度洗浄した後に沈渣を 0.5ml に調整してインキュベーターしておく。</li> </ul> <p>3) HBA アッセイ</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・調整後精子は ICSI の前に HBA<sup>®</sup> Assay を使用して HBA スコアを求める。</li> <li>・ヒアルロン酸がコーティングされているスライドガラスに調整後精子を 5~10 <math>\mu</math>l 滴下し、カバーガラスを被せる。</li> <li>・室温またはインキュベーターでしばらく静置し、ヒアルロン酸に結合している運動精子の割合を求める。</li> </ul>

#### 4) ICSI 手技と胚培養

・精子の選別、不動化、インジェクションピペット内への充填は ICSI 群では PVP を PICSI 群では SpermSlow™ を使用する。

・ ICS 群の精子選別は、PVP の上端まで泳ぎ上がった中で形態の良好な精子を培養士が目で見を行う。

・ PICSI 群の精子選別は、SpermSlow™ と Gamete Buffer のドロップの境界でヒアルロン酸の 3 次元ネット構造に捕まり限りなくゆっくり動いている精子を選んでいく。

・精子の注入を終えた卵子は、single step medium を使用し 30 μl でドロップ培養を行う。

#### 5) 胚凍結と胚移植

・培養 5 日目から 6 日目に胚盤胞になった胚を vitrification 法で凍結保存する。

・胚移植は原則として凍結融解単一胚移植にて行い、移植の際はグレードの高い胚盤胞から優先的に移植し両群に偏りが生じないように注意して行う。

#### 6) 評価項目と評価タイミング

・評価する項目と評価するタイミングは以下の通り行う。

##### ① Day1

正常受精の確認。雌性前核と雄性前核の両方が確認できた胚(2PN 胚)を正常受精卵と判断する。受精率は、正常受精卵数/MII 卵子数×100 (%)で算出する。

##### ② Day3

形態評価によりグレード 1 胚率を求める。Veck の分類に基づき Day3 における胚の分割速度も考慮し、割球の数は 6 細胞以上、割球の大きさが均等で fragment の無い胚をグレード 1 胚とする。グレード 1 胚率は、グレード 1 胚数/正常受精卵数×100 (%)で算出する。

##### ③ Day5

Gardner の分類に基づき、胚盤胞の形態評価を行う。3BB 以上の胚盤胞へ発生した割合を求める。胚盤胞到達率は、3BB 以上の胚盤胞数/継続培養数×100 (%)で算出する。

##### ④ 妊娠率と流産率

移植後 14 日目前後の血中 hCG 濃度が陽性で、移植から 6~8 週の時点で胎嚢(GS)が確認できた時点で臨床的妊娠と判断し、妊娠率を求める。妊娠率は、臨床的妊娠数/移植数×100 (%)で算出する。臨床的妊娠後、流産が起きた場合は流産率として記録する。流産率は、流産数/臨床的妊娠数×100 (%)で算出する。

##### ⑤ HBA スコア

処理後の精子を ICSI または PICSI に使用する前に HBA® Assay を用いて HBA スコアを求める。HBA スコアは合計で 200 個の精子をカウントし、ヒアルロン酸に結合した運動精子/ヒアルロン酸に結合した運動精子+ヒアルロン酸に結合していない運動精子×100(%)で算出する。

#### (効果)

ICSI 後に反復流産や着床不全を経験した患者を対象に、ICSI 群と PICSI 群の成績を前方視的かつ無作為に比較することで PICSI が胚発育能を向上させ流産率を低下させるために有効であるのかを示すことができるようになる。それによって、ICSI 後に反復流産や着床不全を経験した患者に次回採卵時の治療選択として PICSI の情報を提供することが可能となる。奇形精子患者においても、射出精子の中に含まれている成熟精子を PICSI で選別し卵子に注入することが可能となり、結果的に流産率の減少が期待できるようになると考えられる。



(先進医療にかかる費用)

先進医療に係る費用は 23,751 円である。

# 医療技術の概要図

## PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)

申請医療機関：芝公園かみやまクリニック

【概要】 PICSIは顕微授精の際に、DNA損傷の少ない成熟精子はヒアルロン酸に結合できるという特徴を利用し、ヒアルロン酸に接着した精子を選別することで異数性胚の発生割合を下げ、流産率を低下させると報告されている。

