

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 27 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2016

課題番号：25712035

研究課題名(和文)医学・農学的高度利用を目指した定量的初期胚評価法の確立

研究課題名(英文)Quantification of embryo quality towards to medical and agricultural applications

研究代表者

山縣 一夫(YAMAGATA, Kazuo)

近畿大学・生物理工学部・准教授

研究者番号：10361312

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,900,000円

研究成果の概要(和文)：近年、生殖医療や家畜繁殖の分野では不妊が大きな問題になっている。その原因として、高齢化や環境ストレスによる初期胚の質低下が想定されている。「質低下」の実体は主に胚の染色体異常であることが近年の研究からわかってきた。妊娠率を向上させるためには、初期胚の染色体正常性を確実に評価する技術開発が急務である。本研究では、申請者が開発を行ってきた「初期胚ライブセルイメージング技術」を応用し、染色体正常性について定量的かつ科学的根拠を持って評価できる技術へと発展させた。

研究成果の概要(英文)：Infertility is now a major human issue worldwide and one-sixth of couples use infertility clinics in Japan. Although more than 1 in 30 babies have now been born using assisted reproductive technologies (ARTs) such as in vitro fertilization, unfortunately, the success rates of ARTs have reduced gradually to about 10 to 20%. One of the main reasons of the poor quality of oocytes and early embryos is chromosome abnormality, most probably caused by advanced maternal age and environmental stresses. Therefore, to increase the pregnancy rate and ensure safe births, assessing embryo quality, particularly focusing on chromosome integrity, before implantation is essential. In this study, we have developed a live-cell imaging methodology that enables us to quantify various events taking place continuously from fertilization to the blastocyst stage, including chromosome segregation during cleavages in various mammalian embryos.

研究分野：発生工学、生殖生物学

キーワード：初期胚 胚の質 ライブセルイメージング 定量解析

1. 研究開始当初の背景

現在、先進諸国では7組に1組のカップルが不妊症で悩んでいる(平成29年5月現在では実に5.5組に1組に増加している)。近年の生殖補助医療技術の著しい進歩により、そのようなカップルでも子を持つ可能性が拡大しているが、その成功率は10~20%と依然として低いのが現状である(de Mouzon et al, 2012, Hum Reprod)。翻って、動物生産の現場においても近年受胎率の低下が大きな問題になってきている。特にウシは妊娠期間が長い為、一度の流産は経済的に大きな損失となる。ヒトでも動物でも、妊娠維持に至らない多くの胚は、卵割途中で発生不全または着床後に早期流産を起こしていると考えられ、その主たる原因として、高齢化や外的環境ストレスによる配偶子や胚の質の低下が想定されている。つまり、妊娠率の向上を目指してより良い胚を選別し、ゆくゆくは質の改善につなげるためにも、まずは質の実体を理解しそれを客観的に評価する方法が求められている。

生殖補助医療現場では、従来から胚の形態により質の良し悪しを評価しているが、個人の感覚に依拠することから正確であるとは言い難く、かつ科学的根拠に乏しい。現在では胚の呼吸活性や代謝産物の測定、紡錘体の形状観察などの非侵襲的な手法により胚を評価する技術が次々と開発されており、妊娠率・受胎率の向上に成果を挙げているようである。一方で近年の研究により、胚の質低下の実体は、主に配偶子や初期胚における染色体異常であることが明らかとなってきた。とくに最近、染色体モザイシズムとよばれる、胚の割球間で染色体の構成が異なるという現象が知られてきており、驚くことにヒト卵割期胚の80%以上がモザイクを起こしているという報告もある(Vanneste et al, 2009, Nat Med)。割球間で染色体構成が異なるということは、初期卵割時における染色体分配という動的変化の過程で何らかの異常が生じていることを意味しており、それを評価するためにはFISHのような「スナップショット」ではなく、時間軸を加えて観察する必要がある。さらに、従来行われている着床前染色体検査のような一部の割球のみ取り出して検査する方法では、胚全体の情報を反映しているとは言い難い。このような背景から、初期卵割時における染色体分配過程を動的にかつ全ての割球の評価できる手法の開発が急務となっている。

