

2.院内にガス滅菌装置を備えていますか？

回答 277

YES 244 (88.1%)

NO 33 (11.9%)

C.貴施設でのスタッフについて教えてください。

1.採卵や胚移植を実際実施する医師の人数(現在)は？

回答 277

2.4 (1-13) 人

2.トレーニングが済んでいる胚培養士の人数は？

回答 277

1.5 (0-18) 人

3.トレーニングが終了していない胚培養士の人数は？

回答 277

0.5 (0-10) 人

4.学会(日本哺乳動物卵子学会)が認定する胚培養士の人数は？

回答 277

0.7 (0-7) 人

5.学会以外の団体が認定する胚培養士の人数は？

回答 277

0.3 (0-5) 人

6.不妊カウンセラー(臨床心理士以外)の人数は？

回答 276

0.7 (0-8) 人

7.臨床心理士による不妊カウンセラーの人数は？

回答 277

0.1 (0-5) 人

8.不妊コーディネーターの人数は？

回答 276

0.5 (0-6) 人

9.採卵や胚移植に関与する専属の不妊看護師の人数は？

回答 274

2.1 (0-25) 人

D.貴施設でのスタッフの研修状況について教えてください(複数回答可, チェックしてください).

1.医師が 2004 年に参加した不妊に関連する学会は？

いずれかの学会・研究会に参加したとの回答 255

日本産科婦人科学会

日本哺乳動物卵子学会

日本アンドロロジー学会

日本不妊学会

日本受精着床学会

日本生殖免疫学会

日本生殖内分泌学会

国際学会(学会名を記入してください)

\_\_\_\_\_

研究会(全国レベルのみ, 研究会名を記入してください)

\_\_\_\_\_

2.胚培養士が 2004 年に参加した不妊に関連する学会は？ (胚培養士がいる場合)

いずれかの学会・研究会に参加したとの回答 160

- 日本産科婦人科学会
- 日本哺乳動物卵子学会
- 日本アンドロロジー学会
- 日本不妊学会
- 日本受精着床学会
- 日本生殖免疫学会
- 日本生殖内分泌学会
- 国際学会(学会名を記入してください)

- 研究会(全国レベルのみ, 研究会名を記入してください)

3. 医師が 2004 年に ART に関する演題 で学会発表を行った学会と発表数は?

いずれかの学会・研究会で発表したとの回答 97

- 日本産科婦人科学会
- 日本哺乳動物卵子学会
- 日本アンドロロジー学会
- 日本不妊学会
- 日本受精着床学会
- 日本生殖免疫学会
- 日本生殖内分泌学会
- 国際学会(学会名を記入してください)

- 研究会(全国レベルのみ, 研究会名を記入してください)

● 発表数は全部で  題

発表ありの施設 92、平均 5.2 (1-50)題

4. 胚培養士が 2004 年に ART に関する演題 で学会発表を行った学会と発表数は?

(胚培養士がいる場合)

- 日本産科婦人科学会
- 日本哺乳動物卵子学会
- 日本アンドロロジー学会
- 日本不妊学会
- 日本受精着床学会
- 日本生殖免疫学会
- 日本生殖内分泌学会
- 国際学会(学会名を記入してください)

- 研究会(全国レベルのみ, 研究会名を記入してください)

●発表数は全部で  題

発表ありの施設 47、平均 2.6 (1-17)題

5.不妊カウンセラーが 2004 年に参加した学会は?(不妊カウンセラーがいる場合)

いずれかの学会・研究会に参加したとの回答 51

- 日本産科婦人科学会
- 日本哺乳動物卵子学会
- 日本アンドロロジー学会
- 日本不妊学会
- 日本受精着床学会
- 日本生殖免疫学会
- 日本生殖内分泌学会
- 国際学会(学会名を記入してください)

- 研究会(全国レベルのみ, 研究会名を記入してください)

6.不妊コーディネーターが 2004 年に参加した学会は?(不妊コーディネーターがいる場合)

いずれかの学会・研究会に参加したとの回答 50

- 日本産科婦人科学会

日本哺乳動物卵子学会

日本アンドロロジー学会

日本不妊学会

日本受精着床学会

日本生殖免疫学会

日本生殖内分泌学会

国際学会(学会名を記入してください)

研究会(全国レベルのみ, 研究会名を記入してください)

E.ART に関する消耗品について既製品使用の現状について教えてください。

1.以下の消耗品の中で, 既製品を購入して使用しているものに○をお付けください。

レギュラー培養液    ヘペス含培養液    ヒアルロニダーゼ溶液    PVP 溶液    胚凍結用液

精子凍結用液    酸性タイロード液    ピペット    ICSI 用マイクロピペット

試験管    シャーレ

いずれかを使用しているとの回答あり 272    使用なしで IVF,ICSI 実施ありと報告している回答 4

資材品目	件数	%
シャーレ	264	97.1
レギュラー培養液	259	95.2
試験管	256	94.1
ピペット	237	87.1
精子凍結用液	202	74.3
ヘペス含培養液	199	73.2
胚凍結用液	195	71.7
ICSI 用マイクロピペット	185	68.0
PVP 溶液	166	61.0
ヒアルロニダーゼ溶液	155	57.0
酸性タイロード液	93	34.2

2.培養液を自家調整していますか?

