

厚生労働科学研究費補助金（がん対策推進総合研究事業）

分担研究報告書

本邦における胚培養士を対象とした妊孕性温存療法の実施状況調査

泊 博幸 医療法人アイブイエフ詠田クリニック 培養部 部長

鈴木 直 聖マリアンナ医科大学産婦人科学 教授

がん・生殖医療の現場では、配偶子（卵子、精子）、胚（受精卵）そして卵巣組織等の生殖細胞の凍結保存技術が必須であり、生殖医療における中心的技術者となる胚培養士が凍結保存技術を含む本領域で果たすべき役割は大変に大きく重要である。しかし、各生殖細胞並びに組織の凍結時期や凍結方法、また融解方法やその後の受精方法など、がん・生殖医療における培養技術のコンセンサスは得られておらず、生殖医療実施施設の考えに則って実施されている実情があることから、妊孕性温存療法の技術において地域格差や施設間格差の存在が想定される。この地域格差や施設間格差を解消するためには、本邦におけるがん・生殖医療における胚培養技術の実情を把握し、より有用性の高い妊孕性温存技術の手法を提案することが重要と考えた。そこで本研究班では、本邦のがん・生殖医療における胚培養技術の実情を把握し、技術者である胚培養士の本領域における役割を明確にすると共に、臨床的により有用性の高い妊孕性温存技術の手法を確立し、全国 47 都道府県において均一かつ高水準の妊孕性温存技術を提供できる医療環境の構築に結びつけることを目的として、「本邦における胚培養士を対象とした妊孕性温存療法の実施状況調査」を令和 2 年度に実施した。令和 3 年度は、本調査結果を以下に示す 3 つの実態調査内容に分類し解析した。; 1. 妊孕性温存療法の実施状況と胚培養士の関わり関する調査、2. 生殖細胞および組織の凍結保存に関する調査、3. 凍結生殖細胞ならびに組織の長期保存に関する調査。本調査研究の結果、352 施設 47 都道府県全ての地域の胚培養士から回答を得ることができ、回収率は 56.6%であった。また、がん・生殖医療で実施されている培養技術の詳細が明らかとなり、多くの施設で採用されている凍結融解技術の方法やその手順を把握することができた。さらに、凍結保存タンク管理や凍結延長更新等の長期保存管理の実施状況も把握でき、その問題点と課題を明らかにすることができた。これらの課題を踏まえて令和 3 年度には二次調査を実施するための準備を開始し、令和 4 年度の実施を計画している。

研究分担者

太田邦明（東京労災病院 産科婦人科学）

研究分担者ならびに研究協力者

沖津摂（楠原ウイメンズクリニック 培養部）

水野里志（IVF 大阪クリニック 生殖技術部門）

藪内晶子（STEMCELL Technologies）

沖村匡史（加藤レディスクリニック 研究開発部）

菊地裕幸（仙台 ART クリニック 医療技術部）  
古山紗也子（聖マリアンナ医科大学 生殖医療センター）  
谷口憲（谷口眼科婦人科）  
田村功（山口大学 産科婦人科学）  
福田雄介（東邦大学 産科婦人科学）  
洞下由記（聖マリアンナ医科大学 産婦人科学）

## A. 研究目的

本邦のがん・生殖医療における胚培養技術の実情を把握し、技術者である胚培養士の本領域における役割を明確にすると共に、臨床的により有用性の高い妊孕性温存技術の手法を確立し、全国 47 都道府県において均一かつ高水準の妊孕性温存技術を提供できる医療環境の構築に結びつけることを目的とする。また、本研究の結果をもとに、妊孕性温存療法における凍結生殖細胞ならびに組織の適切な長期温存方法及び運用体制に関わる内容を提言していくことを目的とする。さらに、妊孕性温存技術にとどまらず、生殖医療全般において重要な役割を果たす胚培養士の公的資格化の必要性について提言していくことを目的とする。

## B. 研究方法

令和 2 年度に、一次調査を実施し、令和 3 年度に調査結果の解析を行った。また、一次調査結果から得られた課題を踏まえて令和 4 年度に二次調査の実施を立案した。

一次調査「本邦における胚培養士を対象とした妊孕性温存療法の実施状況調査」は、聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会に申請し、令和 3 年 1 月 7 日に承認 (IRB 承認番号 第 5093 号) を得て、令和 3 年 2 月 26 日から令和 3 年 3 月 24 日に実施した。調査対象は、日本産科婦人科学会の体外受精・胚移植に関する登録施設である 622 施設に勤務している胚培養士 1 名とした。本調査は、オンライン形式での調査とした。調査内容は、妊孕性温存療法の実施状況と胚培養士の関わり関する調査、生殖細胞および組織の凍結保存に関する調査、