申請者らはこれまでに初期胚ライブセルイメージング技術を開発してきた(Yamagata et al, 2005, Genesis; Yamagata et al, 2009 J Reprod Dev)。この方法では、試験管内で蛍光タンパク質をコードする mRNA を合成し受精卵に注入する。その後、顕微鏡ステージ上のインキュベーターに移し、目的に応じた発生ステージまで培養しながら連続観察を

行う(図1)。装置や撮影条件の検討の結果、卵割過程を3次的に3日間、計6万枚の蛍光写真を取得した後も、胚を仮親に移植することで正常に個体発生させることに成功した(図1)。また、低侵襲性に加えて、この技術は mRNA インジェクション法を基にしていることから、イメージング後の胚がトランスジェニック動物にならないという利点がある。この手法を用いてすでにウサギ、ブタ、ウシ、サル(投稿中)、ヒト(未発表)胚でイメージングに成功している。以上、本イメージング技術が非常に低侵襲的であり、すべての卵割過程を4次的に観察できることから、染色体分配過程を見ることで従来法に代わる新しい胚評価法になり得ると着想した。実際、申請者はこの手法を用いて、核や染色体を赤色にラベルする Histone H2B-mRFP1 をプローブに用いて第1卵割時における異常な染色体分配が初期流産の一原因であることをマウス胚で示している(Yamagata et al, 2009, Hum Reprod)(図2)。

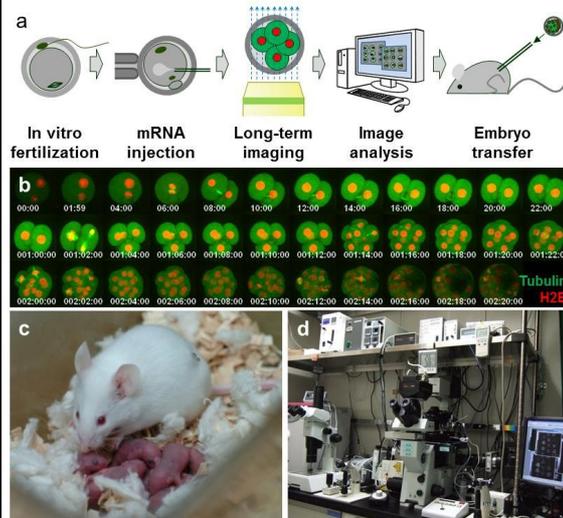


図1 「発生に影響しない」ライブセルイメージングシステム

a 実験の流れ。蛍光プローブをコードする RNA をインジェクションした体外受精胚を、自作した顕微鏡システム(d)上のインキュベーターに載せ、胚盤胞期まで長時間の3次元イメージングを行う。その後、単一胚ごとに偽妊娠マウスに移植すれば、得られた仔がどの胚に由来したのかわかる。b 動画例。ここでは紡錘体を緑に(EGFP-tubulin)核を赤に(Histone H2B-mRFP1)ラベルしてある。c 計6万枚近くの蛍光画像を取得した胚を移植して生まれた仔とその仮親。d イメージングに用いた自作顕微鏡システム

2. 研究の目的

本研究では、申請者がこれまでに開発してきた「初期胚ライブセルイメージング技術」をさらに大きく発展させ、より確実に胚の染色体正常性を評価できる方法へと昇華させることを目的とする。具体的には、生きたままM期染色体1本1本を識別できるように画