回答 270    YES 40(14.8%)    NO 230 (85.2%)

3.ICSI 用のマイクロピペットを自作していますか?

回答 261    YES 27 (10.3%)    NO 234 (89.7%)

F. ART の実施について教えてください。

1.IVF や ICSI を実施する時に婦人の年齢制限を行っていますか？

回答 275 YES 34 (12.4%) NO 241 (87.6%)

年齢制限を行っている場合、年齢の上限は？

回答 34 平均年齢 43.9 (40-46) 歳

2.IVF や ICSI を実施する時に実施の回数制限を行っていますか？

回答 276 YES 22 (8.0%) NO 254 (92.0%)

回数制限を行っている場合、回数の上限は？

回答 18 平均回数 4.4 (3-6) 回

3.移植胚数の制限について教えてください。個数の制限をしている。

回答 271 YES 269 (99.3%) NO 2 (0.7%)

最多移植胚数は何個ですか？

回答 271 平均個数 2.9 (2-5) 個

4.現在採用の胚凍結の方法を教えてください(どちらかに○を付けてください)。

回答 243 緩慢凍結法 108 (44.4%) ガラス化法 165 (67.9%)

5.運動性良好精子回収法は何ですか(複数回答可)。

いずれかを用いているとの回答 275

Swim up 法 235 (85.5%)

Swim down 法 24 (8.7%)

Swim across 法 4 (1.5%)

パーコール密度勾配法 88 (32.0%)

パーコールの代替え品(シラン被覆コロイドシリカゲル)を用いた密度勾配法 109 (39.6%)

造影剤を用いた密度勾配法 1 (0.4%)

6.IVF の採卵当たり妊娠率を教えてください(概数可)。

回答 267 25.7 (0-75) %

7.IVF の妊娠当たり流産率を教えてください(概数可)。

回答 258 20.5 (0-100) %

8.ICSI の採卵当たり妊娠率を教えてください(概数可)。

回答 192 23.6 (0-70) %

9.ICSI の妊娠当たり流産率を教えてください(概数可)。

回答 185 21.1 (0-100) %

G.倫理委員会、インフォームドコンセントなどについて教えてください。

1.施設に倫理委員会が設置されていますか？

回答 277 YES 182 (65.7%) NO 95(34.3%)

2.倫理委員会の委員の人数は何人ですか？

回答 151 8.4 (1-33) 人

3. IVF や ICSI などを実施する時には夫婦の戸籍謄本を確認していますか？

回答 275 YES 88 (32.0%) NO 187 (68.0%)

4.IVF や ICSI などの治療法を実施するにあたり、日本不妊学会発行の「生殖補助医療ガイドライン」を参考にしていますか？

回答 273 YES 257 (94.1%) NO 16 (5.9%)

5.IVF や ICSI などの説明書、同意書の内容は、日本不妊学会発行の「生殖補助医療ガイドライン」と同じレベルですか？

回答 268 YES 238 (88.8%) NO 30 (11.2%)

6.IVF を実施するにあたり説明書がありますか？

回答 277 YES 269 (97.1%) NO 8 (2.9%)

7.IVF を実施するにあたり同意書を取得していますか？

回答 274 YES 268(97.8%) NO 6 (2.2%)

8.ICSI を実施するにあたり説明書がありますか？

回答 218 YES 197 (90.4%) NO 21 (9.6%)

9.ICSI を実施するにあたり同意書を取得していますか？

回答 216 YES 196 (90.7%) NO 20 (9.3%)

10.胚凍結保存を実施するにあたり説明書がありますか？

回答 248 YES 212 (85.5%) NO 36 (14.5%)

11.胚凍結保存を実施するにあたり同意書を取得していますか？

回答 250 YES 225 (90.0%) NO 25 (10.0%)

#### H.その他

1.貴院で実施している ART の治療法の中で、先端的治療法と考えられるものがあれば、教えてください。

( )

2.今後、実施が予想される先端的治療法があれば、教えてください。

( )

---

以上でアンケートの質問は終わりです。ご協力をありがとうございました。深謝いたします。

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）分担研究者  
ART 関連消耗品の安全管理

分担研究者 久慈 直昭（慶応義塾大学医学部産婦人科 講師）

研究要旨

本研究では、受精卵に直接接触する事になる培養液など ART 関連の消耗品についてのわが国における管理体制を考案するための基礎資料として、1) 諸外国（米・欧・豪州）における ART 消耗品管理機構の実態を検討、2) 現在販売・使用されている消耗品の現状調査、3) 培養液に添加される成長因子などの効能・安全性に対する文献的調査、を行った。