### 成熟精子の特徴

- ・原形質膜の再構築が完了して透明帯とヒアルロン酸に結合できる。
- ・余分な細胞質を持たず、形態が良好である。
- ・核タンパクがヒストンからプロタミンに置き換わっている。
- ・DNA鎖に断片化が少なく、染色体の disomy, diploidy の頻度が4~5分の1である。

☆ICSIの際、選択するのが理想である。



### ICSIにおける精子選別の実際

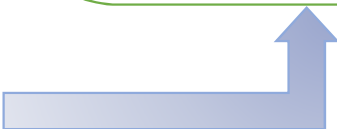
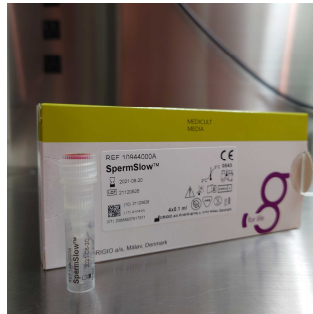
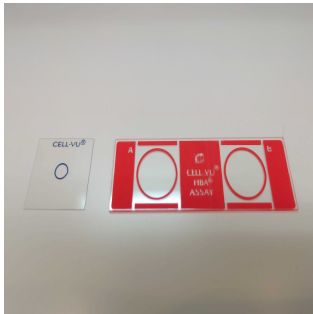
- ・ICSIを行うエンブリオロジストの経験や主観が大きい。
- ・形態学的評価に頼る割合が高い。
- ・in vivoやC-IVFでは、必ず透明帯を通過してから卵細胞質内に侵入していく。
- ・ICSIでは、透明帯の選別を省略してしまっている。

### PICSI

Physiologic=生理的な

・成熟精子はヒアルロン酸と透明帯に結合できる。

ICSIにおいて  
⇒精子の生理的な性質を利用し、透明帯等で自然に行われている選別に近い形で精子を選別する。



### 期待できる効果

成熟精子を選別し注入すると…

DNA損傷の少ない精子を注入できる!!

- 結果的に⇒
- ・異数性胚の発生割合を下げる。
  - ・流産率を低下させる。

### ヒアルロン酸を使うメリット

- ・ヒアルロン酸は、卵丘細胞複合体や女性生殖道内に元々存在する生体内成分であるため、安全性が高い。
- ・精子の不動化や選別に使われているPVPより細胞毒性が低い。

# 保険収載までのロードマップ

先進医療技術名：PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)

先進医療での適応疾患：胚移植を受ける不妊症患者（胚移植後に反復して流産を認めたもの、あるいは奇形精子を伴うものに限る）

関係学会等の関与による  
多施設共同研究

## 臨床研究

- ・ 試験名：ICSIにおける SpermSlow™を用いた成熟精子選別と臨床成績の検討
- ・ 試験デザイン：ランダム比較試験
- ・ 期間：2008年1月～2009年7月
- ・ 被験者数：130症例
- ・ 結果の概要：ヒアルロン酸を用いて精子を選別した群の方が対照群と比較して受精率、Day3良好胚獲得率が有意に高く、流産はヒアルロン酸を用いて精子を選別した群ではみられなかった。

## 先進医療

- ・ 試験名：胚移植後の反復流産患者におけるPICSIの治療効果に関する前方視的ランダム比較試験
- ・ 試験デザイン：前向きランダム比較試験
- ・ 期間：2022年4月1日～2026年3月31日
- ・ 被験者数：132周期(各群66周期)
- ・ 主要評価項目：ICSI群とPICSI群、各群のDay3におけるグレード1胚率
- ・ 副次評価項目：ICSI群とPICSI群、各群の受精率、胚盤胞到達率、妊娠率、流産率、HBAスコア

保険収載

当該先進医療における

選択基準：胚移植を受ける不妊症患者（胚移植後に反復して流産を認めたもの、あるいは奇形精子を伴うものに限る）

除外基準：TESE/TESA/PESAの対象となる男性不妊患者。凍結融解精子を使用する患者。採卵前の30日以内に試験試薬を使用した患者。

予想される有害事象：特になし。

## 欧米での現状

薬事承認：米国(有) 欧州(有)