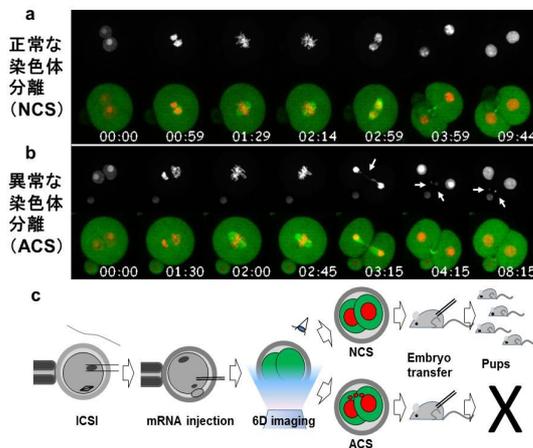


図2 将来流産する運命にある胚を2細胞期で特定することに成功  
 a and b 顕微授精 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI) で構築した胚に mRNA をインジェクションし、2細胞期までのイメージングを行なった。a は正常な染色体分離パターン (Normal chromosome segregation, NCS) を示しており、b は異常な分離パターン (Abnormal, ACS) の例を示した。一部の胚では染色体が2つに分かれる際、矢印に示したような染色体の「置き忘れ」が見られる。c イメージングした胚をムービーを元に NCS と ACS に選別し、それぞれを仮親に移植した。その結果、NCS からは通常通り産仔が得られたが、ACS からは全く得られなかった。

像・時間分解能を向上させた顕微鏡システムを構築する。また、核や染色体の異常を自動的かつリアルタイムに検出・定量化できるようなソフトウェアを開発する。さらに、染色体の構造異常や異数性を検出する蛍光プローブを検討・開発する。研究期間の後半では、それまでに構築された一連のシステムを用いて、モデル動物胚や家畜胚、余剰ヒト胚のイメージングを行い、得られた画像情報から各種特徴量を抽出する。それら数値情報と移植結果をもとに相関性解析や多変量解析を行うことで「胚の質」をあらわすような指標を導いてゆく。合わせて、得られた指標により良好や不良と判断された胚の遺伝子発現解析を行うことで、指標の分子的裏付けを取る。

### 3. 研究の方法

#### (1) 平成 25 ~ 26 年度

**ハードウェアの改良:** より低ダメージで、かつ M 期染色体 1 本 1 本が識別できるような画像分解能の良い顕微鏡システムを作った。具体的には以下の改良を検討した。

- ・レーザーの検討: 高速変調パルスレーザー、2光子レーザーの検討を行った。
- ・スピニングディスクの変更: スピニングディスク式の共焦点顕微鏡では、感度や分解能はディスク上のピンホール大きさやホール間の距離に依存する。そこで、ディスクの改良を行うことでより最適なピンホール径について探った。

・カメラの変更: CMOS カメラの画素数は EM-CCD の 20 倍ほどであり、分解能の大幅な向上が見込める。反面、感度が劣るため、顕微鏡光学系やレーザー強度とのバランスと合わせて検討した。

**ソフトウェアの改良:** すでに申請者は Histone H2B-mRFP1 の蛍光画像をもとに、核や染色体を自動認識できるアルゴリズムを開発している (図3)。そこで、さらに精度よく形や大きさを定量化できるようなアルゴリズムを開発した。合わせて、核を一つ一つ自動追尾できるようなアルゴリズムを開発し、割球の細胞系譜を追跡できるようにした。

**プローブの検討:** 染色体分配だけでなく、生きたままその構造異常や異数性を検出する試みを行った。申請者はすでに、Histone H2B 以外にも特定染色体や染色体上の特定領域を可視化できるプローブを開発している。これらに加えて、大阪大学木村宏博士と連携し、蛍光ラベルしたモノクローナル抗体を使い、特異的なヒストン修飾を生きたまま検出できるプローブの開発を進めた。そこで、染色体上のヒストン修飾パターンに基づいて生きたまま染色体バンディング解析が可能なプローブを開発・検討した。

#### (2) 平成 27 年度以降

前年度まで検討していた核を自動認識するアルゴリズムの正答率をさらに上げるため、引き続きソフトウェアの改良を続けた。前年度までに構築したハード、ソフト、プローブを用いて、マウスをモデルに先の目的で述べた方法論を実際に開始した。体外受精胚だけでなく顕微授精胚、さらには高齢マウス、加齢モデルマウスについても調べた。グループごとの産仔作出効率と、それに相当する大量の多次元画像データおよび特徴量をもとに、多変量解析等の相関性解析により、胚の質を評価しうる新たな指標 (変数) を導いた。

