

京都大学教育研究振興財団助成事業  
成果報告書

2024年 4月 17日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会長 藤 洋作 様

所属部局 医学研究科 器官外科講座 婦人科学産科学分野

職名 特定病院助教

氏名 北脇 佳美

助成の種類	令和5年度 ・ 研究活動推進助成			
申請時の科研費 研究課題名	胚形態の動的解析と非侵襲的着床前胚異数性検査を併用した胚着床前診断手法の確立			
上記以外で助成金を 充当した 研究内容	なし			
助成金充当に関 わる共同研究者	(所属・職名・氏名) 京都大学産婦人科・助教・奥宮明日香 京都大学産婦人科・大学院生・矢内晶太			
発表学会文献等	(この研究成果を発表した学会・文献等) 第75回日本産科婦人科学会学術講演会、第68回日本生殖医学会学術講演会、第64回日本卵子学会学術集会			
成果の概要	研究内容・研究成果・今後の見通しなどについて、簡略に、A4版・和文で作成し、添付して下さい。(タイトルは「成果の概要／報告者名」)			
会計報告	交付を受けた助成金額	1,000,000	円	
	使用した助成金額	1,000,000	円	
	返納すべき助成金額	0	円	
	助成金の使途内訳	費目	金額	
		実験試薬・消耗品	637,552	
		実験施設管理費	52,148	
実験用文具(PC)		304,800		
	実験器具	5,500		
当財団の助成に ついて	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 本助成をいただけたことで研究を継続することができ、大変感謝しております。研究室としては新しい研究の開始で実績もなく科研費に採択されにくい状況で、このような形で助成いただけることは非常に助かります。今後も助成金制度の継続を是非お願いできると幸いです。			

## 成果の概要／北脇佳美

### 【研究内容】

体外受精・胚移植などの生殖補助医療による臨床妊娠率及び生産率はほぼ横ばいの状況にあり、この要因の一つとして、高年齢の不妊患者の増加による胚の染色体異常率の上昇が挙げられる。これに対して PGT-A (Preimplantation genetic testing for aneuploidy、着床前胚異数性検査) が近年行われるようになり、染色体異常がない胚を選択的に移植することで、胚移植あたりの妊娠率上昇、妊娠までの期間の短縮が期待できる。しかし、栄養外胚葉生検に伴う胚への侵襲性や胚全体の情報を必ずしも反映しない可能性が懸念されている。より侵襲の少ない着床前胚診断法として、胚培養液中の無細胞 DNA (cell free DNA) を用いる niPGT-A (non-invasive PGT-A) が考案されているが、解析対象とする cell free DNA が微量であり培養液中の夾雑物があることから診断精度は十分高いとは言えず、臨床応用には課題が残されている。また、niPGT-A とは異なる非侵襲的な胚診断法として、タイムラプスインキュベーターによる胚の形態的変化の記録画像を機械学習等で解析する手法が注目されている。本研究では胚のタイムラプス画像を用いた胚形態の動的解析に使用済み培養液による niPGT-A の結果を加えることにより非侵襲的かつ高精度な胚着床前診断法の確立を目指す。

### 【研究成果】

#### ① 胚培養液、胚盤胞から DNA を検出し染色体解析する系の確立

2step 法で培養した体外受精胚の使用済み胚培養液を回収・凍結保管し、8 サンプルを用いて全ゲノム増幅法および次世代シーケンシング法による染色体異数性解析を行い、細胞生検による従来法 PGT-A との診断一致率を検討した。全例で 10ng/ $\mu$ l 以上のゲノム増幅に成功しゲノム検出が可能であり、染色体異数性解析が可能であった。一方で母体ゲノムの混入が疑われ染色体異常を十分に検出できなかったサンプルがあり、培養液交換時の洗浄工程を改善する必要があることを確認した。

#### ② タイムラプス画像からの胚異数性予測モデルの開発

前段階として開発した胚盤胞到達および胚盤胞グレード予測 AI モデルの精度改善を行った。次に、このモデルを応用して胚異数性予測を行うモデルの開発を行った。胚の発達段階や grade を含む教師ラベル付き画像 28000 枚のデータセットを作成、12 種類の事前学習済み画像 AI をファインチューニングし最も高い分類精度が得られるモデルを選択した。次に、PGT-A による異数性診断済みの胚 2728 個のタイムラプス画像を構築モデルで分類し、各時点の分類ラベル、AI が算出した形態動態パラメータ、臨床特徴量を加え、様々な機械学習手法 (SVM、XGBoost、Transformer など) を用いて解析することで、胚異数性予測モデルを作成した。ファインチューニングの結果として、ConvNeXt-Large モデルで最も高い分類精度が得られ、発達段階の分類精度は 96% であった。胚異数性予測については最良モデ

ルの ROC AUC は、正数性胚予測で 0.82、正数性+低頻度モザイク胚予測で 0.81 であった。既存のモデルと比較し手作業によるアノテーションなしで高精度の予測が可能な胚異数性予測モデルを構築できた。

#### 【今後の見通し】

胚洗浄ステップを改善後に回収・保存した胚培養液を用いて染色体解析を行い、母体ゲノム混入の改善を確認後、廃棄予定胚盤胞の一部（内細胞塊・栄養外胚葉）を用いた解析も併用し、niPGT-A の診断妥当性を検証する予定である。また、構築した胚異数性予測 AI モデルによる異数性予測値と niPGT-A 結果をもとに機械学習により、より高い精度で胚異数性を予測するモデル作成を目指す。モデル作成後には、胚移植後の治療成績についても検討を行い診断法としての妥当性の検証を進めていきたいと考えている。