凍結生殖細胞ならびに組織の長期保存に関する調査とした。

（倫理面への配慮）

本調査は、回答が研究に用いられることの同意を質問表の冒頭で取得した後、その後の質問に回答する形式とした。また、同意の撤回は個人の自由であり、回答開始後でもいつでも同意を撤回できる形式とした。また、プライバシーの保護に関しては、オンライン形式での回答および集計となるため、個別に ID とパスワードを割り振ることでアクセス制限を設定し管理した。

## C. 研究結果

### 1. 妊孕性温存療法の実施状況と胚培養士の関わり関する調査：

日本産科婦人科学会の ART 登録施設 622 施設のうち 352 施設の胚培養士から回答が得られ（回収率 56.6%）、全ての回答において研究使用の同意を得た。47 都道府県全ての地域の施設から回答が得られ、関東地方からの回答が 116 施設（33.0%）と最も多く占め、中部地方 67 施設（19.0%）、近畿地方 57 施設（16.2%）と続いた。回答者のうち 65.1% が女性で、34.9% が男性であった。回答者の年齢は、24—82 歳と幅広く、胚培養士経験は、平均  $14.8 \pm 6.8$  (0—34) 年であり、77.0% が 10 年以上の経験年数を有した。また、回答者施設の胚培養士数は、0—59 人と施設の規模も様々であり、平均  $4.7 \pm 4.9$  (0—59) 人であった。胚培養士数が 0 と回答した施設では、専任の胚培養士がおらず医師が兼任していることが推察された。妊孕性温存療法に関してどの程度知識があるかを問

う質問では、50%との回答が 128 人 (36.4%) と最も多く、次いで 119 人 (33.8%) が 70%と回答した。

また、がん患者の妊孕性温存療法として何らかの凍結保存を実施している施設は 200 施設 (56.8%) であり、そのうち日本産科婦人科学会の医学的適応施設は、151 施設 (75.5%) であった。中でも ART でも必要とされる未受精卵子や胚 (受精卵) の凍結保存を実施している施設はそれぞれ 127 施設 (63.5%)、149 施設 (74.5%) と高かったが、一方で卵巣組織凍結の実施施設は 41 施設 (20.5%) にとどまっていた。

凍結保存を実施するにあたっての患者の対象年齢の制限については、精子および精子 (精巣内) において制限を設けていないと回答した施設が、それぞれ 87.2% (163/187)、87.0% (60/69) と高かった。また、未受精卵子、胚 (受精卵) および卵巣組織においては、それぞれ 37.2% (51/137)、44.6% (75/168)、26.7% (12/45) であり、精子および精子 (精巣内) と比較すると低いものの年齢制限を設けていない施設が多くあることが分かった。これは生殖細胞や組織の採取を繰り返し実施することが不可能な症例が多いことがその理由と思われる。一方、年齢制限を設けている施設においては、年齢制限 (中央値) は、未受精卵子で 16.0 歳以上 44.0 歳以下、胚 (受精卵) で 16.0 歳以上 45.0 歳以下、精子で 14.0 歳以上 57.5 歳以下、卵巣組織で 1.5 歳以上 40.0 歳以下、精子 (精巣内) で 8.5 歳以上 57.5 歳以下であった。

また、がん患者に対する生殖細胞ならびに組織の凍結保存を実施するうえで胚培養士が困っていることについて自由回答で尋ねたところ 41 施設から回答が得られた。その結果、凍結保存の更新手続きにおいて患者と連絡が取れないことがあるという回答が一番多く、次に凍結検体の長期保存管理に不安があるという回答が多く得られた。

## 2. 生殖細胞および組織の凍結保存に関する調査;

### ①-1 未受精卵子および胚 (受精卵) の凍結保

存:

胚 (受精卵) の凍結保存について調査した結果、本調査に対して回答した日本産科婦人科学会 ART 登録施設 352 施設の全てにおいて、不妊治療における胚 (受精卵) 凍結保存を実施していた。一方で、がん患者に対する妊孕性温存を目的とした胚 (受精卵) 凍結保存を行っている施設は 50.6% (178/352) であり、約半数であった。がん患者に対する胚 (受精卵) の凍結融解が実施可能な胚培養士の人数について、5 名以下の施設が 79.2% (141/178) と最も多く、6-10 名が 15.7% (28/178)、11-15 名が 1.7% (3/178)、16-20 名が 2.2% (4/178)、21 名以上が 1.1% (2/178) であった。最も割合の高かった 5 名以下の施設の内訳は、1 名が 20 施設、2 名が 47 施設、3 名が 37 施設、4 名が 21 施設、5 名が 16 施設であった。また、がん患者の胚 (受精卵) 凍結保存を実施している施設の 23% (41/178) が、一般 ART 治療での胚 (受精卵) 凍結保存と変えている点があった。その内訳として、「胚 (受精卵) 凍結対象のグレードを下げてより多くの胚 (受精卵) を凍結保存する」が 78.0% (32/41)、「凍結技術を習得した胚培養士の中でもより経験豊富な胚培養士が担当する」が 34.1% (14/41)、「より多くの胚 (受精卵) を得るために Conventional-IVF (c-IVF) による不受精のリスクを考慮して同一周期に IVF と ICSI を併用する Split-ICSI を積極的に実施する」が 22.0% (9/41) となっていた。

がん患者において胚 (受精卵) 凍結保存の対象となる胚発生ステージは、前核期胚が 15.2% (27/178)、分割期胚が 84.3% (150/178)、胚盤胞が 92.7% (165/178) の施設で実施されていた。凍結保存方法は 178 施設全てでガラス化法が採用されており、1 施設のみ緩慢凍結法を併用していた。胚 (受精卵) 凍結、融解に使用する凍結融解液、凍結保存デバイスは、80%以上 (凍結液:83.7%、149/178、凍結保存デバイス:87.6%、156/178、融解液:81.5%、145/178) の施設が A 社の製品を使用

していた。胚（受精卵）凍結、融解のプロトコールについては、胚発生ステージに関わらず 90%以上（前核期胚凍結：98.4%、60/61、分割期胚凍結：95.0%、151/159、胚盤胞凍結：93.2%、165/177、前核期胚融解：93.8%、61/65、分割期胚融解：93.1%、149/160、胚盤胞融解：91.5%、162/177）の施設がメーカー推奨のプロトコールに準じて実施するとしていた。

がん患者の胚（受精卵）凍結保存を行うにあたり胚培養士が困っている事象に対する自由記述では、「長期的な保管に対する管理体制について」、「患者の生存確認ならびに患者死亡の際の廃棄手続きについて」、「凍結対象となる胚（受精卵）グレードの許容範囲について」、「原疾患主治医から妊娠許可された場合の胚移植プロトコールについて」等が挙げられていた。

また、未受精卵子の凍結保存について調査した結果、回答を得た 352 施設のうち、一般 ART 患者に対して未受精卵子凍結保存を実施している施設は 42.3%（149/352）であった。一方で、がん患者に対する妊孕性温存療法として未受精卵子凍結保存を行っている施設は 36.6%（129/352）と一般 ART 患者と比して少ない割合であった。

がん患者に対する未受精卵子凍結保存法については、129 施設全てがガラス化保存法を導入していた。未受精卵子凍結、融解に使用する凍結融解液、凍結保存デバイスは、80%近く（凍結液：77.5%、98/129、凍結保存デバイス：82.2%、106/129、融解液：75.2%、97/129）の施設が A 社の製品を使用しており、未受精卵子凍結、融解のプロトコールについては、90%以上（凍結：93.0%、120/129、融解：94.6%、122/129）の施設がメーカー推奨のプロトコールに準じて実施するとしていた。凍結保存デバイスあたりの凍結保存未受精卵子数に関しては、最大 1 個としている施設が 19.4%（25/129）、2 個が 34.1%（44/129）、3 個以上が 40.3%（52/129）であり、一つの凍結保存デバイスに複数の未受精卵子を凍結する施設が多い傾向にあった。

未受精卵子凍結保存を行うがん患者への配慮に関して、がん患者の未受精卵子凍結保存を行う際に何らかの便宜を図っている施設は、当該の設問に回答があった 81 施設のうち 19.8%（16/81）であり、その内訳として、「凍結技術を習得した胚培養士の中でもより経験豊富な胚培養士が担当する」が 62.5%（10/16）、「より多くの未受精卵子を得るための卵巣刺激方法を積極的に導入する」が 43.8%（7/16）、「採卵時に未成熟卵子が得られた場合に体外成熟培養を行う」が 43.8%（7/16）であった。