ガイドライン記載：(有)

生殖補助医療における高度な精子選択技術を行うことを考慮してもよいが十分な根拠はない。(C)

【別添1】「PICI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)」の申請  
医療機関等 (申請書類より抜粋)

1. 申請医療機関

- ・医療法人社団神徳会 芝公園かみやまクリニック

2. 協力医療機関

- ・なし

3. 予定協力医療機関

- ・なし

**【別添2】「PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)」の期待される適応症、効能及び効果（申請書類より抜粋）**

**3. 期待される適応症、効能及び効果**

適応症：胚移植を受ける不妊症患者（胚移植後に反復して流産を認めたもの、あるいは奇形精子を伴うものに限る）

効能・効果：顕微授精（ICSI）における精子選別はPVPを精子不動化mediumとして使用し、培養士が精子の運動性と形態を目で見えて選別して卵子に注入している。この方法では未成熟な精子を見分けることができないため、本来は卵子の中に入ることのできない精子が胚を形成してしまう。これにより、受精率の低下や発生率の低下、流産の増加が起これると言われている。本法は、ヒアルロン酸を含む培地を用いてヒアルロン酸結合試験を行い、精子成熟の評価を行う技術である。成熟した精子は細胞膜の再構築により透明帯とヒアルロン酸に結合できるようになる。その特徴を利用して、ヒアルロン酸を含む培地では成熟精子を容易に判別することができるとされており、その結果として受精率や胚発生が改善し流産率が低下したとの報告がある。当院でも2009年にICSIにおけるヒアルロン酸を含む培地を使用した臨床成績の比較検討を行っており、ヒアルロン酸を含む培地の使用群では対照群と比較して受精率とDay3良好胚率が有意に高く、流産は確認されなかった。

**【別添3】「PICI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)」の被験者の適格基準及び選定方法（申請書類より抜粋）**

5. 被験者の適格基準及び選定方法

〈選定基準〉

- ・ ICSI 由来胚を移植した結果、反復流産や着床不全がみられた患者。
- ・ 当院で ICSI を施行している患者のうち夫が奇形精子症の患者。

〈選定方法〉

- ・ 上記適格基準を満たし、本研究への参加を希望し文書同意を得たもの。

〈除外基準〉

- ・ TESE/TESA/PESA の対象となる男性不妊患者。
- ・ 凍結融解精子を用いて ICSI を行う患者。
- ・ 採卵前の 30 日以内に治験試薬を使用した患者。

【別添 4】「PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)」の有効性及び安全性の評価 (申請書類より抜粋)

7-1. 有効性及び安全性の評価

〈主要評価項目〉

- ・ ICSI 群と PICSI 群、各群の Day3 におけるグレード 1 胚率。
- ・ 培養 3 日目に形態評価にてグレード 1 胚率を求める。Veck の分類に基づき Day3 における胚の分割速度も考慮し、割球の数は 6 細胞以上、割球の大きさが均等で fragment の無い胚をグレード 1 胚とする。グレード 1 胚率は、グレード 1 胚数/正常受精卵数×100 (%)で算出する。

〈副次評価項目〉

- ・ ICSI 群と PICSI 群、各群の受精率、胚盤胞到達率、妊娠率、流産率、HBA スコア。
- ・ 培養 1 日目に正常受精の確認を行う。雌性前核と雄性前核の両方が確認できた胚 (2PN 胚) を正常受精卵と判断する。受精率は、正常受精卵数/MII 卵子数×100 (%)で算出する。
- ・ 培養 5~6 日目に Gardner の分類に基づき、胚盤胞の形態評価を行う。3BB 以上の胚盤胞へ発生した割合を求める。胚盤胞到達率は、3BB 以上の胚盤胞数/継続培養数×100 (%)で算出する。
- ・ 移植後 14 日目前後の血中 hCG 濃度が陽性で、移植から 6~8 週の時点で胎嚢 (GS) が確認できた時点で臨床的妊娠と判断し、妊娠率を求める。妊娠率は、臨床的妊娠数/移植数×100 (%)で算出する。
- ・ 臨床的妊娠後、流産が起きた場合は流産率として記録する。流産率は、流産数/臨床的妊娠数×100 (%)で算出する。
- ・ 処理後の精子を ICSI または PICSI に使用する前に HBA<sup>®</sup> Assay を用いて HBA スコアを求める。HBA スコアは合計で 200 個の精子をカウントし、ヒアルロン酸に結合した運動精子/ヒアルロン酸に結合した運動精子+ヒアルロン酸に結合していない運動精子×100 (%)で算出する。