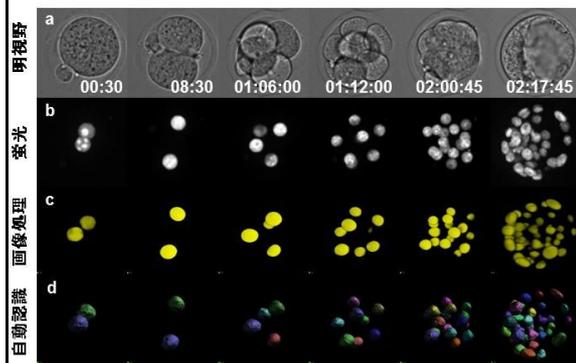


図3 初期胚核の自動認識の例  
 元となる蛍光画像 (b) をノイズ除去・輝度調整後にレンダリングした (c)。開発したアルゴリズムを用いて (c) の画像の核を自動認識させた (d)。核が違つ色に塗り分けられているのは、このアルゴリズムがそれぞれを独立したオブジェクトとして認識していることを意味する。これにより、胚の核数や核のサイズ、輝度などの数値情報が自動で抽出される。

マウスでデータの蓄積が成された後に、ウシなどの家畜動物胚、ウサギ胚、そして最終的には同意の得られたヒト余剰胚を用いて、指標の正当性の検討を行った。

#### 4. 研究成果

(1) 平成 25~26 年度は、顕微鏡システムの改良といったハードウェア面、また画像解析技術の向上というソフトウェア面での検討を行った。加えて、染色体正常性を評価しうる新規プローブの開発についても検討した。このうち、顕微鏡システムについては、共焦点ユニットのスピニングディスクを変更し、カメラの解像度を4倍向上させることで、生きたまま卵割期胚のM期染色体1本1本を認識できるほどに画像・時間分解能を向上させた顕微鏡システムを構築することに成功した。なお、本成果の一部については、他科研費「新学術領域ゲノムアダプテーション公募」の支援により達成された。ソフトウェア面でも、画像取得条件や解析用各種パラメーターを設定し直すことで、胚の核を自動認識するアルゴリズムの正答率を向上させた。新規蛍光プローブについては、性染色体を特異的に標識するプローブや、染色体セントロメア領域を検出するプローブの開発に成功した。

(2) 平成 27 年度は特にソフトウェアの改良に関して成果を得た。これまでに申請者は Histone H2B-mCherry の蛍光画像をもとに、核や染色体を自動認識できるアルゴリズムを開発していた。その計算方法やコンピューターの改造を行うことで、計算速度の大幅アップを達成した。また、東京大学の小林徹也博士、慶応大学の舟橋啓博士らとともに精度よく形や大きさを定量化でき、かつ認識ミスが生じた際に簡単に修正できるアルゴリズムと GUI (Graphical User Interface) を開発した。合わせて、核を一つ一つ自動追尾できるようなアルゴリズムを開発し、割球の細胞系譜を追跡できるようになった。これらに加えて、直接染色体をラベルするプローブだけでなく、細胞周期や細胞内 ATP 濃度を定量化できるプローブの開発に成功した。

平成 28 年度はこれまで進めてきた各種技術開発の成果として、ヒストン修飾状況 (H4K20me1) をリポートできる蛍光プローブの開発 (Sato et al, J Mol Biol.) 初期胚における X 染色体不活性化をリポートできるシステム (Kobayashi et al, Development) 受精時の卵子活性化を定量化する技術 (Satouh, Biol Reprod) の報告を行った。さらに、それらの技術のもととなるイメージングと定量解析法の詳細についてまとめた総説を発表した (Yao et al, J Mamm Ova Res) 。また、紀要での報告ではあるが、ウサギ胚を用いた染色体動態のイメージングおよびその定量化に関して報告を行った (堂本、近大先端研紀要) 。現在、ウシ胚およびヒト胚の

染色体動態のイメージングと定量解析に関する論文執筆を行っている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計15件)

以下、全て査読有

Satoh Y, Nozawa K, Yamagata K, Fujimoto T, Ikawa M. Viable offspring after imaging of Ca<sup>2+</sup> oscillations and visualization of the cortical reaction in mouse eggs. Biol Reprod.2017 Feb. 96(3), 563-575 doi: 10.1093/biolre/iox002.