がん患者の未受精卵子凍結保存において、MII 期の成熟卵子は 129 施設全てで凍結保存の対象となっていた。さらに、成熟卵子に加えて MI 期および GV 期の未成熟卵子を凍結保存の対象としている施設が 31%（40/129、MI 期と GV 期の両方：32 施設、MI 期のみ：8 施設）あった。これらの施設における未成熟卵子を凍結保存する理由は、「がん患者は採卵回数が限られており貴重な卵子であるため」との回答が 90.0%（36/40）、「患者の希望のため」との回答が 40.0%（16/40）とがん患者のおかれている状況に寄り添った回答が多かった。また、「将来の未受精卵子の成熟培養技術の革新を期待して未成熟卵子も凍結する」との回答も多くみられた（75.0%、30/40）。

がん患者における凍結保存未受精卵子の融解に関して、凍結保存未受精卵子の周期あたりの融解個数は症例によって異なるとの施設は 48.1%（62/129）と最も多く、全ておよび一部の凍結保存未受精卵子を融解する施設は 5.4%（7/129）および 4.7%（6/129）と少数であった。凍結保存未受精卵子融解後の媒精方法について、体外受精（conventional IVF）法を用いる施設が 10.1%（13/129）、顕微授精（ICSI）法を用いる施設が 82.2%（106/129）、ピエゾ ICSI 法を用いる施設が 37.2%（48/129）であった。がん患者における凍結保存卵子の融解状況として、41.1%（53/129）が未だ融解症例を経験していないことが分かった。

がん患者の未受精卵子凍結保存を行うにあたり胚培養士が困っている事象に対する自由記述では、「胚に比べて融解後の生存性が悪い」、「融解の個数について」、「凍結する成熟ステージについて」、「凍結する未受精卵子数について」、「凍結方法について」、「凍結実施者について」など様々な内容が挙げられていた。

#### ①-2 未成熟卵子の体外成熟培養 (*In vitro* maturation: IVM) :

がん患者に対する未受精卵子凍結保存を行っている 129 施設のうち 53.5% (69/129) で、がん患者に対する未受精卵子凍結保存を目的とした採卵で未成熟 (GV 期、MI 期) 卵子が採取された場合に、体外成熟培養 (IVM) を実施していた。さらに、この 69 施設の中で 76.8% (53/69) が、一般 ART 患者に対しても IVM を実施しており、がん患者と同一の方法で実施されている施設は 86.8% (46/53) であった。

がん患者に対する未受精卵子凍結保存における IVM の実施時期としては、凍結保存前が 73.9% (51/69)、融解後が 14.5% (10/69)、凍結保存前と融解後の両方が 11.6% (8/69) であった。成熟培養時間に関しては、GV 期卵子では 12~24 時間未満が 42.0% (29/69)、24~48 時間未満が 37.7% (26/69)、MI 期卵子では 12~24 時間未満が 53.6% (37/69)、24~48 時間未満が 24.6% (17/69) であった。IVM に使用している培養液は、培養液の変更なし (採卵から媒精まで未受精卵子を培養している培養液と同じもの) が GV 期卵子では 50.7% (35/69)、MI 期卵子では 59.4% (41/69)、IVM 専用に市販されている培養液が GV 期卵子では 21.7% (15/69)、MI 期卵子では 17.4% (12/69) であった。具体的な培養液名の回答があった 52 施設において、GV 期と MI 期で同一の培養液を用いていたのは 92.3% (48/52) であった。IVM を実施した場合の費用を請求していない施設は、84.1% (58/69) であった。

がん患者の未受精卵子凍結保存を行うにあたり

胚培養士が困っている事象に対する自由記述で IVM に関する内容は、「未成熟卵子のまま凍結するのか、成熟培養をしてから凍結するのか」、「IVM の適切な時間」、「IVM を行っているがなかなか成熟しない」、「IVM を実施した凍結未受精卵子の融解後の受精や妊娠についての報告が少なく、積極的な思考に悩む」等が挙げられていた。

