

ISSN 1881-9028

日本IVF学会雑誌

Vol.26 No.1

2023

JSAR
Japan Society of Assisted Reproduction

巻頭言



日本 IVF 学会雑誌
編集委員長

柴原 浩章

この度、日本 IVF 学会雑誌の第 3 代目となる編集委員長を拝命致しました。3 名の副編集委員長（岩佐武先生、竹下直樹先生、沖津撰先生）の皆様、ならびに生殖に関わる基礎・臨床の様々な領域からお願いしました 11 名の編集委員の先生方（巻末参照）とともに、本学会会員の皆様方の日常業務や研究に少しでもお役に立つ内容となるよう鋭意努力してまいり所存です。

本誌の歴史を紐解きますと、永らく本学会を牽引してこられました森本義晴・前理事長時代の 2011 年に柳田薫先生が初代編集委員長に任命され、本誌は誕生しました。2015 年からは高見澤聡先生が第 2 代編集委員長に就任され、歴代の編集委員会メンバーと事務局（株式会社ヒューマンリプロ・K）の皆様方が結集し、日本 IVF 学会の official journal としてこれまで成長を遂げてきました。

その後、日本 IVF 学会は 2016 年から一般社団法人となるとともに、塩谷雅英先生が新しく理事長に就任され、今日に至るまで素晴らしいリーダーシップを発揮されてきました。また 2022 年からは IVF を含む多くの不妊治療がようやく保険適用となりました。現時点で先進医療と位置づけられる治療法の多くは、更なるエビデンスを示すことで保険診療となる可能性を秘めています。日本 IVF 学会の学術集会でのご発表や議論、並びに本誌への掲載論文がエビデンスの構築に貢献できる日がくることを、心よりご期待しています。

今回の誌面ではこれまでと少し趣向を変え、本学会の黎明期からの 25 年間の歩みと将来への展望に関する座談会の開催報告や、特別企画と題して副編集委員長の岩佐教授にお願いしまして、わが国の ART に関わる 4 名の生殖内分泌学のトップランナーの先生方からご執筆をいただきました。なおこれらの企画は今後も継続していく予定ですので、どうかご期待下さい。なお原著論文や症例報告の投稿数が順調に増加すれば、優秀論文賞として表彰することも検討中です。

以上のように本学会の特徴を生かし、多くの会員の皆様から本誌の発刊が待ち遠しいと思っただけですよう、編集委員一同で戮力協心してまいります。引き続きましてのご指導、ならびにご協力を宜しくお願い申し上げます。

座談会「日本 IVF 学会における 25 年の歩みと将来への展望」..... 5

塩谷 雅英 (一般社団法人 日本 IVF 学会 理事長 / 英ウイメンズクリニック 理事長)
森本 義晴 (一般社団法人 日本 IVF 学会 前理事長 / HORAC グランフロント大阪クリニック 院長)
石川 元春 (一般社団法人 日本 IVF 学会 常務理事 / いしかわクリニック 院長)
山下 正紀 (一般社団法人 日本 IVF 学会 常務理事 / 山下レディースクリニック 院長)
柴原 浩章 (一般社団法人 日本 IVF 学会 常務理事 / 兵庫医科大学医学部 産科婦人科学 主任教授)

特別企画「ART に関わる生殖内分泌 ～基礎から最新知見まで～」

序文..... 13

岩佐 武

徳島大学大学院医歯薬学研究部産科婦人科学分野

ー 総説 ー

GnRH 分泌の調節機構～視床下部神経ペプチドの基礎知識から最新の臨床応用まで～..... 14

野口 拓樹^{1,2}, 岩佐 武¹, 松崎 利也³

¹徳島大学大学院医歯薬学研究部 産科婦人科学分野 / ²国立病院機構 高知病院 産科婦人科 / ³JA 徳島厚生連 吉野川医療センター 産婦人科

ー 総説 ー

下垂体..... 29

折出 亜希, 金崎 春彦

島根大学医学部産科婦人科

ー 総説 ー

卵胞発育から排卵, 黄体形成 33

笠原 佑太, 岸 裕司, 森 祐介

東京慈恵会医科大学産婦人科学講座

ー 総説 ー

ヒト子宮内膜間質細胞の脱落膜化におけるエピジェネティクス遺伝子発現調節機構..... 42

田村 功

山口大学大学院医学系研究科産科婦人科学

論 文

ー 原著 ー

凍結保存タンク表面温度の監視は, 真空不良の検知に有効である 49

小橋 朱里¹, 水野 里志¹, 入江 真奈美¹, 中西 麻実¹, 松本 寛史¹, 佐藤 学², 福田 愛作¹, 森本 義晴³

¹IVF 大阪クリニック / ²IVF なんばクリニック / ³HORAC グランフロント大阪クリニック

—原著—

- 地方都市モデルにおける COVID-19 感染前後の不妊治療動向…………… 55
中井 奈々子, 竹原 功, 金子 宙夢, 中村 文洋, 高橋 杏子, 松川 淳, 松尾 幸城, 永瀬 智
山形大学医学部付属病院 産婦人科

—原著—

- 不妊治療保険適用に伴う患者およびスタッフの反応…………… 61
藤井 美喜, 山本 健児, 江夏 徳寿, 苔口 昭次, 塩谷 雅英
英ウィメンズクリニック

—原著—

- スプリット症例における体外受精と顕微授精の臨床成績の比較…………… 71
江夏 国宏, 江夏 徳寿, 古橋 孝祐, 岡本 恵理, 苔口 昭次, 塩谷 雅英
英ウィメンズクリニック

—原著—

- 多核胚における Direct cleavage 併発は流産率の上昇に繋がる：
単一凍結融解胚盤胞移植における後方視的検討…………… 80
水本 茂利, 渡辺 瞳, 仲宗根 巧真, 長尾 洋三, 田中 啓子, 小柳 沙織, 戸野本 知子,
大坪 可奈子, 奥田 紗矢香, 後藤 美緒, 伊賀 淑穂, 星井 彩花, 影山 美桜, 江夏 悠介,
小川 尚子, 古川 雄一, 大塚 未砂子, 吉岡 尚美, 蔵本 武志
蔵本ウィメンズクリニック

—原著—

- LH 基礎値の高い卵巣機能低下症例に対する PPOS 法 (Progestin-primed Ovarian Stimulation) の
有用性について…………… 85
山田 愛, 岡本 恵理, 苔口 昭次, 塩谷 雅英
英ウィメンズクリニック

—原著—

- 運動精子選別装置ミグリスを用いて回収した精子の細胞生物学的特徴…………… 90
関本 僚平, 長谷川 久隆, 村田 さくら, 佐藤 由莉香, 佐野 憲一, 吉田 淳
木場公園クリニック

—症例報告—

- 早発卵巣不全患者の ART による双胎妊娠・分娩後に骨粗鬆症と診断した 1 例…………… 95
澤田 紫乃¹, 杉下 陽堂^{1,2}, 鈴木 直¹
¹ 聖マリアンナ医科大学 産婦人科学 / ² 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター

—短報—

- 新型コロナウイルス感染症パンデミックの 2020 年より社会的卵子凍結を希望する女性が増えている…………… 98
水澤 友利, 藤井 美貴, 白岩 優綺, 塩谷 雅英
英ウィメンズクリニック

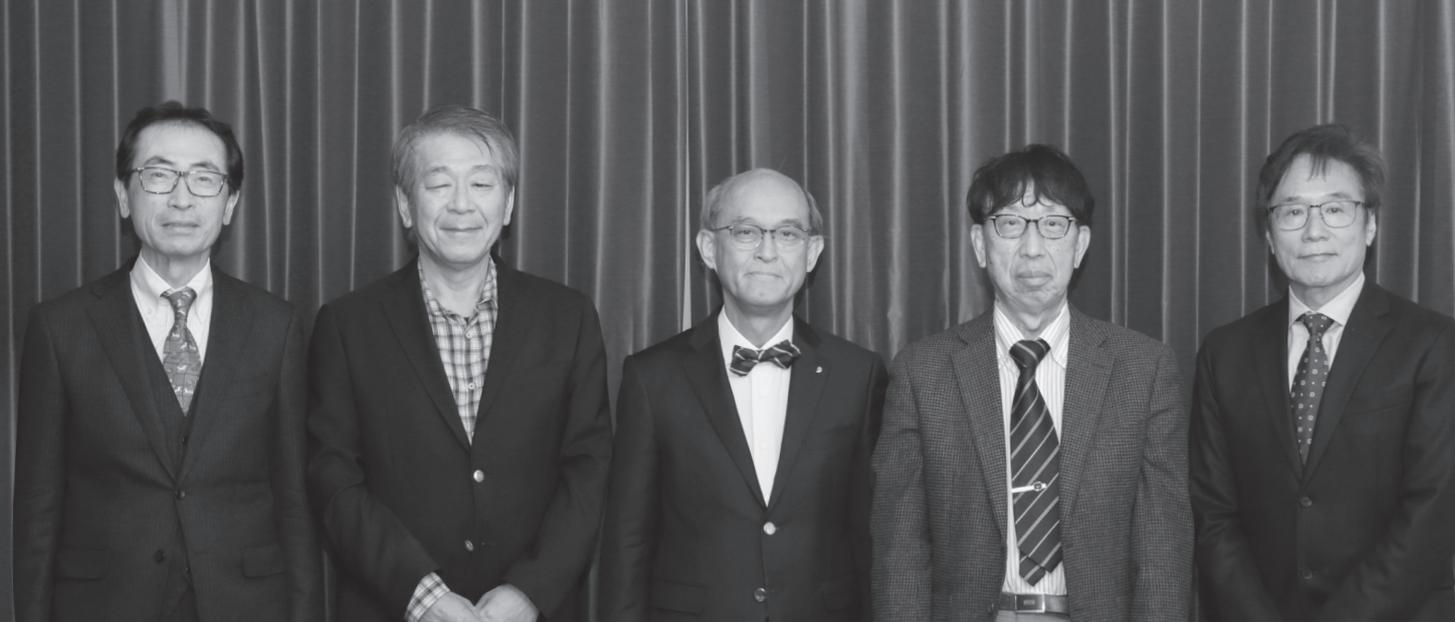
特別寄稿「話題」

患者が知りたい情報・受けたいサポート～自身の治療経験を通じて……………	102
	東尾 理子
	株式会社 TGP / NPO 法人 UMI

参加報告

ASRM2022 参加記……………	108
	江夏 徳寿
	英ウィメンズクリニック

第26回 日本IVF学会学術集会 開催概要 ……………	112
日本IVF学会雑誌発行における投稿論文募集のお知らせ ……………	114
日本IVF学会雑誌 投稿規定 ……………	115
一般社団法人 日本IVF学会 定款 ……………	117
一般社団法人 日本IVF学会 役員 ……………	123
編集委員会 ……………	124



「座談会」 日本IVF学会における 25年の歩みと将来への展望

- 塩谷 雅英** 一般社団法人 日本IVF学会 理事長／英ウィメンズクリニック 理事長
森本 義晴 一般社団法人 日本IVF学会 前理事長／HORAC グランフロント大阪クリニック 院長
石川 元春 一般社団法人 日本IVF学会 常務理事／いしかわクリニック 院長
山下 正紀 一般社団法人 日本IVF学会 常務理事／山下レディースクリニック 院長
柴原 浩章 一般社団法人 日本IVF学会 常務理事／兵庫医科大学医学部 産科婦人科学 主任教授

一般社団法人日本IVF学会は、2023年にIVF研究会から数えて創設25周年を迎える。これを記念して設立当時の状況や現在に至るまでの経緯、将来の展望について語り合う座談会を企画した。学会の創設メンバーの方々にご参加願ひ、学会創設の意義、国内外のART技術の変遷、学会の未来像などについて話していただいた。

【塩谷】 日本IVF学会は1993年（平成5年）にIVF懇話会としてスタートしました。当時、すでに高橋克彦先生の広島HARTクリニック、田中温先生のセントマザー産婦人科医院は開業されていましたが、まだ体外受精のプライベートクリニックが数少なかった時代です。前年の1992年にベルギーで顕微授精ICSIが世界で始めて成功したことが、大きなトピックとなっていました。

【石川】 ベルギーでのICSIは成功しましたが、他の国ではうまく行っていませんでした。ベルギー側としてはやり方の

問題ではないかといった反応で、ワークショップを行うから来るようにという話がありました。日本からは高橋克彦先生、田中温先生、私をはじめ大学の先生も何名か参加しています。高橋先生は1990年に日本初の体外受精専門外来クリニックを開院されていました。ベルギーでのワークショップをきっかけに本格的な交流が始まり、いろいろと教えていただきました。そのことが私の開業の大きな動機となっています。

【塩谷】 ちょうど同じ時期に偶然、大阪と兵庫でIVF懇話会が立ち上がるわけですが、皆さんお知り合いだったのですか。

が、皆さんお知り合いだったのですか。

【石川】 はい、ちょうどそこに大谷徹郎先生もいらして、一緒にやろうということになりました。

黎明期、大阪・神戸IVF懇話会時代の状況

【塩谷】 大阪IVF懇話会の結成時の状況について話していただけますか。

【森本】 当時、そうした集まりはなかったので、石川先生と話し合っIVF懇話会を立ち上げることにしました。本当に手探

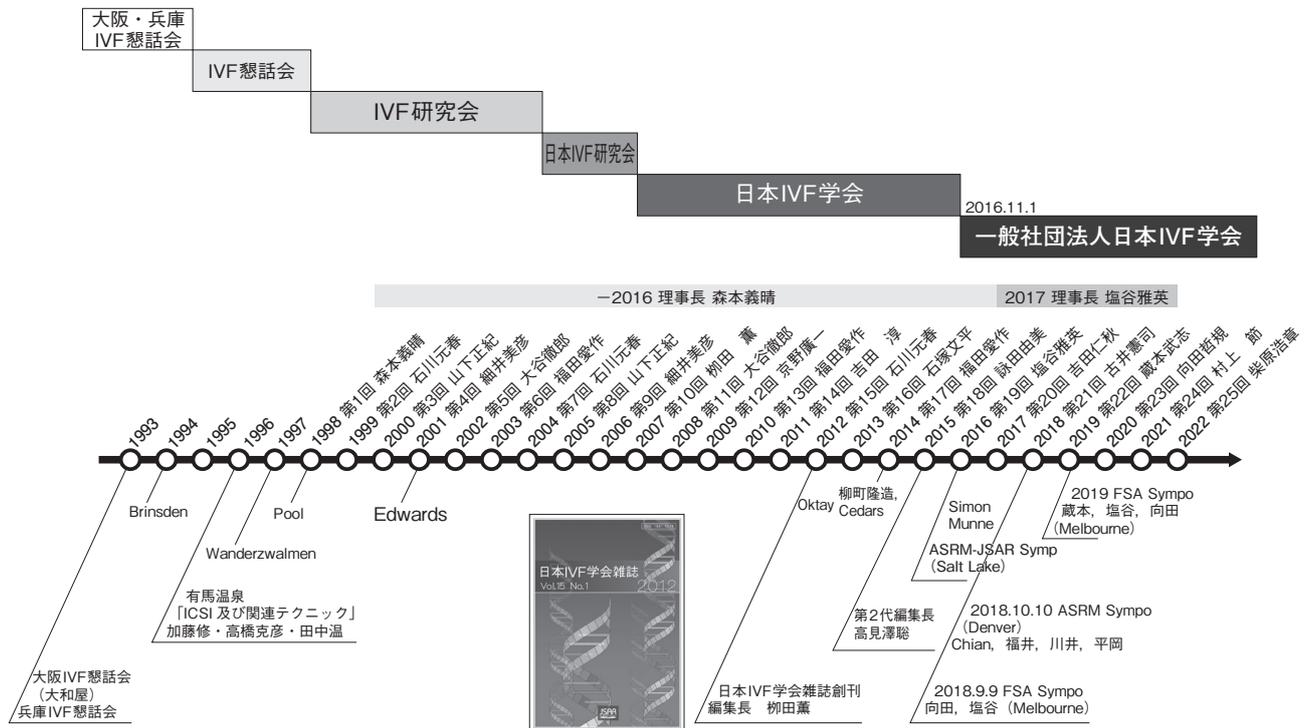


図 日本IVF学会の歴史

りの状態で、第1回目は大阪の大和屋という旅館で行いました。飲みながら、膝を交えてIVFについて話し合うというコンセプトでしたね。大阪でIVFを行っていたのは私が所属していた河内総合病院と近畿大学病院くらいで、他の大学や医療機関との横の繋がりはほとんどありませんでした。

【山下】第1回神戸IVF懇話会は、同じ年

に神戸の三宮で開催しています。

【塩谷】第1回のIVF懇話会は大阪、兵庫でそれぞれ開催されましたが、第2回からは合同で「大阪・兵庫IVF懇話会」という形で開催されるようになります。第2回にはBourn Hall ClinicのPeter Brinsden院長を招聘されていますね。

【森本】この招聘については私が担当しました。IVF発祥の地、イギリスからどうし

ても呼びたかったわけですが、私は英国に渡り、体外受精の研究施設として有名なBourn Hall Clinicの研修を2週間程受けました。このクリニックにはIVFの創始者、後にノーベル生理学・医学賞を受賞したRobert Edwards教授がいました。いろいろ話し合った末、当時クリニックの院長だったPeter Brinsden氏が来日することになりました。Brinsden先生のお母さんは先生がお腹にいる時期に上海にいたそうで、私はアジアと縁があると仰っていました。

【塩谷】IVF懇話会時代の大きなトピックと言えるのは、第5回に有馬温泉で行われた特別講演会ですね。テーマは「ICSIおよびその関連テクニック」でした。当時、IVFの3巨頭と言われていた高橋克彦先生、田中温先生、加藤修先生を招き講演会と討論会が行われました。

【森本】3人の先生は皆自分の手法に信念を持っており、激しい科学的議論をして



第5回大阪・兵庫IVF懇話会特別講演会におけるフリーディスカッション

いました。この先生達を一同に集めて討論させたらどうなるだろう、と私達は怖いもの見たさでこの3人の先生を講師として呼ぶことにしたのです。実際に一堂に会したところ、3人は結構仲が良かった。フリーディスカッションの時間になって、加藤先生と高橋先生は夜明けまで議論されていましたが、すごい気迫でした。こうした先生達がこの領域を牽引してくれたことは大きいですね。パイオニア精神があり、一家言持っている方たちでしたから議論を聞くだけで面白かった。それぞれ独自の考えを主張していたので噛み合うことはありませんでしたが、互いの信頼感は深まったと思います。

【塩谷】 当時の記録を見てみると、講師として呼ばれたのは3人の先生に向田哲規先生を加えた4人、皆さん惜しげもなく自分の手法を披露しています。医療を高めるために全てをオープンにするというのは、なかなかできることではありません。山下先生は当時を振り返って、どのように思われますか。

【山下】 あの頃はICSIの夜明けとも言うべき時期で、まだ成功率が低かった。現在は培養士がICSIを行うのが当たり前ですが、当時は医師が行っていました。培養士という存在自体が成立していなかった時代です。しかし、ICSIの登場によって培養士の誕生へと大きく舵が切られました。ICSIは医師が片手間で行える手技ではありません。このことが大きかったと思います。

【石川】 ICSI以前に、高橋克彦先生が日本で初めてSUZI（囲卵腔内精子注入法）による顕微授精を行っています。精子の透明帯通過を補助する顕微授精ですが、それでも妊娠例を増やすことができない状況にありました。それを大きく変えたのがICSIです。しかし、当時は医師以外に配偶子を触れさせてはいけないという考え方が圧倒的に強かった。

私は1989年に米国のEastern Virginia Medical Schoolに留学しました。あちらのIVFラボでは採卵と胚移植は医師が行いますが、胚培養は培養士が行うという完全な分業制でした。当時、まだICSIは登場していなかったのですが、生殖医療のシステムが日本と米国では天と地ほどの差があると思いました。1991年に帰国して「エンブリオロジスト」という職業を作るべくいろいろ働きかけましたが、反応は今ひとつでした。2001年に日本臨床エンブリオロジスト学会が認定制度を設け、エンブリオロジストという資格が認められました。今では信じられないような話です。

IVF懇話会からIVF研究会へ ステップアップ

【塩谷】 黎明期の有馬温泉での特別講演会が、その後の日本IVF学会の基礎になったと強く感じます。IVF懇話会は5年間続き、1998年にIVF研究会へと発展していきました。懇話会から研究会への移行に際して、当時の様子などをお聞かせいただけますか。

【森本】 IVF懇話会は地域的なものでした。IVF研究会に移行した当初も「日本」は付いていません。医学界全体として「開業医がなぜ研究活動をやるのか」という風潮があり、そういう意見を持つ大学教授もいました。さまざまな軋轢があったことは事実です。とても「日本」を付ける勇氣はなかった。結局、「IVF研究会」として出発したのですが、次第に参加者も全国から集まるようになり、関東からも随分と参加してくれました。その発展の結果として「日本」をつけたように記憶しています。かなり抵抗があるかなと思いました。意外とすんなり受け入れられ定着しました。

【塩谷】 当初、IVFは大学においても教授

クラスの医師が行っていました。後に高橋克彦先生や田中温先生などクリニックの医師が行うようになりますが、それでもまだ大学が主導する時代でしたね。

【森本】 私達も大学が主導していただろうと考えていたのです。しかし、第一世代の3人の先生達がとても元気で、私達の“防火壁”になってくれました。

【塩谷】 私もIVF研究会によく参加しました。参加費は若干高かったのですが、それに見合う知識を得ることができた。参加すると勉強になる、そういう印象でした。演者の選定はどのような基準で選ばれていたのでしょうか。

【森本】 これは現在にも通じるとは思います。研究会の魅力は演者の質にあったと思います。選ぶに当たっては、第一に面白い仕事をしている人を重要視しました。第二に自分で仕事をしている人、偉い方でも仕事を部下に任せている場合があり、そうした方の話は実質的な内容が伝わらず、緻密さに欠けることがあります。また、海外演者も1～2名は入れるようにしました。大会長にはこれらを基本方針として学術集会のプログラムを構築するようお願いしていました。

【石川】 森本先生の牽引力により会は成長していきましたが、周囲からは抵抗もありました。アドバイスしていただいたのは慶應義塾大学医学部の鈴木秋悦先生と近畿大学生物理工学研究科の入谷明先生でした。鈴木先生は生殖医療の草分け的な存在、入谷先生は大型家畜を対象にした体外受精研究のパイオニアです。

【森本】 このお二人の存在は大きかったですね。

【石川】 さらに近畿大学で哺乳類の生殖生理分野を研究されていた細井美彦先生ですね。細井先生は1986年に世界に先駆けてウサギのICSIに成功されています。

【森本】 日本の生殖生物学は世界一と言っていると思います。当時、日本の畜



塩谷雅英先生



森本義晴先生

産学の有名な先生が留学したところ、米国の上司が日本語の論文を読んでいて、培養液の組成を英語に訳して教えると言われたそうです。

【山下】 1991年には鹿児島大学の後藤和文先生がICSIでウシが産まれたことを発表しています。細井先生はウサギ、後藤先生はウシ、しかしヒトの第1号はベルギーのDr. Gianpiero Palermoでした。日本でヒトのICSI第1号ができなかったのは、非常に残念に思います。

【塩谷】 研究会としての活動期間は6年間です。2001年の日本IVF研究会の第6回大会には、ついにRobert Edwards先生が来日されています。

【森本】 Edwards先生の来日は入谷先生のお世話で実現しました。先生は生殖医療におけるスーパースターでしたから、本当に来てくれるのかどうか心配でした。偉い人が来るというので、私達としては完璧な準備をしていたのですが、こんなエピソードがあります。

到着されたその日のことです。Edwards先生が非常に怒っておられるという情報が入って来ました。私は仰天し、慌てて駆けつけてその理由を聞きました。話を聞くと、ホテル側が先生の部屋の鍵を他の人間に渡してしまい、先生が部屋に入るとすでに誰かがいたということでした。先生は烈火のごとく怒られて、「パーティに出ない」と言って部屋に閉じこもってしまわれました。当然、宴会場にはお見えにならず、私達は仕方ないと半ば諦めていました。ところが、30分ほど経ってから先生が姿を見せていただいたのです。若い女性達がわぁと集まり、記念撮影が始まります。その時は正直ほっとしました。後日、Edwards先生にIVF研究会の顧問をお願いしたところ、快く引き受けてくださいました。以来、先生には亡くなるまで顧問を務めていただきました。

さらに顧問として大きいのは柳町隆造先生の存在です。柳町先生は1960年代にM.C. Chang博士のもとでハムスターを用いた体外受精に成功し、体外受精法の確立に繋がる先駆的な研究をされた方です。先生の研究グループが開発した顕微授精は、今日の不妊症における有用な治療戦略となりました。国内の顧問は、鈴木秋悦先生、入谷明先生、久保春海先生ですね。久保先生は日本で初めてヒトの体外受精胚を作られた方です。この顧問の先生方は、世界と日本における創成期の生殖補助医療の研究、臨床の指導的立場にありました。

日本IVF学会の設立

【塩谷】 2007年に入り、研究会が学会となります。研究会から学会へというのは大きな変化だと思いますが、当時どのような状況だったのでしょうか。

【森本】 研究会は私的な集まりでしたが、参加者も定着し、次第に組織が整ってきて、学会誌創設の話なども出るようになりました。毎回参加する人が確実に増え、これなら学会としてもやっていけると考えるようになりました。その思いを研究会の理事の皆さんに伝えたと、承認をいただいたので実行に移した次第です。当時、私的な研究会が学会に移行することはほとんどありませんでした。

【石川】 学会を名乗るためには、学会雑誌を定期的に発行しなければなりません。また、会員からは年会費を徴収することになります。研究会の活動費用は参加費で賅っていましたから、森本先生はそうした運営面でご苦労されたと記憶しています。また、会則の制定や理事の任命など、理事会としての体裁を整えることにも尽力されていました。

【塩谷】 森本先生をそこまでの想いにか

せたのは何だったのでしょうか。

【森本】 私は、日本のIVFは世界でもかなり高いレベルの水準にあると思っています。こうした歴史が時間と共に消えていくのは余りにも惜しい。さらに、今後IVFが発展していくためのエネルギーも維持しなければなりません。しかし、そうしたことを実行するには、第一世代の先生達に続く私達の世代、そして次の世代を育成する必要があります。そのための確固たる場を作らなければならないと考えました。

学会への移行については、鈴木秋悦先生の助言がありました。鈴木先生は怖い存在でした。毎年の理事会の最後に評価を求めると、必ず大変厳しいことを言われました。しかし、それによって我々が得たものは大きかった。

【塩谷】 2012年に日本IVF学会雑誌第1号が発刊されました。

【森本】 学会雑誌が創刊される際、柳田薫先生にはとても大きな働きをしていただきました。先生は、編集能力はもちろん原稿収集後のサーベイなど雑誌制作に関してかなり精通されておられました。私たちが非常に質の高い雑誌を発刊することができたのは先生のお陰です。日本IVF学会誌の創刊は学会のステータスになりました。

ここで嬉しいことがありました。雑誌の英文名です。「Journal of Assisted Reproduction」すごく立派な名前です。これが取得できたことはとても嬉しかったですね。

【山下】 研究会から学会になったばかりの頃は大学が主導していましたが、症例数は圧倒的にクリニックの方が多かった。クリニックが日本のIVFを牽引するのだという意識がかなり高まっていたと思います。研究会の時の合言葉は「明日からの診療に役に立つ」でした。しかし、学会になると「世界最先端のIVF技術」や「未来に

向けて」といったテーマが出てくるようになります。最先端のテーマは我々の学会がやるよといった意気込みがあったのではないのでしょうか。

【石川】 また、日本臨床エンブリオロジスト学会との共催も始まります。エンブリオロジストの方々に発表してもらったり、こちらからも興味あるテーマを提供したりして交流を深めました。これは森本先生のアイデアです。これが学会をさらに飛躍させる原動力となりました。

【塩谷】 柴原先生は当時大学におられました。大学の立場としてどのように見えましたか。

【柴原】 懇話会から研究会に発展した1995年頃、私は米国に留学してしまい、帰国後は自治医科大学に移籍したため、研究会から少し離れてしまいました。この領域で活動している者としては「遅れを取った」と感じていました。2013年に兵庫医科大学に戻ったことをきっかけに再び活動に参加できたことは、非常に良かったと思っています。

【森本】 柴原先生は大学人ですが、当時、大学で深く私たちの学会に関与していただけの方はいませんでした。先生の参画は非常に心強かったですね。

学会となり最先端のテーマに挑む

【塩谷】 2007年に学会となって、最初のテーマが「受精障害の臨床」、2008年は「着床前診断」でした。現在でも通用するようなテーマですが、かなり前から取り上げていましたね。

【森本】 2008年に大会長を務めた大谷徹郎先生は、当時、着床前診断について日本産科婦人科学会（以下 日産婦）と対立していました。しかし、私は「日本IVF学会は学会であり、日産婦も学会であるのだから対等である。日産婦が大谷

先生を非難しても、我々の学会が先生を非難する必要はない」と思っていたのです。その基本的理念をもとに、日本IVF学会として先生をお招きし、講演などもしていただきました。

【塩谷】 石川先生は3回、大会長をされています。3回を通じて何か思い出はありますか。

【石川】 最後に大会長を務めたのは2012年です。参加者の登録数を確かめながら、会場費や演者の依頼と手配、謝礼といったことに気を配らなければならませんでした。赤字を出すことが不安で、それが非常なストレスになりました。幸い、皆様のご協力もあって黒字となり、安堵したことが一番の思い出です。また、企業からの協力については、以前と違って何かと制約が出てきました。今後は運営が難しくなることをひしひしと感じています。

【山下】 学会に移行してからは、国内でかなり活躍をされている方が会長を務めています。学会になるとはこういうことか思いました。

【森本】 2016年には塩谷先生が大会長でした。大きい学会は初めてだったのではないですか。

【塩谷】 はい、ただ、日本IVF学会は伝統がありましたので、それまでのやり方を踏襲しました。外国から招聘したのは、スペインのバレンシア大学のCarlos Simón先生、田中先生が核移植を希望されていたので英国のMary Herbert先生、またPTG（受精卵着床前診断）が国内で注目され始めた時でしたのでSantiago Munné先生にも来ていただきました。

【石川】 外国の演者との交渉は難しいでしょう。私が担当した演者は、飛行機はビジネス、ホテルの滞在費は無料、講演料を上げろといった要求があって大変でした。日本のルールだと言いながら交渉しましたが、今では懐かしい思い出です。

法人格取得後の学会活動

【塩谷】 2016年に一般社団法人となりました。手続がたいへんだったと思いますが、どのような御苦労がありましたか。

【森本】 法人格の取得については、事務局のヒューマンリプロ・Kの久保さんからアイデアをいただきました。私達医師にはこうした知識がありません。任意団体は全く相手にされず、法人格があって初めて発言権が得られるということで法人化に踏み切りました。事務的な手続きも煩雑ですし、会計のこともありましたので、事務局の久保さんには大変お世話になりました。

法人格を持つと社会的な責任が生じ、法人税や消費税も納付しなければなりません。しかし、地位は確実に上がります。例えば、何かで訴訟が起こっても、政府が認める団体として法人格があると扱いが違ってきます。他の大きな学会は、私達の後に法人格取得に動き始めました。

【石川】 日本生殖医学会と日産婦の認定ポイントが付くようになりましたね。任意団体では認定ポイントが付くことはありません。

【塩谷】 学会雑誌が発行され、法人格も取得し、森本先生にご指名をいただいて2017年から私は理事長を拝命しました。あらためて黎明期の先生達が土台を作ってくれた学会であることを実感しています。

【森本】 2017年に塩谷先生に引き継いでいただきましたが、それは我々にとって非常に大きなことでした。人望があり学術的な見識も高い人材はそう簡単に見つかるものではありません。学会はそれ以降飛躍的に発展していますし、IVFに関するニュースも頻繁に発信され、学会のプレゼンスが確実に高まりました。

塩谷先生の理事長就任に際しては、副理事長の古井憲司先生の推薦もありまし

た。古井先生は企画の立案、組織内の調整に長けています。塩谷先生と古井先生の組み合わせが、学会を発展させている理由の一つになっていると思っています。

【塩谷】 昨年は東京大学産婦人科学教授の大須賀穰先生に副理事長に就任していただきました。

【森本】 大須賀先生は日本の産科婦人科のトップリーダーです。そういう方にボードに入っていただくのはたいへん名誉なことと感じています。日産婦や日本生殖医学会、日本受精着床学会にも関係しておられますので、就任していただけると聞いた時は非常に嬉しかったですね。滋賀医科大学の村上節先生もそうですが、最近では大学人の方に参加していただけるようになりました。

【塩谷】 お話を聞いていると黎明期の熱量は本当に凄いものだったと想像します。私が理事長を引き継いでから、当時の先生達の熱量に追いついていないのではないかといつも危惧しています。

今回、柴原先生が編集担当を引き継いでくださったことは、非常に感謝しています。日本語で論文投稿できる雑誌も増えてきており、日本IVF学会雑誌も重要な位置を占めつつあります。今後はどのような編集方針になるのでしょうか。

【柴原】 新しい企画としては、座談会を定期的に年1回続けて行きたいと考えています。また、編集委員の方々に特集を2つ組んでいただき、4人ずつでレビューを執筆していただく。そうした企画を順次打ち出しながら、これまで以上に皆さんに読んでいただける雑誌を目指したいと考えています。

【森本】 東南アジアの医師など海外から投稿できるような場としてもいいですね。柴原先生は英語論文に精通されていますので、そうしたことが可能であると思います。また、塩谷先生が理事長になってから海外交流が盛んになりました。

【塩谷】 森本先生の戦略が元になっています。現在、ASRM（アメリカ生殖医学会）やFSA（オーストラリア不妊学会）との交流が行われていますが、ASRMでシンポジストになるのはなかなか難しいことです。森本先生がシンポジスト枠を取ってくださったお陰で、日本の若手医師をASRMのシンポジストとして送り出すことができるようになりました。

【森本】 ASPIRE（アジア太平洋生殖医学会）にもセッションを設けていきたいですね。主な国内の生殖医療分野の学会は、あまり海外の学会と積極的な交流を行っていません。海外の複数の学会とのジョイントを行っているのは私達くらいでしょう。そういう意味で日本の生殖医療の一翼を担っているとの自負はあります。

生殖補助医療の保険適用をめぐって

【塩谷】 2022年4月より生殖補助医療が保険適用となりました。この保険適用をどのように考えるべきかお話ししていただきたいと思います。山下先生いかがでしょうか。

【山下】 保険適用については光と影があるように思います。体外受精のハードルが下がり、患者さんが治療を受けやすくなるのは光の部分でしょう。しかし、逆に受けたい治療が受けられなくなるという影の部分も生まれます。このことに不満を感じている患者さんや医師もいるのではないのでしょうか。確かに保険適用についてはメリットの方が大きいと思います。懸念するのは保険内で治療を行っていくと治療法が型にはまってしまい、日本から新しい治療やイノベーションが出なくなってしまうことです。保険診療と新しい治療法、そのバランスをどのように考えていくのか、そこに大きな課題があると考えています。

【塩谷】先日、透明帯を除去して培養する方法が先進医療として申請されましたが、エビデンスが足りないということで認められませんでした。エビデンスの不足が原因で先進医療として認められないならば、新しい医療は出にくくなります。そこは大きな問題だと私も思いました。

【山下】保険適用になるということはそういうことなのです。いろいろと新しいことを行ってきて、現在があるわけで、そうした芽が育てられない。

【柴原】まだ自由診療で行っている施設もあると聞いていますが、全国でどの程度あるでしょうか。

【塩谷】全体の1割もないのではないのでしょうか。以前のような自由診療の場合はエビデンスがなくても、患者さんが希望すれば「やってみよう」ということであるような治療を試みることができました。しかし、一方でエビデンスがないことばかりやっていたのでは仕方がないという反省もあります。

【石川】保険適用になって各部門が忙しくなりました。保険で移植回数を制限されると、胚盤胞まで培養する培養士の手間が増えます。また、自由な発想や診療が制約される時代になってきているような気がします。日産婦や日本生殖医学会は、学会に属さないで医療行為をする医療機関が出てくることを危惧しています。つまり保険診療をしなければ学会の会告も聞かれない、そう考えるクリニックが出て来かねないと思っています。

【森本】費用面で楽になったのは患者さんにとってメリットです。確かに、事務量は膨大になりましたし、医師としての仕事も増えました。そうした中で良い傾向と感じるのは、必ず夫を連れてくるようになったことです。夫の顔を見ることができるようになりました。保険適用になった大きなメリットのひとつと感じています。しかし、診療報酬は2年毎に改定されるので、今後の行

方がどうなるのか注視しなければなりません。他科の様子を見ると診療報酬が下がり続けています。如何に維持していくかが今後の課題となるでしょう。

【石川】政府が異次元の少子化対策を行うと発表したので、安心してるところがあるのではないですか。次の統計で出生数が下がり、その中でも生殖補助医療による出産は増加していると発表されれば、少しは追い風になるかもしれませんが。

【塩谷】2022年の出生数が80万人を切った中で、ARTによる出産が6万人と発表されています。これが7～8万人になると無視できない数になりますね。

将来の展望

【塩谷】現在、安定期に入ったとも言える日本IVF学会ですが、今後どのような方向に向かって行くべきとお考えですか。

【柴原】2022年に第25回大会長を務めさせていただきましたが、コロナ禍の中、来場者が大勢ありました。内容もたいへん充実したものだだと思います。学会はさらに30年、40年、50年を迎えることになります。今後は若手を育てながら施設の地域や規模にかかわらず、全体のレベルアップを図れるような会を目指すべきだと思っています。

【森本】私からは学会にお願いしたいことが2つあります。1つは国際化です。海外の会員を増やし、英語によるセッションを実現していただきたい。海外で開催される会議はほとんど英語です。学会雑誌も英語で書かれていないものは信用度が低い。最近、日本でも不自由なく英語を話す人が増えたので、是非進めて欲しいですね。もう1つは、思い切ったことに挑戦して欲しい。Edwards先生は体外受精を実施するのに10年かかったそうです。いろいろな迫害を受けたにもか



石川元春先生



山下正紀先生



柴原浩章先生

かわらず、体外受精を行った。現在の医師は倫理に縛られ、慎重になり過ぎる傾向があります。例えば、生殖医療におけるゲノム編集や核移植といった医療技術を日本で開発し、海外に向けて発信して行く、そのくらいの大胆さが欲しいと思います。体外受精の実施も最初は異常なことと言われました。しかし、現在は世界中で行われ、これまでに800万人以上の子どもが誕生しています。今は特別なことだと思っても、10年後には一般的なことになる可能性がある。殻に閉じこもると我々の学会の良さがなくなりま。これから幹細胞による配偶子の作製が始まります。そういったテーマもぜひ議論に載せて欲しい。

【塩谷】先日シドニーに行ってきましたが、国際的な場で活躍できる日本人を育てていかなければならないと感じました。外国人と対等に論議できる医師は民間施設では少ないですね。

【柴原】他学会の英文誌を見てみると、英

語で執筆する場合は多くの人に読んでもらいたいという気持ちが強いように思います。しかし、日本IVF学会雑誌を英文化してもインパクトファクターのある雑誌に吸収されていくような流れにはしたくありません。その意味では雑誌ではなく、定期刊行のテキストのような形もいいと思います。

【塩谷】ベトナム、カンボジア、インドの方々には英語を話しますし、その人達と一緒に何か取り組めたら面白いですね。

【森本】アジアの人達は学習意欲が高いので、日本で研修生として受け入れることも考えられるでしょう。我々の学会から研修施設を斡旋することができるかもしれません。

【石川】昨年、日本IVF学会では70歳定年制を導入しました。世代交代を考えると、これはいい決定だったと思います。

【山下】私もそう思います。IVF懇話会が結成されたのが1993年、もう30年が経過したわけです。これからは若い世代

の力が必要です。若い人達にIVF領域にどんどん入ってもらわなければなりません。そのためにいろいろな形でサポートするのが、私達の役割なのかなと思っています。

【塩谷】日本IVF学会は森本先生と3人のファウンダーの先生方の熱い想いによって誕生しました。日本の生殖補助医療の発展という目標を一貫して持ち続け、石川先生や山下先生、柴原先生と共に黎明期から今日に至るまで日本IVF学会のために様々な活動をされてきました。本日の座談会によって学会の発展に寄与していただいた先輩方の努力や苦勞を知ることができたと実感しています。

これからの学会の課題はアジアを見据えた国際化、ゲノムや核移植といった新しい領域への挑戦、そして人材育成です。理事長としてこれらの課題に真摯に取り組んでいきたいと思っています。

本日は長時間にわたり貴重なお時間をいただき、ありがとうございました。



特別企画 「ARTに関わる生殖内分泌 ～基礎から最新知見まで～」

序 文

岩佐 武

徳島大学大学院医歯薬学研究部産科婦人科学分野

この度、塩谷雅英先生ならびに柴原浩章先生のお取り計らいにより、本誌での企画を担当する機会を賜りました。この企画では生殖内分泌学に焦点を当て、視床下部、下垂体、卵巣、子宮のそれぞれに関して、第一線で活躍する研究者の皆様よりご執筆いただいております。具体的には、野口拓樹先生からは視床下部のGnRH分泌制御機構、折出亜希先生、金崎春彦先生からは下垂体ゴナドトロピン分泌機構、笠原佑太先生、岸裕司先生、森祐介先生からは卵胞発育の内分泌学的機序、田村功先生からは子宮内膜間質細胞の脱落膜化の調節機構について、ご自身の研究成果をもとに論じていただきました。日本を代表する生殖内分泌学者の執筆とあって、いずれの論文も学術的価値が極めて高い内容となっております。研究に対して最初は取っ付きにくい印象を持つ方もいると思いますが、実際は臨床で得た疑問を解決すべく行われているものがほとんどで、一連の論文を読み終えた頃には身近なものとして感じていただけているはずです。また、内分泌学的事象について一歩踏み込んだ知識を持つことで、これまで当然のこととして行っていた日常臨床を掘り下げるきっかけにもなると思います。ご自身の研鑽の一環として、是非ともこの企画をご活用ください。

生殖医療と生殖内分泌学は表裏一体の関係で、お互いが支え合う形でこれまで発展を遂げてきました。現在生殖医療で用いられる技術や薬剤一つ一つは、生殖内分泌学の進歩により使用可能となったもので、医学研究者の独創的な発想と弛まぬ努力がそれを支えてきました。一方、臨床から得られた知識や経験が研究結果の裏付けとなり、生殖内分泌学の発展をさらに推し進めたことも事実です。この流れを汲み生殖医療や研究に従事する我々は、先人からの恩恵を享受するだけでなく、それらを維持・発展させて後世に受け継ぐ義務を負っているといえます。しかしながら、昨今では生殖医療と生殖内分泌学が切り離されたものとして語られることが多く、このままではこれらの発展が終焉を迎えることになりかねない状況です。事実、学会や研究会ではそれぞれが別々のセッションとして企画され、参加者もどちらか一方にのみ足を運ぶ状況が多く見受けられます。それに伴い、臨床家と研究者の交流が年々減っていると感じているのは私だけではないはずです。今回ご執筆いただいた先生をはじめ、日本には生殖内分泌学の第一線で活躍される研究者が揃っています。また、日本は言わずと知れた生殖医療大国で、一流の医療関係者が高度な医療を提供しており、生殖医療に関する膨大な臨床的知見も蓄えられています。今後、人的交流を積極的に図り、お互いの知識やデータを有効活用できれば、日本は世界に類を見ない「生殖医療先進国」としての立場を築けることは間違いありません。野望とも無謀ともいえるかもしれませんが、それが生殖内分泌学ならびに生殖医療に携わる身としての私の希望です。卓越した研究者で一流の臨床家でもある両先生からいただいたこの企画が、その第一歩となることを願っています。

末筆ではございますが、塩谷雅英先生、柴原浩章先生にはこのような機会を賜りましたこと、厚く御礼申し上げます。また、ご多忙の中、ご自身の研究に裏打ちされた素晴らしい論文を作成いただいた執筆者の皆様へ深謝申し上げます。

GnRH分泌の調節機構 ～視床下部神経ペプチドの基礎知識から最新の臨床応用まで～

Neuroendocrine mechanisms of GnRH secretion: from basic knowledge to clinical applications of hypothalamic neuropeptides

野口 拓樹^{1,2)}, 岩佐 武¹⁾, 松崎 利也³⁾

Hiroki Noguchi^{1,2)}, Takeshi Iwasa¹⁾, Toshiya Matsuzaki³⁾

¹ 徳島大学大学院医歯薬学研究部 産科婦人科学分野

² 国立病院機構 高知病院 産科婦人科

³ JA 徳島厚生連 吉野川医療センター 産婦人科

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School

²Department of Obstetrics and Gynecology, National Hospital Organization Kochi National Hospital

³Department of Obstetrics and Gynecology, Yoshinogawa Medical Center

要旨： 視床下部-下垂体-卵巣系 (HPG axis) は、生殖内分泌機構の根幹をなし、至適卵胞発育と適切な時期での排卵を維持する上で不可欠の役割を果たしている。視床下部神経ペプチドである GnRH の分泌様式にはパルス状分泌とサージ状分泌の二つがある。前者は卵胞発育に関わり、後者は排卵に関わっており、それぞれ2つの独立したキスペプチン産生ニューロンを介して、エストロゲンによるネガティブ、ポジティブフィードバック作用を受ける。栄養不良状態 (negative energy balance) や高度のストレスが負荷された状態では、様々な摂食関連因子、炎症性サイトカインにより摂食行動やストレス反応が促進され、HPG axis において GnRH パルス状分泌が低下することで生殖機能が抑制される。

このように GnRH の分泌動態や制御機構が解明され、生殖医療の分野では GnRH アゴニストやアンタゴニスト、更に性腺ホルモンのフィードバック作用を組み合わせることで GnRH 分泌を自在に制御することが可能となった。近年、生殖補助医療において、卵巣刺激の早期よりプロゲスチン製剤を内服し、KNDyニューロンを介して内因性 LH サージを抑制する Progesterin primed ovarian stimulation (PPOS) 法が行われるようになった。患者の身体的、経済的負担は軽減されるが、新鮮胚移植は不可能であり全胚凍結を原則とする。それぞれの調節卵巣刺激法の特徴を十分に理解した上で、症例ごとの病因・病態、社会的背景を加味して最適の調節卵巣刺激法を選択することが重要である。

体重減少性無月経、ストレス性無月経など機能性視床下部性排卵障害患者では、まずその誘因を取り除くことが第一選択となる。また挙児希望がある場合は、HPG axis を十分に理解した上で、ゴナドトロピン療法や GnRH パルス療法などにより排卵を回復または誘発する。

キーワード： HPG axis, キスペプチン, 視床下部性排卵障害, GnRH, PPOS 法

英文要旨： The hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis plays a fundamental role in the reproductive endocrine system, and essential in optimal follicular development and timely ovulation. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) has two secretory modes, which are pulsatile and surge secretions. Pulsatile and surge secretions are involved in follicular development and ovulation, respectively. These patterns are regulated by negative and positive feedback effects of estrogen through two independent kisspeptin-producing neurons. Under negative energy balance or stresses, expressions of orexigenic factors and inflammatory cytokines increase, that induces feeding behavior and stress responses, and simultaneously suppresses reproductive function by suppressing pulsatile secretion of GnRH. Based on these knowledges, we have applied the effects of GnRH and feedback signal in the clinical practice. In recent years, progesterin primed ovarian

stimulation (PPOS) has been introduced in assisted reproductive technology. It involves oral administration of exogenous progestin from the early stages of ovarian stimulation in order to block the endogenous LH surge through the suppressive action on KNDy neurons. While this approach reduces the physical and economic burden on patients, it generally requires freeze-all embryo. Therefore, it is crucial to understand the characteristics of each ovarian stimulation protocol and consider the underlying etiology, pathophysiology, and social background of individual cases to select the optimal approach. In patients with functional hypothalamic ovulation disorders, such as weight loss-related or stress-related amenorrhea, the initial approach is to identify and address the underlying triggers. If the patient desires fertility who shows WHO group I ovulation disorder, gonadotropin therapy or pulsatile GnRH therapy should be a treatment option to induce ovulation.

キーワード：GnRH, HPG axis, hypothalamic ovulation disorders, kisspeptin, PPOS

はじめに

近年の生殖医療の発展は目覚ましく、本邦において2020年には約14人に1人が生殖補助医療により誕生している^{1,2)}。また2022年4月には生殖補助医療が保険適用となり、近年発案された様々な新規技術が先進医療として実施されるなど、生殖医療は大きな転換期を迎えている。今や世界各国で広く実施される生殖医療だが、その発展を支えてきたのは、数多くの研究者の探究心と絶え間ない努力による生殖内分泌学の進歩である。生殖医療が転換期を迎えている現在、原点に立ち返って生物が本来持つ機能を学ぶ姿勢が求められる。

本稿では、まず生殖内分泌機構の根幹をなす視床下部-下垂体-卵巣系 (HPG axis) のうち、視床下部神経ペプチドを中心に、生殖機能にかかわる神経内分泌機構の基礎、および栄養代謝やストレスがHPG axisを抑制する機序について我々の研究成果を交えて概説し、それらを臨床応用した生殖医療の技術について最新知見を含め紹介したい。

I 視床下部 - 下垂体 - 卵巣系の基礎 — 視床下部神経ペプチドを中心に —

1. 視床下部-下垂体-卵巣系とGnRHの分泌動態

HPG axisは生殖内分泌機構の根幹をなし、至適卵胞発育と適切な時期での排卵を維持する上で不可欠の役割を果たしている。そのためHPG axisの不調により、月経異常、不妊症など様々な女性生殖機能の障害が生じる。ゴナドトロピン分泌調節機構に関する研究の歴史の一端を表1にまとめた。視床下部の神経細胞で産生されたペプチドホルモンが、下垂体門脈を通じて下垂体前葉に運ばれ下垂体前葉ホルモンの「放出因子」として作用しホルモン分泌を制御するという概念は、1950年前後にHarrisらによって提唱された³⁾。GnRHは10個のアミノ酸から成るペプチドホルモンであり、視床下部のGnRHニューロンで産生され、その神経終末から視床下部正中隆起に存在する下垂体門脈系の一次毛細血管網に直接分泌される。GnRHは下垂体門脈の血流に乗って下垂体前葉の二次毛細血管網に運ばれゴナドトロピ

表1 ゴナドトロピン分泌調節機構に関する研究の歴史
— GnRH・キスペプチンが同定されるまでの道のり —

年	研究成果など
1910年～ 1930年代	下垂体ホルモンの発見・同定
1928	「神経内分泌」の概念を提唱 (Scharrerら)
1950年前後	下垂体後葉の神経内分泌機構の証明 (Bargmannら) 下垂体前葉ホルモン分泌機構の提唱 (Harrisら)
1971	GnRHの構造決定 (Schallyら、Guilleminら)
1977	Schally、Guilleminがノーベル生理学・医学賞を受賞
1980年代	GnRHの分泌機構の解明
1996	<i>Kiss1</i> 遺伝子の発見
2000年代	キスペプチンの同定、機能解明

著者原図

ン分泌細胞に到達すると、細胞膜上に存在するGタンパク共役型のGnRH受容体に結合しゴナドトロピンの分泌を促す。ゴナドトロピンは卵巣で作用し、卵胞発育、排卵、黄体形成を起こす。

GnRH分泌にはパルス状分泌とサージ状分泌の二つの分泌様式があり、それぞれ卵胞発育、排卵に関わっている。GnRHパルス、GnRHサージはそれぞれエストロゲンによるネガティブ、ポジティブフィードバック作用を受ける。視床下部にはキスペプチンを産生する2つのタイプのニューロンが独立して存在し、2種類のフィードバックをそれぞれが仲介しGnRH分泌を制御している(図1)。

2. GnRHパルス

GnRHは脳内の酵素によって分泌後速やかに代謝され、半減期は2～4分と短いため、パルス状の分泌と刺激によって下垂体からのゴナドトロピン分泌を制御している。以前より血中LH濃度はパルス状に変動することが確認されていたが、ヒツジを用いた研究で、下垂体門脈系のGnRH濃度と末梢血管のLH濃度がともにパルス状に変動し、そのタイミングが完全に一致することが示され、LHのパルス状分泌は視床下部からのGnRHパルス状分泌を反映したものであることが明らかとなった⁴⁾。

一方、サルに対して末梢血管からGnRHを投与した研究では、GnRHを1時間に1回という生理的な頻度で投与すると血中ゴナドトロピン濃度が高く維持されたのに対して、投与頻度を1時間に2、3、5回と増やしていくと血中ゴナドトロピン濃度が低下した。このように非生理的な高頻度のGnRHパルスは、逆に下垂体での

GnRHの反応性を低下させる^{5、6)}。この現象は下垂体前葉のゴナドトロピン分泌細胞膜上に存在するGnRH受容体数の減少により、GnRHの反応性が低下した脱感作(ダウンレギュレーション)によるものである。GnRHアゴニストの長期投与による性腺機能の抑制はこの現象を臨床応用したものである。

なお生理的範囲内のGnRHパルスの頻度はLH、FSH分泌比率を変化させる。GnRHパルスが高頻度の状況下(1時間に1回)ではLH分泌が優位となり、低頻度の状況下(3時間に1回)ではFSH分泌が優位となる⁶⁾。FSHの分泌はインヒビンが中心的な役割を担っているが、GnRHパルスの頻度の変化もまた卵胞の発育状況に適したゴナドトロピン分泌比率に寄与し、発育卵胞数を一定に保つ機構の一つと考えられている。

3. GnRHサージ

排卵直前になると血中LH濃度が急激に上昇し、これがきっかけとなって卵の成熟が促進され排卵が惹起される。ヒツジ、サルの実験で、LHサージの時期に、下垂体門脈系のGnRHも同時にサージ状に分泌されることが報告されている⁷⁾。このようにLHサージは、視床下部からのGnRHサージを反映した現象である。

4. キスペプチンによるGnRH分泌制御

キスペプチンは視床下部に発現する神経ペプチドであり、GnRH分泌を促進する作用を持つ。キスペプチンは、げっ歯類では前腹側室周核(anteroventral periventricular nucleus: AVPV)と弓状核(arcuate

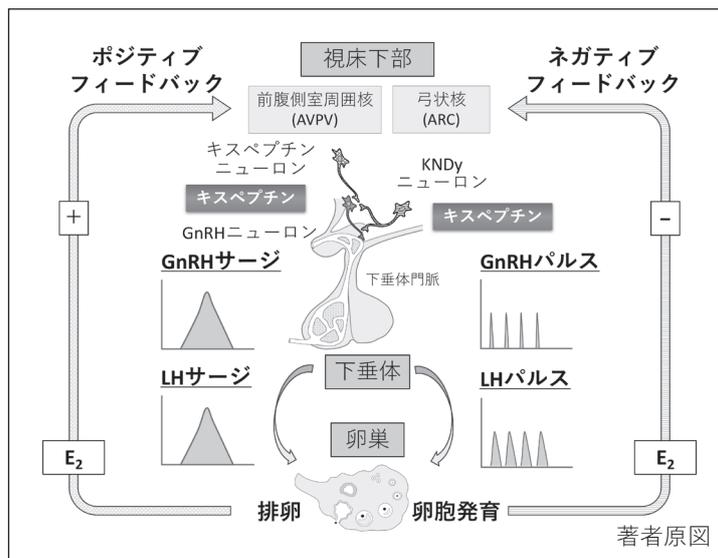


図1 げっ歯類における視床下部 - 下垂体 - 卵巣系

nucleus: ARC)に局在している。ARCに存在するキスペプチンニューロンには、キスペプチン以外にニューロキニンB (NKB) とダイノルフィンA (DynA) という神経ペプチドも共存することから、KNDyニューロンと呼ばれている(図1)⁸⁾。KNDyニューロンにはNKBおよびDynAの受容体が発現しており、NKBはキスペプチン分泌を促進し、DynAは抑制する(図2)⁹⁾。これらの促進的、抑制的制御が協調的に作用することで、キスペプチンの分泌が制御されると考えられている¹⁰⁾。また、視床下部の神経ネットワークにおける間欠的な電気活動がキスペプチンのパルス状分泌を引き起こし、これがGnRHパルス状分泌を誘起する可能性が示唆されている¹¹⁾。

キスペプチンの重要な役割は、種々の情報を統合した上でGnRH分泌を制御することである。キスペプチン産生ニューロンはエストロゲン受容体を有し、エストロゲンによるフィードバックの情報をGnRHニューロンに伝える。GnRHのパルス状分泌(基礎分泌)を制御するARCのKNDyニューロンはネガティブフィードバックを、GnRHのサージ状分泌を制御するAVPVのキスペプチンニューロンはポジティブフィードバックを仲介している(図1)。また、脂肪細胞から分泌されるレプチンに対する受容体も有し、代謝、栄養の情報の多くを統合している。

ゴナドトロピンの分泌様式を制御するGnRHのパルスおよびサージは、それぞれエストロゲンのネガティブおよびポジティブフィードバック作用を受けている。ヒツジに低用量のエストラジオールを投与するとLHのパルス

状分泌の頻度は低下し、高用量のエストラジオールを投与するとGnRHとLHのサージ状分泌が誘起されるなど¹²⁾、GnRHパルス状分泌はエストロゲンからのネガティブフィードバック作用により抑制され、GnRHサージ状分泌はポジティブフィードバック作用により誘起されることが複数の報告において示されている。一方、GnRHニューロン上にはエストロゲン受容体が発現しておらず、エストロゲンはキスペプチンニューロンを介して間接的にGnRH分泌を制御している。げっ歯類において、エストロゲン投与によってAVPVではキスペプチンの発現が高まりGnRH分泌が促進され、逆にARCではキスペプチンの発現が低下しGnRH分泌が低下する^{13, 14)}。このように、エストロゲンのポジティブフィードバック作用はAVPVのキスペプチンニューロンにより介在され、ネガティブフィードバック作用はARCのKNDyニューロンにより介在されることが明らかになった(図1)。

キスペプチンの局在は生物種によって異なり、ヒトにおいては視床下部の視索前野(preoptic area: POA)と漏斗核(infundibular nucleus: IFN)にキスペプチンニューロンが存在している。このうち、げっ歯類のARCに相当するIFNにはKNDyニューロンが存在するが、局在ごとに機能分担しているげっ歯類と異なり、ヒトではこのIFNがエストロゲンからのポジティブおよびネガティブフィードバックのいずれも介在している可能性が指摘されている^{15, 16)}。一方、POAのキスペプチンニューロンの機能については詳細が明らかになっていない(図3)。

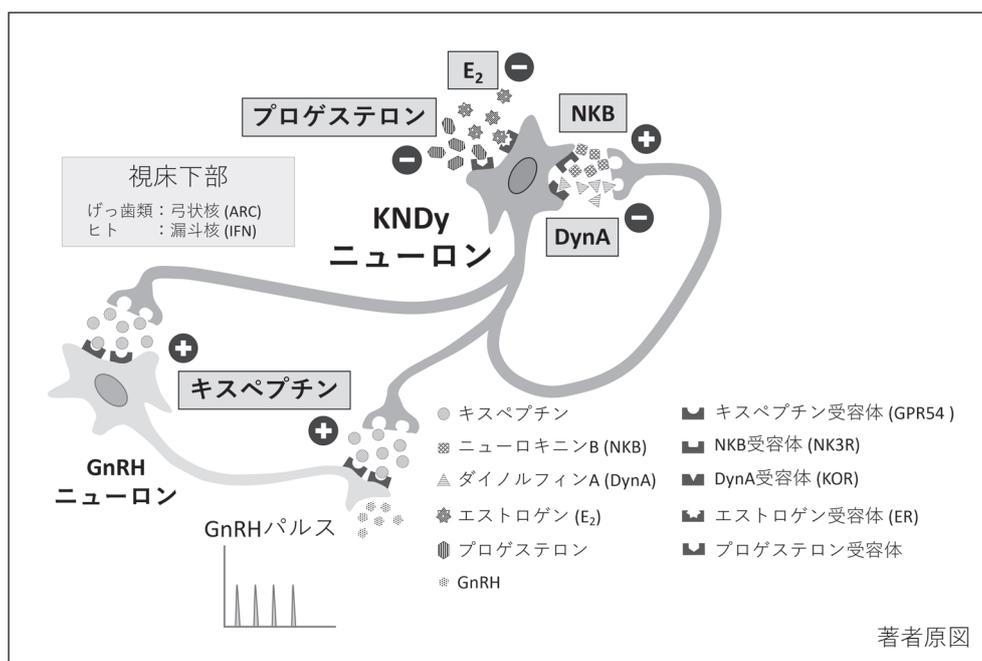


図2 KNDyニューロンによるGnRH分泌の制御機構

5. 栄養代謝・ストレスがHPG axisに与える影響

視床下部性排卵障害の原因として、Kallmann症候群や特発性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症などの遺伝学的要因、および体重減少やストレスなどの機能的要因が挙げられる。後者に関して、我々は低栄養やストレスが生殖機能に及ぼす影響に焦点をあてて研究を行ってきた。我々の研究を含めこれまでの基礎研究で明らかになっていることを図4にまとめた。また視床下部性排