Ueda J, Harada A, Urahama T, Machida S, Maehara K, Hada M, Makino Y, Nogami J, Horikoshi N, Osakabe A, Taguchi H, Tanaka H, Tachiwana H, Yao T, Yamada M, Iwamoto T, Isotani A, Ikawa M, Tachibana T, Okada Y, Kimura H, Ohkawa Y, Kurumizaka H, Yamagata K. Testis-Specific Histone Variant H3t Gene Is Essential for Entry into Spermatogenesis. Cell Rep. 2017 Jan. 18(3),593-600.

doi:10.1016/j.celrep.2016.12.065

Sato Y, Kujirai T, Arai R, Asakawa H, Ohtsuki C, Horikoshi N, Yamagata K, Ueda J, Nagase T, Haraguchi T. A Genetically Encoded Probe for Live-Cell Imaging of H4K20 Monomethylation. J Mol Biol.2016 Oct 428(20),3885-3902.

doi:10.1016/j.jmb.2016.08.010

Kobayashi S, Hosoi Y, Shiura H, Yamagata K, Takahashi S, Fujihara Y, Kohda T, Okabe M, Ishino F. Live imaging of X chromosome reactivation dynamics in early mouse development can discriminate naive from primed pluripotent stem cells. Development. 2016Aug.

143(16),2958-2964

doi:10.1242/dev.136739

Yao T, Ueda J, Kobayashi T, Hori M, Yamagata K. Quantitative Assessment of Embryo Quality Based on a Live-Cell Imaging Technique. Journal of Mammalian Ova Research .2016 May. 32(4),149-157. 2015.

doi:http://dx.doi.org/10.1274/jmor.32.149

Isotani A, Yamagata K, Okabe M, Ikawa M. Generation of Hprt-disrupted rat through mouse <- rat ES chimeras. Sci Rep.2016 APR 11;6:24215.

doi:10.1038/srep24215.

Muro Y, Hasuwa H, Isotani A, Miyata H, Yamagata K, Ikawa M, Yanagimachi R, Okabe M. Behavior of Mouse Spermatozoa

in the Female Reproductive Tract from Soon after Mating to the Beginning of Fertilization. *Biol Reprod.* 2016 Apr;94(4):80.

doi: 10.1095/biolreprod.115.135368.

Vázquez-Diez C, Yamagata K, Trivedi S, Haverfield J, FitzHarris G. Micronucleus formation causes perpetual unilateral chromosome inheritance in mouse embryos. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016 Jan 19;113(3):626-31.

doi: 10.1073/pnas.1517628112.

Nakatani T, Yamagata K, Kimura T, Oda M, Nakashima H, Hori M, Sekita Y, Arakawa T, Nakamura T, Nakano T. Stella preserves maternal chromosome integrity by inhibiting 5hmC-induced H2AX accumulation. *EMBO Rep.* 2015 May;16(5):582-9.

doi: 10.15252/embr.201439427.

Iwamoto D, Yamagata K, Kishi M, Hayashi-Takanaka Y, Kimura H, Wakayama T, Saeki K. Early development of cloned bovine embryos produced from oocytes enucleated by fluorescence metaphase II imaging using a conventional halogen-lamp microscope. *Cell Reprogram.* 2015 Apr;17(2):106-14.

doi: 10.1089/cell.2014.0086.

Kimura H, Yamagata K. Visualization of epigenetic modifications in preimplantation embryos. *Methods Mol Biol.* 2015;1222:127-47.

doi: 10.1007/978-1-4939-1594-1\_10.

Bashar MK, Yamagata K, Kobayashi TJ. Improved and robust detection of cell nuclei from four dimensional fluorescence images. *PLoS One.* 2014 Jul 14;9(7):e101891.

doi: 10.1371/journal.pone.0101891.

eCollection 2014.