#### ② 精子および精巣内精子の凍結保存 :

本調査において、回答された日本産科婦人科学会 ART 登録施設のうち不妊治療において精子凍結を実施している施設は 96% (338/352) であった。一方で、男性がん患者の妊孕性温存に特化した精子凍結を行っている施設は 65.9% (232/352) と、一般 ART 治療に対するものに比べて割合が低下した。また、精子凍結の手法に関して、男性がん患者の精子凍結時に 28.9% (66/228) の施設が手法を変更していた。その内訳として、複数のデバイスに分けて凍結するが 86.4% (22/66)、熟練した培養士が凍結を行っているが 10.6% (7/66) となっていた。男性がん患者において凍結前の精子所見が正常の場合に、融解後の媒精方法として ICSI 76.7% (178/232)、IVF 19.4% (45/232) が選択されていた。また、媒精方法は 20.7% (48/232) が女性側の適応に準じていた。

精子凍結時のデバイス 1 本あたりの運動精子数に関しては、IVF 用途と AIH 用途ともに 50% 以上が下限値を設定していなかった。男性がん患者に対する凍結精子は 74.1% (172/232) の施設で、デバイス 5 本以上に分割して凍結していた。また、凍結方法として、調整精子が 80.2% (186/232) と大部分を占めていた。その凍結時に使用するデバイスとしては 83.2% (193/232) がセラムチューブ、22.8% (53/232) がストローの割合で選択されていた。さらに、精子凍結時に使用する凍結液は 2 社のメーカーが 72.8% (169/232) を占めていた。

がん患者の精子凍結保存を行うにあたり胚培養士が困っている事象に対する自由記述では、「長期的な保管に対する管理体制について」、「患者の生

存確認ならびに患者死亡の際の廃棄手続きについて、「適切な凍結保存本数について」、「凍結技術について」等が挙げられていた（資料 3-c）。

男性がん患者に対する精子（精巣内）凍結は、24.7% (87/352) が施行しており、自施設で TESE を行っていたのが 59.8% (52/87)、他施設で TESE を行っていたのが 52.9% (46/87) であった。また、85.1% (74/87) の施設が、5 本以上のデバイスに分割して凍結していた。onco-TESE を施行した際に極少精子凍結を行っていた施設は 17.1% (15/87) であった。

がん患者の精子（精巣内）凍結保存を行うにあたり胚培養士が困っている事象に対する自由記述では、「長期的な保管に対する管理体制について」、「患者の生存確認ならびに患者死亡の際の廃棄手続きについて」、「適切な凍結保存手技について」等が挙げられていた。

### ③ 卵巣組織の凍結保存：

卵巣組織の凍結保存について調査した結果、本調査において、回答された日本産科婦人科学会 ART 登録施設（352 施設）のうちがん患者に対する卵巣組織凍結を実施している施設は 10.2% (36/352) であった。その内、83.3% (30/36) が自施設で卵巣摘出術から凍結保存までを行っており、残り 19.4% (7/36) は他施設で採取された検体を自施設に搬送後、自施設で凍結保存を行っていた。

卵巣組織凍結の手技は、全ての施設で胚培養士が行っており（36/36）、52.8% (19/36) の施設で医師が共同で行い、胚培養士ではない臨床検査技師や研究技術員などの専門技術員が関与している施設が 8.3% (3/36) あった。卵巣組織切片作成時に得た卵子（combined procedure 卵子）の凍結保存を行っている施設は 77.8% (28/36) であり、状況に応じて実施している施設が 1 施設であった。

卵巣組織凍結／融解方法（複数回答可）は、ガラス化凍結法を行なっている施設は 97.2% (35/36)、緩慢凍結法を行なっている施設は 16.7% (6/36) であった。ガラス化凍結法の内訳は、

A 社の kit A が 85.7% (30/35)、A 社の kit B が 14.3% (5/35) であった。卵巣組織凍結デバイスは、開放型が 69.4% (25/36)、閉鎖型が 38.9% (14/36) であった。

手術施設と凍結施設が異なる 7 施設において、運搬時の温度は 4℃ が 42.9% (3/7)、4℃～室温が 14.3% (1/7)、室温が 28.6% (2/7)、室温から 37℃ が 14.3% (1/7) であった。運搬時の培養液は PBS が 28.6% (2/7)、HTF が 14.3% (1/7)、生理食塩水が 14.3% (1/7)、MOPS が 14.3% (1/7)、MHMC が 14.3% (1/7)、公表不可が 14.3% (1/7) であった。運搬者は手技を行う胚培養士という回答が最も多く 71.4% (5/7) であり、医師 28.6% (2/7)、その他院内職員 28.6% (2/7) であり、全ての施設で院内の職員が行っていた。