卵障害患者でLHパルス状分泌の頻度が抑制されていることは、視床下部レベルでGnRHのパルス状分泌が抑制されていることを示している(図5)。

続発性無月経の12%はダイエットによる体重減少、2.5%は神経性やせ症によるとされ、更に視床下部性の月経不順に限れば、その38%は体重減少が原因であるとの報告がある^{17,18)}。やせの原因として、神経性やせ症、ダイエット、スポーツ、ストレスなどが挙げられる。このう

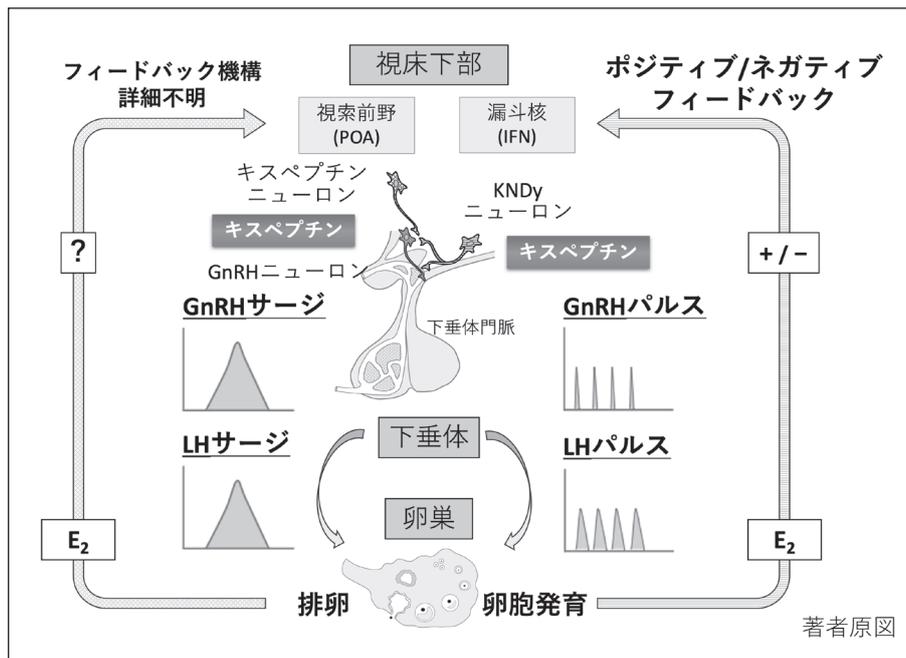


図3 ヒトにおける視床下部-下垂体-卵巢系

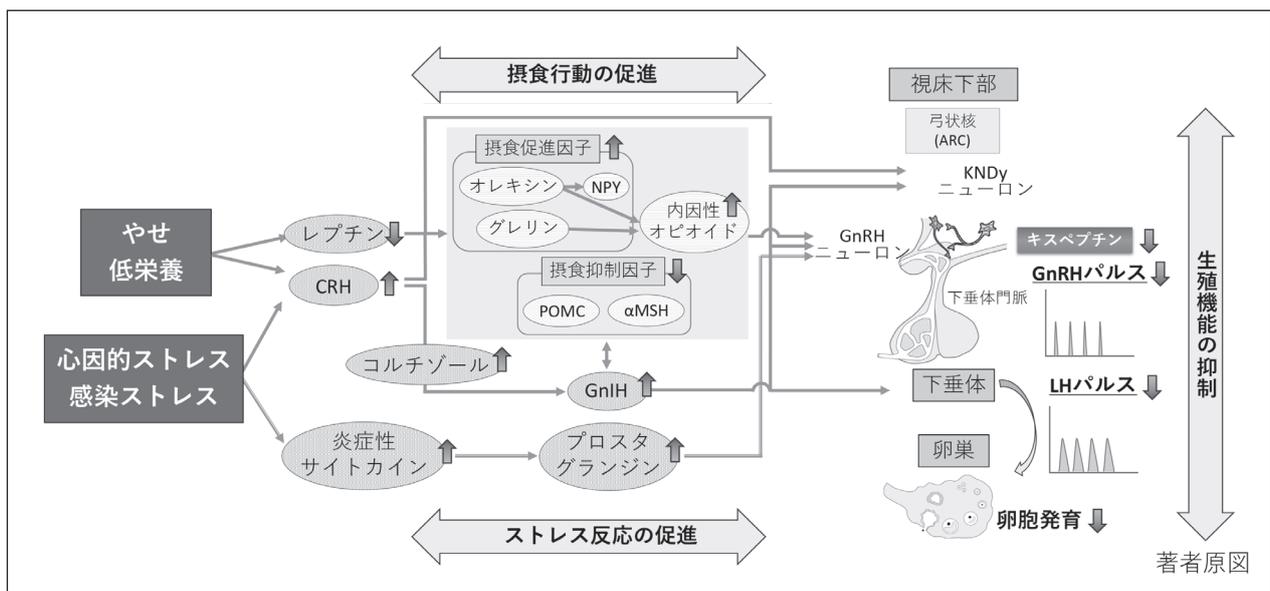


図4 低栄養やストレスが生殖機能に及ぼす影響

ち神経性やせ症患者は1980年代から増加傾向にあり、女子学生(高校3年生)における現在の有病率は0.09~0.43%である¹⁹⁾。更に神経性やせ症患者の66~84%は月経異常を有している^{20, 21)}。月経不順患者において、やせ(BMI<18.5)は正常体型、肥満よりLH、FSH共に有意に低く、中枢性の抑制を示している(図6)。やせが月経不順や排卵障害を引き起こす病態の中心は、HPG axisの中でも「GnRHパルス状分泌の低下」と考えられている。

我々は雌ラットを用い、絶食による性周期の障害やストレスによるGnRH/ゴナドトロピン分泌の抑制にキスペプチンの作用の低下が関わることを明らかにした^{22, 23)}。

さらに、胎生期に低栄養を経験した雌ラットの思春期発来が遅れる現象に、キスペプチン作用の低下が関わる可能性についても報告している²⁴⁾。これらの結果より、低栄養状態ではキスペプチンの発現、作用が低下し、性成熟の遅延や排卵障害に関わることが示唆される。

キスペプチンの他にも、栄養代謝と生殖機能に関連する因子は様々報告されている。ラットの脳室内に摂食促進因子であるニューロペプチドY(NPY)を急速投与するとGnRHパルス状分泌が抑制され、慢性投与すると性周期が障害される^{25, 26)}。我々は摂食促進因子のオレキシンをラットの脳室内に投与するとGnRHパルス状分泌が抑制されること、この抑制作用が内因性オピオイドや

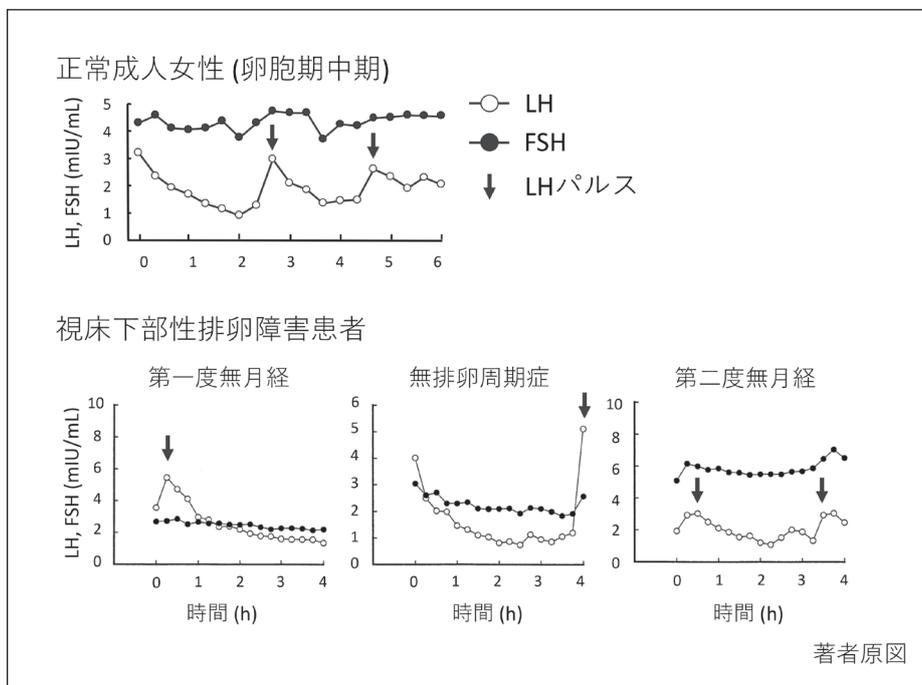


図5 正常成人女性と視床下部性排卵障害患者のLHパルス状分泌の頻度

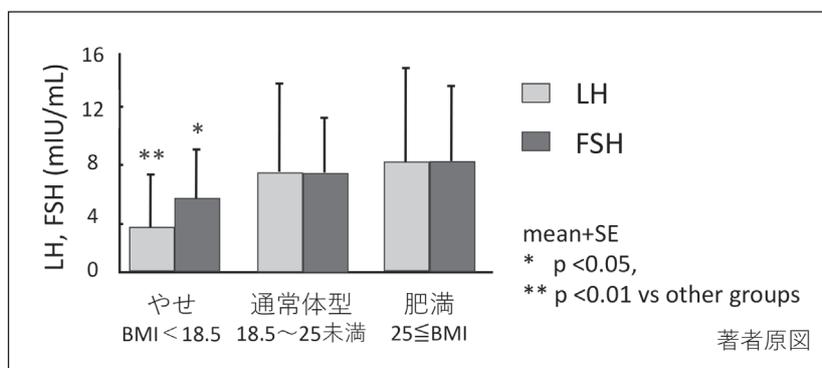


図6 続発性無月経(視床下部性)患者におけるBMI別のLH値、FSH値の比較

NPYを介していることを報告してきた^{27, 28)}。また我々および他のグループの検討により、摂食促進因子のグレリンもGnRHパルス状分泌を抑制し²⁹⁾、この抑制作用が内因性オピオイドを介していることが明らかになった³⁰⁾。以上の結果から、絶食時に発現する摂食促進物質の一部がGnRHのパルス状分泌を抑制し性機能を抑制する神経機構の存在が示唆された。

各種のストレスも生殖機能を抑制する。我々はラットに感染ストレス物質であるLPS (lipopolysaccharide)を投与すると視床下部のKiss1 mRNAの発現が低下し血中LH濃度が低下すること、その作用が炎症性サイトカインを介することを報告し、感染ストレスによる生殖機能の低下に、キスペプチン作用の低下が関わることを初めて明らかにした³¹⁾。

このように、栄養不良状態(negative energy balance)や高度のストレスが負荷された状態では摂食行動やストレス反応が促進される一方で、生殖機能が抑制される神経内分泌学的機序の一端が解明された。これは、危機的状況下においては個の生存に直結する機能の維持が優先され、種の生存に関わる機能は一時的に抑制される適切な生体反応であるという仮説を裏付けるもので、新たな視点から病態を考える上で有用な情報になると思われる(図7)。

II HPG axis に関する生殖内分泌学の臨床応用

1. 調節卵巣刺激におけるGnRHアゴニスト、アンタゴニストの使用

1) 内因性LHサージの抑制

GnRHアゴニストは、ゴナドトロピン分泌に対し、投与初期には促進作用、その後には抑制作用を示す。一方、

GnRHアンタゴニストは、投与日から抑制作用を示す。生殖補助医療では複数の卵子を回収するためにゴナドトロピン製剤により調節卵巣刺激(COS)が行われるが、血中エストラジオールの非生理的上昇により血中LHが上昇すると、回収卵子数が減少し、新鮮胚移植の成績が低下する。hCG投与前の早発LH上昇を防ぐため、GnRHアゴニスト法(ロング法、ショート法)、GnRHアンタゴニスト法が用いられている。

2) トリガーとしてのGnRHアゴニスト

COSでは卵巣への刺激が強く、時に卵巣過剰刺激症候群(ovarian hyperstimulation syndrome: OHSS)をきたす。トリガーのhCGをGnRHアゴニストに変更すると、OHSSの発症率が低下する。この方法は、GnRHアゴニスト法によるCOSには用いることができない。

新鮮胚移植周期において、GnRHアゴニスト投与はhCG投与に比べ、OHSS発症率は低いが、流産率が高く生児獲得率および継続妊娠率は低い。そのため新鮮胚移植を行う症例ではGnRHアゴニスト投与は推奨されないが、OHSSの高リスク症例、着床前診断を予定している症例、がん生殖医療患者など、全胚凍結を前提とした症例ではGnRHアゴニスト投与が推奨される³²⁾。

なお、OHSS防止には、AMH値によるFSHの投与量の個別化、hCG投与後のガベルゴリン、レトロゾール併用、多嚢胞性卵巣症候群でのゴナドトロピン製剤とメトホルミンの併用なども行われている。

2. 新たな調節卵巣刺激法—PPOS法—

1) PPOS法の目的と投与方法

Progestin primed ovarian stimulation(PPOS)法は、生殖補助医療において内因性LHサージの抑制を目的

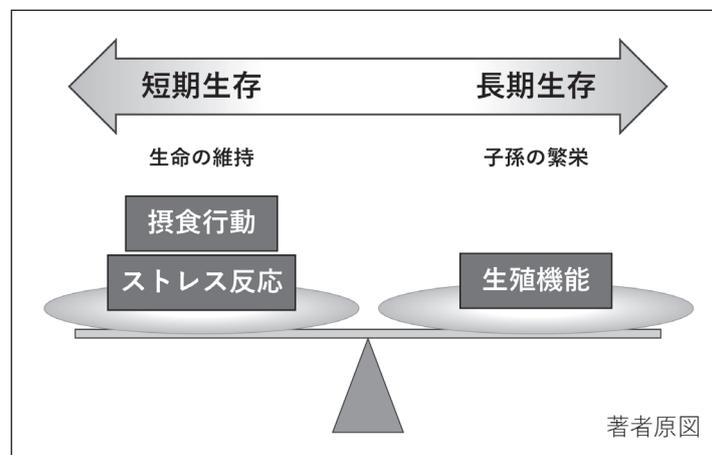


図7 栄養代謝・ストレスと生殖機能のバランス

として卵巣刺激早期よりプロゲステロン製剤を併用する新たな調節卵巣刺激法である。GnRHアゴニスト法（ロング法、ショート法）、GnRHアンタゴニスト法に次ぐ第4の調節卵巣刺激法とされ、2015年にKuangらによって初めて報告された(表2)³³⁾。本法は月経3日目頃よりゴナドトロピン製剤とプロゲステロン製剤の投与を同時に開始し、LHサージを抑制しながら卵胞発育を促す。プロゲステロン製剤の内服は、トリガーの当日または前日まで継続する(図8)。本邦では2022年4月に生殖補助医療が保険適用となったことに伴い、PPOS法も保険収載されたが、使用するプロゲステロン製剤としてはメドロキシプロゲステロン酢酸エステル(medroxyprogesterone acetate:MPA)とジドロゲステロン(dydrogesterone:DYG)が認められている。

2) PPOS法における排卵抑制のメカニズム

Richterらはヒツジを用いて、プロゲステロン投与によってLHサージが抑制されることを2002年に報告し

た³⁴⁾。その詳細なメカニズムについては、キスペプチンが同定されたことで明らかとなった。前章で概説したようにキスペプチンの局在は生物種により異なっており、ヒトではIFNのKNDyニューロンがネガティブフィードバックに加えポジティブフィードバックも介在^{15, 16)}、GnRH/LHサージを誘起している¹²⁻¹⁴⁾。KNDyニューロンにはエストロゲン受容体のみならずプロゲステロン受容体も発現しており、プロゲステロンはキスペプチンと共発現するDynAの活動性を高めることでキスペプチンの上昇ならびにGnRH/LHサージを抑制する(図9)³⁵⁾。

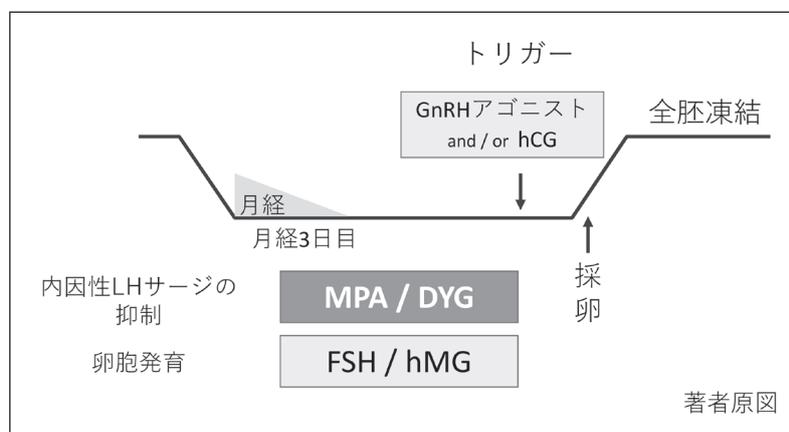
3) PPOS法の臨床成績

PPOS法は、GnRHアゴニスト法、GnRHアンタゴニスト法と比較して、採卵数、臨床妊娠率、生児獲得率は同等であり、OHSSの発症リスクは低い³⁶⁻³⁸⁾。またPPOS法で生まれた児とGnRHアゴニスト法で生まれた児の間に、早産、低出生体重、先天異常の割合に有意差を認めない(表3)³⁹⁾。しかしながら新たな調節卵巣刺

表2 卵巣刺激法の変遷

年	卵巣刺激法の変遷
1978	自然周期 での採卵 →採卵の確実性が乏しい(単一卵胞発育のため)
1981	ゴナドトロピン製剤による 調節卵巣刺激法 →複数卵の採卵が可能に(複数卵胞発育のため) 一方で、内因性LHサージが課題に
1988	GnRHアゴニスト法 (ロング法、ショート法)
1999	GnRHアンタゴニスト法 (日本では2006年～)
2015	PPOS法

著者原図



著者原図

図8 PPOS法のプロトコール

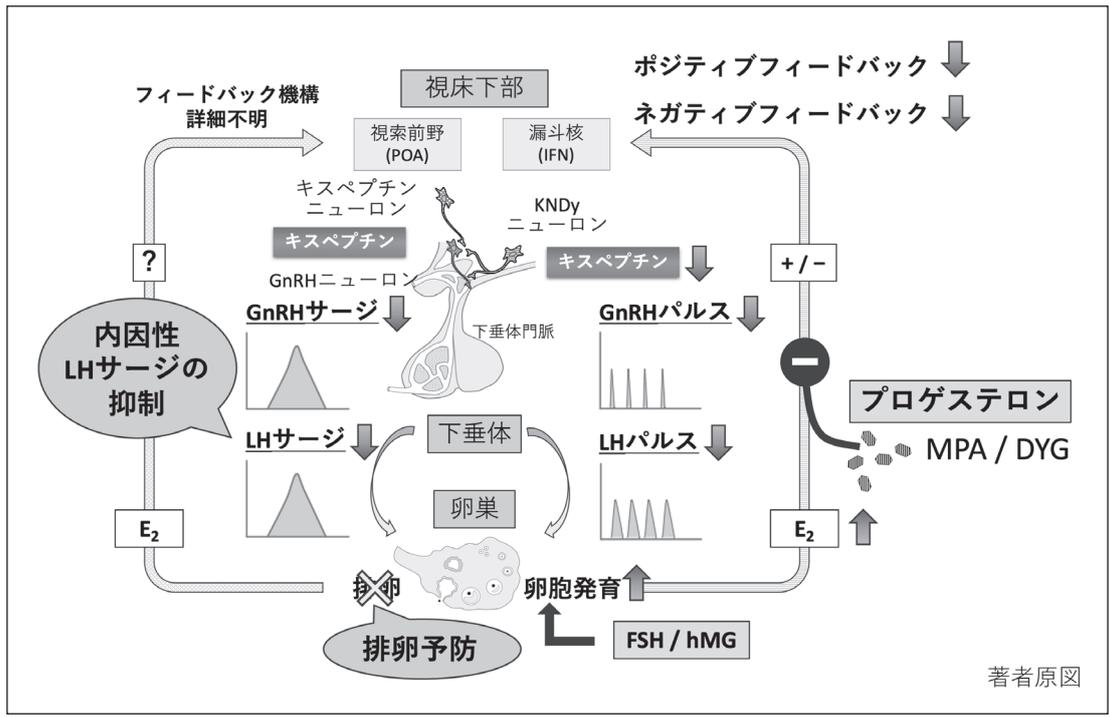


図9 PPOS法の排卵抑制のメカニズム

表3 調節卵巣刺激法の治療成績・安全性の比較

	PPOS法 vs GnRHアンタゴニスト法	PPOS法 vs GnRHアゴニスト法	
治療成績	採卵数 ³⁷⁾ 平均差 (95% 信頼区間)	-0.13 [-0.76, 0.50]	0.61 [-0.03, 1.25]
	胚移植あたりの 臨床的妊娠率 ³⁷⁾ リスク比 (95% 信頼区間)	1.12 [0.91, 1.38]	1.10 [1.00, 1.21]
	胚移植あたりの 生児獲得率または継続妊娠率 ³⁷⁾ リスク比 (95% 信頼区間)	1.15 [0.97, 1.37]	1.06 [0.87, 1.28]
合併症	OHSS発症率 ³⁶⁾ リスク比 (95% 信頼区間)	0.52 [0.36, 0.75] PPOS法 vs 「GnRHアンタゴニスト法またはアゴニスト法」	
	胚移植あたりの 多胎発症率 ³⁷⁾ リスク比 (95% 信頼区間)	1.74 [0.78, 3.92]	0.97 [0.72, 1.29]
妊娠転帰 児の予後	早産率 ³⁹⁾ オッズ比 (95% 信頼区間)	-	0.90 [0.80, 1.02]
	低出生体重児の割合 ³⁹⁾ オッズ比 (95% 信頼区間)	-	1.06 [0.95, 1.18]
	先天異常の割合 ³⁹⁾ オッズ比 (95% 信頼区間)	-	0.92 [0.63, 1.34]

激法であり、有用性、安全性に関する更なるデータの蓄積が望まれる。

プロゲステロン製剤は内服のため通院回数を抑え、注射による疼痛を無くすることができる。更に安価であるため、患者の身体的、経済的負担を軽減することができる。一方で、卵巣刺激の早期より子宮内膜の脱落膜化を起こすため新鮮胚移植は不可能であり全胚凍結を原則とする。近年、がん生殖医療、着床前診断、OHSSの予防など全胚凍結を前提とした治療周期は増加傾向にあり、また凍結融解技術も進歩してきているが、凍結融解胚移植は妊娠高血圧症候群、癒着胎盤等のリスクが高いことに留意する必要がある^{40, 41)}。PPOS法と従来の調節卵巣刺激法の特徴を表4にまとめた³⁶⁻³⁸⁾。それぞれの特徴を十分に理解した上で、症例ごとに病因・病態、社会的背景を加味して最適の調節卵巣刺激法を選択することが重要である。

3. 視床下部性排卵障害の管理・治療法

1) 体重減少性無月経の管理・治療法

体重減少性無月経、ストレス性無月経など機能性視床下部性排卵障害患者では、まずその誘因を取り除くことが第一選択となる。また挙児希望がある場合は、HPG axisを十分に理解した上で排卵を回復または誘発する。

やせによる月経不順や排卵障害は生体防御反応の一環として起こっているため、治療方針としてまず体重回復に努めることが肝要である。実際、標準体重の90%まで

体重が回復した場合、単純性体重減少性無月経の100%、神経性やせ症の86%で月経が再開すると報告されている(表5)⁴²⁻⁴⁸⁾。標準体重の70%以下の症例では、低栄養状態の悪化、貧血の助長、重篤な合併症の発症などのリスクを考慮し、消退出血を起こすホルモン療法は控えるべきである。一方、体重回復期で標準体重の70%を超えても月経が発来しない症例では、ホルモン療法を考慮する。また挙児希望のある症例では、標準体重の80%を超えた時点での排卵誘発の開始が望ましい。低体重を改善しないまま妊娠した場合、早産のリスクが2~4倍に上昇し、流産、低出生体重児、および産後うつ病の発症リスクも上昇し、養育態度の問題をきたすことも多いとされるため、まずは妊娠に向けて体重の回復に努めることが重要である^{49, 50)}。

2) 視床下部性排卵障害に対する不妊治療

①不妊治療の方針

視床下部性排卵障害患者の管理・治療法は、その原因や挙児希望の有無によって大きく異なる。体重減少やストレスなどの誘因があれば、それを解消することが必要かつ有効である。上述のように、誘因がなく挙児希望がある場合などに排卵誘発を行う。視床下部性排卵障害患者では、GnRH分泌低下に伴いゴナドトロピン分泌も低下し卵胞発育が得られない。そのため挙児希望の場合は、GnRHまたはゴナドトロピンを投与し排卵誘発を行う必要がある。

表4 調節卵巣刺激法の特徴の比較

	PPOS法	GnRHアンタゴニスト法	GnRHアゴニスト法 ロング法	GnRHアゴニスト法 ショート法
メリット	<ul style="list-style-type: none"> OHSSの発症リスク低く、重症化しにくい 内因性LHサージの強い抑制→採卵キャンセルが少ない、通院回数が少ない(時間的負担の軽減) 安価な内服薬(経済的・身体的負担の軽減) 	<ul style="list-style-type: none"> OHSSの発症リスク低く、重症化しにくい 新鮮胚移植ができる ゴナドトロピン投与量が少ない(アゴニスト法より) 	<ul style="list-style-type: none"> 治療スケジュールの調節性に優れる 発育卵胞径が均一 内因性LHサージの強い抑制→採卵キャンセルが少ない、通院回数が少ない 点鼻は簡便である 	<ul style="list-style-type: none"> GnRHアゴニスト開始時のflare up効果あり→卵巣刺激が強い 内因性LHサージの強い抑制→採卵キャンセルが少ない、通院回数が少ない ゴナドトロピン投与量が少ない(ロング法より) 点鼻は簡便である
デメリット	<ul style="list-style-type: none"> 新鮮胚移植ができない(全胚凍結) 発育卵胞径が不均一 新しい治療法でありデータが十分でない 	<ul style="list-style-type: none"> アンタゴニスト開始のタイミングの判断が難しい 来院回数が多い 治療スケジュールの調節性に劣る 高価である 発育卵胞径が不均一 	<ul style="list-style-type: none"> OHSS発症リスクが高い ゴナドトロピン投与量が多い 血中濃度が不安定 	<ul style="list-style-type: none"> OHSS発症リスクが高い 発育卵胞径が不均一 血中濃度が不安定
良い適応症例	<ul style="list-style-type: none"> OHSSの高リスク症例 全胚凍結予定(PGT、がん生殖など) 	<ul style="list-style-type: none"> OHSSの高リスク症例 新鮮胚移植を予定している症例 	<ul style="list-style-type: none"> 大きめで採卵する必要がある症例 	<ul style="list-style-type: none"> 卵巣予備能が十分あり、かつ他の調節卵巣刺激法で反応不良である症例

著者原稿

表5 体重減少、ストレスなどによる機能的視床下部性排卵障害患者の月経回復率

報告者 (報告年)	対象患者	患者数	観察期間	月経回復率など
Goldenら ⁴²⁾ (1997年)	神経性やせ症	100人	2年間	・月経回復率 86% (1年間では68%) ・標準体重の約92%まで体重増加(+2.05kgの体重増加)により月経再開 ・体重回復から6ヶ月以内に月経再開
Perkinsら ⁴³⁾ (2001年)	機能的視床下部性 排卵障害患者	摂食障害: 15人 ストレス: 6人 特発性: 7人	1-3年間	・原因別の月経回復率 摂食障害/ストレス性: 71% (原因がなくなれば83%) 特発性: 29%
Falsettiら ⁴⁴⁾ (2002年)	機能的視床下部性 排卵障害患者	体重減少: 49人 ストレス: 38人 スポーツ: 6人	7-9年間	・月経回復率 70.7% (体重増加症例では100%)
Jacoangeliら ⁴⁵⁾ (2006年)	神経性やせ症	250人	-	・体重回復後も月経回復しなかった症例は14%のみ
Dempfleら ⁴⁶⁾ (2013年)	神経性やせ症	172人 うち解析対象は 152人	1年間	・月経回復率 47% ・月経回復症例はEBW(年齢調整されたBMI中央値)の約91%まで体重増加 ・月経回復しなかった症例はEBWの約86%まで体重増加 ・BMIが“1”低下すると無月経が持続する確率が2倍 (OR=1.94) ・体重増加と月経再開には強い相関関係あり (p=0.0003) ・月経回復しなかった80例のうち30例は初経前/原発性無月経
Ghochら ⁴⁷⁾ (2016年)	神経性やせ症	54人	1年間	・月経回復率 35% ・体脂肪率が高いと月経再開率も高い (オッズ比 1.14、95% 信頼区間 1.001-1.303、p=0.049)
Castelliniら ⁴⁸⁾ (2020年)	神経性やせ症	50人	4年間	・月経回復率 58%

著者原図

②ゴナドトロピン療法, 生殖補助医療

ゴナドトロピン製剤は閉経後婦人科尿由来のhMG製剤/FSH製剤と遺伝子組み換え型ヒトFSH製剤(recombinant FSH: rFSH)に大別されるが, 低ゴナドトロピン性の排卵障害を有する患者に対しては, LH活性を含むhMG製剤が適している⁵¹⁾。一方, rFSHは自己注射が可能で利便性に富むが, LHは含まれておらず, 血中エストロゲン濃度の上昇や卵胞発育が得られるまでに多くの投与量と時間を要する⁵²⁾。

ゴナドトロピン製剤による排卵誘発では多数の卵胞が発育しやすく多胎発生, OHSS発症のリスクが高まるが, 中枢性の第二度無月経例では発育卵胞数のコントロールが困難でARTへの早期移行を余儀なくされる場面をしばしば経験する。低ゴナドトロピン性の排卵障害患者に対してARTを行った場合, 卵巣刺激期間は長く, ゴナドトロピン使用量も多くなる傾向にあるが, 採卵数や妊娠率は一般治療群と比べて差異がない⁵³⁾。また, 同患者に対して胚移植を行う場合は, ホルモン補充周期での凍結融解胚移植を選択するか, 十分な黄体補充のもと新鮮移植を行う必要がある⁵⁴⁾。

③GnRHパルス療法

GnRH製剤(酢酸ゴナドレリン)を携帯型の自動間歇注入ポンプを用いてパルス状に投与する「GnRHパルス療法」がある。本法は月経5日目頃より, 1回量10または20 μ g/25 μ lの酢酸ゴナドレリンを120分ごとに自動注入ポンプを用いて下腹部皮下に投与する。ポンプ装着日数を減らすためにhCGの投与を考慮する(図10)。本法は, Kallmann症候群や特発性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症などのゴナドトロピン単独欠損症や, 視床下部器質性障害, 成長ホルモン分泌不全性低身長症(ゴナドトロピン分泌不全を伴う)に適応があるが, 単に排卵誘発を目的として使用しないことになっている。しかし, 挙児希望のある患者の性腺機能を回復させる目的で治療した結果, 排卵が起きるので不妊治療に応用できる。我々は上記の適応患者に対し, hCGを用いてポンプ装着日数を短縮し実施してきた。LHパルス頻度は上昇し, 発育卵胞数(径14mm以上のデータ)は1.38 \pm 0.13個, 周期別排卵率は89~100%, 周期別妊娠率は27%であった(図11, 表6)⁵⁵⁾。本邦は単一卵胞発育率が高く, 自動注入ポンプによる皮下投与のため通院回数が少ないが, 投与期間中は常にポンプを装着しなければならず, また薬価が高く保険適応が一部の疾患に限られる。

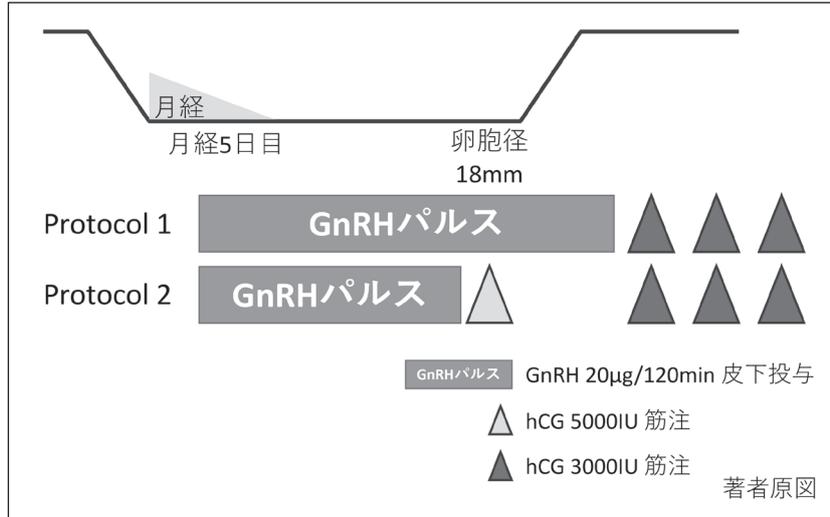


図 10 GnRH パルス療法のプロトコール

表 6 : GnRH パルス療法の治療成績

	症例数 (例)	卵胞成熟に 要した日数 (日)	ポンプ装着 日数 (日)	排卵期E ₂ (pg/mL)	排卵率 (%)	发育卵胞数 (個)
Protocol 1	9	9.6 ± 0.5	14.1 ± 1.1	567 ± 81	89	1.38 ± 0.13
Protocol 2	7	9.6 ± 1.1		482 ± 91	100	

mean ± SE

Matsuzaki T et al., 1994から一部改変

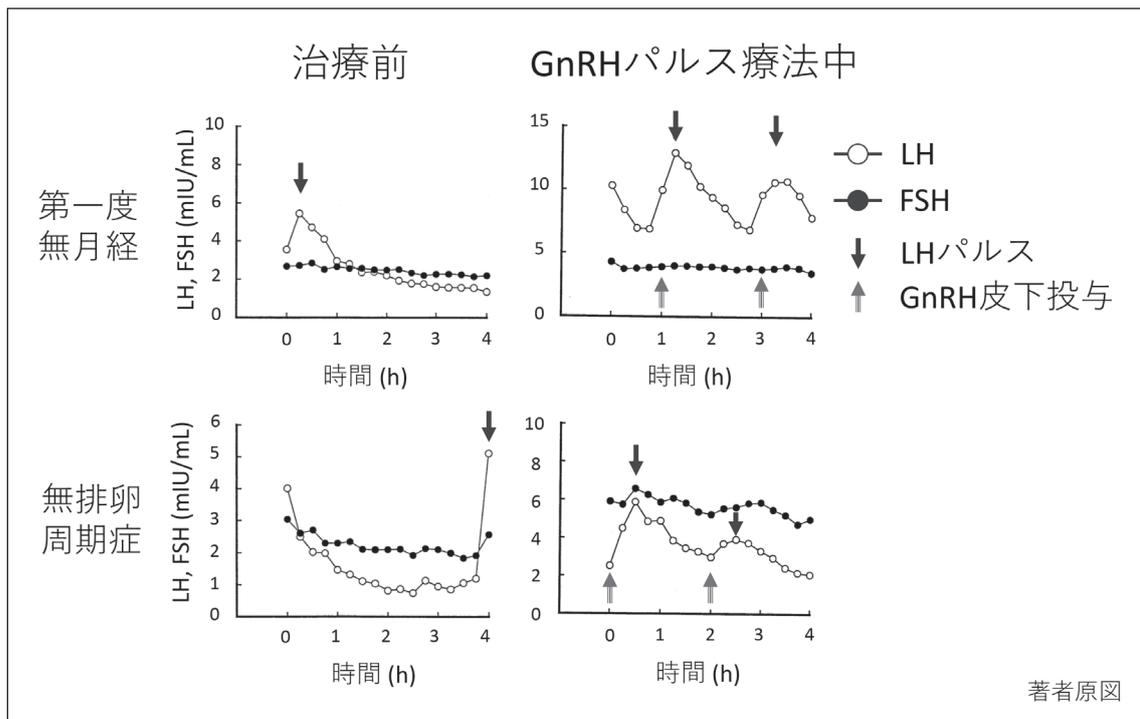


図 11 視床下部性排卵障害患者における治療前および GnRH パルス療法中の LH のパルス状分泌の頻度

おわりに

生殖内分泌機構の根幹をなすHPG axisにおける神経内分泌機構の基礎から最新知見について、視床下部神経ペプチドを中心に概説した。1971年にGnRHが同定されて以降、その分泌動態や制御機構が解明され、生殖医療の分野ではGnRHアゴニストやアンタゴニスト、更に性腺ホルモンのフィードバック作用を組み合わせることでGnRH分泌を自在に制御することが可能となった。生殖医療従事者として、生体機能を正しく理解し、生殖内分泌に関する知識を持ち合わせておくことは重要と考えられる。

参考文献

- 1) Katagiri Y, Jwa SC, Kuwahara A, Iwasa T, Ono M, Kato K, Kishi H, Kuwabara Y, Harada M, Hamatani T, Osuga Y: Assisted reproductive technology in Japan: A summary report for 2020 by the ethics Committee of the Japan Society of obstetrics and gynecology. *Reprod Med Biol*, 22: e12494, 2023.
- 2) 厚生労働省. 令和2年(2020)人口動態統計(確定数)の概況. 2022. <https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/kakutei20/index.html>, (2023.4.30)
- 3) Harris GW: Neural Control of The Pituitary Gland. *Physiol Rev*, 28: 139-179, 1948.
- 4) Moenter SM, Brand RM, Midgley AR, Karsch FJ: Dynamics of gonadotropin-releasing hormone release during a pulse. *Endocrinology*, 130: 503-510, 1992.
- 5) Belchetz PE, Plant TM, Nakai Y, Keogh EJ, Knobil E: Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. *Science*, 202: 631-633, 1978.
- 6) Wildt L, Häusler A, Marshall G, Hutchison JS, Plant TM, Belchetz PE, Knobil E: Frequency and amplitude of gonadotropin-releasing hormone stimulation and gonadotropin secretion in the rhesus monkey. *Endocrinology*, 109: 376-385, 1981.
- 7) Moenter SM, Caraty A, Locatelli A, Karsch FJ: Pattern of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion leading up to ovulation in the ewe: existence of a preovulatory GnRH surge. *Endocrinology*, 129: 1175-1182, 1991.
- 8) Murakawa H, Iwata K, Takeshita T, Ozawa H: Immunoelectron microscopic observation of the subcellular localization of kisspeptin, neurokinin B and dynorphin A in KNDy neurons in the arcuate nucleus of the female rat. *Neurosci Lett*, 612: 161-166, 2016.
- 9) Wakabayashi Y, Nakada T, Murata K, Ohkura S, Mogi K, Navarro VM, Clifton DK, Mori Y, Tsukamura H, Maeda K, Steiner RA, Okamura H: Neurokinin B and dynorphin A in kisspeptin neurons of the arcuate nucleus participate in generation of periodic oscillation of neural activity driving pulsatile gonadotropin-releasing hormone secretion in the goat. *J Neurosci*, 30: 3124-3132, 2010.
- 10) Uenoyama Y, Nagae M, Tsuchida H, Inoue N, Tsukamura H: Role of KNDy neurons expressing kisspeptin, neurokinin B, and dynorphin A as a GnRH pulse generator controlling mammalian reproduction. *Front. Endocrinol*, 12: 1-12, 2021.
- 11) Ohkura S, Takase K, Matsuyama S, Mogi K, Ichimaru T, Wakabayashi Y, Uenoyama Y, Mori Y, Steiner RA, Tsukamura H, Maeda KI, Okamura H: Gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in the hypothalamus of the goat. *J Neuroendocrinol*, 21: 813-821, 2009.
- 12) Goodman RL, Bittman EL, Foster DL, Karsch FJ: Alterations in the control of luteinizing hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. *Biol. Reprod*, 27: 580-589, 1982.
- 13) Adachi S, Yamada S, Takatsu Y, Matsui H, Kinoshita M, Takase K, Sugiura H, Ohtaki T, Matsumoto H, Uenoyama Y, Tsukamura H, Inoue K, Maeda K: Involvement of anteroventral periventricular metastin/kisspeptin neurons in estrogen positive feedback action on luteinizing hormone release in female rats. *J Reprod Dev*, 53: 367-378, 2007.
- 14) Kauffman AS: Gonadal and nongonadal regulation of sex differences in hypothalamic Kiss1 neurones. *J Neuroendocrinol*, 22: 682-691, 2010.
- 15) Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kaneshashi K, Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Masuda Y, Ishibashi Y, Watanabe T, Asada M, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Usuki S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M: Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*, 411: 613-617, 2001.
- 16) Ramaswamy S, Guerriero KA, Gibbs RB, Plant TM: Structural interactions between kisspeptin and GnRH neurons in the mediobasal hypothalamus of the male rhesus monkey (*Macaca mulatta*) as revealed by double immunofluorescence and confocal microscopy. *Endocrinology*, 149: 4387-4395, 2008.
- 17) 日本産科婦人科学会生殖・内分泌委員会報告：思春期における続発性無月経の病態と治療に関する小委員会 18歳以下の続発性無月経に関するアンケート調査－第1度無月経と第2度無月経の比較を中心として－. *日産婦誌*, 51: 755-761, 1999.
- 18) 岩佐武, 松崎利也, 苛原稔: 体重減少性無月経および神経性食欲不振症の診断と治療. 杉山徹・大須賀穰・宮城悦子編, 婦人科診療ハンドブック, pp29-34, 中外医学社, 2014.
- 19) Hotta M, Horikawa R, Mabe H, Yokoyama S, Sugiyama E, Yonekawa T, Nakazato M, Okamoto Y, Ohara C, Ogawa Y: Epidemiology of anorexia nervosa in Japanese adolescents. *Biopsychosoc Med*, 9: 1-6, 2015.
- 20) Pinheiro AP, Thornton LM, Plotnicov KH, Tozzi F, Klump KL, Berrettini WH, Brandt H, Crawford S, Crow S, Fichter MM, Goldman D, Halmi KA, Johnson C, Kaplan AS, Keel P, LaVia M, Mitchell J, Rotondo A, Strober M, Treasure J, Woodside DB, Holle AV, Hamer R, Kaye WH, Bulik CM: Patterns of menstrual disturbance in eating disorders. *Int J Eat Disord*, 40: 424-434, 2007.

- 21) Abraham SF, Pettigrew B, Boyd C, Russell J, Taylor A: Usefulness of amenorrhoea in the diagnoses of eating disorder patients. *J Psychosom Obstet Gynaecol*, 26: 211-215, 2005.
- 22) Matsuzaki T, Iwasa T, Kinouchi R, Yoshida S, Murakami M, Gereltsetseg G, Yamamoto S, Kuwahara A, Yasui T, Irahara M: Fasting reduces the kiss1 mRNA levels in the caudal hypothalamus of gonadally intact adult female rats. *Endocr J*, 58: 1003-1012, 2011.
- 23) Iwasa T, Matsuzaki T, Tungalagsuvd A, Munkhzaya M, Kawami T, Niki H, Kato T, Kuwahara A, Uemura H, Yasui T, Irahara M: Hypothalamic Kiss1 and RFRP gene expressions are changed by a high dose of lipopolysaccharide in female rats. *Horm Behav*, 66: 309-316, 2014.
- 24) Matsuzaki T, Tungalagsuvd A, Iwasa T, Munkhzaya M, Yanagihara R, Tokui T, Yano K, Mayila Y, Kato T, Kuwahara A, Matsui S, Irahara M: Kisspeptin mRNA expression is increased in the posterior hypothalamus in the rat model of polycystic ovary syndrome. *Endocr J*, 64: 7-14, 2017.
- 25) McDonald JK, Lumpkin MD, Depaolo LV: Neuropeptide-Y suppresses pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized rats: possible site of action. *Endocrinology*, 125: 186-191, 1989.
- 26) Catzefflis C, Pierroz DD, Rohnerjeanrenaud F, Rivier JE, Sizonenko PC, Aubert ML: Neuropeptide - Y administered chronically into the lateral ventricle profoundly inhibits both the gonadotropic and the somatotrophic axis in intact adult female rats. *Endocrinology*, 132: 224-234, 1993.
- 27) Tamura T, Irahara M, Tezuka M, Kiyokawa M, Aono T: Orexins, orexigenic hypothalamic neuropeptides, suppress the pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized female rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 264: 759-762, 1999.
- 28) Irahara M, Tamura T, Matsuzaki T, Saito S, Yasui T, Yamano S, Kamada M, Aono T: Orexin-A suppresses the pulsatile secretion of luteinizing hormone via β -endorphin. *Biochem Biophys Res Commun*, 281: 232-236, 2001.
- 29) Furuta M, Funabashi T, Kimura F: Intracerebroventricular administration of ghrelin rapidly suppresses pulsatile luteinizing hormone secretion in ovariectomized rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 288: 780-785, 2001.
- 30) Ogata R, Matsuzaki T, Iwasa T, Kiyokawa M, Tanaka M, Kuwahara A, Yasui T, Irahara M: Hypothalamic ghrelin suppresses pulsatile secretion of luteinizing hormone via β -endorphin in ovariectomized rats. *Neuroendocrinology*, 90: 364-370, 2009.
- 31) Iwasa T, Matsuzaki T, Murakami M, Shimizu F, Kuwahara A, Yasui T, Irahara M: Decreased expression of kisspeptin mediates acute immune/inflammatory stress-induced suppression of gonadotropin secretion in female rat. *J Endocrinol Invest*, 31: 656-659, 2008.
- 32) Youssef MA, Van der Veen F, Al-Inany HG, Mochtar MH, Griesinger G, Nagi Mohesen M, Aboufoutouh I, van Wely M: Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev*, 31: 2014: CD008046.
- 33) Kuang Y, Chen Q, Fu Y, Wang Y, Hong Q, Lyu Q, Ai A, Shoham Z: Medroxyprogesterone acetate is an effective oral alternative for preventing premature luteinizing hormone surges in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 104: 62-70, 2015.
- 34) Richter TA, Robinson JE, Evans NP: Progesterone blocks the estradiol-stimulated luteinizing hormone surge by disrupting activation in response to a stimulatory estradiol signal in the ewe. *Biol Reprod*, 67: 119-125, 2002.
- 35) Smith JT, Clay CM, Caraty A, Clarke IJ: KiSS-1 messenger ribonucleic acid expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season. *Endocrinology*, 148: 1150-1157, 2007.
- 36) Cui L, Lin Y, Wang F, Chen C: Effectiveness of progesterone-primed ovarian stimulation in assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*, 303: 615-630, 2021.
- 37) Ata B, Capuzzo M, Turkgeldi E, Yildiz S, La Marca A: Progestins for pituitary suppression during ovarian stimulation for ART: A comprehensive and systematic review including meta-analyses. *Hum Reprod Update*, 27: 48-66, 2021.
- 38) Alexandru P, Cekic SG, Yildiz S, Turkgeldi E, Ata B: Progestins versus GnRH analogues for pituitary suppression during ovarian stimulation for assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*, 40: 894-903, 2020.
- 39) Zolfaroli I, Ferriol GA, Mora JH, Cano A: Impact of progestin ovarian stimulation on newborn outcomes: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*, 37: 1203-1212, 2020.
- 40) Roque M, Valle M, Sampaio M, Geber S: Obstetric outcomes after fresh versus frozen-thawed embryo transfers: a systematic review and meta-analysis. *JBRA Assist Reprod*, 22: 253-260, 2018.
- 41) Saito K, Kuwahara A, Ishikawa T, Saito H, Morisaki N, Miyado M, Miyado K, Fukami M, Miyasaka N, Ishihara O, Irahara M, Saito H: Endometrial preparation methods for frozen-thawed embryo transfer are associated with altered risks of hypertensive disorders of pregnancy, placenta accreta, and gestational diabetes mellitus. *Hum Reprod*, 34: 1567-1575, 2019.
- 42) Golden NH, Jacobson MS, Schebendach J, Solanto MV, Hertz SM, Shenker IR: Resumption of menses in anorexia nervosa. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 151: 16-21, 1997.
- 43) Perkins RB, Hall JE, Martin KA: Aetiology, previous menstrual function and patterns of neuro-endocrine disturbance as prognostic indicators in hypothalamic amenorrhoea. *Hum Reprod*, 16: 2198-2205, 2001.
- 44) Falsetti L, Gambera A, Barbetti L, Specchia C: Long-term follow-up of functional hypothalamic amenorrhoea and prognostic factors. *J Clin Endocrinol Metab*, 87: 500-505, 2002.
- 45) Jacoangeli F, Masala S, Staar Mezzasalma F, Fiori R, Martinetti A, Ficoneri C, Novi B, Pierangeli S, Marchetti G, Simonetti G, Bollea MR: Amenorrhoea after weight

- recover in anorexia nervosa: role of body composition and endocrine abnormalities. *Eat Weight Disord*, 11: 20-26, 2006.
- 46) Dempfle A, Herpertz-Dahlmann B, Timmesfeld N, Schwarte R, Egberts KM, Pfeiffer E, Fleischhaker C, Wewetzer C, Bühren K: Predictors of the resumption of menses in adolescent anorexia nervosa. *BMC Psychiatry*, 13: 308, 2013.
 - 47) Ghoch ME, Calugi S, Chignola E, Bazzani PV, Grave RD: Body fat and menstrual resumption in adult females with anorexia nervosa: a 1-year longitudinal study. *J Hum Nutr Diet*, 29: 662-666, 2016.
 - 48) Castellini G, Rossi E, Cassioli E, Giardinelli L, Fanelli A, Fisher AD, Vignozzi L, Ricca V: Predictors of Resumption of Menses in Anorexia Nervosa: A 4-Year Longitudinal Study. *Psychosom Med*, 82: 782-786, 2020.
 - 49) Solid CP, Wisborg K, Hjort J, Secher NJ: Eating disorder that was diagnosed before pregnancy and pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol*, 190: 206-210, 2004.
 - 50) Gordon CM, Ackerman KE, Berga SL, Kaplan JR, Mastorakos G, Misra M, Murad MH, Santoro NF, Warren MP: Functional hypothalamic amenorrhea: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 102: 1413-1439, 2017.
 - 51) Papaleo E, Alviggo C, Colombo GL, Pisanelli C, Ripellino C, Longobardi S, Canonico PL: Cost-effectiveness analysis on the use of rFSH + rLH for the treatment of anovulation in hypogonadotropic hypogonadal women. *Ther Clin Risk Manag*, 10: 479-484, 2014.
 - 52) Balasch J, Fabregues F, Carmona F, Casamitjana R, Tena-Sempere M: Ovarian luteinizing hormone priming preceding follicle-stimulating hormone stimulation: clinical and endocrine effects in women with long-term hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab*, 94: 2367-2373, 2009.
 - 53) Yilmaz S, Ozgu-Erdinc AS, Yumusak O, Kahyaoglu S, Seckin B, Yilmaz N: The reproductive outcome of women with hypogonadotropic hypogonadism undergoing in vitro fertilization. *Syst Biol Reprod Med*, 61: 228-232, 2015.
 - 54) Kuroda K, Ezo K, Kato K, Yabuuchi A, Segawa T, Kobayashi T, Ochiai A, Katoh N, Takeda S: Infertility treatment strategy involving combined freeze-all embryos and single vitrified-warmed embryo transfer during hormonal replacement cycle for in vitro fertilization of women with hypogonadotropic hypogonadism. *J Obstet Gynaecol Res*, 44: 922-928, 2018.
 - 55) Matsuzaki T, Azuma K, Irahara M, Yasui T, Aono T: Mechanism of anovulation in hyperprolactinemic amenorrhea determined by pulsatile gonadotropin-releasing hormone injection combined with human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril*, 62: 1143-1149, 1994.

下垂体

Impact of pituitary hormones in assisted reproductive technology.

折出 亜希, 金崎 春彦

島根大学医学部産科婦人科 島根県出雲市塩冶町 89-1

要旨： 現在の生殖医療の進歩は視床下部-下垂体-卵巣軸を調節するホルモン研究の成果と、その結果開発された薬剤によるところは大きい。1920年代には実験動物の下垂体切除や下垂体移植の実験から卵巣機能は下垂体によって制御されていることが明らかとなっており、1930年代には妊娠馬血中から発見されたゴナドトロピンが不妊治療に使用された。その後ヒトのゴナドトロピンが抽出・精製できるようになり、現在hMG製剤が広く使用されている。本稿ではゴナドトロピン製剤の開発の歴史および現在について、またゴナドトロピン産生・分泌機序に関する基礎研究について紹介する。

英文要旨： Current advances in reproductive medicine are largely due to the results of hormone research regulating the hypothalamic-pituitary-ovarian axis and the drugs developed as results of these research. In the 1920s, hypophysectomy and pituitary transplantation experiments with laboratory animals demonstrated that ovarian function was controlled by the pituitary gland, and in the 1930s pregnant mares' serum gonadotropin was used to treat infertility. After that, human gonadotropin preparations could be extracted and purified, and hMG are currently widely used. This manuscript describes the history of the development and present status of gonadotropin preparations, and basic research on the mechanisms of gonadotropin production and secretion.