**【別添5】「PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)」の予定  
の試験期間及び症例数（申請書類より抜粋）**

7-2. 予定の試験期間及び症例数

予定試験期間：芝公園かみやまクリニックにおける人を対象とする研究等に関する倫理委員会審査後、承認を得てから、4年間。2021年11月13日に倫理委員会の承認を受けた。

予定症例数：132周期（ICSI群：66周期、PICSI群：66周期）

既の実績のある症例数：72周期

予定試験期間及び予定症例数の設定根拠：

本研究の主要評価項目であるDay3グレード1胚率（グレード1胚数/正常受精卵数×100）は先行研究から、ICSI群とPICSI群の比を1:1、臨床的に重要な2群間の差が11.7%、最もDay3グレード1胚率の悪い群を30.0%とする。第1種と2種の過誤確率をそれぞれ0.05、0.2とすると、277個の解析対象が必要である。若干の解析からの除外を考慮し、332個を目標登録数とする。なお、本研究体制でのICSIでの平均MII個数は5個であり各群66周期が必要となる。現在、当院のICSI周期は年間40周期であり、4年で登録を完了することができる予定である。



## 【別添6】「PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)」の治療 計画 (申請書類より抜粋)

### 6. 治療計画

研究対象者の同意取得後、診療録から下記の情報を収集する。

研究対象者背景：治療開始時の夫年齢、妻年齢、不妊期間、hCG 切り換え日の血中 E<sub>2</sub> 濃度

研究対象者の同意：同意者、同意取得年月日

#### 〈ランダム化〉

文書で説明し、本研究参加の同意が得られた対象患者をランダムに ICSI 群と PICSI 群に分ける。ランダム化は中身の見えない封筒に赤・青 2 色の紙を入れておき、患者本人にどちらか片方の封筒を選んでもらうことで行う。青色が PVP を使用する ICSI 群、赤色がヒアルロン酸を含む培地を使用する PICSI 群と決めておくが、患者本人には選んだ紙の色がどちらの群に対応しているかは教えずに行う。

#### 〈卵子・精子の処理〉

採卵手術後に採れた卵子の数を記録する。採卵から 3 時間後にヒアルロニダーゼ (Hyaluronidase ; Kitazato) 40IU を使用して裸化を行い、第一極体が放出されている卵子を成熟卵子 (MII 卵子) として、その数を記録する。

採卵手術の朝に採精してもらい、15~30 分液化させた後マクラーカウンティングチャンバーで一般精液検査を行い精子濃度と精子運動率を記録する。精子正常形態率は、精液の塗抹標本作成後、Diff-Quik (sysmex) で染色を行い油浸レンズにて kruger の strict criteria に準じて 200 個の精子をカウントすることで求める。正常形態精子の割合が 4%未満の症例を奇形精子症例とする。精子の処理は 90%、45%の Isolate2 層法 (300g, 15 分遠心) で行い、Sydney IVF Fertilization Medium (Cook) で再度洗浄 (300g, 5 分遠心) し沈渣を 0.5ml に調整してインキュベートしておく。精子数が少ない、または運動率が極端に悪い症例は原精液に Fertilization Medium を 2ml 加え、300g, 10 分遠心し沈渣を 0.5ml に調整後インキュベートしておく。