ART 用機器・消耗品の管理について、米国では医療機器に分類され、製造および販売は FDA（米国食品医薬品局）管理下で規制されている。製造会社は年 1 回の査察を義務づけられている。豪州においては、品質管理基準（Good Manufacturing Procedures; GMP）に準拠して製造される必要があり、ISO 監査機関と豪国厚生省によって 1 年毎に監査されている。これに対比し、欧州各国は培養液などの管理基準について、各国が独自の基準を設けることはせず、実質的には FDA 基準を標準にしている。

培養液・顕微授精や凍結のための特殊溶液等に関しては、大部分は外国から輸入されている。有効期間は 35 日から 1 年間、多くは FDA の基準に準じて製造されている説明書が添付されている。輸送は空輸貨物であるが、発泡スチロールで梱包され温度や気圧の変化を防御している。国内へ到着後は冷蔵で保管、配送される。把握しうる限りで少なくとも 8 社以上が、培養液等を販売しており、運搬を含めた保存管理、品質管理は各会社の責任の下で行っている。ART に使用される培養皿等の消耗品についても、海外での製造・販売は、FDA 等により厳しく管理されているが、日本に輸入された後の管理体制や安全性については不明であり、日本での品質管理や安全性確保はこれからの課題であると考えられる。

また、現在生殖補助医療において使用される培養液に添加される種々の成分がどのような影響を及ぼすかについて、文献検索を行った。Growth factor、ヒト血清アルブミン、アミノ酸や抗酸化剤などが塩類以外に添加されており、障害などマイナス効果の論文はごく僅かであったが、Negative データが論文になりにくいことやマイナス効果についてはメーカーも言及しない可能性も考えられる。

## 研究協力者

荒木康久（高度生殖医療技術研究所）

吉澤緑（宇都宮大学農学部）

佐藤和文（聖隷浜松病院）

江頭昭義（蔵本ウイメンズクリニック）

### A. 研究目的

生殖補助技術に使用される精子・卵子培養のための消耗品は、品質管理に関して特定の検査なく各医療機関で使用されている。培養液などには特定生物由来製剤を含むものもあり、感染・環境汚染などに対する安全性の把握や、品質劣化防止のための管理体制の整備は急務である。そこで本研究では、1) わが国の医療機関が使用の際の基準とされていると考えられる諸外国（米・欧・豪州）における ART 消耗品管理機構の実態を検討、2) 本邦で現在販売・使用されている消耗品の現状調査、3) とくに受精卵に直接接触することになる培養液に添加されうる成長因子などの効能・安全性に対する文献的調査、を行った。

### B. 研究方法

#### a. 米・欧・豪州における ART 用機器・消耗品の管理機構の検討

わが国で医療機関が ART 関連消耗品を使用する際、重視していると考えられる米・欧・豪州における ART 消耗品管理機

構の実態を把握するため、文献検索、実務担当者からの聞き取り、製造会社、輸入業者からの聞き取りから得られた情報を整理、考察した。

#### b. 本邦で現在販売・使用されている消耗品の現状調査

本邦で使用されている培養液やその添加物（培養液・顕微授精や凍結のための特殊溶液等）、および培養皿などについて、販売されている製品の種類、製品の有効期限および輸入の現状を文献検索、医療機関の実務担当者、製造会社、輸入業者からの聞き取りを含め調査した。

#### c. 培養液に添加されうる成長因子などの効能・安全性に対する文献的調査

現在ヒトの生殖補助医療において使用される培養液の組成及び添加される種々の成分がどのような影響を及ぼすかについて、文献検索を行った。

### C. 結果・考察

#### a. 米・欧・豪州における ART 用機器・消耗品の管理機構の検討

##### I. アメリカ

米国では ART 用機器、消耗品は医療機器 (medical device) に分類されており、その製造および販売は FDA (米国食品医薬品局、Food and Drug Administration) の管轄部署の一つである医療機器・放射線保健センター (Center for Devices and Radiological Health; CDRH) の管理下

で規制される<sup>1)</sup>。

1) ART 用機器・消耗品に関する規制  
産婦人科領域の「Subpart G, Assisted Reproduction Device」に分類される。

Subpart G は表 1 に示す 10 項目に分類される。

表 1. FDA による ART 用機器・消耗品の分類

項目番号	名称	製品例
Sec. 884.6100	Assisted Reproduction Needles	採卵針
Sec. 884.6110	Assisted Reproduction Catheters	カテーテル・スタイレット
Sec. 884.6120	Assisted Reproduction Accessories	インキュベーター・フリーザー
Sec. 884.6130	Assisted Reproduction Microtools	マイクロピペット
Sec. 884.6140	Assisted Reproduction Micropipette Fabrication Instruments	マイクロピペット類製造装置
Sec. 884.6150	Assisted Reproduction Micromanipulators and Microinjectors	マイクロインジェクター・マニピレーター
Sec. 884.6160	Assisted Reproduction Labware	ディッシュ・チップ
Sec. 884.6170	Assisted Reproduction Water and Water Purification Systems	ART 用水・同製造設備
Sec. 884.6180	Reproductive Media and Supplements	培養液・試薬・サプリメント
Sec. 884.6190	Assisted Reproductive Microscopes and Microscope Accessories	顕微鏡・付属品