下垂体前葉から分泌される性腺刺激ホルモン(ゴナドトロピン)には卵胞刺激ホルモン(Follicle-stimulating hormone: FSH) 黄体化ホルモン(Luteinizing hormone: LH)があり、生殖機能を制御する上で重要な役割を果たしている。

様々な動物の下垂体切除及び下垂体移植の実験から、卵巣機能が下垂体によって調節されていることは1920年代には明らかになっていた。1930年にZondekは、下垂体が生殖腺を刺激する2つのホルモンを分泌し、ProlanAが卵胞の発育を刺激し、ProlanBが排卵、黄体の形成を誘発するという仮説を提唱した¹⁾。また1930年代には初期妊娠馬血中からゴナドトロピン作用をもつ物質が発見され、pregnant mares' serum gonadotropin (PMSG) と名付けられた。その後PMSGは1930年後半から不妊患者の治療に使用されたが、異種タンパクであるため抗体が産生され、反復投与で効果が消失するものであった²⁾。そのためヒトからのゴナドトロピン抽出と精製に向けた

研究が盛んに行われるようになり、1958年にはヒト下垂体から抽出されたゴナドトロピンが臨床応用された³⁾。しかし持続的な供給は困難であり、1960年にLunenfeldらが閉経期女性尿からヒト閉経期ゴナドトロピン(human menopausal gonadotropin: hMG)を精製し治療に用いて以降⁴⁾ゴナドトロピンが広く排卵誘発剤として使用されるようになった。1960年代には化学物質の精製技術が向上し、ゴナドトロピンの単離抽出・化学的構造決定がなされ、ゴナドトロピンの分泌様式や生理作用についての研究も進歩した。

LH, FSHはゴナドトロピンの生物学的特異性を決定する共通の α サブユニット(α glycoprotein subunit)と異なる β サブユニット(FSH β またはLH β)の2つのサブユニットで構成される糖タンパク質二量体である。 α サブユニットはLH, FSH, 甲状腺刺激ホルモン(Thyroid stimulating hormone: TSH), ヒト絨毛性ゴナドトロピン(Human chorionic gonadotropin: hCG)で共通である。個々のサブユニット単体では活性

を持たず、 α 、 β サブユニット二量体形成により生物学的作用を示す⁵⁾。

ゴナドトロピンは主に視床下部から放出される(Gonadotropin releasing hormone: GnRH)によって、下垂体前葉ゴナドトロピン産生細胞から産生・分泌される。ふたつの異なるホルモンであるLHとFSHがどのような制御をうけて、単一のゴナドトロピン産生細胞から分泌されているかについては1970年代にKnobilらが行った実験によって明らかになった。彼らは視床下部GnRHニューロンの軸索末端が存在する領域を破壊しGnRH分泌を遮断した去勢サルにGnRHをパルス状に投与するとLHとFSHは分泌されるが、持続的に投与するとLHとFSHの分泌は抑制されることを報告した⁶⁾。GnRHの持続投与でゴナドトロピン分泌が抑制されることはゴナドトロピン産生細胞に発現しているGnRH受容体の脱感作によるものとされ、現在では乳癌や子宮筋腫などのエストロゲン依存性腫瘍に対する治療に応用されている。ゴナドトロピン分泌に関してさらに興味深いことに1時間に1回GnRHを投与する高頻度GnRHパルス刺激ではLHが優位に、3時間に1回投与の低頻度パルス刺激ではFSHが優位に分泌されることがわかっている⁷⁾。実際GnRHは下垂体門脈にパルス状に分泌されていることが報告されており⁸⁾、ゴナドトロピンの産生・分泌にはGnRHのパルス状分泌が必須であることは明確である。ゴナドトロピンの分泌様式については1970年に去勢サルの血中LH濃度を経時的に測定することでLHがパルス状の分泌パターンを呈することが明らかになっており⁹⁾、さらにGnRHパルスとLHパルスのリズムは完全に一致する¹⁰⁾。FSHもパルス状に分泌されているが、その振幅がLHより小さいため観察されにくく、またFSH分泌は下垂体の様々な生理活性物質による調節も受けるためGnRHパルスのリズムと完全には一致しない¹¹⁾。

思春期前はGnRH分泌が抑制されているため、ゴナドトロピンの分泌も少なく、血中LH、FSH値は低い。その後視床下部からGnRHがパルス状に分泌されるようになると睡眠中のLHのパルス状分泌が増加してくる。その後夜間だけではなく日中もゴナドトロピンの分泌が亢進し二次性徴が進行する。

前述したようにGnRH分泌のパルス頻度の違いによってLH、FSHの分泌はそれぞれ特異的に制御されている。このGnRHによるゴナドトロピン特異的発現はどのように制御されているのであろうか?下垂体前葉細胞にはプロラクチン産生細胞やTSH産生細胞、濾胞星状細胞など様々な分泌細胞が存在するためゴナドトロピン産生細胞だけの生理学的機能を解析することは不可能である。

そのためトランスジェニックマウスから樹立されたゴナドトロピン産生細胞株であるL β T2細胞が研究に広く用いられている。L β T2細胞はGnRH受容体及びゴナドトロピンを構成する α 、LH β 、FSH β サブユニットを発現していることが知られている。GnRH受容体はGq蛋白共役型受容体であり、リガンドが結合するとphospholipase C (PLC)の活性化を介してinositol 1,4,5-triphosphate(IP3)とdiacylglycerol(DG)を産生する。DGによりprotein kinase C (PKC)が活性化されると、細胞外カルシウムの流入や、MAP kinaseカスケードを介してextracellular signal-regulated protein kinase (ERK)経路が活性化される。perfusion systemを用いた実験では、L β T2細胞に120分に1回の低頻度GnRHパルス刺激を与えるとERKが速やかに活性化され、さらにその活性が持続した。一方30分に1回の高頻度GnRHパルス刺激では低頻度パルス刺激に比べERKはゆっくり活性化され、直ちに活性は減少した¹²⁾。GnRHパルス頻度の違いに対するERK活性化/不活性化の異なるパターンは、ERK活性化がFSH β およびLH β のGnRHパルス頻度依存性発現にとって重要であることを示唆している。さらにERK脱リン酸化酵素であるMAP kinase phosphatase 1 (MKP1)はL β T2細胞においてGnRH刺激により発現がみられたが、MKP1発現に伴いERK活性化は減少した。このMKP1発現は高頻度GnRHパルス刺激にのみ認められたことより、MAP kinaseカスケード、特にERK経路がGnRHパルス頻度依存的ゴナドトロピン特異的制御に重要であると考えられる¹³⁾。

下垂体前葉にはゴナドトロピン産生細胞をはじめとした種々のホルモン産生細胞が産生したホルモンの他、視床下部、下垂体、卵巣で産生分泌された様々な生理活性物質が存在している。代表的なものとしてアクチビン、インヒビン、フォリスタチン、pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide(PACAP)などがある。インヒビン、フォリスタチンはFSH分泌を抑制する因子として、アクチビンはFSH分泌を促進する因子としてともに卵胞液中から単離精製された。下垂体で局所的に産生されたアクチビンは下垂体でパラクライン/オートクラインで作用し、FSH産生・分泌を特異的に促進し、同様に下垂体で産生されたフォリスタチンはアクチビンに結合しその作用を抑制する¹⁴⁾。一方性腺で産生されるインヒビンは下垂体に作用しFSH合成を阻害する¹⁵⁾。GnRH高頻度パルス刺激では下垂体前葉におけるフォリスタチンの産生が増加することから、このフォリスタチンがアクチビンを阻害することでFSH分泌を抑制し、相対的にLH分泌が優位になっていると可能性も考えられ

る¹⁶⁾。PACAPも視床下部及び下垂体局所で産生され、ゴナドトロピン産生・分泌、GnRH受容体発現を促進することが知られている。さらに低頻度GnRHパルス刺激では、ゴナドトロピン産生細胞でのPACAP及びPACAP受容体が増加することから、PACAPが直接的にGnRH産生を修飾している可能性がある¹⁷⁾。また近年視床下部においてGnRHニューロンを上位から制御する因子として発見されたキスペプチン及びキスペプチン受容体も下垂体前葉に発現がみられ、キスペプチンによりLH分泌が増加することが報告されている¹⁸⁾。さらにキスペプチン及びキスペプチン受容体発現はGnRH及びエストラジオールによって調節される可能性もある¹⁹⁾。さらに卵巣顆粒膜細胞から産生され卵胞発育に関与する抗ミュラー管ホルモン (Anti-mullerian hormone: AMH) とその受容体も視床下部や下垂体前葉ゴナドトロピン産生細胞に発現しており、LβT2細胞を用いた研究ではAMHはFSHβサブユニットの発現を増加させた²⁰⁾。このようにGnRHを機軸として、その他視床下部あるいは下垂体局所の様々な生理活性物質の修飾を受け、LH、FSHの産生・分泌が特異的に制御されていると考えられる。

現在、臨床の場では閉経期女性尿由来のhMGをはじめとして、種々のゴナドトロピン製剤が排卵誘発剤として使用されている。精製技術の改善により、不純物の少ないhMG製剤の開発が可能になり、LH活性を欠いた精製下垂体性性腺刺激ホルモン製剤 (urinary follicle stimulating hormone: uFSH) が開発された。しかし尿や胎盤由来のホルモン製品は有限のドナー供給のために供給は限られていること、ロット間でホルモン活性に差がみられることが問題であった。また医原性のヒトブリオン病罹患の懸念もあった。これらの問題は、遺伝子組換えヒトFSH (recombinant FSH: rFSH) およびその後の組換えヒトLH (recombinant LH: rLH) およびhCG (recombinant hCG: rhCG) の開発によって克服された。世界的に遺伝子組換え製剤が広く使用されるようになり、rFSHを用いた治療周期と尿由来ゴナドトロピン製剤 (hMGおよびuFSH) を用いた周期の生殖補助医療の成績を比較した研究に関するシステムティックレビューでは、rFSHと尿由来ゴナドトロピン製剤で出生率に差を認めないという結果が報告された²¹⁾。しかしこのシステムティックレビューではhMGとrFSHを比較した場合、rFSHのほうが有意に出生率が低いという結果であった。もともとFSHに比べLHレベルが高い多嚢胞性卵巣症候群や、FSHレベルが高い卵巣反応低下症例などの特定の患者集団においてはLHの含有量の差が生殖補助医療の治療成績にどのような影響をも

たらすかについてはいまだ明確なエビデンスはない。卵巣ではLHがなくてもFSHは卵胞の発育を誘導するが、LH活性がない場合、エストラジオール産生のためのアンドロゲン基質が不足するだけでなく、卵胞成熟への直接的なLH効果の欠如のため卵子の質の低下に関与しているとの報告がある²²⁾。患者背景に応じた適切なゴナドトロピン療法に関する更なる研究が必要である。

以上ゴナドトロピンの歴史、基礎、臨床応用について紹介した。現在生殖医療は目覚ましく発展し、一般診療として広く普及している。この発展は生殖内分泌研究の発展に依るところが大きい。ゴナドトロピンが1920年代に発見されすでに100年がたっているが、いまだにその分泌制御や作用については不明な点が多く残されている。これからの更なる生殖医療の向上のためにも基礎研究による生殖生理の究明が必要であると思われる。

参考文献

- 1) Lunenfeld B: Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Hum Reprod Update*, 10: 453-467, 2004.
- 2) Beall SA, DeCherney A: History and challenges surrounding ovarian stimulation in the treatment of infertility. *Fertil Steril*, 97: 795-801, 2012.
- 3) Gemzell CA, Diczfalusy E, Tillinger G: Clinical effect of human pituitary follicle-stimulating hormone (FSH). *J Clin Endocrinol Metab*, 18: 1333-1348, 1958.
- 4) Lunenfeld B, Menzi A, Volet B: [Clinical effects of a human postmenopausal gonadotropin]. *Rass Clin Ter*, 59: 213-216, 1960.
- 5) Gharib SD, Wierman ME, Shupnik MA, Chin WW: Molecular biology of the pituitary gonadotropins. *Endocr Rev*, 11: 177-199, 1990.
- 6) Belchetz PE, Plant TM, Nakai Y, Keogh EJ, Knobil E: Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypophysial gonadotropin-releasing hormone. *Science*, 202: 631-633, 1978.
- 7) Knobil E: Patterns of hypophysiotropic signals and gonadotropin secretion in the rhesus monkey. *Biol Reprod*, 24: 44-49, 1981.
- 8) Levine JE, Norman RL, Gliessman PM, Oyama TT, Bangsberg DR, Spies HG: In vivo gonadotropin-releasing hormone release and serum luteinizing hormone measurements in ovariectomized, estrogen-treated rhesus macaques. *Endocrinology*, 117: 711-721, 1985.
- 9) Dierschke DJ, Bhattacharya AN, Atkinson LE, Knobil E: Circoral oscillations of plasma LH levels in the ovariectomized rhesus monkey. *Endocrinology*, 87: 850-853, 1970.
- 10) Clarke IJ, Cummins JT: The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology*, 111: 1737-1739, 1982.

- 11) Sharma TP, Nett TM, Karsch FJ, Phillips DJ, Lee JS, Herkimer C, Padmanabhan V: Neuroendocrine control of FSH secretion: IV. Hypothalamic control of pituitary FSH-regulatory proteins and their relationship to changes in FSH synthesis and secretion. *Biol Reprod*, 86: 171, 2012.
- 12) Kanasaki H, Bedecarrats GY, Kam KY, Xu S, Kaiser UB: Gonadotropin-releasing hormone pulse frequency-dependent activation of extracellular signal-regulated kinase pathways in perifused LbetaT2 cells. *Endocrinology*, 146: 5503-5513, 2005.
- 13) Kanasaki H, Purwana I, Oride A, Mijiddorj T, Miyazaki K: Extracellular Signal-Regulated Kinase (ERK) Activation and Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphatase 1 Induction by Pulsatile Gonadotropin-Releasing Hormone in Pituitary Gonadotrophs. *J Signal Transduct*, 2012: 198527, 2012.
- 14) Besecke LM, Guendner MJ, Schneyer AL, Bauer-Dantoin AC, Jameson JL, Weiss J: Gonadotropin-releasing hormone regulates follicle-stimulating hormone-beta gene expression through an activin/follistatin autocrine or paracrine loop. *Endocrinology*, 137: 3667-3673, 1996.
- 15) Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Pai R, Rodger FE, Mather JP, McNeilly AS: Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, 81: 1401-1405, 1996.
- 16) Mutiara S, Kanasaki H, Oride A, Purwana IN, Shimasaki S, Yamamoto H, Miyazaki K: Follistatin gene expression by gonadotropin-releasing hormone: a role for cyclic AMP and mitogen-activated protein kinase signaling pathways in clonal gonadotroph LbetaT2 cells. *Mol Cell Endocrinol*, 307: 125-132, 2009.
- 17) Kanasaki H, Purwana IN, Miyazaki K: Possible role of PACAP and its PAC1 receptor in the differential regulation of pituitary LHbeta- and FSHbeta-subunit gene expression by pulsatile GnRH stimulation. *Biol Reprod*, 88: 35, 2013.
- 18) Gutiérrez-Pascual E, Martínez-Fuentes AJ, Pinilla L, Tena-Sempere M, Malagón MM, Castaño JP: Direct pituitary effects of kisspeptin: activation of gonadotrophs and somatotrophs and stimulation of luteinising hormone and growth hormone secretion. *J Neuroendocrinol*, 19: 521-530, 2007.
- 19) Clarkson J, d'Anglemont de Tassigny X, Colledge WH, Caraty A, Herbison AE: Distribution of kisspeptin neurones in the adult female mouse brain. *J Neuroendocrinol*, 21: 673-682, 2009.
- 20) Tumurbaatar T, Kanasaki H, Tumurgan Z, Oride A, Okada H, Kyo S: Effect of anti-Müllerian hormone on the regulation of pituitary gonadotropin subunit expression: roles of kisspeptin and its receptors in gonadotroph L β T2 cells. *Endocr J*, 68: 1091-1100, 2021.
- 21) van Wely M, Kwan I, Burt AL, Thomas J, Vail A, Van der Veen F, Al - Inany HG: Recombinant versus urinary gonadotrophin for ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2011.
- 22) Canosa S, Carosso AR, Mercaldo N, Ruffa A, Evangelista F, Bongioanni F, Benedetto C, Revelli A, Gennarelli G: Effect of rLH Supplementation during Controlled Ovarian Stimulation for IVF: Evidence from a Retrospective Analysis of 1470 Poor/Suboptimal/Normal Responders Receiving Either rFSH plus rLH or rFSH Alone. *J Clin Med*, 11, 2022.

卵胞発育から排卵，黄体形成

笠原 佑太，岸 裕司，森 祐介

Yuta Kasahara, Hiroshi Kishi, Yusuke Mori

東京慈恵会医科大学産婦人科学講座
〒105-8461 東京都港区西新橋3丁目25番8号

要旨： 生殖内分泌学は生殖医療の大半の行程に密接に関連しており，良好な治療成績を目指す上で，生殖内分泌学的視点は必要不可欠である．原始卵胞から主席卵胞に至るまでの卵胞発育では，そのステージに応じてゴナドトロピン受容体発現によりFSH依存性あるいはLH依存性を獲得していく．また，莢膜細胞と顆粒膜細胞の共同作用によるtwo-cell two-gonadotropin theoryに基づいた性ステロイドホルモン産生のメカニズムや中枢へのフィードバック機構による制御の理解も肝要である．LHサージとそれに引き続く排卵，その後の黄体形成と崩壊にもゴナドトロピン受容体発現と性ステロイドホルモン産生は重要な役割を果たす．生殖医療の臨床では，これらの知見が調節卵巣刺激やluteal supportに応用されている．適切な治療を行うためには，生殖内分泌の知見に裏打ちされた診療が不可欠であるが，その基礎的なメカニズムについては未だ不明な点も多く，今後さらなる研究と知識のアップデートが必要である．

キーワード： FSH受容体，LH受容体，黄体，ゴナドトロピン，Two-cell two-gonadotropin theory
ランニングヘッド： 卵胞発育と排卵，黄体形成

英文要旨： Reproductive endocrinology plays a critical role in all stages of assisted reproductive technology (ART) such as controlled ovarian stimulation, oocyte retrieval, embryo transfer and luteal support. Reproductive endocrinological knowledge is indispensable in achieving successful ART outcomes. During follicular development from primordial to dominant follicles, gonadotropin receptor expression acquires FSH or LH dependence corresponding to the stage. Understanding the mechanisms of sex steroid hormone production based on the two-cell two-gonadotropin theory through the interaction of theca and granulosa cells and the feedback mechanism that regulates it is also essential. In addition, gonadotropin receptor expression and sex steroid hormone synthesis play crucial roles in the LH surge, ovulation, corpus luteum formation, and collapse. These understandings are applied to regulate ovarian stimulation and luteal support in clinical practice of ART. However, much is still unknown about the fundamental mechanisms. Thus, continuous research and updates in knowledge are necessary to improve clinical practice and ensure the best possible outcomes for patients undergoing ART.

キーワード： FSH receptor, Gonadotropin, LH receptor, Luteum corpus,
Two-cell two-gonadotropin theory

緒言

近年，日本産科婦人科学会の見解に基づき，承認実施施設において着床前遺伝学的検査(preimplantation genetic testing for aneuploidy: PGT-A, preimplantation genetic testing for structural

rearrangement: PGT-SR)が本邦でも臨床応用されている．また，2022年4月からは，体外受精を始めとした不妊治療への保険適用化も開始されるなど，生殖医療を取り巻く環境は常に変化し続けている．2020年の日本産科婦人科学会の報告によると，出生児の約14人に1人が生殖補助医療(assisted reproductive

technology: ART) により出生しており, その数は年間 60,381 にも及ぶ¹⁾. 年々この割合は増加しており, 体外受精治療は現代社会において必要不可欠なものとなっている. ART 治療の多くの行程において, エストロゲンやプロゲステロンをはじめとする性ステロイドホルモン, あるいは視床下部や脳下垂体から分泌されるゴナドトロピンとその調節機構が密接に関連しており, 良好な ART 成績を目指す上で, 生殖内分泌学的視点は必須である. 今回我々は, 卵胞発育のステージ毎にゴナドトロピン受容体発現と性ステロイドホルモン産生に関連する基礎的知見と ART 治療について解説する.

1. 卵胞発育に関する基礎的知見

1-1. 初期卵胞誘導

1-1-1. GDF9, BMP15

卵胞発育において, 原始卵胞から一次卵胞までの発育はゴナドトロピン非依存性に進行し, ゴナドトロピン感受性を得るのは前胞状卵胞以降であるとされる. このステージの卵胞では主に FSH 受容体 (FSHR) 発現による FSH 感受性の獲得が重要であり, 卵から分泌される growth differentiation factor-9 (GDF-9) や bone morphogenetic protein 15 (BMP15), あるいは顆粒膜細胞から分泌される estradiol (E₂) やアクチビンなどによるオートクライン・パラクライン効果が大きく寄与している^{2,3)} (図1).

1-1-2. アンドロゲン

初期卵胞誘導に必須な物質としてアンドロゲンがある. アンドロゲンは成長因子の一つである IGF-1 や IGF-1 受容体発現の増強や, 初期卵胞の誘導, FSHR のアップレギュレーションなど多様な作用を有している⁴⁻⁶⁾. マウスの顆粒膜細胞初代培養を用いた検討では, アンドロゲンは FSHR 発現を mRNA レベルでは増加させないが, タンパク質レベルで増強させる事を報告しており⁶⁾, これによりアンドロゲンが FSH 作用を増強させていると考えられる. さらに, アンドロゲンは卵胞の閉鎖と顆粒膜細胞のアポトーシスを減少させ, 逆に増殖と分化を刺激することにより, 卵巣全体の生存へ支持的に作用している⁷⁾. アンドロゲンが卵胞発育に与える影響についてはアンドロゲン受容体のノックアウト細胞や動物を用いた研究も数多く報告されている. 個体全体のアンドロゲン受容体をノックアウトしたマウス (ARKO) では, 卵胞形成不全, 顆粒膜細胞のアポトーシスの増加, 早発卵巣不全, 調節卵巣刺激への反応低下, 黄体期の欠落, 産仔の大きさの縮小などが認められている⁸⁻¹¹⁾. さらに, ARKO とコントロールの卵巣を交差移植した場合, コントロールは正常な月経周期と生殖能力を示すが, ARKO ホストは異常な周期と生殖能力の低下を示すことから, 卵巣外の神経内分泌 AR を介した制御も重要であることが示唆されている¹²⁾. 一方, 細胞特異的 ARKO モデルを用いた検討では, 前胞状卵胞以降の卵胞発育において, 顆粒膜細胞における AR シグナルの必要性や¹¹⁾, 下垂体の

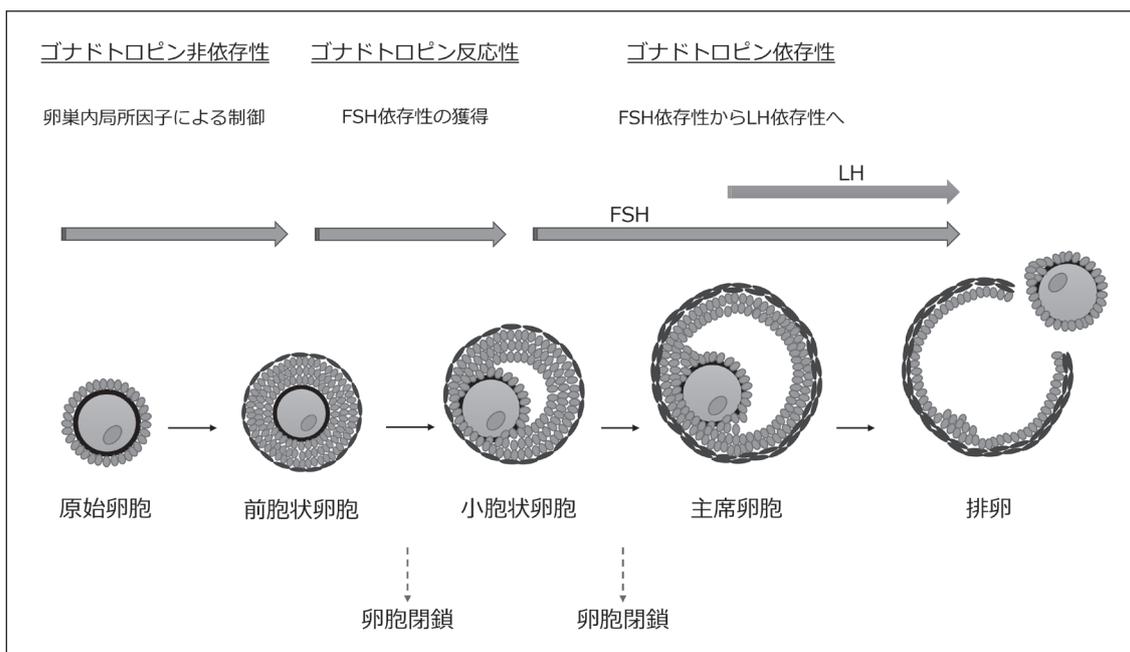


図1 卵胞発育とゴナドトロピン依存性

シグナル伝達におけるARの重要性が示されている¹³⁾。このように、アンドロゲンが卵胞発育に与える影響は初期卵胞誘導に限らず、卵胞発育のステージごとに多岐にわたるが、その基礎的なメカニズムは不明な点も多く、今後さらなる研究が必要である。

1-2 胞状卵胞から主席卵胞

1-2-1. 胞状卵胞

胞状卵胞期以降の卵胞発育は主として下垂体前葉から分泌されるFSHにより促される。FSH分泌は、主にFSH分泌調整因子であるアクチビンやインヒビンによる制御と性ステロイドホルモンのフィードバック機構により調整される。下垂体ゴナドトロピン産生細胞に局在するアクチビンは、FSH発現誘導作用を持ち、インヒビンは下垂体と卵巣から分泌され、アクチビンの作用に拮抗するとされる^{14, 15)}。さらにFSH分泌はLHと同様に、視床下部からパルス状に分泌されるGnRH (gonadotropin-releasing hormone) により制御される。このGnRHは、さらに上位のkisspeptinによる制御を受けていると考えられるが、kisspeptin分泌は卵巣顆粒膜細胞より分泌されるE₂をはじめとした性ステロイドホルモンのフィードバック機構により制御されている (hypothalamic-pituitary-gonadal: HPG axis)¹⁶⁾。

FSHやLHの作用を考える際には、その受容体であるゴナドトロピン受容体 (FSHR, LHR) についての理解も肝要である。FSH受容体、LH受容体はいずれも7

回膜貫通型のG蛋白共役型受容体であり、アミノ酸配列においても相同性が高い膜蛋白である¹⁷⁾。FSH受容体、LH受容体における主たる細胞内シグナル伝達はリガンドの結合により、Gs/アデニル酸シクラーゼ/cAMP/PKA経路が活性化され、cAMPをセカンドメッセンジャーとして行われる。PKAは標的蛋白であるCREB (cAMP response element binding protein) の活性化により、種々の遺伝子転写を調整する¹⁸⁻²³⁾。

1-2-2. Two-cell two-gonadotropin theory

月経周期においては、卵胞期初期ではFSH値が増大し、顆粒膜細胞や莢膜細胞数を増加させる。さらに、FSHは顆粒膜細胞におけるアロマターゼとLH受容体の発現を誘導し、排卵に向かっての分化を促すと同時に卵胞の発育過程が促進される²⁴⁻²⁶⁾。FSHにより顆粒膜細胞において真っ先にLH受容体発現によるLH反応性を獲得した胞状卵胞だけが、単一の主席卵胞として選択され、その後の卵胞発育と最終的な排卵へのプロセスを進むことになる^{27, 28)}。一方、LHの作用により莢膜細胞で生成されたandrostenedioneは顆粒膜細胞へと移動し、アロマターゼによりE₂へ変換 (芳香化) される。このような正常な卵胞発育と性ステロイドホルモン合成はFSHとLHが卵胞の顆粒膜細胞と莢膜細胞へ相互に作用することにより行われており、two-cell two-gonadotropin theoryと呼ばれる²⁹⁾ (図2)。

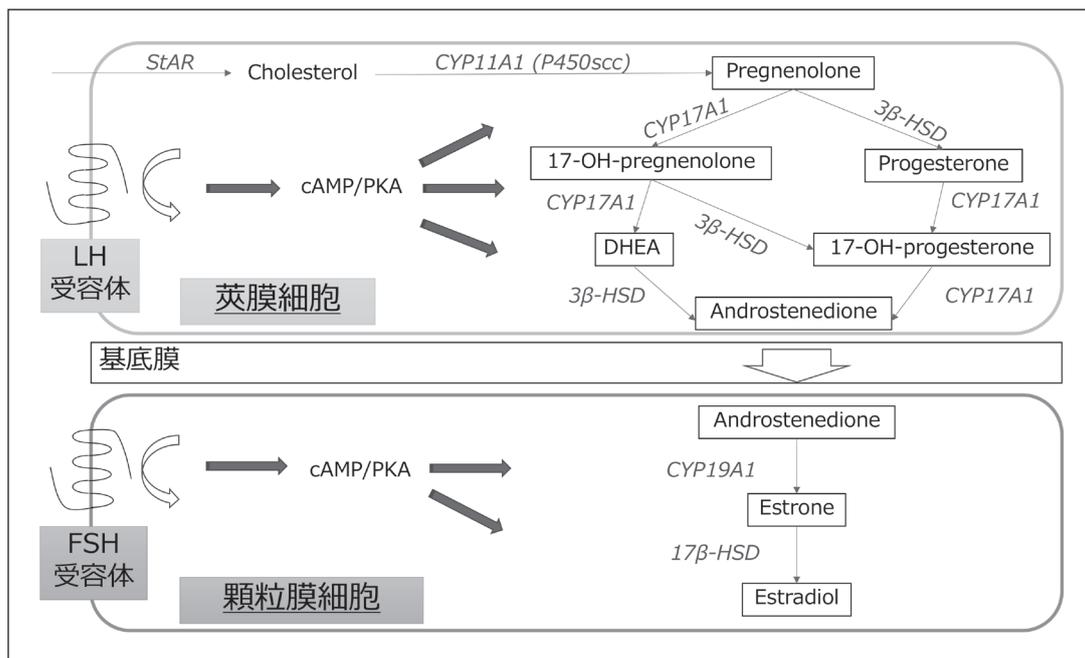


図2 Two-cell two-gonadotropin theory

1-2-3. エストロゲン

Two-cell two-gonadotropin theoryに基づく性ステロイドホルモンの最終産物がエストロゲンであり、エストロゲンはゴナドトロピン受容体発現へ影響を与える。ラット顆粒膜細胞初代培養系を用いた検討では、エストロゲン単独ではLHRを誘導できず、FSHR発現も変化しなかったが、FSHによって誘導されたLHR発現は増強された。エストロゲンはLHR mRNAの転写は促進せず、LHR mRNAを安定化させることで発現の増強へ寄与していた³⁰⁾。卵胞発育におけるエストロゲンの重要性はERのノックアウトマウスを使用した検討により示されている。ER β ノックアウトマウスでは、FSH刺激により誘導された顆粒膜細胞の分化が消失し、アロマターゼ活性が低下し、LHRの発現が不十分となった。その結果、排卵が減少し、卵丘細胞-卵母細胞複合体(cumulus oocyte complex: COC)の拡大が不完全になった。これらの反応は、ER α ノックアウトマウスでは見られなかったことから、卵胞発育における顆粒膜細胞の分化は、ER β 経路を介して制御されていると考えられる³¹⁾。また、エストロゲンはフィードバック機構により視床下部-下垂体レベルでGnRHとその受容体発現も調節しており、シナプスを介した作用や神経細胞-グリア細胞を介した作用、膜直接作用など複数の様式によりGnRHニューロンの挙動を制御している³²⁾。卵胞径の増大に伴い、合成が促進されたエストロゲンは、ネガティブフィードバック機構によりFSH分泌を減少させる。これにより次席卵胞以下の卵胞発育は抑制され、閉鎖に至る。卵胞期後期では血中エストロゲンレベルの増加により、GnRHパルス分泌が亢進され、LHサーージが誘導される。

1-3. LH サーージと排卵, 黄体形成

卵巣顆粒膜細胞では、LHサーージ後の排卵期にステロイドホルモン生成の非常にダイナミックな変化が起こる。排卵期のLHサーージは、黄体化した顆粒膜細胞において、steroidogenic acute regulatory (StAR) proteinの急激なアップレギュレーションとaromatase(Cyp19a1)の急激なダウンレギュレーションを誘発する³³⁾。このLHサーージ後のStARとCyp19a1の遺伝子発現の急激な変化は、プロゲステロンの産生を効率よく促し、排卵とその後の黄体形成に重要な役割を果たすが、その分子生物学的なメカニズムについては不明な点も多いとされている。転写因子による制御については以前より報告があるが^{34, 35)}、ヒストン修飾やDNAメチル化などのエピジェネティックな制御が、プロモーター領域のクロマチンリモデリングを通じて、遺伝子発現に重要な役割を果たすこ

とが明らかになってきている。排卵期に黄体化した顆粒膜細胞におけるStARおよびCyp19a1遺伝子の急激な発現変化に上記のエピジェネティック機構が関与しているというin vivoによるエビデンスも報告されている³⁵⁾。またLHサーージに伴い、高濃度のLHが顆粒膜細胞のLHRに結合すると、EGF like factorであるepiregulin, amphiregulin, betacellulinやプロスタグランジンE2経路が活性化され³⁶⁾、卵丘細胞にヒアルロン酸を主成分とする多量の細胞外マトリックスが貯留する³⁷⁾。この現象はcumulus expansionと称され、排卵に向けてCOCが顆粒膜細胞層から解離するための重要なステップである。

一方、卵子ではLHサーージにより第一減数分裂が再開される機序には複数の要素が寄与している。卵子は、細胞質内のcAMPを高レベルに保つことで第一減数分裂の休止状態を維持しており、LHサーージにより、顆粒膜細胞、さらには卵丘細胞のcGMPレベルが低下し、最終的に卵子内のcAMPレベルが減少することで、卵子の第一減数分裂が再開される^{38, 39)}。また、ギャップ結合を介した卵丘細胞からのcAMP供給が途絶えることも卵子内のcAMPレベルの減少とそれに続く減数分裂の再開を引き起こす³⁸⁾。このようにLHサーージにより、顆粒膜細胞あるいは卵子にダイナミックな変化が起こる事で、LHサーージ開始から34-36時間後に成熟卵胞の卵胞壁が破裂し、COCが卵胞外へ放出される。臨床ではLH作用を有するhCG製剤を投与することで、排卵を惹起あるいは体外受精においては採卵直前のtriggerとして利用されている。しかしながら、hCG製剤はLHとは異なり半減期が30-36時間と長く、卵巣過剰刺激症候群(ovarian hyper stimulation syndrome: OHSS)リスクの高い症例などではその使用に十分な注意が必要である。

黄体形成過程と黄体の崩壊は複雑な現象であり、ヒトでは十分に理解されていない。ヒト黄体化顆粒膜細胞を用いた検討では、プロゲステロン受容体拮抗薬の使用により黄体中期のLHR発現増強が阻害されたことから、黄体期におけるLHRの発現が、黄体化した顆粒膜細胞から分泌されるプロゲステロンによって少なくとも部分的には制御されていることが示唆されている⁴⁰⁾。月経周期において妊娠不成立の場合は黄体融解とそれに引き続く月経が発来するが、アクチビンAが黄体融解へ重要な役割を果たす可能性がある事が報告されている。アクチビンAが受容体に結合すると、性ステロイドホルモン生成酵素、LHRおよびVEGF (vascular endothelial growth factor)の発現を低下させ、エストラジオールとプロゲステロン産生を減少させる。同時に、FSHRとサイクリンD1発現を上昇させ、機能的な黄体融解を誘導

する⁴¹⁾。このアクチビンAの作用は、JNKシグナル経路のダウンレギュレーションを伴い、JNK経路の活性化を通じて黄体機能を改善するhCGとは対照的であった。黄体に関する分子生物学的なメカニズムは不明な点も多く、今後さらなる研究が必要と考えられる。

2. ART 診療における生殖内分泌的知見

2-1. 調節卵巣刺激

不妊治療の臨床において、特に調節卵巣刺激ではゴナドトロピンの分泌制御が卵巣発育に与える分子生物学的なメカニズムの理解が重要である。代表的な調節卵巣刺激法のメカニズムとその臨床的知見について解説する。

2-1-1 クロミフェンクエン酸塩 (clomiphene citrate: CC), アロマターゼ阻害剤 (aromatase inhibitor: AI)

CCは抗エストロゲン作用により、主に視床下部のエストロゲン受容体において内因性エストロゲンと拮抗し、ネガティブフィードバックを阻害する事でGnRHの分泌を増加させる。その結果、下垂体からのゴナドトロピンの分泌を促進し、排卵誘発に寄与する。増加した内因性ゴナドトロピンにより主席卵巣だけでなく、自然周期では閉鎖していきはずの次席卵巣以下もレスキューされ、複数の卵巣発育を認めることが多い。また、CCの抗エストロゲン作用は下垂体へのエストロゲンのフィードバックの阻害により、LHサージの発来を阻害するため、CC単体またはCCとゴナドトロピンを組み合わせた調節卵巣刺激法も行われることがある。AIもCC同様に中枢へのエストロゲンのネガティブフィードバックを阻害する事で、ゴナドトロピン分泌を亢進させ、卵巣発育を促す。AIはその名の通り、アロマターゼを阻害する事でエストロゲンの合成を阻害するため、卵巣刺激中の血中エストロゲンが低値となる点、抗エストロゲン作用によるLHサージ発来の阻害効果を認めない点がCCと異なる。

2-1-2. 低卵巣予備能症例へのアンドロゲン製剤投与

卵巣発育におけるアンドロゲンの重要性については上述したが、調節卵巣刺激においてもアンドロゲンが使用される場合がある。2022年のシステムティックレビューでは、低卵巣予備能 (diminished ovarian reserve: DOR) 症例や調節卵巣刺激への反応が悪いpoor responder症例へのアンドロゲン投与の有効性について検証されている。この報告ではdehydroepiandrosterone (DHEA)

もしくはテストステロンの影響について検討しており、DHEAはART成績に明らかな影響を与えなかったが、テストステロンによるプライミングは卵巣の反応性と妊娠転帰を改善する可能性があるとしている⁴²⁾。しかしながら、検討した結果のエビデンスレベルが高くないことも同時に指摘しており、結果の解釈には注意が必要である。

2-1-3. 多嚢胞性卵巣症候群 (poly cystic ovarian syndrome: PCOS)

DORあるいはpoor responder症例ではアンドロゲンの補充が有効である可能性がある一方で、アンドロゲンの過剰状態はPCOSのように卵巣発育の阻害や排卵障害を引き起こす。PCOSは世界的には生殖可能年齢の5-15%の女性が罹患している主要な生殖内分泌疾患であるが、その詳細な病因は不明であり、明確な診断基準は確立されていない⁴³⁾。国際的な診断基準として、現在ではロッテルダム基準が広く用いられており、高アンドロゲン血症、排卵障害、超音波検査による多嚢胞性卵巣の3つの特徴のうち2つを有する状態と定義される⁴⁴⁾。本邦では、日本産科婦人科学会生殖・内分泌委員会より2007年に診断基準の改訂が報告されている⁴⁵⁾。この改訂診断基準では1) 月経異常、2) 多嚢胞卵巣、3) 血中男性ホルモン高値またはLH基礎値高値かつFSH基礎値正常、の全てを満たすものをPCOSとしており、従来の基準に高アンドロゲン血症が組み入れられた。PCOSは内分泌学的特徴としてインスリン抵抗性を認めるが、この点に関しては十分なエビデンスが存在せず、診断基準には組み込まれなかった。

PCOS症例の排卵誘発については最適な方法は確立しておらず、症例毎の個別の対応が求められるが、AIの使用が複数のガイドラインで推奨されている⁴⁶⁻⁴⁸⁾。本邦でも2022年4月からの不妊治療の保険適用に伴い、レトロゾールが保険収載され、ART治療に限らず、広く排卵誘発に使用されており、生殖医療ガイドラインにおいても一般不妊治療への排卵誘発法として推奨度Aとなっている。排卵誘発剤による治療が奏功しなかった場合、インスリン増感薬であるメトホルミンの使用も考慮される。PCOSに対するゴナドトロピン製剤による一般不妊治療では、メトホルミンの併用により出生率が改善し、さらにはFSH投与量の減少、卵巣の過剰反応によるキャンセル率が減少するというメタアナリシスによる報告がある⁴⁹⁾。ARTにおいてもメトホルミンの併用によりOHSSの発症率が有意に減少したとする報告があり、その有効性が報告されている⁵⁰⁾。その一方で、The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists guidelineでは、

BMI 35 kg/m²以上の肥満合併PCOS症例では排卵誘発は禁忌とされており⁵¹⁾, 周産期合併症の観点やプレコンセプションケアの観点からも特に肥満症例では安易な排卵誘発を控えるべきである。

PCOSは女性のwell-beingと生活の質に大きく影響し, 不妊症, 2型糖尿病, メタボリックシンドローム, 子宮内膜がんなどの長期的な健康合併症のリスクを高めることがあり⁵²⁾, 不妊治療の観点に限らず, 包括的な治療を実践することが重要である。しかしながら, PCOSの表現型や表出する症状は症例により大きく異なるため, 診断の遅れやエビデンスに基づく治療計画ではなく, 対症療法となる場合も少なくない⁵³⁾。そのため, 近年は病態評価や管理に関するいくつかのガイドラインが報告されている。2018年のESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) が発表しているPCOSのガイドラインにおいては過体重, 肥満症例については生活習慣への介入が推奨されている⁵⁴⁾。また, 2021年のシステムチックレビューにおいても, PCOSを有する若年および成人女性における第一選択の介入として, 減量, 食事の変更, 運動のようなライフスタイル治療を推奨している⁵⁵⁾。

2-1-4. Progestin-primed ovarian stimulation (PPOS)

2015年には経口プロゲステロン製剤の内服によりLHサージを抑制する新しい調節卵巣刺激方法としてProgestin-primed ovarian stimulation (PPOS)法が提唱された⁵⁶⁾。代表的な方法としてはメドロキシプロゲステロン酢酸あるいはジドロゲステロンの内服を月経期より行い, ゴナドトロピン製剤の投与を併用するものが挙げられる^{57, 58)}。2021年にはPPOSが従来の調節卵巣刺激プロトコールと同程度に有効であるかを検証したシステムチックレビューが報告された⁵⁹⁾。この報告ではPPOSプロトコールはOHSSの発生率が低く, 子宮内膜が厚く, 得られた胚の数が多く, より多くのhMGが必要であることがわかったが, ショート法やロング法は検討対象とされていなかった。

2-2. ARTと黄体補充

ゴナドトロピンによる卵巣刺激を行うとしばしば, 黄体機能の低下が起こることがよく知られている⁶⁰⁾。黄体機能不全は黄体からのエストロゲンとプロゲステロンの分泌不全であるが, その定義自体は曖昧であるため, 診断基準についても統一がなされていない。治療については自然周期における黄体賦活法や黄体補充などのluteal supportの有効性は示されていないが, ARTに

おいては黄体補充の有効性が報告されている。新鮮胚移植については, プロゲステロン製剤を用いた黄体補充は2022年に刊行された生殖医療ガイドラインにおいて推奨グレードBとなっており, 実施を勧められているが, 黄体補充開始のタイミングや補充期間については様々である⁶¹⁾。凍結融解胚移植についても自然周期での黄体補充はさらなるエビデンスの構築が必要であるが, プロゲステロン腔剤による黄体補充は流産率を下げることで出生率を向上させる可能性があるとするメタアナリシスが報告されている⁶²⁾。また, ホルモン調整周期においては黄体が形成されないため, 外因性の黄体補充が必須であり, 経口のジドロゲステロンとプロゲステロン腔カプセルを比較した9つのRCTを対象としたメタアナリシスが報告されているが, 臨床的妊娠率, 流産率, 出生率に有意差を認めなかったとしている⁶³⁾。このようにARTの臨床においてluteal supportは重要であるが, 適切なluteal supportを実施するためには黄体形成と黄体融解に関する分子生物学的なメカニズムの解明が重要であり, 今後さらなる研究が必要であると考えられる。

結 論

生殖内分泌の知見に基づき, 卵胞発育と排卵, 黄体形成に関する基礎的知見とART診療の一部を解説した。適切な排卵誘発やluteal supportを行うためには, 生殖内分泌の知見に裏打ちされた診療が不可欠であるが, その基礎的なメカニズムについては未だ不明な点も多く, 今後さらなる研究と知識のアップデートが必要である。

参 考 文 献

- 1) 日本産科婦人科学会登録・調査小委員会. ART データブック 2020年版 PDF版, 2022. https://www.jsog.or.jp/activity/art/2020_ARTdata.pdf, (2023.4.28)
- 2) Orisaka M, Orisaka S, Jiang JY, Craig J, Wang Y, Kotsuji F, Tsang BK: Growth differentiation factor 9 is antiapoptotic during follicular development from preantral to early antral stage. *Mol Endocrinol*, 20(10): 2456-68, 2006.
- 3) Findlay JK: An update on the roles of inhibin, activin, and follistatin as local regulators of folliculogenesis. *Biol Reprod*, 48(1): 15-23, 1993.
- 4) Vendola K, Zhou J, Wang J, Bondy CA: Androgens promote insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-I receptor gene expression in the primate ovary. *Hum Reprod*, 14(9): 2328-32, 1999.
- 5) Vendola KA, Zhou J, Adesanya OO, Weil SJ, Bondy CA: Androgens stimulate early stages of follicular growth in the primate ovary. *J Clin Invest*, 101(12): 2622-9, 1998.

- 6) Fujibe Y, Baba T, Nagao S, Adachi S, Ikeda K, Morishita M, Kuno Y, Suzuki M, Mizuuchi M, Honnma H, Endo T, Saito T: Androgen potentiates the expression of FSH receptor and supports preantral follicle development in mice. *J Ovarian Res*, 12(1): 31, 2019.
- 7) Sen A, Prizant H, Light A, Biswas A, Hayes E, Lee HJ, Barad D, Gleicher N, Hammes SR: Androgens regulate ovarian follicular development by increasing follicle stimulating hormone receptor and microRNA-125b expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111(8): 3008-13, 2014.
- 8) Hu YC, Wang PH, Yeh S, Wang RS, Xie C, Xu Q, Zhou X, Chao HT, Tsai MY, Chang C: Subfertility and defective folliculogenesis in female mice lacking androgen receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 01(31): 11209-14, 2004.
- 9) Walters KA, Allan CM, Jimenez M, Lim PR, Davey RA, Zajac JD, Illingworth P, Handelsman DJ: Female mice haploinsufficient for an inactivated androgen receptor (AR) exhibit age-dependent defects that resemble the AR null phenotype of dysfunctional late follicle development, ovulation, and fertility. *Endocrinology*, 148(8): 3674-84, 2007.
- 10) Walters KA, Edwards MC, Tesic D, Caldwell ASL, Jimenez M, Smith JT, Handelsman DJ: The Role of Central Androgen Receptor Actions in Regulating the Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis. *Neuroendocrinology*, 106(4): 389-400, 2018.
- 11) Sen A, Hammes SR: Granulosa cell-specific androgen receptors are critical regulators of ovarian development and function. *Mol Endocrinol*, 24(7): 1393-403, 2010.
- 12) Walters KA, McTavish KJ, Seneviratne MG, Jimenez M, McMahon AC, Allan CM, Salamonsen LA, Handelsman DJ: Subfertile female androgen receptor knockout mice exhibit defects in neuroendocrine signaling, intraovarian function, and uterine development but not uterine function. *Endocrinology*, 150(7): 3274-82, 2009.
- 13) Wu S, Chen Y, Fajobi T, DiVall SA, Chang C, Yeh S, Wolfe A: Conditional knockout of the androgen receptor in gonadotropes reveals crucial roles for androgen in gonadotropin synthesis and surge in female mice. *Mol Endocrinol*, 28(10): 1670-81, 2014.
- 14) Bernard DJ, Chapman SC, Woodruff TK: Mechanisms of inhibin signal transduction. *Recent Prog Horm Res*, 56: 417-50, 2001.
- 15) Bilezikjian LM, Vaughan JM, Vale WW: Characterization and the regulation of inhibin/activin subunit proteins of cultured rat anterior pituitary cells. *Endocrinology*, 133(6): 2545-53, 1993.
- 16) Skorupskaitė K, George JT, Anderson RA: The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Hum Reprod Update*, 20(4): 485-500, 2014.
- 17) Costagliola S, Urizar E, Mendive F, Vassart G: Specificity and promiscuity of gonadotropin receptors. *Reproduction*, 130(3): 275-81, 2005.
- 18) Ulloa-Aguirre A, Zariñán T: The Follitropin Receptor: Matching Structure and Function. *Mol Pharmacol*, 90(5): 596-608, 2016.
- 19) Dattatreyamurthy B, Figgs LW, Reichert LE, Jr: Physical and functional association of follitropin receptors with cholera toxin-sensitive guanine nucleotide-binding protein. *J Biol Chem*, 262(24): 11737-45, 1987.
- 20) Dias JA, Cohen BD, Lindau-Shepard B, Nechamen CA, Peterson AJ, Schmidt A: Molecular, structural, and cellular biology of follitropin and follitropin receptor. *Vitam Horm*, 64: 249-322, 2002.
- 21) Simoni M, Gromoll J, Nieschlag E: The follicle-stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology. *Endocr Rev*, 18(6): 739-73, 1997.
- 22) Ulloa-Aguirre A, Uribe A, Zariñán T, Bustos-Jaimes I, Pérez-Solis MA, Dias JA: Role of the intracellular domains of the human FSH receptor in G(alphaS) protein coupling and receptor expression. *Mol Cell Endocrinol*, 260-262: 153-62, 2007.
- 23) Hunzicker-Dunn M, Maizels ET: FSH signaling pathways in immature granulosa cells that regulate target gene expression: branching out from protein kinase A. *Cell Signal*, 18(9): 1351-9, 2006.
- 24) Baker SJ, Spears N: The role of intra-ovarian interactions in the regulation of follicle dominance. *Hum Reprod Update*, 5(2): 153-65, 1999.
- 25) Erickson GF, Wang C, Hsueh AJ: FSH induction of functional LH receptors in granulosa cells cultured in a chemically defined medium. *Nature*, 279(5711): 336-8, 1979.
- 26) Parakh TN, Hernandez JA, Grammer JC, Weck J, Hunzicker-Dunn M, Zeleznik AJ, Nilson JH: Follicle-stimulating hormone/cAMP regulation of aromatase gene expression requires beta-catenin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(33): 12435-40, 2006.
- 27) Ginther OJ: Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim Reprod Sci*, 60-61: 61-79, 2000.
- 28) Son WY, Das M, Shalom-Paz E, Holzer H: Mechanisms of follicle selection and development. *Minerva Ginecol*, 63(2): 89-102, 2011.
- 29) Vegetti W, Alagna F: FSH and folliculogenesis: from physiology to ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online*, 12(6): 684-94, 2006.
- 30) Ikeda S, Nakamura K, Kogure K, Omori Y, Yamashita S, Kubota K, Mizutani T, Miyamoto K, Minegishi T: Effect of estrogen on the expression of luteinizing hormone-human chorionic gonadotropin receptor messenger ribonucleic acid in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology*, 149(4): 1524-33, 2008.
- 31) Couse JF, Yates MM, Deroo BJ, Korach KS: Estrogen receptor-beta is critical to granulosa cell differentiation and the ovulatory response to gonadotropins. *Endocrinology*, 146(8): 3247-62, 2005.
- 32) Herbison AE, Pape JR: New evidence for estrogen receptors in gonadotropin-releasing hormone neurons. *Front Neuroendocrinol*, 22(4): 292-308, 2001.
- 33) Hickey GJ, Chen SA, Besman MJ, Shively JE, Hall PF, Gaddy-Kurten D, Richards JS: Hormonal regulation, tissue distribution, and content of aromatase cytochrome P450 messenger ribonucleic acid and enzyme in rat ovarian

- follicles and corpora lutea: relationship to estradiol biosynthesis. *Endocrinology*, 122(4): 1426-36, 1988.
- 34) LaVoie HA: Transcriptional control of genes mediating ovarian follicular growth, differentiation, and steroidogenesis in pigs. *Mol Reprod Dev*, 84(9): 788-801, 2017.
 - 35) Sugino N: Molecular mechanisms of luteinization. *Obstet Gynecol Sci*, 57(2): 93-101, 2014.
 - 36) Fan HY, Liu Z, Shimada M, Sterneck E, Johnson PF, Hedrick SM, Richards JS: MAPK3/1 (ERK1/2) in ovarian granulosa cells are essential for female fertility. *Science*, 324(5929): 938-41, 2009.
 - 37) Yokoo M, Sato E: Physiological function of hyaluronan in mammalian oocyte maturation. *Reprod Med Biol*, 10(4): 221-9, 2011.
 - 38) Arroyo A, Kim B, Yeh J: Luteinizing Hormone Action in Human Oocyte Maturation and Quality: Signaling Pathways, Regulation, and Clinical Impact. *Reprod Sci*, 27(6): 1223-52, 2020.
 - 39) Mehlmann LM, Kalinowski RR, Ross LF, Parlow AF, Hewlett EL, Jaffe LA: Meiotic resumption in response to luteinizing hormone is independent of a Gi family G protein or calcium in the mouse oocyte. *Dev Biol*, 299(2): 345-55, 2006.
 - 40) Yung Y, Maman E, Ophir L, Rubinstein N, Barzilay E, Yerushalmi GM, Hourvitz A: Progesterone antagonist, RU486, represses LHCGR expression and LH/hCG signaling in cultured luteinized human mural granulosa cells. *Gynecol Endocrinol*, 30(1): 42-7, 2014.
 - 41) Bildik G, Akin N, Esmailian Y, Hela F, Yildiz CS, Iltumur E, İncir S, Karahuseyinoglu S, Yakin K, Oktem O: Terminal differentiation of human granulosa cells as luteinization is reversed by activin-A through silencing of Jnk pathway. *Cell Death Discov*, 6(1): 93, 2020.
 - 42) Neves AR, Montoya-Botero P, Polyzos NP: Androgens and diminished ovarian reserve: the long road from basic science to clinical implementation. A comprehensive and systematic review with meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*, 227(3): 401-413. e18, 2022.
 - 43) Azziz R: Introduction: Determinants of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 106(1): 4-5, 2016.
 - 44) Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 81(1): 19-25, 2004.
 - 45) 生殖・内分泌委員会. 本邦における多嚢胞性卵巣症候群の新しい診断基準の設定に関する小委員会 (平成 17 年度～平成 18 年度) 検討結果報告. 2007. <http://fa.kyorin.co.jp/jsog/readPDF.php?file=to63/59/3/KJ00005049876.pdf>, (2023.05.03)
 - 46) ACOG Practice Bulletin No. 108: Polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol*, 114(4): 936, 2009.
 - 47) Witchel SF, Oberfield S, Rosenfield RL, Codner E, Bonny A, Ibáñez L, Pena A, Horikawa R, Gomez-Lobo V, Joel D, Tfayli H, Arslanian S, Dabadghao P, Rudaz CG, Lee PA: The Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome during Adolescence. *Horm Res Paediatr*, 2015.
 - 48) Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, Piltonen T, Norman RJ; International PCOS Network: Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*, 33(9): 1602-18, 2018.
 - 49) Palomba S, Falbo A, La Sala GB: Metformin and gonadotropins for ovulation induction in patients with polycystic ovary syndrome: a systematic review with meta-analysis of randomized controlled trials. *Reprod Biol Endocrinol*, 12: 3, 2014.
 - 50) Tso LO, Costello MF, Albuquerque LET, Andriolo RB, Macedo CR. Metformin treatment before and during IVF or ICSI in women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*, 12(12): Cd006105, 2020.
 - 51) Ibáñez L, Oberfield SE, Witchel S, Auchus RJ, Chang RJ, Codner E, Dabadghao P, Darendeliler F, Elbarbary NS, Gambineri A, Rudaz CG, Kathleen M, Hoeger KM, López-Bermejo A, Ong K, Peña AS, Reinehr T, Santoro N, Tena-Sempere M, Tao R, Yildiz BO, Alkhayyat H, Deeb A, Joel D, Horikawa R, Zegher F, Lee PA: An International Consortium Update: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment of Polycystic Ovarian Syndrome in Adolescence. *Horm Res Paediatr*. 88(6): 371-95, 2017.
 - 52) Azziz R, Carmina E, Chen Z, Dunaif A, Laven JS, Legro RS, Lizneva D, Natterson-Horowitz B, Teede HJ, Yildiz BO: Polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2: 16057, 2016.
 - 53) Gibson-Helm M, Teede H, Dunaif A, Dokras A: Delayed Diagnosis and a Lack of Information Associated With Dissatisfaction in Women With Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 102(2): 604-12, 2017.
 - 54) International evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome (PCOS). European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). [https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Polycystic-Ovary-Syndrome_\(2023.4.28\)](https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Polycystic-Ovary-Syndrome_(2023.4.28))
 - 55) Al Wattar BH, Fisher M, Bevington L, Talaulikar V, Davies M, Conway G, Yasmin E: Clinical Practice Guidelines on the Diagnosis and Management of Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and Quality Assessment Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 106(8): 2436-46, 2021.
 - 56) Kuang Y, Chen Q, Fu Y, Wang Y, Hong Q, Lyu Q, Ai A, Shoham Z: Medroxyprogesterone acetate is an effective oral alternative for preventing premature luteinizing hormone surges in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 104(1): 62-70.e3, 2015.
 - 57) Huang J, Xie Q, Lin J, Lu X, Zhu J, Gao H, Cai R, Kuang Y: Progesterin-Primed Ovarian Stimulation with Dydrogesterone versus Medroxyprogesterone Acetate in Women with Polycystic Ovarian Syndrome for in vitro Fertilization: A Retrospective Cohort Study. *Drug Des Devel Ther*, 13: 4461-70, 2019.
 - 58) Iwami N, Kawamata M, Ozawa N, Yamamoto T, Watanabe E, Moriwaka O, Kamiya H: New trial of progestin-primed ovarian stimulation using dydrogesterone versus a typical

- GnRH antagonist regimen in assisted reproductive technology. *Arch Gynecol Obstet*, 298(3): 663-71, 2018.
- 59) Cui L, Lin Y, Wang F, Chen C: Effectiveness of progesterone-primed ovarian stimulation in assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*, 303(3): 615-30, 2021.
- 60) Fatemi HM: The luteal phase after 3 decades of IVF: what do we know? *Reprod Biomed Online*, 19 Suppl 4:4331, 2009.
- 61) van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JA, Metwally M: Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev*, 2015(7): Cd009154, 2015.
- 62) Seol A, Shim YJ, Kim SW, Kim SK, Lee JR, Jee BC, Suh CS, Kim SH: Effect of luteal phase support with vaginal progesterone on pregnancy outcomes in natural frozen embryo transfer cycles: A meta-analysis. *Clin Exp Reprod Med*, 47(2): 147-52, 2020.
- 63) Barbosa MWP, Valadares NPB, Barbosa ACP, Amaral AS, Iglesias JR, Nastri CO, Martins WP, Nakagawa HM: Oral dydrogesterone vs. vaginal progesterone capsules for luteal-phase support in women undergoing embryo transfer: a systematic review and meta-analysis. *JBRA Assist Reprod*, 22(2): 148-56, 2018.

ヒト子宮内膜間質細胞の脱落膜化における エピジェネティクス遺伝子発現調節機構

Epigenetic regulation of gene expression in decidualization of human endometrial stromal cells

田村 功

Isao Tamura, M.D., Ph.D., Assistant professor

山口大学大学院医学系研究科産科婦人科学 山口県宇部市南小串1-1-1
Department of Obstetrics and Gynecology, Yamaguchi University Graduate School of Medicine

要旨： 月経周期における子宮内膜の変化のひとつである子宮内膜間質細胞の脱落膜化は、プロゲステロンによって誘導される現象である。子宮内膜間質細胞では形態学的変化だけでなく劇的な遺伝子発現変化が起こり、著明な細胞機能変化が起こる。この脱落膜化という現象は、妊娠・着床の成立に必要な不可欠である。遺伝子発現は、単に転写因子のみで調節されているのではなく、その受け手側であるDNAプロモーター側の状態によっても調節されている。すなわちエピジェネティクス調節機構がクロマチン構造を変化させ、転写因子のDNA結合を規定している。我々は脱落膜化における遺伝子発現変化をゲノムワイドな視点から解析した。脱落膜化により活性化ヒストン修飾であるH3K27acやH3K4me3がゲノムワイドに増加した。これらのヒストン修飾変化は転写因子C/EBP β がpioneer factorとなり転写共役因子であるp300をゲノムワイドにリクルートすることで誘導されていた。また、ヒストン修飾は転写開始点付近のみならず遠位enhancer領域にも認められた。ゲノム編集法を活用することで脱落膜化に寄与する新たなenhancer領域を同定することに成功した。本総説では、脱落膜化におけるエピジェネティクス遺伝子発現調節機構について述べる。

キーワード： エピジェネティクス, 子宮内膜間質細胞, C/EBP β , 脱落膜化, ヒストンアセチル化

英文要旨： Decidualization is a process of differentiation of human endometrial stromal cells (hESCs) accompanied by dramatic changes in cell functions. This process is critical for embryo implantation and the establishment of pregnancy. Impairment of decidualization of endometrial stroma leads to implantation failure, miscarriage, and unexplained infertility. A number of genes are up-regulated or down-regulated during decidualization. Recent studies have shown that epigenetic mechanisms are involved in the regulation of decidualization-related genes and that histone modifications occur throughout the genome during decidualization. The present review focuses on the involvement of genome-wide histone modifications in dramatic changes in gene expression during decidualization. Genome-wide histone modifications occur during decidualization. The main histone modifications are the increases of H3K27ac and H3K4me3, which activate transcription. C/EBP β works as a pioneer factor throughout the genome by recruiting p300. This is the main cause of the genome-wide acetylation of H3K27 during decidualization. Histone modifications were observed in both the proximal promoter and distal enhancer regions. Genome editing experiments show that the distal regions have transcriptional activities, which suggests that decidualization induces the interactions between proximal promoter and distal enhancer regions. Taken together, these findings show that gene regulation during decidualization is closely associated with genome-wide changes of histone modifications.