#### 〈HBA アッセイ〉

調整精子は ICSI に使用する前に HBA アッセイを行い、HBA スコアを記録する。HBA アッセイはオリジオ社の HBA<sup>®</sup> Assay を使用して行う。まずカバーガラスを外し、ヒアルロン酸がコーティングされている部分に調整後精子を 5~10  $\mu$ l 滴下し、その上にカバーガラスを空気の入らないように気を付けて被せる。室温またはインキュベーターでしばらく静置した後、正立顕微鏡でヒアルロン酸に結合している運動精子の割合を求める。ヒアルロン酸に結合している運動精子は頭部をスライドガラスに接着し尾部のみで運動している。一方のヒアルロン酸に結合していない運動精子は全体的に運動しているため、容易に見分けることができる。カバーガラスには格子状のグリッドが描かれており、精子を数える際の目安となる。全部で 200 個の精子を数え HBA スコアを算出する。この時、数値の偏りを防ぐため 2 人以上の胚培養士で同一検体のカウントを行い、平均値を HBA スコアとする。

#### 〈ICSI 手技〉

精子の選別、不動化、インジェクションピペットへの充填は、ICSI 群では PVP (PVP7% solution ; SAGE)、

PICSI 群ではヒアルロン酸を含む培地 (SpermSlow™ ; オリジオ社) を使用する。精子選別のレイアウトは図 1 のように行う。

① ICSI 群

FALCON1006 ディッシュ (351006 ; FALCON) に 7  $\mu$  l の Sydney IVF GAMETE BUFFER (Cook) のドロップを必要数作成し、7  $\mu$  l の PVP の下端に 3~5  $\mu$  l の調整後精子を接するように作成する。上からミネラルオイル (Light Mineral Oil ; FUJIFILM) をかけ ICSI に使用する。インジェクションピペットとホールディングピペット (Microtech) をセッティングし、インジェクションピペットの中をミネラルオイル、PVP の順で充填し精子の選別を行う。精子の選別は、PVP の上端まで泳ぎあがっている精子の中から形態の良好なものを培養士が目で見えて選別を行う。

② PICSI 群

FALCON1006 ディッシュに 7  $\mu$  l の GAMETE BUFFER のドロップを必要数作成し、5  $\mu$  l の GAMETE BUFFER の右隣に 5  $\mu$  l のヒアルロン酸を含む培地を接するように作成し、GAMETE BUFFER の左隣に 3~5  $\mu$  l の調整後精子を接するように作成する。上からミネラルオイルをかけ、5 分ほどインキュベートしてから ICSI に使用する。インジェクションピペットとホールディングピペットをセッティングし、ミネラルオイルを吸い込む。インジェクションピペット内壁への付着を防ぐため PVP を一度吸い、吐き出すことでコーティングを行い、ヒアルロン酸を含む培地を充填し精子の選別を行う。精子の選別は、GAMETE BUFFER とヒアルロン酸を含む培地の境界部分でヒアルロン酸の 3 次元ネット構造に捕まり限りなくゆっくり動いているものを選んでいく。

両群とも卵子への注入後は 30  $\mu$  l の 1-step medium (SAGE-ORIGIO) をミネラルオイルで覆いドロップ培養を行う。

〈胚凍結と胚移植〉

培養 5 日目から 6 日目に胚盤胞になった胚を Vitrification 法で凍結保存する (Vitrification Media ; Kitazato Corporation)。胚移植は原則として凍結融解単一胚盤胞移植にて行い、移植の際はグレードの高い胚盤胞から優先的に移植し両群に偏りが生じないように注意して行う。