## 2) 規制の種類

医療機器の安全性と有効性を保証するもので、3クラス (Class I、II、III) に分類される。

ART 用機器・消耗品にはハイリスクの製品に要求される市販前承認 (Pre-market approval; PMA) が必要な Class III に該当するものはない。顕微鏡・備品類が General Control の要求される Class I に、

その他の製品は全て General Control と Special Control の要求される Class II に分類される。いずれも安全性・有効性およびリスクの程度に元づいて、市販前届出 (Pre-market Notification [510(k)] の手続きをする対象となる。

もし、各自の施設が独自で作製し、「ART 用製品として表示」して販売するのでなければ、上記は適用されない。

表 2. 製品例と要求されるクラス程度

	classification
採卵針	class II
カテーテル・スタイレット	class II
インキュベーター・フリーザー	class II
マイクロピペット	class II
マイクロピペット類製造装置	class II
マイクロインジェクター・マニピュレーター	class II
ディッシュ・チップ	class II
ART 用水・同製造設備	class II
培養液・試薬・サプリメント	class II
顕微鏡・付属品	class I

3) General Control と Special Control の相違

General Control とは：

製造業者の登録、製品の登録、製品表示の内容と方法、製造管理および品質管理基準への適合など。

Special Control とは：

- ①マウスエンブリオアッセイ
- ②エンドトキシン検査
- ③滅菌の証明
- ④水の品質
- ⑤設計および性能に関する仕様
- ⑥生体適合試験
- ⑦臨床試験

表 2 で示したごとく、顕微鏡・付属品を除く ART 関連機器・消耗品は General Control と Special Control を伴う ClassII が要求されている。

4) ART 用機器・消耗品に勧告される

510(k)の内容：

(例：培養液・試薬・サプリメント類)

① 製造設備：品質管理規則に記載された設備で無菌性を保証する設備で製造。

② 高分子：ヒトまたは動物由来の高分子（血清アルブミンやヒアルロン酸等）を製品に使用する場合は、感染性の潜在的リスクの観点から、ドナースクリーニングや試験の管理状況、患者への通知や同意の内容など、使用に関する正当性を提示すること。ICSI に使用される製品は卵子に外来性の DNA が混入する可能性を検討すること。また、遺伝子組換えタンパク質の利用では、FDA は技術的に研究開発段階にあると認識していること。動物由来の高分子に関しては生物製剤評価センターが必要に応じて Special Control を追加することがあると示されている。

③ ラベル等表示の内容と方法：製品には製造単位ごとにエンドトキシン試験の結果とマウスエンブリオテストに関する情報の表示が要求されている。

以上の内容から、米国では ART 用機器・消耗品は 510(k)の規制のもとで市販されており、製造および品質保証に関する体制が認められた製造業者により、一定の品質の ART 用機器・消耗品が恒常的に医療機関に提供されていると考えられる。ただし施設内でこれらの物品を独自に製造し、他施設に販売しないで使用している施設には上記は適用されていない。

5) アメリカでの培養液製造・販売の実情についての聞き取り調査<sup>2)</sup>

ア) 全ての培養液製造、試薬、タンパク質等はクラス 2 の医療機器・消耗品として FDA から分類されている。この要求を満たす製造は FDA で定められた製造管理および品質管理基準 (Good Manufacturing Procedures; GMP) に従わなければならない。

- ① 原料性能仕様書が品質管理検査手続で保証されていること。
- ② 製品は保証された製造工程の手順に従って製造されること。
- ③ 最終製品は安全と性能について、予測されるリスクを確認するための品質管理が施されていること。

イ) 培養液を製品化するための、試薬、高分子、品質管理は FDA により指示されている。

たとえばある会社の検定では、One Cell を用いた場合、少なくとも 24 時間以内に 80%以上の分割胚となり、96 時間以内に 80%以上の胚盤胞に発生する。

最終製品のエンドトキシン濃度、無菌水

準、浸透圧についても各社それぞれ、FDA の基準にあう範囲で独自の社内基準により品質管理を行っている。

D. 小括：

以上、2 資料 (1 および 2) から、明らかなごとくアメリカにおける培養液・試薬・サプリメント類は、FDA の医療機器の安全性と有効性を保証するクラス 2 (Class II) に分類される。いずれも安全性・有効性およびリスクの程度に元づいて、市販前届出 (Premarket Notification [510(k)]) の手続きの対象となっている。

2. オーストラリア<sup>3)</sup>

1) 培養液販売に関する規制

製造会社は医療用機器に関する品質システムである ISO13485 (2003) を取得しなければならない。また、製品は品質管理基準 (Good Manufacturing Procedures; GMP) に準拠して製造されなければならない。

GMP ガイドラインは製造環境 (クリーンルーム等)、キャリブレーション、バリデーション等すべてをカバーしている。これは TUV (ISO 監査機関) と TGA (The Therapeutic Goods Administration: a unit of the Australian Government Department of Health and Ageing; 豪国厚生省) によって 1 年毎に監査されている。