1. 緒言

子宮内膜間質細胞は増殖期に、卵胞からのエストロゲンによって増殖するとともに、プロゲステロン受容体を発現するようになる。そして、排卵後に黄体から分泌されるプロゲステロンの作用を受け、着床に向けた様々な変化が起きる。特に、子宮内膜間質細胞 (endometrial stromal cell: ESC) はプロゲステロンの作用により、線維芽細胞様の形態から大型の類円形の形態に変化し、敷石状となる。この過程において、細胞は形態学的変化だけでなく劇的な遺伝子発現変化が起こり著明な細胞機能変化が起こる。この脱落膜化という現象は、妊娠・着床の成立に必要不可欠である¹⁻³⁾。脱落膜化における遺伝子発現調節機構は古くから研究が行われてきたが、それらの多くは細胞内シグナル伝達経路や転写因子による発現調節が中心であった。しかし、遺伝子発現は、単に転写因子のみで調節されているのではなく、その受け手側であるDNAプロモーター側の状態によっても調節されている。すなわちエピジェネティクス調節機構がクロマチン構造を変化させ、転写因子のDNA結合を規定している^{4, 5)}。代表的なエピジェネティック調節機構のひとつがヒストン修飾である。このヒストンがアセチル化などの修飾をうけることでクロマチン構造が変化する。ヒストンのアセチル化が起こるとクロマチン構造が弛緩するため、転写因子が容易にDNAに接近できる状態になり遺伝子発現が誘導される。一方、ヒストンの脱アセチル化によりクロマチン構造が凝集すれば、転写因子の結合が阻害され遺伝子発現が抑制される。脱落膜化における遺伝子発現調節機構に関しても、転写因子だけでなくDNA側であるプロモーター領域の状態も考慮しなければならない⁵⁾。我々は、転写因子による調節機構の解明に加え、代表的なエピジェネティック調節機構のひとつであるヒストン修飾の関与について、次世代シーケンサーを用いてゲノムワイドな視点から解明を行った⁶⁾。

2. ゲノムワイドからみた脱落膜化におけるエピジェネティクス

脱落膜化では多くの遺伝子発現変化が起こる。そこで、多くのプロモーターやエンハンサー領域でヒストン修飾変化が起こるのではないかと考え、ゲノムワイドな視点から脱落膜化におけるエピジェネティクス調節機構の解明を行った⁶⁾。本研究では、Estradiol (10^{-8} M) + medroxyprogesterone acetate (MPA) (10^{-6} M) を用いて14日間培養することで脱落膜化を誘導した。ステロイドホルモン非添加で同期間培養した細胞をコント

ロール群とした。この両者について4つのヒストン修飾抗体を用いたChIP-sequenceを行い、脱落膜化によるゲノムワイドヒストン修飾変化を調べた。

1) 脱落膜化に伴うゲノムワイドヒストン修飾変化

本解析では、転写活性化に働くH3K27ac, H3K4me3, H3K4me1を、また転写不活性化に働くH3K27me3の変化を調べた。転写開始点より上流10kbから、gene bodyも含めて、転写終了点の下流10kbまでの領域を解析した。ヒストン修飾レベルの差が2倍以上に上昇する領域、あるいは、2分の1以下に低下する領域を脱落膜化に伴いヒストン修飾が変化した領域と定義した。脱落膜化により、H3K27acは3,705領域(1,846遺伝子)で増加し、H3K4me3は945領域(847遺伝子)において修飾が増加した(図1A)。また、H3K27acとH3K4me3で脱落膜化によって修飾が低下する領域はそれに比べ非常に少なかった。一方、H3K4me1とH3K27me3の修飾が上昇または低下する遺伝子領域は5領域程度であり、極めて少ないことが明らかとなった。

2) ヒストン修飾変化が起こるゲノム領域

H3K27acとH3K4me3のヒストン修飾変化がおきる領域を、転写開始点から3kb以内のプロモーター領域、3kb以上の上流または下流エンハンサー領域に分類した(図1B)。H3K27acでは約80%、H3K4me3では約50%が、エンハンサー領域に存在していた。すなわち、多くの重要な転写調節領域は、転写開始点から離れた遠位領域にも多く存在すると考えられた。これまでの転写調節研究の多くは、主に転写開始点付近のプロモーター領域に限られて行われてきた。しかし、次世代シーケンサーによる解析によりゲノム全体を調べることが可能となり、プロモーターで起こっている調節機構は氷山の一角に過ぎないことが示された。

3) ヒストン修飾変化と遺伝子発現変化

脱落膜化におけるトランスクリプトーム変化をRNA-sequenceにより行った。脱落膜化では881遺伝子の発現が上昇し、これらの約4分の1に相当する223遺伝子においてヒストン修飾上昇が認められた(図2A)。また、ヒストン修飾変化を伴わない遺伝子群に比べ、H3K4me3またはH3K27ac修飾上昇変化がある遺伝子群の発現増加程度はより高くなり、さらに、両修飾を伴うと相乗的な発現上昇効果があることが分かった(図2B)。また、ヒストン修飾の変化領域部位ごとに発現上昇遺伝子を分類し(図2C)、遺伝子発現の増加程度と

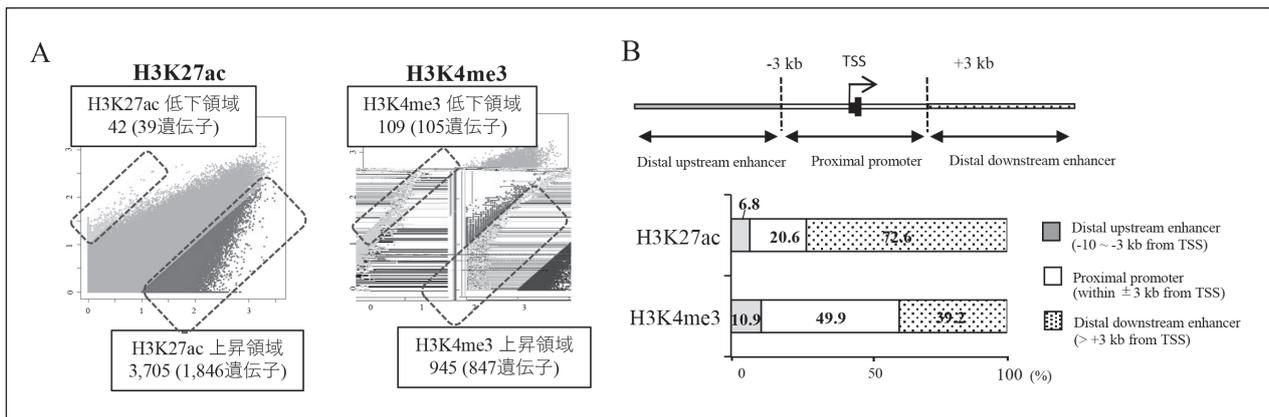


図1 脱落膜化によるゲノムワイドヒストン修飾変化

- A. 脱落膜化により H3K27ac, H3K4me3 レベルが上昇・低下した領域数とその近傍の遺伝子数
B. ヒストン修飾変化が起こるゲノム領域

の関連性を調べた。ヒストン修飾変化は、近位プロモーター領域だけでなく遠位エンハンサー領域で起こった場合でも遺伝子発現上昇と関連していた(図2D)。さらに、両領域に変化を認めた場合は相乗的な発現上昇効果があることが分かった。近年、転写開始点から離れたエンハンサー領域はプロモーター領域とループ形成により相互作用することで転写活性化に寄与することが知られている⁷⁾。本解析の結果は、この現象を支持する結果であると言える。以上より、脱落膜化による遺伝子発現変化はゲノムワイドな promoter-enhancer interaction により巧妙に制御されていると考えられた。

3. 脱落膜化によるヒストン修飾誘導のメカニズムの解明

H3K27ac 修飾変化は、凝集したクロマチン構造領域に pioneer factor と呼ばれる転写因子が入り込み DNA binding site に結合し、そこに histone acetyltransferase (HAT) 活性をもった転写共役因子がリクルートされることで誘導されると考えられている。我々はこの pioneer factor の候補として C/EBP β に着目した。C/EBP β は脱落膜化に必要な転写因子の一つであり、脱落膜化マーカーで遺伝子である IGFBP-1, PRL 遺伝子のプロモーター領域に結合し転写を促進する。そこで、C/EBP β は脱落膜化におけるヒストン修飾変化をゲノムワイドに誘導する pioneer factor として働いているのではないかと考えた。これを証明するために、C/EBP β を siRNA でノックダウンしたうえで脱落膜化刺激を加え、細胞を回収・ChIP-sequence を行い、脱落膜化において C/EBP β により制御される H3K27ac 修飾領域を同定した(図3A)。本解析

では、siRNA のノックダウンが有効な間に解析ができるよう、短期間で脱落膜化を誘導できる cAMP (0.5mM) を脱落膜化刺激として用いた。興味深いことに、脱落膜化で誘導される H3K27ac 変化の約 90% は C/EBP β のノックダウンにより消失した(図3B)。さらに、これらの多くの領域には p300 の結合領域が存在することが分かった。つまり、C/EBP β が pioneer factor として働きそこに p300 がリクルートされるという機序が、脱落膜化における H3K27ac 誘導の主なメカニズムであることをゲノムワイドな視点からも明らかにした⁸⁾。

4. エピゲノム解析とゲノム解析を合わせた脱落膜化における新規エンハンサーの同定

前述のようにヒストン修飾変化は転写開始点付近のみならずゲノムのいたるところで起こっている。H3K27ac は活性化エンハンサー領域に起こる修飾とされている。よって、ChIP-sequence 解析により同定された遠位の H3K27ac 修飾領域は、これまで着目されていない未知のエンハンサー領域である可能性があると考えられた。IGFBP-1 遺伝子にも、転写開始点より 5kb 上流の領域に脱落膜化により H3K27ac 修飾が上昇する領域が存在することに着目した(図4A)。IGFBP-1 遺伝子発現に関する転写調節機構は、転写開始点付近のプロモーター領域のみに焦点が当てられてきており、この遠位領域はこれまで全く着目されていない。よって、IGFBP-1 遺伝子発現に寄与する新規エンハンサー領域であると考え解析を行った。これまで、遠位エンハンサー領域の転写活性を示す方法としては、reporter assay が主に行われていた。しかし、reporter

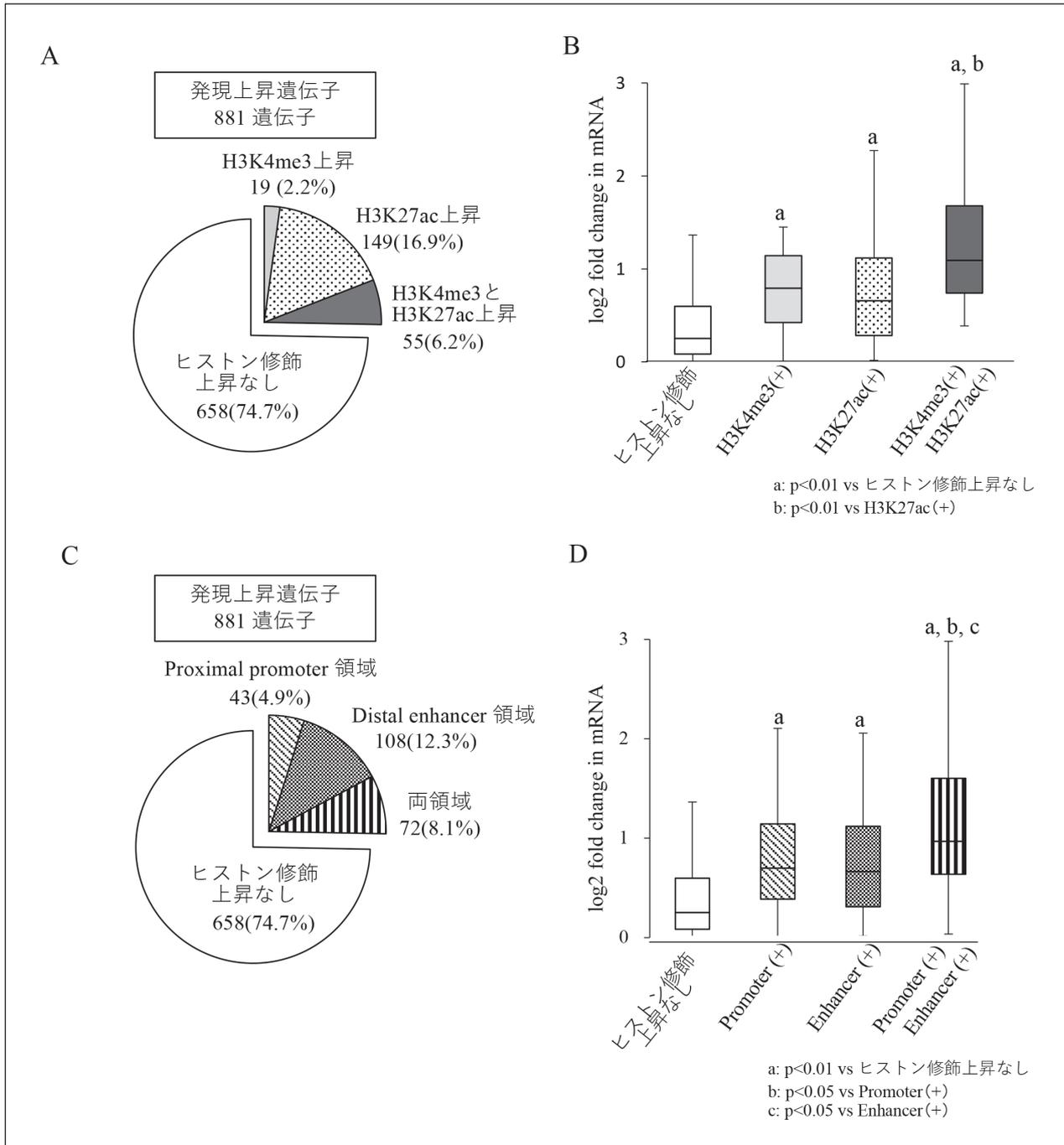


図2 ゲノムワイドヒストン修飾変化と遺伝子発現変化

- A. 脱落膜化により発現変化する遺伝子のうち H3K27ac, H3K4me3 修飾変化を伴う遺伝子の割合
- B. ヒストン修飾変化の有無と遺伝子発現増加程度との関係
- C. 発現上昇遺伝子におけるヒストン修飾変化領域
- D. ヒストン修飾変化領域と遺伝子発現増加程度との関係

assayでは、エンハンサー領域のDNA塩基配列がもつ reporter遺伝子への活性は測定できるものの、実際にゲノム内において、どの遺伝子発現にエンハンサー活性が関与しているかは同定できない。また、合成された直鎖状DNAを細胞内に導入して行うアッセイのため、エンハン

サー領域の持つエピゲノムの状態も再現できない。そこで、ゲノム編集を用いエンハンサー領域のDNA塩基配列を欠失させた細胞を作成した。その細胞内における遺伝子発現を調べることで、エンハンサー領域が実際にIGFBP-1遺伝子発現に関与しているかを調べることが

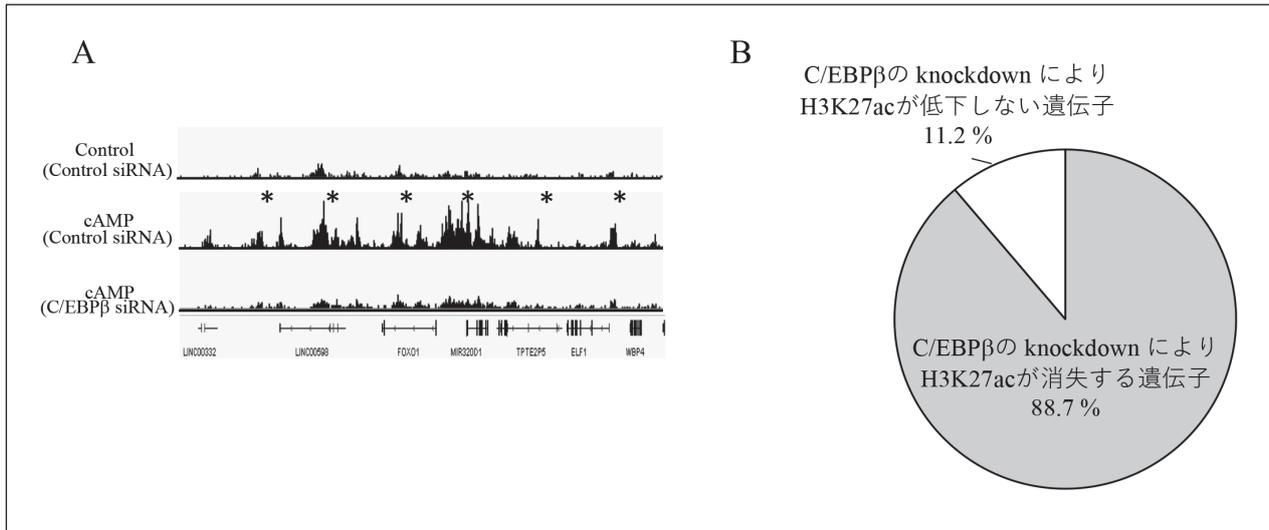


図3 C/EBP β によるゲノムワイド H3K27ac 修飾誘導

- A. ChIP-sequence により得られた H3K27ac シグナル. ある代表領域の結果を示す. *は cAMP 刺激で H3K27ac 修飾が上昇し, C/EBP β の knockdown により低下する領域を示す.
- B. C/EBP β のノックダウンによるゲノムワイド H3K27ac 修飾への影響. 脱落膜化で誘導される H3K27ac 変化の 88.7% は C/EBP β のノックダウンにより消失した.

できると考えた. ESC は初代培養細胞であるためにゲノム編集に必要な cloning が困難である. よって, IGFBP-1 を高発現し, cloning が可能な HepG2 細胞を用い, エンハンサー欠失細胞を作製した(図4B). エンハンサー欠失細胞では, wild type 細胞にくらべ, IGFBP1 発現が抑制されていた(図4C). すなわち, ゲノム編集を用いることにより, reporter assay では不可能であったエンハンサー領域の遺伝子発現への関与を直接証明することができた⁹⁾. このように, ヒストン修飾解析やクロマチン構造解析(エピゲノム解析)とゲノム編集を組み合わせたエピゲノム・ゲノム解析という新たな手法を用いることで, 脱落膜化における遺伝子発現に関連した新たなエンハンサー領域を同定することに成功した(図4D).

5. 結語

脱落膜化のエピゲノム解析を行うことにより, 脱落膜化という現象は dynamic なエピジェネティック変化により劇的な遺伝子発現調節が起こり, 様々な細胞機能変化が誘導される現象であることが明らかとなった. エピゲノム変化は, 胚性幹細胞(ES 細胞)や人工多能性幹細胞(iPS)細胞などといった未分化細胞の分化過程など, きわめて顕著な細胞機能変化が起こる際に誘導されることはこれまでも知られていた. ESC は分化した体細胞であるにもかかわらず, その ESC がプロゲステロンの影

響をうけ, ゲノムワイドなエピゲノム変化を起こすというのは非常に興味深い. 脱落膜化は一種の細胞分化過程であるとも考えられているが, 我々が明らかにしたエピゲノム変化の観点からもそれが支持される. 脱落膜化がどのように着床現象に貢献しているかは未だ不明な点も多い. さらなる脱落膜化調節機構の解明は, 着床不全・不育症の原因解明・治療につながると考える.

6. 謝辞

ヒストン修飾抗体は, 東京工業大学 木村宏教授に譲渡頂いた. RNA-sequence, ChIP-sequence 解析は九州大学 大川恭行教授にご協力いただいた.

参考文献

- 1) Gellersen B, Brosens IA, Brosens JJ: Decidualization of the human endometrium: mechanisms, functions, and clinical perspectives. *Semin Reprod Med*, 25: 445-453, 2007.
- 2) Gellersen B, Brosens JJ: Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure. *Endocr Rev*, 35: 851-905, 2014.
- 3) Tamura I, Takagi H, Doi-Tanaka Y, Shirafuta Y, Mihara Y, Shinagawa M, Maekawa R, Taketani T, Sato S, Tamura H, Sugino N: Wilms tumor 1 regulates lipid accumulation in human endometrial stromal cells during decidualization. *J Biol Chem*, 295: 4673-4683, 2020.
- 4) Li B, Carey M, Workman JL: The role of chromatin during

Maekawa R, Taketani T, Asada H, Tamura H, Sugino N: The distal upstream region of insulin-like growth factor-binding protein-1 enhances its expression in endometrial stromal cells during decidualization. *J Biol Chem*, 293: 5270-5280, 2018.

凍結保存タンク表面温度の監視は、 真空不良の検知に有効である

A monitoring system for tank surface temperature is effective in detecting vacuum failure.

小橋 朱里¹, 水野 里志¹, 入江 真奈美¹, 中西 麻実¹, 松本 寛史¹, 佐藤 学²,
福田 愛作¹, 森本 義晴³

Akari Obashi¹, Satoshi Mizuno¹, Manami Irie¹, Mami Nakanishi¹, Hiroshi Matsumoto¹, Manabu Sato², Aisaku Fukuda¹,
Yoshiharu Morimoto³

¹IVF 大阪クリニック 〒577-0012 大阪府東大阪市長田東 1-1-14

²IVF なんばクリニック 〒550-0015 大阪府大阪市西区南堀江 1-17-28 なんば SS ビル 3F

³HORAC グランフロント大阪クリニック 〒530-0011 大阪府大阪市北区大深町 3-1 グランフロント大阪タワー B15F

¹IVF OSAKA CLINIC 1-1-14 Nagata-Higashi, Higashi-Osaka City, Osaka, Japan

²IVF NAMBA CLINIC 1-17-28 Minami-Horie, Nishi-ku, Osaka City, Osaka, Japan

³HORAC IVF GRAND FRONT 15F Tower B, Grand Front Osaka, 3-1 Ofuka-cho, Kita-ku, Osaka City, Osaka, Japan

要旨： 胚の凍結保存は生殖補助医療に欠くことの出来ない技術の1つであり、それに伴う凍結保存タンクの管理は極めて重要である。海外のタンク事故が示すようにタンクに事故が起きれば、その被害は深刻である。今回、我々は意図的に真空不良を誘起したタンクの外観の観察、液体窒素残量、内部温度、ならびに表面温度の経時的な測定を行った。さらに、タンク表面温度変化の検知による監視システムの有効性を検証した。真空不良誘起から15分以内にタンクの蓋に霜がつき表面が結露した。同時に急激な液体窒素の減少が始まり、10Lタンクでは約8時間後に内部温度が-80°Cまで上昇した。表面温度は真空不良誘起3分後から低下し始め、アラームメールは6分後から実験終了まで、合計132通受信された。真空不良発生直後からタンク表面温度が低下することから、表面温度を監視するシステムは、重大なタンク事故につながる真空不良の検知に有効であると考えられる。

キーワード： 液体窒素, 真空不良, 凍結保存タンク, 胚, 品質管理

ランニングヘッド： 凍結保存タンク表面温度監視の有効性検討

英文要旨： The cryopreservation of embryos is one of the essential techniques in assisted reproductive medicine. Therefore, the management of tanks for cryopreservation is of critical importance. As overseas cases have shown, tank accidents cause profound consequences for the embryos and gametes preserved. In the present study, we induced a vacuum failure in a cryopreservation tank, observed the associated changes in the tank surface, and measured the remaining liquid nitrogen, internal temperature, and surface temperature over time. Furthermore, the effectiveness of a monitoring system that detects abnormal tank surface temperatures was evaluated. Within 15 minutes of vacuum failure induction, frost began to form on the tank lid and condensation appeared on the surface. At the same time, a rapid decrease in liquid nitrogen began. The internal temperature of the 10L tank reached -80° C approximately 8 hours after a vacuum failure induction. The surface temperature of the tank began to drop 3 minutes after a vacuum failure induction. A total of 132 alert e-mails from the monitoring system were sent beginning 6 minutes after a vacuum failure induction until the end of experiments. In conclusion, the tank surface temperature decreased immediately after the vacuum failure, suggesting that a system that monitors the tank surface temperature would be effective in detecting vacuum failures that could cause catastrophic damage to the stored embryos.

キーワード： Cryopreservation, Embryo, Liquid nitrogen tank, Quality management, vacuum failure

緒言

我が国において、凍結融解胚移植によって出生する児は生殖補助医療によって出生する児の約9割を占めており¹⁾、胚の凍結保存は生殖補助医療に欠くことのできない技術の1つである。卵子、精子および胚の凍結保存には凍結保存用タンク(タンク)が必須となるが、このタンクに関する事故が海外にて実際に発生し、2018年アメリカで発生した事故では2施設で合計1100組の患者の卵子・胚が、同年カナダにて発生した事故では数千個の卵子・胚が損失されたと報じられている²⁾。これらの事故が示すように生殖補助医療を行う施設にとって、タンクを適切な状態で管理することは極めて重要であるが、タンクに異常が起きた場合どのような状態になるか知られていない。

タンクは外槽と内槽の2重構造にて構成され、その間に真空断熱が施されている。このため、正常な状態のタンクでは内槽内にある液体窒素(LN₂)の冷気が内槽内に留まること、LN₂が外気の影響を受けないことにより、LN₂の急激な蒸発が防がれている。しかし、何らかの原因でタンクが破損し真空断熱が損なわれた状態(真空不良)になると、内槽内の冷気が外部に流出すると同時にLN₂が外気の影響を受けるために、急激なLN₂の蒸発が起きる。

タンク内の液体窒素(LN₂)が枯渇する原因は、自然蒸発、真空不良、構造上の欠損の3つに分類することができる³⁾。Schieweらの報告では、標準的な保存タンクは少なくとも週に1度はLN₂が補充されるべきであり、定期的なLN₂の液面の測定が必要とされている⁴⁾。また、日本で広く使用されている30～50Lタンクにおいて自然蒸発でタンク内のLN₂が満タンから完全蒸発するま

での期間は、メーカーの製品情報によると約2ヵ月から約11ヵ月とされている。このため、Schieweらの報告通りの運用がなされているならば、自然蒸発によるLN₂の枯渇は発生しない。

Pomeroyらの報告によると、タンクに真空不良がおきるとLN₂の蒸発速度は劇的に増加し保存された検体を正常に保管できない状況になるとされている³⁾。構造上の欠損については、真空不良を経由して発生すると考えられる。このため、タンク事故を防ぐためには真空不良発生をできる限り早期に検知し、保管されている検体を安全な場所へ移動することが重要である。

今回、我々は、真空不良を起こしたタンク外観の変化の観察、液体窒素残量、タンク内部温度、ならびにタンク表面温度の経時的な測定を行った。さらに、タンク表面温度変化の検知によるタンク監視システムの有効性を検証した。

方法

実験1：真空不良を起こしたタンクに起きる変化

10Lタンク(XT10, Taylor-Wharton社)3台を使用した。それぞれのタンクにLN₂を満タンに入れ、タンクの上部、真空弁、溶接部のいずれかへ約2mmの穴を開け強制的に真空不良を誘起した(図1)。すべてのタンクにおいて、外観の観察、LN₂残量とタンク内部温度の測定を、最初の1時間は15分毎、1時間経過した後は1時間毎にLN₂が枯渇するまで行った。残量の測定方法と温度の測定位置(タンク内で胚が保存されている位置の温度を測定)は、図2に示す。

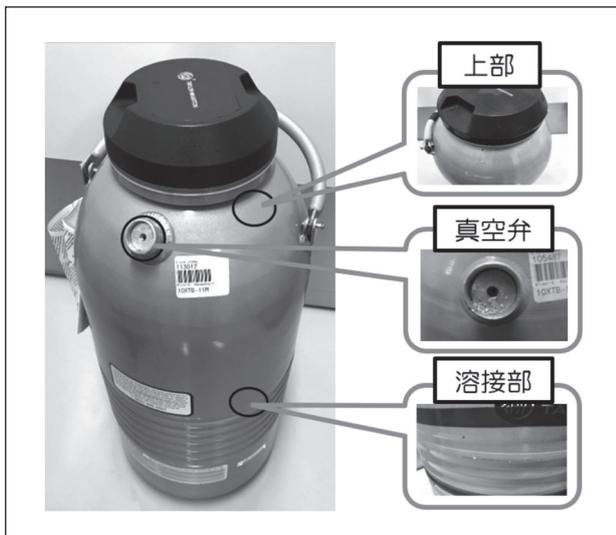


図1 タンクの破損箇所

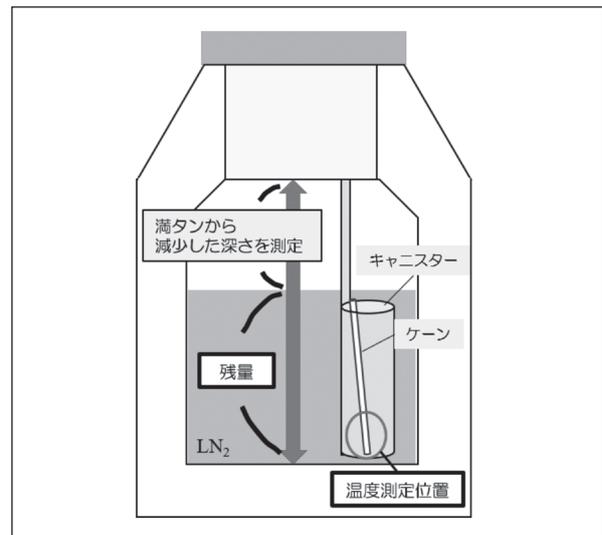


図2 液体窒素残量の測定方法と内部温度の測定位置

実験2：タンク容量の影響

容量の異なるタンクを3台用意し (XT10, HC20, HC35, Taylor-Wharton社), 実験1と同様の測定を行った。なお, 3台とも真空弁に穴を開け強制的に真空不良を誘起した。

実験3：真空不良を起こしたタンク表面温度の測定

10Lタンク (DR-10A, クライオワン社) にLN₂を満タンに入れ, 温度を感知するセンサーをタンク表面上部に設置した (図3)。このセンサーにて感知した温度を, PCへ送信し, PC内のデータロガーシステム (CWS-30COOL, チトセ工業社) にて記録を行った (図3)。温度測定は1分毎に実施するように設定した。タンク表面温度が室温付近で安定していることを確認後, タンク上部へ約2mmの穴を開け強制的に真空不良を誘起した。測定はLN₂が完全に蒸発するまで実施した。

実験4：温度変化の検知によるタンク監視システムの有効性の検証

実験4は, 実験3と同時にされた。今回のデータロガーシステムでは, 設定した温度変化を契機としてアラームを送信することが可能である (図3)。タンク表面温度が20℃以下となった時にアラームメールが3分間隔で送信されるよう設定し, 真空不良誘起からLN₂が完全に蒸発するまでメールの確認を行った。

実験1～4は, 室温が約24℃にコントロールされている室内で行われた。

結果

実験1：真空不良を起こしたタンクに起きる変化

すべてのタンクにおいて実験開始から15分後以内に蓋へ霜が付き, 本体表面に結露が確認された。その後約2時間経過した頃に蓋の霜は最も増え, 約4時間経過した頃から徐々に溶け, 測定終了時にはタンク表面に多くの水滴がつき, 床には水溜りが出来ていた (図4)。また, 破損箇所が上部と真空弁の場合, 蓋の霜が多くみられた。LN₂残量は, 最初の1時間のみ破損箇所間で減少量に差が見られたが, それ以降枯渇するまで, すべてのタンクで約4cm/hの速度で減少した (図5)。内部温度は, LN₂の残量が残り1cmになるまで-196℃を保っていたが, その後急激な上昇が見られた。測定開始から温度が-80℃に達するのに要した時間は, 上部を破損させた場合は8時間3分, 真空弁では7時間54分, 溶接部では9時間23分であった (図5)。なお, 同型タンクにおける当院の通常運用では, 7日間で満タン時より約2cm, LN₂の液面が低下する。

実験2：タンク容量の影響

10Lタンクにおける結果は実験1の真空弁を破損させた場合のデータを用いた。外観の変化については, タンク容量にかかわらず実験開始から15分以内に霜が発生した。LN₂残量は, すべてのタンクにおいて実験開始1時間で急激な減少が起こった。その後, LN₂は20Lでは2-5cm/時間, 35Lタンクでは2-4cm/時間で減少した (図6)。内部温度は20L, 35Lタンクともに残量

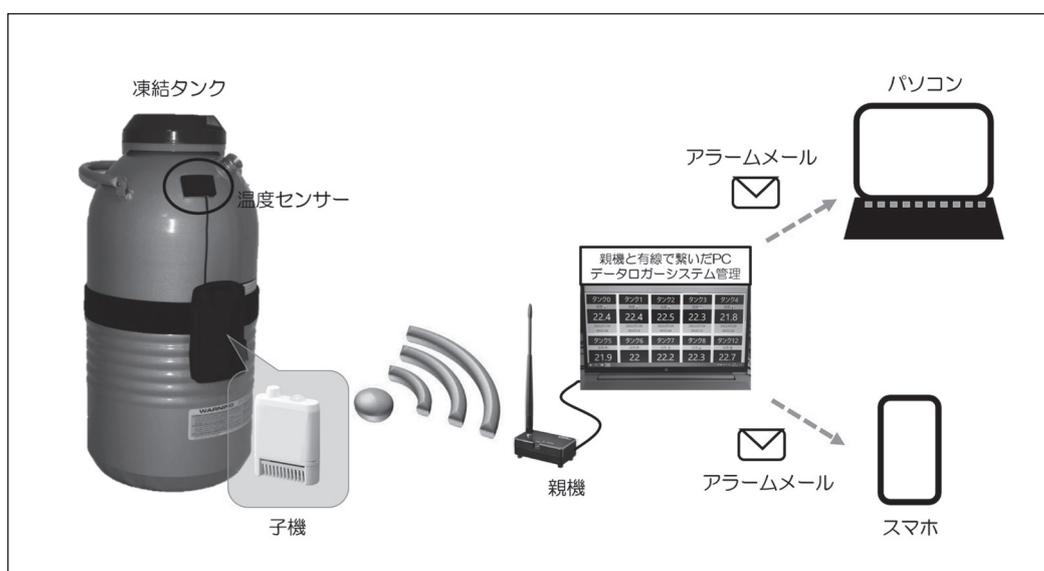


図3 タンク表面温度を監視するシステム

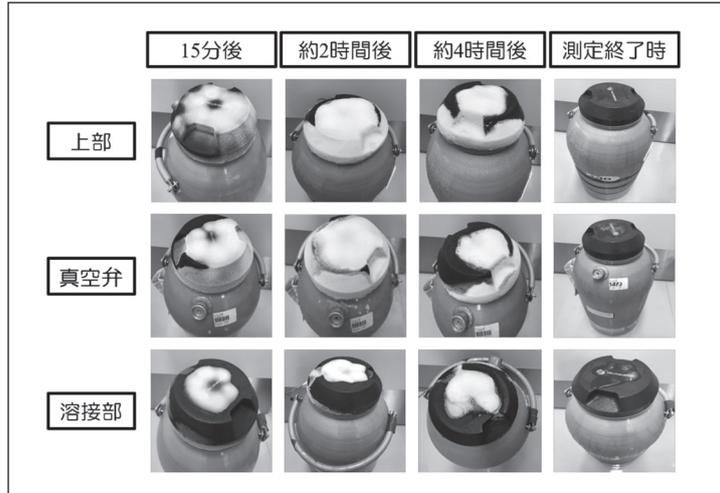


図4 真空不良を誘起したタンクの外観変化

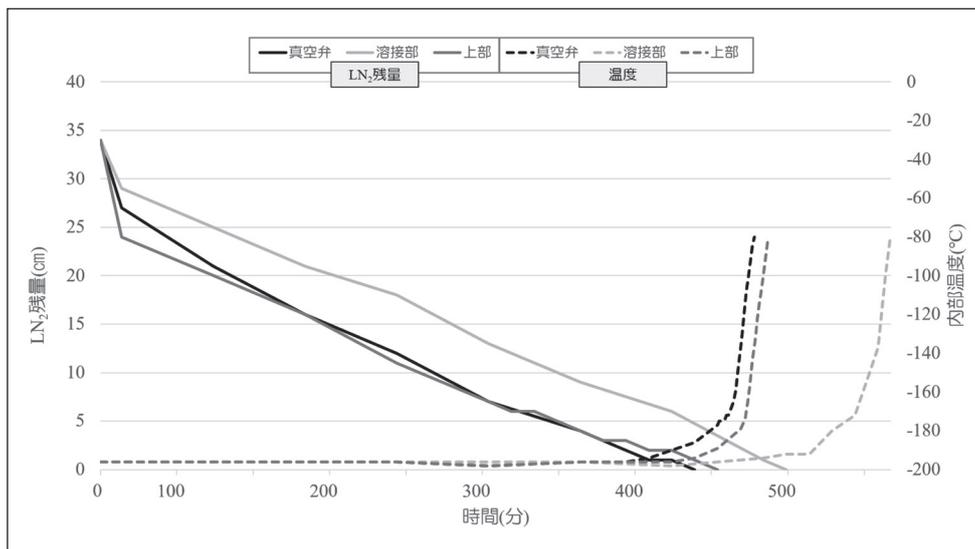


図5 破損部位別の真空不良誘起後のLN₂残量と内部温度の変化

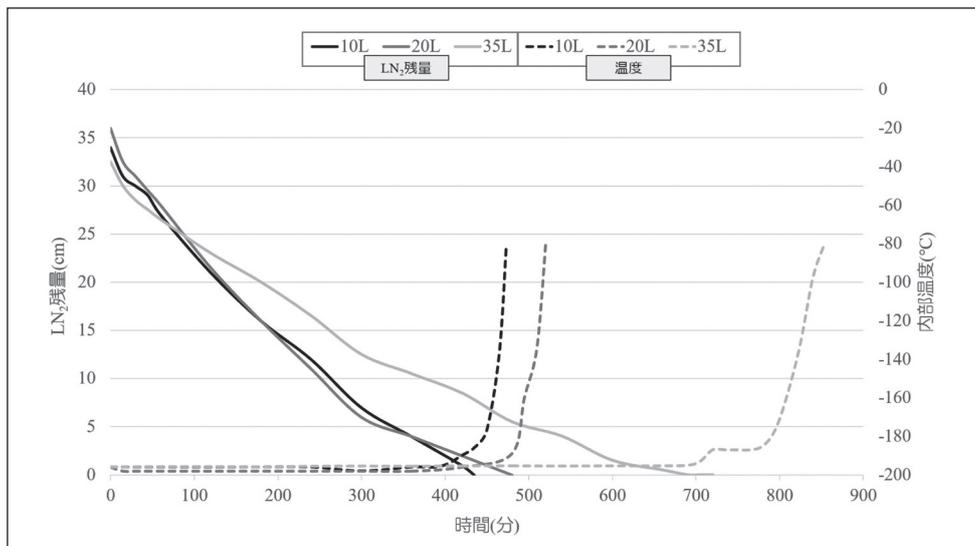


図6 異なる容量のタンクにおける真空不良誘起後のLN₂残量と内部温度の変化

が0 cmになったときに急激な上昇が見られた。実験開始から内部温度が-80℃になるまでの時間は、20Lタンクで8時間41分、35Lタンクで14時間14分であった。(図6)。なお、同型タンクにおける当院の通常運用では20L、35Lタンクともに7日間で満タン時より約4cm、LN₂の液面が低下する。

実験3：真空不良を起こしたタンク表面温度の測定

真空不良誘起から3分後にタンク表面温度が低下し始め、6分後には20℃以下である19.1℃、11分後には10℃以下の8.8℃まで低下した。93分後と99分後に最低温度である-0.5℃を観測した。LN₂が完全に蒸発したと考えられる400分後の温度は5.6℃であった(図7)。

実験4：温度変化の検知によるタンク監視システムの有効性の検証

真空不良誘起から6分後に表面温度が20℃以下の19.1℃となり、最初のアラームメールを受信した。アラームメールは、それ以降3分間隔で測定終了まで合計132通が受信された。

考 察

卵子・精子・胚の凍結保存には凍結タンクが必須である。海外でのタンク事故が示すように、タンクに事故が起きた場合の被害は壊滅的であるにもかかわらず、重大なタンク事故につながる真空不良に関する情報はほとんど知られていない。本実験は、真空不良を起こしたタンク

クに起きる変化を明らかにするとともに、その発生を効果的に検知する方法を検証した。

真空不良が起きたタンクの特徴の一つに、タンク表面が結露することが知られている。今回の実験1では、結露は真空不良が起きてから15分以内に発生することが明らかにされた。22.4Lタンクを使用したMichaelsonらの報告によると、真空不良によってタンク内の温度が-185℃になるまでには約4時間、LN₂重量が満タンから10%減少するまでには約50分、50%減少するまでには約5時間であったとしている⁵⁾。今回の実験では、内部温度が上昇するタイミングは、LN₂の残量が0~1cmになった時でLN₂が枯渇する直前であった。さらに、10Lタンクにおいては、LN₂残量が半分になる時間は、真空不良誘起から約3~4時間であった。したがって、外観の変化を監視することはタンクの内部温度やLN₂の残量を監視するよりも早期に真空不良を検知することができると考えられた。

実験1では、タンクの異なった個所を破損させ真空不良を誘起した。当初は破損個所にかかわらず、内部温度が-80℃まで上昇するまでの時間は変わらないと予測していた。しかし実際にはタンク下部の溶接部を破損させた場合、内部温度が-80℃まで上昇するまでの時間がその他の部位を破損させた場合と比較して1時間以上長かった。今回の実験ではこの差が破損個所によるものなのか結論付けることは出来ないが、真空不良時の対応はLN₂の蒸発が早い方を想定すべきと考え実験2以降は真空弁、あるいはタンク上部を破損させて行った。

真空不良を起こしたタンクの表面は結露することから、タンク表面温度が低下している可能性が予測された。実

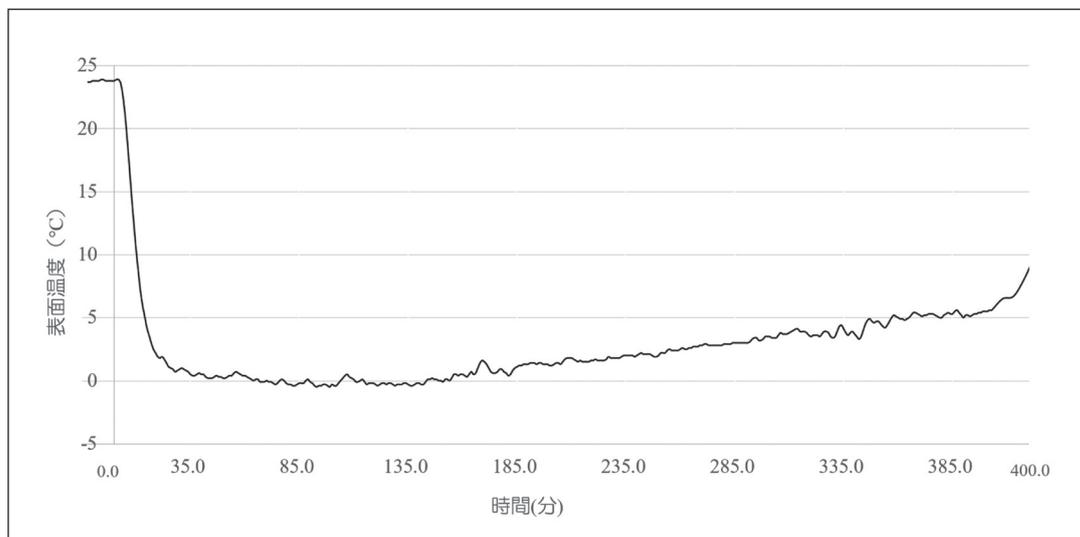


図7 真空不良誘起後のタンク表面温度の変化

際にタンク表面温度を測定した結果、真空不良を誘起した3分後からタンク表面温度の低下が始まっていた。この温度変化を監視すれば早い段階でタンクの真空不良を検知できると考えた。タンク表面温度の監視にはアラーム通知機能を搭載したデータロガーを使用して行った。その結果、真空不良発生から6分後に異常を知らせるアラームメールが届き、想定通り非常に早い真空不良の検知が可能であった。

現在、凍結タンクの警報機として、タンク重量や内部温度の変化を監視するシステムが市販されている。これらのシステムは、真空不良発生後に規定値以上のLN₂蒸発が起こらないと異常が検知できない。今回の実験1が示すように、10Lタンクでの真空不良が起こった際に完全に液体窒素が蒸発するまでの時間は約7時間であった。LN₂重量が半分となったときにアラームが発報されるよう設定した場合、異常通知は真空不良発生から約3時間半ということになり、今回の方法と比較して3時間以上通知が遅くなることになる。実験2の結果から真空不良発生後のタンク表面の結露は、タンク容量が変化しても15分以内に発生した。一方で、LN₂残量が0cmになるまでの時間や内部温度が-80℃まで上昇するまでの時間は、タンク容量が大きくなるにつれて長くなった。このため、タンク重量や内部温度の変化を監視するシステムではタンク容量が大きくなるほど真空不良発生から警報発報までの時間、すなわち真空不良発生の検知までの時間が長くなると考えられた。また、タンク表面温度の監視はタンク重量や内部温度の監視と比べると簡単に行うことができる。

実験4では、真空不良発生の6分後から測定終了まで132回のメール受信が確認された。必ず最初のメールに気が付くわけではないので、繰り返しのアラームメールは警報機の機能として非常に有効と考えられた。

今回の実験は、特定のタンクを使用して行われた。タンクは外槽と内槽の2重構造にて構成され、その間に真空断熱が施されている。タンクの種類が変わってもこの構造は同じであることから、真空不良が起きた場合のタンクに起きる変化は大きく変わらないと考えられる。しかし室温をはじめとしたタンクが設置されている環境や、タンクの種類が変わることにより真空不良が起きた場合のタンクに起きる変化が異なってくる可能性があることに留意する必要がある。

真空不良によるタンクの事故が起こった場合、タンク内のLN₂が枯渇するまでの時間は35Lタンクでも24時間より短い。このため、出来る限り早期に真空不良発生を検知し対応時間を稼ぐことが事故の被害を無くす為の要点になると考えられる。今回の実験を通して、タン

クに真空不良が発生した直後に現れる特徴の一つはタンク表面の結露ならびに温度低下であることを明らかにした。さらに、この温度低下を監視することは真空不良発生の検知に有効であることが示された。

利益相反の開示

共同研究者の水野は、液体窒素タンクの監視方法に関する特許を出願中である。

参考文献

- 1) ART データブック：日本産科婦人科学会 登録・調査小委員会 https://www.jsog.or.jp/modules/committee/index.php?content_id=12 (2022.7.23)
- 2) Mina Alikani : Cryostorage of human gametes and embryos: a reckoning. *Reprod Biomed Online*, 37, 1: 1-3, 2018.
- 3) Kimball O. Pomeroy, Michael L. Reed, Brian LoManto, Stanley G. Harris, W. Brent Hazelrigg, Dawn A. Kelk : Cryostorage tank failures: temperature and volume loss over time after induced failure by removal of insulative vacuum. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 36: 2271-2278, 2019.
- 4) M. C. Schiewe, M. Freeman, J. B. Whitney, M. D. VerMilyea, A. Jones, M. Aguirre, C. Leisinger, G. Adaniya, N. Synder, R. Chilton, E. J. Behnke : Comprehensive assessment of cryogenic storage risk and quality management concerns: best practice guidelines for ART labs. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 36: 5-14, 2019.
- 5) Zahava P. Michaelson, Sai T. Bondalapati, Selma Amrane, Robert W. Prosser, Daniel M. Hill, Pallavi Gaur, Matt Recio, David E. Travassos, Mikaela D. Wolfkamp, Sasha Sadowy, Colin Thomas, Eric J. Forman, Zev Williams : Early detection of cryostorage tank failure using a weight-based monitoring system. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 36: 655-660, 2019.

地方都市モデルにおける COVID-19 感染前後の 不妊治療動向

Changes of reproductive treatment in a model of local city due to COVID-19 epidemic

中井 奈々子, 竹原 功, 金子 宙夢, 中村 文洋, 高橋 杏子, 松川 淳,
松尾 幸城, 永瀬 智

Nanako NAKAI, Isao TAKEHARA, Hiromu Kaneko, Fumihiko NAKAMURA, Kyoko TAKAHASHI, Jun MATUKAWA,
Koki MATSUO, Satoru NAGASE

山形大学医学部附属病院 産婦人科

要旨： 新型コロナウイルス (COVID-19) の世界的な大流行により、感染拡大当初は不妊治療を延期や中止すべきか議論となった。こうした不測の事態における不妊治療の社会的な位置づけは、実際の不妊患者の受診行動の変化から検討できるのではないかと考えた。そこで我々は感染拡大の影響が比較的少ない地方都市モデルとして、当院での実態を後方視的に検討した。2018年1月～2021年6月に当院で不妊治療を受けた患者について年齢や月間症例数を後方視的に調査し、2020年1月前後でpre-COVID群またはpost-COVID群と群別して比較検討した。感染拡大前後において各治療群の症例数に有意な変化はなかったが、高齢層では治療の選択に変化を生じた。地方都市という環境下ではあるが、感染拡大後も不妊治療を必要な治療と捉え治療を継続する患者が少なくない事が示唆され、安全への留意を確保し十分な説明の上で治療の提供を継続することが必要と考えられた。

キーワード： COVID-19感染, 地方都市, 不妊治療, 受診行動

ランニングヘッド： COVID-19流行前後の不妊治療動向

英文要旨： During the recent global coronavirus (COVID-19) pandemic, it became controversial to postpone or discontinue infertility treatment since the spread of infection began. The provision of infertility treatment in this situation could be based on actual changes in patients' consultation behavior. We retrospectively examined the situation at our hospital as a model for a local city, where the impact of the spread of infection was relatively small. We investigated the age and monthly numbers of patients who received infertility treatment at our hospital from January 2018 to June 2021, and divided them into pre-COVID and post-COVID groups from January 2020. The number of cases did not change significantly before and after the spread of infection, but the choice of treatment changed in patients >40 years old. These results suggest that patients continued to receive infertility treatment even after the infection spread, and that it was possible to ensure safety and continue treatment with adequate counselling.

キーワード： COVID-19, local urban, infertility treatment, consultation behavior

ランニングヘッド： Fertility treatment trends before and after the COVID-19 epidemic

緒言

新型コロナウイルス (COVID-19) が2020年初頭より世界的に大流行し、現在も未だ収束の見通しは不明瞭である。日本国内においては大都市圏と地方都市で流行の規模に程度の差はあったが、比較的感染者が少ない地方都市においても感染拡大の影響を少なからず受けていた。山形県内においては2021年末までに約

3600人が感染し58人が死亡した¹⁾が、これは全国では47都道府県中45番目であり比較的感染者数の少ない地方であったといえる。一方、感染拡大当初COVID-19感染が蔓延する中で世界的に不妊治療の停止や延期を考慮する動きがあり²⁾、82.5%の国で生殖補助医療施設の閉鎖または制限がなされた時期があった³⁾。本邦でも2020年4月1日に日本生殖医学会から延期が可能なものについては人工授精、体外受精・胚移植、生殖外

受付 2022年10月7日 / 受理 2023年3月9日

責任著者：中井 奈々子 e-mail [nanako-nakai@med.id.yamagata-u.ac.jp]

科手術などの不妊治療の延期や中止を考慮するよう声明が出され各施設に対応が求められた⁴⁾。これをうけ、当時感染者数がわずかであった山形県内の当院においては、十分な感染対策を前提とし、日本生殖医学会の声明の内容を十分に患者に説明した上で、基本的には声明に従いながら患者本人の希望を尊重して治療方針を決定する方針とした。こうした世界規模の未知の感染症の拡大といった不測の事態において、社会生活の自粛や受診行動の変容が求められる中で、不妊治療はどのような位置づけであるべきか、また患者の受診行動にどう影響し得るのかについては今回のCOVID-19感染拡大に限らず重要な課題と考えられる。不妊治療は患者の年齢によっては延期を許容できないものであり、各年齢層によって受診行動も異なることが予想される。

そこで今回我々は、とくに感染拡大の比較的少ない地方モデルとして、COVID-19感染拡大に伴う治療行動制限が不妊治療の受診行動にどのような影響を与えたかについて、我々の施設における感染拡大期間中の不妊治療の実態を後方視的に検討することとした。

対象と方法

本研究は山形大学の倫理委員会の承認を得て行った(承認番号2021-221号)。2018年1月から2021年6月までに当院の不妊外来を受診した患者の中で、AIH、採卵手術、胚凍結、胚移植を受けた者、および新たに他院から紹介された者、計3,158例を対象とした。対象患者について診療記録から、これらの治療および紹介受診をした際の年齢及び月間症例数を調査し後方視的に検討した。

COVID-19の感染拡大による影響を調査するため期

間を二群に分割し、2018年1月～2019年12月の群を感染拡大前の患者群(pre-COVID群:1,811例)、2020年1月～2021年6月を感染拡大後の患者群(post-COVID群:1,347例)と定義した。まず、AIH、採卵手術、胚凍結、融解胚移植の各治療および紹介受診における患者年齢についてpre-COVID群とpost-COVID群にわけてそれぞれ比較検討した。次に、年齢層を全年齢、40歳未満、40歳以上にわけてそれぞれの層でのAIH、採卵手術、胚凍結、融解胚移植、及び紹介患者の月間症例数についてpre-COVID群とpost-COVID群にわけてそれぞれ比較検討した。統計学的解析には統計ソフトとしてRを使用し、t検定及びMann-Whitney U検定を用いた。P値が0.05未満を統計学的有意差ありとした。

結果

はじめに、pre-COVID群とpot-COVID群それぞれの全症例および各治療別の月間症例数の変化について検討した。全症例におけるpre-COVID群の月間症例数は平均75.5例/月、post-COVID群の月間症例数は平均74.8例/月であり、統計学的有意差はなかった(P=0.76)。また治療種類別にみた場合も同様に、AIH、採卵、胚凍結、融解胚移植、紹介患者数の全ての群でCOVID-19流行前後の月間平均症例数に統計学的有意差は認めなかった(表1)。

次に治療を受けた患者年齢について、各治療別にpre-COVID群とpost-COVID群で比較検討した。AIHおよび胚凍結を受けた患者の年齢分布は両群間に統計学的有意差を認めたが(それぞれP=0.0026、

表1 COVID-19感染流行前後の月間平均症例

	pre-COVID	post-COVID	P
Total(n=3,158)	75.5 (1,811)	74.8 (1,347)	0.76
AIH(n=1,051)	26.5 (635)	23.1 (416)	0.24
採卵(n=702)	17.2 (412)	16.1 (290)	0.63
胚凍結(n=995)	8.2 (197)	9.8 (176)	0.37
融解胚移植(n=665)	14.3 (343)	17.5 (315)	0.12
他院からの紹介 (n=322)	9.3 (224)	8.3 (150)	0.24

※ () 内は期間内合計症例数

P=0.0097), 採卵手術, 融解胚移植, 紹介患者の年齢には有意差がなかった(表2). AIHを受けた患者年齢の中央値は両群ともに35歳で同じであったが, post-COVID群ではpre-COVID群に比して第一四分位数が低く四分位範囲が広がっており, 比較的若い年齢層のAIH患者が増加していた. 一方, 胚凍結においてはpre-COVID群に比してpost-COVID群の年齢中央値が高く, 患者年齢が有意に高かった(P<0.01)(図1).

またサブグループ解析として, 各治療別に40歳未満群, 40歳以上群に群別し, pre-COVID群とpost-COVID群における月間症例数について検討した. 40歳未満の群においては, pre-COVID群とpost-COVID群において月間症例数に有意差はなかった(表

3A). 一方, 高年齢層である40歳以上の群においては, AIHの月間症例数がpost-COVID群で有意に減少していた(P=0.013)(表3B).

考 察

COVID-19の感染拡大をうけて社会的に受診行動の変化を余儀なくされてきた中で不妊治療はどのような影響を受けてきたのか, 感染拡大の影響が比較的少なかった地方モデルとして我々の施設における感染拡大前後の治療実態について後方視的に検討した. その結果, AIHと胚凍結の項目で感染拡大前後に治療を受けた年齢が有意に変化していた. とくに40歳以上の群に

表2 COVID-19 感染流行前後の治療項目別患者年齢の比較

	pre-COVID	post-COVID	P
AIH(n=1,051)	35(33-38)	35(32-38)	<0.01
採卵(n=702)	38(36-41)	38(35-42)	0.30
胚凍結(n=373)	35(33-38)	37(33-39)	<0.01
融解胚移植(n=658)	36(34-39)	37(33-39)	0.42
他院からの紹介 (n=374)	35 ± 4.7	35 ± 4.6	0.93

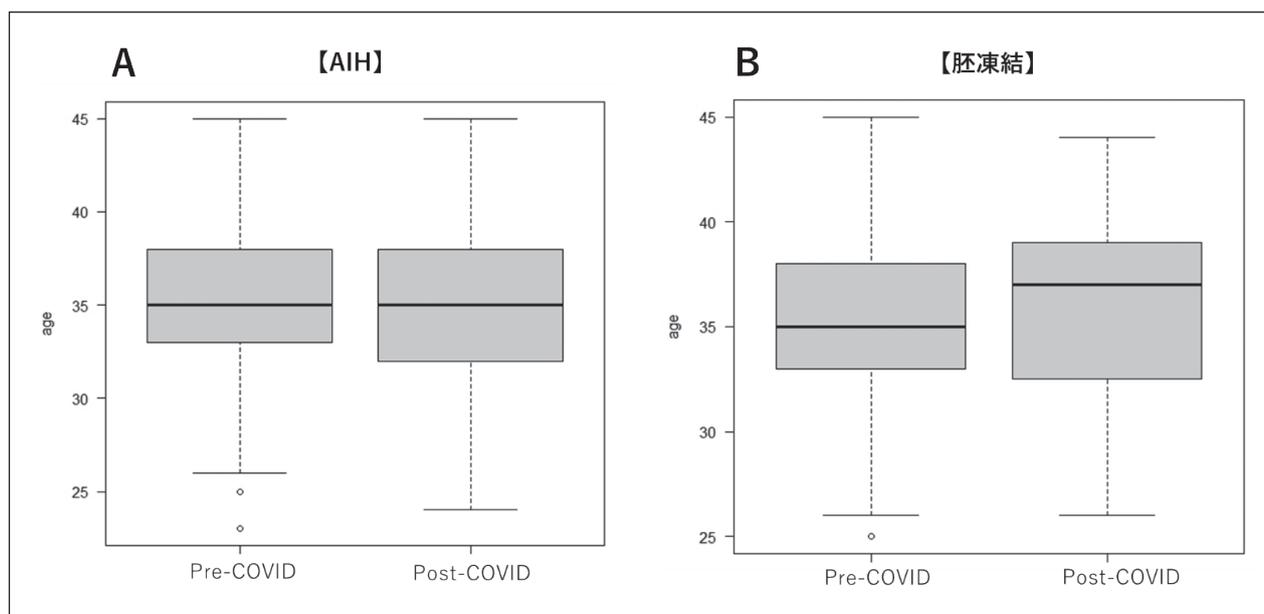


図1 COVID-19 感染流行前後のAIH, 胚移植の患者年齢の比較

A: 感染流行前後のAIHを受けた患者年齢の比較. B: 感染流行前後の胚凍結を受けた患者年齢の比較. いずれも有意差を認めた(p<0.01)

おける治療行動の変化が感染拡大前後の患者年齢の変化に影響していると考えられた。一方、全体として感染拡大前後における月間症例数に差は認められず、COVID-19の感染拡大を考慮しても患者は不妊治療を必要な治療と捉え、受診行動に明らかな影響を及ぼさなかったものと考えられた。

今回の検討により、全年齢および40歳未満の群では変化がなかったが、40歳以上の群ではAIHの月間症例数が減少していることがわかった(表1,表2)。当初我々はpost-COVID群で全体的な症例数が減少すると想定していたが、実際には感染前後で症例数に有意な変化はなく、COVID-19感染拡大の影響下であっても多くの患者が不妊治療の継続を選択したと考えられた。中でも40歳以上の群では感染拡大後に治療内容についての行動変容があったと思われ、AIHを中止し早期のARTへのステップアップを決定したと考えられた。AIHによる妊娠率は年齢が上昇すると共に有意に低下するため⁵⁾、感染拡大により治療行動が制限される中でARTへの早期ステップアップは妥当な選択であったと考えられる。

次に、ARTに限定するとpost-COVID群で胚凍結を受けた患者の年齢に有意な上昇がみられた。一方、40歳以上の群における胚凍結を受けた月間症例数には有

意差がなかった。ここで、40歳以上の群で新鮮胚移植を行った月間症例数について検討すると、post-COVID群で有意に減少していることがわかった(P=0.029)(図2)。これらのことから、比較的高齢群では感染拡大傾向のなかで新鮮胚移植を選択せず、融解胚移植に備えた胚凍結を選択する傾向が強かったことが示唆され、post-COVID群において胚凍結を受けた患者の年齢に影響を与えた可能性があると考えられた。これまでCOVID-19感染流行が不妊患者へ与える精神的な影響に関して、不妊であるストレスがCOVID-19感染流行に伴う社会不安に勝るといった報告⁶⁾や、不妊治療の制限が大きな精神的苦痛となり得るといった報告⁷⁾がある。こうした精神面への影響は患者の治療行動の変容に影響しうると考えられるが、本研究で初めてCOVID-19の感染拡大前後で患者の実際の治療行動の変化を示すことができた。

延期できる不妊治療については延期すべきであるとの日本生殖医学会からの声明は、決して不妊治療の中止を義務とするものではなく延期や中止を含め検討を勧めるものであったが、社会的にも様々な活動への自粛を求める風潮は大きく、不妊患者への影響が少なからずあったものと予想された。しかし今回の検討で、全年齢層ある

表3 COVID-19感染流行前後の年齢層別にした月間症例数の比較

A【40歳未満】

	pre-COVID	post-COVID	P
AIH	22.5 ± 9.0	20.5 ± 6.6	0.45
採卵	10.2 ± 4.8	9.9 ± 4.7	0.85
胚凍結	6.2 ± 4.1	7.4 ± 4.4	0.31
融解胚移植	11.4 ± 5.1	13.7 ± 5.5	0.17
他院からの紹介	7.5 ± 2.6	6.8 ± 2.0	0.31

B【40歳以上】

	pre-COVID	post-COVID	P
AIH	4.0 ± 1.9	2.6 ± 1.5	0.013
採卵	7.0 ± 3.4	6.2 ± 3.8	0.49
胚凍結	2.0 ± 1.5	2.3 ± 2.6	0.61
融解胚移植	3(2-3)	4(2-3)	0.19
他院からの紹介	1.5(1-2.3)	1(1-2)	0.47

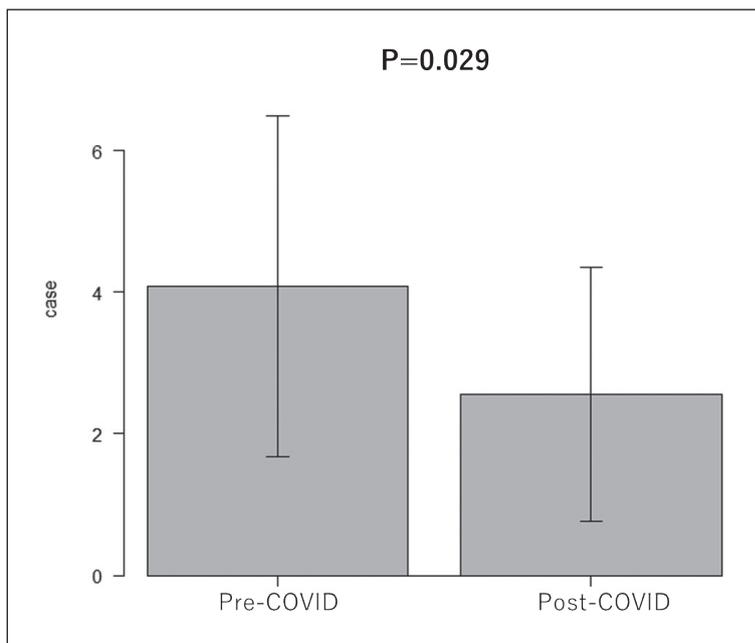


図2 40歳以上で新鮮胚移植を行った症例数の変化
40歳以上で新鮮胚移植をうけた月間症例数は post-COVID 群で有意に減少した。

いは比較的若年層では各治療項目の月間症例数に変化はなく、我々から十分な説明をうけた上で、治療行動には明らかな変化がなかったことが示唆された。その理由として、治療環境として山形県の COVID-19 感染状況が大都市などと比較し比較的緩徐であったことや、当院の不妊治療患者全員が山形県内在住であり県外との往来が抑えられたことといった感染リスクが低い状況が、治療を継続する選択に寄与していた可能性が考えられた。不妊患者を対象としたアンケート調査⁸⁾では、COVID-19 感染流行後であっても治療継続を選択した不妊患者の割合は多く、十分な感染対策と患者説明による理解を得れば不妊治療の継続が選択されることが多いとの報告もある。さらに現在全世界の出生児数の約 0.3% は ART で出生していると言われ⁹⁾、日本は世界でも上位の ART 治療数を報告しており¹⁰⁾、現代社会を支える必要不可欠な治療であるといえる。これらのことから不妊治療は社会にとって不可欠で、年齢によっては延期を許容できず、決して不要不急なものではないと捉えていた患者が少なくないことが示唆され、COVID-19 感染流行が遷延する中でも、ART は社会を支えるために継続することが妥当であると考えられる。

一方、今回の検討で留意すべきこととして、治療法は感染リスクを理解した上で患者自身が選択しており、治療法の選択に一定の基準を設けていなかった点、また地域や施設により往来事情などが異なることから他の

地方都市や施設にも当て嵌まるとは限らない点が挙げられる。

COVID-19 感染流行が遷延する中、影響が比較的緩徐であった当院では、感染拡大前後で受診行動に有意な変化は認めなかったが、高齢層では治療選択に変化を生じていた。治療環境の地理的な特性が寄与した可能性はあるが、不妊治療を必要な治療と捉え治療継続を希望する患者が少なくない事が示唆された。地方都市モデルにおいては、未知の感染症の拡大といった不測の事態においても安全に留意しながら十分な情報提供を行うことで症例ごとに必要な不妊治療を提供することが可能であり、全体としては治療行動に大きな変化を与えず治療を継続し得ると考えられた。

参考文献

- 1) 新型コロナウイルス感染症ポータルサイト. 山形県. <https://www.pref.yamagata.jp/020072/bosai/kochibou/kikikanri/covid19/coronavirus.html>, (2022.2.10)
- 2) ICMART. COVID-19 Statement.pdf (secureservercdn.net). <https://www.icmartivf.org/wp-content/uploads/ICMART-COVID-19-Statement.pdf>, (2022.2.10)
- 3) Steven J. Ory, Kathleen A. Miller, Marcos Horton, Linda Giudice: The global impact of COVID-19 on infertility services. *Global Reproductive Health*, 5: e43, 2020.
- 4) 日本生殖医学会. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) に対する日本生殖医学会からの声明 (2020 年 4 月 1 日版).