卵巣組織凍結の手技のイメージで多かった回答は、「成功率がどの程度かわからない」74.1% (261/352)、「凍結保存した卵巣組織の生存性の確認ができないので不安」53.4% (188/352)、「移植後の生着率が低い」30.1% (106/352)、「凍結融解のダメージが大きい」21.0% (74/352)、「プロトコールが確立されていない」31.8% (112/352) であった。また、凍結融解のトレーニングを行いにくいと回答した施設が 52.0% (183/352)、手技が難しいと回答した施設が 51.4% (181/352)、時間がかかると回答した施設が 29.8% (105/352) であり、手技やトレーニングが簡単と選択した施設は極少数であった。25.9% (91/352) が妊孕性温存の最終手段と回答しているが、未受精卵子凍結以上の臨床的有用性があると回答した施設は 12.8% (45/352) と少なかった。

卵巣組織凍結の手技に求めることとしては、「確立したプロトコールの提示」が 81.0% (285/352) と多く、「未受精卵子凍結以上の臨床的有用性」45.5% (160/352)、「クリニックでも実施可能な体制構築」42.9% (151/352)、「手技の簡便化」43.8% (154/352)、「ワークショップの定期開催」45.2% (159/352)、「手技の相談窓口の開設」27.8%

(98/352)であった。自施設で行なう要望がある一方で、がん患者の卵巣組織を保存するにあたり長期保管になることが、クリニックでは閉院のリスクがあるため困難であるため大規模病院で行うべきでありセンター化を望む、という意見が2.0%(7/352)あった。

がん患者の卵巣組織凍結保存を行うにあたり胚培養士が困っている事象に対する自由記述では、「長期的な保管に対する管理体制について」、「凍結保存技術の習得について」等が挙げられていた。

### 3. 凍結生殖細胞ならびに組織の長期保存に関する調査：

#### ① 凍結保存タンクの管理：

##### ① -1 液体窒素の残量の監視項目と監視の頻度：

液体窒素残量の監視は、72.2%(254/352)の施設が液面の測定、5.1%(18/352)が重量、10.5%(37/352)が液面と重量の両方により行い、87.8%(309/352)の施設が何らかの方法で残量を監視していることが明らかになった。これに対して12.2%(43/352)の施設では、残量を監視せずに液体窒素の補充のみ行っていた。監視は、21.6%(76/352)の施設が毎日、38.1%(134/352)が2~3日に1回、10.5%(38/352)が4~6日に1回、21.6%(76/352)が週に1回、2.6%(9/352)が8日以上に1回の頻度で行い、頻度が一番低い施設は月に1回であった。また、頻度を決めていない施設が5.4%(19/352)あった。

##### ① -2 凍結保存タンクの使用期限について：

凍結保存タンクに使用期限を設けている施設は8.5%(30/352)で、残りの91.5%(322/352)の施設は期限を設けていなかった。期限は、5年未満が3.3%(1/30)、5年以上~10年未満が50%(15/30)、10年以上が46.7%(14/30)であった。

##### ① -3 凍結保存タンクに異常があった場合の対応：

凍結保存タンクに警報機を備え付けている施設は9.7%(34/352)で、残りの90.3%(318/352)の施設は備え付けていなかった。凍結保存タンク

に異常が生じた場合の対応が決められている施設は45.2%(159/352)で、残りの54.8%(193/352)の施設では対応が決められていなかった。具体的な対応の内容として、「施設責任者へ報告」、「予備の凍結保存タンクへの移動」、「損害保険への加入」、「患者から同意を得る」などが回答された。

#### ② 凍結保存期間の延長更新および凍結保存維持費用：

がん患者における各種生殖細胞の凍結保存延長更新頻度を調査した。精子、未受精卵子、胚(受精卵)、卵巣組織、精子(精巣内)で、1年ごとである施設がそれぞれ84.3%、87.7%、85.7%、76.5%、85.3%と最も多かった。