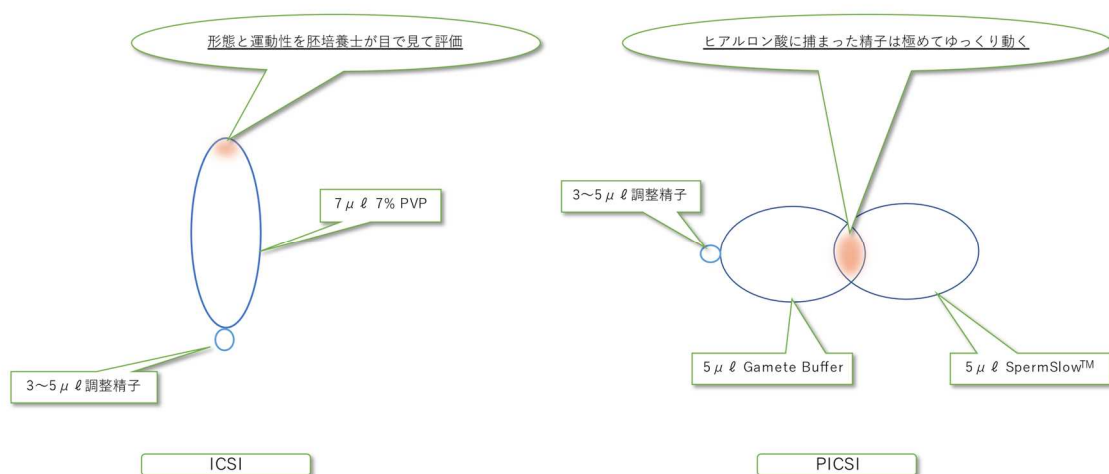


図1 精子選別のレイアウト

【別添7】「PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)」の先進医療を実施可能とする保険医療機関の要件として考えられるもの（申請書類より抜粋）

先進医療名及び適応症： PICSI (Physiologic intracytoplasmic sperm injection)	
適応症：胚移植を受ける不妊症患者（胚移植後に反復して流産を認めたもの、あるいは奇形精子を伴うものに限る）	
<b>I. 実施責任医師の要件</b>	
診療科	<input checked="" type="checkbox"/> （産婦人科、産科、婦人科または女性診療科）・不要
資格	<input checked="" type="checkbox"/> （日本産科婦人科学会認定産婦人科専門医、かつ日本生殖医学会認定生殖医療専門医であること）・不要
当該診療科の経験年数	<input checked="" type="checkbox"/> （5）年以上・不要
当該技術の経験年数	<input checked="" type="checkbox"/> （2）年以上・不要
当該技術の経験症例数 注1)	実施者〔術者〕として（10）例以上・不要 [それに加え、助手又は術者として（ ）例以上・ <input type="checkbox"/>
その他（上記以外の要件）	
<b>II. 医療機関の要件</b>	
診療科	<input checked="" type="checkbox"/> （産婦人科、産科、婦人科または女性診療科）・不要
実施診療科の医師数 注2)	<input checked="" type="checkbox"/> ・不要 具体的内容：常勤の日本産科婦人科学会認定産婦人科専門医が1名以上配置されていること。
他診療科の医師数 注2)	要・ <input type="checkbox"/> 具体的内容：
その他医療従事者の配置 （薬剤師、臨床工学技士等）	<input checked="" type="checkbox"/> （胚を扱うことができる技術者）・不要
病床数	要（ ）床以上）・ <input type="checkbox"/>
看護配置	要（対1看護以上）・ <input type="checkbox"/>
当直体制	要（ ））・ <input type="checkbox"/>
緊急手術の実施体制	要・ <input type="checkbox"/>
院内検査（24時間実施体制）	要・ <input type="checkbox"/>
他の医療機関との連携体制 （患者容態急変時等）	<input checked="" type="checkbox"/> ・不要 連携の具体的内容：緊急の場合その他当該療養について必要な場合に対応するため、他の保険医療機関との連携体制を整備していること。
医療機器の保守管理体制	要・ <input type="checkbox"/>
倫理委員会による審査体制	<input checked="" type="checkbox"/> ・不要 審査開催の条件：倫理委員会が設置されており、必要な場合に事前に開催すること。

医療安全管理委員会の設置	<input checked="" type="checkbox"/> 要・不要
医療機関としての当該技術の実施症例数	<input checked="" type="checkbox"/> (10 症例以上)・不要
その他(上記以外の要件、例; 遺伝カウンセリングの実施体制が必要 等)	
<b>Ⅲ. その他の要件</b>	
頻回の実績報告	要 ( 月間又は 症例までは、毎月報告)・ <input checked="" type="checkbox"/> 不要
その他(上記以外の要件)	

注 1) 当該技術の経験症例数について、実施者〔術者〕としての経験症例を求める場合には、「実施者〔術者〕として ( ) 例以上・不要」の欄に記載すること。

注 2) 医師の資格(学会専門医等)、経験年数、当該技術の経験年数及び当該技術の経験症例数の観点を含む。例えば、「経験年数〇年以上の△科医師が□名以上」。なお、医師には歯科医師も含まれる。