<http://www.jsrm.or.jp/announce/187.pdf>, (2022.2.10)

- 5) Xue Wang, Yue Zhang, Hong-Liang Sun, Li-Ting Wang, Xue-Feng Li, Fei Wang, Yan-Lin Wang, Qing-Chun Li: Factors Affecting Artificial Insemination Pregnancy Outcome. *International Journal of General Medicine*, 14: 3961–3969, 2021.
- 6) Denis A. Vaughan, Jaimin S. Shah, Alan S. Penzias¹, Alice D. Domar, Thomas L. Toth: Infertility remains a top stressor despite the COVID-19 pandemic. *Reproductive Biomedical Online*, 2020 Sep; 41(3): 425-427. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.05.015. Epub 2020 Jun 5.
- 7) Veronica Esposito, Erika Rania, Daniela Lico, Sara Pedri, Alessia Fiorenza, Marina Francesca Strati, Alessandro Conforti, Vincenzo Marrone, Andrea Carosso, Alberto Revelli, Fulvio Zullo, Costantino Di Carlo, Roberta Venturelli: Influence of COVID-19 pandemic on the psychological status of infertile couples. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 253: 148–153, 2020.
- 8) COVID-19 の流行下における妊活中の患者および不妊治療施設における生殖医療およびその制限に対する意識と実態の調査. https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/report_pdf/20CA2062-buntan3_1.pdf, (2022/7/8)
- 9) Carlo Alvisi, Sandro C. Esteves, Raoul Orvieto, Alessandro Conforti, Antonio La Marca, Robert Fischer, Claus Y. Andersen, Klaus Bühler, Sesh K. Sunkara, Nikolaos P. Polyzos, Ida Strina, Luigi Carbone, Fabiola C. Bento, Daniela Galliano, Hakan Yarali, Lan N. Vuong, Michael Grynberg, Panagiotis Drakopoulos, Pedro Xavier, Joaquín Llacer, Fernando Neuspiller, Marcos Horton, Matheus Roque, Evangelos Papanikolaou, Manish Banker, Michael H. Dahan, Shu Foong, Herman Tournaye, Christophe Blockeel, Alberto Vaiarelli, Peter Humaidan, Filippo M. Ubaldi, and on behalf of the POSEIDON (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number) group: COVID-19 and assisted reproductive technology services: repercussions for patients and proposal for individualized clinical management. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2020 May 13; 18(1): 45. doi: 10.1186/s12958-020-00605-z.
- 10) Ishihara O, Seung Chik Jwa, Kuwahara A, Katagiri Y, Kuwabara Y, Hamatani T, Harada M, Osuga Y: Assisted reproductive technology in Japan: A summary report for 2018 by the Ethics Committee of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology. *Repro Med Biol*, 20: 3-12, 2020.

不妊治療保険適用に伴う患者およびスタッフの反応

Survey responses from patients and staff regarding health insurance coverage for infertility treatment

藤井 美喜, 山本 健児, 江夏 徳寿, 苔口 昭次, 塩谷 雅英

Miki Fujii, Kenji Yamamoto, Noritoshi Enatsu, Shoji Kokeyuchi, Masahide Shiotani

英ウイメンズクリニック 〒650-0021 兵庫県神戸市中央区三宮町1-1-2 三宮セントラルビル7.8階
Hanabusa Women's Clinic Sannomiya Central Building 7 and 8th floor, 1-1-2 Sannomiya-cho,
Chuo-ku, Kobe, Hyogo, Japan, 650-0021

要旨： 本邦において2022年4月から人工授精等の一般不妊治療, 体外受精・顕微授精等の生殖補助医療について, 新たに保険適用されることになった. そこで今後の情報提供や治療, ケアに役立てることを目的として, 当院患者及びスタッフを対象にアンケート調査を実施した. 治療にかかる費用については保険適用後に「経済的負担感が軽減した」と86.5%の患者が回答していた. 保険適用に年齢制限があることに対してはスタッフの90.1%が「妥当である」と回答していたのに対し, 患者では57.6%と少ない結果となった. また, スタッフは不妊治療保険適用の移行に対して, 「スムーズに行えていない」と54.0%が回答しており, 適応や算定などで苦慮していた. さらに, 保険適用に伴い業務量について71.2%が「増えた」と回答していた. 実際の業務内容としては計画書作成, 費用説明, 文書改訂, レセプト請求などの業務であった. 今後, 各部門間で協力し, さらに保険治療に関する情報収集および患者への適切な情報提供を行ってきたい.

キーワード： 不妊治療, 保険適用, アンケート

英文要旨： Assisted reproductive technology such as intrauterine insemination, in vitro fertilization and intra-cytoplasmic sperm injection has been covered by Japanese national health insurance from April 2022. The changes of insurance system gave a lot of impact on both patients and medical staffs. Therefore, we conducted a questionnaire for patients and medical staffs, about the changes before and after the introduction of health insurance.

After insurance coverage, 86.5% of patients responded that “financial burden has been reduced”. Regarding about the age limit, 90.1% of the staff considered as “appropriate”, which was higher than that of patients (57.6%). 54.0% of the staff considered that the introduction of health insurance caused some trouble, especially about the office procedures. Furthermore, 72.1% of staff considered that the amount of work has “increased”, particularly, documentation, explanation about cost, document revision and claim for insurance organization has increased. We hope the information from this study will help us to notice the problem regarding practical clinical situations, and to construct more sophisticated system corresponding to health insurance.

キーワード： fertility treatment, insurance coverage, questionnaire

緒言

2020年に菅内閣が発足し, 少子化対策として不妊治療への保険適用拡大を表明した. 保険適用拡大は, 2022年度の診療報酬改定に向けて整備することとされ, それまでの暫定的な措置として不妊治療のための助成制度が拡充された. 2021年には日本生殖医学会から「生

殖医療ガイドライン」が公開され, これを踏まえて中央社会保険協議会を中心に保険適用に向けた議論が進められ, 2022年年明けに不妊治療の保険適用が正式に決定した. そして, 3月初めに診療報酬改定の概要¹⁾が出された. その内容は, 1) 一般不妊治療に係る評価の新設である. 一般不妊治療の実施に当たり必要な医学的管理及び療養上の指導を行った場合の評価, 人工授精を

実施した場合の評価が新設された。2) 生殖補助医療に係る医療技術などの評価の新設である。生殖補助医療管理料、採卵術、AMH、体外受精・顕微授精管理料、胚凍結保存管理料、胚移植術、AZF、TESEなどが実施された場合の評価が新設された。3) 先進医療²⁾としてSEET法、タイムラプス、IMSI、PICSI、二段階胚移植、子宮内膜スクラッチ、ERA、EMMA/ALICEなどが保険診療との併用が認められた。また、不妊治療に必要な医薬品の対応や、移行期における助成金の取り扱いが示された。これらの変更から、「保険適用で何がかわるのか」「保険適用で実施できる治療は何か」「診療のストラテジーはどう変わるのか」「各部門でどのように対応していくのか」などがクリニック内で議論された。他にも、保険適用に算定可能な点数や医薬品の承認状況の確認、治療計画書の作成など保険適用に向けての作業が山積み状態であった。実際に、診療報酬改定の概要が出されてから4月の保険適用まで1ヶ月程度しか期間がなく、保険適用範囲の理解を深め、運用方法を決定するための会議が頻回に必要であった。また、4月に入ってから保険適用範囲について厚生労働省に数回確認を行った。そのような状況の中で、保険適用に対してスタッフがどのように感じているのかを明確にすることで、問題点を洗い出すことが必要と考えられた。

保険適用のメリットとしては、治療の費用負担を軽減でき、統一した料金体系となるため、患者にとってはわかりやすくなる。また、高額療養費制度を利用することで負担額を軽減することができる。さらに保険治療の適用範囲が全国で統一されているため、治療の標準化が期待できるといった点が考えられた。一方でデメリットとしては、エビデンスが確立していない新しい医療や薬剤の使用ができなくなるという点が考えられた。現行の保険制度による治療方法と自費診療を同時に行う混合診療は認められていないので、多くの施設で幾分かの治療方針変更が必要であったと考えられる。そこで、保険適用のメリット・デメリットなどを患者が実際にどのように捉えているかを知るために、アンケート調査を行ったので報告する。

対象と方法

患者アンケートについては、2022年5月～6月(適用後2～3か月)に不妊治療を受けている女性患者を対象に、不妊治療保険適用に関する内容をWebにてアンケートを実施した。Webアンケートに入るQRコードを記載した用紙を診察室や看護師ケアルームで配布した。アンケートは無記名とし、質問紙によるアンケート

(選択回答方式・自由回答方式)で構成した。アンケート内容は、受けている不妊治療適用内容、保険治療計画書の理解、保険治療後のメリットとデメリット、保険治療への意見などであった。倫理的配慮として、アンケート回答の内容を学会に報告することがある旨を記載した。Webでの返信にて、アンケート調査に同意したとみなした。

スタッフ向けアンケートについては、2022年8月～9月(適用後5～6か月)に当クリニックのスタッフを対象に不妊治療保険適用に関する内容についてアンケートを実施した。医師部門、総務部門、受付事務部門、培養部門、看護部門、不妊コーディネーター部門、メディカルアシスタント部門、臨床検査部門、生殖医療薬剤部門、統合医療部門の各部署にアンケートを配布し、アンケート回収BOXにて回収した。アンケートは無記名とし、質問紙によるアンケート(選択回答方式・自由回答方式)で構成した。アンケート内容は、保険適用への移行のスムーズさ、業務量の増加の有無、保険適用への意見などで構成した。患者アンケート及びスタッフ向けアンケートはEXCELにてデータ整理し、カイ2乗検定で統計処理を行った。

結果

1. 患者アンケート

アンケートは不妊治療中の女性計290名から回収した。年齢は 36.8 ± 4.8 歳、不妊治療期間は 3.1 ± 2.3 年であった。特定不妊治療助成制度を受けた人は50.7% (147/290)であった(表1)。4月以降に保険適用の治療を行った人は71.7% (208/290)、行っていない人は28.3% (82/290)で、行っていない理由は「年齢制限があった」「保険適用外の治療内容であった」「特定不妊治療助成制度を継続していた」などであった(図1)。4月以降の治療内容は、「一般不妊治療」46.6% (97/208)、「生殖補助医療」42.3% (88/208)、「両方」11.1% (23/208)であった(表1)。

「保険適用に年齢制限がある」ことを知っていた人は88.6% (257/290)、知らなかった人は11.4% (33/290)で、知っていた人が多かった。また、保険適用に年齢制限があることに対して42.4% (123/290)の人が「妥当でない」と回答しており、「妊娠の可能性があるなら制限しないでほしい」「平等でない、不公平である」「晩婚化なので制限すべきでない」との意見が多かった。「妥当でない」と回答した人を年齢別に比較すると「40歳未満」40.0% (74/205)、「40-42歳」51.0% (26/51)、「43歳以上」67.6% (23/34)で、年齢が高くなる程多くなっていた($p < 0.01$) (図2)。

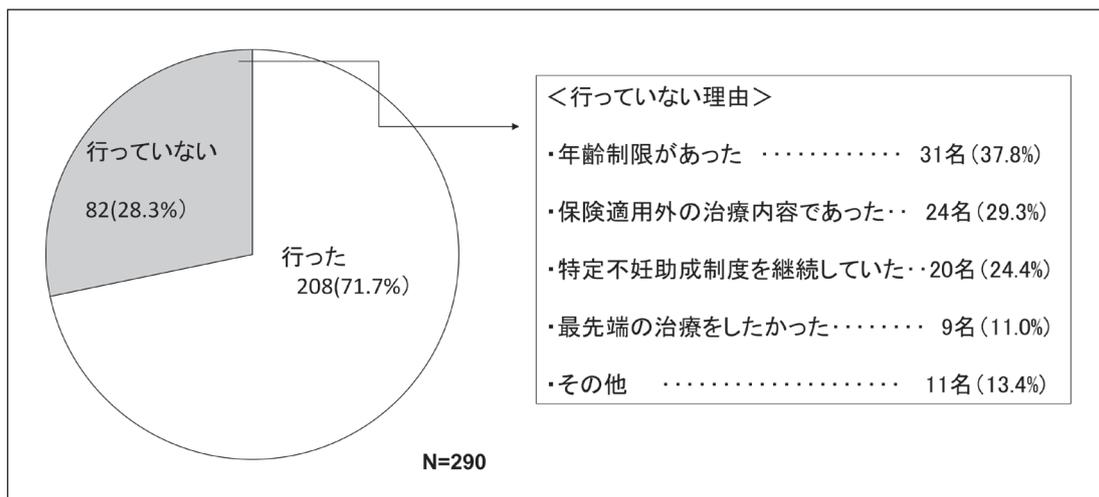


図1 保険適用の治療を行ったか（4月以降）

表1 患者背景

年齢 歳（平均±SD）		36.8（±4.8）
不妊治療期間 年（平均±SD）		3.1（±2.3）
特定不妊治療助成制度利用（人数）		147（50.7%）
4月以降の 治療内容 （人数）	一般不妊治療	97（46.6%）
	生殖補助医療	88（42.3%）
	両方	23（11.1%）

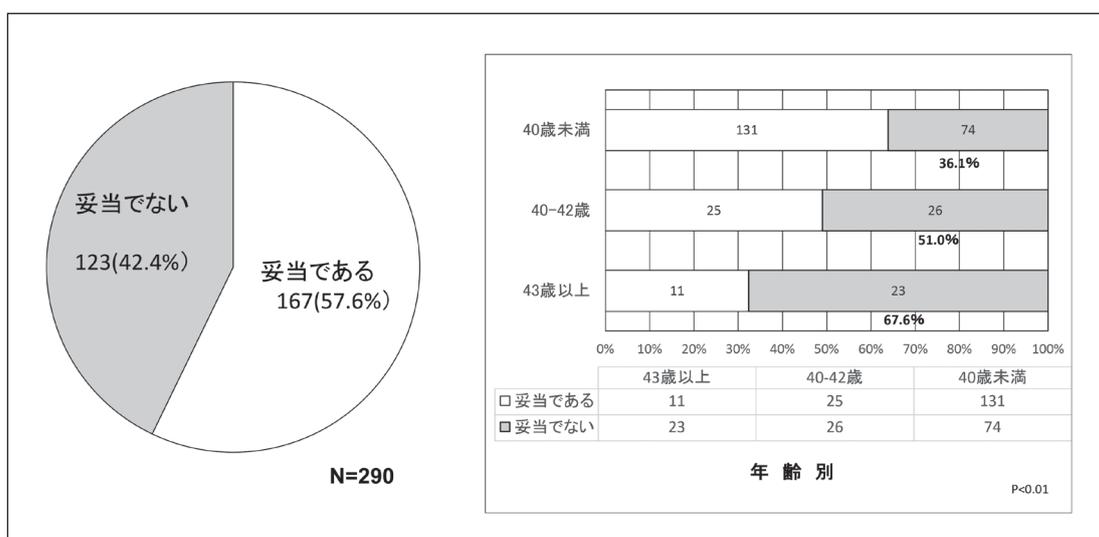


図2 保険適用に年齢制限があることに対して妥当であるか

保険適用後に「経済的負担が軽減したか」という質問に対して「かなり軽減した」38.9% (81/208), 「少し軽減した」47.6% (99/208) と合わせて86.5%の人が負担軽減したと回答していた(図3)。また、4月から保険適用されるに当たって、開始を4月まで延期していた人は38.0% (79/208)であった。

「保険に関する治療計画書がわかりやすかったか」という質問に対して、「わかりやすい」87.5%(182/208), 「わかりにくい」12.5% (26/208) と回答していた。わかりにくい理由は、「どの治療が保険適用かわかりにくい」「細かい適用対象や項目がわかりにくい」「保険適用の年齢がどの段階で変わるのかを詳しく記入して欲しい」などの

意見がみられた。「保険適用後の不妊治療の説明はわかりやすかったか」という質問に対して、「わかりやすい」83.1% (173/208), 「わかりにくい」16.9% (35/208) と回答していた。わかりにくい理由は、「どこまでが保険治療でカバーされるのかわからなかった」「保険適用するとどの薬が使えなくなるのかが実際処方されるまでわからない」「薬が変わることで治療への影響など標準化された治療で、本当にそれが自分にとって良い選択なのかわからなかった」などの意見がみられた。

保険適用のメリットは「高額療養制度を利用することによって自己負担額を抑えることができる」が最も多く、次に「次の治療を考えやすくなった」であった(図4)。デメ

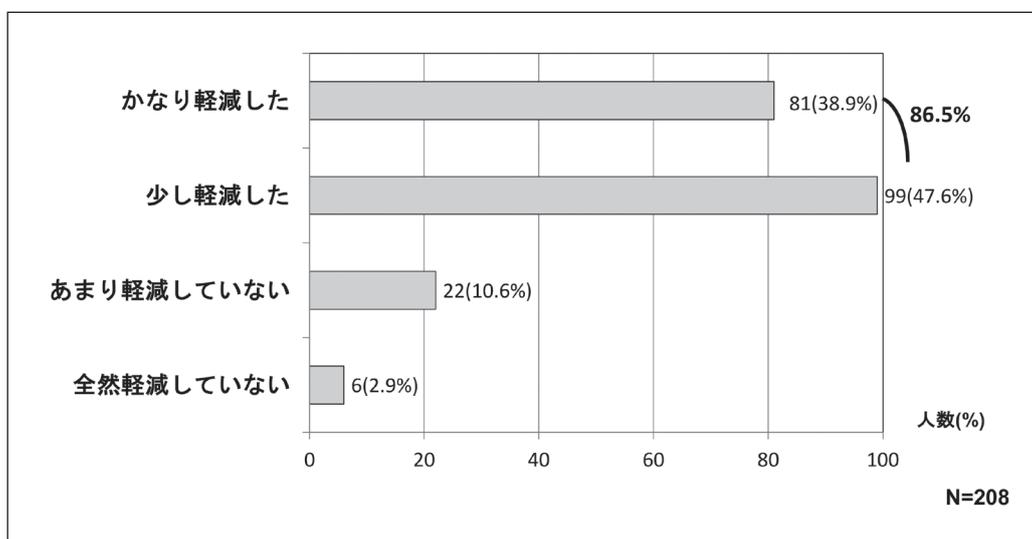


図3 保険適用後、経済的負担感は軽減したか

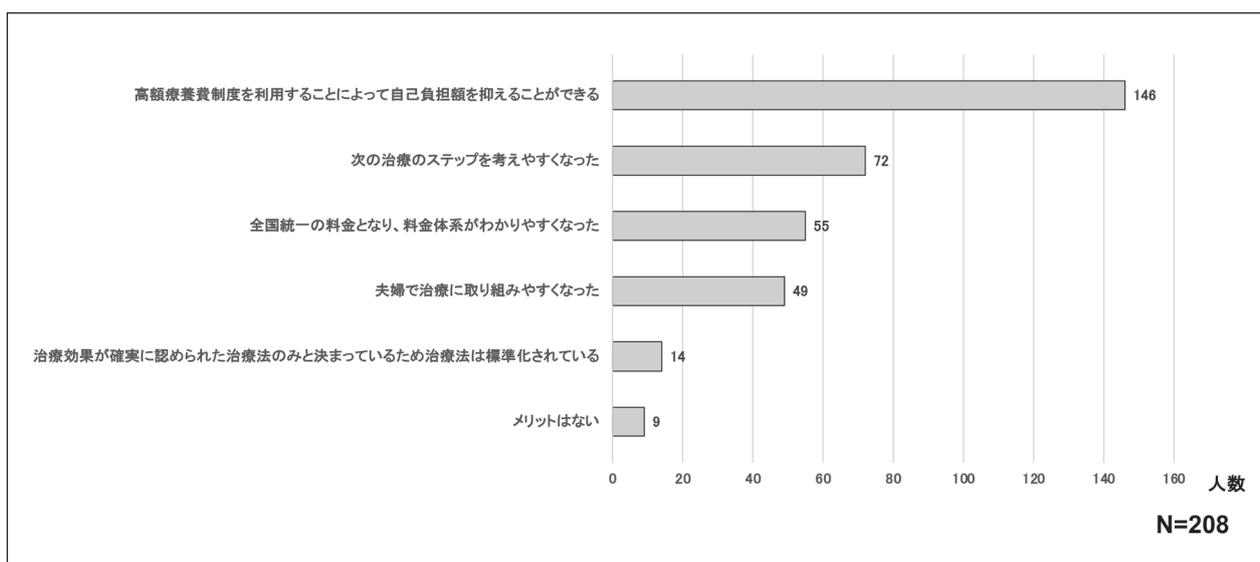


図4 保険適用後のメリット

リットは「保険適用での年齢や胚移植の回数が決まっている」が最も多く、次に「先進医療が限られている」であった(図5)。保険適用に対する肯定的意見は、「経済的負担が軽減された」「ステップアップしやすい」という意見がみられた(表2)。否定的意見は「経済的負担が増した」「精神的負担が増した」という意見がみられた(表3)。

2. スタッフ向けアンケート

アンケートは124名に配布し、111名から回収した(回収率89.5%)。男性8.1%(9/111)、女性91.9%(102/111)であった。回収したアンケートの所属部門別内訳は、医師10名、総務7名、受付事務12名、胚培養士26名、看護師17名、不妊コーディネーター7名、メディカルアシスタント18名、臨床検査技師8名、薬剤師3名、

統合医療3名であった。不妊治療保険適用の移行に対して、「スムーズに行えていない」9%(10/111)、「あまりスムーズに行えていない」45%(50/111)と合わせて約半数の54.0%であり、算定で苦慮したり、行政などからの回答のあいまいさを感じていた(図6)。

不妊治療の保険適用に伴う業務量については、「かなり増えた」19.8%(22/111)、「少し増えた」51.4%(57/111)と合わせて71.2%で、計画書作成や費用説明、文章改訂、レセプト請求などの業務が増えていた(図7)。12部門の中で業務量が増えたと思う上位の部門は、受付事務部門、薬剤師部門、医師部門であり、事務的な作業や患者説明が多くなったためであると思われる。

保険適用に年齢制限があることに対して「妥当である」と回答した人は90.1%(100/111)であり、患者を対

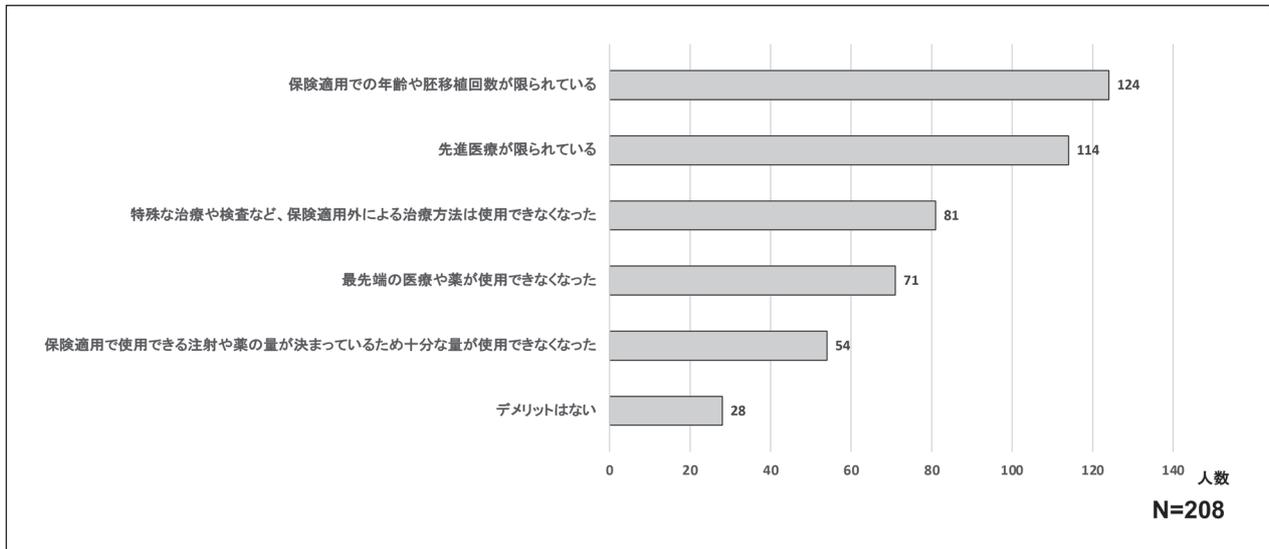


図5 保険適用後のデメリット

表2 保険適用に対する意見(肯定的意見)

経済的負担が軽減	<ul style="list-style-type: none"> ・経済的負担は私達の場合かなり軽減され、今までは体外受精までは考えられなかったですが、その一歩を踏み出せて本当によかったです。結果はどうあれ、しない後悔はしたくないので、とても感謝しています。 ・保険適用になって本当によかった。保険適用にならなければ不妊治療を諦めなければならなかった。 ・自費治療よりかなりおさえられた金額で治療に臨めるので気持ちにも余裕が出てよかったです。
ステップアップしやすい	<ul style="list-style-type: none"> ・体外受精の費用が高額だったため、これまで人工授精からステップアップするのに躊躇していましたが、4月から保険適用になり体外受精にトライしました。その結果移植1回で妊娠することができました。 ・保険適用で次のステップアップを考えることができました。もともと経済的に余裕がないので、これがなかったら次のステップに行くことを悩んだと思います。

表3 保険適用に対する意見（否定的意見）

<p>経済的負担が増した</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・保険適用外となり、経済的負担と精神的負担が増した。妊娠が期待できる層と期待できない層と、分断されたように感じる。 ・私のように保険適用外の治療をせざるを得ない場合、金銭的な負担が増えるのが辛い。 ・不妊治療を行うに当たって大きな壁となるのが治療費だと思います。治療がうまくいかず、長引けば長引く程、精神的、経済的に追い込まれていきます。まして、年齢を重ねれば重ねるほどチャンスは限られてきます。私も、チャンスを無駄にしたくない、経済的理由で諦めたくないと思い頑張ってきました。しかし、ここにきて保険適応との差をみると、余計に辛くなります。色々な意見があると思いますが、年齢関係なく子どもを授かりたい気持ちはみんな一緒だと思います。どうか、平等な制度であってほしい。 ・保険適用になったことで、逆に保険適用では受けられない治療が増え、でもそれでは最新の治療が受けられないため結果的に自費での診療になり、ものすごい負担額になった。助成金制度も打ち切られたし不妊治療をするものとしてはデメリットしかない。せっかく子供を授かりたいと思って保険診療に制限があるので厳しいなと思った。 ・これから始める人にはいいのかもしれないですが、何回か移植してダメだった方には保険適用の恩恵を全く感じれないです。逆に助成制度がなくなり、自己負担額が増え子供がほしいのにこのままいくとどうなるのか将来がとても不安です。
<p>精神的負担が増した</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・保険適用になり助成金がなくなり私の場合自費治療の為、経済的な支援がすべてなくなりました。二人目不妊治療なので、助成金がリセットされ、ありがたいと思っていたのがとても切ないです。保険適用外、あなたは妊娠する力がないと言われているような思考になります。 ・保険適用すると治療がステップダウンしたり、これまで使っていた薬が使えなかったり、量も変更になり、気持的に以前より心配事が増えました。保険適用外の薬や治療が少しでも入ると、保険適用ができないのはとても残念です。現時点では、保険適用の恩恵を全く受けれていないので、全くメリットを感じれず、逆に不妊治療にブレーキがかかっています。

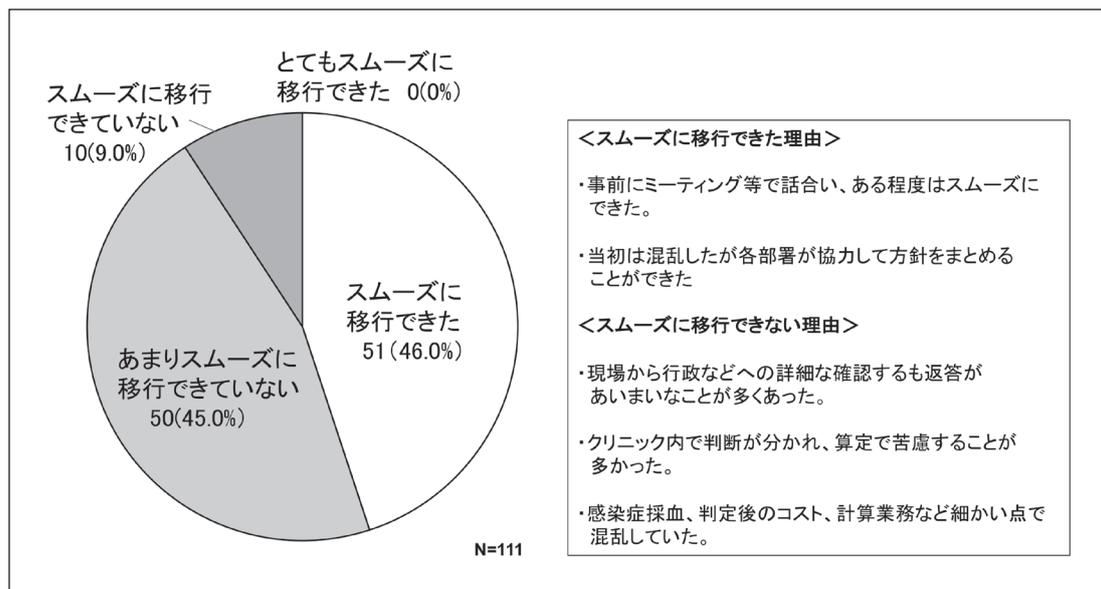


図6 不妊治療保険適用の移行はスムーズに行えたか

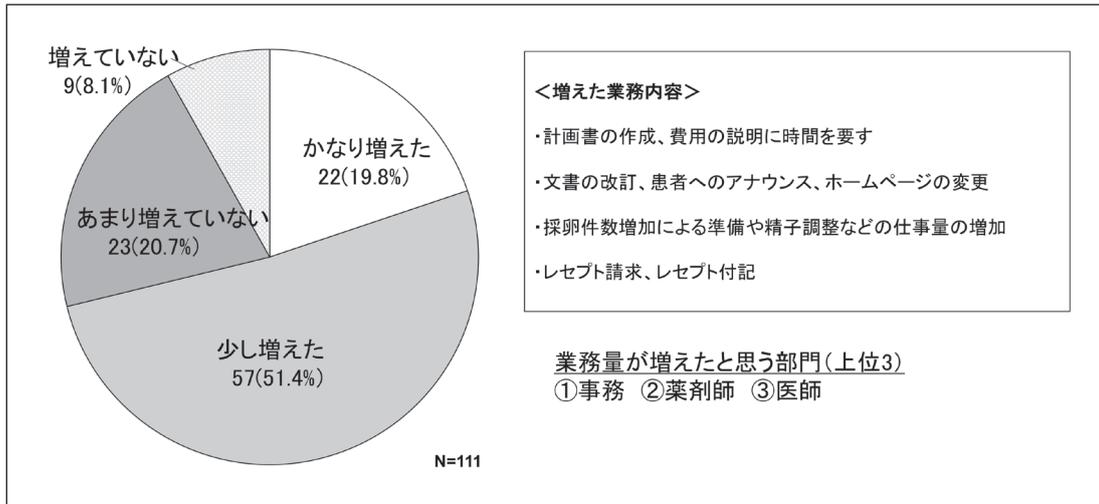


図7 不妊治療保険適用に伴い業務量は増えたか

象に実施したアンケート57.6% (167/290) より有意に多かった ($P < 0.01$)。 「妥当でない」と回答した人は9.9% (11/111) であり、その理由は、「妊娠希望者の年齢が上がってきているので45歳くらいまで認めてもよいと思う」「43歳以上でもよい卵が採れる場合もある」「若い方は妊娠できる確率が高いが年齢が高い方は難しいのにお金もかかるというのが不公平である」などの意見がみられた。

同様に、保険適用に回数制限があることに「妥当である」と回答した人は90.1% (100/111) であり、「妥当でない」と回答した人は9.9% (11/111) であった。妥当でない理由は、「回数制限があることで患者の心理的負担が大きくなると思う」「高齢になると治療が長引くことが多いので、回数が3回までは厳しいと思う」「適齢年齢の人には制限をかけない方が少子化対策になる」などの意見があった。

先進医療として認められた医療技術に「妥当である」と回答した人は82.0% (81/111) であり、「妥当でない」と回答していた人は18.0% (20/111) であった。妥当でない理由は、「実臨床でも行われていたPGT-Aのような技術が入っていない」「臨床現場での乖離があると感じる」「もっと適用範囲を増やした方が妊娠率があがると思う」などの意見があった。

「患者が不妊治療の保険適用治療をより受けやすくするために、どのような内容を追加・修正すればよいか」という設問には、「保険適用に関するリーフレットの作成」が最も多く、次に「保険適用に関する動画の作成」が多かった(図8)。保険適用に対しては、「治療に悩まれた方が治療を始められる良いきっかけになった」との意見がみられた。反面、「安易にARTを希望する人も増えた」な

どの意見もみられた。

考 察

患者アンケート時(保険適用後2～3か月)に保険適用の治療を行った患者の割合は当院通院患者の約7割であった。受けていない理由は年齢制限や保険適用外の治療、特定不妊治療助成制度の継続などであった。保険適用の移行期で治療計画に支障が出ないようにするために年度を跨ぐ1回の治療に関しては助成金の対象になっており、そのため特定不妊治療助成制度による治療継続を希望された患者が一定数みられたと思われる。

保険適用に年齢制限があることに対して約4割が妥当でないと回答しており、その理由も「妊娠の可能性があるなら制限しないで欲しい」「平等でない」などの意見が多くみられた。従来、特定不妊治療助成制度の対象年齢は43歳未満で年齢制限があったにもかかわらず今回の保険適用範囲が妥当でないと思われるのは、国民皆保険に関する負担に関する公平性に対して意見が様々で、年齢に関わらず認めて欲しいという思いが強く表れていたと思われる。また、妥当でないと回答した人を年齢別に比較すると年齢が増す程多くなっていたことから、客観的な立場としては年齢制限が妥当と思っても、自身が年齢制限を受ける立場になると不公平感を感じると考えられた。

保険適用による経済的負担感は約8割強の人が軽減したと回答していた。不妊治療の多くは、これまで自費診療で実施されてきた。治療に関しては施設の裁量で方針を決められ、費用も治療施設で設定することができたため、費用総額は施設間のばらつきが大きく、体外受精1

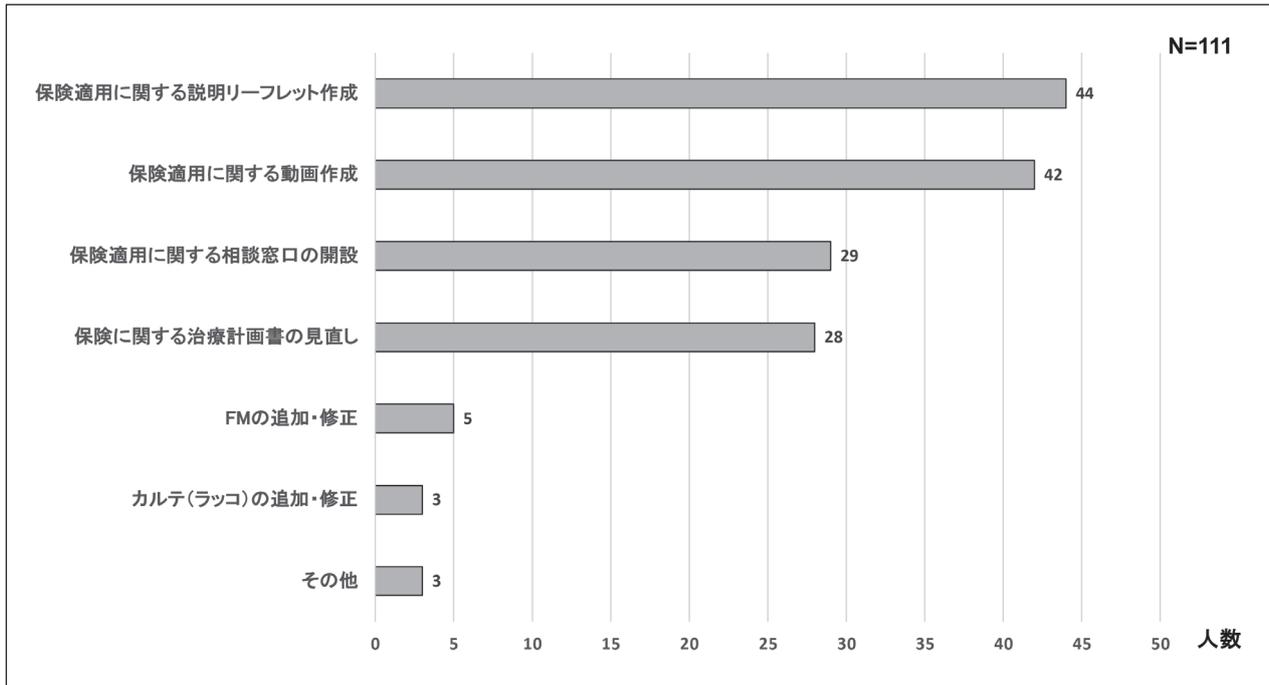


図8 患者が不妊治療の保険適用治療をより受けやすくするために、どのような内容を追加・修正すればよいか

回当たり30万円～70万円と幅があった。2020年に実施された「不妊治療の実態に関する調査研究」³⁾では不妊治療を受けるにあたっての困難は、「経済的な理由で、治療のステップを断念したことがある」19.6%と最も多く、次に「経済的な理由で、満足いく回数の治療が行えなかったことがある」18.2%と、経済的な問題で次の治療に進めない状況がみられた。今回の調査から、多くの人の経済的負担が軽減したという結果から、不妊治療が受けやすい状況になったと思われる。自由記載の内容からも「経済的負担が軽減した」「ステップアップしやすい」なども意見も多くみられ、妊娠を望みながら経済的負担のために不妊治療をあきらめざるを得なかった人にとっては治療を進めやすい状況になった。しかし一方で、保険適用外の方の経済的負担は増加したとの意見が多かった。従来助成金制度を受けられていた反復不成功、着床不全など保険適用外の治療を行う自由診療の患者にとっては、経済的負担が増す形になったと考えられる。2020年の「不妊治療の実態に関する調査研究」³⁾では、女性不妊治療に係る費用は、人工授精で約3万円、体外受精で約50万円となっており、保険診療となる前は体外受精の方がかかる金額が多かった。しかし、保険適用により高額療養費の還付も受けられるので、体外受精を行っても経済負担感が大幅に増える事はないと感じる人が多かったと考えられる。4月からの保険適用に当たって、治療の開始を4月まで延期していた人は3割強いた。

それだけ、保険適用に対する期待感が多かったと推測される。

保険適用治療に関して、「治療計画書がわかりにくい」「不妊治療の説明がわかりにくい」と回答した人は約1割いた。保険診療では治療の初めに治療計画書を医師が作成し、その内容を患者に説明し同意を得た後に治療が開始する。自由記載内容から「どの治療が保険適用かわかりにくい」「細かい適用対象や項目がわかりにくい」などの意見がみられた。医療機関側も4月の保険適用に向けて準備を進めてきたが、今回アンケートを実施した保険適用開始後2～3か月の時期では、説明を行う側も細かい適用内容について十分に把握できていない点もみられたと考える。アンケートの自由記載から「標準化された治療で、本当にそれが自分にとって良い選択なのかがわからなくなった」との意見がみられたが、治療計画を説明する段階では、患者の希望や年齢、過去の治療歴などを総合的に考え、患者とよく相談・説明し、治療計画を十分に理解して治療に臨むことが大切であると考ええる。今回の計画書の同意については夫婦（パートナー）の同意が必要である。保険適用のメリットとして回答者の約1/4が夫婦で治療に取り組みやすくなったと答えていた。不妊治療は夫婦で取り組んでいくものであると考えるため、夫婦が治療内容について理解、説明を聞くのは治療をスムーズに進める第一歩であると考ええる。

一方スタッフ向けアンケートについては、保険適用の

移行に約半数のスタッフがスムーズに移行できていないと感じていた。保険適用の詳細は開始直前まで不明瞭な部分が多く、その内容を理解するために、ミーティングを複数回実施し、各部門で理解を深める努力をした。しかし、算定で苦慮したり、コストや計算業務など細かい点で混乱していたというアンケート結果から、保険適用の全体像は理解してはいても、実際の医事業務では苦慮する場面も多く見られた。また、約7割のスタッフの業務量が増えたと感じていた。増えた業務内容としては、文書の改訂、患者へのアナウンス、ホームページの変更やレセプト請求などの多くの業務があった。これより、文章変更やカルテの入力業務に関する部門での業務量が多い傾向にあった。

保険適用に年齢制限があることに対して約1割のスタッフが妥当でないと回答しており、患者アンケートと比較すると少ない結果となった。理由としては、当事者である患者の方が切実な思いがあるためと考えられた。一方で、医療スタッフはARTによる妊娠率が年齢に大きく依存することを熟知しているため、年齢制限を設ける事については仕方ない事と客観的に判断できた事も要因と考えられる。

現在の保険適用の年齢制限を諸外国における助成の年齢による要件⁴⁾と比較すると、韓国、オーストラリア以外の8か国では、民間保険を含め女性の年齢の上限は40歳から44歳の間に設定されている。本邦における年齢制限も、この様な諸外国の制度も参照し作成されたと考えられる。内閣府、および日本産科婦人科学会のWebサイトにおいても毎年のART成績を公開し⁶⁾、43歳以上のARTにおける生産率が5%未満であることを示しており、年齢制限の妥当性について理解を求める内容となっている。

また、保険適用に回数制限があることに対しても約1割のスタッフが妥当でないと回答していた。回数制限に関しても特定不妊治療助成制度の際にも今回と同様の回数制限があり、分娩に至ったケースの9割が6回までの治療で妊娠・出産に至っており、6回以上は回数を重ねても累積分娩割合の増加は緩慢になることを踏まえて決定されている。諸外国の経済的支援を受けられる回数⁴⁾については、各国で異なっており、概ね人工授精では6回、体外受精では3回程度になっている国が多いが、カナダやオーストラリアのように保険適用されている国の中でも回数制限を設けていない国もある。過去の文献においても、不妊治療を受ける女性がストレスを感じていたのは「治療期間の長さ」で長期化するほどストレス度が上がるとされている⁵⁾。回数制限によって患者および医療者に緊張感が生まれ、漫然と成功率の低い治療を続

けることを回避することにつながる可能性があると考えられる。また回数制限によって、特に高齢患者において、長引く治療について治療を継続するかどうかを考える契機になることも考えられる。

さらに、先進医療として認められた医療技術に違和感があると回答していた人は約2割であった。その理由として、着床前診断などの技術が認められていないなどの意見があった。今回の保険化に向けての検討では、着床前診断は体外受精治療の成績向上に必要な面もあるが、一方では医学に必要なない選択をもたらす可能性も指摘されている⁶⁾。中医協では慎重な意見が多く出されており、現時点では保険適用とはならず、今後先進医療にて継続して検討する予定となっている。

保険適用に対しては、治療を始められる良いきっかけになった反面、安易にARTを希望する人も増えたなどの意見がみられた。ARTの適応については、日本産婦人科学会の見解に“本法はこれ以外の治療によって妊娠の可能性がないか極めて低いと判断されるもの、および本法を実施することが、被実施者またはその出生児に有益であると判断されるものを対象とする”と規定されており⁸⁾、医療者もARTの必要性を十分に評価してから治療法を考慮する必要がある。ARTの治療計画は体外受精・胚移植を行う病名、保険で胚移植を行った回数、治療方針や治療の内容、採卵予定個数、料金などの内容があるが、夫婦(カップル)に説明し、納得してARTに進む事が重要である。患者アンケートにおいても、保険適用に関するリーフレットの作成や保険適用に関する動画の作成が多かったことを踏まえ、患者の必要としている情報を盛り込んだ資料を作成し、各部門で保険診療に関する情報共有を図りながら、患者が不安なく治療を受けることができるようにしていきたい。

当クリニックは不妊治療に特化した医療機関であり、最先端の医療や設備を積極的に拡大してきた。患者もまた最先端の治療を期待して当クリニックを受診する方や、他施設で治療を受けたものの良い結果が出ず転院して来る難治、高齢の方も多し。また、当クリニックでは2022年4月からの不妊治療の保険適用に向けて準備を行いつつ、保険適用とならない高度な医療が必要な方に対しては自費診療も継続して行ってきた。本論文の限界として、このような特徴を持つ当クリニックの患者やスタッフという限られた集団を対象として単一施設で実施された研究であり、当クリニックの特徴が結果に反映された可能性は否定できないと考える。しかし、不妊治療の保険適用後の患者やスタッフの反応を知ること、それぞれの思いを知ることができた。また、アンケート期間は保険適用後6か月以内という適用直後の混乱期に実

施されたため、長期的な影響に言及できない限界がある。今後、他施設を含めたアンケート調査を行い、保険適用数か月後の反応の変化を知ることによって支援の方向性について考える機会にしたい。

参考文献

- 1) 厚生労働省. 令和4年度診療報酬改定の概要. <http://www.mhlw.go.jp/content/20230101.zentai.pdf>, (2022.3.4)
- 2) 山本健児・江夏徳寿・塩谷雅英: 先進医療 新規技術の届出から実施まで～申請の経験から～. 日本 IVF 学会誌, 25(2): 9-12, 2022.
- 3) 株式会社野村総合研究所. 令和2年度子ども・子育て支援推進調査研究事業 不妊治療の実態に関する調査研究. 2021年3月. <http://www.mhlw.go.jp/content/000766912.pdf>, (2022.6.14)
- 4) 株式会社野村総合研究所. 諸外国における不妊治療に対する経済的支援に関する調査研究 報告書. 令和3(2021)年3月. <http://www.mhlw.go.jp/content/000775178.pdf>, (2022.5.26)
- 5) 富田志織・安藤敬子・清村紀子: 不妊治療を受けている女性がおかれている環境についての実態調査—ストレスや感情との関連—. 看護科学研究, 18:1-11, 2020.
- 6) 日本産科婦人科学会 ART データブック. https://www.jsog.or.jp/modules/committee/index.php?content_id=12, (2023.2.1)
- 7) 第一生命経済研究所. 体外受精への保険適用の内容. <http://www.dlri.co.jp/report/1d/181655.html>, (2022.12.11)
- 8) 体外受精・胚移植に関する見解. 2022年7月. 日本産科婦人科学会雑誌, 74(7): 754, 2022.

スプリット症例における体外受精と顕微授精の臨床成績の比較

Comparison of the clinical outcomes between in-vitro fertilization (IVF)
and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using sibling oocytes.

江夏 国宏, 江夏 徳寿, 古橋 孝祐, 岡本 恵理, 苔口 昭次, 塩谷 雅英

KUNIHRO ENATSU, NORITOSHI ENATSU, KOUYU FURUHASHI, ERI OKAMOTO,
SHOJI KOKEGUCHI, MASAHIDE SHIOTANI

英ウイメンズクリニック 〒650-0021 兵庫県神戸市中央区三宮町1丁目1-2 三宮セントラルビル7,8階
Hanabusa Women's Clinic Sannomiya Central Building 7and 8th floor, 1-1-2, Sannomiya-Cho,
Chuo-ku, Kobe, Hyogo, 650-0021, Japan

要旨： 男性因子によるIVFでの受精率低下への対策としてICSIが有効であることは広く知られているが、どの程度の精液所見から影響を受けるのか、またICSIが受精後の臨床成績に影響するかどうかは明確になっていない。本検討は、IVFとICSIの成績を比較することで、臨床ICSIが有用と考えられる基準を求めることを目的とした。当院でSplit法を行った3754周期を対象とし、IVFとICSIの受精率及び妊娠転帰を比較した。総運動精子数が5000万以下の症例においてICSIはIVFより有意に受精率が高かったが、受精卵あたりの胚盤胞発生率や良好胚盤胞発生率については差を認めず、受精方法の選択は受精後の培養成績には影響を与えないと考えられた。同様に移植成績についても比較を行ったところ、臨床妊娠率、流産率、出産率において、初期胚移植、胚盤胞移植ともにIVFとICSIの間に差を認めなかった。妻年齢における解析ではIVF、ICSIの両方において40歳以上の群で胚盤胞発生率、良好胚盤胞発生率ともに低下しており、共通の傾向を認めた。この結果から、ICSIとIVFの臨床成績の違いは受精率のみに限られ、IVFに比べてICSIを実施する臨床上的デメリットは少ないと考えられた。

キーワード： 顕微授精の臨床成績, Split法, 体外受精

ランニングヘッド： IVFとICSIの臨床成績比較

英文要旨： This study is a retrospective data analysis of a single institute, including 3,754 cycles that underwent IVF/ICSI split insemination. Laboratory results showed that the fertilization rate of IVF was significantly lower than that of ICSI (78.1% vs. 82.2%, $p < 0.01$). Among the fertilized embryos, there was no significant difference between IVF and ICSI in blastocyst development rate (54.7% vs 53.8%, $p = 0.26$) and good quality blastocyst development rate (21.4% vs 19.7%, $p = 0.01$). The difference in fertilization rate between IVF and ICSI was greater in patients with total motile sperm count (TMSC) < 50 million (72.9% vs. 82.2%, $p < 0.01$), but smaller in patients with TMSC ≥ 50 million (82.4% vs. 82.1%, $p = 0.67$). On the other hand, the difference was similar in patients with female age < 40 years (76.1% vs. 80.4%, $p < 0.01$) compared to those with female age ≥ 40 years (80.4% vs. 83.4%, $p < 0.01$). When comparing embryo transfer outcomes, there was no difference in pregnancy rate between IVF and ICSI (40.2% vs 39.1%, $p = 0.56$). Our results suggest that the use of ICSI is only beneficial for improving the fertilization rate in patients with low TMSC, and patients with advanced age and non-male factor do not benefit from ICSI. The blastocyst development rate and pregnancy outcome did not differ between IVF and ICSI once fertilization was confirmed. According to the result of this present study, the clinical disadvantages of ICSI were not evident.

キーワード： clinical outcome, in vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection, split insemination

緒言

顕微授精(ICS: intracytoplasmic sperm injection)は生殖補助医療における授精方法として1992年に発表されて以降、広く普及している¹⁾。ICSは高度乏精子症や無精子症における精巣内精子採取術での回収精子など、通常の体外受精(IVF: in vitro fertilization)では受精困難な高度男性不妊症例において特に有効な手段として始まった。その後、男性不妊以外の症例における受精障害に対しても有効であることが報告され、近年では生殖補助医療における主たる受精方法として世界中でその割合が増加している²⁾。アメリカの統計によると生殖補助医療全体に占めるICSの適用症例数は2000年の34.6%から2015年には73.9%まで上昇しており³⁾、本邦においても2003年にICS周期数がIVF周期数を上回って以降、その差は更に広がってきている⁴⁾。IVFとICSのいずれを選択すべきかについては明確な基準はなく、各施設の判断に委ねられているのが現状であるが、一般的には精液所見に重大な問題がなく、過去に受精障害の既往がない場合はICSを選択する根拠はなく、適用には慎重になるべきと考えられている⁵⁻⁷⁾。本邦においてもICSの適応は日本産婦人科学会の会告において「難治性の受精障害で、これ以外の治療によっては妊娠の見込みがないか極めて少ないと判断される場合」とされている。

しかしながら、臨床においては男性不妊を伴わない予期せぬ受精障害を認めることもあり、受精障害の回避を目的としてIVFとICSの両方を実施するSplit法を選択することも可能である。Split法は同一患者、同一周期でIVFとICSの両方を実施するため、IVFとICSの成績を比較するにあたって最も正確な対照群と考えられる。

そうした研究はこれまでに複数報告されているが、結論は様々である。受精率に関しては、IVFでもICSでも同等であるとする報告がある一方で^{8, 9)}、IVFの方がICSより良好な結果であったとする報告も認められる¹⁰⁾。また一方では、ICSの方がIVFより優れていたとする報告もある¹¹⁾。これらの報告が異なる結論に至っていることから、従来の精液検査(精子濃度・運動率・正常形態率)のみでは授精方法の決定には不十分であるとも考えられるが、いずれも症例数が20～136例と少ないため明確な基準を決める事は難しいと考えられる。また、受精後の胚盤胞発生率や妊娠率については、IVFとICSで差はないとする見方が一般的である^{12, 13)}。Split実施症例での解析において、IVF実施群の方で胚盤胞発生率が高かったとする報告もあるが、対象が62周期であり結論を出すのに十分な症例数とは言えない¹⁴⁾。

本研究は、適正な受精方法の決定基準を示すことを目的として4256周期のSplit法実施群データを元に因子別の分析を行い、IVF実施胚とICS実施胚の受精率や胚盤胞発生率および移植成績を比較し、それぞれの受精方法の特徴を解析した。

対象と方法

2011年から2019年に当院でARTを行った症例のうち、Split法を選択した4256周期のうち未熟卵や変性卵によって、IVFかICSいずれかの実施卵がゼロとなった症例を除いた3754周期(表1)を対象として、IVF実施胚とICS実施胚の成績を後方視的に比較した。精液検査には全例精子自動解析装置SMAS[®]を使用した。Split法の対象となる症例は、原則として院内の過去の成績を基に経験的に作成した推奨基準に基づいて推奨

表1 Split法を実施した3754周期の患者背景

	中央値	平均値	標準偏差
妻年齢(歳)	38	37.6	4.2
夫年齢(歳)	39	39.2	4.6
既往ART回数	1	1.0	0.8
AMH(ng/ml)	2.2	3.0	2.7
回収卵子数	7	7.7	5.8
IVF or ICSI施行数	6	6.9	5.4
精子濃度(x100万個/ml)	37	39.7	36
精子運動率(%)	51	48.1	17
運動精子濃度(x100万個/ml)	18	20.4	23
総運動精子数(x100万個)	56	62.1	97

した。推奨基準は、採卵数4個以上、精子濃度500-2000万個/ml、運動精子濃度500-1000万個/ml、運動率30%以下、SMV(Sperm motility value:精子自動解析装置SMAS[®]による指標)100未満¹⁵⁾のいずれかに該当する場合としたが、患者希望があった場合は適用を拡大した。未熟卵や変性卵のためICSIもしくはIVFのいずれかしか実施できなかった症例は除外した。IVFとICSIの実施個数は回収卵子の半分ずつを基本方針としたが、回収卵子が奇数個であった場合は、患者希望でそれぞれの実施個数を決定した。

採卵後1日目の時点で雌雄前核が観察されたもの、もしくは雌雄前核が観察されなかった症例においても胚盤胞発生を認めたものを受精ありと判定した。受精率は受精ありと判定された卵子数を実施卵子数で割って求めた。またICSI実施時に未熟卵および変性卵を判定し、受精率の計算から除外した。IVF症例においては媒精4時間後に裸化処理を行い、GV核を認めた、もしくは第2極体を認めなかったものを未熟卵と判断した。

受精率に影響を及ぼしうる因子として精液所見および夫婦の年齢を解析対象として、散布図および群間比較を行って受精率への影響を分析した。ICSI実施胚とIVF実施胚における受精率を、因子別に100例毎の平均値を求め、プロットし解析した。作成した散布図の傾向を基に、総運動精子数において2000万個、5000万個を境界として、妻年齢については、40歳を境界として分割率・胚盤胞発生率の差を比較した。胚盤胞発生数としては採卵から5日後または6日後に胚盤胞への成長を認めた胚とした。また、胚盤胞の評価としてはGardner分類¹⁶⁾を用いて、Grade3BB以上を良好胚盤胞と定義した。

最後に、初期胚移植と胚盤胞移植別にIVF由来胚とICSI由来胚の妊娠転帰を比較した。統計手段としては、 χ^2 検定およびスチューデントのT検定を用い、計算ソフトとしてマイクロソフトエクセル[®]およびEZR[®]を用いた。症例数が多いため、 $p < .01$ をもって有意差ありと定義した。また散布図における分散分析では、線形近似と対数近似を実施し相関係数(r)二乗の大きい方を相関判定に用い、 $r^2 > 0.2$ をもって相関ありと判断した。

結 果

表1に本検討となった3754周期の患者背景を示す。妻年齢の中央値は38歳であり、多くは初回のART周期であった。回収卵子数は中央値が7個であり、変性卵を除外した後のIVFもしくはICSI施行数は、一周期あたり中央値6個であった。精子濃度、精子運動率の中央値はそれぞれ3700万個/ml、51%であり、半分以上に精液所見正常の症例が含まれた一方で、精子濃度500万個未満といったICSI推奨症例も患者希望によって含まれていた。

続いて、本研究全体でのIVF実施胚とICSI実施胚の成績比較を表2に示した。受精率はIVF実施胚とICSI実施胚でそれぞれ78.1%と82.2%であり、ICSI実施胚の方が有意に高かった($p < .01$)。分割率は、施行卵数全体で見るとIVF実施胚とICSI実施胚でそれぞれ68.7%と74.0%であり、ICSI実施胚の方が有意に高かったが($p < .01$)、受精卵数を分母にした場合はそれぞれ87.9%と90.1%となり、有意差を認めなかった($p = 0.04$)。胚盤胞発生率はIVF実施胚とICSI実施胚でそれぞれ54.7%と53.8%であり、有意差を認めなかつ

表2 IVF実施胚とICSI実施胚の受精及び培養成績比較

	IVF実施胚	ICSI実施胚	オッズ比	P値
施行卵数	13631	12324	-	-
受精卵数 (%)	10647 (78.1)	10125 (82.2)	0.82	<.01
Day2時点での分割期胚数 (%)	9354 (68.7)	9122 (74.0)	0.77	<.01
Day3以降培養を継続した胚数	7547	7437		
胚盤胞数 (%)	4130 (54.7)	4002 (53.8)	1.03	0.26
良好胚盤胞数 (%)	1617 (21.4)	1466 (19.7)	1.11	0.01

た ($p=0.26$). このことから, IVF/ICSIの選択は受精結果には影響するが, その後の分割および胚盤胞発生には影響がないものと考えられた.