2) pH、エンドトキシン、グロースファ

クター等の規制

これは製造会社が決定するものであるが、バリデーションプロトコルやレポートでの立証が必要となっている。出来る限り国際的なプロトコルに準拠させている。これらもTGAによってレビューされる。

3) 海外への発送に関する規制

これも ISO13485 の一部の項目で、しかるべき温度とバリデーションによって出荷される。これも TGA によって監査される

このようにオーストラリアの培養液・試薬・サプリメント類の製造。販売管理は、ほぼアメリカと同程度と解釈される。

(表 3)

クック社製品認可状況

			2005年6月現在
	製造国での認可	滅菌方法	FDAでの認可
培養液	× (Class IIIに分類され、現在申請中。近々に認可予定。* 現在認可を得ているメーカーなし。)	TGAに従ったフィルター処理	○ (Class II)
採卵針	○ (Class I または II)	EOG (ISO11135に準拠)	○ (Class II)
ピペット類	○ (Class I)	EOG (ISO11135に準拠)	○ (Class II)
ETカテーテル	○ (Class I または II)	EOG (ISO11135に準拠)	○ (Class II)
ミネラルオイル	○ (Class I)	TGAに従ったフィルター処理	○ (Class II)

TGA=The Therapeutic Goods Administration : a unit of the Australian Government Department of Health and Ageing

(表 4)

### Classification of Medical Devices by TGA

Classification	Class 1	for low risk medical devices
	Class 2a	for low-medium risk medical devices
	Class 2b	for medium-high risk medical devices
	Class 3	for high risk medical devices
	AIMD	for Active Implantable Medical Devices

Products	Classes	Rules
OPU needles	Class 1	Invasive devices that are not connected to an active medical devices, and are for transient use
	Class 2a	Invasive devices that are connected to an active medical devices
ET Catheters	Class 1	Invasive devices that are not connected to an active medical devices, and are for transient use
	Class 2a	Invasive devices that are connected to an active medical devices
Pipettes	Class 1	Invasive devices that are not connected to an active medical devices, and are for transient use
	Class 2a	Invasive devices that are connected to an active medical devices
IVF media	Class 3	A device incorporating substance that if used separately would be a medicine and has an ancillary action on the body
Culture Oil	Class 1	Non-invasive medical device, does not include a substance like other media.

3. イギリス—HFEA (Human Fertilisation and Embryology Authority) の管理・規制<sup>4)</sup>

培養液および製造に関して規制はしていない。ただし、各治療施設が責任をもって、最高の基準が保たれるよう保存、配偶子、胚の操作技術は維持されていなければならない。

以下に私信による e-mail<sup>4)</sup>を述べた。

Regarding your question, our government/HFEA does not have any legislation at all concerning culture media or its production - the only thing that is mentioned in the Code of Practice is: "treatment centres are

expected to ensure that the highest possible standards are maintained in the storage and handling of gametes and embryos"

4. デンマーク<sup>5)</sup>

デンマークの培養液製造会社 (Medi-Cult) の日本代理店から入手した資料では、培養液について特に製造における制約事項や法律はない。また輸出する際の温度、有効期限等についての法規制もない。従って、Medi-Cult 社では自主的に ISO13485 (製薬、医療機器メーカーで求められるようになっている ISO)、FDA の基準等をクリアすることにより精度を高めている。

輸送についても規制はない。しかし、

当社ではデンマークよりダイレクト便で 2-8℃のクール便の専用カーゴで輸入しており、全てのメディアウムを医薬品用のサンヨーの冷蔵庫で保管している。

培養液・試薬・サプリメント類は PDF ファイルに記載されている通り、pH、エンドトキシン等の一般的な品質管理を実施しており、また Medi-Cult 社では、独自にハイブリドーマを使用した細胞毒性試験を実施している。

## 5. スイスの実情<sup>6)</sup>

スイスでは ART 用機器・消耗品に関する法律は存在しない。ただし、唯一存在する法律として、培養液に加えるサプリメントが動物細胞/生産物質がふくまれているものであれば、それを用いたヒトの胚培養は禁止されている。

しかし、多くの施設でウシやヒツジから製造されたヒアロニダーゼは使用されている。

各施設で作製される培養液は保証された試薬を用いている。しかし、多くは FDA が承認した会社製品を用いている。これは、各施設が ISO 登録を求める方向にあり、その管理事項に FDA 承認製品を推奨していることから想像される。しかし、培養液製造会社が製品の組成など詳細な報告をしていないのが問題とされている。

スイスは E.U に属していないが、一般的に見てヨーロッパはアメリカのような規制は無いと思われる。自らが責任において Lab 管理させているのが特徴のよう

に感じられる。培養液などの管理基準は FDA を標準にしているように思われる。

b. 本邦で現在販売・使用されている消耗品の現状調査

### 1. 培養液等

#### 1) 本邦で使用されている培養液 (表 5)

以前は、自製の培養液を使用する施設も多く見かけられたが、現在では一部の施設を除いて、大多数の施設では販売された培養液、PVP、Percoll など市販製品を使用している。その理由は、1) 市販製品のロット差縮小による安定性向上、2) 以前から自作製造する際原料となる超純水作成が困難である事、3) 胚盤胞培養等培養方法の進歩により培養液組成が複雑化し、安定して自製することが困難になったこと、などがあげられる。