Ueda J, Maehara K, Mashiko D, Ichinose T, Yao T, Hori M, Sato Y, Kimura H, Ohkawa Y, Yamagata K. Heterochromatin dynamics during the differentiation process revealed by the DNA methylation reporter mouse, MethylRO. *Stem Cell Reports.* 2014 Jun 3;2(6):910-24.

doi: 10.1016/j.stemcr.2014.05.008.

eCollection 2014 Jun 3.

Terashita Y, Yamagata K, Tokoro M, Itoi F, Wakayama S, Li C, Sato E, Tanemura K, Wakayama T. Latrunculin A treatment prevents abnormal chromosome segregation for successful development of cloned embryos. *PLoS One.* 2013 Oct. 8(10):e78380.

doi: 10.1371/journal.pone.0078380

Sato Y, Mukai M, Ueda J, Muraki M,

Stasevich T J, Horikoshi N, Kujirai T, Kita H, Kimura T, Hira S, Okada Y, Hayashi-Takanaka Y, Obuse C, Kurumizaka H, Kawahara A, Yamagata K, Nozaki N, Kimura H. Genetically encoded system to track histone modification in vivo. *Sci Rep.* 2013 Aug 3,2436.

doi:10.1038/srep02436

〔学会発表〕(計 27 件)

藤村雪乃, 野老美紀子, 八尾竜馬, 山縣一夫, 細井美彦, マウス卵胞培養過程で生じる細胞死を指標とした評価基準の作成、日本生殖再生医学会 第 12 回学術集会, 2017 年 3 月 20 日、シェーンバツハ・サポー、東京都千代田区

波多野裕, 山崎大賀, 加藤佐樹子, 野老美紀子, 穂井田謙介, 細井美彦, 山縣一夫, 第 39 回 日本分子生物学会年会, 2016 年 12 月 1 日、パシフィコ横浜、神奈川県横浜市

鈴木由華, 八尾竜馬, 山本正道, 野老美紀子, 福永憲隆, 浅田義正, 細井美彦, 山縣一夫, ライブセルイメージングを用いたマウス着床前初期胚発生における ATP 動態の可視化と定量化、第 39 回 日本分子生物学会年会, 2016 年 12 月 1 日、パシフィコ横浜、神奈川県横浜市

穂井田謙介, 上田潤, 山田健, 野老美紀子, 細井美彦, 山縣一夫, メチローマウス由来単一 ES 細胞におけるメチル化 DNA 動態の動的観察法の開発、第 39 回 日本分子生物学会年会, 2016 年 12 月 1 日、パシフィコ横浜、神奈川県横浜市

山縣一夫, Understanding of nuclear function by live imaging of chromatin dynamics、第 39 回日本分子生物学会年会パシフィコ横浜、2016 年 11 月 30 日、神奈川県横浜市

山縣一夫, ライブセルイメージングを用いた胚の up to date、第 34 回日本受精着床学会総会・学術講演会、2016 年 9 月 14 日、軽井沢プリンスホテル ウェスト、長野県北佐久郡軽井沢町

Kazuo Yamagata, Quantification of Embryo Quality by Live-Cell Imaging, Society for the Study of Reproduction, 2016 年 7 月 19 日, Sheraton Sandiego hotel & marina, America Sandiego

山縣一夫, 初期胚ライブセルイメージングによる胚の質の評価、第 57 回日本卵子学会、2016 年 5 月 15 日、朱鷺メッセ、新潟県新潟市

鈴木理恵, 八尾竜馬, 鈴木由華, 古川晋也, 杉村智史, 細井美彦, 山縣一夫, Evaluation of bovine embryo competence using a live-cell imaging technique、国際核移植学会シンポジウム、2016 年 3 月 10 日、山梨大学、山梨県甲府市

鈴木由華, 八尾竜馬, 鈴木理恵, 古川晋

也，山本正道，細井美彦，山縣一夫、Visualization and quantification of ATP dynamics in mouse preimplantation embryos using live-cell imaging、国際核移植学会シンポジウム、2016年3月10日、山梨大学、山梨県甲府市

山縣一夫、初期胚ライブセルイメージングを始めるには～タイムラプスを用いた知見を含めて～、第11回日本生殖再生医学学会学術集会、2016年3月6日、シェーンパッハ・サボー、東京都千代田区