続いて, ICSI実施胚とIVF実施胚における受精率を, 因子別に100例毎の平均値を求め, プロットし解析した. 解析の結果受精率との相関を認めた総運動精子数, 精子運動率および妻年齢について図1に示す. その他の精液所見, および夫年齢は受精率との相関を認めなかった. 図1に示すように, ICSI実施胚での受精率は総運動精子数に関わらず概ね80~90%で推移し, 相関は認めなかった. 一方でIVF実施胚での受精率は総運動精子数との相関を認めており, 総運動精子数が5000万個を下回る群から受精率が低下している事が確認された. 同様に, 精子運動率においても40%を下回る群においてICSI実施胚での受精率が低下しないのに対して, IVF実施胚の受精率が低下する傾向にあることが確認されたが, 総運動精子数ほどの顕著な差ではなかった. 一方で, 妻年齢に関してはIVF実施胚, ICSI実施胚ともに受精率との相関を認めており, 両者の傾向に明確な差は認めなかった. 同様に, 受精後の胚盤胞発生率(胚盤胞数/継続培養受精卵数)を因子別にプロットし解析を行った. 図2に示す様にIVF実施胚, ICSI実施胚共に, 総運動精子数および精子運動率に関わらず, ほぼ同様の胚盤胞発生率を認めており両群共に相関を認めなかった. 一方, 妻年齢に関しては両群共に胚盤胞発生率との相関を認めており, 年齢が上がると共に胚盤

胞発生率の低下を認めた.

散布図の傾向を基に, 総運動精子数および妻年齢について培養成績の差を比較した. 表3に示す様に, 男性因子と考えられる総運動精子数2000万個未満の群では, ICSI実施胚と比較してIVF実施胚において受精率が有意に低く(オッズ比0.45, $p<0.01$), 分割率も同様に低かった(オッズ比0.55, $p<0.01$). この傾向は総運動精子数2000~5000万個の群においても同様の傾向を認めた. 一方で, 総運動精子数5000万個以上の群においてはIVF実施胚とICSI実施胚の受精率の差は認めなかった. また胚盤胞発生率に関しては, 総運動精子数に関わらずIVF実施胚とICSI実施胚で同等であった. 同様に, 妻年齢において40歳を境界として培養成績の比較を行った結果を表4に示す. 受精率, 分割率に関しては, IVF実施胚と比べてICSI実施胚の方が有意に高く, 胚盤胞発生率に関してはIVF実施胚とICSI実施胚において差を認めなかった. これらの傾向は40歳未満の群と40歳以上の群で変わらなかった.

最後に, Split法実施症例におけるIVF実施胚とICSI実施胚の移植成績を比較した(表5). 表5に示すように, 実際に移植で使用された受精卵の数は, IVF実施胚, ICSI実施胚で同等であった. 臨床妊娠率, 流産率, 出産率の比較では, 初期胚移植, 胚盤胞移植ともに3項目全てにおいて両群に差を認めなかった.

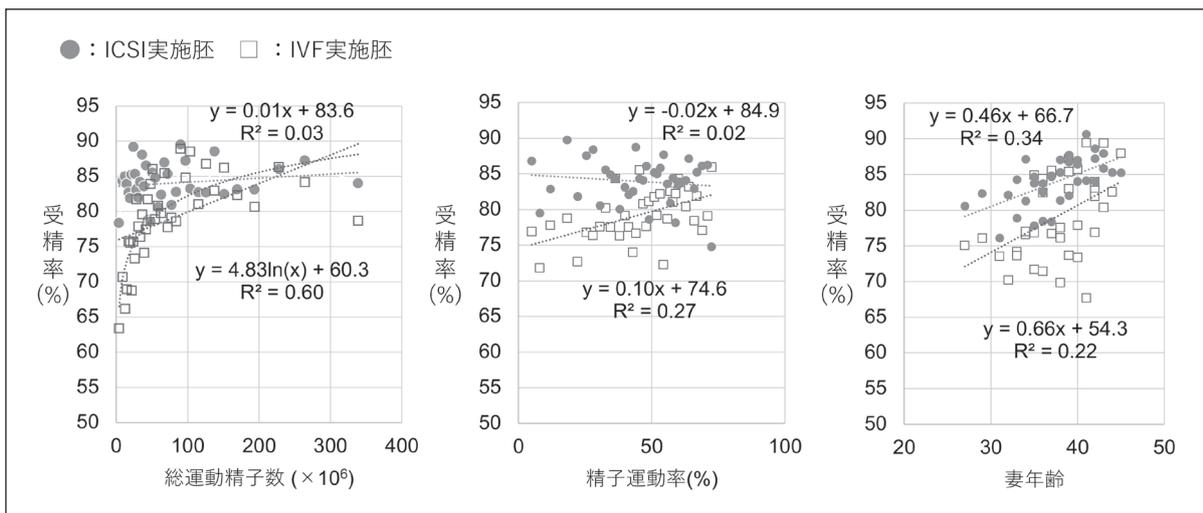


図1 因子別(総運動精子数, 精子運動率, 妻年齢)の受精率(縦軸)を示した散布図

※100例毎の平均をプロット

ICSI実施胚での受精率は総運動精子数, 精子運動率に関わらず概ね80~90%で推移し, 相関は認めない. 一方でIVF実施胚での受精率は総運動精子数との相関を認めており, 総運動精子数が5000万個を下回る群から受精率が低下している. 同様に, 精子運動率においても, IVF受精率との相関を認めた. 妻年齢に関しては, IVF実施胚, ICSI実施胚ともに受精率との相関を認めており, 両者の傾向に明確な差は認めない.

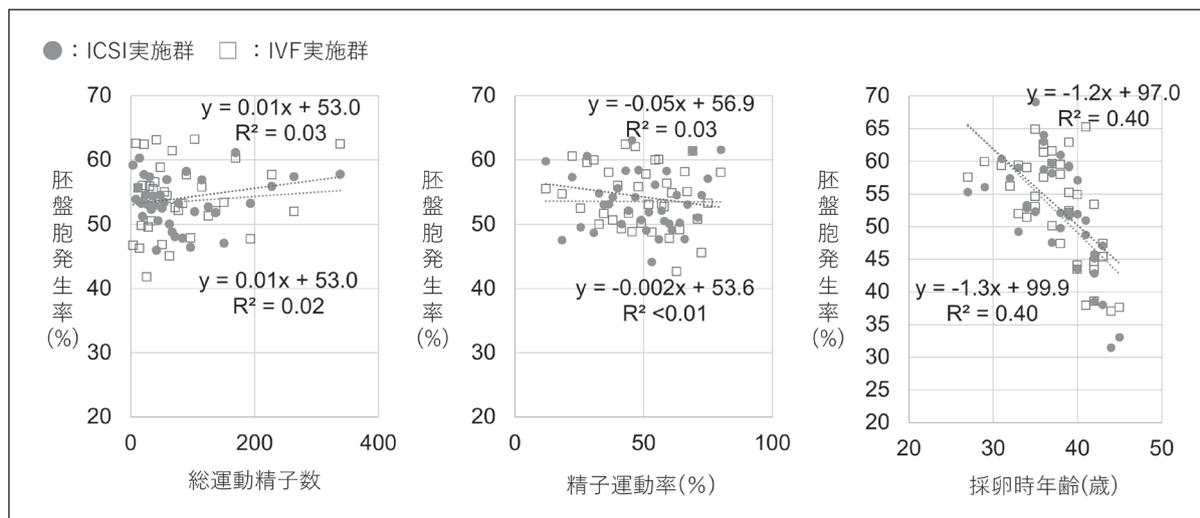


図2 因子別（総運動精子数，精子運動率，採卵時年齢）の胚盤胞発生率（胚盤胞数 / 継続培養受精卵数）を示した散布図
 ※ 100 例毎の平均をプロット
 IVF 実施胚，ICSI 実施胚共に，総運動精子数および精子運動率に関わらず，ほぼ同様の胚盤胞発生率を認めており両群共に相関は認めない。一方，妻年齢に関しては両群共に胚盤胞発生率との相関を認めており，年齢が上がると共に胚盤胞発生率の低下を認める。

表3 総運動精子数に基づいた群における，IVF 実施胚と ICSI 実施胚の培養成績比較

総運動精子数 < 2000万個				
	IVF実施胚	ICSI実施胚	オッズ比	P値
実施卵数	2046	1958	-	-
受精卵数 (%)	1372 (67.1)	1606 (82.0)	0.45	<.01
分割卵数 (%)	1197 (58.5)	1410 (72.0)	0.55	<.01
Day3以降の継続培養胚数	969	1138	-	-
胚盤胞発生数 (%)	509 (52.5)	641 (56.3)	0.85	0.08
良好胚盤胞数 (%)	196 (20.2)	229 (20.1)	1.01	0.95
2000万個 ≤ 総運動精子数 < 5000万個				
	IVF実施胚	ICSI実施胚	オッズ比	P値
実施卵数	4170	3837	-	-
受精卵数 (%)	3165 (75.9)	3156 (82.3)	0.68	<.01
分割卵数 (%)	2745 (65.8)	2874 (74.9)	0.65	<.01
Day3以降の継続培養胚数	2265	2301	-	-
胚盤胞発生数 (%)	1239 (54.7)	1225 (53.2)	1.06	0.32
良好胚盤胞数 (%)	489 (21.6)	433 (18.9)	1.18	0.02
総運動精子数 ≥ 5000万個				
	IVF実施胚	ICSI実施胚	オッズ比	P値
実施卵数	7415	6529	-	-
受精卵数 (%)	6110 (82.4)	5363 (82.1)	1.02	0.69
分割卵数 (%)	5414 (73.0)	4841 (74.1)	0.94	0.13
Day3以降の継続培養胚数	4313	3998	-	-
胚盤胞発生数 (%)	2382 (55.2)	2136 (53.4)	1.08	0.10
良好胚盤胞数 (%)	932 (21.6)	804 (20.1)	1.10	0.09

表 4 妻年齢 40 歳未満と 40 歳以上の 2 群における IVF 実施胚と ICSI 実施胚の培養成績比較

妻年齢 < 40 歳

	IVF実施胚	ICSI実施胚	オッズ比	P値
採卵数	10108	9063	-	-
受精卵数 (%)	7688 (76.1)	7289 (80.4)	0.77	<.01
分割卵数 (%)	6855 (67.8)	6646 (73.3)	0.77	<.01
Day3以降の継続培養胚数	5702	5553	-	-
胚盤胞発生数 (%)	3279 (57.5)	3150 (56.7)	1.03	0.41
良好胚盤胞数 (%)	1335 (23.4)	1229 (22.1)	1.07	0.11

妻年齢 ≥ 40 歳

	IVF実施胚	ICSI実施胚	オッズ比	P値
採卵数	3523	3261	-	-
受精卵数 (%)	2833 (80.4)	2720 (83.4)	0.81	<.01
分割卵数 (%)	2501 (70.9)	2443 (74.9)	0.82	<.01
Day3以降の継続培養胚数	1845	1884	-	-
胚盤胞発生数 (%)	851 (24.2)	852 (26.1)	1.08	0.1
良好胚盤胞数 (%)	282 (15.2)	237 (12.6)	1.25	0.02

表 5 Split 法実施症例における IVF 実施胚と ICSI 実施胚の妊娠成績比較

初期胚移植

	IVF実施胚	ICSI実施胚	オッズ比	P値
移植胚数	306	357	-	-
移植時年齢 (標準偏差)	39 (4.1)	39 (4.0)	-	0.99
臨床妊娠数 (%)	56 (18.3)	67 (18.8)	0.96	0.88
流産数 (%)	16 (28.6)	17 (25.3)	1.17	0.69
出産数 (%)	40 (13.1)	50 (14.0)	0.92	0.72

胚盤胞移植

	IVF実施胚	ICSI実施胚	オッズ比	P値
移植胚数	1606	1520	-	-
移植時年齢 (標準偏差)	37 (4.3)	37 (4.5)	-	0.99
臨床妊娠数 (%)	645 (40.2)	595 (39.1)	1.04	0.56
流産数 (%)	147 (22.8)	137 (23.0)	0.98	0.92
出産数 (%)	605 (37.7)	545 (35.9)	1.08	0.29

考 察

本検討において、IVFとICSIの差を最も認めたのは、総運動精子数2000万個以下の症例における受精率であった(図1, 表3)。一般にIVFでは、卵子の周囲に顆粒膜細胞(卵丘細胞)がついた状態(卵丘細胞-卵子複合体 Cumulus oocyte complex: COC)で媒精を行う。媒精時、COCの周囲に集まってきた精子は頭部からヒアルロニダーゼを放出して顆粒膜細胞を溶かし、卵子へアプローチする。そのためIVFには複数の精子が必要であり、媒精には5~20万個/mlの精子を用いることが一般的である。そのため、総運動精子低下症例においては媒精時の運動精子数が十分に確保できず、IVFにおける受精率低下の原因となり得ると考えられている。同様の結果は他の研究においても確認されており、中等度~軽度の精液所見不良においてもICSIが有効であることが報告されている¹⁷⁾。本検討では総運動精子数2000万個未満の症例で顕著にIVF受精率とICSI受精率の差を認めていた(67.1% vs. 82.0%)¹⁷⁾が、一般的には男性因子と定義されない総運動精子数2000万個~5000万個の群においても受精率に有意な差を認めており(75.9% vs. 82.3%)¹⁸⁾、一般的に用いられているWHOの基準値¹⁸⁾より高い精子濃度から受精率に差が出る事が示された(表3)。このことはIVFの適応を決める際に、WHO基準に基づいて総運動精子数1600万個以上とするには不十分であることを示しており、臨床注意を要すると考えられた。同様の内容は、WHOラボマニュアルにおいても言及されており、WHO基準は12か月以内に自然妊娠したカップルの精液所見の5パーセンタイルを示したのみであり、生殖医療における治療方針を決定する基準値としては不十分であると述べられている¹⁹⁾。

一方で精子運動率については、40%を下回る部位でIVFの受精率が低下する傾向を認めるものの、総運動精子数ほどの顕著な低下は認めていなかった。その理由としてCOCの融解には、精子運動率よりも運動精子の絶対数の方が重要な意義を持つためと考えられた。

また、本検討では妻年齢によってICSIの有効性に差を認めなかった。同様の検討は海外でもなされており、ICSIを用いても受精率、妊娠率は向上しない事が報告されている。そのため、女性が高齢であるという理由だけでICSIを勧める根拠とはならないと考えられている²⁰⁾。なお、高年齢症例におけるICSIにおいては、透明帯や細胞質の脆弱化による変性を来す症例を認める事もあり、ICSIを実施する際はpiezo-ICSIの方が有効である事が報告されている²¹⁾。この様な新しい技術による

ICSIの成績向上および、ICSIの臨床実績の蓄積による成績の安定化によって、世界的にICSIの占める割合が増えていると考えられる。

ICSIが増えている理由として、もう一つ重要な要素が原因不明の受精障害の存在である。原因不明の受精障害はIVF周期の4-20%程度に発生すると考えられており、精液所見が正常な症例においても発生するため、事前に予測することができない。このような症例の対策としてレスキューICSIが実施される事があるが、通常のICSIと比べると受精率、胚盤胞発生率ともに低下することが報告されている²²⁾。これは、レスキューICSIの実施タイミングが極体放出後のタイミングとなるため、卵子のエイジングが受精卵発生不良につながっていると考えられている。一方で原因不明の受精障害症例に対して、次の周期にSplit法を実施した検討においては、ICSI実施胚で有意に受精率が高かった事が報告されており、ICSIは原因不明の受精障害に対しても有効であると考えられている²³⁾。

この様な背景から、世界各国において生殖補助医療全体に占めるICSIの割合が年々増えているが、前述の様に受精後の培養成績や移植成績についてSplit周期での大規模な研究は報告されていない。本検討は3754周期という多数の症例で培養成績を比較しており、その結果として受精後の胚盤胞発生率、良好胚盤胞率において、IVFとICSIの間に有意差を認めなかった(表2)。サブグループ解析において受精率で有意な差を認めた総運動精子数5000万個未満の群においても、受精後の胚盤胞発生率および良好胚盤胞発生率には差を認めない(表3)。なお、総運動精子数5000万個以上の群との比較を行っても、IVF実施胚、ICSI実施胚ともに胚盤胞発生率、良好胚盤胞発生率は同等であり、総運動精子数が影響するのは受精までの段階にとどまると考えられた。また、妻年齢におけるサブグループ解析では40歳以上の群においてIVF実施胚、ICSI実施胚ともに受精率の低下は認めなかったが、胚盤胞発生率、良好胚盤胞発生率は顕著に低下していた(表4)。これはIVF実施胚、ICSI実施胚の両方で認められる傾向であり、卵子老化に伴う胚盤胞発生率低下はICSIを用いても改善できないことを示すが、逆説的に述べると老齢卵子であってもICSIによる人為的操作が胚盤胞発生に悪影響を与えるものではないとも言える。

また、今回の検討ではSplit法実施症例における胚移植成績も示しているが、初期胚移植、胚盤胞移植ともに臨床妊娠率、流産率、出産率におけるIVF実施胚とICSI実施胚の差が無かった。ICSI実施胚の移植成績については、多くの観察研究において報告されており、

ICSI実施胚における周産期合併症はIVF実施胚とほぼ同等であると報告されている²⁴⁾。ICSI実施胚において多胎率や流産率、早産率がやや高いとする報告もあるが、年齢や移植胚数を調整するとIVF実施胚および自然妊娠と同等であることから、ICSI自体が周産期のリスクを上げるわけではないと考えられている²⁵⁾。本検討は年齢や男性因子の条件が全く同等であるSplit法での検討であり、統計的な調整を行わずに、これらの報告と同様の結果を確認することができた。なお、本検討では出生児の状態までは確認できていないため、IVFとICSIによる出生時の先天異常については比較できなかった。報告ではICSIによる出生児は自然妊娠やIVF妊娠による出生児に比べて先天異常の割合が高いとする報告が多い^{26, 27)}。しかしながら、これらの研究では乏精子症や治療対象女性の高年齢など、不妊に至った因子自体が出生児の先天異常に関与している事が報告されており、ICSIの手技そのものが出生児に与える影響は限定的と考えられている²⁸⁾。

結論として、本検討においてIVF実施胚よりICSI実施胚の方が全体として受精率が高かった。特に総運動精子濃度が5000万個以下の場合、有意にIVF実施胚の方が受精率が低下し、2000万個未満の場合はその傾向が顕著であることが確認された。そのため総運動精子濃度が低下している症例においては、受精方法としてICSIが勧められると考えられた。また、受精後の培養成績および移植成績に関して両者に差は見られなかったため、ICSIを実施しても臨床上のデメリットは少ないと考えられた。

利益相反状態の開示

今回の論文に関して開示すべき利益相反はありません。

参考文献

- Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC: Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 340(8810): 17-8, 1992.
- Boulet SL, Mehta A, Kissin DM, Warner L, Kawwass JF, Jamieson DJ: Trends in use of and reproductive outcomes associated with intracytoplasmic sperm injection. *JAMA*, 313(3): 255-63, 2015.
- Dieke AC, Mehta A, Kissin DM, Nangia AK, Warner L, Boulet SL: Intracytoplasmic sperm injection use in states with and without insurance coverage mandates for infertility treatment, United States, 2000-2015. *Fertil Steril*, 109(4):691-7, 2018.
- 日本産科婦人科学会編. ART データブック 2012年 PDF版. <https://www.jsog.or.jp/activity/art/2012data.pdf>, (2020.4.1)
- Bhattacharya S, Hamilton MP, Shaaban M, Khalaf Y, Seddler M, Ghobara T, P Braude, R Kennedy, A Rutherford, G Hartshorne, A Templeton: Conventional in-vitro fertilisation versus intracytoplasmic sperm injection for the treatment of non-male-factor infertility: a randomised controlled trial. *Lancet*, 357(9274): 2075-9, 2001.
- Check JH, Yuan W, Garberi-Levito MC, Swenson K, McMonagle K: Effect of method of oocyte fertilization on fertilization, pregnancy and implantation rates in women with unexplained infertility. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 38(3):203-5, 2011.
- Fishel S, Aslam I, Lisi F, Rinaldi L, Timson J, Jacobson M, L Gobetz, S Green, A Cambell, R Lisi: Should ICSI be the treatment of choice for all cases of in-vitro conception? *Human reproduction (Oxford, England)*, 15(6): 1278-83, 2000.
- Hershlag A, Paine T, Kvapil G, Feng H, Napolitano B: In vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection split: an insemination method to prevent fertilization failure. *Fertil Steril*, 77(2): 229-32, 2002.
- Speyer B, O'Neill H, Saab W, Seshadri S, Cawood S, Heath C, Matthew G, Paul S: In assisted reproduction by IVF or ICSI, the rate at which embryos develop to the blastocyst stage is influenced by the fertilization method used: a split IVF/ICSI study. *J Assist Reprod Genet*, 36(4): 647-54, 2019.
- Taylor TH, Wright G, Jones-Colon S, Mitchell-Leef D, Kort HI, Nagy ZP: Comparison of ICSI and conventional IVF in patients with increased oocyte immaturity. *Reprod Biomed Online*, 17(1): 46-52, 2008.
- Chamayou S, Ragolia C, Alecci C, Storaci G, Romano S, Sapienza R, E Maglia, A Liprino, C Cardea, M Fichera, A Guglielmino: More blastocysts are produced from fewer oocytes in ICSI compared to IVF - results from a sibling oocytes study and definition of a new key performance indicator. *Reprod Biol Endocrinol*, 19(1): 116, 2021.
- Isikoglu M, Avci A, Kendirci Ceviren A, Aydinuraz B, Ata B: Conventional IVF revisited: Is ICSI better for non-male factor infertility? Randomized controlled double blind study. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*, 50(7): 101990, 2021.
- Isikoglu M, Ceviren AK, Cetin T, Avci A, Aydinuraz B, Akgul OK, Karaca M: Comparison of ICSI and conventional IVF in non-male factor patients with less than four oocytes. *Arch Gynecol Obstet*, 306(2): 493-9, 2022.
- Sauerbrun-Cutler MT, Huber WJ, 3rd, Has P, Shen C, Hackett R, Alvero R, S Wang: Is intracytoplasmic sperm (ICSI) better than traditional in vitro fertilization (IVF): confirmation of higher blastocyst rates per oocyte using a split insemination design. *J Assist Reprod Genet*, 37(7): 1661-7, 2020.
- Akashi T, Watanabe A, Komiya A, Fuse H: Evaluation of the sperm motility analyzer system (SMAS) for the assessment of sperm quality in infertile men. *Syst Biol Reprod Med*, 56(6): 473-7, 2010.

- 16) Gardner DK, Schoolcraft WB: Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 11(3): 307-11, 1999.
- 17) Plachot M, Belaisch-Allart J, Mayenga J-M, Chouraqui A, Tesquier L, Serkine AM: Outcome of conventional IVF and ICSI on sibling oocytes in mild male factor infertility. *Hum Reprod*, 17(2): 362-9, 2002.
- 18) Boitrelle F, Shah R, Henkel R, Kandil H, Chung E, Vogiatzi P, Zini A, Arafa M, Agarwal A: The Sixth Edition of the WHO Manual for Human Semen Analysis: A Critical Review and SWOT Analysis. *Life(Basal)*, 11(12): 6, 2021.
- 19) World Health O. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44261/9789241547789_jpn.pdf?sequence=4&isAllowed=y, (2020.4.1)
- 20) Tannus S, Son WY, Gilman A, Younes G, Shavit T, Dahan MH: The role of intracytoplasmic sperm injection in non-male factor infertility in advanced maternal age. *Hum Reprod*, 32(1): 119-24, 2017.
- 21) Furuhashi K, Saeki Y, Enatsu N, Iwasaki T, Ito K, Mizusawa Y, Y Matsumoto, S Kokeyuchi, M Shiotani: Piezo-assisted ICSI improves fertilization and blastocyst development rates compared with conventional ICSI in women aged more than 35 years. *Reprod Med Biol*, 18(4): 357-61, 2019.
- 22) Shiraiwa Y, Enatsu N, Yamagami K, Furuhashi K, Iwasaki T, Otsuki J, M Shiotani: Clinical Outcomes of Rescue Intracytoplasmic Sperm Injection at Different Timings Following In Vitro Fertilization. *J Reprod Infertil*, 22(4): 251-7, 2021.
- 23) van der Westerlaken L, Helmerhorst F, Dieben S, Naaktgeboren N: Intracytoplasmic sperm injection as a treatment for unexplained total fertilization failure or low fertilization after conventional in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 83(3): 612-7, 2005.
- 24) Farhi A, Reichman B, Boyko V, Hourvitz A, Ron-El R, Lerner-Geva L: Maternal and neonatal health outcomes following assisted reproduction. *Reprod Biomed Online*, 26(5): 454-61, 2013.
- 25) Pereira N, O'Neill C, Lu V, Rosenwaks Z, Palermo GD: The safety of intracytoplasmic sperm injection and long-term outcomes. *Reproduction*, 154(6): F61-f70, 2017.
- 26) Belva F, Bonduelle M, Buysse A, Van den Bogaert A, Hes F, Roelants M, Verheyen G, Tournaye H, Keymolen K: Chromosomal abnormalities after ICSI in relation to semen parameters: results in 1114 fetuses and 1391 neonates from a single center. *Hum Reprod*, 35(9): 2149-62, 2020.
- 27) Lacamara C, Ortega C, Villa S, Pommer R, Schwarze JE: Are children born from singleton pregnancies conceived by ICSI at increased risk for congenital malformations when compared to children conceived naturally? A systematic review and meta-analysis. *JBRA Assist Reprod*, 21(3): 251-9, 2017.
- 28) Davies MJ, More VM, Wilson KJ, Van Essen P, Priest K, Scott H, Mgmt B, Haan A Eric, Chan A: Reproductive technologies and the risk of birth defects. *N Engl J Med*, 366(19): 1803-13, 2012.

多核胚における Direct cleavage 併発は流産率の上昇に繋がる； 単一凍結融解胚盤胞移植における後方視的検討

Complicating direct cleavage increases the miscarriage rate of multinucleated embryos ;
a retrospective study of single frozen-thawed blastocyst transfer cycles.

水本 茂利, 渡辺 瞳, 仲宗根 巧真, 長尾 洋三, 田中 啓子, 小柳 沙織, 戸野本 知子,
大坪 可奈子, 奥田 紗矢香, 後藤 美緒, 伊賀 淑穂, 星井 彩花, 影山 美桜, 江夏 悠介,
小川 尚子, 古川 雄一, 大塚 未砂子, 吉岡 尚美, 蔵本 武志

Mizumoto S, Watanabe H, Nakasone T, Nagao Y, Tanaka K, Koyanagi S, Tonomoto T, Otsubo K, Okuda S, Goto M, Iga S,
Hoshii S, Kageyama M, Enatsu Y, Ogawa S, Furukawa F, Otsuka M, Yoshioka N, Kuramoto T

蔵本ウイメンズクリニック 〒812-0013 福岡県福岡市博多区博多駅東1-1-19
KURAMOTO WOMEN'S CLINIC

要旨： 本検討では、多核割球 (MNB) ならびに Direct cleavage (DC) の併発が臨床妊娠転帰に及ぼす影響を明らかにするため、単一凍結融解胚盤胞移植の成績を後方視的に調査した。発生過程に MNB が確認された胚 (MNB 胚) について、MNB のみ確認された胚 (MO 胚)、Direct cleavage を併発した胚 (MD 胚) に分け臨床成績を比較した。臨床的妊娠率は、正常胚の 66.5% に対し、MO 胚および MD 胚はそれぞれ 43.8%、46.7% と有意に低かったが、形態良好胚あたりの成績には差が見られなかった。一方で、MD 胚における流産率は他区と比較して有意に高く、形態良好胚であっても 66.7% と顕著に高値を示した。MNB 胚の評価は胚の形態を考慮する必要があるが、また DC を併発した場合の取り扱いには留意が必要である事が示唆された。

キーワード： 多核, 多核割球, Direct cleavage, 胚評価
ランニングヘッド：多核胚および異常分割胚の妊孕性

英文要旨： Objectives: To examine the effect of multinucleated blastomeres (MNBs) and complicated direct cleavage (DC) on clinical outcomes.

Study design and methods: This was a retrospective study of single frozen-thawed blastocyst transfer. The embryos were classified into three groups: embryos with only MNBs (MO group), embryos with MNBs and DC (MD group), and embryos without MNBs and DC (normal group). Clinical pregnancy rates (CPRs) and miscarriage rates (MCRs) were compared.

Results: The CPRs of MO (43.8%) and MD (46.7%) groups were significantly lower than that of the normal group (66.5%). Although the CPR per good quality embryo was not different among the groups, the MCR of the MD group was significantly higher as ever.

Conclusion: MNB embryos should be graded by considering the morphology of blastocysts, and embryos with DC should be considered likely to miscarry.

キーワード： multinucleation, multinucleated blastomeres, direct cleavage, embryo grading

緒言

ARTにおいてタイムラプスインキュベーターが用いられるようになって久しく、現在は一般的なツールとして普及している。タイムラプスインキュベーターを用いることで胚観察時の外的ストレスを回避出来るだけでなく、従

来の定点観察では捉える事が出来ない詳細な発生動態を記録する事が可能となった。現在、それらのデータを元にしたアルゴリズム¹⁾や人工知能を用いた胚評価システムの構築²⁾にまで及んでいる一方で、発生過程に見られる多核割球 (MNB: Multinucleated blastomere) や Direct cleavage (DC) などの取り扱いについて一定

受付 2023年2月10日 / 受理 2023年3月31日

責任著者：水本 茂利 e-mail [mizumoto@kuramoto.or.jp]

の見解が得られていないのが現状である。

MNBは核と細胞質の分裂が同調しない場合に生じると考えられており³⁾、MNBが見られた胚は正常胚と比較して妊娠率が低い事が報告されている^{4, 5)}。DCは1個の割球が3個以上に分裂する現象であり、MNBと同様に妊娠率低下に繋がる事が報告されている⁶⁾。また、MNBとDCの関係性について指摘されており、HahimotoらはMNB自体が問題ではなくDCを併発した場合に悪影響を及ぼすと報告している⁷⁾。しかしながら、それらの報告は分割期胚移植の結果に基づくものであり、またMNB/DCはそれぞれ胚盤胞到達率の低下に繋がる事から^{4, 8)}、真に妊娠への影響を測れているとは言い難い。

そこで本検討では、発生過程のMNB発生およびDCの併発が臨床妊娠転帰に及ぼす影響を明らかにする事を目的に、単一凍結融解胚盤胞移植の結果を後方視的に調査した。

対象と方法

2019年4月から2020年1月までに当院でホルモン補充周期により凍結融解単一胚盤胞移植を行った318症例における初回の胚移植周期を研究対象とした。

胚の観察はEmbryoViewer (Vitrolife) を用いて行い、1個の割球内に2個以上の核が見られたものをMNB(図1)、1個の割球が3個以上に分裂した場合をDC(図2)とした。本研究では、第2卵割までにMNBが見られた胚をMNB胚とし、MNBのみ見られた胚をMNB only胚(MO胚)、DCを併発した胚をMNB+DC胚(MD胚)と定義した。同期間に移植した胚のうちMNBおよびDCが共に見られなかった胚を正常胚とした。移植胚の選択はMNB/DCの有無に関わらず形態順に行った。

移植胚におけるMNBの有無を目的変数としてロジスティック回帰分析を行い、患者背景との関係性を調査した。単変量回帰分析の結果、P値が0.2未満であった因子(妻年齢、AMH値、不妊原因：受精障害・卵巣予備能低下、卵巣刺激方法：アンタゴニスト法・PPOS法、胚グレード：形態良好胚)について多変量回帰分析を行った。本検討では、ガードナー分類AA、AB、BAを含むものを形態良好胚、その他の胚を下位胚と定義した。臨床的妊娠率および流産率はカイ二乗検定により解析を行った。

なお、MNB胚およびDC胚の移植は十分なインフォームドコンセントの下で行った。また、本研究は蔵本ウイメンズクリニック院内倫理委員会の承認を受け、ホームページ上に研究概要を掲示した上で実施している。

結果

移植胚におけるMNBの有無と患者背景について解析した結果、胚のグレード(形態良好胚)が関係しており(オッズ比：0.384、95%信頼区間：0.245-0.603、 $P<0.001$ ；表1)、移植胚に占める形態良好胚の割合は、正常胚の63.4%(121/191周期)に対してMNB胚は38.5%(49/127周期)であった($P<0.001$ ；表3参照)。

臨床成績を表2に示す。正常胚およびMNB胚における臨床的妊娠率は66.5%、44.1%であり有意な差が見られた($p<0.001$)。また、MO胚およびMD胚における臨床的妊娠率は43.8%、46.7%であり、それぞれ正常胚との間に有意な差が見られた($P<0.001$)。正常およびMNB胚の流産率はそれぞれ17.3%、25.0%であり差は見られなかった。一方、MO胚およびMD胚に分けて見ると流産率は18.4%、71.4%でありMD胚において有意に高くなった($P<0.01$)。

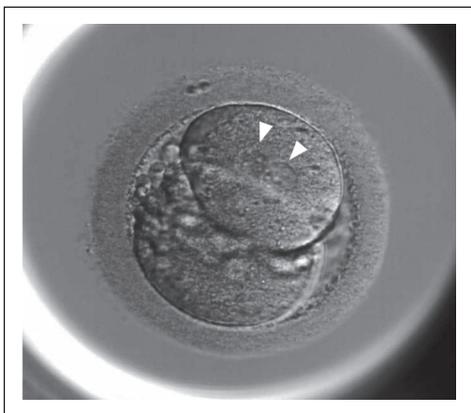


図1 多核割球(MNB)が見られる胚
矢頭は核を示す。

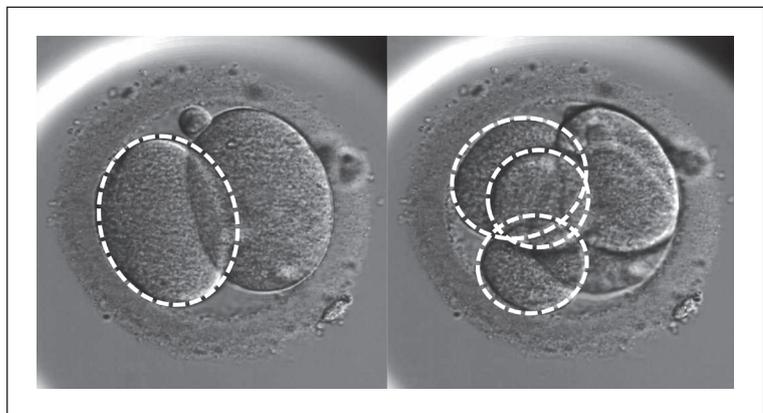


図2 Direct Cleavage (DC)が見られる胚

表1 移植胚におけるMNB有無と患者背景

因子	オッズ比	95%CI	P値
妻年齢	1.02	0.965-1.08	0.504
AMH値	0.989	0.901-1.09	0.825
成熟卵数	0.941	0.836-1.06	0.318
採卵数	1.01	0.911-1.11	0.891
不妊原因：			
受精障害	2.06	0.762-5.59	0.154
卵巣予備能低下	1.56	0.809-3.02	0.184
卵巣刺激法：			
アンタゴニスト法	1.35	0.739-2.48	0.326
PPOS法	1.9	0.955-3.8	0.0675
胚グレード：			
形態良好胚*	0.384	0.245-0.603	< 0.001

*：ガードナー分類：AA, AB, BAを含むもの

表2 正常胚とMNB胚(MO胚, MD胚)の臨床成績

分類	周期数	臨床的妊娠数 (%)	流産数 (%)
正常胚	191	127 (66.5) ^{a†}	22 (17.3) ^a
MNB胚	127	56 (44.1) [†]	14 (25.0)
MO胚*	112	49 (43.8) ^b	9 (18.4) ^a
MD胚*	15	7 (46.7) ^b	5 (71.4) ^b

*MO胚：MNB only胚, MD胚：MNB+DC胚

a-b：正常胚, MO胚, MD胚において異符号間に有意差あり（臨床的妊娠率：P<0.001, 流産率：P<0.01）

†：正常胚とMNB胚の間に有意差あり（P<0.001）

胚グレード毎の臨床成績を表3に示す。形態良好胚における臨床的妊娠率は各区間に差は見られなかった。一方で、下位胚における臨床的妊娠率は正常胚が62.9%であり他区と比較して有意に高かった($P<0.001$)。MD胚における流産率は、形態良好胚では66.7%、下位胚では75.0%となり、グレードに関わらず有意に高くなった。

考 察

本検討では、単一凍結融解胚盤胞移植の成績を元に発生過程にみられるMNBが臨床成績に及ぼす影響およびMNBとDCの関係性について調査した。その結果、MNBが見られた胚およびDCを併発した胚の臨床的妊娠率は正常胚と比較して低くなるものの、形態良好胚あたりの成績には差が見られなかった。MNBと染色体異常の関係性は古くから指摘されている^{9,10}。また、形態良好な胚盤胞は不良胚と比較して有意に正倍数性の胚が多くなる事が知られており¹¹、これらの報告は本検討の結果を支持している。

一方、近年のタイムラプスを用いた観察とPGT-A結果の分析から、発生過程にMNBやDCが見られた場合であっても胚盤胞になれば正倍数性に差がみられない事が報告されている^{12,13}。妊娠や流産に影響を及ぼす倍数性

以外の要因として、培養室の環境^{14,15}や精子DNA断片化¹⁶などが挙げられるが、いずれの症例も共通の環境で操作を行っているのはもちろんの事、男性因子を含む患者背景にも差は見られなかった。また、MNBのみ確認された胚の流産率は正常胚と差が見られないものの、DCを併発した場合に流産率が顕著に高くなるという結果をこれらの要因で説明するのは難しい。MNB胚は第2卵割に至る速度が過度に早い場合(37時間未満)に流産率が上昇する事が報告されている¹⁷。この事は、十分に準備が整っていないタイミングでの細胞分裂が発生動態に悪影響を及ぼす事を示しており、その顕著な例としてDCが起こると考えられる。DCが正倍数性に影響しない要因として、DC胚の胚盤胞到達率が低い事、またDCにより生じた割球はコンパクション時に高頻度で排除されるためであると指摘されている^{8,18}。本検討も含めてDC胚における移植例および知見は少ない。今後、本邦におけるPGT-A結果の蓄積とタイムラプスによる詳細な観察結果からその影響が明らかになると考えられる。

本検討の結果、MNBが臨床的妊娠率に及ぼす影響は胚盤胞の形態評価によって異なる事、一方でDCを併発した場合は形態に関わらず流産率が高くなる事が判明した。MNB由来胚盤胞の評価および移植胚の選択には形態を加味する事が重要であり、特にDCを併発してい

表3 胚グレード毎の正常胚とMNB胚(MO胚, MD胚)の臨床成績

胚グレード	分類	周期数	臨床的妊娠数 (%)	流産数 (%)
形態良好胚	正常胚	121	83 (68.6)	15 (18.1) ^a
	MNB胚	49	30 (61.2)	5 (16.7)
	MO胚*	44	27 (61.6)	3 (11.1) ^a
	MD胚*	5	3 (60.0)	2 (66.7) ^b
下位胚	正常胚	70	44 (62.9) ^{a†}	7 (15.9) ^a
	MNB胚	78	26 (33.3) [†]	9 (34.6)
	MO胚*	68	22 (32.4) ^b	6 (27.3) ^a
	MD胚*	10	4 (40.0) ^{ab}	3 (75.0) ^b

*MO胚：MNB only胚, MD胚：MNB+DC胚

a-b：正常胚, MO胚, MD胚において異符号間に有意差あり (臨床的妊娠率： $P<0.001$, 流産率： $P<0.05$)

†：正常胚とMNB胚の間に有意差あり ($P<0.001$)

る場合は十分な患者説明が必要である事が示唆された。

本検討では、第2卵割までに発生したMNBおよびDCを一括りにして分析を行っているが、MNBは発生時期や全割球に占めるMNBの割合によって妊孕性に及ぼす影響が異なる事が報告されている^{8, 19, 20}。また、卵巣刺激方法や反応性の違いがMNB発生頻度に影響する事が知られている²¹。本検討においては卵巣刺激方法等の患者背景に差はみられなかったが、この結果はあくまで胚移植周期の内訳でありMNBが発生する要因を示すものではない。今後、胚評価の更なる精度向上を目的としてMNBの発生時期やパターン、DCを併発する要因を考慮すると同時に、それらの発生を未然に防ぐための検討が必要である。

参考文献

- 1) Petersen BM, Boel M, Montag M, Gardner DK: Development of a generally applicable morphokinetic algorithm capable of predicting the implantation potential of embryos transferred on Day 3. *Hum Reprod*, 31: 2231-2244, 2016.
- 2) Tran D, Cooke S, Illingworth PJ, Gardner DK: Deep learning as a predictive tool for fetal heart pregnancy following time-lapse incubation and blastocyst transfer. *Hum Reprod*, 34: 1011-1018, 2019.
- 3) Hardy K, Winston RML, Handyside AH: (1993) Binucleate blastomeres in preimplantation human embryos in-vitro: failure of cytokinesis during early cleavage. *J Reprod Fertil*, 98: 549-558, 1993.
- 4) Egashira A, Yamauchi N, Tanaka K, Mine C, Otsubo H, Murakami M, Islam MR, Ohtsuka M, Yoshioka N, Kuramoto T: Developmental capacity and implantation potential of the embryos with multinucleated blastomeres. *J Reprod Dev*, 61: 595-600, 2015.
- 5) Ergin EG, Caliřkan E, Yařinkaya E, Oztel Z, Cökelez K, Ozay A, Özörnek HM: Frequency of embryo multinucleation detected by time-lapse system and its impact on pregnancy outcome. *Fertil Steril*, 102: 1029-1033. e1, 2014.
- 6) Rubio I, Kuhlmann R, Agerholm I, Kirk J, Herrero J, Escribá MJ, Bellver J, Meseguer M: Limited implantation success of direct-cleaved human zygotes: a time-lapse study. *Fertil Steril*, 98: 1458-1463, 2012.
- 7) Hashimoto S, Nakano T, Yamagata K, Inoue M, Morimoto Y, Nakaoka Y: Multinucleation per se is not always sufficient as a marker of abnormality to decide against transferring human embryos. *Fertil Steril*, 106: 133-139. e6, 2016.
- 8) Zhan Q, Ye Z, Clarke R, Rosenwaks R, Zaninovic N: Direct Unequal Cleavages: Embryo Developmental Competence, Genetic Constitution and Clinical Outcome. *PLoS One*, 11: e0166398, 2016.
- 9) Munne S, Cohen J: Unsuitability of multinucleated human blastomeres for preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod*, 8: 1120-1125, 1993.
- 10) Kligman I, Benadiva C, Alikani M, Munne S: The presence of multinucleated blastomeres in human embryos is correlated with chromosomal abnormalities. *Hum Reprod*, 11: 1492-1498, 1996.
- 11) Minasi MG, Colasante A, Riccio T, Ruberti A, Casciani V, Scarselli F, Spinella F, Fiorentino F, Varricchio MT, Greco E: Correlation between aneuploidy, standard morphology evaluation and morphokinetic development in 1730 biopsied blastocysts: a consecutive case series study. *Hum Reprod*, 31: 2245-2254, 2016.
- 12) Balakier H, Sojecki A, Motamedi G, Librach C: Impact of multinucleated blastomeres on embryo developmental competence, morphokinetics, and aneuploidy. *Fertil Steril*, 106: 608-614. e2, 2016.
- 13) Desai N, Goldberg JM, Austin C, Falcone T: Are cleavage anomalies, multinucleation, or specific cell cycle kinetics observed with time-lapse imaging predictive of embryo developmental capacity or ploidy? *Fertil Steril*, 109: 14665-14674, 2018.
- 14) Morbeck DE: Air quality in the assisted reproduction laboratory: a mini-review. *J Assist Reprod Genet*, 32: 1019-1024, 2015.
- 15) Wale PL, Gardner DK: The effects of chemical and physical factors on mammalian embryo culture and their importance for the practice of assisted human reproduction. *Hum Reprod Update*, 22: 2-22, 2016.
- 16) Eisenberg ML, Sapra KL, Kim SD, Chen Z, Buck Louis GM: Semen quality and pregnancy loss in a contemporary cohort of couples recruited before conception: data from the Longitudinal Investigation of Fertility and the Environment (LIFE) Study. *Fertil Steril*, 108: 613-619, 2017.
- 17) Desch L, Bruno C, Luu M, Barberet J, Choux C, Lamotte M, Schmutz E, Sagot P, Fauque P: Embryo multinucleation at the two-cell stage is an independent predictor of intracytoplasmic sperm injection outcomes. *Fertil Steril*, 107: 97-103. e4, 2017.
- 18) Watanabe S, Yoshikai K, Tomida M, Suzuki S, Matsuda Y, Miyai S, Nakano E, Kurahashi H, Sawada T: The fate of irregularly divided blastomeres: why does "Direct cleavage" reduce blastocyst development rate but not blastocyst euploid rate? *Hum Reprod*, 37: Issue Supplement_1, July 2022.
- 19) Royen EV, Mangelschots K, Verduyssen M, Neubourg DD, Valkenburg M, Ryckaert G, Gerris J: Multinucleation in cleavage stage embryos. *Hum Reprod*, 18: 1062-1069, 2003.
- 20) Desch L, Bruno C, Luu M, Barberet J, Choux C, Lamotte M, Schmutz E, Sagot P, Fauque P: Embryo multinucleation at the two-cell stage is an independent predictor of intracytoplasmic sperm injection outcomes. *Fertil Steril*, 107: 97-103. e4, 2017.
- 21) Jackson KV, Ginsburg ES, Hornstein MD, Rein MS, Clarke RN: Multinucleation in normally fertilized embryos is associated with an accelerated ovulation induction response and lower implantation and pregnancy rates in in vitro fertilization-embryo transfer cycles. *Fertil Steril*, 70: 60-66, 1998.

LH 基礎値の高い卵巣機能低下症例に対する PPOS法 (Progestin-primed Ovarian Stimulation) の 有用性について

The effectiveness of PPOS (Progestin-Primed Ovarian Stimulation) on poor ovarian responders
with high basal LH levels

山田 愛, 岡本 恵理, 苔口 昭次, 塩谷 雅英

Ai Yamada, Eri Okamoto, Shoji Kokeyuchi, Masahide Shiotani

英ウィメンズクリニック 〒650-0021 兵庫県神戸市中央区三宮町1丁目1-2 三宮セントラルビル7.8階
Hanabusa Women's Clinic Sannomiya Central Building 7, 8F, 1-1-2, Sannomiya-cho,
Chuo-ku, Kobe, Hyogo, 650-0021, Japan

要旨： 卵巣機能低下症例のART治療では貴重卵の採卵に挑む機会が多いが、卵巣刺激中に、刺激に対する低反応、早発LHサージ、予期せぬ排卵、空胞等の問題が生じやすく、卵巣刺激管理は困難を極める。当院で採卵を行ったAMH1.1ng/ml未満の症例のうち、より卵巣機能低下が進行していると推定される、卵巣刺激開始時のLHが10.0mIU/ml以上の高LH症例を検討した結果、卵巣機能低下症例でも卵巣刺激開始時のAFCが4以上あればCOHを選択することで4個前後の採卵数が期待でき、比較的良好なART成績が得られた。なかでも近年登場した、プロゲステンによりLHサージを抑制しつつ調節卵巣刺激を行うPPOS法を用いることで、胚質や妊娠率に負の影響を及ぼす可能性のある早発LHサージや早期黄体化のリスクを心配することなく卵巣刺激管理が行えるというメリットが示唆された。

キーワード： 卵巣機能低下, 高LH, 早発LHサージ, 調節卵巣刺激, PPOS

ランニングヘッド： 高LH基礎値の卵巣機能低下症例に対するPPOS法

英文要旨： In assisted reproductive technology for patients with poor ovarian responses, retrieving oocytes is big challenging process. But during ovarian stimulation, problems such as poor response to stimulation, premature LH surge, unexpected ovulation, and empty follicles are likely to occur, and the management of ovarian stimulation is extremely difficult. Among the cases of AMH lower than 1.1 ng / ml, we collected more severe cases with an LH of 10.0 mIU / ml or higher at the start of ovarian stimulation. If the AFC is 4 or more, the number of oocytes retrieved can be expected around 4 and the result of the treatment was favorable by selecting a GnRH antagonist protocol and PPOS protocol. PPOS protocol has appeared in recent years. Progestin suppresses LH surge and we can stimulate ovaries without worrying about the risk of premature LH surges or premature luteinization that can negatively affect embryos and pregnancy rates.

キーワード： poor ovarian responses, premature LH surges, PPOS; Progestin-Primed Ovarian Stimulation

緒言 (目的, 背景)

2020年の日本産科婦人科学会のART治療周期数データによると、日本でのART治療年齢のピークは40歳であり、40歳以上は全体の40%以上を占めている。英ウィメンズクリニックでの2012年以降の採卵患者年

齢の分布でも、40歳以上が52.7%を占めており、治療対象の高齢化が伺える(図1)。

年齢とゴナドトロピン基礎分泌の関係については、年齢が40歳を超えるとFSH、LHともに基礎値が上昇していくことが知られている¹⁾。従って、高齢患者の占める割合が高いほどゴナドトロピン分泌状態が良好でない

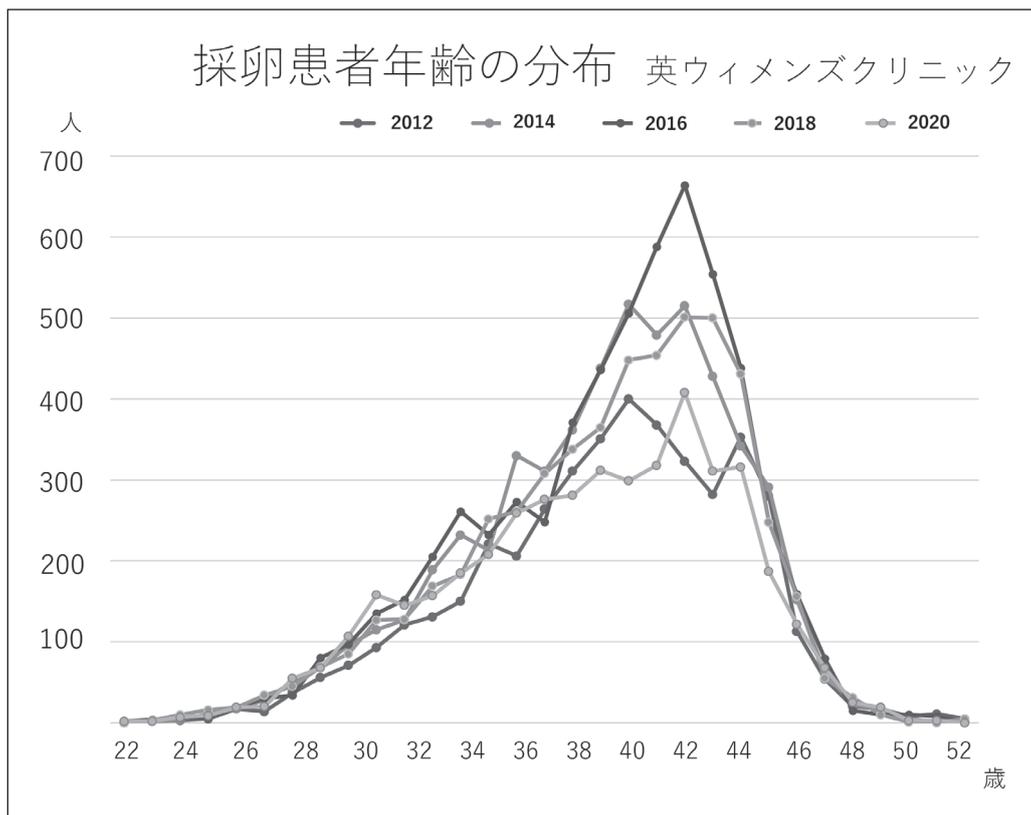


図 1

状況で卵巣刺激を施行せざるを得ない機会が増え、卵巣刺激中に、刺激に対する低反応、早発LHサージ、予期せぬ排卵、空胞等の問題が生じる。

このような背景の中、卵巣機能低下症例におけるART成績改善のための工夫の一つとして、近年プロゲステロンによりLHサージを抑制しつつ調節卵巣刺激を行う Progestin Primed Ovarian Stimulation; PPOS法が注目されている。当院での現状について検討した。

対象と方法

2016年1月から2022年12月の間、臨床研究の倫理指針に従い、研究同意が得られた当院での採卵症例で、AMH1.1ng/ml未満の症例のうち、より卵巣機能低下が進行していると推定される、CD3(卵巣刺激開始時)のLHが10.0mIU/ml以上の高LH症例624例を抽出し、PPOS群(42例)、アンタゴニスト群(32例)、マイルド群(550例)の3群に分類し、卵巣刺激中の早発LHサージ発生率や空胞発生率およびART成績について、 χ^2 検定を用い後方視的に検討した。PPOS法のプロトコルとしては、CD3のFSH/hMG製剤の投与開始に合わせてプロゲステロンの連日内服を開始し、トリ

ガー当日あるいは前日まで継続(プロゲステロンとしてはMPA5~10mg/日を用いた)、トリガーのタイミングおよびトリガー後の採卵のタイミングは従来の調節卵巣刺激と同様で、トリガーとしては、GnRHアゴニスト単独、hCG単独、あるいは両者の併用、これら3者のいずれかを選択した。またPPOS法では、卵胞期にプロゲステロンを使用するため新鮮胚移植には適しておらず、得られた胚は全凍結を原則とした。このためART成績の比較の際には、アンタゴニスト群で新鮮胚移植に進んだ症例は除外し、全凍結周期に限っての検討とした。

結 果

各群における年齢、AFCについての検討では、マイルド法を選択した症例では年齢がより高く、AFCが少ないことが明らかとなった(図2)。採卵数については、アンタゴニスト法およびPPOS法ではいずれも4個前後と有意差なく、マイルド法では1.4個前後と他と比べ有意に少なかった(図2)。

各群における空胞発生、排卵済症例についての検討では、空胞発生は、マイルド法の17%、アンタゴニスト法の6.25%でみられPPOS法ではみられなかった。排卵

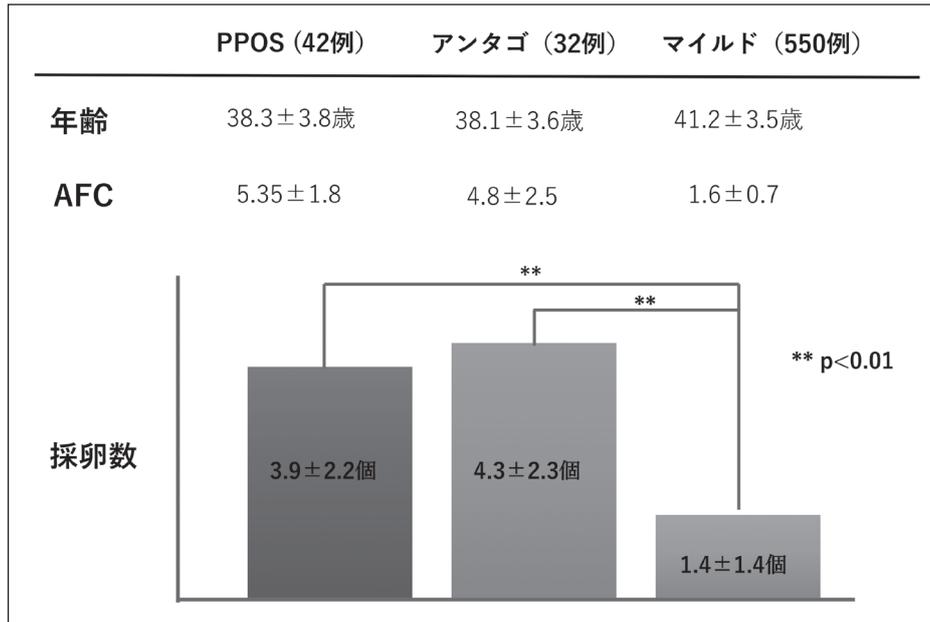


図 2

済症例はマイルド法でのみ(3%)みられた(表1)。

早発LHサージ(トリガー前のLH上昇)は、マイルド法の16%、アンタゴニスト法の12.5%でみられ、PPOS法ではみられなかった(表1)。マイルド法における卵獲得不能110例中32例(29%)でトリガー前LH上昇がみられ、このうち19%でトリガー前のP上昇($P \geq 1.0 \text{ ng/ml}$)が認められた。

以上より、卵巣機能低下症例でも卵巣刺激開始時のAFCが4以上あればCOHを選択することで4個前後の採卵数が期待できるが、懸念事項として、卵巣機能低下症例においては卵巣刺激中の早発LHサージ発生のリスクが高いことが示唆された。

PPOSおよびアンタゴニスト法でのART成績についての検討では、卵巣機能低下症例でもアンタゴニスト法やPPOSといったCOHが選択できれば胚盤胞発生率、臨床妊娠率とも50%前後と比較的良好なART成績が得られる可能性があることが示唆された(表2)。PPOS法およびアンタゴニスト法各々の採卵周期の血中LH値についての検討では、アンタゴニスト法ではPPOS法に比べトリガー日に有意にLH上昇がみられた。当院にて同時期にART治療を行った、CD3のLH値が高いPCOSにおけるPPOS法での血中LH値の推移と比較すると、刺激中のLH下降の度合いは緩やかな印象ではあるが、PPOS法においてはLH抑制効果が得られることにより、アンタゴニスト法に比べCOH中の早発LHサージのリスクが少ないことが示唆された(図3)。

考 察

早発LHサージに関しては、従来はLH 10mIU/ml以上、 $P 1 \text{ ng/ml}$ 以上と定義されてきたが、カットオフ値については諸説ある。本研究ではLH基礎値が既に10以上の例を対象としているため、LH基礎値の2倍以上のLH上昇を早発LHサージとみなした。

一般的にはアンタゴニスト法における早発LHサージは0.34～0.38%とされ、Kummerらは、GnRH agonistによるトリガーに対して、反応不良例では3.2%の頻度で、また反応良好でも0.55%の頻度でEmpty follicle syndromeが発症することを報告している²⁾。本研究ではマイルド法の16%、アンタゴニスト法の12.5%でそれぞれ早発LHサージを認めており、卵巣予備能の低下した症例における卵巣刺激管理の困難さが浮き彫りとなった。

早期黄体化(premature luteinization; PL)の機序として、加齢、卵巣予備能の低下により卵胞老化プロセスが進み、血中Pレベルの上昇が引き起こされることが知られている^{3, 4)}。

また高レベルのFSHによる継続的な卵巣刺激は、それらをエストロゲン合成経路に変換する卵巣の能力を超える可能性のある前駆体ステロイドを大量に産生し、莖膜細胞で起こるアンドロゲンへのP4変換が遅延し、全身P4レベルの増加をもたらすことも報告されている⁵⁾。

ドナーサイクルでの報告では早期黄体形成は胚質、また胚のploidyに影響を及ぼさず、凍結融解移植での妊

表 1

	PPOS (42例)	アンタゴ (32例)	マイルド (550例)
空胞	0	6.25% (2例)	17% (93例)
排卵済	0	0	3% (17例)
トリガー前 LH上昇 ($\geq \times 2$)	0	12.5% (4例)	16% (88例)

表 2

	PPOS (42例)	アンタゴ (32例)	
採卵数	4.2 \pm 2.2個	3.2 \pm 2.3個	n.s
HMG/FSH 投与日数	8.9 \pm 1.5日	9.2 \pm 1.5日	n.s
胚盤胞発生率	58.4% (52/89)	39.0% (16/41)	0.01<p<0.05
良好胚盤胞率	55.8% (29/52)	59.1% (7/16)	n.s
臨床妊娠率	51.4% (18/35)	50.0% (6/12)	n.s

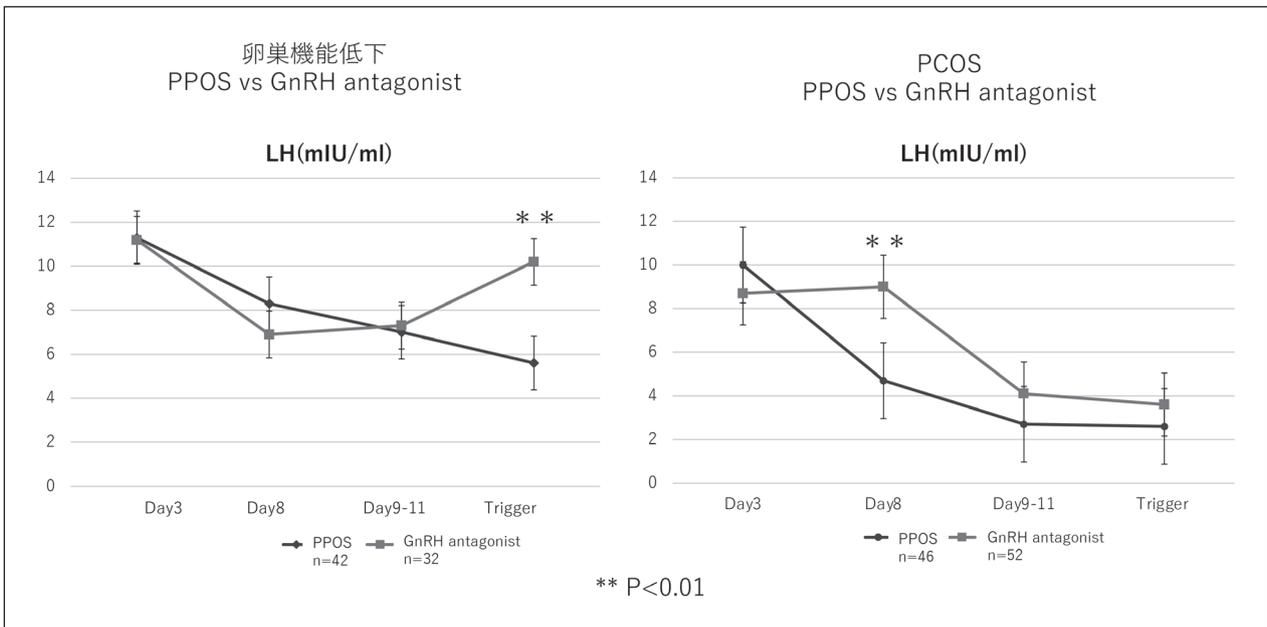


図 3

娠率にも影響しない、との報告⁶⁻⁸⁾がみられるものの、卵巣刺激中の早期LHサージ・早期黄体形成の発生は、新鮮胚移植での妊娠率の低下と関連しているとの報告⁹⁾や、採卵数、成熟率、胚盤胞率および良好胚盤胞率は、早期黄体形成群よりも非黄体形成群において有意に高く¹⁰⁾、卵胞期Pレベルが1.0ng/mlを超えるとTQE(top-quality embryos) および移植率を低下させるとの報告もあり、早期黄体化が胚質に及ぼす悪影響についてのエビデンスは増加している¹¹⁾。

卵巣機能低下症例に対するPPOS法についての報告はまだ少数だが、アンタゴニスト法やショート法に比較してMII卵母細胞率、受精率、良好胚率、妊娠率、出生率の改善がみられたという報告はみられており^{12, 13)}、PPOS法が今後、卵巣機能低下症例に対する卵巣刺激法として採用される機会が増えていくことが予測される。

卵巣機能低下症例に対する卵巣刺激法として、刺激開始時のAFCが4以上あれば、LHサージ抑制効果の高いPPOS法を選択することで、胚質や妊娠率に負の影響を及ぼす可能性のある早発LHサージ・早期黄体化を心配することなく卵巣刺激管理が行えるというメリットが示唆された。

利益相反状態の開示

今回の論文に関して開示すべき利益相反はありません。

参考文献

- 1) 若槻明彦：婦人科疾患の診断・治療・管理 9 5) 更年期障害。日産婦誌, 61(7): N-238-242, 2009.
- 2) Kummer NE, Feinn RS, Griffin DW, Nulsen JC, Benadiva CA, Engmann LL: Predicting successful induction of oocyte maturation after gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH_a) trigger. Hum Reprod, 28(1): 152-9, 2013.
- 3) Reichman DE, Zakarin L, Chao K, Meyer L, Davis OK, Rosenwaks Z: Diminished ovarian reserve is the predominant risk factor for gonadotropin-releasing hormone antagonist failure resulting in breakthrough luteinizing hormone surges in in vitro fertilization cycles. Fertil Steril, 102(1): 99-102, 2014.
- 4) Oktem O, Urman B: Understanding follicle growth in vivo. Hum Reprod, 25(12): 2944-2954, 2010.
- 5) Voutilainen R, Tapanainen J, Chung B-C, Matteson KJ, Miller WL: Hormonal Regulation of P450scc (20, 22-desmolase) and P450c17 (17 α -hydroxylase/17,20-lyase) in cultured human granulosa cells. J Clin Endocrinol Metab, 63(1): 202-207, 1986.
- 6) Melo MAB, Meseguer M, Garrido N, Bosch E, Pellicer A, Remohí J: The significance of premature luteinization in an oocyte-donation programme. Hum Reprod, 21: 1503-7, 2006.
- 7) Legro RS, Ary BA, Paulson RJ, Stanczyk FZ, Sauer MV: Premature luteinization as detected by elevated serum progesterone is associated with a higher pregnancy rate in donor oocyte in-vitro fertilization. Hum Reprod, 8: 1506-11, 1993.
- 8) Kofinas JD, Mehr H, Ganguly N, Biley Y, Bochkovsky S, McCulloh D, Grifo J: Is it the egg or the endometrium? Elevated progesterone on day of trigger is not associated with embryo ploidy nor decreased success rates in subsequent embryo transfer cycles. J Assist Reprod Genet, 33(9): 1169-74, 2016.
- 9) Lee TH, Lin YH, Seow KM, Hwang JL, Tzeng CR, Yang YS: Effectiveness of cetrorelix for the prevention of premature luteinizing hormone surge during controlled ovarian stimulation using letrozole and gonadotropins: A randomized trial. Fertil Steril, 90: 113-20, 2008.
- 10) Yu-Che O, Kuo-Chung L, Shih-Young C, Fu-Tsai K, Fu-Jen H: Increased progesterone/estradiol ratio on the day of HCG administration adversely affects success of in vitro fertilization-embryo transfer in patients stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist and recombinant follicle-stimulating hormone. Taiwan J Obstet Gynecol, 47(2): 168-74, 2008.
- 11) Simon C, Moreau J, Gatimel N, Cohade C, Parinaud J, Leandri R: Impact of estradiol and progesterone levels during the late follicular stage on the outcome of GnRH antagonist protocols. Gynecol Endocrinol, 1-4, 2019.
- 12) Huang P, Tang M, Qin A: Progesterone-primed ovarian stimulation is a feasible method for poor ovarian responders undergoing in IVF/ICSI compared to a GnRH antagonist protocol: A retrospective study. J Gynecol Obstet Hum Reprod, 48(2): 99-102, 2019.
- 13) Mu Z, Sa Y, Sun Z, Yi Y: Ovulation induction with high progesterone levels may be more suitable for elderly patients with low ovarian response. J Gynecol Obstet Hum Reprod, 50(2): 101661, 2021.