本邦で現在販売されている代表的な培養液を表 5 にまとめる。市販製品は濾過滅菌され、エンドトキシン、マウスエンブリオテスト結果などの品質証明がなされている。

なお周知のように、海外で「体外受精」と明記して販売されている商品も、本邦では「雑品」として輸入されている関係上、全ての消耗品は「研究用試薬であり体外診断薬ではありません」「ヒトまたは動物の治療にもちいるものではありません」等の記載がある。

#### 2) 外国からの輸入方法

輸入方法は空輸貨物であるが、発泡スチロールで梱包され温度や気圧の変化を

防御している。国内へ到着後は冷蔵で保管、配送される。使用上の問題点として極まれに異物混入や凍結していたなどの事象があった。

### 3) 培養液以外の関連試薬

#### ① ミネラルオイル(流動パラフィン)

培養液製造会社が体外受精培養用として製造、販売している。培養液製造会社はミネラルオイルも製品化して販売しているところが大多数である。製造過程の洗浄工程でオイルの純度が高まる。従って、一見、無色透明に見える製品でも各社により純度が異なることが判明している<sup>7) 8)</sup>。

#### ② ヒアルロニダーゼ

培養液製造会社が体外受精培養用として製造、販売している。試薬メーカーのSIGMA などからも販売され使用されているが、試薬品にはエンドトキシン検定の規定はなく、ART 使用製品とする場合、FDA の基準でエンドトキシン検定が義務付けられている。従って、市販品である限り、FDA 認可製品として販売されているものが多い。

#### ③ Polyvinylpyrrolidone (PVP)

培養液製造会社が体外受精培養用として製造、販売している。試薬メーカーのSIGMA などからも販売され使用されている。これも、上記したヒアルロニダーゼと同一である。

#### ④ 精子分離試薬

Percoll (PVP 被膜コロイドシリカ) は製造会社からの製造責任上の理由から精子分離に使用しないように要望され、その代替製品がでている。しかし、多くの施設で医師の責任において、依然 Percoll は使用されている。表 6 に本邦で使用されている主な Percoll 代替品を示した。柳田らによれば、Percool 代替品として、8 社の製品が報告されている<sup>9)</sup>。

#### 4) 培養液についての考察

かつて、大学研究機関の研究者でしか製造できなかった特殊製品でも、現在では市販製品として容易に入手可能となり、小規模なオフィス診察室ですら、かつて不可能であった体外受精一胚移植による不妊治療が盛んに実施されている。この不可能を可能にした大きな理由は学問の発達、機器類の発達と合わせて、高品質の培養液を含めた消耗品の安定供給が簡単に出来るようになったことは否定できない。しかし、それだけに、簡単に入手しえる消耗品(培養液・顕微授精や凍結のための特殊溶液等)のチェックは重要になったといえる。使用者側の製品管理の危機意識は乏しく、使用製品の組成の吟味はほとんど無視されている。生物由来添加物使用の危険もあり、特に感染・環境汚染などの危険性や、品質劣化への注意喚起を含めて品質管理・安全管理上の指針を作製する時期にきている

表 5. 本邦で使用されている主な培養液

販売元	製造元	培養液種類	使用期限
株・アイエスジャパン	Irvine Scientific	HTF Medium, P-1 Medium Blastocyst Medium Modified HTF Medium *	50 日 *180 日
株・カメイカル	SAGE	QA Fertilization medium QA Cleavage medium QA Blastocyst medium QA medium with HEPES**	70 日 **HEPES 添加は 1 年
株・メイトン・インターナショナル	Vitrolife	G-FERT Fertilisation medium G-1 Cleavage medium G-2 Blastocyst medium	56 日
日本農産	Medi Cult	Medi-Cult Flushing medium Medi-Cult Universal IVF medium Blast-Assist System	35 日 Universal medeium は 56 日 Blast System は 26 日
扶桑薬品	扶桑薬品	HFF99 Hepes-HFF99	1 年
株・メイカルトプス	In Vitro Care	IVC-three	6 ヶ月
株・東機貿	Cook	SIVF Fertilization medium SIVF Cleavage medium SIVF Blastocyst medium	8 週間

表 6. 本邦で使用されている主な Percoll 代替品

販売元	製造元	商品名	使用期限
アイエスジャパン	Irvine Scientific	Isolate	2 年
カメイカル	SAGE	Pure Ception	1 年
日本農産	MediCult	Supra Sperm System	8 週
メイトンインターナショナル	Vitrolife	Sperm Grad	1 年
東機貿	COOK	Sydney IVF Sperm Gradient Kit	12 週

## 2. 培養液以外の消耗品

一般的に、シャーレ、チップ、顕微授精用マイクロピペットなどは、以下のような品質保証の基準に従いいくつかの検査が行なわれているのに関して販売されている。

### 1) マウスエンブリオアッセイ (MEA)

MEA は器具類の潜在的な毒性を評価する試験であり、FDA はマウス F-1 より得られた 1cell もしくは 2cell を用いて評価を毒性試験の最適な方法としている。FDA は製造業者には過剰な負担がかかることを避けるために MEA を必須条件とはしていない。しかし、他社製品との差別化を計るために MEA 済みのものが多く販売されている。

### 2) エンドトキシン試験

グラム陰性菌由来の発熱性物質であるエンドトキシンは、胚の発生等に影響を及ぼす可能性があるとされている。エンドトキシン試験は、米国薬局方 (Pharmacopoeia of the United State of America, USP) で規定された試験に準じて行なわれている。

### 3) 製品の滅菌製の保証

無菌性保障水準 (Sterility Assurance Level: SAL)  $10^{-6}$  での無菌性の保証が要求される (滅菌処理後に、微生物が存在する割合が  $10^6$  個の中に未滅菌のものが 1 個混入しているのが認められるレベル)。滅菌のガイドラインには、American

Association of Medical Instrumentation (AAMI: 米国医科器械振興会) の推奨する方法を使用している。

### 4) 表示に関する要求事項

表示に関する要求事項は、製品が適切に使用され、使用者に的確な情報が供給できること、使用目的が明確に理解できるように表示されていることなどがある。また、ラベルと添付文章にエンドトキシン検査結果、MEA の実施の有無、および滅菌方法の記載が必要である。

### 5) 培養液以外の消耗品についてのまとめ

本邦でこれらの消耗品を購入する場合、医療機関では表示に関する要求事項を指標に購入している場合が少なからずあり (たとえば「FDA の基準を満たしている」など)、輸入された消耗品の品質管理や安全性について、実際にどのような基準に従い製造、販売されているのか明確に分からない場合がある。また品質管理等に問題が発生した場合などは、販売業者を介して問題の解決を行なわなくてはならず、製造元へ直接問い合わせを行なう事は困難な場合が多い事が予測された。さらに輸出国では厳しい管理下で製造されて基準に達していても、本邦へ輸出されてから医療機関に到着するまでの品質管理については、個々の輸入販売業者に委ねられている。

C. 培養液に添加されうる成長因子など

の効能・安全性に対する文献的調査

## 1. Growth factor

ヒト生殖補助医療において、配偶子及び初期胚の処理や培養に用いられている培地は、予期しない影響を回避するために、できるだけ既知の成分でシンプルに構成されている。しかし、体外受精胚が成長する培地において自然の成長因子が欠乏することは、何らかの影響があるのではないかという指摘も見られる。この観点から培地への成長因子 Growth factor の添加が試みられている。

### 1) 【プラス効果】としての報告例

Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) について、Sjoblom et al., (2005) は、マウスにおける総括的な胚移植実験で、胎児の成長と胎盤の発生を促進する効果が得られたと報告し、GM-CSF への胚の暴露は正常な胎盤発達と胎児の成長に必須であると結論付けた。

Heparin-binding epidermal growth factor (HB-EGF) について、Martin et al., (1998) は、ヒト 2-14 日胚の体外での発生を 1nM または 100nM HB-EGF 添加もしくは無添加として血清無添加の合成培地(CSFM3)で培養したところ、グレードの高い胚盤胞への発生が 100nM HB-EGF 添加によって顕著に増加し、さらに hatching 率が同様に 100nM HB-EGF 添加で倍増した。また、growth factor-reduced Matrigel (GFR-Matrigel) 上での培養で、

プラスチック上での培養と比べヒト絨毛性腺刺激ホルモンの生産が顕著に多かった。これらより体外受精培地への recombinant human growth factors の添加は、胚盤胞移植を遂行する観点から胚発生を促進させるのに有効なようであると結論付けている。

Insulin-like growth factor- I (IGF-1) について、Spanos et al., (2000) は、IGF-1 は、胚盤胞期まで発生するヒト胚の割合を増加させ、アポトーシスを起こしている核の割合を減少させたと報告した。

### 2) 【マイナス効果】としての報告例

Epidermal growth factor について、胚ではなく培養細胞についてであるが、浜田淳一(2006)は、ER-1 細胞を EGF で長期間(1ヶ月)処理すると、非可逆性の悪性化が起こること、この悪性化には EGF 刺激によって増加する細胞内活性酸素が重要な役割を果たしており、抗酸化物質(NAC:N-acetylcysteine またはセレン酸ナトリウム)を添加することで悪性化を抑制できたと報告している。

## 2. ヒト血清アルブミンなど

動物細胞の培養において、血清の添加が多く行われてきたが、血清は主原料からの汚染の懸念やロット間の差異等から成績の振幅が大きいなどの問題点が指摘され、代替のタンパク質供給のために、血清アルブミンなどが用いられるようになった。