凍結保存延長の更新方法(複数回答可)は、患者に来院してもらうが56.8%、手紙連絡が54.9%、電話連絡が28.2%、メールが14.7%であった。

胚(受精卵)凍結、未受精卵子凍結、精子凍結、精子(精巣内)凍結、卵巣組織凍結におけるそれぞれの凍結費用および5年間保存した場合の保管費用を調査した。胚(受精卵)凍結は71.9%(253/352)の施設が実施していた。1回の採卵でMII卵子を10個回収し、顕微授精を行い、胚盤胞を5個凍結した場合の凍結費用(卵巣刺激の費用は含まず、採卵の費用は含む)は中央値37万円(3-200)であった。5年間の保管費用は中央値12万円(0-130)であった。また、未受精卵子凍結は49.4%(174/352)の施設が実施していた。1回の採卵でMII卵子を10個回収し、凍結した場合の凍結費用(卵巣刺激の費用は含まず、採卵の費用は含む)は中央値23万円(3-243)であった。5年間の保管費用は中央値12万円(0-104)であった。次に、精子凍結は83.8%(295/352)の施設が実施していた。5本に分注して凍結した場合の凍結費用は中央値2.5万円(0-15)であった。5年間の保管費用は中央値8万円(0-93)であった。一方、精子(精巣内)凍結は22.7%(80/352)の施設が実施していた。射出精子と同様に5本に分注して凍結した場合の凍結費用は中央値17万円(0-60)であった。なお、

精子(精巣内)の凍結保管施設は102施設であり、妊孕性温存のためのTESE実施施設より22施設多かった。5年間の保管費用は中央値10万円(0-93)であった。最後に、卵巣組織凍結は10.2%(36/352)の施設が実施していた。腹腔鏡下に片側卵巣切除を行い、片側卵巣を凍結した場合の凍結費用は中央値68万円(10-198)であった。5年間の保管費用は中央値10万円(0-50)であった。

#### D. 考察

これまでに本邦における胚培養士を対象とした妊孕性温存療法の実施状況調査は行われていなかった。本調査は、352施設47都道府県全ての地域の胚培養士から回答を得ることができたことから、本邦におけるがん・生殖医療での胚培養技術の実情を把握し、技術者である胚培養士の本領域における役割を明確にするうえで質の高い十分な調査であると考えられる。

今回の調査において回答者のうち77%が10年以上の比較的キャリアのある胚培養士であったにもかかわらず、妊孕性温存に対する知識が50%と回答した割合が最も高かったことから、全国47都道府県において均一かつ高水準の妊孕性温存技術を提供できる医療環境の構築のためには、胚培養士に対する妊孕性温存に関する教育の充実が必要と考えられた。

また、本邦における未受精卵子・胚(受精卵)の凍結融解方法は、全ての施設においてガラス化法が採用されていた。さらに、未受精卵子・胚(受精卵)にかかわらず、使用する凍結デバイスならびに凍結融解液は、1社の製品に集中しており、90%以上の施設においてメーカー推奨プロトコールが採用されたことから、本邦における未受精卵子および胚(受精卵)の凍結保存の手法に関しては、均てん化が促進されつつあることが示唆された。今後、シェア率の高いガラス化法に関して適切な凍結融解液の使用法や詳細なプロトコール等の情報を共有することのできる環境を構築する

ことで、より多くの施設の凍結保存技術の安定化に繋がる可能性が考えられた。また、未受精卵子・胚(受精卵)凍結融解後の成績に関しては、各施設における成績開示がないため、施設間での成績にどの程度ばらつきがあるのかは不明である。今後、各種ガラス化法による未受精卵子あるいは胚(受精卵)の凍結保存・融解後の臨床成績を調査し、より臨床的有用性の高い凍結保存方法を熟考し、臨床成績面においての均てん化についても見据える必要があると考えられる。

男性がん患者の精子凍結は、技術的には一般ART治療に対するものと変わらないが、すべての施設で施行されているわけではなく、施行されていた場合でも30%程度が一般ART治療の場合とは異なった凍結基準で行っていた。また、男性がん患者の精子凍結施設が多かったことから、がん患者の精子凍結や精子(精巣内)凍結に対する認識が高まっていると考えられる。なお、極少精子凍結を施行している施設が15施設と少ないことから、極少精子凍結は限られた施設による技術となっていると考えられた。

がん患者に対する卵巣組織凍結を実施している施設は10.2%と少なく、そのうち83.3%が自施設で手術から凍結保存までを行っていた。卵巣摘出術と凍結保存施設が異なる施設は少数であり、温度、培養液などの運搬環境は統一されていないことが明らかとなった。凍結方法はガラス化凍結法を用いている施設が97.2%、緩慢凍結法は16.7%あり、両方行っている施設もあった。卵巣組織凍結・融解・移植後の出産例の報告のほとんどが緩慢凍結法であり、ガラス化法は胚(受精卵)の凍結保存における安全性は確立されているが卵巣組織凍結での実績に乏しい背景から、2種類の凍結方法を両方用いている施設があると考えられた。なお、凍結デバイスは開放型が閉鎖型よりやや多かった。さらに、combined procedure 卵子の凍結保存は77.8%と比較的多くの施設で行われていた。