運動精子選別装置ミグリスを用いて回収した精子の 細胞生物学的特徴

Cytobiological characteristics of sperm collected using the MIGLIS motile sperm sorting device.

関本 僚平, 長谷川 久隆, 村田 さくら, 佐藤 由莉香, 佐野 憲一, 吉田 淳

Ryohei Sekimoto, Hisataka Hasegawa, Sakura Murata, Yurika Sato, Kenichi Sano, Atsumi Yoshida

木場公園クリニック 東京都江東区木場 2-17-13 亀井ビル 5-7 階
Kiba Park Clinic Kamei Building 5-7F, 2-17-13, Kiba, Koto-Ku, Tokyo, Japan

要旨： 遠心分離を必要とする密度勾配遠心法 (DGC法) と比較して, Migration-Gravity Sedimentation法 (MS法) に基づくミグリス法は, 精子DNAの損傷を最小限に抑えることができる可能性があるが, ミグリス法で回収した精子のDNAを解析した報告は未だ少ない. 本研究では, ミグリス回収精子のDNA fragmentation index (DFI) を精子染色体構造解析により測定し, 原精液およびDGC + Swim up法と比較した. 測定した原精液, DGC + Swim up群, ミグリス群のDFIの中央値 (四分位範囲) はそれぞれ, 10.8% (6.6–19.7%), 7.8% (3.8–25.2%), 1.0% (0.22–2.7%) であり, ミグリス法により回収された精子のDFIは, 原精液およびDGC + Swim up群と比較して有意に低値であることが明らかとなった ($P < 0.0001$).

キーワード： 精子調整, ミグリス, 密度勾配遠心法, DFI, DNA 損傷

英文要旨： The MIGLIS is the device for sperm preparation based on the migration-gravity sedimentation method that may minimize sperm DNA damage compared with density gradient centrifugation (DGC). In this study, we analyzed the DNA fragmentation index (DFI) of MIGLIS-collected sperm by sperm chromosome structure analysis (SCSA). We compared it with that of raw semen and the density gradient stretching method (DGC method). The median DFI (interquartile range) of raw semen, DGC + SU group, and MIGLIS group measured this time were 10.8% (6.6–19.7%), 7.8% (3.8–25.2%), and 1.0% (0.22–2.7%), respectively. The DFI of the sperm collected by the MIGLIS method was significantly lower than that of the original semen or the DGC+SU group ($P < 0.0001$).

キーワード： density gradient centrifugation, DFI, DNA damage, MIGLIS, sperm preparation

緒言

現在, ARTで最も一般的に用いられている精液の調整方法として, 密度勾配遠心法 (Density gradient centrifugation; DGC法) とSwim up法がある¹⁾. DGC法ではコロイド状シリカ (パーコール) に精液を重層し, 遠心分離により密度の高い生存精子を回収する. DGC法はAIH時の感染等の原因となり得る精漿成分を除去すると共に, 運動性良好な精子を回収することができるが, 長時間の遠心分離が精子内の活性酸素種 (Reactive oxygen species; ROS) 濃度の増加の原因となり, 精子のDNAが損傷を受けることが知られている²⁾.

精子DNAの損傷は受精率, 胚発生率, 臨床妊娠率に対しても負の影響を与える恐れがあるため, 不妊診療の精液調整では精子DNAに損傷を与えずに, 正常DNA精子を効率的に回収することが求められる³⁾. 以上のことから遠心分離処理を加えない精液処理法が注目されている.

遠心分離を行わない精液調整方法として, TeaらはMigration-Gravity Sedimentation法 (MS法) を開発した⁴⁾. MS法はチューブ状の容器内に原精液を入れ, Swim up (SU) により運動精子を簡便に回収することが可能である. 近年, MS法用のディスポーザブルデバイスであるミグリス (株式会社メニコン, 日本) が開発さ

れ市販されている (図1A)。ミグリスはチューブ状の容器内に管状の内管が挿入された構造をしており、良好運動精子のみが隔壁を乗り越え内管の底部に集まる (図1B)。ミグリスによる精子回収は、精子DNAの損傷を最小限に抑えることができる可能性があるが、ミグリス回収精子のDNAを解析した報告は未だ少ない。

本研究では、DGC+SU法で回収された精子とミグリス法で回収された精子の運動性およびDNA fragmentation index (DFI)を比較検討した。

対象と方法

倫理承認と同意の取得

本研究は、木場公園クリニック倫理委員会の承認(承認番号7)を得て実施した。木場公園クリニックにて精液検査を実施した症例に、十分なインフォームドコンセントと書面による同意を得て、精液検査の余剰検体の提供を受けた。

対象・材料

2019年10月から2020年4月までに当院にて精液検査を実施した50症例の残余検体を対象とした。精液検体を等量に分け、DGC+SU法とミグリス法に供した。

DGC法とSwim Upによる精子回収

80%に調整した密度勾配液 (SpermGrad, Vitrolife, Sweden) 5mLに、十分に液化した精液を重層し、500G、20分間の遠心分離を行った。遠心後、上清を除去し新鮮な培養液 (Gx-IVF, Vitrolife) を5mL加え、500G、10分間の遠心洗浄を行なった。次に、別の遠心チューブに準備した新鮮な1mLの培養液 (Gx-IVF) の底部に遠心処理した精子を静置し、チューブを30度に

傾けた状態で37°C、6%CO₂ in Air条件下で5分から60分間Swim upした。Swim up後、培養液上部から200μLの精子懸濁液を回収し、解析に用いた。

ミグリス法による精子回収

ミグリスの精子注入部に十分に液化した原精液を注入し、内管内および精子注入部を覆うまで新鮮な培養液 (Modified HTF medium HEPES, 富士フィルム和光純薬株式会社, 日本) を注入・重層後、外蓋を被せて室温で60分間静置した。60分間の静置後、内管底部から0.5mLの精子懸濁液を回収し、解析に用いた。

精子の運動性解析

精子の運動特性は、マクラーチャンバーを用いて精子運動解析装置 (SMAS, DITECT, 日本) により運動率、高速運動率、直線運動率を自動算出した。

フローサイトメーターを用いた精子染色体構造解析

フローサイトメーターを用いた精子染色体構造解析 (sperm chromatin structure assay: SCSA) は Matsuuraらの方法を修正し、実施した⁵⁾。10μLの原精液あるいは調整後精子懸濁液をAcid detergent solution (80mM HCl, 15mM NaCl, 0.1% Triton X-100; pH 1.2)にて30秒間酸処理した後、Acridine orange (AO) solution (6μg/mL Acridine orange, 37mM citrate acid, 126mM Na₂HPO₄, 1.1mM EDTA, 150mM NaCl)にて染色した。

AOは、二本鎖DNAに結合して526nmの緑色の蛍光 (AO Green) を発し、断片化したDNAの一本鎖部分に結合して650nmの赤色蛍光 (AO Red) を発する。AO染色した精液の蛍光を、フローサイトメーター (CytoFlex, Beckman Coulter, Brea, CA)にて検出し、



図1 ミグリスの構造

AO red の蛍光を指標に精子DNAの断片化率 (AO red count/ total count, %) を計測した(図2A).

統計解析

計測値は中央値(四分位範囲)にて示した. 統計解析はJMP Pro 15.00 (SAS institute, Cary, NC, USA) を用いてt検定を実施した. 本研究では多重検定を行うため, ボンフェローニ補正を行い, $p < 0.017$ を統計的に有意とした.

結果

精子の運動性解析

SMASを用いた自動運動性解析の結果を表1に示す.

精子濃度は, DGC+SU群, ミグリス群ともに原精液と比較して有意に低下していた. 運動率, 高速運動率, 前進運動率はDGC+SU群, ミグリス群ともに原精液と比較して有意に増加していた. DGC+SU群とミグリス群の比較では, 精子濃度および運動率に統計的差は認めなかったが, 高速運動率はDGC+SU群で有意に高かった. また, 前進運動率もDGC+SU群において高い傾向にあった($p = 0.0338$).

精子のDFI

SCSA法による精子DFI結果を図2Bに示す. 今回測定した原精液のDFIの中央値は10.8% (6.6–19.7%) であった. DGC+SU群のDFIは7.8% (3.8–25.2%) であり, 原精液と比較して統計的な差を認めなかった.

表1 SMASによる精子の運動性解析

	原精液 ^a	DGC+SU群 ^b	ミグリス群 ^c	P value		
				a vs b	a vs c	b vs c
精子濃度(million)	83.8(43.3–135.4)	12.5 (3.7–20.1)	2.7 (1.2–13.2)	<0.0001	<0.0001	0.3638
運動率 (%)	52.8 (30.9–76.6)	83.8 (54.9–90.8)	77.2 (46.3–91.4)	<0.001	<0.01	0.5543
高速運動率 (%)	5.5 (3.5–9.2)	33.8 (18.0–44.8)	19.8 (9.8–31.2)	<0.0001	<0.0001	<0.0001
前進運動率 (%)	31.3 (15.5–47.4)	75.0 (49.2–85.2)	64.4 (29.3–81.2)	<0.0001	<0.0001	0.0338

データは中央値 (四分位範囲)で示した. DGC, 密度勾配遠心; SU, Swim up

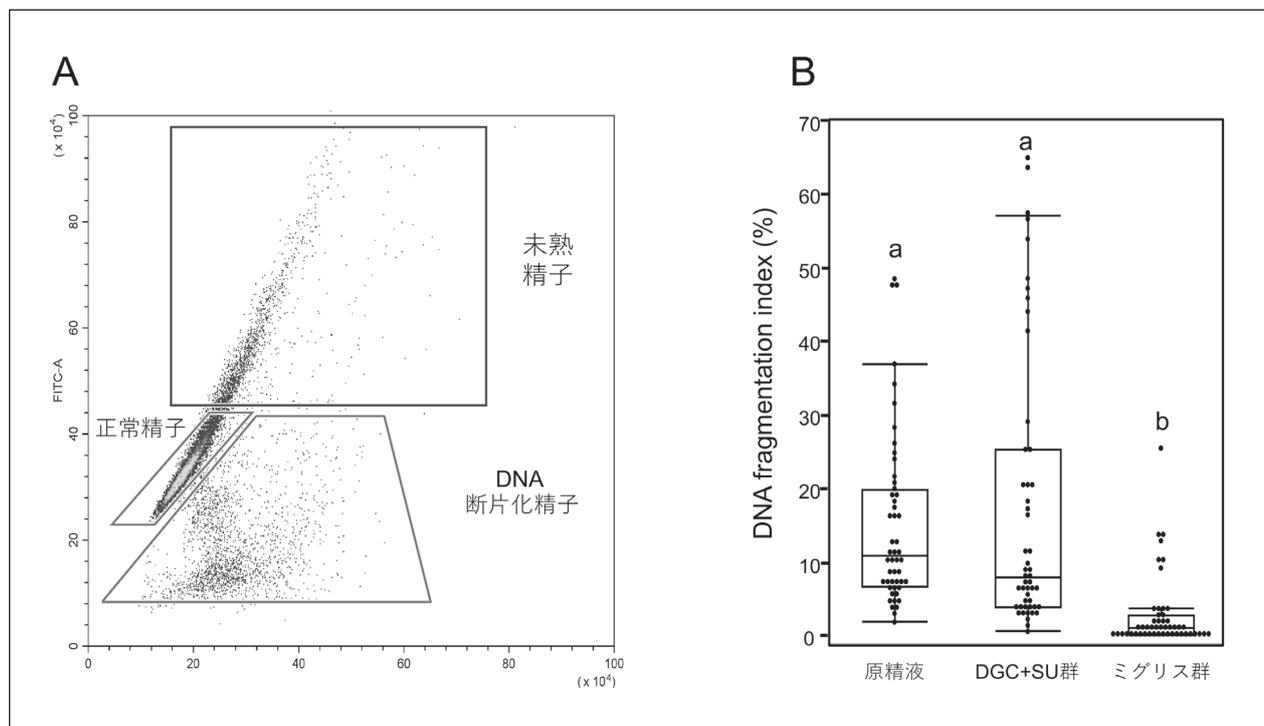


図2 フローサイトメーターを用いた精子染色体構造解析 (sperm chromatin structure assay: SCSA)
B: 異符号間に有意差あり

一方、ミグリス群のDFIは1.0%(0.22-2.7%)であり、原精液およびDGC+SU群と比較して有意に低値であった($P<0.0001$, t検定)。

それぞれの調整法におけるDFI変化を図3A, Bに示す。DGC+SU群では、DFIが低下した検体の割合は56%(28/50, 図3A)であった。原精液のDFIの値は1.820-6.605%($n=11$), 6.606-10.795%($n=14$), 10.796-19.740($n=14$), 19.741-48.230%($n=11$)の四群に分けられ、DGC+SU法によりDFIが増加した症例の割合はそれぞれ45.5%, 35.7%, 42.9%, 54.6%であった。各四分位群でDGC+SU後にDFIの増加が見られる症例の割合に統計的な差はみられなかった(Cochran-Armitage trend test, $p=0.5919$)。ミグリス群においては測定した50検体の全ての検体でDFIが低下していた(50/50, 図3B)。

考 察

今回の検討では、ミグリス群のDNA正常精子の割合がDGC+SU群よりも高いことが確認された。また、DGC+SU法では原精液と比較してDFIが増加する症例がある一方、ミグリス法では全ての症例でDFIが低下していた。

精子のDNA損傷の測定方法として、本研究で用いたSCSA法の他にTUNEL(Terminal deoxynucleotidyl

transferase mediated dUTP Nick End Labeling assay)法、SCD(Sperm chromatin dispersion)法などが普及している。我々が本研究で用いたSCSA法の特徴として、1)染色時間が短く操作が簡便である、2)フローサイトメーターによる客観的なデータ取得が可能である、3)人工授精による妊娠を予測する⁶⁾などが挙げられる。ミグリス回収精子のDFIについて報告しているのは、現在のところMeiteiらの報告とOkuboらの報告の2報である。MeiteiらはTUNEL法を用いた解析により、ミグリス法で回収した精子のDFIはDGC法より低率、SU法と同等であったと報告した⁷⁾。また、OkuboらはSCD(sperm chromatin dispersion test)法を用いた解析により、ミグリス法ではDGC法と比較してDFIが有意に低下したと報告した⁸⁾。本研究ではSCSA法を用いて精子DNAの解析を行ない、広く普及しているDGCとSUを組み合わせた調整法と比較した場合でも、ミグリス法により回収した精子のDFIが低いことを示した。DGC法では、長時間の遠心分離や密度勾配液に含まれる極微量の金属によって精子DNA損傷を引き起こす可能性がある^{2,9)}。したがって、DGC処理をされた精子は、SUにより培養液上部に移動する能力があっても、DNAが損傷を受けている可能性が示唆された。

また、ミグリスで回収された精子の高速運動率がDGC+SU法と比較して有意に低値であった。今回の結果に至った理由として、最終精子回収液中への精漿成

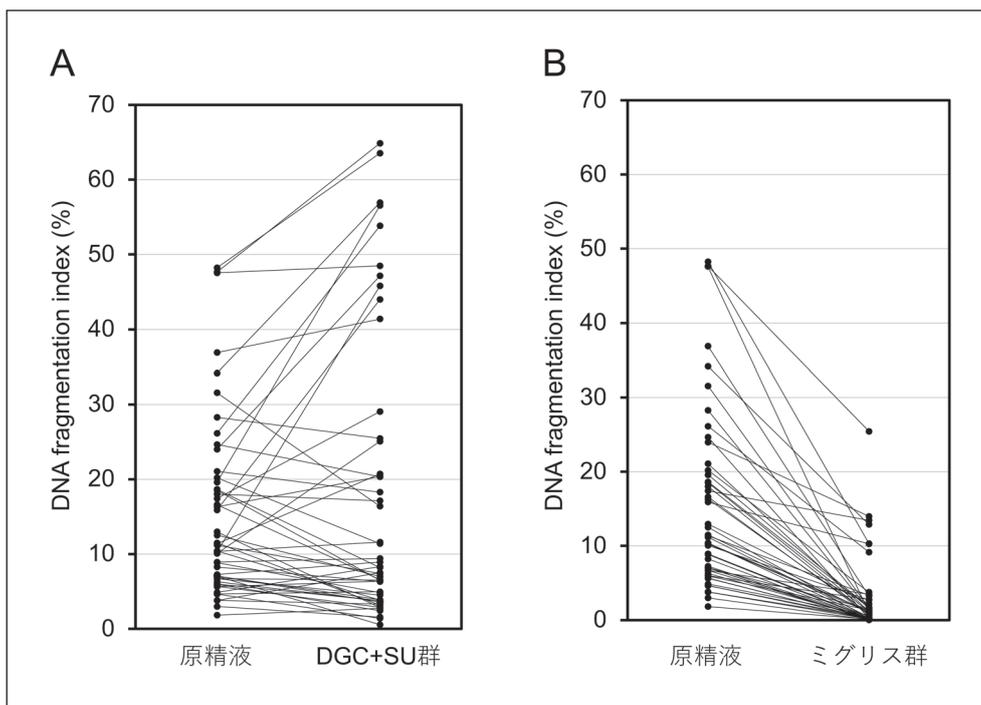


図3 調整前後の精子DNA fragmentation index (DFI) の変化

分の混入が考えられる。ミグリスはその構造上、精漿成分が精子回収液に混入する恐れがある。精漿成分には精子の受精能獲得を阻害する物質が含まれており、高速運動能が抑制されていた可能性が考えられた¹⁰⁾。また、今回の検討では両群で操作温度と最終精子懸濁培養液の違いがあった。精子の高速運動能は温度や培養液の種類によって変化するため、運動機能の評価をする際にはこれらの条件を十分考慮する必要があったと考えられる。現在、ミグリス法を用いた体外受精の成績に関する報告はないが、高速運動率は、体外受精での受精率との相関があるとの報告があるため¹¹⁾、ミグリス回収精子の体外受精での使用に関しては、さらなる基礎研究の必要がある。

利益相反

今回の研究を発表するにあたり、開示すべき利益相反状態はない。

謝 辞

本稿を執筆するにあたり、ご助言をいただいた木場公園クリニック 小林護博士に深く感謝申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Katigbak RD, Turchini GM, de Graaf SP, Kong L, Dumez LF: Review on Sperm Sorting Technologies and Sperm Properties toward New Separation Methods via the Interface of Biochemistry and Material Science. *Adv Biosyst*, 3: e 1900079, 2019.
- 2) Shekarriz M, DeWire DM, Thomas AJ, Jr., Agarwal A: A method of human semen centrifugation to minimize the iatrogenic sperm injuries caused by reactive oxygen species. *Eur Urol*, 28: 31-5, 1995.
- 3) M Benchaib, B Vale-Arie, L Jacqueline, H Samia, S Bruno, L Herve A Jean Francois Guearin: Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. *Hum Reprod*, 18: 1023-8, 2003.
- 4) Tea N, Jondet M: A 'migration-gravity sedimentation' method for collecting human motile spermatozoa. *Pathol Biol (France)*, 31: 688, 1983.
- 5) Matsuura R, Takeuchi T, Yoshida A: Preparation and incubation conditions affect the DNA integrity of ejaculated human spermatozoa. *Asian J Androl*, 12: 753-9, 2010.
- 6) Bungum M, Humaidan P, Axmon A, Spano M, Bungum L, Erenpreiss J and Giwercman A: Sperm DNA integrity assessment in prediction of assisted reproduction technology outcome. *Hum reprod*, 22: 174-9, 2007.
- 7) Meitei HY, Uppangala S, Sharan K, Gururajarao C,

- Arunkumar R, Guruprasad K, Schlatt S, Adiga SK: A Simple, Centrifugation-Free, Sperm-Sorting Device Eliminates the Risks of Centrifugation in the Swim-Up Method While Maintaining Functional Competence and DNA Integrity of Selected Spermatozoa. *Reprod Sci*, 28: 134-43, 2021.
- 8) Okubo T, Higuchi K, Hayashi T, Onda N, Marsuo Rm Omi K, Segawa T: Evaluation of motility and DNA fragmentation of sperm purified by microfluidics and Migration-Gravity sedimentation. *J. Mamm. Ova Res*, 107-111, 2020.
- 9) R.J. Aitken, J.M. Finnie, L. Muscio, S. Whiting, H.S. Connaughton, L. Kuczera, T.B. Rothkirch, G.N. De Iulii: Potential importance of transition metals in the induction of DNA damage by sperm preparation media. *Hum Reprod*, 29: 2136-47, 2014.
- 10) Suzuki T, Shibahara H, Suzuki M: Sperm Capacitation. *J. Mamm. Ova Res*, 166-175, 2010.
- 11) Simon L, Lewis SE: Sperm DNA damage or progressive motility: which one is the better predictor of fertilization in vitro? *Syst Biol Reprod Med*, 57: 133-8, 2011.

早発卵巣不全患者のARTによる 双胎妊娠・分娩後に骨粗鬆症と診断した1例

A case with premature ovarian insufficiency of
osteoporosis diagnosed after twin pregnancy by ART and delivery

澤田 紫乃¹, 杉下 陽堂^{1,2}, 鈴木 直¹

Sawada S¹, Sugishita Y^{1,2}, Suzuki N¹

¹ 聖マリアンナ医科大学 産婦人科学

² 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター

¹Department of Obstetrics and Gynecology, St Marianna University School of Medicine

²Department of Frontier Medicine, Institute of Medical Science, St. Marianna University Graduate school of Medicine

要旨： 31歳, BMI 17.6, 初診時より早発卵巣不全 (Premature Ovarian Insufficiency : POI) としてARTを開始し, 1年間に2個の凍結胚 (胚盤胞1個, 初期胚1個)を獲得した. その後, 胚盤胞の凍結融解胚移植を施行し, 双胎を妊娠・出産した. 授乳終了後, ホルモン補充療法を開始し, 骨密度検査にて骨粗鬆症と診断した. 本症例の骨粗鬆症への関連因子は, POI, 低BMI, 授乳などが挙がる. 不妊治療開始時, POIや低BMIなど骨密度低下因子が重複する際には骨密度検査の施行が骨折予防の観点から重要と考える.

キーワード： 早発卵巣不全, 双胎妊娠, 骨粗鬆症

ランニングヘッド： POI患者のARTによる双胎分娩後の骨粗鬆症

緒言

40歳未満に閉経した状態と定義される早発卵巣不全 (Premature Ovarian Insufficiency : POI)の患者は, 長期間の低E₂状態に暴露されている可能性があり, 若年ながら骨粗鬆症のリスクは高い. 骨粗鬆症は将来的に脆弱性骨折を起こすリスクが高く, 患者のQOL (Quality of Life) を大きく低下しかねない. 今回我々は, POI患者においてARTを施行し, 双胎を妊娠し, 出産後, 骨密度検査にて, 骨粗鬆症と診断した1例を経験したので報告する. 骨粗鬆症の診断はDXA (Dual-energy X-ray Absorptiometry)にて, 腰椎 (L2-4) または大腿骨頸部のYAM (Young Adult Mean) 値が70%以下と定義した. 倫理的配慮として, 本症例は当院の倫理審査委員会の承認を得ている (承認番号: 4611).

症例報告

初診時31歳, 1妊0産. 身長169cm, 体重51kg, BMI (Body Mass Index) 17.6, 30歳から月経不順を認め, 初診時, FSH 52 mIU/ml, 抗ミュラー管ホルモン (Anti-

Mullerian Hormone : AMH) <0.01以下にてPOIとしてARTを開始した. 結合型エストロゲン (0.625mg) 1錠/日を内服下に, 約1年間, 計7回の過排卵刺激 (Short法: FSH 225単位連日投与を3~4週間) を行った. 2回の卵巣刺激を終了後に自然卵胞発育を認めたため, 採卵し, 卵子1個を獲得した. 一般体外受精を施行し, 培養の結果, 胚盤胞1個 (Gardner分類6BA) を凍結保存とした. 3回目の過排卵刺激にて卵胞発育を認めたが, 採卵にて卵子獲得には至らなかった. その後, 7回目の過排卵刺激にて卵胞発育を認め, 採卵し, 卵子1個を獲得した. 一般体外受精を施行し, 培養の結果, 初期胚1個 (Veek分類: 4cell Grade 1) を凍結保存とした.

過排卵刺激を行っていた1年間に35回のE₂値測定を施行しており, このうち卵胞発育を認めていない (結合型エストロゲン0.625mg 1錠内服下) 30回におけるE₂の平均値は49.0 ± 14.9 pg/mLであった.

その後, 33歳時に胚盤胞 (6BA) 1個の凍結融解胚移植を施行し, MD双胎を妊娠した. 妊娠34週に妊娠高血圧症候群の診断にて緊急帝王切開術を施行し, 出産に至った. 授乳 (主に人工乳での混合栄養にて9ヶ月間) 終了から6ヶ月後に35歳で, ホルモン補充療法

(Hormone Replacement Therapy : HRT)を開始した。さらにその3ヶ月後にDXAにて腰椎(L2-4)YAM100%、大腿骨頸部YAM62%であり、骨粗鬆症と診断したが、無症状であり、既存骨折は認めなかった。血清25-OHビタミンD 16.9ng/mlとビタミンD欠乏状態であった。

生活歴は、高校生以降の運動習慣はなく、喫煙歴やアルコール多飲はなかった。思春期から20代中盤にかけてはBMI 15.8程度とさらに低値であった。骨粗鬆症診断後の治療はHRTに加え、食事と運動指導の他に活性型ビタミンD₃製剤(エルデカルシトール0.75μg/日)を開始した。また、36歳時に凍結していた初期胚1個の凍結融解胚移植を施行したが妊娠には至らなかった。初回DXAから約4年経過した現在も新規骨折は認めず、骨密度は維持している(図1:YAM値の変化)。

考 察

本症例はBMI 15.8～17.6とBMI 18.5以下の低体重(やせ)を合併していた。やせは骨粗鬆症の危険因子である。やせの骨量低下にはE₂不足の他に低体重や低栄養、さらにIGF-1の低下など様々な要素の関与が報告されている¹⁾。また、高校生からの運動習慣がなかったことややせだったことより、20歳前後で獲得する最大骨量が元々低かった可能性がある。

POI患者は、長期間の低E₂状態の暴露により、若年ながら骨粗鬆症のリスクは高い。POI患者は診断時に同年代の健康女性と比較し、すでに骨密度が有意に低いとされる²⁾。平均65歳のPOI群と通常年齢での自然閉経

群を比較し、POI群で有意に骨粗鬆症罹患率が高いとの報告がある³⁾。骨粗鬆症は将来的に脆弱性骨折を起すリスクが高く、患者のQOLを大きく低下しかねない。

本症例において、30歳から1年以上の月経不順を認めたことは、低E₂状態による骨吸収亢進により、骨密度低下への関与を考える。また、本症例の不妊治療中の結合型エストロゲン(0.625mg)1錠を内服下のE₂値の平均は49pg/mLであった。正常月経周期の平均E₂レベルは約104pg/mLとされ⁴⁾、エストロゲン補充量として、結合型エストロゲン(0.625mg)1錠では不十分であった可能性がある。

一方、妊娠後骨粗鬆症とは、原因不明の稀な疾患であり、妊娠後期・産褥期に腰背部痛を訴え、脊椎圧迫骨折を主病変とすることが多い。授乳期はプロラクチンの増加が副甲状腺関連蛋白を上昇させ、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(gonadotropin releasing hormone : GnRH)の分泌を抑制して、E₂を低下させ骨吸収を促進する⁵⁾。妊娠後骨粗鬆症には、この他様々な因子が関与するとされる⁶⁾。本症例では双胎妊娠、出産、授乳を経験している。多胎妊娠では、単胎妊娠と比較して妊娠後期の骨吸収マーカーが有意に高く、骨形成マーカーは有意差がなかったとの報告がある⁷⁾。これは多胎妊娠が単胎妊娠より骨吸収が亢進し、骨密度の低下につながる可能性を考える。本症例は腰背部痛や骨折は認めず無症状であったが、妊娠と授乳が骨粗鬆症に関与した可能性は否定できない。さらに、POI患者の場合は授乳終了後、自然に月経が再開しないため、授乳終了後は速やかにHRTを再開することが必要である。本症例ではHRT再

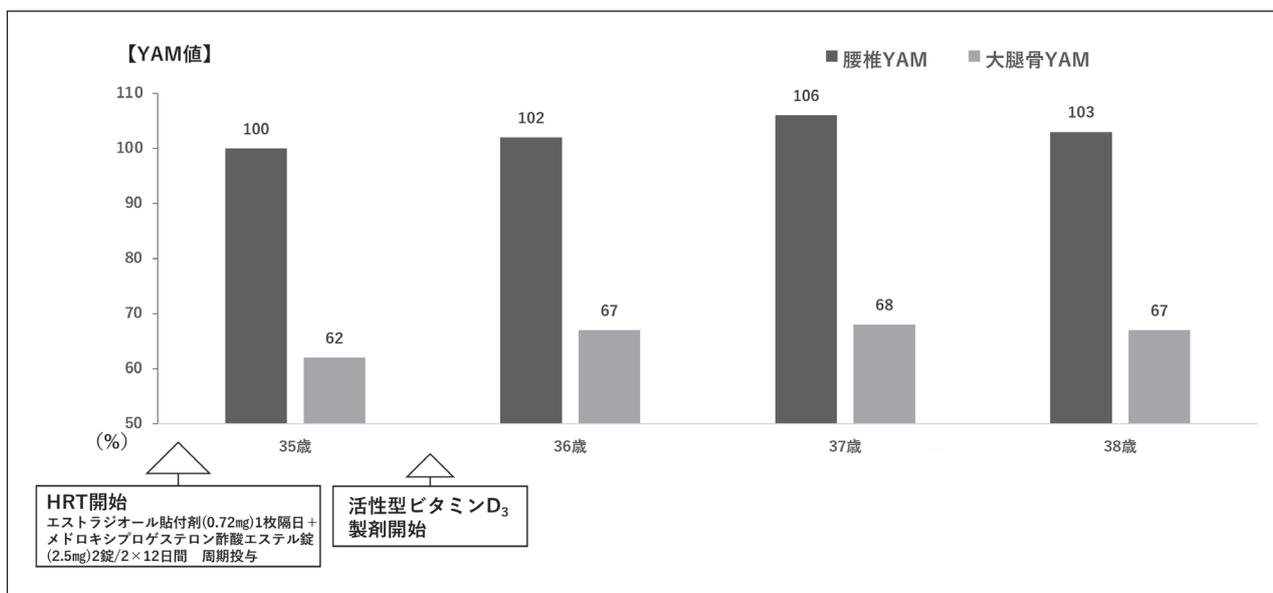


図1 YAM値の変化

開までに出産から1年3ヶ月、授乳終了から6ヶ月が経過していた。この間に低E₂状態により骨吸収が亢進し、骨密度がさらに低下した可能性がある。

血清25-OHビタミンD濃度は16.9ng/ml (30ng/ml未満は不足, 20ng/ml未満は欠乏)とビタミンD欠乏状態であった。血清25-OHビタミンD濃度と大腿骨頸部の骨密度には正の相関関係があり、血清25-OHビタミンD値20ng/ml未満の群では28ng/ml以上の対照群と比較して、有意に骨粗鬆症罹患率が高いとの報告がある⁸⁾。ビタミンD欠乏の原因は食品からの摂取や日光照射時間の不足が考えられるため、食事や生活の指導が重要である。本症例で使用した活性型ビタミンD₃製剤(エルデカルシトール)は、骨粗鬆症治療薬として長期使用の安全性が報告されており⁹⁾、副作用の高Ca血症に注意が必要であるが、若年に対しても比較的使用しやすい。

本症例はPOI、やせ、妊娠・授乳、ビタミンD欠乏と骨密度低下への関連因子が重複していた。婦人科医の役割は、長期間の低E₂状態の回避による骨粗鬆症の発症予防と比較的若年からの骨粗鬆症治療による骨折予防が中心である。また、本症例は腰椎(L2-4)YAMが100%と正常であったのに対し、大腿骨近位部YAMが62%と大きく乖離しており、2ヶ所の骨密度測定は有用であった。POI患者の不妊治療を行う際には、骨粗鬆症のリスクを念頭に置き、長期間の低E₂状態を避ける必要があり、積極的な骨密度検査(可能であればDXAにて腰椎と大腿骨の2ヶ所)の施行が骨折予防とQOL維持の観点から重要であると考えられる。

参考文献

- 1) Jayasinghe Y, Grover SR, Zacharin M: Current concepts in bone and reproductive health in adolescents with anorexia nervosa. *BJOG*, 115: 304-315, 2008.
- 2) Podfigurna A, Maciejewska-Jeske M, Nadolna M, Mikolajska-Ptas P, Szeliga A, Bilinski P, Meczekalski B: Impact of Hormonal Replacement Therapy on Bone Mineral Density in Premature Ovarian Insufficiency Patients. *J Clin Med*, 9: 3961, 2020.
- 3) Shea AK, Buwembo A, Mayhew A, Sohel N, Griffith LE, Raina P: The association between primary ovarian insufficiency and osteoporosis in the Canadian Longitudinal Study on Aging. *Menopause*, 28: 693-698, 2021.
- 4) Mishell DR, Jr., Nakamura RM, Crosignani PG, Stone S, Khanna K, Nagata Y, Thorneycroft IH: Serum gonadotropin and steroid patterns during the normal menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol*, 111: 60-65, 1971.
- 5) Sowers MF, Hollis BW, Shapiro B, Randolph J, Janney CA,

- Zhang D, Schork A, Crutchfield M, Stanczyk F, Russell-Aulet M: Elevated parathyroid hormone-related peptide associated with lactation and bone density loss. *JAMA*, 276: 549-554, 1996.
- 6) Kovacs CS: Osteoporosis presenting in pregnancy, puerperium, and lactation: *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 21: 468-475, 2014.
- 7) Okah FA, Tsang RC, Sierra R, Brady KK, Specker BL: Bone turnover and mineral metabolism in the last trimester of pregnancy: Effect of multiple gestation. *Obstet Gynecol*, 88: 168-173, 1996.
- 8) Nakamura K, Tsugawa N, Saito T, Ishikawa M, Tsuchiya Y, Hyodo K, Maruyama K, Oshiki R, Kobayashi R, Nashimoto M, Yoshihara A, Ozaki R, Okano T, Yamamoto M: Vitamin D status, bone mass, and bone metabolism in home-dwelling postmenopausal Japanese women: Yokogoshi Study. *Bone*, 42: 271-277, 2008.
- 9) Takeuchi Y, Saito H, Makishima M, Yokoyama H, Yamaguchi T, Fujii H, Inoue E, Isemura T, Kondo S: Long-term safety of eldecalsitol in Japanese patients with osteoporosis: a retrospective, large-scale database study. *J Bone Miner Metab*, 40: 275-291, 2022.

新型コロナウイルス感染症パンデミックの2020年より 社会的卵子凍結を希望する女性が増えている

Japanese women have begun freezing their eggs during Covid-19

水澤 友利, 藤井 美貴, 白岩 優綺, 塩谷 雅英

Mizusawa Yuri, Miki Fujii, Yuki Shiraiwa, Masahide Shiotani

英ウイメンズクリニック

要旨： 欧米では加齢による性腺機能低下をきたす前の未授精卵子凍結（社会的卵子凍結：SOC）を選択する女性が新型コロナウイルス感染症パンデミックを機に増えていることが報告され、当院でも2020年以降で増加傾向であった。当院で行ったアンケートでは新型コロナウイルス感染症がSOCを考える直接の理由とは言えなかったが、令和4年版少子化社会対策白書で新型コロナウイルス感染症の影響で将来の生活や妊娠、出産に対する不安を抱える若い女性達が増えており、SOCがその不安解消の手段の一つとされている可能性があるのではないかと考える。

キーワード： 新型コロナウイルス感染症, 社会的卵子凍結, 不安

ランニングヘッド： 新型コロナウイルス感染症と社会的卵子凍結の関係

英文要旨： In world, women who choose social oocyte cryopreservation (SOC) has been increasing since the coronavirus disease 2019(Covid-19) pandemic. Although the questionnaire conducted at our institution did not indicate that Covid-19 pandemic was not a direct reason for choosing SOC. Japan cabinet reported in 2022 that an increasing number of young women have anxiety in their future including pregnancy and childbirth due to Covid-19. They might think that SOC may be one way to alleviate their anxiety.

キーワード： pandemic of coronavirus disease 2019, social egg freezing, anxiety

ランニングヘッド： the pandemic of coronavirus disease 2019 and Social Oocyte Freezing

日本では1980年ごろから晩婚化傾向が続いており、それに伴う少子化や、生殖補助医療を受ける女性のうち、加齢による妊孕能低下によって生殖医療を必要としている症例が多い傾向が続いている¹⁾。現在、加齢による不妊に有効な治療方法がなく、高齢女性の夫婦が海外の卵子提供を利用する機会がみられるが、このような第三者からの提供配偶子を利用した生殖医療は、欧米諸国と比べ日本ではそれを適正に実施するための医療制度、法整備、社会的支援が不十分であることが議論されている²⁾。

「女性の性腺機能は男性に比べ早くに低下する事」や「高齢妊娠、出産のリスク」についてはテレビでとりあげられるなど、2010年頃より広く一般的に知られるようになった³⁾。中でも、教育現場における性教育において、これまでの性感染症予防や望まぬ妊娠を防ぐ方法に加え妊孕性に関する情報が組み込まれ、子供を持つことを考えるための「ライフプラン」が組み込まれるようになっ

た⁴⁾。しかしこれは晩婚化傾向の減少という結果には結びつかず、特に女性が自身の生涯設計と照らし合わせ、若いうちの（未授精）卵子凍結を検討する事が増えるという結果に繋がっている可能性がある。

卵子凍結は妊孕性温存法の一つで、何等かの理由で著しく性腺機能が低下する可能性がある場合、事前に卵子を未受精の状態に凍結保存する方法である。悪性腫瘍などの原疾患に対して、治療で性腺機能が著しく低下する場合に治療前に卵子凍結を行うことを医学的卵子凍結（Medical Oocyte Cryopreservation: MOC）といい⁵⁾、それに対し主に加齢などによる性腺機能の低下による不妊を回避する場合を社会的卵子凍結（Social or elective Oocyte Cryopreservation: SOC）といわれている⁶⁾。

2020年に新型コロナウイルス感染症パンデミックが起り、感染拡大予防対策にもかかわらず世界中で多く

受付 2022年12月1日 / 受理 2023年3月20日

責任著者：水澤 友利 e-mail [mizusawa@hanabusaclinic.com]

の人が罹患し、中には重症化して死亡するケースや後遺症で苦しむケースが多数報告されている。そんな中、イギリスの婦人科クリニックでは2020年以降、SOCを希望する女性が増加していると報告された⁷⁾。理由として、自身が新型コロナウイルスに感染したことで人生観が大きく変化し、パンデミック前から検討していたSOCを実行に移したり、現パートナーを含め「将来に安心、信頼できるものがない」という不安を抱え、将来の妊孕性温存のため（現パートナーとの受精卵でなく）SOCを検討したりする女性が増えていというものだった。また米国における調査でも新型コロナウイルス感染症の影響で生殖年齢の女性においてSOCを検討したことがある人が増え、妊娠や出産に対する予定を変更したと報告されている⁸⁾。当院においても、SOCを希望して受診する症例が2019年以降に増加している。新型コロナウイルス感染症とSOCを希望する女性にどのような関連があるのか、過去10年間の当院での卵子凍結の実態と厚生労働省からの調査報告、文献等より考察した。

2011年からの10年間において、当院でSOCを目的に採卵した219名(411周期)と、MOCを目的に採卵した90名(146周期)を比較した。また、2022年4月よりSOCを希望して受診をした女性にアンケートを実施しその心理的背景について考察した。

当院でSOCを実施した女性の初回採卵時年齢の平均±標準偏差は38.0±4.0(18-48歳)で、平均採卵周期数は2.3±2.5(最多21)回であった。平均総回収卵数は12.1±9.3(最大45)個、平均総凍結個数は9.1±6.9個で回収卵数の約7割程度であった。年間採卵

者数は2011-2013年に年間3名から31名に増加し、2013年11月に日本生殖医学会より「未受精卵および卵巣組織の凍結、保存に関するガイドライン」⁹⁾が提示されて以降、2014-2019年では11名から31名程度にとどまり、再び2020年は17名、2021年は34名と増加した。

一方、MOCを実施した女性の初回採卵時年齢の平均は31.1±6.7(15-46)歳で、平均採卵周期数は2.2±2.5(最多15)回であった。平均総回収卵数は7.8±8.1(最大41)個、平均総凍結個数は5.7±5.9であった。年間採卵者数は2011～2016年まで2名から8名で、2017年に12名、2018年に18名とやや増加したが、2019-2021年は8～9名にとどまっている(図1)。

2021年12月から2022年8月にかけてSOCを実施している女性16名にアンケート調査を行い、16名から回答を回収した。回答は複数回答可とした。卵子凍結を希望する理由について、若いうちの卵子凍結希望が10名、仕事の関係が5名、パートナー不在が8名、その他(パートナーが変わるときのため)1名であった。卵子凍結を知ったきっかけはインターネットが7名、医師からの説明が5名、知人からの情報が2名であった。凍結卵子を何歳で利用を検討しているかについては、36～43歳という回答が7名、未定8名であった。希望凍結個数について10個2名、15個2名、20個4名、未定7名であった。卵子凍結の治療に伴うリスクの理解について、「理解している」は9名、「理解していない」は7名であった。SOCについて「家族が知っている」は8名、「知らない」は5名であった。

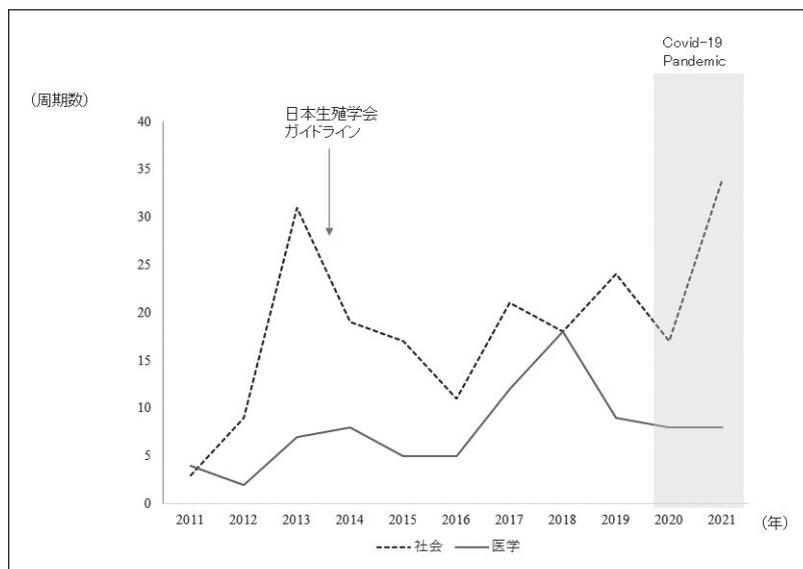


図 1

新型コロナウイルス感染症パンデミック前の2011-2019年とパンデミック後の2020-2021年では、MOCにおいて年間の平均採卵者数は7.8±4.8から8.0±0.0名と大きな変化は見られなかった。一方、SOCにおいては17.0±8.4から25.5±12.0名へと増加していた。このことより、SOCを考える女性がパンデミックを機に増えている可能性があると考えた。しかし、アンケート結果よりSOCを希望する理由に「新型コロナウイルス感染」という言葉が含まれる回答はなく、主に「仕事を優先する」とことと、実際に「パートナーがいないこと」に対するリスクヘッジ的備えが主な理由であった。SOCを知るきっかけとして当院でも約4割の女性がインターネットからの情報でSOCを検討していたためインターネットの影響は大きいと考えられた。どのサイトをみているかは不明であるが採卵回数、治療内容、合併症のリスク情報について理解していない状態で受診を決めているケースが約半数であった。また家族に相談していないケースも約半数であった。

我々のアンケート結果からは、新型コロナウイルス感染症パンデミックがSOCを希望する直接の機会となっているとはいえなかった。しかし令和4年版少子化社会対策白書の報告によると、新型コロナウイルス感染症影響下における婚姻件数、妊娠届出数、出生数の低下が報告されており、新型コロナウイルス感染症影響下で生活環境が変化する中で20-30歳代では他の世代より生活の維持、年収、仕事、結婚、家族への不安が増し、20歳代では人間関係、社会との交流、30歳代では育児、教育への不安がそれぞれ増加していると報告されている¹⁰⁾。これらの報告から、結婚、妊娠、出産の適齢期である男女では新型コロナウイルス感染症影響下においてパートナーとの出会い、関係性の構築、結婚、妊娠、出産等に対する不安からこれらの行動が抑制されている可能性があり、既婚者では妊娠を控える傾向にあり、未婚者の女性においてはSOCを検討する機会が増えている可能性があると考えた。

SOCを知る機会としてインターネットの影響は大きい。著名人のSNSなどによる自身のSOCを発信したものや、排卵誘発から採卵、凍結まで行うクリニックや、採卵を実施する医療施設への紹介と卵子凍結保存のみを担う施設などがSOCについて表示しているホームページも多数存在する。内容も様々で、治療に伴う合併症や将来の利用時の成績まで詳細に示しているものもあれば、利点のみ大きく強調しているものもある。これらの情報からSOCを希望してもそのリスクやデメリットについて十分に理解しないまま、また治療について誰にも相談せずに実施に至る症例があるのではないかと危惧する。実際

に当院でも説明を行ったうえで治療しているが、実際の採卵結果に自分の予想と異なると感じる症例も多く、治療開始前後によりこまやかな情報提供や、カウンセリング等が必要であることが認識できた。

結論として、当院で新型コロナウイルス感染症を境にSOCを選択する女性が増えていた。アンケートから「新型コロナウイルス感染症」がSOCを考えた直接の理由とは言えないが、欧米の報告や少子化社会対策白書より、新型コロナウイルス感染症の影響で生活や妊娠、出産に対する将来の不安からその不安解消の手段の一つとしてSOCを希望している可能性があることが考えられた。新型コロナウイルス感染症の猛威は現在とどまる気配はなく、ライフスタイルが不安定となり生きづらさを感じる人が増えている。さらに諸外国で起こっている紛争や、ミサイル発射、核兵器使用の脅威、インフレ、異常気象など我々の生活や健康を取り巻く環境は多くの不安に囲まれている。そんな中、若い世代の男女がこれまでの妊娠/出産といった家族形成のスタイルを構築することが困難と感じ、特に女性が将来の妊孕能温存のためにSOCを希望する機会が増えることが予想される。SOCはすでに多くの課題について議論されており、女性が高年齢になっても遺伝的な子供を持つ機会を提供し、将来における不確実性と不安を軽減する効果があると評価されている一方、同時に女性達が治療の安全性、有効性、利点や欠点、高齢での妊娠転帰、生児獲得率等について十分に理解したうえで実施する必要があることも報告されている⁶⁾。女性達が将来に対する不安から誰にも相談できずにSOCに駆られてゆくのではなく、希望につながるSOCを選択すべく、医療提供側としてこれらの女性達へ適切な情報とカウンセリングの提供、SOCを希望する女性達の心理的背景についての配慮を行い、安全で効率のよい医療提供を行う必要がある。また同時に社会的、倫理的側面からの評価も注視してゆく必要がある。

参考文献

- 1) 公益社団法人日本産科婦人科学会 委員会報告ARTデータブック。2020年体外受精・胚移植等の臨床実施成績。https://www.jsog.or.jp/activity/art/2020_ARTdata.pdf。(2020.3.29)
- 2) 倫理委員会報告「第三者配偶子を用いる生殖医療についての提言」。一般社団法人日本生殖医学会。http://www.jsrm.or.jp/guideline-statem/guideline_2009_01.html。(2022.9.13)
- 3) 産みたいのに産めない～卵子老化の衝撃～-NHKスペシャル。NHK。https://www.nhk.or.jp/special/detail/20120623.html。(2022.9.13)
- 4) 西岡 笑子：思春期性教育、妊孕性認識の研究動向と性と生殖の健康教育に基づいたライフプランニングの可能性。日本衛生学雑誌, 73(2): 185-199. 2018.