穂井田謙介，上田潤，大日向康秀，財田大地，野老美紀子，細井美彦，山縣一夫、Dynamics of methylated DNA in ES cell replication and differentiation revealed by live-cell imaging、International Symposium on Epigenome Dynamics and Regulation in Germ Cells、2016年2月18日、京都大学百周年時計台記念館、京都府京都市

山縣一夫、Mouse testis specific histone H3 variant、H3t is essential for spermatogenesis、第38回日本分子生物学会年会、2015年12月4日、神戸ポートアイランド、兵庫県神戸市

山縣一夫、初期胚ライブセルイメージングを始めよう、第33回日本受精着床学会総会・学術講演会、2015年11月26日、東京ビックサイト、東京都江東区

Kazuo Yamagata、Live-cell imaging of chromatin and DNA-methylation dynamics using MethylRO mouse、6th Hiroshima Conference on Education and Science in Dentistry 広島大学シンポジウム、2015年10月24日、International Conference Center Hiroshima、広島県広島市

山縣一夫、ライブセルイメージングを用いた着床前初期胚の質の評価、関西実験動物研究会第127回研究会、2015年9月12日、大阪大学银杏会館、大阪府吹田市

Kazuo Yamagata、Visualization of Dynamics of Methylated DNA in living cell and animal、International Symposium on Bio-imaging and Gene Targeting Science in Okayama、2015年2月15日、岡山大学創立五十周年記念館金光ホール、岡山県岡山市

山縣一夫、初期胚の高精細イメージングで見えてくるもの、第59回日本生殖医学学会学術講演会、2014年12月4日、京王プラザホテル、東京都新宿区

山縣一夫、メチローで動くメチル化DNAを追う、第87回日本生化学会大会、2014年10月16日、国立京都国際会館・グランドプリンスホテル京都、京都府京都市

山縣一夫、ライブセルイメージングで「卵子の質」を定量化する、第66回日本細胞生物学会大会、2014年6月13日、奈良県新公会堂、奈良県奈良市

④ Kazuo Yamagata、Quantification of embryo quality by live-cell imaging、47th Annual

Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists、2014年5月28日、愛知県産業労働センター-WINC AICHI、愛知県名古屋

② 山縣一夫、ライブセルイメージングで「卵子の質」を評価する、第55回日本卵子学会、2014年5月17日、神戸国際会議場、兵庫県神戸市

③ 山縣一夫、メチローマウスで動くメチル化DNAを追う、平成26年度基礎生物学研究所重点共同利用研究「哺乳類初期胚の発生胴体解析システムの構築とその応用」公開研究会、2014年1月19日、基礎生物学研究所、愛知県岡崎市

④ 山縣一夫、初期胚の「質」を定量化することで不妊を知る、日本動物学会第84回岡山大大会、2013年9月26日、岡山大学津島キャンパス、岡山県岡山市

⑤ 山縣一夫、Imaging global epigenetic dynamics during mouse pre-implantation development、日本遺伝学会 第85回大会、2013年9月21日、慶応大学日吉キャンパス、神奈川県横浜市

⑥ 山縣一夫、ライブセルイメージングで「卵子の質」を評価する、第31回日本受精着床学会総会・学術講演会、2013年8月8日、別府国際コンベンションセンター、大分県別府市

⑦ 糸井史陽、山縣一夫、野老美紀子、福永憲隆、浅田義正、多次元ライブセルイメージングによるヒト1前核胚の評価、第54回日本哺乳動物卵子学会、2013年5月26日、学術総合センター、東京都千代田区

〔図書〕(計1件)

堀真由子、福永憲隆、浅田義正、山縣一夫、中外医学社、不妊・不育 診療指針、2015年、464-469

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)  
取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等  
該当ありません。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山縣一夫 (YAMAGATA, Kazuo)  
近畿大学・生物理工学部・准教授  
研究者番号：10361312

(2) 研究分担者 なし  
(3) 連携研究者 なし  
(4) 研究協力者 なし