### 1) 【プラス効果】としての報告例

Human serum albumine について、Laverge et al., (1997)は、臍帯血清とヒト血清アルブミンのヒト体外受精培地への添加の比較実験から、ヒト体外受精プログラムにおいて培養用培地へタンパク質補給としてのヒト血清アルブミンの使用は、胚の品質改善と顕著な妊娠率向上に効果があり、ウイルスフリーであり精製物であることから、臍帯血清より好ましいと結論付けた。さらに、Laverge et al., (2001)は、ヒト血清アルブミンを培地中へ添加し、1細胞期から胚盤胞期まで培養し、2日齢の胚と3日齢の胚を移植し、良好な着床率と妊娠率を得た。

Serum substitute supplement (SSS: 84% human serum albumin, 16% alpha and beta globulins and less than 1% gamma globulins in normal saline) について、Esfandiari et al., (2005)は、培養用培地へのタンパク質補給は胚のhatching率を改善し、反作用的な酸素レベルを減少させ、マウスの着床前胚においてアポトーシスの発生を減少すると報告している。また、Weathersbee et al., (1995)は、SSSは生殖補助医療の過程において培地に用いられるタンパク質の添加を簡便にまた標準化させると推奨している。

### 3. アミノ酸

培地中へのアミノ酸添加は、完全

合成培地の作製のためには細胞への栄養素供給として重要であり、適切な濃度による添加が求められる。種々のアミノ酸が培地中に添加されており、Taurine、Glutamineなどを添加の論文は多数あり、種々の必須アミノ酸、非必須アミノ酸が哺乳動物胚培養に汎用されている。

### 1) 【プラス効果】としての報告例

アミノ酸添加について、Deng et al., (2005)は、アミノ酸の異なる濃度での培養用培地への添加効果を検証し、過度な高濃度のアミノ酸は発生を阻害するものの、アミノ酸は体外での着床前のKunmingマウス胚の発生を促進できると報告している。

Van Winkle (2001)は、アミノ酸は有益な効果を持ち培地の成分として必須なものであるとし、Summers et al., (2000)は、アミノ酸添加培地において、hatchingするマウス胚盤胞の割合と胚盤胞の構成細胞数、特に内細胞塊の細胞数は増加したと報告している。

Ali et al., (2000)は、アミノ酸、抗酸化剤、ビタミンなどの適切な濃度をマウス胚の試験で求め、ART-7培地を作り上げた。ART-7培地は、ヒト精子に害がなく、2日齢の胚の退行率は対照群と同等もしくは良好であり、体外受精とその後の胚発生に影響はなかった。

一方、Quinn (2004)は、アミノ酸の供給は、議論を要するもう一つの案件であると主張している。

#### 4. 抗酸化剤

また、体外における胚培養において、細胞の代謝を阻害する細胞内活性酸素による酸化ストレスの蓄積は胚発生への影響が大きいと見られることから、培地中への抗酸化剤の添加が試みられている。種々の抗酸化剤が活性酸素の抑制剤として、培地中への添加を試みられている。

##### 1) 【プラス効果】としての報告例

Glutathione について、Wang and Day (2002)は、ブタ胚の体外成熟、体外受精の完全体外培養系での作出について、合成培地で胚盤胞期まで発生し、BSA と glutathione はブタ胚発生において、相乗効果を持つと報告している。

Vitamins: VC, VE などの添加について、Staessen et al., (1994)は、Menezo B2 培地へのアミノ酸と水溶性ビタミンの添加により、顕著に高い受精率が得られたと報告した。

また、Ali et al., (2000)は、前述のように、アミノ酸、抗酸化剤、ビタミンなどの適切な濃度をマウス胚の試験で求め、ART-7 培地を作り上げた。

$\beta$ -mercaptoethanol について、Lim et al., (1999)は、ウシ体外受精胚の培養において、気相の条件によっては抗酸化剤としての機能を発揮し、胚発生率が顕著に増加したと報告した。また、安松ら(1995)によると、ウシ体外受精胚の胚盤胞発生率向上が見られ、染色体異常の出現率への影響は見られなかったという。

EDTA: Ethylene Diamine Tetra Acetic

Acid エチレンジアミン四酢酸は、キレート剤としてマウス胚培養などに汎用されている。

Superoxide dismutase について、Noda (1992)は、Superoxide dismutase は、マウス胚の 2-cell block 解除に有効であると報告した。

#### 5. ホルモン

ホルモンについては、特に卵子の成熟培養において培地中に添加されることが多い。

##### 1) 【マイナス効果】としての報告例として

$17\beta$  - estradiol について、Beker et al., (2002) は、ウシ卵子の体外成熟、体外受精において、1microg/ml の E2 を血清無添加成熟培地へ添加することは、ウシ卵子の核成熟に悪影響を及ぼし、さらにその後の胚発生にも悪影響があると報告している。

#### E. 結論

ART 用機器・消耗品の管理について、米国では医療機器に分類され、製造および販売は FDA (米国食品医薬品局) 管理下で規制され、製造会社は年 1 回の査察を義務づけられている。豪州もほぼ同様の管理体制であるが、欧州各国は培養液などの管理基準について、各国が独自の基準を設けることはせず、実質的には FDA 基準を標準にしている。

培養液・顕微授精や凍結のための特殊溶液等に関しては、多くは FDA の基準に準じて製造されている和文説明書が添付