- 5) Walker Z, Lanes A, Ginsburg E. Oocyte cryopreservation review: outcomes of medical oocyte cryopreservation and planned oocyte cryopreservation. *Reprod Biol Endocrinol*, 20(1): 10 2022.. doi: 10.1186/s12958-021-00884-0. PMID: 34996479; PMCID: PMC8740039.
- 6) Varlas VN, Bors RG, Albu D, Penes ON, Nasui BA, Mehedintu C, Pop AL: Social Freezing: Pressing Pause on Fertility. *Int J Environ Res Public Health*, 18(15): 8088. 2021. doi: 10.3390/ijerph18158088. PMID: 34360381; PMCID: PMC8345795.
- 7) 今, 卵子凍結をする女性が増えている理由. Harper's BAZAAR(ハーバース バザー). <https://www.harpersbazaar.com/jp/lifestyle/love-wedding/a36762278/freezing-eggs-210620-lift1/>, (2023.3.29)
- 8) Huttler A, Koelper N, Mainigi M, Gracia C, Senapati S: Impact of the COVID-19 pandemic on the perception of planned oocyte cryopreservation in the United States. *F S Rep*, 3(2): 145-152. 2022. doi:10.1016/j.xfre.2022.04.008. Epub 2022 May 4. PMID: 35529036; PMCID: PMC9065715.
- 9) 倫理委員会報告「未受精卵子および卵巣組織の凍結・保存に関するガイドライン」. 一般社団法人日本生殖医学. http://www.jsrm.or.jp/guidelinestatem/guideline_2018_01.html, (2023.3.29)
- 10) 内閣府子ども・子育て本部. 少子化対策白書 第1部 少子化対策の現状(第2章 第2節(令和4年度)). https://www8.cao.go.jp/shoushi/shoushika/whitepaper/measures/w-2022/r04webhonpen/html/bl_s2-2-2.html



患者が知りたい情報・受けてほしいサポート ～自身の治療経験を通じて

東尾 理子

株式会社 TGP
NPO 法人 UMI

はじめに

私は妊娠するために病院での治療を経て3人の子どもを授かりました。34歳で妊活を始め、タイミング法8回、配偶者間人工授精6回、採卵7回、胚移植3回、トータル2年ほどで長男を妊娠し出産いたしました。当時は治療を公表している方がほとんどおらず、治療の情報を集めるのに大変な苦勞をしました。そこで、SNSを通じ治療をしていることを公表しましたところ大きな反響を頂き、沢山の方が悩んでいることを知りました。その頃「妊活」という言葉はあまり使われておらず、「不妊治療」という表現が一般的でした。私は、不妊治療の「不」は、自分が否定されているようで好きになれず、別の表現方法を考えた時、そういえばアメリカでは「妊娠しようと頑張っている」ことを、「Trying to Get Pregnant」と言っていたなと思い出し、この頭文字をとり「TGP」と表現するようにしました。SNSでの発信を続けるなかで、今度は、実際に治療中の方の情報を得たい！親近者には話にくいTGPの話をしてほしい！という私自身の欲求から交流会を始めました。交流会は「TGPお茶会」と称し、月1回程度開催し、同じ思いで頑張る者同士で集い、情報交換をする場になり、参加者は200人を超えることもありました。このTGPお茶会では、私自身が沢山の方のお話を伺い勇気をもらい、また私からも沢山の方に勇気を与えられたかな、と思っております。その源は、私は「心」に興味があり、大学では心理学を専攻、さらにプロゴルファーとしてメンタルトレーニングを重ねたことが、参加した皆様の孤独で出口が見えにくい妊活の道のりを、メンタル面でもサポートできたのではないかと思います。これからも、妊娠を望むことは、明るく前向きなことではないとお伝えしていきたいと思っております。

現在の活動

自分自身の妊活経験やTGPお茶会を開催してきた経験を、現在の活動ではインターネットでどこでも誰とでも簡単に繋がれるということを活かし、2021年10月オンラインでのコミュニティ「妊活研究会」を立ち上げました。妊活研究会は、さまざまなコンテンツとコミュニケーションを通して、妊活を頑張る女性に『妊活の正しい知識と最新情報が得られるコミュニティ』『妊活中の不安や複雑な気持ちを気軽にシェアできる憩いの場』となることを目指しています。特に人気のコンテンツは、クリニックの先生との対談動画、妊活に役立つオンライン講座、オンラインお話し会、リアルお茶会、です。お話し会では、より自由な立場で参加できる雰囲気を作り、それぞれの悩みや疑問に対するお話をする場をつくっております。かつてのTGPお茶会で、沢山のお悩みを伺った疑問や要望などを全部詰め込みパワーアップさせていく形で様々な方向から妊活支援をしております。

そんな活動の中で、「患者が受けてほしい情報やサポート」について2023年1月にアンケートを実施し今までお話を伺ってきた内容を可視化いたしました。アンケートは妊活研究会の会員様150名に対して1週間募集をいたしました。回答率23.3%で、内容は以下の通りです。

患者が受けてほしい情報やサポートに関する アンケート結果

1. 性別・年齢分布 (図1)

36名の方から回答を頂きましたが、性別に関しては男性からの回答が1名に留まり、もっと男性にも関心を持って頂きたいです。また年齢に関しては40代が全体の70%を占めていました。図2から治療後の回答者もいらっしゃるかと思います。もっと早くから治療に取り組み、なるべく早く子どもを産む社会になることを願います。

2. 治療状況・治療内容(図2)

現在治療中の方は14名(38.9%)で、残りの22名(61.1%)は過去の治療経験者でした。治療内容に関しては、タイミング法が16名(44.4%)、人工授精が14名(38.9%)、体外受精が24名(66.7%)、顕微授精が23名(63.9%)でした。アンケート回答者の約3分の2の方が体外受精または顕微授精を経験されていました。

3. 妊活歴・結婚後通院開始時期(図3)

1年以内に通院を開始している方が64%と半数を超えています。36%は通院開始するまでに2年以上かかっていることが解りました。もっと早く通院を開始していればという声を伺うことが多いので、早めの受診に繋がるにはどのようなアプローチが必要かを考える結果になりました。

4. 何件目のクリニックで妊娠したか(図4)

1軒目のクリニックで妊娠したいのが患者の本心ですが、1軒目のクリニックで妊娠する方が25%と少ないことに驚きました。中には4軒目以上でようやく妊娠された方が11.1%もおられました。

5. クリニックの選択基準について(図5)

一番は妊娠率で63.9%、その次が、自宅からの距離

で61.1%、医師の経歴や実績は52.8%、口コミは41.7%と、上位4位まではこのような基準で選択していることが解りました。

その他のご意見は、以下のようなものがありました。医師、スタッフの対応の良さ33.3%、有名な病院だから30.6%、紹介27.8%、医療設備、機器の充実度25%、職場からの距離25%、休日、夜間も診察してくれる19.4%、知人が通っている16.7%、担当医の指名11.1%、治療費が適切5.6%、待ち時間が短い5.6%、保険診療であっても採卵時の静脈麻酔を行っている2.7%、ホームページが充実している2.7%、説明会2.7%、治療方針2.7%、地方で病院が1つしかなかった2.7%などでした。

6. 医師や看護師から十分な説明を受け、納得して治療ができていくか(図6)

29名(80.6%)の方が、十分な説明を受け納得して治療ができていると回答されました。残りの7名(19.4%)は納得して治療を受けておられず、記述回答でご意見を伺った結果は以下のようになります。

- 質問したことへの回答が雑だと感じた。
- 採卵周期で卵が育たない時に、なんでも年齢のせいにして詳しく説明してもらえなかった。

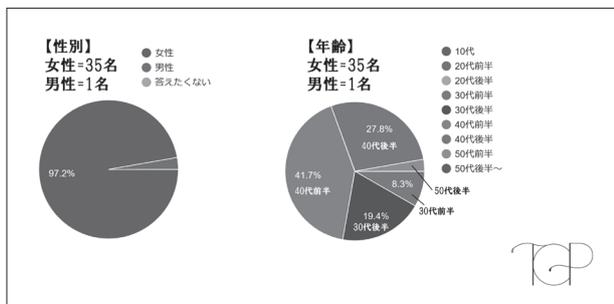


図1 アンケート回答者の性別と年齢分布

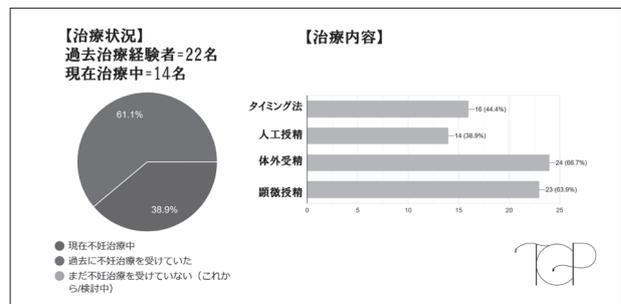


図2 アンケート回答者の治療状況と治療内容

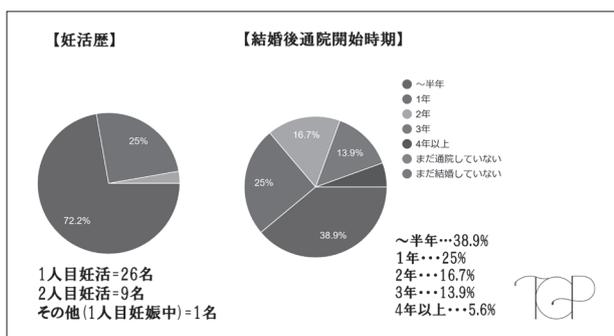


図3 アンケート回答者の妊活歴と結婚後通院開始時期

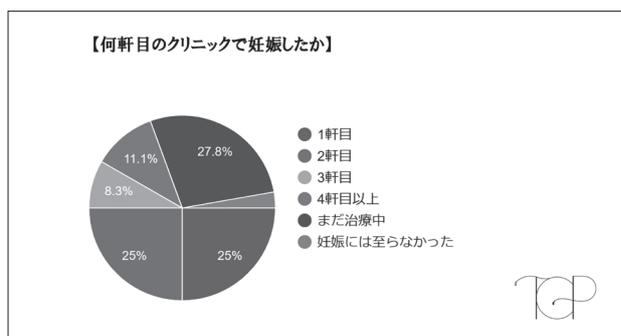


図4 アンケート回答者は何件目のクリニックで妊娠したか

- 経験の浅いクリニックに通ってしまい、うまく進めなかった。
 - 先生はいつも忙しそうで治療方針などについてじっくり相談しづらい雰囲気だった。勧められた通りの治療を受け、結果妊娠はできたが本当にこれが自分に合った治療だったのか疑問に思うことはあった。
 - 何故うまくいかないか？ 妊娠しなかったか？ 次の手などを一緒に考えてもっと頑張りたい。
 - 転院前は説明がほぼ無かったです。医師の判断に任せるような方針でした。今思うと時間ももったいなかったです。でもそのおかげで妊活研究会と出会い、様々な知識や状況を相談できる場ができ、転院できました。
 - 何度も同じ治療を繰り返し妊娠に至ってないのに、また同じ治療・検査をすすめられた。
 - セカンドオピニオンでの初診で、新しい提案を貰えなかった。患者が多く、流れ作業的な感じがして、医師とゆっくり話が出来なかった。
- 以上のようなご意見から、説明不足からくる不満が多いということが解りました。

7. クリニックで受ける事ができる治療内容(体外受精/顕微授精など、どこまでステップアップする事ができ

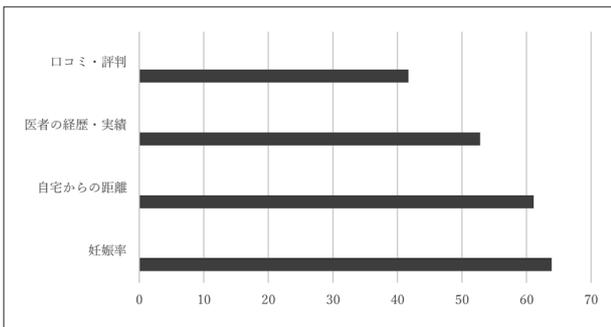


図5 アンケート回答者のクリニックの選択基準について

るか等)を理解して治療しているか(図7)
治療内容のステップアップなどの大筋の治療内容については、80%程度の方々は理解して治療を受けていることがわかりました。

8. クリニックで治療内容(人工授精/体外受精など)に付随してできる治療を理解しているか(例:誘発方法の種類, 精子の選出方法, ICSI/IMSIなど治療法の詳細)(図8)

上述のような全体的な治療内容に付随してできる治療、例えば排卵誘発の種類、精子の選出方法、ICSI/IMSIなどの細かい治療内容についての質問では、理解していると答えた方は17名(47.2%)に留まり、理解度が落ちているのがわかります。中には自分が理解しているかわからなくて、クリニック側に何を質問したらいいかわからない方も7名(19.4%)おられました。少数でしたが、クリニックからの説明が不足しているように感じるという意見もありました。

9. クリニックに対する不満(図9, 表1)

次にクリニックに対して不満に思っている事はあるか

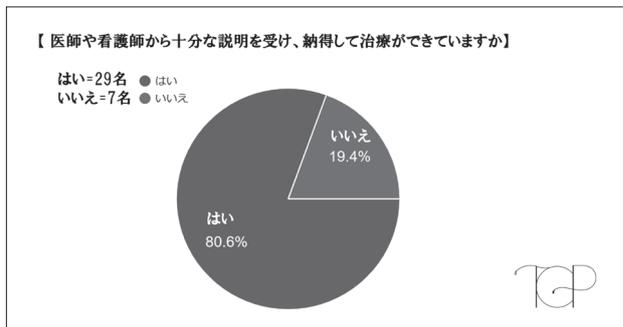


図6 アンケート回答者は医師や看護師から十分な説明を受け、納得して治療ができていますか

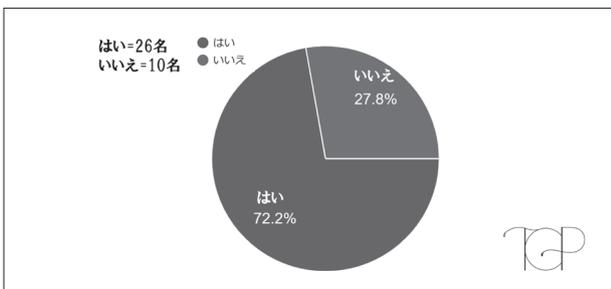


図7 アンケート回答者はクリニックで受ける事ができる治療内容(体外受精/顕微授精など、どこまでステップアップする事ができるか等)を理解して治療しているか

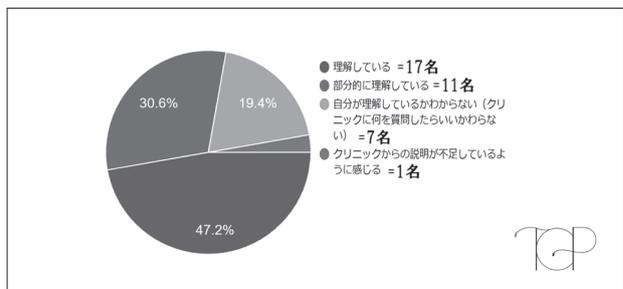


図8 アンケート回答者はクリニックで治療内容(人工授精/体外受精など)に付随してできる治療を理解しているか(例:排卵誘発の方法, 精子の選出方法, ICSI/IMSIなどの治療法の詳細)

を尋ねました。その結果、21名(58.3%)の方々は不満がないと答えていましたが、15名(41.7%)は何らかの不満を抱えていることがわかりました。

具体的なクリニックへの不満は記述回答していただきましたが、表1に示すように1位は待ち時間が長いという結果でした。先ほどの図5の質問「クリニックの選択基準」では、待ち時間でクリニックを選択している方は「待ち時間が短い5.6%」という結果でしたが、不満になるご意見では1位になるという結果になりました。2位は、図7の納得して治療ができていないか?の質問でも垣間見えた、説明不足が不満だという結果になりました。これらの結果から、クリニック選択基準では、妊娠率でクリニックを選択していますが、通院中に不満になることは、ソフト面での待ち時間とスタッフとの対応に不満を持つというご意見が挙がってきている結果になりました。

10. 転院を考えたことがあるか(図10)

図4でも1軒目のクリニックで妊娠される方が25%と少ないということからもわかるように、転院を検討される方が24名(66.7%)という結果になりました。

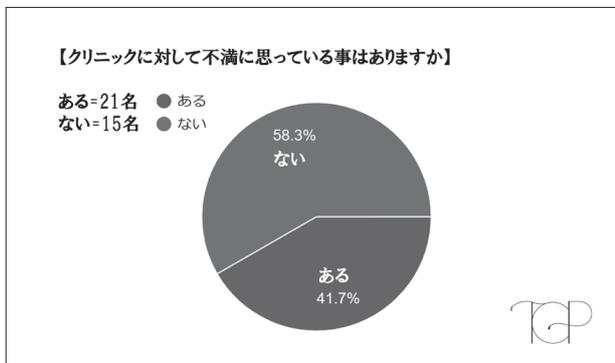


図9 アンケート回答者はクリニックに対して不満に思っていることはあるか

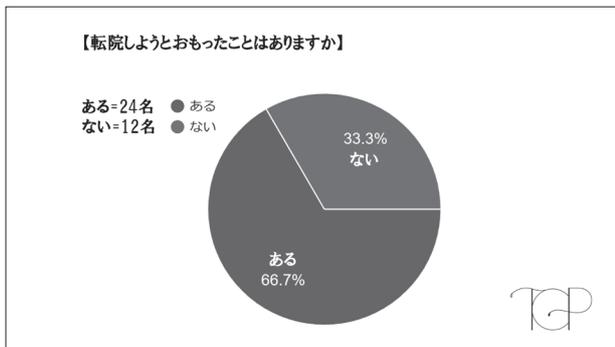


図10 アンケート回答者は転院しようと思ったことはあるか

11. 転院の検討理由(図11)

転院を検討した理由の1位は、思うように結果が出なかったが88%, その次に医者との意見, 方針が合わないが40%, 通っているクリニックでは実施していない新しい治療を試してみたかったが28%, 金額が高いからが28%と, 上位4位まではこのような結果になりました。その他のご意見としましては, 評判, 口コミを見てが8%, 通いにくくなったからが8%, 人間として向き合える温かさを感じられなかったが4%, 等がありました。

12. 患者が欲しいと感じていた情報(図12)

患者が欲しいと感じていた情報の1位は、サブリや鍼灸など治療と並行して自分でできることについてで65.7%, その次に通院中のクリニックの情報が54.3%, 助成金の情報についてが54.3%, 概算金額(長期的な治療プラン・資金計画)が48.6%という結果になりました。

その他のご意見には、このようなものがありました。不妊治療の一般的な成功確率など医学的な情報が48.6%, 心理的サポートについてが42.9%, 各医療機関の治療内容や実績についてが42.9%, 他院のクリニッ

表1 アンケート回答者によるクリニックへの不満内容

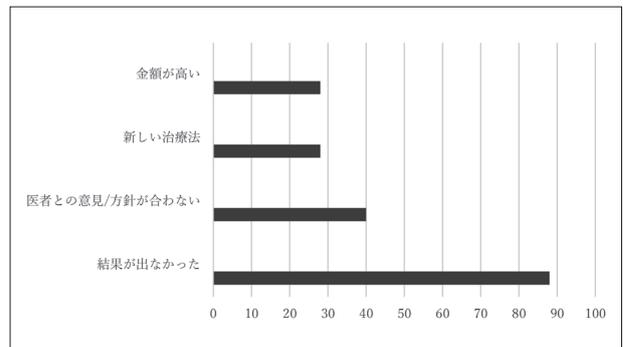
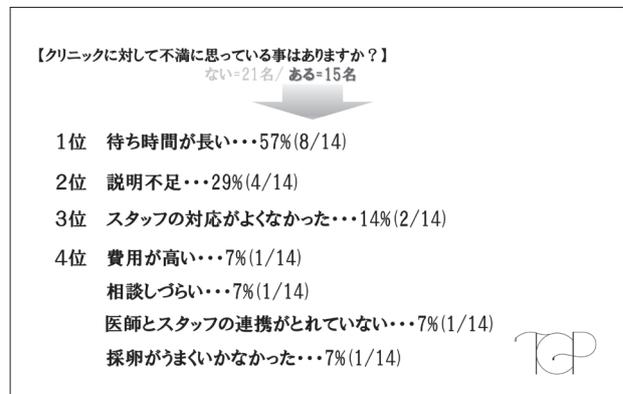


図11 アンケート回答者の転院検討理由

ク情報が40%、保険診療の情報についてが40%、他の不妊治療経験者との交流についてが40%、里親、養子縁組制度についてが22.9%、職場のサポートについてが11.4%でした。

記述回答でご意見を伺った結果は以下ようになります。

- 治療中は孤独に感じている事が多く、通っている医師の事を信じるしかなかったのが、今の自分の治療方針が本当に合っているのか、誰かに気軽に話せて聞けるサポートが欲しかった。
- 不妊治療を受けた人の感想 同じ立場の人の思い
- 助成金の内容や手続き、心理的なサポート(相談できる制度など)
- 年齢や妊娠成立のデータの中央値など
- 不妊治療の成功率やその治療にかかる金額
- ホームページを見ても書いてなく、各病院によって値段があまりに違うので口コミサイトを見て情報を得るしか出来ず不便でした
- 他院の情報、他の患者さんとの交流
- 治療方法の詳細な説明
- 第二子の妊活中、第一子の一時保育などのサポートの情報が欲しかった
- どのくらいで治療を諦めれば良いかの指標
- 検査結果の電話がかかりづらかった。
- メンタルの保ち方など
- サプリ、漢方、鍼灸など治療プラスアルファでできる事。治療と組み合わせでできる事は全部知りたかった。こちらから質問をして初めてその選択肢があると分かった事もあったので。
- 転院するタイミングや、ステップアップするタイミング
- 本当に自分に必要な治療なのか？ うまくいかないときの説明、情報を適切に冷静に解りやすく説明して欲しい。
- 自分の地域のおすすめの病院。病院によっての違い(治療内容や方針、医師の許容)。体験談。病院以外で出来ること。
- 不妊治療をしていると孤独感たっぷりなので、共感できる話しあえる場所はとても大切です。妊活研究会はスペシャリストの先生方も時々お話会に来てくださるから、モヤモヤがすぐ晴れます。
- 提示されている方法以外に選択肢があるのかどうか。自分の今の状況は深刻に感じるレベルの事なのか、それともまだ望みがある状態なのか。
- 食事療法がどれくらい効果あるのか。金銭面。治療の選択肢
- フルタイムで働き、自費で行っている為助成金等のサポートの情報を知ることができるとありがたい。

- 自分に合った刺激法が知りたい、自分にあった可能性が広がる高度な医療情報が欲しい。
- サプリは必要なのか?とか、エビデンスに基づく治療中の食事内容
- 心理的サポート、自分に合った治療法

以上のような結果は、私どもがいつも交流会で話している中で、必ず話題になります。私たち患者は、妊娠を強く望み、それを叶えて下さるクリニックだと信じ、日々頑張っています。どうかこれからも、心のサポートを大切にいただけたら嬉しく思います。

今後の活動課題と方向性

TGPお茶会は2011年からスタートし、10年間妊活支援をしてまいりましたが、このように本格的に妊活支援をしたいと思ったきっかけがありました。これまで10年間沢山の支援をしてきたと自負しておりました。また、今は私たちが治療をしていた時にはなかった治療法など医療の発展は目覚ましいものがありますが、患者の心のケアは10年前となにも変わっていないということに気が付きました。心がおきざりになったまま、医療技術や制度が進んでいる、患者が選択できる治療法が増え、より悩みは複雑になっていると感じています。妊活研究会では、そんな妊活を頑張っている方の心のケアができるよう様々な方向から支援をしていくため2021年に立ち上げました。妊活研究会を立ち上げて1年間、沢山の笑顔と涙とを一緒に共有してまいりまして、改めて「知らなかったをなくしたい」という強い想いを抱いております。TGPお茶会で話しておりますと、「知らないことを知らない」、「何を知ったらいいかわからない」、ということに直面することが多々あります。それは、「無知からの不妊」ということだと感じています。私たちは、これからも、TGP当事者の支援はもちろん、無知を予防するため、学

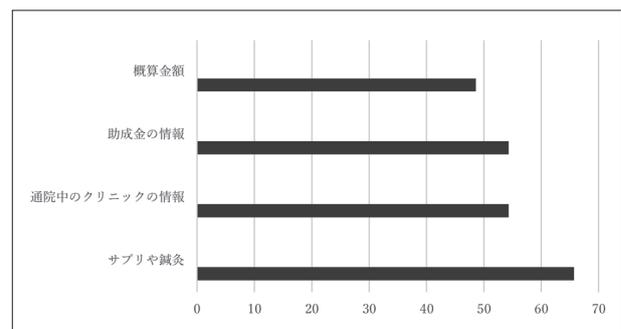


図12 アンケート回答者が欲しいと感じていた情報

生や結婚前の方へ向けたプレコンセプションケアの普及活動をして参りたいと考えております。今後の活動に是非ご期待ください。

最後に、ご支援をいただきました皆様にお礼申し上げます。ありがとうございました。

本稿は2023年3月26日(日)に松山市で開催されました第18回日本レーザーリプロダクション研究会、第9回せとうちART研究会、第7回HAC鹿児島の3大会合同開催において、私がゲスト講演でお話ししました内容の要旨をまとめたものです。

ASRM2022 参加記

江夏 徳寿

英ウイメンズクリニック



①学会場にて、当院塩谷理事長と

この度はアメリカ生殖医学会 (ASRM) が3年ぶりに現地開催されるという事で、塩谷理事長と二人で参加してきましたので、その報告をしたいと思います。

場所はロサンゼルス近郊のアナハイムです。

アナハイムといえば、今年も大活躍を見せた大谷翔平選手のホームスタジアムであるアナハイムスタジアムがあることで馴染み深いかと思います。学会場から10分ほどの距離にアナハイムスタジアムがあり、壁面には大谷選手のバカでかい写真が飾ってありました。アメリカ感があります。なお、近くにはディズニーランドもあり、西海岸では有数の観光地の様でした (ディズニーランドには今回行っておりません、念のため)。

さて、アメリカ人は朝が早いという印象は持っていましたが、私の発表はなんと朝6時半からという驚きの早さでした。ただ、時差ボケのため夜中の2時くらいから目が覚めていたため、朝早いのはかえって良かったように思います。写真③はセッション開始前の会場の様子ですが、

フルーツやコーヒー、パンなどがたくさん準備されていて自由に食べる事ができました。うかつに外で食事をするとうサンドイッチとジュースだけで2000円くらいするので (タイミング悪いことにその時円安maxの1ドル160円



②アナハイムスタジアムの前で LA.baby (卵子提供エージェント) の岡垣さんと、左端にオータニの写真があります!

受付 2023年6月9日 / 受理 2023年6月9日

くらいだったのです), 会場に食事があるのはありがたかったです。

私は血中HCGの推移から着床のタイミングを推測するという研究内容について発表しました. この結果から, 従来考えられているより受精卵の着床のタイミングはばらつきがあるのではないかと考えています. この内容は ‘Differences in Implantation Timing After Embryo Transfer Based on Embryo Characteristics’ という題名でObstetrics and Gynecology: Open Accessに2023年4月に掲載されました。

自分の発表が終わって一安心する間もなくディスカッションに参加します. わざわざアメリカまで来たので, とことん学会を堪能するべく前日からチェックしていた演題を塩谷理事長と二人で回ります. アメリカらしくディスカッションは白熱しますので, (無理して) 積極的にディスカッションに参加し, 日本との診療の相違点について話し合い (向こうが私の英語を理解しているかはさておき), 我々の診療に活かそうな違いは取り入れるべく情報を集めます. 最近日本の学会ではめっきりポスター発表はなくなり, 貼ったら終わりという感じになっておりますが, やはりディスカッションしてこそその学会ですので, 日本も以前の様にポスター会場においてもプレゼンを復活させたほうがいいのではないかと考えています。

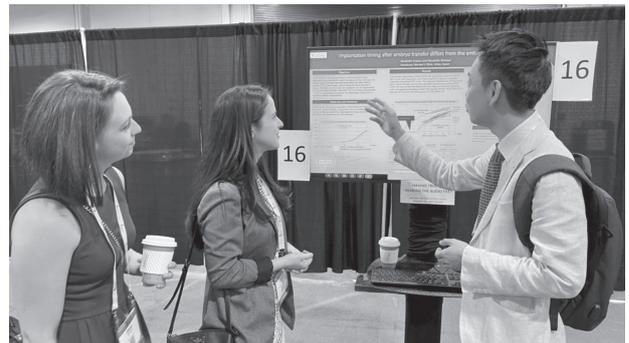
口演発表の場では写真⑥の様なTED風の会場もあり, アメリカだなーと思いました. 写真にあるように演者は壇上をウロウロしながらプレゼンしていました. ちなみに, 写真を見ていただければお分りの様に, 会場の参加者は誰一人マスクをしていません. 2023年10月時点でアメリカでは感染者数は未だに多いものの, 死亡者がほとんどいないため, 完全に風邪あつかいになっていました。

メイン会場では著名な科学者の講演もあります. 写真⑦はノーベル賞受賞者であるエリザベス・H・ブラックバーン博士の講演の様子です. 印象的だったのが, 非常に分かりやすい内容で話をされていて, 真実も突き詰めていけばシンプルなものになるのかと感じました. また, ブラックバーン博士はイギリス人なのですが, 英語はアメリカ人よりも聞き取りやすいなと思いました. イギリス人はヨーロッパ諸国の非英語圏の方と話をすることが多いため, 相手に聞き取りやすい様に話している印象があります. 対してアメリカ人は普段英語を話す人としか, あまり接しないため, より早口で話をする印象です. それでも我々に向かって話をするときは手加減してくれますが, プレゼンは早口の方が多いです. あくまで個人的な印象です。

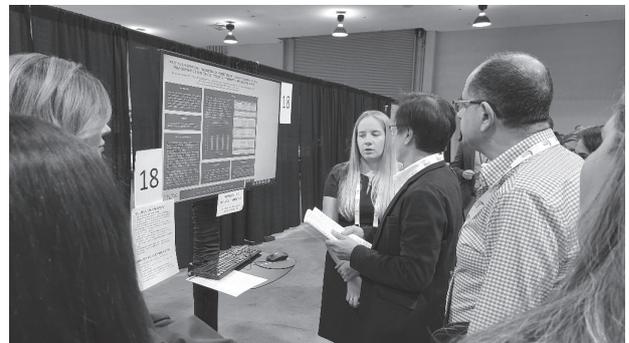
夕方になり, 講演も終わったかと思ったら, 会場の外



③ポスター会場の様子. 朝 6:15 です!



④私のプレゼンの様子です. リュックを下ろしておくべきだったと後悔しています.



⑤ポスター会場のディスカッションの様子. 塩谷理事長も積極的にディスカッションに加わっています.



⑥ TED 風なプレゼン会場

で Special interest group reception というイベントがありました。写真⑧の左にあるように会場前の通りにいくつものテーブルが置いてあって、テーブルに議題が置いてあります(例えば「PGT」みたいに札がおいてあります)。自分の興味のある議題のテーブルに行って、その議題に関して集まった人たちと議論しましょうという、オープンなイベントでした。国が違くと、色々方法が違うところもあるんだなーと面白い体験でした。写真右はエジプトのザガジグ大学の教授ですが、アフリカでも最近生殖医療が増えてきたそうです。エジプト人だけではなく、ヨーロッパから医療ツーリズムで体外受精を受けにくる方も増えているそうですよ。その他、男性不妊のセッションなどにも参加し、多くの刺激を受けました。世界各国の専門家と意見を交換する機会はめったにありませんので、非常に興奮しました。今回、約3年半ぶりの国際学会となりましたが、やはり海外学会は大変な事も多い分、得るものも大きいと感じました。今後もこの様な有意義な学会に参加できるよう、日々研鑽を重ねていきたいと思えます。

英ウィメンズクリニック 江夏徳寿



⑦メイン会場の様子。色使いもアメリカらしく派手です。



⑧左) Special interest group reception の様子
右) ザガジグ大学 (エジプト, カイロ) のエルジンディ教授と

お知らせ

第26回 日本IVF学会学術集会

共催：日本臨床エンブリオロジスト学会

ご挨拶

みなさんこんにちは。

第26回日本IVF学会を大阪の地において世界体外受精会議(ISIVF)と共同開催させていただくことになりました。

IVF学会は地域の生殖医療の進歩をめざした大阪兵庫生殖医療懇話会を起源とし、四半世紀を経た現在、我が国を代表する生殖医療の学会となっています。本学会とのジョイントで行うISIVFを、当時の懇話会の発起人であるHORACグランフロント大阪クリニック院長森本義晴先生が大会長として運営されることは非常に感慨深く思います。

今回のIVF学会テーマは「Approach to sustainable ART」です。2022年4月より不妊治療が保険適用されました。保険化は、カップルの経済的な負担軽減と不妊症の認知から、医療機関への受診を早め、生殖補助医療のハードルを低くしたことは大きな福音です。少子化が急速に進んでいる現在、生殖医療の果たす役割は大きくなっています。生殖医療では高度な技術を提供するだけでなく、カップルの身体的、精神的、経済的な負担に対して治療継続できる環境を提供することが重要です。また、少子化という我が国の大きな課題に対して、政策による後押しも必要不可欠です。生殖医療を行う医療機関は社会のニーズに応えることにより、今以上に社会から認められ必要とされる分野であり続けることが重要です。

そのようなテーマのもとに演者の先生に講演を依頼しています。

例年と比較し、日本IVF学会のセッションは小さくなっておりませんが、同時開催のISIVFに自由に参加いただくことができるようにしています。ISIVFに参加される世界各国からの医療者や研究者と議論や親睦を深めていただける場となることを心より期待しております。

大会運営にあたりご協力頂きました関係者の方々には深く感謝すると共に、ご参加いただける皆様には学術だけでなく、食や芸術など豊かな大阪の文化を、楽しんでいただければ幸いです。



第26回 日本IVF学会学術集会

会長 中岡 義晴 (IVFなんばクリニック 院長)

学会開催概要

●スケジュール

会期：2023年11月2日(木)～4日(土)

会場：グランキューブ大阪(大阪府立国際会議場)
(大阪府大阪市北区中之島5丁目3-51)

●学術集会会長

中岡 義晴 (IVFなんばクリニック 院長)

●メインテーマ

Approach to sustainable ART

●その他ご案内

演題投稿・参加登録の詳細および会場等のご案内は、
学術集会特設ページをご覧ください。

(<https://convention.jtbcom.co.jp/isivf-jsar2023/26jsar/>)



ISIVF2023

21st World Congress on In Vitro Fertilization

Welcome

ISIVF was founded in 1980 by the pioneer of In Vitro Fertilization, Sir Robert G. Edwards, to promote research and clinical practice. Since then, his legacy has been passed on by his thousands of like-minded fellows through the ISIVF society and we have kept exploring the possibility of reproductive medicine and contributed to 8million miracle births from infertile patients.



It is a great honor to host the Congress in Osaka after an interval of four years from the previous congress in Spain, 2019. There are plenty of updates to catch up with you.

The main theme of the congress is “Où Allons Nous (Where are we going?)” . The development of science and technology is remarkable and the speed is getting faster than ever. At the same time, I also feel that we sometimes lose sight of original objectives. To lead the right direction of reproductive medicine is our primary mission as an international society.

I hope this Congress will be an opportunity to stand still and learn lessons from the past, and explore the direction we should proceed in the future. I promise that the selected prominent speakers of the Congress will refresh your knowledge and bring you excitement.

I am looking forward to seeing you in Osaka, Japan for the first time in a long time!

I extend my heartfelt condolence to all infertile patients, pregnant women and infants who suffered from the COVID-19.

Professor Yoshiharu Morimoto
President, ISIVF 2023

Overview of the event

- Schedule

Date : Thursday - Saturday, November 2-4, 2023
Venue : Osaka International Convention Center
(5-3-51, Nakanoshima Kita-ku, Osaka, JAPAN)

- President

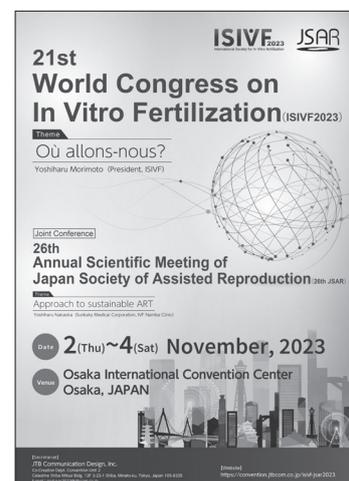
Yoshiharu Morimoto (President, ISVF)

- Theme

Où allons-nous?

- website

<https://convention.jtbcom.co.jp/isivf-jsar2023/>



日本IVF学会雑誌発行における 投稿論文募集のお知らせ

2012年より、日本 IVF 学会では学会雑誌を新刊・発行する運びとなりました。本雑誌は体外受精-胚移植に関する基礎的研究、臨床的研究に関する論文を掲載し、新たな知見を広く世界に知らせることを目的としています。

対象読者は、体外受精-胚移植に関連するすべての研究者、臨床医、技術者で、体外受精という技術を集学的に理解し、評価し、そして高めることに目標を置き、編集発行されます。

次号の発行は 2023 年 10 月 を予定いたしております。因みに原稿の締め切りは 2023 年 8 月 31 日 (木) とさせていただきます。

なお、年間の投稿論文の中から優秀論文賞として選考し、表彰および副賞を贈呈いたします。

取り扱いテーマ

妊能および不妊、IVFおよび生殖補助、生殖内分泌学、生殖生理学、受精、配偶子提供、卵母細胞および卵巣発生学、精母細胞および精巣発生学、着床前遺伝子診断 (PGD)、胎児の遺伝性疾患、着床および器官形成、妊娠、胎児、出産、倫理、カウンセリング

詳細はウェブサイト
(<https://www.jsar.or.jp/dissertation/submission/>)
をご覧ください。

JSAR
Japan Society of Assisted Reproduction

一般社団法人
日本IVF学会

1. 本誌の目的と対象読者

本誌は生殖医療に関連する基礎研究、臨床研究に関する論文を対象とし、新たな知見を広く世界に知らせることを目的とする。対象読者は生殖医療に関わる全ての研究者、臨床医、技術者、培養士、検査技師、看護職、心理士等である。

2. 投稿資格

著者は原則として本学会会員に限る。ただし、編集委員会が認めた場合はこの限りでない。

3. 投稿内容と種類

投稿論文は原著、短報、総説、レター、症例、その他とし、他誌に発表、掲載されていない学術論文に限る。

4. 倫理的配慮

研究に際しては「ヘルシンキ宣言」、厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」、および外科関連学会協議会「症例報告を含む医学論文および学会発表における患者プライバシー保護に関する指針」などの倫理指針を遵守し、投稿に際しては倫理委員会の承認を得たことを論文中に記載する。

5. 利益相反

投稿者は本会にて定める「利益相反に関する指針」に従い、利益相反状態を明らかにするため、所定の申込書に記入し、投稿論文とともに提出し、開示すべき利益相反関係があれば論文中に記載する。

6. 投稿論文の採否

論文は編集委員会において審査・査読を行い、採用決定したものを掲載する。審査の結果、原稿の修正を求められることがある。

7. 著作権

本誌掲載論文の著作権は本学会に帰属する。

8. 執筆要項

- 1) 原稿は、原則としてパーソナルコンピュータ上のWordで作成する。
- 2) 原稿は原則として日本語とし、A4版横書き、11ポイント、1ページに約1,200字(40字×30行)とする。
- 3) 投稿原稿の1編は、本文、文献、図表を含めて以下の枚数以内とする。

原著論文 8枚(約9,600字以内)
総説 8枚(約9,600字以内)
研究報告 8枚(約9,600字以内)
短報 4枚(約4,800字以内)
症例報告 4枚(約4,800字以内)
レター 2枚(約2,400字以内)
その他 8枚(約9,600字以内)

<原著論文/研究報告>

原著論文は、表紙、要旨・キーワード、本文、参考文献、図・表・写真およびその説明文から構成される。※(和文・英文)

- 1) 第1ページに表題[※]、著者名[※]、所属[※]、住所、連絡先(氏名、所属、住所、電話番号、FAX番号、Eメールアドレス)を記載する。表題には略語を使用しない(以下の略語は本文中も含め使用可とする:AID, AIH, ART, BT, E2, ET, FSH, hCG, hMG, ICSI, IMSI, IVF, LH, MESA, OHSS, P4, PCO, PCOS, PESA, PRL, TESE, MD-TESE)。
- 2) 第2ページには和文要旨(400字以内)、キーワード(5個以内、50音順)およびランニングヘッド(25字以内)を記載する。
- 3) 第3ページには英文要旨(250ワード以内)、キーワード(5個以内、abc順)を記載する。
- 4) 第4ページ以降の本文は緒言(目的、背景)、対象と方法、結果、考察、(謝辞)、参考文献の順に記載する。
- 5) 参考文献は引用順に記載し、本文中にも同じ文献番号をつける。著者名は全員とし、下記のように記載する。雑誌名については、原則として省略法で記載する(例:日IVF会誌, 日受精着床会誌, 日産婦誌, Hum Reprod, Fertil Steril等)。

①雑誌

著者名:表題. 雑誌名, 巻(号):頁-頁, 発行年(西暦). ※(号数)の記載については有/無いずれも可とする。

〈例1〉三宅麻喜・笠井剛・藤江道子・平田修司・星和彦:アルギネート包埋法またはマイクロピペットを用いた極少数精子の凍結保存法について. 日受精着床会誌, 22: 58-61, 2005.

〈例2〉Nakamoto T, Okada H, Nakajima T, Ikuta A, Yasuda K, Kanzaki H: Progesterone induces the fibulin-1 expression in human endometrial stromal cells. Hum Reprod, 20: 1447-1455, 2005.

②書籍

著者名:表題. 編集者名, 書名, pp頁-頁, 発行所, 発行年(西暦).

〈例1〉森崇英:ARTの倫理と体制. 森崇英・久保春海・岡村均編, 図説ARTマニュアル, pp 9-17, 永井書店, 2002.

〈例2〉Okamura H, Katabuchi H, Nagai R: Ultrastructure of human ovulation: histofunctional parameters. In: Motta, PM., ed. Microscopy of reproduction and development: a dynamic approach, pp 155-161, Antonio Delfino Ediore, 1997.

③ウェブサイト

そのページの題名. ウェブサイト名. 入手先URL, (入手日付)

〈例1〉倫理に関する見解. 公益社団法人日本産科婦人科学会.

<http://www.jsog.or.jp/ethic/index.html>, (2015.10.1)

④ウェブサイトから入手した文献

著者名. 文献名. 版表示, 出版年. 入手先URL, (入手日付)

〈例1〉厚生労働省編. 最近の医療費の動向 (年次版). 平成26年度, 2015.

<http://www.mhlw.go.jp/topics/medias/year/14/index.html>, (2015.10.1)

⑤学会ガイドライン

インターネットから引用した場合は④ (ウェブサイトから入手した文献) を, 雑誌から引用した場合は① (雑誌) を参照のこと.

- 6) 図・表・写真: 図・表はパワーポイント, 写真はjpegデータで作成する. 個々に符号をつけ, 本文中に挿入位置 (図1, 表1, 写真1など) を明示する. 掲載時のサイズは編集委員会に一任とする. 写真は白黒印刷で掲載される.
- 7) 表記が規定の通りではない原稿について, 再提出をお願いする場合がある.

<総説>

最近における内外の研究または理論的技術的知識を総合してまとめたもので, できるだけ解説的な内容とする.

原著論文と形式は同様であるが項目分けについては特に定めず, 著者の自由な構成とする. 本文の後に謝辞, 文献, 表, 図の順に記載する.

<短報/症例報告>

論文のうち臨床症例やより簡潔な形での研究の報告が可能なものについては症例報告ないし短報とする.

- 1) 第1ページには原著論文と同様な内容を記載する.
- 2) 第2ページには要旨 (250字以内), キーワード (3語) およびランニングヘッド (25字以内) を記載する.
- 3) 第3ページ以降, 症例報告では緒言, 症例報告, 考察の項目に分け, 短報はこれらの区分をつけないこととする.
- 4) 参考文献は10編以内とする.

<レター>

レターは原著や症例報告より簡潔な形で報告が可能なもの, また検査・診断・治療などの技術に関する新知見や, 臨床に関する興味深い経験を簡潔に解説したものとする.

- 1) 第1ページには原著論文と同様な内容を記載する.
- 2) 第2ページ以降にはキーワード (3語) およびランニングヘッド (25字以内) ならびに本文を項目分けせずに記載する.
- 3) 参考文献は5編以内とし, 文献の表題を省く.

9. 原稿の送付方法

投稿論文は, 「投稿フォーマット」に準じて記載したものを, 日本IVF学会の論文投稿用指定アドレス宛に, E-mailにて投稿する.

詳細はウェブサイト

(<https://www.jsar.or.jp/dissertation/submission/>) をご覧ください.

10. 別刷申し込み

別刷を希望する場合, 初校の校正時に必要部数を申し出ること. 記入がない場合は別刷不要とみなし, 掲載後の別刷希望には応じられない. 別刷料金は50部10,000円 (税抜) とする.

一般社団法人 日本IVF学会 定款

第1章 総 則

(名 称)

第1条 当法人は、一般社団法人日本IVF学会と称する。学会の英文名称は、Japan Society of Assisted Reproduction (略称JSAR) とする。

(目 的)

第2条 当法人は、生殖補助医療である体外受精法 (In Vitro Fertilization (以下「IVF」という。)) 及びその関連領域に関する研究の発展、知識の交流を図り、もって医学の進歩に寄与することを目的として、次の事業を行う。

- (1) 学術集会の開催
- (2) 各種の学術的調査、研究
- (3) 内外関連学術団体との連絡及び提携
- (4) 学会雑誌の発行
- (5) その他当法人の目的達成に必要な事業

(主たる事務所の所在地)

第3条 当法人は、主たる事務所を横浜市に置く。

(公告方法)

第4条 当法人の公告は、官報に掲載して行う。

(機 関)

第5条 当法人は、当法人の機関として社員総会及び理事以外に理事会及び監事を置く。

第2章 社員及び会員

(会員の資格及び種別)

第6条 当法人の会員は、当法人の目的に賛同する医師、エンブリオロジスト (胚培養士)、臨床検査技師、看護師、薬剤師、臨床心理士、研究者又は理事会の承認を得た者とし、次の4種に分類する。なお、名誉会員及び功労会員の資格並びにその他の事項については、本定款に定めるもののほか、理事会の定める規則による。

- (1) 正会員 当法人の目的に賛同して当法人の活動に参画するために入会した個人
- (2) 名誉会員 当法人の目的に賛同して入会した会員のうち、IVFに関する研究の発展に関する貢献が顕著な者
- (3) 功労会員 当法人の進歩発展に特別の功績があり、当法人の発展に功労があった者
- (4) 賛助会員 当法人の目的に賛同し、当法人の事業を賛助するために入会した団体又は法人。なお、法人の代表者、生殖医療管理責任者、又は個人開業医が正会員の場合は、同会員が所属する団体又は法人は自動的に会員資格を保有するものとする。

(社 員)

第7条 一般社団法人及び一般財団法人に関する法律 (以下「法人法」という。) 第11条第1項第5号等に規定する社員は、正会員の中から理事会において選定された者とする。

2 社員は、法人法第35条以下に規定する社員総会を組織し、当法人の重要事項を審議、議決する。

(入 会)

第8条 当法人の会員となるには、当法人所定の入会申込方法により入会の申込みをし、会費を納入のうえ、理事長の承認を得なければならない。再入会の場合も同様とする。

(会 費)

第9条 会員は、当法人の目的を達成するため必要とする経費として、別途定める規則に従い会費を支払う義務を負うものとする。ただし、名誉会員は会費を納めることを要しない。

(正会員の権利)

第10条 正会員は次の権利を有する。

- (1) 当法人の主催する学術集会に定められた参加費で参加することができる。
- (2) 当法人の雑誌に投稿することができる。

(退社又は退会)

第11条 社員は、次に掲げる事由によって退社する。

- (1) 正会員の資格を喪失したとき。
- (2) 社員本人の退社の申し出。退社の申し出は1か月前にするものとするが、やむを得ない事由があるときは、会費をすべて支払った後にいつでも退社することができる。なお、既に支払った会費の払い戻しはしないものとする。
- (3) 死亡
- (4) 除名

2 会員は、次に掲げる事由によって退会する。

- (1) 会員本人の退会の申し出。ただし、既に支払った会費の払い戻しはしないものとする。
- (2) 死亡又は解散
- (3) 会費の不払い（期限を定めて催告した場合に限る。）
- (4) 除名

3 社員の除名は、正当な事由があるときに限り、法人法第30条及び第49条第2項第1号の定める社員総会の特別決議によってすることができる。

4 会員の除名は、正当な事由があるときに限り、理事会の決議によってするものとする。

(社員名簿及び会員名簿)

第12条 当法人は、社員及び会員の氏名及び住所を記載した社員名簿及び会員名簿を作成し、当法人の主たる事務所に備え置くものとする。社員名簿をもって法人法第31条に規定する社員名簿とする。

2 当法人の社員及び会員に対する通知又は催告は、社員名簿及び会員名簿に記載した住所又は社員及び会員が当法人に通知した居所にあてて行うものとする。

第3章 社員総会

(招 集)

第13条 当法人の定時社員総会は、毎事業年度末日の翌日から3か月以内に招集し、臨時社員総会は、必要に応じて招集する。

2 社員総会は、法令に別段の定めがある場合を除くほか、理事会の決議に基づき理事長がこれを招集する。理事長に事故若しくは支障があるときは、副理事長がこれを招集する。

3 社員総会を招集するには、会日より1週間前までに、社員に対して招集通知を発するものとする。

4 前項の招集通知は、書面による通知の発出に代えて、社員の承諾を得て、電磁的方法により通知を発することができる。

(招集手続の省略)

第14条 社員総会は、社員全員の同意があるときは、招集手続を経ずに開催することができる。

(議長)

第15条 社員総会の議長は、理事長がこれに当たる。ただし、理事長に事故若しくは支障があるときは、副理事長又はその他の理事が当たる。

(決議の方法)

第16条 社員総会の決議は、法令又は定款に別段の定めがある場合を除き、総社員の議決権の過半数を有する社員が出席し、出席した当該社員の議決権の過半数をもって行う。

2 書面による議決権の行使は、議決権行使書面に必要な事項を記載し、当法人に提出して行う。

3 電磁的方法による議決権の行使は、当法人の承諾を得て、議決権行使書面に記載すべき事項を当法人に提供して行う。

4 前2項の規定によって行使した議決権の数は、出席した社員の議決権の数に算入する。

(社員総会の決議の省略)

第17条 社員総会の決議の目的たる事項について、理事又は社員から提案があった場合において、その提案に社員の全員が書面又は電磁的記録によって同意の意思表示をしたときは、その提案を可決する旨の社員総会の決議があったものとみなす。

(議決権の代理行使)

第18条 社員は、当法人の社員又は議長を代理人として、議決権を行使することができる。ただし、この場合には、社員総会ごとに代理権を証する書面を提出しなければならない。

2 前項の社員又は代理人は、代理権を証明する書面の提出に代えて、当法人の承諾を得て、同書面に記載すべき事項を電磁的方法により提供することができる。

(社員総会議事録)

第19条 社員総会の議事については、法令に定める事項を記載した議事録を作成し、議長及び議事録署名人が署名又は記名押印して10年間当法人の主たる事務所に備え置くものとする。

2 議事録署名人の選定は、議長が出席した社員の内1名を指名し、出席した当該社員の議決権の過半数をもって行う。

第4章 役員

(役員等)

第20条 当法人に次の役員を置く。

- | | |
|----------|-----------|
| (1) 理事長 | 1名 |
| (2) 副理事長 | 若干名 |
| (3) 常務理事 | 20名以内 |
| (4) 理事 | 3名以上45名以内 |
| (5) 監事 | 2名以内 |

(役員等の職務)

第21条 当法人の役員等の職務は次のとおりとする。

- (1) 理事長は、法令及び本定款で定めるところにより、当法人を代表し、業務の執行を統括する。
- (2) 副理事長は、理事長を補佐し、理事長が事故その他の事由により職務を執行できないときはその職務を代行する。
- (3) 常務理事は、理事会において別に定めるところにより、当法人の業務を分担執行する。

(4) 理事は、理事会を構成し、法令及び本定款で定めるところにより、当法人の業務を執行する。

(理事の資格)

第22条 当法人の理事は、当法人の社員又は会員若しくはその関係者の中から選任する。ただし、必要があるときは、上記以外の者から選任することができる。

(理事及び監事の選任の方法)

第23条 当法人の理事及び監事の選任は、社員総会において総社員の議決権の過半数を有する社員が出席し、出席した当該社員の議決権の過半数をもって行う。

2 副理事長及び常務理事の選任規程は別に定める。

(代表理事)

第24条 当法人に理事長1人を置き、理事会において理事の過半数をもって選定する。

2 理事長は、法人法上の代表理事とする。

3 理事長は、当法人を代表し会務を総理する。

4 他の理事は理事長を補佐し、理事長に事故があるときは、理事長があらかじめ理事会の承認を得て定めた順位に従いその職務を代行し、理事長が欠けたときはその職務を行う。

(理事及び監事の任期)

第25条 理事及び監事の任期は、選任後2年以内に終了する事業年度のうち最終のものに関する定時社員総会の終結の時までとする。

2 任期満了前に退任した理事又は監事の補欠として選任された者の任期は、前任者の任期の残存期間と同一とする。

3 増員により選任された理事の任期は、他の在任理事の任期の残存期間と同一とする。

(報酬等)

第26条 理事及び監事の報酬、賞与その他の職務執行の対価として当法人から受け取る財産上の利益は、社員総会の決議によって定める。

(監事の職務及び権限)

第27条 監事は、理事の職務の執行及び会計を監査し、法令の定めるところにより、監査報告を作成する。

2 監事は理事に対して、いつでも事業の報告を求め、当法人の業務及び財産の状況を調査することができる。

第5章 理事会

(招集)

第28条 当法人の理事会は、年2回招集し、臨時理事会は、必要に応じて招集する。

2 理事会は、理事長がこれを招集し、会日の1週間前までに各理事及び各監事に対して招集の通知を発するものとする。ただし、緊急の場合にはこれを短縮することができる。

3 理事長に事故若しくは支障があるときは、副理事長がこれを招集する。

(招集手続の省略)

第29条 理事会は、理事及び監事の全員の同意があるときは、招集手続を経ずに開催することができる。

(議長)

第30条 理事会の議長は、理事長がこれに当たる。ただし、理事長に事故若しくは支障があるときは、副理事長がこれに代わるものとする。

(理事会の決議)

第31条 理事会の決議は、法令又は定款に別段の定めがある場合を除き、議決に加わることができる理事の過半数が出席し、その過半数をもって行う。

(理事会の決議の省略)

第32条 理事が理事会の決議の目的である事項について提案をした場合において、当該提案につき議決に加わることができる理事の全員が書面又は電磁的記録により同意の意思表示をしたとき（監事が当該提案に異議を述べた場合を除く。）は、当該提案を可決する旨の理事会の決議があったものとみなす。

(職務の執行状況の報告)

第33条 理事長は、自己の職務の執行の状況を理事会に報告するものとする。

(理事会議事録)

第34条 理事会の議事については、法令に定める事項を記載した議事録を作成し、出席した代表理事（代表理事に事故若しくは支障があるときは議長たる副理事長）及び監事がこれに署名又は記名押印し、10年間主たる事務所に備え置くものとする。

第6章 会 計

(事業年度)

第35条 当法人の事業年度は、毎年8月1日から翌年7月31日までとする。

(計算書類等の定時社員総会への提出等)

第36条 理事長は、毎事業年度、法人法第124条第1項の監査を受け、かつ同条第3項の理事会の承認を受けた計算書類（貸借対照表及び損益計算書）及び事業報告書を定時社員総会に提出しなければならない。

2 前項の場合、計算書類については社員総会の承認を受け、事業報告書については理事がその内容を定時社員総会に報告しなければならない。

(計算書類等の備置き)

第37条 当法人は、各事業年度に係る貸借対照表、損益計算書及び事業報告書並びにこれらの附属明細書（監事の監査報告書を含む。）を、定時社員総会の日の2週間前の日から5年間、主たる事務所に備え置くものとする。

(剰余金の不配当)

第38条 当法人は、剰余金の配当はしないものとする。

第7章 解散及び清算

(解散の事由)

第39条 当法人は、社員総会の決議その他法令で定められた事由により解散するものとする。

(残余財産の帰属)

第40条 当法人が清算をする場合において有する残余財産は、社員総会の決議を経て、公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律第5条第17号に掲げる法人又は国若しくは地方公共団体に贈与するものとする。

第8章 附 則

(設立時社員の氏名及び住所)

第41条 当法人の設立時社員の氏名及び住所は、次のとおりである。

神戸市	塩 谷 雅 英
神戸市	森 本 義 晴
岐阜県大垣市	古 井 憲 司

(設立時役員)

第42条 当法人の設立時理事、設立時監事及び設立時代表理事は、次のとおりとする。

設立時理事	塩 谷 雅 英
設立時理事	古 井 憲 司
設立時理事	石 川 元 春
設立時理事	沖 津 撰
設立時理事	藏 本 武 志
設立時理事	高見澤 聡
設立時理事	詠 田 由 美
設立時理事	福 田 愛 作
設立時理事	細 井 美 彦
設立時理事	向 田 哲 規
設立時理事	山 下 正 紀
設立時理事	吉 田 淳
設立時理事	吉 田 仁 秋
設立時代表理事	塩 谷 雅 英
設立時監事	森 本 義 晴
設立時監事	久 保 春 海

(最初の事業年度)

第43条 当法人の最初の事業年度は、当法人成立の日から平成29年7月31日までとする。

(定款に定めのない事項)

第44条 この定款に定めのない事項については、すべて法人法その他の法令の定めるところによる。

上記は当法人の定款に相違ありません。

一般社団法人日本 IVF 学会
代表理事 塩 谷 雅 英

令和4年4月1日 改訂

一般社団法人 日本IVF学会 役員

Japan Society of Assisted Reproduction

- 理事長 塩谷 雅英 (英ウイメンズクリニック 理事長)
- 副理事長 大須賀 稔 (東京大学 産婦人科学 教授)
古井 憲司 (クリニックママ 理事長)
- 常務理事 石川 元春 (いしかわクリニック 理事長)
岩瀬 明 (群馬大学大学院 医学系研究科 産科・婦人科学 教授)
岡田 英孝 (関西医科大学 産婦人科 教授)
沖津 摂 (楠原ウイメンズクリニック 培養室 培養部長)
梶山 広明 (名古屋大学大学院 医学系研究科 産婦人科学 教授)
加藤 恵一 (加藤レディースクリニック 院長)
蔵本 武志 (蔵本ウイメンズクリニック 理事長)
柴原 浩章 (兵庫医科大学 医学部 産科婦人科学 主任教授)
杉山 カー (杉山産婦人科 理事長)
高見澤 聡 (杉山産婦人科 新宿 副院長)
徳永 義光 (空の森クリニック 理事長)
中岡 義晴 (IVFなんばクリニック 院長)
詠田 由美 (アイブイエフ詠田クリニック 理事長・院長)
福田 愛作 (IVF大阪クリニック 院長)
細井 美彦 (近畿大学 学長)
向田 哲規 (広島HARTクリニック 理事長・院長)
村上 節 (滋賀医科大学 産科学婦人科学講座 教授)
山下 正紀 (山下レディースクリニック 院長)
吉田 淳 (木場公園クリニック 理事長・院長)
吉田 仁秋 (仙台ARTクリニック 理事長)
渡辺 浩彦 (醍醐渡辺クリニック 院長)
- 理事 浅田 義正 (浅田レディースクリニック 理事長)
東口 篤司 (札幌エンドメトリウムリサーチ 代表)
安藤 寿夫 (豊橋市民病院 総合生殖医療センター センター長)
岩崎 利郎 (英ウイメンズクリニック 研究開発部長・東京農工大学名誉教授)
大谷 徹郎 (にしたんARTクリニック 神戸三宮院)
岡本 純英 (ART岡本ウーマンズクリニック 理事長・院長)
河村 寿宏 (田園都市レディースクリニック 理事長・院長)
北脇 城 (前 京都府立医科大学 産婦人科学教室 教授)
古賀 文敏 (古賀文敏ウイメンズクリニック 理事長・院長)
鈴木 直 (聖マリアンナ医科大学 産婦人科学 主任教授)
竹内 一浩 (竹内レディースクリニック 理事長・院長)
竹下 直樹 (竹下医院 (前 東邦大学医療センター佐倉病院 臨床遺伝診療センター 教授))
中山 貴弘 (足立病院 生殖内分泌医療センター長)
榎原 久司 (大分大学 医学部 産科婦人科学 特任教授・名誉教授)
西村 満 (西村ウイメンズクリニック 理事長・院長)
藤原 敏博 (フェニックスアートクリニック 院長)
藤原 浩 (金沢大学 医薬保健研究域 医学系 産科婦人科学教室 教授)
松田 和洋 (松田ウイメンズクリニック 理事長・院長)
三谷 匡 (近畿大学 生物理工学部 遺伝子工学科 学科長・教授)
矢野 浩史 (矢野産婦人科 理事長・院長)
- 監事 久保 春海 (東邦大学 名誉教授/日本不妊予防協会 理事長)
森本 義晴 (HORAC グランフロント大阪クリニック 院長/IVF JAPAN CEO)

(50音順)

- 事務局 〒226-0003 神奈川県横浜市緑区鴨居6-19-20 株式会社ヒューマンリプロ・K 内
TEL: 045-620-7560 FAX: 045-620-7563 E-mail: info@ivf-et.net

(2022年11月1日改訂)

編集委員会

■ 編集委員長 柴原 浩章 (兵庫医科大学医学部産科婦人科)

■ 副編集委員長 岩佐 武 (徳島大学医学部産婦人科)
沖津 摂 (楠原ウイメンズクリニック)
竹下 直樹 (竹下医院)

■ 編集委員 木村 直子 (山形大学農学部)
熊谷 仁 (京野アートクリニック盛岡)
黒田 恵司 (杉山産婦人科 丸の内)
竹内 一浩 (竹内レディースクリニック)
千葉 公嗣 (神戸大学泌尿器科)
鍋田 基生 (つばきウイメンズクリニック)
平山 史朗 (東京HARTクリニック)
藤ノ木 政勝 (獨協医科大学 実験動物センター)
古橋 孝祐 (英ウイメンズクリニック)
山谷 文乃 (兵庫医科大学医学部産科婦人科)
脇本 裕 (兵庫医科大学医学部産科婦人科)

(50音順)

■ 編集委員会事務局 〒226-0003 神奈川県横浜市緑区鴨居6-19-20 株式会社ヒューマンリプロ・K 内

(2023年6月1日改訂)

■ 発行責任者 理事長 塩谷 雅英

発行日：2023年6月26日 制作：株式会社デュナミス
発行者：一般社団法人 日本IVF学会 印刷所：株式会社イーステージ



日本IVF学会雑誌

Vol.26 No.1

www.jsar.or.jp