卵巣組織凍結の全体的なイメージは、「手技が難

しく時間とコストがかかり、成功率がはっきりしないが、妊孕性温存の最終手段である」というものであった。卵巣組織の凍結融解によるダメージと移植の成功率（妊娠率）を明確にしてほしいという要望が多く、今後の長期的な検証が求められている。また、確立したプロトコールと有用性を提示してほしいという多くの意見からは、緩慢凍結法とガラス化法の選択に苦慮している現場の現状が推測された。この点においても、今後の症例数が増加することで明確になっていくと思われる。

卵巣組織凍結の疑問や不安は、エビデンスが確立されておらず研究段階であることによるもので、今後のデータ蓄積により徐々に解決していくと考えられる。卵巣組織凍結のセンター化を求める意見も多く、その点に関しては二次調査にて検討すべき課題と考える。

また、凍結生殖細胞ならびに組織の長期保存に関する調査では、多くの施設における凍結保存タンクの管理は、自然蒸発で減少した液体窒素の補充のみを目的とした管理になっていることが明らかにされた。凍結生殖細胞ならびに組織の質を損なうことなく、安全にかつ確実に長期にわたり保存するためには、重大な凍結保存タンク事故につながる可能性のある凍結保存タンクの真空不良を想定した管理も考慮する必要があると、胚培養士間で共有すべき事実であると考えられる。

凍結保存の更新に関して、小児・AYA 世代がん患者に対する妊孕性温存においては、患者の生存、原疾患の治療状況、生殖細胞ならびに組織の凍結保存継続の有無等を患者本人が来院しなくても確認できるシステムを構築することが可能であれば、患者の来院する負担を軽減することにつながると考えられる。また、各種生殖細胞ならびに組織の凍結保存にかかる費用およびその保管延長費用は施設によって大きく異なり、現在の費用は、ART が自費診療である状況での設定であり、今後 ART に対する保険適応が拡大された場合は、その状況に応じた費用設定が必要である。さらに、各種生

殖細胞ならびに組織の凍結技術を保持していることに加え、非常に長期にわたって保管を維持する体制を整えることが求められている。

これら一次調査結果から得られた課題を踏まえて令和4年度に二次調査の実施を立案した。

## E. 結論

### 1) 長期保管技術及び運用体制の構築（ガイドラインや危機管理マニュアル等の整備）必要性：

小児・AYA 世代がん患者等の配偶子（卵子、精子）、胚（受精卵）そして卵巣組織等の生殖細胞は、長期にわたる凍結保管が必要になる。本研究成果にて、凍結保存タンクの使用期限の設定や異常感知のためのシステム導入などは、多くの施設において構築されておらず、異常時の手順や対策についても整備されている施設が半数以下と少ない状況であることが明らかとなった。そのため、凍結保存タンクのリスク管理に関してさらなる詳細な情報を調査し、凍結生殖細胞ならびに組織を安全かつ確実に長期保存するための管理方法についてガイドラインや危機管理マニュアル等の作成が急務となる。今後、本研究班では、本領域の先進国であるベルギー、デンマーク、イスラエル、米国、ドイツ等の取り組みを参考とするための調査を実行する予定としている。

### 2) 胚培養士の公的資格化の必要性：

がん・生殖医療においては、一般不妊治療における生殖医療と異なり、胚培養士は、未受精卵凍結、卵巣組織凍結、精子（精巣内）凍結そして極少精子凍結等の特殊な技術の取得が必須となる。そこで、技術革新のために、より専門的な知識や技術をもった胚培養士の育成や資格制度を設立していく必要がある。小児・AYA 世代がん患者等に対する妊孕性温存療法は技術提供にとどまらず、生殖医療全般の技術提供において、重要な役割を果たす胚培養士の公的資格化の検討が求められている。

## F. 健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記入

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

投稿準備中

### 2. 学会発表

1) 泊博幸、沖津撰、水野里志、藪内晶子、沖村匡史、菊地裕幸、古山紗也子、谷口憲、田村功、太田邦明、福田雄介、洞下由記、鈴木直.  
本邦における胚培養士を対象とした妊孕性温存療法の実施状況調査報告. 第12回日本がん・生殖医療学会学術講演会（名古屋市・Web ハイブリッド）、2022年2月12-13日.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし