

ISSN 1881-9028

日本IVF学会雑誌

Vol.26 No.2

2023

JSAR
Japan Society of Assisted Reproduction

特別企画：卵巣移植－世界の現状からみた我が国の現状

序文	3
	脇本 裕 兵庫医科大学医学部産科婦人科学講座
－ 総説 －	
エビデンスに基づいた卵巣組織凍結 (OTC) / 移植 (OTT) 施設の集約化： 少子高齢化の日本で求められる費用対効果と高品質	4
	京野 廣一 ^{1,2} , 橋本 朋子 ² , 熊谷 仁 ³ , 五十嵐 秀樹 ⁴ , 長谷川 明俊 ⁵ , 杉田 匡聡 ⁶ , 島田 昌之 ⁷ , 馬場 長 ⁸ ¹ 京野アートクリニック高輪, ² 日本卵巣組織凍結保存センター (HOPE), ³ 京野アートクリニック盛岡, ⁴ 京野アートクリニック仙台, ⁵ 川崎幸病院婦人科, ⁶ NTT 東日本関東病院産婦人科, ⁷ 広島大学大学院統合生命科学研究所, ⁸ 岩手医科大学産科婦人科
－ 総説 －	
卵巣組織凍結と融解移植の現状と課題	11
	原 鐵晃 県立広島病院生殖医療科・ゲノム診療科, 広島中央通り香月産婦人科
－ 総説 －	
卵巣凍結前の化学療法が卵胞数および卵巣移植に与える影響	18
	脇本 裕, 荻野 奈々 兵庫医科大学医学部産科婦人科学講座
特別企画：ARTと着床免疫	
序文	27
	山谷 文乃 兵庫医科大学医学部産科婦人科学講座
－ 総説 －	
ARTと着床免疫 ～慢性子宮内膜炎について	28
	杉本 澄美玲, 木村 文則 奈良県立医科大学産婦人科
－ 総説 －	
ARTと着床免疫 ～着床不全症例に対するタクロリムス療法	33
	中川 浩次 ¹ , 杉山 カー ¹ , 山口 晃史 ² ¹ 杉山産婦人科新宿, ² 国立成育医療研究センター 周産期・母性診療センター母性内科
－ 総説 －	
着床不全とネオ・セルフ抗体	40
	小野 洋輔 ¹ , 和田 真一郎 ² , 吉野 修 ¹ , 山田 秀人 ³ ¹ 山梨大学医学部産婦人科, ² 手稲溪仁会病院 産婦人科, ³ 手稲溪仁会病院 不育症・ゲノム医療センター
－ 総説 －	
着床不全と Natural Killer 細胞異常 ～イントラリピッド療法と免疫グロブリン療法の効果～	47
	山谷 文乃, 福井 淳史, 柴原 浩章 兵庫医科大学医学部産科婦人科

— 原著 —		
	ART時代のFT(卵管鏡下卵管形成術)の役割について	53
	苔口昭次, 岡本恵理, 水澤友利, 林奈央, 山田聡, 十倉陽子, 江夏イーシェン, 山田愛, 片山和明, 山田弘次, 芳川裕美子, 江口武志, 江夏徳寿, 江夏国宏, 塩谷雅英	
		英ウィメンズクリニック
— 原著 —		
	当院における女性年齢45歳以上の生殖補助医療の臨床成績	60
		山田健市, 村川晴生
		仙台ソレイユ母子クリニック
— 原著 —		
	ホルモン補充周期での凍結胚移植は産科合併症のリスク因子である	65
	山田弘次, 片山和明, 江口武志, 小寺花織, 芳川裕美子, 江夏徳寿, 山田愛, 林奈央, 江夏宜シェン, 十倉陽子, 山田聡, 水澤友利, 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 —		
	iDAScoreによる胚評価と胚の正倍数性の関連性	71
	桑鶴ゆかり, 溝部大和, 黒木裕子, 福元由美子, 徳留菜里, 燃脇晴恵, 折田有史, 岩川富貴子, 竹内一浩	
		竹内レディースクリニック附設高度生殖医療センター
— 原著 —		
	精子ヒアルロン酸結合能と精子DNA損傷の関連およびヒアルロン酸結合精子使用顕微授精の有用性について ..	78
	夏目明子 ¹ , 北原彩花 ¹ , 岩本祐佳 ¹ , 水田真平 ^{1,2} , 大原康弘 ¹ , 松林秀彦 ^{1,2} , 石川智基 ^{1,2}	
		¹ リプロダクションクリニック大阪, ² リプロダクションクリニック東京
— 特別寄稿 —		
	生殖医療における研究発表の基本	85
		高橋俊文
		福島県立医科大学ふくしま子ども・女性医療支援センター
— 総説 —		
	PGT-Aプログラムを臨床的に確立するための工夫	91
	和田龍, 後藤優介, 寄田朋子, 長場美由紀, 品川詩織, 永井徹, 向田哲規	
		広島HARTクリニック
— 短報 —		
	検体取り違い防止システムの重要性 - より効率的な安全対策を試みる新たな取り組み -	100
	緒方洋美, 峯川亮子, 吉田貴則, 緒方誠司	
		オガタファミリークリニック
— 参加報告 —		
	第25回IFFS 2023 (International Federation of Fertility Societies) 参加報告	104
		塩谷雅英
		英ウィメンズクリニック理事長, 日本IVF学会理事長, 第70回日本生殖医学会学術講演会会長
— 参加報告 —		
	ASPIRE 2023 参加記	107
		林奈央
		英ウィメンズクリニック
— 参加報告 —		
	ESHRE 2023 参加記	109
		岡本恵理
		英ウィメンズクリニック

特別企画

「卵巣移植 - 世界の現状からみた我が国の現状」

序 文

脇本 裕

兵庫医科大学医学部産科婦人科学講座

今回、編集委員長の柴原浩章先生の企画から、本誌にて「卵巣移植 - 世界の現状からみた我が国の現状」という題で特集を組むことになりました。今回の特集では、卵巣凍結/融解移植について国内外の最新研究、取り組み、技術の現状に焦点を当て、この領域に造詣が深い3名の先生方をお招きし、深い洞察と専門的な知識をもって執筆していただきました。読者の皆様には新たな知見や洞察を提供できるものと考えております。是非とも本特集を手にとり、ご一読いただければ幸いです。

卵巣凍結/融解移植には多くの課題があり、その特性から移植は長期保管後になるため、この多くの課題に対する答えは長らく不明でした。近年、緩慢凍結法による2004年の成功例から四半世紀が経過し、欧米を中心に多くのデータが蓄積され移植例および妊娠例が報告されてきております。一方、本邦ではガラス化凍結法が、本邦初の成功例と簡易キットの開発から導入が進み卵巣凍結の主流となっています。2017年に当科での卵巣凍結の導入当初、ガラス化法の効果に関する明確な結論は得られず、国内外での議論が活発に行われていました。しかし、近年では、本邦においてガラス化法による移植や妊娠例が増加し、この手法への関心も一層高まってきています。本特集では、そのガラス化法による成功例について原鐵晃先生から「卵巣組織の凍結と融解移植の現状と課題」と題して本邦の妊娠成績の現状と具体的な妊娠例を解説されています。一方、欧米を中心にはじまった緩慢凍結法による卵巣凍結/融解移植の成功例から、自施設でその最先端の技術をいち早く取り入れ、本邦においてこの領域を牽引している京野廣一先生から、「エビデンスに基づいた卵巣組織凍結(OTC)/移植(OTT)施設の集約化：少子高齢化の日本で求められる費用対効果と高品質」と題して、緩慢凍結法とガラス化法についてだけでなく、卵巣凍結/融解移植の集約化についても解説されています。最後に私からは、化学療法に暴露された卵巣凍結による移植成績に興味があり、長らく問題点の一つと考えていましたが、当科で実施した凍結卵巣内の原始卵胞数の解析と欧州の最新の卵巣移植の臨床成績から「卵巣の凍結前の化学療法が卵胞数及び卵巣移植に与える影響」と題して、化学療法後が卵巣凍結/融解移植に及ぼす影響について考察しています。

本領域におけるガラス化法や緩慢凍結法などの凍結技術、卵巣輸送システム、化学療法後の卵巣凍結、微小残存病変の課題といった多岐にわたるテーマについて、読者に学術的にも大変興味をわく内容に取り組んで頂いた執筆者の皆様へ深く感謝申し上げます。

エビデンスに基づいた 卵巣組織凍結 (OTC) / 移植 (OTT) 施設の集約化： 少子高齢化の日本で求められる費用対効果と高品質

京野 廣一^{1,2}, 橋本 朋子², 熊谷 仁³, 五十嵐 秀樹⁴,
長谷川 明俊⁵, 杉田 匡聡⁶, 島田 昌之⁷, 馬場 長⁸

¹ 京野アートクリニック高輪 〒108-0074 東京都港区高輪 3-13-1 高輪コート 5F

² 日本卵巣組織凍結保存センター (HOPE) 〒141-0001 東京都品川区北品川 5-15-4

³ 京野アートクリニック盛岡 〒020-0034 岩手県盛岡市盛岡駅前通 15-5-3F

⁴ 京野アートクリニック仙台 〒980-0014 宮城県仙台市青葉区本町 1-1-1-3F

⁵ 川崎幸病院婦人科 〒212-0014 神奈川県川崎市幸区大宮町 31 番地 27

⁶ NTT 東日本関東病院産婦人科 〒141-8625 東京都品川区東五反田 5-9-22

⁷ 広島大学大学院統合生命科学研究科 〒739-8528 広島県東広島市鏡山 1-4-4

⁸ 岩手医科大学産科婦人科 〒028-3695 岩手県紫波郡矢巾町医大通 2-1-1

要旨： 20例以上卵巣組織移植 (OTT) 経験のある5施設の285女性へのOTT成績 (2021) は患者当たり38% (106/285) の妊娠率, 26% (75/285) の生産率であった。出産例の凍結 (OTC) 時年齢は26.9 ± 0.7歳と若く, 69%は自然妊娠によるものであった。OTTの81.2%は早発卵巣不全症例に行われ, 残りの18.8%は月経不順かつART不成功例に実施されている。移植部位は血流の多い卵巣断端あるいは腹腔ポケットに凍結組織量の1/3 ~ 1/2を移植する。自然妊娠を念頭におき, 移植時の卵管疎通性と精液検査は必須である。35歳未満のがん患者は高リスクの化学療法前にOTCを実施する。子宮への放射線療法 > 25 Gyの場合には移植は推奨されない。少子高齢化の日本において搬送によるOTC/OTT施設の集約化はデンマークやFertiPROTEKTの費用対効果・高品質・高成績が示す通り不可避である。

キーワード： 施設の集約化, 出産, 少子高齢化, 卵巣組織移植, 卵巣組織凍結

ランニングヘッド： 施設の集約化による質と費用対効果と出産成績の向上

英文要旨： In 2021, 285 ovarian tissue transplantation (OTT) cases from 5 European centers which had performed more than 20 OTT cases showed a pregnancy rate of 38% (106/285) and a live birth rate of 26% (75/285). The average age at ovarian tissue cryopreservation (OTC) was 26.9 ± 0.7 years old. 69% (52/75) of women gave birth after natural conception. Indications of OTT were premature ovarian insufficiency (81.2%) and irregular menstruation (18.8%) with assisted reproductive technology (ART) failure. The graft site was the well-vascularized exposed medulla of decorticated ovaries or a newly created peritoneal pocket. Tubal patency and semen analysis must be confirmed at OTT when preparing for natural pregnancy. Before high risk chemotherapy, OTC is considered in cancer women under the age of 35. However, irradiation > 25 Gy to the uterus greatly reduces the possibility of birth after OTT, and OTC must be determined after considering the irradiation area and amount. Denmark and FertiPROTEKT have produced higher quality, higher efficiency, and higher pregnancy and birth rates by selecting a few OTC/OTT centers. In Japan, with a declining birth rate and an aging population, a centralized system of OTC/OTT using transportation on ice for 4-24 hours is indispensable.

キーワード： A centralized system, Birth, Declining birth rate and aging population, Ovarian tissue cryopreservation, Ovarian tissue transplantation

緒言 (目的, 背景)

欧州ではベルギー, イスラエル, デンマーク, フランス, スペイン, ドイツ, イタリア, スウェーデン, ノルウエー, エストニア, オランダ, トルコ, そしてオーストラリアや米国を含めると, 2004 年以降, 卵巣組織凍結 (OTC) は 10,000 例以上, 凍結融解卵巣組織移植 (OTT) は 1,000 例以上に行われ, 200 例以上の赤ちゃんが誕生している¹⁻²⁵⁾. これまでのデータを分析し, 妊娠出産成績からエビデンスに基づいた OTC/OTT の最適化について述べたい。

対象と方法

Pubmed で Ovarian tissue cryopreservation, Ovarian tissue transplantation, Transportation, Pregnancy, Birth, Cost efficiency, Quality control & assurance の key word から引用して論文を検索・分析した。

結果と考察

1) 卵巣組織凍結 (OTC): OTC に関して出産例の 97% 以上が緩慢凍結後の妊娠出産であり, ガラス化法による出産報告はごく僅かである^{1,25)}. ESHRE (2020) ガイドライン²⁶⁾ が示す通り, 欧州をはじめオーストラリア・米国では緩慢凍結法が推奨され, ガラス化法は研究のみでの使用と限定されている。米国^{17,18)} では 1 施設で一部ガラス化法が実施され, 日本では主にガラス化法が主流で, 2006 年以降, 400 例程度実施されている²⁷⁻²⁹⁾. OTC 時の年齢はこれまでの妊娠出産例より 35 歳未満が推奨される。小児がんでは 9 歳 (β -地中海性貧血)¹²⁾, 13 歳 (鎌状赤血球症)³⁰⁾, 14 歳 (急性リンパ性白血病)³¹⁾ 時に OTC した症例で妊娠出産報告がある。その中の 9 歳¹²⁾ や 18 歳 (白血病)¹⁹⁾ で凍結した患者では一度 OTT した後, 3 人以上出産し, 卵巣も 8 年以上長期間機能しているため, より若い時の OTC が有効と思われる。また緩慢凍結法が closed type であるのに対し, 現在行われているガラス化法は open type であり, 液体窒素によるコンタミネーションのリスクをかかえている。OTC/OTT の場合, 腹腔内の卵巣組織を摘出し, 切片処理後, 液体窒素タンク内で凍結保存する。移植時には融解した卵巣組織切片を直接, 腹腔内の卵巣断端や腹膜ポケットに移植する。したがって, 2023 年 6 月見学时, Düsseldorf の UniCareD ではすでに実施されていたが, 日本においてもクリーンルームのクリーンベンチ内で ART の卵子や受精卵を扱う以上に厳格に卵巣組織を処理す

る必要がある。

2) OTT: 今回の主題である OTT について詳細に記す。
(1) 適応: 世界では 80% 以上は卵巣機能不全 (POI) 患者に, 残りは月経不順かつ IVF 不成功例に行われている¹⁻²⁵⁾. OTT の実施年齢の上限に関して, 周産期予後を考慮し, 45 歳未満が望ましい。

(2) 移植部位と移植組織量: 多くの妊娠出産例が正所移植であることにより, 残存卵巣断端の髓質部分あるいは卵巣近辺の腹膜ポケットに移植されている。FertiPROTEKT では 87.5% が腹膜ポケットに, 4.5% が卵巣組織断端に, 8.1% が両方に移植し, 約 25% の生産率を報告している³²⁾. 他の国 (デンマーク, イスラエル, オランダ, オーストラリア, 米国)^{3, 5, 13, 17-19, 22-25)} では残存卵巣断端髓質部分に移植することが多い。OTC/OTT のパイオニアである Donnez J & Dolmans MM (2021)³³⁾ は原則, 腹腔内に卵巣が残っていれば卵巣断端に, 残っていなければ腹膜ポケットに移植している。腹膜ポケットへの移植は容易で短時間で済むが, 卵巣組織断端への移植は経験と技術が必要で, 時間を要する。しかし, Sherman Silber^{17,18)} は全例, ミニ開腹で顕微鏡下に卵巣組織断端に移植している。すべて自然妊娠であり, 出産率が高いことにより学ぶべき点が多いと思われる。異所性移植による妊娠出産は Stern CJ et al.²⁰⁾ と Tammiste T. et al.²¹⁾ の 2 例のみである。移植部位に関して前腕への移植などの報告もあったが, 妊娠には至らず, 温度と組織圧と血流の関係により腹部が望ましいと考える。融解から移植までの培養士と術者の時間調整や移植術者の経験による技術力と時間が妊娠出産を左右しているようである。卵巣組織切片の生存原始卵胞密度を考慮し, 移植時間をできるだけ短時間に, 手際よく, 血流の豊かな場所に移植することが妊娠成功のポイントになる。

片側の卵巣を摘出した場合, 年齢や卵巣予備能力にもよるが, 多くは 1 回目の OTT で凍結総量の 1/3 ~ 1/2 を移植, 不成功の場合 2 ~ 3 回目の OTT に備えるのが一般的である¹⁾. 移植時にその後の自然妊娠を考慮して, 卵管疎通性検査が必須となる。同時期に partner の精液検査も行い, OTT 後, 自然妊娠を試みるのか? それとも ART に進むか? の方針を決めることも肝要である。もちろん異所性移植の場合は初めから ART が必須である。

(3) 移植後の卵巣機能: OTT した患者の ART 成績は総じて一般 ART の成績に比較して悪く, AMH や FSH 値から推測した OTT 患者の生殖機能は, たとえ卵巣凍結時の年齢が若くてもおよそ 42 歳以上の女性と同等と考察されている³⁴⁾.

3) 化学療法と放射線療法：血液造血器疾患の場合にみられるが、すでに低 / 中間リスクの化学療法を開始している場合、年齢が若く、卵巣予備能力がある程度保たれている場合は OTC の適応となる^{1,25,35}。POI になる確率が 70% 以上の高リスク化学療法が予定される場合には若い患者でも化学療法前に OTC となる。子宮への放射線療法 > 25 Gy の場合には、OTT 後の生産率が低い¹。事前に OTC の段階で適応を考慮することが必要となる。

4) MRD 検索：OTT 前の検査は悪性腫瘍が卵巣に転移するリスク(高・中・低)に応じて対応する^{1,23,36}。高リスク群(白血病)の場合、画像検査・腫瘍マーカー、免疫組織染色も含めた病理組織学的検査、PCR, in situ hybridization, SCID マウスなどへの異種移植による安全性の検証を経たのちに妊娠に至った例も報告されている^{23,24}。今後は原始卵胞の完全体外培養や人工卵巣の実用化が期待される。

5) OTT 後の Follow up (妊娠までのゴールデンタイム)：OTT 後 5 か月で卵巣機能が回復し、月経発来、FSH 低下、E2 上昇、卵胞発育がみられる³⁸。妊娠出産報告をみると、OTT 後 6 ~ 18 か月目に妊娠することが多い^{1-5,10,23,37,38,40}。Dolmans MM et al. の 20 例以上 OTT 経験のある、5 施設共同研究では約 70% が自然妊娠、約 30% が ART 妊娠であり、Silber S. et al.^{17,18} に至っては 13 人の女性から 19 人出産し、すべて自然妊娠である。卵管疎通性があり、精液所見が正常であれば、目安として OTT から 6 ~ 12 か月はモニタリングして自然妊娠を心がけ、それでも妊娠しない場合は ART を考慮する。もちろん、卵管閉塞や男性因子を認める場合には初めから ART をめざす。

OTT 前の卵巣予備能力検査や月経・排卵の有無ならびに OTT 後の定期的な月経、排卵、卵胞発育、ホルモン動態を観察することにより、移植した卵巣組織切片からの卵子なのか、それとも残存している卵巣組織からの卵子なのかを 100% とは言い切れないまでも、限りなく説得力のある証明が可能であろう^{1-3,25}。

6) 妊娠出産：20 例以上 OTT 経験のある 5 施設の 285 女性への OTT 成績 (2021) は患者当たり 38% (106/285) の妊娠率、26% (75/285) の生産率であった^{1,25}。FertiPROTEKT の 4 °C、保存液を用いて Overnight で搬送した患者当たりの生産率は 43.3% (13/30) と良好で、搬送による施設の集約化の有効性を裏付ける結果であった¹⁰。

7) 集約化と費用対効果^{5,10,25,38,39}

OTC は小児がん患者ならびに緊急性を有する 35 歳未満の悪性腫瘍患者が適応となる。そうした場合、30 年以上継続できる施設であることが求められる。必要な医療機器、液体窒素タンクの安全管理、凍結物の引継ぎ、クリーンルームの維持、人件費を含めると 30 年間で 1 凍結保存施設あたり 5 ~ 10 億円を要する³⁹。さらに継続的な人材確保・教育・モチベーションの維持向上ならびに自然災害への配慮が不可欠である。日本での OTC 件数は最大 400 件と推測されている²⁷。人口も国土面積も同じくらいの FertiPROTEKT では Transportation system を活用し、1 年に最大 400 件の OTC を 2 ~ 3 施設で行っている²⁵。また OTT に関しても件数が多い施設ほど、妊娠成績が良いことがわかってきており⁴⁰、数か所に絞って OTC/OTT を行うことにより、さらに質を高め、世界トップの妊娠出産成績をさらに高めようと努めている。デンマークや FertiPROTEKT の集約化は費用対効果の面からも日本の良いお手本になると考える²⁵。

8) 液体窒素タンクの安全管理^{25,41}：2018 年サンフランシスコ、クリーブランド、トロントで、その後、ドイツでも液体窒素タンクの不適切な管理により、凍結していた多くの卵子・受精卵・精子を損失した。今後、液体窒素タンクや凍結物の安全管理に関するガイドラインや法律により痛ましい事故が起こらないように規制すべきである。定期的な液体窒素量の測定や液体窒素の補充、早期に異常を感知(温度・重量、水位)し、継続的に対応するシステムの確立が不可欠である。液体窒素タンクの長期にわたる安全管理が不可欠である。事故を起こして多大な損失をもたらした米国、カナダ・ドイツでは法律で規制している。日本においても大きな事故が起きる前にガイドラインや法律で規制し、未然に悲惨な事故を防ぐべきである。

9) 卵巣組織ガラス化法を世界へ発信：日本では学会報告を見る限り、全国で合計 400 件程度の OTC (主にガラス化法)²⁷、30 件程度の OTT (約 20% 以下が POI、約 50% は月経周期整、約 30% が月経周期不整) が行われ、数例の出産例が報告されている^{28,29}。

高濃度の凍結保護剤による卵胞と皮質、卵胞内の卵子と顆粒膜細胞の剥離⁴²や融解・延長培養後⁴³の移植による妊娠・出産成績の検証、液体窒素内でのコンタミネーション対策、移植した卵巣組織の卵子による妊娠出産であることの検証、母児の安全性を克服することができれば、卵巣組織のガラス化法は世界の人々に認められるであろう。

10) 日本の課題：日本の人口は現在1億2700万人であるが、1973年には200万人以上だった出生数が2022年には80万人を割り、少子高齢化が顕著である。日本の人口ピラミッドで2035年と2020年を比較すると、どの生殖年齢でも1年あたり10～12万人、15～18%程度減少する。すなわち急激に生産世代が減少していると言える⁴⁴⁾。つまりOTC/OTTの適応となる15歳未満の小児がんや15～35歳のAYAがん患者も減少する。同時に医師（腫瘍専門医・生殖医療専門医）・看護師・培養士・カウンセラーも減少する。2023年9月1日現在、がん診療連携拠点病院は408施設登録されている。日本産科婦人科学会に卵巣凍結実施施設として登録しているのは49施設（OTC実施報告があるのは22施設、OTCを30例以上実施している施設は当院も含め5施設）である。がん診療連携拠点病院において原疾患治療から卵巣組織凍結まですべて実施でき、かつこれまでに30例以上OTCを実施した施設は4施設あり、関東・関西の主要都市に偏在している（図1）。

多くのがん診療連携拠点病院には卵巣組織凍結の設備もなく、凍結専門の培養士もおらず、OTCができない状態にある。この現状より、OTCとOTTは少数のセンターで行い、がん治療施設（卵巣摘出可能と卵巣摘出不可の施設あり）や内視鏡施設（卵巣組織摘出/卵巣組織移植）と互いの専門性を活かし協力し合うことで解決可能である（図2）。現場に即したガイドラインにそって患者情報を共有し、全国の医療施設で妊娠出産ならびに妊娠できなかった患者のケア、移植後の長期 Follow

することが必要と考える。

今後、人口や面積がほぼ同じサイズの FertiPROTEKT を見習って凍結保存センターや移植センターを集約化し（1年間に2～3施設で400例のOTCが可能で妊娠率も高い）、Qualityと効率の向上に努めるべきである。最小限の労力で最大限の効果を挙げること、つまり”The woman stays, the tissue moves.”が Key point^{25,39)}である。

まとめ

2012年に日本がん・生殖医療研究会（現学会）が設立され、47都道府県でのがん・生殖医療ネットワークの整備が始まった。2017年には日本癌治療学会が「小児、思春期・若年がん患者の妊孕性温存に関する診療ガイドライン」を導入し、2021年には国による小児・AYA世代のがん患者等の妊孕性温存療法研究促進事業（がんと生殖の有効性と安全性の検証と経済的支援）が始まり、国内整備も進んでいるように見える。日本がん・生殖医療学会、日本がん治療学会、日本生殖医学会、日本産科婦人科学会、日本卵子学会、日本IVF学会、日本受精着床学会がESHREのように実際のOTC/OTTを実施するための具体的なガイドライン（凍結方法、移植方法、移植部位、移植した卵巣組織切片からの卵子による妊娠の証明など）を作成し、悪性腫瘍患者や医療関係者に明確に示すことが必要と考える。2023年3月13日に立ちあげた一般社団法人 卵巣組織凍結を普及する会

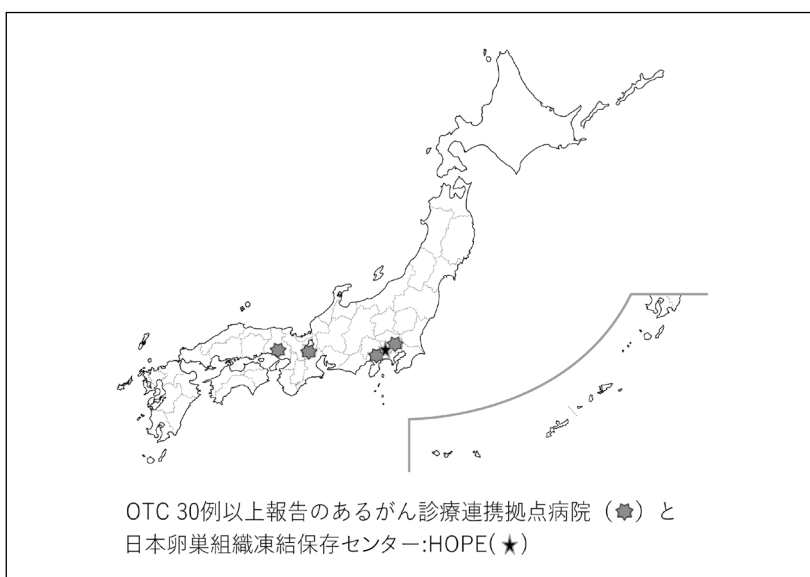


図1 30例以上のOTC報告があるがん診療連携拠点病院と卵巣組織凍結保存センター (HOPE)

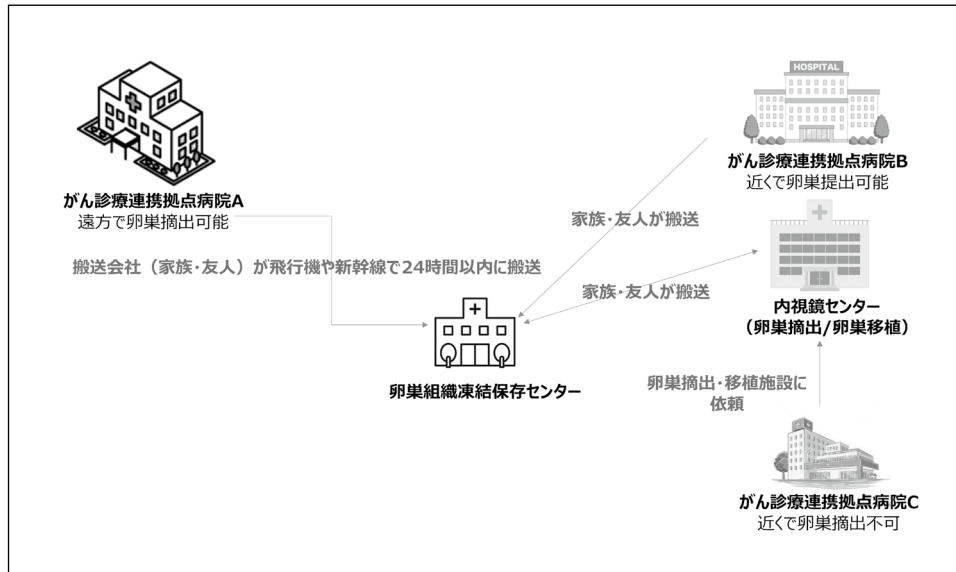


図2 がん診療連携拠点病院と卵巣組織凍結保存センターと内視鏡施設との連携

を通じて、日本においても卵巣組織凍結・移植の有用性を啓発していきたい。

(謝辞) 日本卵巣組織凍結保存センター (HOPE) スタッフや一般社団法人 卵巣組織凍結を普及する会の理事の方々、OTC/OTT に協力して下さったすべての皆様に心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Dolmans MM, von Wolff M, Poirot C, Diaz-Garcia C, Cacciottola L, Boissel N, Liebenthron J, Pellicer A, Donnez J, Andersen CY: Transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a series of 285 women: a review of five leading European centers. *Fertil Steril*, 115: 1102-1115, 2021.
- 2) Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Martinez-Madrid B, van Langendonck A: Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*, 364: 1405-1410, 2004.
- 3) Meirow D, Levron J, Eldar-Geva T, Hardan I, Fridman E, Zalel Y, Schiff E, Dor J: Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N Engl J Med*, 353: 318-321, 2005.
- 4) Demeestere I, Simon P, Emiliani S, Delbaere A, Englert Y: Fertility preservation: successful transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a young patient previously treated for Hodgkin's disease. *Oncologist*, 12: 318-321, 2007.
- 5) Andersen CY, Rosendahl M, Byskov AG, Loft A, Ottosen C, Dueholm M, Schmidt KL, Andersen AN, Ernst E: Two successful pregnancies following autotransplantation of frozen/thawed ovarian tissue. *Hum Reprod*, 23: 2266-2272, 2008.
- 6) Piver P, Amiot C, Agnani G, Pech J, Rohrlich PS, Vidal E, Aubard Y, Roux C: Two pregnancies obtained after a new technique of autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Hum Reprod*, 24: i15, 2009.
- 7) Roux C, Amiot C, Agnani G, Aubard Y, Rohrlich P-S, Piver P: Live birth after ovarian tissue autograft in a patient with sickle cell disease treated by allogeneic bone marrow transplantation. *Fertil Steril*, 93: 2413e15-9, 2010.
- 8) Sancez-Serrano M, Crespo, J, Mirabet V, Cobo AC, Escriba MJ, Simon C, Pellicer A: Twins born after transplantation of ovarian cortical tissue and oocyte vitrification. *Fertil Steril*, 93: 268. e1-e13, 2010.
- 9) Dittrich R., Lotz L, Keck G, Hoffmann I, Mueller A, Beckmann M, van der Ven H: Live birth after ovarian tissue autotransplantation following overnight transportation before cryopreservation. *Fertil Steril*, 97: 387-390, 2012.
- 10) Liebenthron J, Montag M, Reinsberg J, Köster M, Isachenko V, van der Ven K, van der Ven H, Krüssel JS, von Wolff M: Overnight ovarian tissue transportation for centralized cryobanking: a feasible option. *Reprod Biomed Online*, 38: 740-749, 2019.
- 11) Imbert, R, Moffa, F, Tsepelidis S, Simon P, Delbaere A, Devreker F, Dechene J, Ferster A, Veys I, Fastrez M, Englert Y, Demeestere I: Safety and usefulness of cryopreservation of ovarian tissue to preserve fertility: a 12-year retrospective analysis. *Hum Reprod*, 29: 1931-1940, 2014.
- 12) Matthews SJ, Picton H, Ernst E, Andersen CY: Successful pregnancy in a woman previously suffering from β -thalassemia following transplantation of ovarian tissue

- cryopreserved before puberty. *Minerva Ginecol.* 70: 432-435, 2018.
- 13) Hoekman E.J, Louwe L.A, Rooijers M, van der Westerlaken L, Klijn N.F, Pilgram de Kroon C.D, Hilders C: Ovarian tissue cryopreservation: Low usage rates and high-birth rate after transplantation. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 99: 213-221, 2020.
 - 14) Tanbo T, Greggains G, Storeng R, Busund B, Langebrekke A, Fedorsak P: Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue after treatment for malignant disease-the first Norwegian results. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 94: 937-41, 2015.
 - 15) Sonmezer M, Ozkavukcu S, Sukur YE, Kankaya D, Arslan O: First pregnancy and live birth in Turkey following frozen-thawed ovarian tissue transplantation in a patient with acute lymphoblastic leukemia who underwent cord blood transplantation. *J Assist Reprod Genet*, 37: 2033-43, 2020.
 - 16) Rodriguez-Wallberg KA, Karlstr PO, Rezapour M, Castellanos E, Hreinsson J, Rasmussen C, Sheikhi M, Ouvrier B, Bozoky B, Olofsson JI, Lundqvist M, Hovatta O: Full-term newborn after repeated ovarian tissue transplants in a patient treated for Ewing sarcoma by sterilizing pelvic irradiation and chemotherapy. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 94: 324-328, 2015.
 - 17) Silber S.J, DeRosa M, Goldsmith S, Fan Y, Castleman L, Melnick J: Cryopreservation and transplantation of ovarian tissue: results from one center in the USA. *J Assist Reprod Genet*, 35: 2205-2213, 2018.
 - 18) Silber S.J, Goldsmith S, Castleman L, Hurlbut K, Fan Y, Melnick J, Hayashi K: In-vitro maturation and transplantation of cryopreserved ovary tissue: understanding ovarian longevity. *Reprod Biomed Online*, 44: 504-514, 2022.
 - 19) Oktay K, Marin L, Bedoschi G, Pacheco F, Sugishita Y, Kawahara T, Acosta C, Bang H: Ovarian transplantation with robotic surgery and a neovascularizing human extracellular matrix scaffold: a case series in comparison to meta-analytic data. *Fertil Steril*, 117: 181-191, 2022.
 - 20) Stern CJ, Gook D, Hale LG, Agresta F, Oldham J, Rozen G, Jobling T: First reported clinical pregnancy following heterotopic grafting of cryopreserved ovarian tissue in a woman after a bilateral oophorectomy. *Hum Reprod*, 28: 2996-2999, 2013.
 - 21) Tammiste T, Kask K, Padrik P, Idla K, Rosenstein K, Jastenko T, Veerus P, Salmuts A: A case report and follow-up of the first live birth after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue in Eastern Europe. *BMC Women's Health*, 19: 65, 1-8, 2019.
 - 22) Rosen G, Avagliano S, Agresta F, Gook D, Polyakov A, Stern C: Ovarian tissue grafting: Lessons learnt from our experience with 55 grafts. *Reprod Med Biol*, 20: 277-288, 2021.
 - 23) Meirou D, Ra'anani H, Shapira M, Brenghausen M, Chaim SD, Aviel-Ronen S, Amariglio N, Schiff E, Orvieto R, Dor J: Transplantations of frozen-thawed ovarian tissue demonstrate high reproductive performance and the need to revise restrictive criteria. *Fertil Steril*, 106: 467-474, 2016.
 - 24) Shapira M, Raanami H, Barshack I, Amariglio N, Derech-Haim S, Marciano MN, Schiff E, Orvieto R, Meirou D: First delivery in a leukemia survivor after transplantation of cryopreserved ovarian tissue, evaluated for leukemia cells contamination. *Fertil Steril*, 109: 48-53, 2018.
 - 25) 京野廣一・竹重勇哉・越智将航・中村祐介・中館雛姫・宮本若葉・奥山紀之・石井実佳・服部裕充・熊谷仁・小泉雅江・戸屋真由美・五十嵐秀樹・吉永光希・橋本朋子：エビデンスに基づいた卵巣組織凍結（OTC）／融解卵巣組織移植（OTT）：先進国欧州から学ぶ。日受精着床会誌，39: 199-208, 2022.
 - 26) ESHRE Guideline Group on Fertility Preservation: ESHRE guideline: female fertility preservation. *Hum Reprod Open*, 2020: hoaa052, 2020.
 - 27) 高江正道・鈴木直：厚生労働省こども・子育て支援推進調査研究事業 若年がん患者に対するがん・生殖医療（妊孕性温存治療）の有効性に関する調査研究。平成28年度総括・分担研究報告書（研究代表者 鈴木直），25-34, 565-566, 2017.
 - 28) 洞下由紀，岩端秀之，橋場萌香，出田莉央，松山夏美，中嶋真理子，古山紗世子，伊藤香，中村健太郎，鈴木由紀，杉下陽堂，高江正道，鈴木直：妊孕性温存療法における卵巣組織移植後の採卵成績。第41回日本受精着床学会誌，O-39, 146, 2023.
 - 29) 原鐵見：悪性リンパ腫で，ガラス化法による凍結卵巣組織移植後に妊娠・出産となった1例。日本IVF学会雑誌，25（2）:50, 2022.
 - 30) Demeestere I, Simon P, Dedeken L, Moffa F, Tsepedidis S, Brachet C, Delbaere A, Devereker F, Ferster A: Live birth after autograft of ovarian tissue cryopreserved during childhood. *Hum Reprod*, 30: 2107-2109, 2015.
 - 31) Rodriguez-Wallberg KA, Milenkovic M, Papaikononou K, Keros V, Gustafsson B, Sergouniotis F, Wikander I, Perot R, Borgstrom B, Ljungman P, Barbany G: Successful pregnancies after transplantation of ovarian tissue retrieved and cryopreserved at time of childhood acute lymphoblastic leukemia- a case report. *Haematologica*, 106: 2763-2787, 2021.
 - 32) FertiPROTEKT-Grafische Darstellung der Erfolgsraten Lokalität der Transplantate(%) 2007-2020. Vorstandssitzung, 25. 05. 2023.
 - 33) Donnez J & Dolmans MM: Fertility Preservation in women. Where we are in 2021 ? Techniques and results. 9th HOPE conference: Tokyo Webinar on March 25th, 2021.
 - 34) 北島道夫・増崎英明：卵巣組織移植に関する現状（同所性・異所性）：卵巣組織凍結・移植。鈴木直編，新しい妊孕性温存療法の実践，pp78-86, 医歯薬出版，2013.
 - 35) Devos M, Vidal PD, Bouziotis J, Anckaert E, Dolmans MM, Demeestere I: Impact of first chemotherapy exposure on follicle activation and survival in human cryopreserved ovarian tissue. *Hum Reprod*, 38: 408-420, 2023.
 - 36) Kyono K, Doshida M, Toya M, Sato Y, Akahira J, Sasano H: Potential indications for ovarian autotransplantation based on the analysis of 5,571 autopsy findings of females under the age of 40 in Japan. *Fertil Steril*, 93: 2429-2430, 2010.
 - 37) Von Wolff M, Germeyer A, Liebenthron J, Korell M, Nawroth F: Practical recommendations for fertility preservation in women by the FertiPROTEKT network. Part II: fertility preservation techniques. *Arch Gynecol*

Obstet, 297: 257-267, 2018.

- 38) Silber S, Kagawa N, Kuwayama M, Gosden R: Duration of fertility after fresh and frozen ovary transplantation. *Fertil Steril*, 94: 2191-6, 2010.
- 39) Kyono K, Hashimoto T, Toya M, Koizumi M, Sasaki C, Shibasaki S, Aono N, Nakamura Y, Obata R, Okuyama N, Ogura Y, Igarashi H: A transportation network for human ovarian tissue is indispensable to success for fertility preservation. *J Assist Reprod Genet*, 34: 1469-1474, 2017.
- 40) Lotz L, Bender-Liebenthrun J, Dittrich R, Haberle L, Beckmann MW, Germeyer A, Korell M, Sanger N, Krussel JS, von Wolff M: FertiPROTEKT (Transplantation group). *Hum Reprod*, 37: 2787-2796, 2022.
- 41) 京野廣一・青野展也・橋本朋子：卵巣組織凍結における長期保管体制。鈴木直編，新版 卵巣組織凍結・移植 新しい妊孕性温存療法の実践，pp251-259, 医歯薬出版，2021.
- 42) Kawai T, Shimada M: Pretreatment of ovaries with collagenase before vitrification keeps the ovarian reserve by maintaining cell-cell adhesion integrity in ovarian follicles. *Sci Rep*, 10: 6841, 2020.
- 43) 杉下陽堂・孟令博・鈴木由紀・上川篤志・鈴木直：小児・AYA世代がん患者に対する卵巣組織凍結・融解卵巣移植に要する至適時間の検討. *日本がん・生殖医療学会誌*. 6: 113, 2023.
- 44) 木村文則：プレコンセプションケア－生殖医療と周産期医療の架け橋－*日産婦誌*, 教育講演 3. 861-866, 2023.

卵巣組織凍結と融解移植の現状と課題

Ovarian Tissue Freezing and Thawing, Transplantation: Current Status and Issues

原 鐵晃

Tetsuaki Hara

県立広島病院生殖医療科・ゲノム診療科 〒734-8530 広島市南区宇品神田1-5-54
広島中央通り香月産婦人科 〒730-0029 広島市中区三川町7-1 香月メディカルビル5-8F
Hiroshima Prefectural Hospital, Division of Reproductive Medicine and Medical Genetics
Hirosima Chuo-Dori Katsuki Ladies Clinic

要旨： 2020年だけでも、世界中で0-39歳の90万人の女性が新しくがんと診断された。がん治療の進歩とともに生存率の向上のみでなく、妊孕性を含む生存中のQOLが重視されてきた。妊孕性温存のために、卵子、胚、卵巣組織が凍結されるが、個々の患者にどの方法が最適か不明である。卵巣組織凍結は、思春期前の少女に対して適応できる唯一の方法である。卵巣組織凍結による最初の出産例は、2004年、J Donnezらが報告し、以来、多くの研究が報告された。ASRMは卵巣組織凍結はすでに研究的方法ではないとしたが、ESHREは、卵子と胚凍結のみが妊孕性温存の確立された方法とし、開発途上の方法としている。最新のレビューによると、世界中でこれまで、184名が妊娠し、189人の生児が誕生、凍結卵巣組織による生児獲得率は28%であった。卵巣組織採取、凍結、原疾患治療後の融解移植の現状と課題についてまとめた。

キーワード： 卵巣組織凍結、卵巣組織移植、生児獲得率、卵巣機能、症例選択基準

ランニングヘッド： 凍結卵巣組織移植の現状

英文要旨： In 2020 alone, 900,000 women aged 0–39 years were newly diagnosed with cancer worldwide. With advances in cancer treatment, emphasis has been placed not only on improving survival rates but also on quality of life during survival, including fertility. Ova, embryos, and ovarian tissue are frozen to preserve fertility; however, determining the best method among these for individual patients remains challenging. Ovarian tissue freezing is the only method that can be adapted for prepubertal girls. The first case of delivery after ovarian tissue freezing was reported by Donnez et al. in 2004; many such cases have been reported since then. The American Society for Reproductive Medicine (ASRM) guideline states that ovarian tissue freezing is not already an investigational method as yet; whereas, the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) guidelines states that only egg and embryo freezing are established and developing methods for fertility preservation. According to a latest review, globally, 184 pregnancies and 189 live births have occurred with the help of ovarian tissue freezing to date, and the live birth rate with frozen ovarian tissue is reported to be 28%. This review summarizes the current status and challenges of ovarian tissue collection, freezing, thawing, and transplantation after treating the underlying disease.

キーワード： ovarian tissue freezing, ovarian tissue transplantation, live birth rate, ovarian function, patient selection criteria

1. はじめに

がんと診断される小児・AYA世代女性の数は世界的に増加しており、2020年だけでも、0-39歳（小児+AYA世代）の90万人の女性が世界中で新しくがんと診断され

た（WHO 2021）¹⁾。担がん女性の妊孕性は、すべてのがん腫で低下しており²⁾、特に性腺毒性のある抗がん治療はこれらの女性の妊孕性に深刻な影響を与える。化学療法後の妊孕性を温存するために、化学療法開始前に卵子、胚、卵巣組織が凍結されるが、妊孕性温存（以下、

FP) 後の長期予後に関する研究は十分でなく、個々の患者にどの方法が最適かは明らかではない。卵巣組織凍結は、思春期前の少女に対して適応できる唯一の方法である。凍結卵巣組織移植(以下、OTT)による世界で初めての生児獲得の報告は、2004年、J Donnezら³⁾が、25歳のホジキンリンパ腫の患者に対して化学療法開始前に卵巣組織凍結(以下、OTC)を行い、治療を終了した6年後に卵巣組織片移植を腹膜下に行った症例である。以来、多くの報告がなされ、2019 ASRM committee 報告⁴⁾ではOTCはすでに研究的方法ではないとされたが、ESHRE ガイドライン⁵⁾は、卵子と胚凍結のみが妊孕性温存の確立された方法とし、OTC、OTTは方法、成績について不明な点が多く、いまだ開発途上の方法としている。

最新のレビュー⁶⁾によると、世界中でOTTを受けた547名の女性の予後は、184名が妊娠し、189人の生児が誕生、凍結卵巣組織による生児獲得率は28%であった。卵巣組織移植には、新鮮卵巣組織移植もあるが、ここではFPで主に用いられる凍結卵巣組織移植を中心に記述する。

2. 卵巣組織凍結(OTC)と卵巣組織移植(OTT)の方法

1) OTC 時の年齢

最新のレビュー⁶⁾によると、88.7%が凍結時35歳以下で卵巣組織を採取され、35歳以下で卵巣組織を凍結されると、妊娠率が有意に高く(Odds Ratio: 0.35; 95% CI: 0.13-0.92)、術後FSHが有意に低下した(MD: 4.38; 95% CI: -4.29 to 13)。

2) がんの種類

OTTが行われた頻度の高い5つのがんは、乳がん、子宮頸がん、非ホジキンリンパ腫、卵巣がん、鎌状赤血球貧血の順であった⁶⁾。子宮頸がん女性に生児獲得はなかった。

3) OTC 前の化学療法について

OTCは化学療法前に原則行われるが、OTC前の化学療法が凍結卵巣機能に与える影響は、カウンセリング時に重要な問題となる。急性白血病では、OTC前に化学療法が行われていることも多い。Poirot Cら⁷⁾によると、OTTを受けた31名の患者の卵巣機能の回復と妊孕性を評価した。22名(71%)がOTC前に化学療法を受けており、OTT後3年間の累積妊娠率は36%で、化学療法有群は49%であり、化学療法の有無で差はなく、以前の化学療法は、移植後の卵巣組織機能を低下させないとした。一方、卵巣機能回復は卵巣凍結前にアルキル化剤を受けた患者で低かったとしている。最新のレビュー⁶⁾でも、OTTを行った46%(56/122)がOTC前

に抗がん治療を受けており、35回の妊娠と24人の生児が報告されている。ただし、生児を得た患者の原疾患は限られており、11例がホジキンリンパ腫、5例が非ホジキンリンパ腫、1例が顕微鏡的多発性血管炎、1例が急性骨髄性白血病(AML)、そして1例がウィルムス腫瘍であった。OTC前に化学療法を受けた患者の、凍結時平均年齢は29歳(SA: 6)であった。また、凍結前に抗がん剤治療を受けていない群で、FSHの減少、E2の上昇、妊娠率の上昇を認めた。以上の報告より、がん化学療法が行われていても、OTCをためらう必要はないが、がん腫ごと、化学療法ごとに個別対応が必要で、今後の症例集積が待たれる。

OTC前の卵巣機能評価としてAMHが測定されるが、AMHは非化学療法群においてのみ原始卵胞密度と相関する⁸⁾。化学療法は原始卵胞より一次および二次卵胞に有意な影響を与え、AMHは化学療法後の原始卵胞数を反映するとは限らず、AMHの値のみから卵巣予備力を判断することは危険である。

4) OTC 前に調節卵巣刺激(COH)は可能か?

OTC前のCOHは推薦されていないが、刺激群、非刺激群いずれの群でも外科的合併症は起きなかった⁹⁾。得られた成熟卵子数はCOH群で増え(平均=8.5(25%=5.3-75%=12))、非COH群では(2.0(1.0-5.3))、 $P<0.001$ であった。刺激により卵巣の半数でうっ血を認めたが、融解後の病理学的所見は両群同等で、融解卵巣組織における卵子のアポトーシス率は両群で差はなく、COH後でも片側卵巣摘出は可能としている。

5) OTC を行う症例選択基準、特に若年者について

OTCの適応基準は、現在、エディンバラ基準^{10,11)}のみである(表1)。エディンバラ基準は将来のPOIリスクのある患者を選別できる点で優れているが、思春期前の患者への有効性に関するデータがほとんどないため、思春期前患者にはそのまま適応できない可能性がある¹²⁾。高江ら¹³⁾は、中央値12歳、範囲1-17歳の患者を対象にしたデータから、将来のPOIのリスクのみでなく、卵巣、子宮、骨盤内の状態、心理面も考慮した日本の現状に合う改訂基準を提案している。

6) 適切な移植卵巣組織量および移植切片数について

内分泌学的に機能する移植卵巣組織の最適量は分かっていない。Diaz AA¹⁴⁾は、これまでの報告をまとめ、卵巣組織は細長い片(62%)、正方形(25.8%)、断片(31%)に処理されており、妊娠率は、細長い片、正方形、断片でそれぞれ、81.3%、45.5%、66.7%で、生児獲得率は、56.3%、18.2%、66.7%であった。一方、Khattak Hら⁶⁾は、これまで、移植される卵巣組織量の表現が、体積、切片数、断片数など様々であるため、至

表1 エディンバラ選択基準¹¹⁾

- 35歳未満
- 診断時に15歳以上の患者については化学療法・放射線治療の既往がない、15歳未満では、性腺毒性のない軽度の (mild, non-gonadotoxic) 化学量療法は容認される
- 現実的に5年以上生存が見込める
- 早発性卵巣機能低下をきたすリスクが高い (> 50%)
- 両親と、可能であれば本人の同意が得られている
- HIV、梅毒、HBV陰性
- 妊娠しておらず、現在子供がいない

適組織量を評価することは不可能としている。今後は記載法を統一することが定量評価に重要となる。

7) 緩慢凍結法とガラス化法

これまでのOTT後の生児の報告は、大部分が緩慢凍結法によるものである。最近、ガラス化法による成績も報告され始めたが、少数であり両者の比較は難しい最新のレビュー⁶⁾によると、メタ解析では、緩慢凍結法での累積妊娠率は37%で、ガラス化法は44%であった。

基礎研究も進められており、2023年のBehl S¹⁵⁾らのレビューによると、(1) 損傷を受けていない間質細胞の割合は、緩慢凍結法と比較してガラス化法で多かった。(2) 損傷を受けていない原始卵胞の割合、DNAフラグメンテーションの割合、平均原始卵胞密度に関して2つの方法で差はなかった。間質細胞の活性 (viability) の差により、ガラス化法は組織構築を保存するより適した方法の可能性があるとされているが、患者や治療法に由来する不均一を少なくした比較検討が行われるべきとしている。

8) 施設内凍結かセンター凍結か、組織の移送について

すべてのがん治療施設もしくは生殖医療施設にOTCとOTT設備を実装することは不可能なためネットワーク化と、組織移送が重要となる。Vilela JMV¹⁶⁾らは、多くの動物種における卵巣組織移送の研究から、虚血損傷を最小限度にするため4℃での移送がよいとし、今後はヒトでの研究と卵巣組織移送ガイドライン作成が重要と提言している。また、凍結卵巣組織に生存している卵胞数は品質保証として重要であるが、卵巣組織内の卵胞生存率は、ニュートラルレッド色素を用いて組織学的に計算できる¹⁷⁾。凍結卵巣組織の卵胞生存率は高く、液体窒素保存は組織の生存に影響を与えず卵胞生存率と保存期間に相関はなかった。この方法は、その施設のプログラムの有効性と品質保証を評価する方法となりうる。

9) 卵巣採取の術式と移植部位

卵巣組織採取は95%が腹腔鏡で、5%が開腹であった⁶⁾。移植部位としては、遺残卵巣(同所移植)、骨盤・

腹膜(異所移植)、遺残卵巣と骨盤腹膜の2ヶ所移植、その他の部位移植があり、同所移植が40%、異所移植42%、その他18%であった。いずれも同程度の妊娠率、生児獲得率で、卵巣機能は、移植部位にかかわらず同程度改善していた。

10) 手術のリスク

OTCとOTTともに、婦人科開腹および腹腔鏡に関連する以外の、卵巣組織採取および移植に関連する特別な合併症は認めなかった⁶⁾。Fertiprotektも卵巣移植に関連した合併症は指摘していない¹⁸⁾。

11) 卵巣移植に引き続くがんリスク

最新のレビュー⁶⁾によると、移植卵巣片からの腫瘍を2症例認めている。帝王切開時にGranulosa cell tumourの再発例と、もう1例は、Ewing肉腫で化学療法を受ける前にOTCを受け、移植でovarian mucinous cystadenomaとなった例である。これは、これまでに移植された卵巣組織における報告であり、移植されていない卵巣組織に悪性細胞が潜んでいないことを意味しない。最近の報告でも、高江らの¹³⁾は、OTCを受けた31名のうち、白血病の一名(3.2%)は摘出卵巣に悪性細胞を認めたとしている。どのような原疾患で凍結された卵巣組織を移植できるかは、引き続き将来にむけての重要な課題である。詳細は他書を参照いただきたい^{19,20)}。

3. OTT後の妊娠、生児獲得、流産、卵巣機能および月経の状態

1) 妊娠

これまでOTT後に、少なくとも184名の女性が1回の妊娠を経験している⁶⁾。凍結片移植では、174名の女性が妊娠し、妊娠率は37%(95% CI: 32-43%)で、新鮮胚移植では52%(95% CI: 28-96%)であった。何人かの女性は1回以上妊娠成立し、全体では290回の妊娠が成立している。

2) 生児獲得

少なくとも134名の女性が生児を得た⁶⁾。凍結胚での生児獲得率は28% (95% CI: 24-34%)であった。何人かの女性は一人以上の生児を得ている。OTTによる患者あたりの生児数の中央値は1 (範囲1-4)であった。症例報告を含めると34人の生児が加わり、計189人の生児が文献的に報告されている。

3) 流産

凍結時の女性の平均年齢は27.8歳 (SD: 5.8)で⁶⁾、流産率は凍結組織移植で37% (95% CI: 30-46%)であった。

4) 妊娠の方法

妊娠方法は190 (69%)の妊娠は自然妊娠で、ARTは90妊娠であった⁶⁾。

5) 内分泌環境の改善

E2

移植前E2は27.7 pg/ml (95% CI 13.0-42.3)で、移植後には増加し142.3 pg/ml (95% CI: 85.9-192.6; MD: 62.2; 95% CI: 49.2-75.2)であった⁶⁾。E2が54.5 pg/ml以上の期間の中央値は19.5週 (四分位: 14-24週; 範囲: 5-208週)であった。

FSH

移植前FSHの平均は68.4 IU/l (95% CI: 52.8-84)で、移植後には14.1 IU/l (95% CI: 10.9-17.3; MD: 61.8; CI: 57-66.6)であった⁶⁾。FSHが25 IU/l以下に減少したのは72% (135/187人)であった。

LH

移植前LHの平均は41.5 IU/l (95% CI: 32.5-50.5)で、移植後には19 IU/l (95% CI: 5.8-32.2; MD: 23.4; CI: 1.6-31.1)であった⁶⁾。LHが15 IU/l

以下に減少したのは67% (46/69人)であった。

AMH

AMHが化学療法後の原始卵胞数の指標になるかは明らかになっていない。

Sermondade Nら²¹⁾は多変量解析で、AMHと原始卵胞密度に有意な相関があり、COC数とin vitro成熟卵子数と相関し、AMHは原始卵胞貯蔵を反映しているとした。

一方、Ogino Nら⁸⁾によると、化学療法は原始卵胞より一次および二次卵胞に有意な影響を与えるため、血清AMHレベルが常に化学療法後の原始卵胞数を反映するとは限らないとしている。

最新のレビュー⁶⁾によると、AMHに関する十分なデータを報告しているものは1つしかなく、移植前に<1ng/mlであった患者でも、妊娠率は27% (19/71)としている。

6) 移植卵巣機能の再開と持続期間

OTT後72% (196/273)の患者で月経が再開したと報告されている⁶⁾。月経再開までの中央値は18週 (四分位: 14-22週; 範囲3-48週)であった。月経の再開は内分泌機能と対応している (FSHが<25 IU/lになる中央値は19週であり、LH<15 IU/lとなるのは19.5週)。この群の凍結時平均年齢は27.1歳 (SD: 6.8)であった。月経再開は卵胞発育・排卵を意味しないことには十分な注意が必要である。

7) わが国でのOTTの報告

わが国の卵巣組織凍結 (OTC) は200例を超えるが、OTT後の報告は少なく、ガラス化凍結卵巣組織をOTTした11例で4例が妊娠し、うち2例が計3回の健常児を出産したことを金森らが初めて報告した²²⁾。原疾患はすべて乳がん、妊娠率は患者あたり45.5%、生児獲得率は

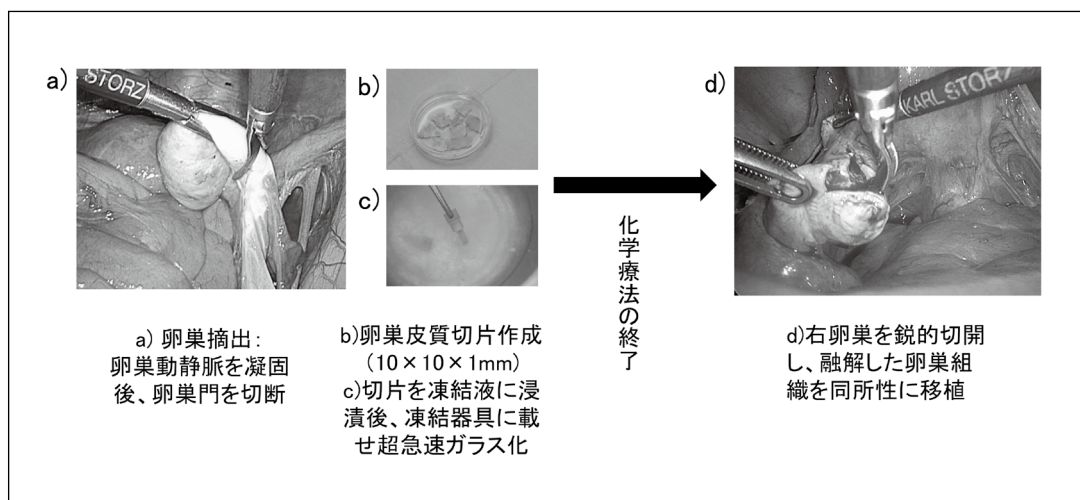


図1 卵巣組織採取とガラス化法による凍結、化学療法終了後に融解卵巣組織の同所移植

18.2%であった。最近、われわれの施設で、悪性リンパ腫化学療法前にガラス化法で OTC を行い、原疾患治療後に OTT を行い、ART により挙児獲得となった1例を、2022年の第25回日本 IVF 学会で発表した(図1)²³⁾ので抄録を参照いただきたい。

その他、2022年には、緩慢凍結法を用いた凍結卵巣組織移植を行い、化学流産となった18歳のユーイング肉腫の症例が報告²⁴⁾されている。

4. FP 全体における OTC/OTT の位置づけ

生児を得るのに最適な FP の方法は、FP を行った女性の妊娠予後がすべて分かっていないため不明で、OTC と OTT を FP のなかのどこに位置づけるか今の段階で明解なエビデンスはない。

2022年の Brid Ní Dhonnabháin B²⁵⁾の報告によると、臨床妊娠率は、卵子、胚、卵巣組織凍結でそれぞれ34.9%、49.0、43.8%、生児獲得率は25.8%、35.3%、32.3%とグループ間で差はなかった。流産率は、9.2%、16.9%、7.5%で、OTT群で胚移植群より有意に低かった。2003年、Xu Z²⁶⁾は、8%の女性のみが凍結した生殖材料を利用するため再診し(558/7037)、総計210名の生児を得たと報告した。生児のオッズは、全体でOR 0.38 (95%CI: 0.29-0.48, 12, 83.7%)、胚凍結がある女性で最も高くOR 0.45 (95%CI: 0.14-0.76, 12, 95.1%)、続いてOTC群でOR 0.37 (95%CI: 0.22-0.53, 12, 88.7%)で、卵子凍結群OR 0.31 (95%CI: 0.15-0.47, 12, 78.2%)であった。Fraisson E²⁷⁾の報告によると、女性がん生存者において、胚、卵子、OTT後に生児獲得となる可能性は、凍結胚で41% (95% CI: 34-48)、ガラス化卵子では32% (95% CI: 26-39)であった。OTT後のIVFと自然妊娠の生児獲得率は、21% (95% CI: 15-26)と33% (95% CI: 25-42)であった。いずれの文献も対象が不均一性なため、各技術の比較は困難である。今後、FP後のリターン率が重要となり、長期間の経過観察が必要となる。

5. おわりに —OTC/OTTの今後の方向性—

OTCとそれに続く自家移植はがん患者のFPのための有効な技術である。しかし、組織片にはがん細胞が含まれ、がんを再移入する可能性があることがOTTの選択の幅を狭めている。この問題を回避するため、いくつかの実験的な戦略が追求されている²⁸⁾。(1)卵子のIVM、(2)前胞状卵胞を再移植するための足場としての人工卵巣の作成、(3)含まれる悪性細胞の撲滅を目的とした瀉下戦

略、(4)異種移植による卵子の成熟、(5)幹細胞による卵子形成である。これらの戦略は卵巣組織自己移植によるがん細胞の再移入を避ける戦略として開発されているが、(1)を除いては、いまだ、臨床段階には到達していない。(1)に関しては、最近多くの報告があり²⁹⁻³²⁾、その有効性が期待されている。(2)~(5)に関しても、倫理面にも配慮し、更なる研究によりリスクと有効性を確立することが必要だが、将来的にはがん患者の妊孕性を回復する選択肢となる可能性がある。現状では、基礎疾患によっては治療終了後もOTTできない可能性があることを患者・家族に十分説明しておく必要がある。

最後に、これまで、何千という若い女性の卵巣組織が凍結されているが、化学療法が開始される前にOTC/OTTを含めた妊孕性の選択肢について十分に時間をかけた話し合いが行われていないと、どのような選択であったにせよ将来、悔恨の念を持つことが明らかとなっており³³⁾、心理面の配慮も重要であることを強調する。

参考文献

- 1) International Agency for Research on Cancer (IARC), World Health Organization (WHO). Estimated Number of New Cases in 2020, All Cancers, Females, Ages 0-39. 2021.
- 2) Richard A. Anderson, David H. Brewster, Rachael Wood, Sian Nowell, Colin Fischbacher, Tom W. Kelsey and W. Hamish B. Wallace: The impact of cancer on subsequent chance of pregnancy: a population based analysis. Hum Reprod, 33: 1281-1290, 2018.
- 3) Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Martinez-Madrid B, van Langendonck: Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. Lancet, 364: 1405-1410, 2004.
- 4) Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine: Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy: a committee opinion. Fertil Steril, 112: 1022-1033, 2019.
- 5) European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Fertility Preservation Guideline Group. Female Fertility Preservation. 2020. <https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Female-fertility-preservation>.
- 6) Khattak H, Malhas R, Craciunas L, Afifi Y, Amorim CA, Fishel S, Silber S, Gook D, Demeestere I, Bystrova O, Lisyanskaya A, Manikhas G, Lotz L, Dittrich R, Colmorn LB, Macklon KT, Hjorth IMD, Kristensen SG, Gallos I, Coomarasamy A: Fresh and cryopreserved ovarian tissue transplantation for preserving reproductive and endocrine function: a systematic review and individual patient data meta-analysis. Hum Reprod Update, 28 (3): 400-416, 2022.
- 7) Poirot C, Fortin A, Lacorte JM, Akakpo JP, Genestie C, Vernant JP, Brice P, Morice P, Leblanc T, Gabarre J, Delmer A, Badachi Y, Drouineaud V, Gouy S, Chalas C,

- Egels S, Dhédin N, Touraine P, Dommergues M, Lebègue G, Wolf JP, Capron F, Lefebvre G, Boissel N; CAROLÉLISA: Impact of cancer chemotherapy before ovarian cortex cryopreservation on ovarian tissue transplantation. *Hum Reprod*, 34 (6):1083-1094, 2019.
- 8) Ogino N, Wakimoto Y, Nakagawa K, Kamei H, Fukui A, Yoshiyasu K, Hasegawa A, Hirota S, Shibahara H: Primordial follicles remaining in young cancer survivors who received chemotherapy. *J Obstet Gynaecol Res*, 49 (8): 2073-2085, 2023.
 - 9) Puy V, Dupeux M, Mayeur A, Grynberg M, Benoit A, Bendayan M, Zhegari F, Hesters L, Gallot V, Prevot S, Frydman N, Sonigo C: Ovarian tissue cryopreservation can be combined simultaneously with oocyte retrieval after controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod*, 38 (5): 860-871, 2023.
 - 10) Anderson RA, Wallace WHB, Baird DT: Ovarian cryopreservation for fertility preservation: indications and outcomes. *Reproduction*, 136: 681-689, 2008.
 - 11) Wallace WHB, Smith AG, Kelsey TW, Edgar AE, Anderson RA: Fertility preservation for girls and young women with cancer: population-based validation of criteria for ovarian tissue cryopreservation. *Lancet Oncol*, 15(10):1129-36, 2014.
 - 12) Duffin K, Howie R, Kelsey TW, Wallace HB, Anderson RA: Long-term follow-up to assess criteria for ovarian tissue cryopreservation for fertility preservation in young women and girls with cancer. *Hum Reprod*, 38 (6):1076-1085, 2023.
 - 13) Takae S, Furuta S, Iwahataa H, Iwahata Y, Keino D, Kanamori R, Oyama K, Tanaka K, Shiraishi E, Suzuki Y, Sugishita Y, Horage Y, Sakamoto M, Mori T, Kitagawa H, Suzuki N: Cryopreservation of paediatric ovarian tissue with an updated version of the Edinburgh criteria for appropriate patient selection. *Reprod Biomed Online*, 44 (4):667-676, 2022.
 - 14) Diaz AA, Kubo H, Handa N, Hanna M, Laronda MM: A Systematic Review of Ovarian Tissue Transplantation Outcomes by Ovarian Tissue Processing Size for Cryopreservation. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Jun 10;13:918899. doi: 10.3389/fendo.2022.918899. eCollection 2022.
 - 15) Behl S, Joshi VB, Larson NB, Young MC, Bilal M, Walker DL, Khan Z, Granberg CF, Chattha A, Zhao Y: Vitrification versus slow freezing of human ovarian tissue: a systematic review and meta-analysis of histological outcomes. *J Assist Reprod Genet*, 40 (3):455-464, 2023.
 - 16) Vilela JMV, Dolmans MM, Amorim CA: Ovarian tissue transportation: a systematic review. *Reprod Biomed Online*, 42 (2): 351-365, 2021.
 - 17) Kristensen SG, Liu Q, Mamsen LS, Greve T, Pors SE, Bjørn AB, Ernst E, Macklon KT, Andersen CY: A simple method to quantify follicle survival in cryopreserved human ovarian tissue. *Hum Reprod*, 33 (12): 2276-2284, 2018.
 - 18) Beckmann MW, Dittrich R, Lotz L, van der Ven K, van der Ven HH, Liebenthron J, Korell M, Frambach T, Sütterlin M, Schwab R: Fertility protection: complications of surgery and results of removal and transplantation of ovarian tissue. *Reprod Biomed Online*, 36:188-196, 2017.
 - 19) Bastings L, Beerendonk CCM, Westphal JR, Massuger LFAG: Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue in cancer survivors and the risk of reintroducing malignancy: a systematic review. *Hum Reprod Update*, 19 (5): 483-506, 2013.
 - 20) 中尾朋子・木田尚子・岡田英孝: がん細胞の再移入に関して. 鈴木直編. 新版 卵巣組織凍結・移植 新しい妊孕性温存療法の実践. 医歯薬出版株式会社, 2021.
 - 21) Sermondade N, Sonigo C, Sifer C, Valtat S, Zioli M, Eustache F, Grynberg M: Serum antimüllerian hormone is associated with the number of oocytes matured in vitro and with primordial follicle density in candidates for fertility preservation. *Fertil Steril*, 111 (2): 357-362, 2019.
 - 22) 金森玲・高江正道・岩端由里子・鈴木由妃・岩端秀之・杉下容堂・洞下由記・戸澤晃子・長谷川潤一・鈴木直: 妊娠成績と原疾患予後調査による卵巣組織移植の有効性と安全性の検証. 第74回日本産科婦人科学会学術講演会抄録集, 日本語ポスター 95, 2022.
 - 23) 原鐵見: 悪性リンパ腫で, ガラス化法による凍結卵巣組織移植後に妊娠・出産となった1例. *日本 IVF 学会雑誌*. 25 (2): 50, 2022.
 - 24) Sako Y, Akitani F, Shiota K, Momoeda M: A case of two ovarian tissue transplantations that led to a biochemical pregnancy in Japan. *J Obstet Gynaecol Res*, 48 (5) : 1279-1284, 2022.
 - 25) Bríd Ni Dhonnabháin B, Elfaki N, Fraser K, Petrie A, Jones BP, Saso S, Hardiman PJ, Getreu N: A comparison of fertility preservation outcomes in patients who froze oocytes, embryos, or ovarian tissue for medically indicated circumstances: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*, 117 (6):1266-1276, 2022.
 - 26) Xu Z, Ibrahim S, Burdett S, Rydzewska L, Al Wattar BH, Davies MC: Long term pregnancy outcomes of women with cancer following fertility preservation: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2023 Feb; 281: 41-48. doi: 10.1016/j.ejogrb.2022.12.016. Epub 2022 Dec 10. PMID:36535069.
 - 27) Fraison E, Huberlant S, Labrune E, Cavalieri M, Montagut M(7), Brugnion F, Courbiere B: Live birth rate after female fertility preservation for cancer or haematopoietic stem cell transplantation: a systematic review and meta-analysis of the three main techniques; embryo, oocyte and ovarian tissue cryopreservation. *Hum Reprod*, 38 (3): 489-502, 2023.
 - 28) Eijkenboom L, Saedt E, Zietse C, Braat D, Beerendonk C, Peek R: Strategies to safely use cryopreserved ovarian tissue to restore fertility after cancer: a systematic review. *Reprod Biomed Online*, 45 (4): 763-778, 2022.
 - 29) Fouks Y, Hamilton E, Cohen Y, Hasson J, Kalma Y, Azem F: In-vitro maturation of oocytes recovered during cryopreservation of pre-pubertal girls undergoing fertility preservation. *Reprod Biomed Online*, 41 (5): 869-873, 2020.
 - 30) Segers I, Bardhi E, Mateizel I, Van Moer E, Schots R, Verheyen G, Tournaye H, De Vos M: Live births following fertility preservation using in-vitro maturation of ovarian tissue oocytes. *Hum Reprod*, 35 (9): 2026-2036, 2020.

- 31) Cadenas J, Nikiforov D, Pors SE, Zuniga LA, Wakimoto Y, Ghezelayagh Z, Mamsen LS, Kristensen SG, Andersen CY: A threshold concentration of FSH is needed during IVM of ex vivo collected human oocytes. *J Assist Reprod Genet*, 38 (6):1341-1348, 2021 Jun.
- 32) Mohd Faizal A, Sugishita Y, Suzuki-Takahashi Y, Iwahata H, Takae S, Horage-Okutsu Y, Suzuki N: Twenty-first century oocyte cryopreservation-in vitro maturation of immature oocytes from ovarian tissue cryopreservation in cancer patients: A systematic review. *Womens Health (Lond)*. 2022, Jan-Dec;18:17455057221114269. doi: 10.1177/17455057221114269.
- 33) Jayasuriya S, Peate M, Allingham C, Li N, Gillam L, Zacharin M, Downie P, Moore P, Super L, Orme L, Agresta F, Stern C, Jayasinghe Y: Satisfaction, disappointment and regret surrounding fertility preservation decisions in the paediatric and adolescent cancer population. *J Assist Reprod Genet*, 36: 1805-1822, 2019.

卵巣凍結前の化学療法が卵胞数および卵巣移植に与える影響

Effects of Chemotherapy Prior to Ovarian Tissue Cryopreservation on Follicle Number and Ovarian Tissue Transplantation

脇本 裕, 荻野 奈々

Yu Wakimoto, Nana Ogino

兵庫医科大学医学部産科婦人科学講座 〒663-8501 兵庫県西宮市武庫川町 1-1
Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Hyogo Medical University

要旨： 卵巣凍結(OTC)による妊孕性温存は化学療法前が推奨されてきたが、卵巣摘出手術が適用できない場合や卵巣転移のリスクを有する患者では化学療法後のOTCも考慮される。現在、卵巣移植(OTT)による出産例は200例をこえ、化学療法後のOTCがOTTに与える影響が明らかになってきた。当科の自験例から化学療法後では血清AMH値が低い場合でも、それと原始卵胞密度の相関は認められず、卵巣内の原始卵胞の存在が多数確認され、OTCが妊孕性温存の手段として効果があることが示された。最近の海外の報告でも、化学療法後のOTTによる妊娠成績が化学療法の既往のない患者に非劣性であることが示されている。OTCの臨床応用から四半世紀が経過し、その有効性が広く認識され、化学療法後であっても支持されてきている。本稿では、OTC前の化学療法が卵胞数およびOTTに与える影響について当科の治験例と最新の文献から考察する。

キーワード：化学療法, 原始卵胞, 微小残存病変, 卵巣移植, 卵巣凍結

ランニングヘッド：化学療法が卵巣に及ぼす影響

英文要旨： Fertility preservation using ovarian tissue cryopreservation (OTC) has been recommended prior to chemotherapy. However, OTC has been performed after chemotherapy in patients who are not candidates for oophorectomy or who have a risk of ovarian metastasis. Currently, more than 200 cases of live births have been reported from OTC followed by ovarian transplantation (OTT), and the impact of post-chemotherapy OTC on OTT is becoming clear. From our clinical experiences, even if the serum AMH level is low after chemotherapy, no correlation was observed between serum AMH and the density of primordial follicles. Moreover, a significant number of primordial follicles have been observed in the ovaries, indicating the efficacy of OTC as a means of fertility preservation. Recent international reports have also shown that the pregnancy outcomes from OTT after chemotherapy are not inferior to those of patients without a history of chemotherapy. A quarter century has passed since the clinical application of OTC, and OTC followed by OTT efficacy is widely recognized, even after chemotherapy. Here, we will discuss the impact of pre-OTC chemotherapy on ovarian follicle number and pregnancy outcomes of patients that received pre-OTC chemotherapy followed by OTT based on our clinical trials and the latest literature.

キーワード：Chemotherapy, Minimal Residual Disease, Ovarian Tissue Cryopreservation, Ovarian Tissue Transplantation, Primordial Follicles

ランニングヘッド：The Effect of Chemotherapy on the Ovary

緒言

性腺毒性を持つ化学療法は、卵巣内に貯蔵されている原始卵胞および発育途上の卵胞を障害することで卵胞消失および卵巣を萎縮させ、卵巣機能障害による不

妊症を引き起こす^{1,2)}。このため、化学療法が卵巣組織に与える影響を懸念して、化学療法開始前の卵巣組織凍結保存(OTC: ovarian tissue cryopreservation)を推奨する報告がある³⁾。一方で、卵巣摘出手術を適用できない病状が急速に進行する症例、さらには凍結卵巣内に

原疾患の卵巣転移による微小残存病変 (MRD: minimal residual disease) の混入の危険性が高い症例において、OTC は化学療法前に実施困難なため化学療法後に実施されることがある。特に急性白血病の症例において、MRD の混入の危険性が高いために寛解導入療法後で地固め療法の間に OTC の実施を推奨する報告がある⁴⁾。

性腺毒性の強い化学療法を受けた患者において、化学療法投与直後から約6カ月間は卵巣刺激への反応性が低下する。卵子回収が困難となるため、妊孕性温存方法に卵子凍結や胚凍結は適用されず、OTC が唯一適用可能となる。ヨーロッパ生殖医学会のガイドラインでは化学療法を受けた場合の妊孕性温存方法の選択として OTC が推奨されている³⁾。しかし、化学療法は卵胞貯蔵の定量的変化、そして卵巣内の血管損傷とそれに続く線維化による卵胞と卵子の質的变化を起こす⁵⁾。このため、OTC 前の化学療法が卵巣組織移植 (OTT: ovarian tissue transplantation) 後の妊娠予後に及ぼす影響について議論されてきた。1997年に OTC を適用して2003年に OTT 後の世界初の出産例が、2004年に報告された⁶⁾。OTC の臨床応用から四半世紀近くが経過し、今では OTT による出産例は200例以上をこえ、化学療法を受けた後の OTC による OTT の臨床成績が蓄積されてきている⁷⁾。本稿では、卵巣凍結前の化学療法が卵巣内の卵胞数に与える影響について当科の治験

例から^{2,8)}、そして卵巣移植の妊娠予後に及ぼす影響について最新の文献から⁷⁾概説する。

当科の自験例

我々は乳がん患者 (stage I, T1N0M0 infiltrating ductal carcinoma, ER+, PR+, HER2-, KI67: 48.6%) に対する化学療法後に無月経となり、3年後に月経周期が回復したため ART を用いて妊娠成立した症例を報告した⁸⁾。この患者は、左乳房温存術後に化学療法 (TC: Docetaxel/Cyclophosphamide 療法)、放射線治療と内分泌療法を受け、無月経となった。図1に示すように化学療法前では血清 AMH 値は1.85 ng/mLであったが、化学療法から19カ月後の男性不妊による不妊治療の再開時点では、血清 AMH 値は0.10 ng/ml 未満であり、無月経であった。ところが、化学療法から34カ月後に血清 AMH 値は0.14 ng/mL に上昇し、自然排卵が確認され ART により生児を得た。本症例から、血清 AMH 値が検出感度以下まで低下したことは、化学療法直後で AMH を産生する前胞状卵胞の消失を意味し、そして、化学療法後で時間経過と共に消失せずに残っていた原始卵胞が再度リクルートされ、複数の発育卵胞の顆粒膜細胞から AMH の産生が再開することにより、血清 AMH 値が再上昇したと推察される⁹⁾。原始卵胞の活性

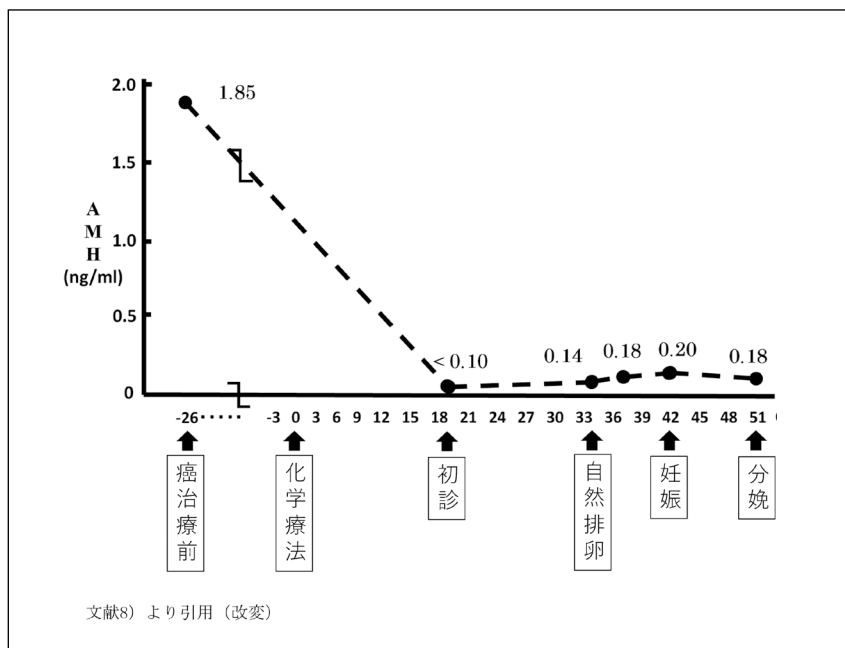


図1 化学療法前後の血清 AMH (抗ミュラー管ホルモン) 値の推移
化学療法前は血清 AMH 値は1.85 ng/mLで、化学療法から19カ月後の血清 AMH 値は0.10 ng/mL 未満で、化学療法から34カ月後に血清 AMH 値は0.14 ng/mL に上昇し自然排卵が確認され、化学療法から51カ月後に ART により生児を得た。

化は一方向性で不可逆性に卵胞発育し、ほとんどの卵胞は閉鎖するが、一部は排卵に至る。すなわち、原始卵胞が活性化されてから排卵に至るまでに要する時間はおよそ9カ月から1年程度であることから、化学療法後のある一定期間経過後に原始卵胞が活性化されて月経周期が再開したことがわかる⁹⁾。

当科における卵巣凍結症例の検討 ～化学療法群 vs. 非化学療法群～

我々は上述した当科の自験例から得た知見を検証するために、化学療法の既往の有無で原始卵胞密度と血清AMH値の関連について、当科の卵巣凍結した症例を用いて比較検討した。インフォームドコンセントをえて、

2017年2月から2022年の12月にPCOSの症例を除外して、OTCを受けた患者33名をOTC前に化学療法の既往がある化学療法群22名とOTC前に化学療法の既往がない非化学療法群11名の2群に分類して、診療録を用いて、年齢、月経の状態、原疾患、血清AMH値、化学療法から血清AMH値の測定までの日数、OTC前の化学療法のコース数、を比較した。症例の背景を表1に示す。化学療法群の4名と非化学療法群の1名は、初経は未であった。原疾患の内訳は、白血病は最多の12名で全例が化学療法群に含まれた。ユーイング肉腫が4名、胚細胞腫瘍とホジキンリンパ腫がそれぞれ3名で、乳がん、子宮癌、骨肉腫が、それぞれ2名で、そして後腹膜肉腫、脳腫瘍、骨髄異形成症候群、悪性リンパ腫、再生不良性貧血が、それぞれ1名である。アメリカ臨床腫

表 1-1 非化学療法群の患者背景

年齢	初経	原疾患	AMH
14	-	頭蓋内胚細胞腫	6.11
14	+	骨肉腫	3.47
15	+	肉腫	1.12
16	+	胚細胞性腫瘍	10.2
16	+	ユーイング肉腫	3.41
19	+	ホジキンリンパ腫	8.64
19	+	再生不良性貧血	1.95
20	+	子宮がん	2.95
33	+	乳がん	4.02
33	+	乳がん	2.16
40	+	子宮がん	2.16

AMH (ng/mL) : 抗ミュラー管ホルモン
文献2)より引用(改変)

表 1-2 化学療法群の患者背景

年齢	初経	原疾患	AMH	性腺毒性リスク	最終化学療法から血清AMH測定までの日数	OTC前の化学療法コース数
2	-	脳腫瘍	0.67	高	17	2
8	-	AML	0.33	中	2	6
10	-	胚細胞性腫瘍	0.04	高	20	1
11	+	ユーイング肉腫	0.19	高	24	2
13	-	ALL	0.49	高	182	2
14	+	AML	0.23	中	28	3
14	+	ホジキンリンパ腫	0.18	高	>13years	1
14	+	骨髄異形成症候群	0.67	低	20	1
15	+	ALL	0.13	高	23	3
15	+	AML	0.46	中	67	4
15	+	ユーイング肉腫	0.07	高	19	3
16	+	ユーイング肉腫	0.03	高	33	5
17	+	AML	0.30	低	36	3
18	+	骨肉腫	0.14	高	21	8
20	+	AML	3.86	低	29	1
21	+	ALL	0.29	低	48	4
22	+	悪性リンパ腫	0.11	高	19	1
24	+	AML	0.07	低	38	1
25	+	AML	1.38	低	30	2
27	+	AML	0.06	低	60	2
28	+	ホジキンリンパ腫	<0.01	高	190	6
31	+	ALL	0.07	高	24	2

AMH (ng/mL) : 抗ミュラー管ホルモン、AML : 急性骨髄白血病、ALL : 急性リンパ性白血病
文献2)より引用(改変)

瘍学会による性腺毒性のリスクに従って分類したところ、高リスク、中リスク、低リスクは、それぞれ12名、3名、7名であった。最後の化学療法投与から血清 AMH 値の測定日までの日数は2 から190 日で、OTC 前の化学療法前のコース数は1 から 8 コースであった。

上記対象患者の卵巣組織を HE 染色により組織学的に評価した。図2 は正常卵巣の HE 染色の結果を示す。皮質は、表層上皮、白膜、皮質特異的間質の3 層からなり、髄質は結合組織と蛇行した動脈が含まれる。皮質の卵胞数を顕微鏡下に計数して、Gougeon のクライテリアに従って、閉鎖と生存卵胞に分類した¹⁰⁾。閉鎖卵胞は、

エオジン好性細胞質、顆粒膜細胞の核濃縮、卵細胞質の凝集、細胞質の空胞化、基底膜からの顆粒膜細胞の解離などの形態学的な特徴を示したものとした。さらに、生存卵胞を Moore の分類に従って4つのカテゴリーに分類した¹¹⁾。すなわち、卵子が扁平な顆粒膜細胞によってのみ囲まれている原始卵胞(図3-1)、卵子が立方状と扁平な顆粒膜細胞の混合によって囲まれている移行卵胞(図3-2)、卵子が一層の立方状の顆粒膜細胞によって囲まれている1次卵胞(図3-3)、卵子が多層の立方状の顆粒膜細胞によって囲まれている2次卵胞(図3-4)として各発育段階の卵胞を組織学的評価のうえ計数した(図3)。

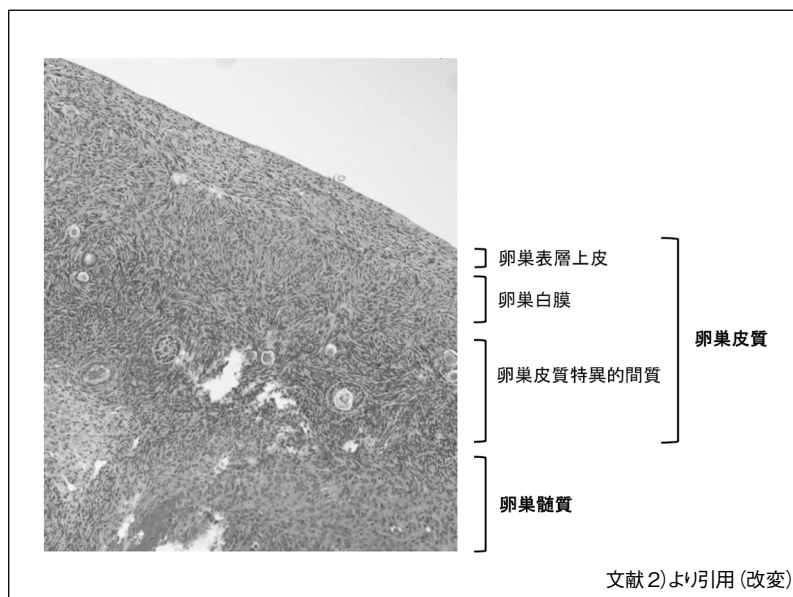


図2 正常卵巣組織の HE 染色
皮質は、表層上皮、白膜、皮質特異的間質の3層からなり、髄質は結合組織と蛇行した動脈が含まれる。

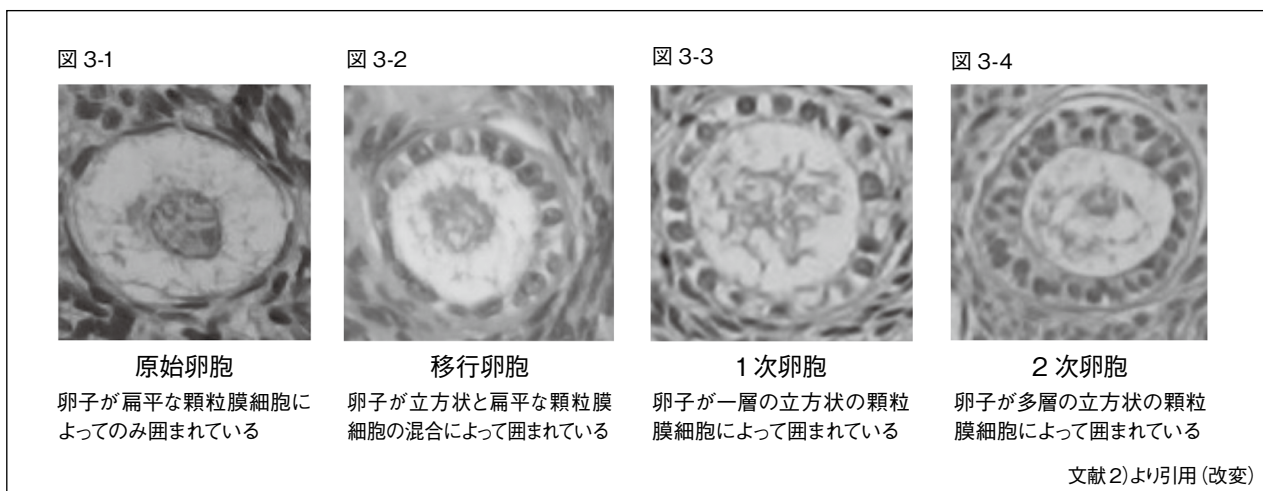


図3 各発育段階の卵胞組織像

次いで、ImageJ (US National Institutes of Health, Bethesda, MI) を用いて皮質の面積を測定し、卵巣体積を皮質面積を厚さ $4 \mu\text{m}$ で乗ずることで算出し、それぞれの発育段階の卵胞密度を計算した。さらに、化学療法によって、どの発育段階の卵胞が有意に損傷されるかを明らかにするため、それぞれの発育段階の卵胞数を原始卵胞数で除し、化学療法群と非化学療法群を原始卵胞数あたりの発育途上の卵胞数の割合を計算して比較した。

当科における卵巣凍結症例の検討結果 ～化学療法群 vs. 非化学療法群とシクロホスファミド群 vs. 非化学療法群～

結果は表2に示すように、化学療法群と非化学療法群の2群間の年齢において有意差はなく(化学療法群 vs 非化学療法群, 17.2 ± 6.83 vs 21.7 ± 8.72 年, $p = 0.13$), 血清 AMH 値 (0.44 ± 0.81 vs 4.20 ± 2.78 ng/mL, $p < 0.05$) は有意に化学療法群で低かった。移行卵胞, 1次卵胞, 2次卵胞の密度は、非化学療法群より化学療法群で有意に小さかった(それぞれ, $25.1 \pm$

35.6 vs 78.6 ± 59.1 個/mm³, $p < 0.05$, 14.9 ± 21.1 vs 134 ± 109 個/mm³, $p < 0.05$, そして 9.52 ± 14.4 vs 69.9 ± 51.4 個/mm³, $p < 0.05$). さらに、それぞれの発育段階での原始卵胞あたりの発育卵胞数は、化学療法群は非化学療法群と比べてすべての発育段階での卵胞密度を減少させ、それは1次 (0.09 vs 0.598 , $p < 0.05$) と2次卵胞 (0.03 vs 0.242 , $p < 0.05$) で有意に低かった(図4)。そして、化学療法群と非化学療法群における血清 AMH 値と原始卵胞密度の相関図(図5)では、非化学療法群において血清 AMH と原始卵胞密度で正の相関が観察されたが ($r = 0.256$), 化学療法群においては観察されなかった ($r = -0.01$)。

次に、我々はシクロホスファミドによるバーンアウトについて、サブグループ解析を行った。シクロホスファミドを受けた患者(シクロホスファミド群) 10名と化学療法の既往がない非化学療法群11名との比較結果を示す(表2)。年齢において有意差はなく(15.8 ± 7.72 vs 21.7 ± 8.72 年, $p = 0.33$), 血清 AMH 値は非化学療法群よりシクロホスファミド群で有意に低かった (0.19 ± 0.20 vs 4.20 ± 2.78 ng/mL, $p < 0.05$)。原始卵胞の密度は、両群で有意差を認めなかった ($390 \pm$

表2 化学療法群 vs 非化学療法群とシクロホスファミド群 vs 非化学療法群

	化学療法 (n = 22)	シクロホスファミド群 (n = 10)	非化学療法群 (n = 11)	P 値†	P 値‡
年齢	17.2 ± 6.83	15.8 ± 7.72	21.7 ± 8.72	0.13	0.33
血清 AMH 値 (ng/mL)	0.44 ± 0.81	0.19 ± 0.20	4.20 ± 2.78	<0.05	<0.05
皮質の厚み (μm)	609 ± 171	611 ± 169	557 ± 197	0.47	0.53
原始卵胞密度	541 ± 525	390 ± 106	470 ± 406	0.70	0.56
移行卵胞密度	25.1 ± 35.6	13.8 ± 18.1	78.6 ± 59.1	<0.05	0.052
一次卵胞密度	14.9 ± 21.1	8.43 ± 5.73	134 ± 109	<0.05	<0.05
二次卵胞密度	9.52 ± 14.4	6.65 ± 5.92	69.9 ± 51.4	<0.05	<0.05

略語: AMH, anti-Müllerian hormone; SD, standard deviation

文献2)より引用(改変)

Data are presented as mean \pm SD

†化学療法群と非化学療法群の比較

‡シクロホスファミド群と非化学療法群の比較

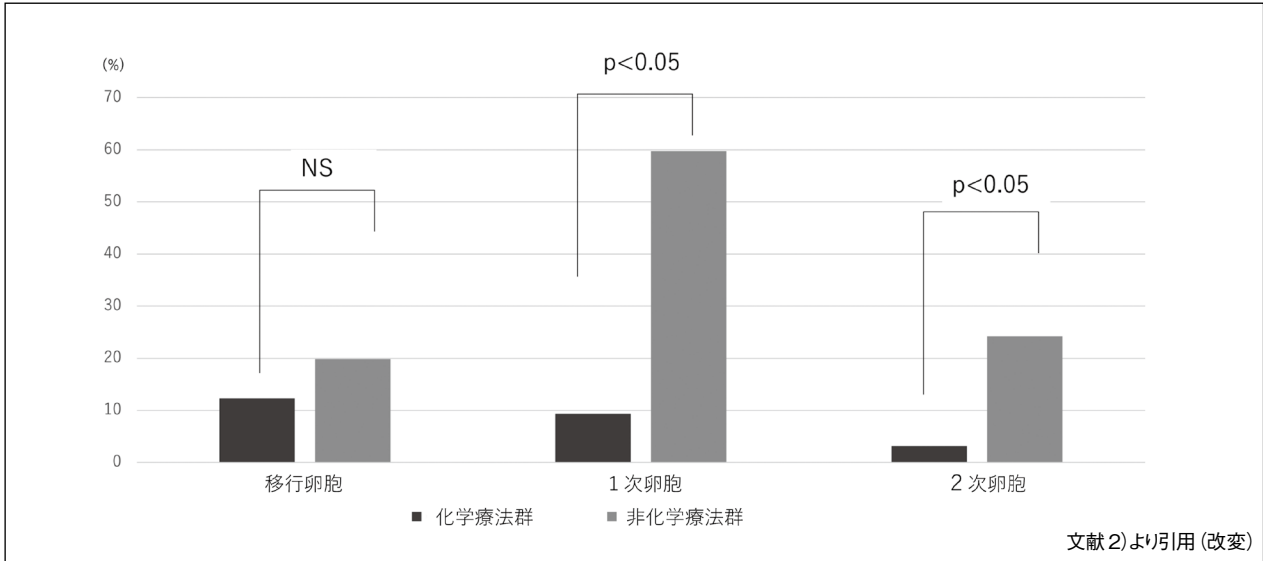


図4 原始卵胞あたりの各発育段階の卵胞数比率の比較：化学療法群 vs 非化学療法群

各発育段階での原始卵胞あたりの発育卵胞数は、化学療法群は非化学療法群と比べてすべての発育段階での卵胞密度を減少させ、それは1次 (0.09 vs 0.598, $p < 0.05$) と2次卵胞 (0.03 vs 0.242, $p < 0.05$) で有意に低かった。

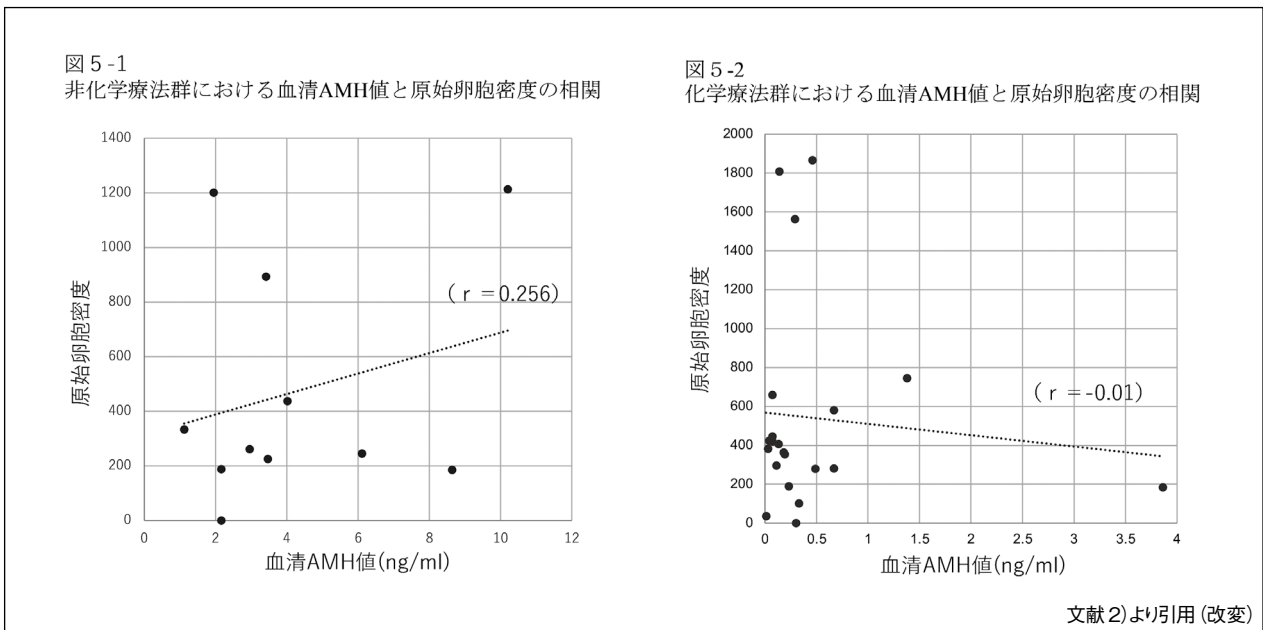


図5 化学療法群と非化学療法群における血清 AMH 値と原始卵胞密度の相関図

非化学療法群において血清 AMH と原始卵胞密度で正の相関が観察されたが ($r = 0.256$), 化学療法群においては観察されなかった ($r = -0.01$).

106 vs 470 ± 406 個 /mm³, $p = 0.56$). 1次と2次卵胞の密度は、非化学療法群よりシクロホスファミド群で有意に小さかった (それぞれ, 8.43 ± 5.73 vs 134 ± 109 個 /mm³, $p < 0.05$, と 9.52 ± 14.4 vs. 69.9 ± 51.4 個 /mm³, $p < 0.05$).

検討結果の文献的考察 ～化学療法群 vs. 非化学療法群～

我々の結果において、原始卵胞の密度で両群間に有意差を認めなかったことは、原始卵胞がバーンアウトしても、それらは完全に失われるわけではなく残存することを

示唆する。化学療法後であっても多くの原始卵胞は卵巣に残存しているので、OTCとOTTはがん患者の妊孕性温存に有用である可能性がある。近年、OTC前の化学療法の既往の有無でOTT後の月経再開率、妊娠率、分娩率において、有意差がないことが観察されたという報告は上述した結果を反映している可能性がある⁷⁾。しかしながら、卵巣組織障害の程度は使用される化学療法のレジメンと患者年齢に依存する^{12,13)}。今回の我々の検討結果において、有意差はなかったが原始卵胞密度は非化学療法群より化学療法群において高かったという結果は興味深い。この結果は化学療法群においてシクロホスファミド以外の性腺毒性が低い抗がん剤が投与された患者が対象に含まれたことに因る可能性が考えられる。確かに、化学療法を投与することで、原始卵胞が増加するという考えは一般的ではないが、McLaughlinらは、ドキシソルビシン、ブレオマイシン、ビンブラスチン、ダカルバジンを組み合わせたABVD療法で治療された患者において、原始卵胞密度が増加したと報告している¹⁴⁾。彼らは、マウスの実験系で間質幹細胞の移植が化学療法後の顆粒膜細胞の消失を減少させ卵巣機能を回復させたこと¹⁵⁾、機序は不明であるがブレオマイシンの成分が間質幹細胞に作用して新しい卵子と卵胞を産生し¹⁴⁾、原始卵胞の増殖を引き起こした可能性があると考えしている。したがって、上記の検討結果において、化学療法の種類と累積投与量は統一されておらず、検討結果に影響を及ぼした可能性がある。そこで、我々はシクロホスファミド投与の有無でサブグループ解析を行った。アメリカ臨床腫瘍学会の分類でハイリスクとされるシクロホスファミドは強い性腺毒性があるアルキル化薬である¹⁶⁾。シクロホスファミドの細胞毒性は細胞周期非特異的であり、休眠状態の原始卵胞と高い分裂指数をもつ胞状卵胞の顆粒膜細胞も同様に影響を及ぼす¹⁷⁾。したがって、その障害機序は休眠状態の原始卵胞を破壊するのみではなく、前顆粒膜細胞と卵子のアポトーシスの誘導による直接毒性および、血管梗塞や皮膜下局所における皮質繊維化の間質障害による非直接毒性である¹⁸⁻²⁰⁾。その作用機序はPI3K/PTEN/Akt経路の活性化と関連があり^{21,22)}、シクロホスファミド投与後の顆粒膜細胞の消失に伴うAMH産生の減少は、原始卵胞のリクルートメントを活性化させて亢進し、原始卵胞をバーンアウトさせる²³⁾。Poirotらはアルキル化薬投与の有無でOTTの臨床成績に関する大規模研究を行った。結果は、アルキル化薬で治療された患者は、アルキル化薬を含まない化学療法で治療された患者よりも有意に妊娠率が低く(32.1% vs 68.4%, P = 0.019)、少なくとも一人の生児を得た割合も低かったと報告している(28.6% vs 68.4%, P = 0.016)²⁴⁾。

検討結果の文献的考察

～原始卵胞密度と血清AMH値との相関性～

次に、原始卵胞の密度において、化学療法群では血清AMH値と相関性を示さなかった点について考察したい。現在のところ、血清AMH値は不妊治療において卵巣予備能のマーカーとして使用される。血清AMH値は直径8mm以下の前胞状と小胞状卵胞の顆粒膜細胞から産生されるため、卵巣内の前胞状卵胞数と正の相関を示す²⁵⁾。前胞状卵胞数と原始卵胞数は正の相関を示すので、血清AMH値を測定することで卵巣予備能と卵巣年齢を評価できる²⁶⁾。しかしながら、原始卵胞や1次卵胞の周囲には1層の顆粒膜細胞のみで血流支配をほとんど受けないために休眠状態の原始卵胞は化学療法の影響を受け難く抵抗性であるのに対して、2次卵胞以降は莢膜細胞の出現を認めるために周囲の血管の存在により血流支配を受けるため化学療法の影響を受けやすい¹³⁾。さらに、化学療法の種類によっては、活動性に増幅する前胞状卵胞の顆粒膜細胞はDNA損傷を受けやすく^{17, 27)}、同様の機序から原始卵胞は休眠状態であり化学療法の影響を受け難く抵抗性であると考えられる²⁸⁾。したがって、化学療法は残存する原始卵胞数とAMHを産生する前胞状卵胞数と相関しない。この理論は、化学療法後に無月経を認め血清AMH値が減少したが、時間経過とともに血清AMH値は回復のうえ月経周期が再開して妊娠が成立した上記の症例報告の推察と矛盾しない。すなわち、ある一定の期間を経過後に化学療法後に残存した原始卵胞が前胞状卵胞まで発育し、顆粒膜細胞からAMHが産生されて、卵巣機能が回復したという解釈とできる²⁹⁾。以上より、化学療法後では、たとえ血清AMH値が低くとも実際の原始卵胞数は、化学療法の既往のない血清AMH値が同レベルの女性不妊患者に比して多いと考えられる。この事実は血清AMH値は卵巣凍結による妊孕性温存の実施を検討する際の参考になる。そして、化学療法投与前の血清AMH値は投与後の月経再開と卵巣機能の回復を推定できること、そして妊孕性温存の必要性と将来の妊娠予後を予測できる可能性がある。

化学療法後の卵巣凍結・融解移植の臨床成績

Dolmansらの化学療法後の卵巣凍結・融解移植の臨床成績のレビューを紹介する⁷⁾。表3に示すように化学療法の既往がない患者に比し、化学療法後の卵巣凍結・融解移植の臨床成績において非劣性が示されている⁷⁾。症例報告においてOTC前に化学療法を受けた(化学療

表3 OTC前に化学療法の既往があるOTT患者の臨床成績

著者名と出版年	OTC前の化学療法の既往歴 (n=患者数)	少なくとも一人生児を獲得した女性の割合
Meirow et al. 2016	非化学療法群 (n=10) vs. 化学療法群 (n=10)	20% vs. 40%
Poirot et al. 2019	非化学療法群 (n=9) vs. 化学療法群 (n=22)	0% vs. 32%
Poirot et al. 2019	化学療法終了3ヶ月経過後にOTCを実施した群 (n=10) vs. 化学療法中にOTCを受けた群 (n=15)	40% vs. 46.7%
Poirot et al. 2019	OTC前に様々な種類の化学療法で治療されたHLの群 (n=16) vs. OTC前にABVD療法で治療されたHLの群 (n=8)	50% vs. 62.5%
Shapira et al. 2020	非化学療法群 (n=36) vs. 化学療法群 (n=24)	38.9% vs. 45.8%
Dolmans et al. 2021	非化学療法群 (n=221) vs. 化学療法群 (n=50)	20.4% vs. 44%

ABVD (adriamycin, bleomycin, vinblastine, dacarbazine) : ドキソルビシン、ブレオマイシン、ビンブラスチン、ダカルバジン
 HL (Hodgkinslymphoma) : ホジキンリンパ腫
 OTC (ovarian tissue cryopreservation) : 卵巣凍結、OTT (ovarian tissue transplantation) : 卵巣移植
 参考文献7. を引用改変

法群) 50名と受けなかった(非化学療法群) 221名のOTTによる妊娠成績を比較した結果、少なくとも一人生児を得た女性の割合は化学療法群で多かった(20.4% vs. 44%)⁷⁾。原疾患治療後の卵巣機能再開率については両群で有意差を認めず(90% vs 85.3%, P=0.49)、妊娠率については有意に化学療法群で高かった(50% vs 28.1%, P=0.004)。この結果はOTC時の平均年齢が化学療法群で有意に若かった影響が考えられる[26歳(幅: 12-35) vs 31歳(幅: 9-44歳)(P<0.0001)]。しかしながら、対象を同年齢と同疾患で化学療法群と非化学療法群に合わせた実施したケースコントロール研究において、結果は両群で原疾患治療後の卵巣機能回復率に差はなく、化学療法群で妊娠および生児獲得率が有意に高かった。

おわりに

不妊治療の現場において、血清AMH値が卵巣予備能のマーカーとして使用されているが、化学療法後においてはその結果の解釈には注意が必要である。化学療法後であっても原始卵胞は休眠状態のため、その影響は原始卵胞よりも発育卵胞で受けやすく、卵巣内に多くの原始卵胞は残存しており妊孕性温存のためのOTCは支持される。

OTCの臨床応用から四半世紀が経過し、OTCとOTTの臨床成績のデータが蓄積された。近年、化学療法後のOTCとOTTによる妊娠成績から、化学療法を受けたがん患者の妊孕性温存方法としてOTCの妥当性が明らかになってきている。

参考文献

1) Morarji K, McArdle O, Hui K, Gingras-Hill G, Ahmed S, Greenblatt EM, et al: Ovarian function after chemotherapy in young breast cancer survivors. *Curr Oncol*, 24 (6):

e494-e502, 2017.
 2) Ogino N, Wakimoto Y, Nakagawa K, Kamei H, Fukui A, Yoshiyasu K, et al: Primordial follicles remaining in young cancer survivors who received chemotherapy. *J Obstet Gynaecol Res.*; 49 (8): 2073-85, 2023.
 3) Jadoul P, Guilmain A, Squifflet J, Luyckx M, Votino R, Wyns C, et al: Efficacy of ovarian tissue cryopreservation for fertility preservation: lessons learned from 545 cases. *Hum Reprod*, 32 (5): 1046-54, 2017.
 4) Shapira M, Raanani H, Barshack I, Amariglio N, Derech-Haim S, Marciano MN, et al: First delivery in a leukemia survivor after transplantation of cryopreserved ovarian tissue, evaluated for leukemia cells contamination. *Fertil Steril*, 109 (1): 48-53, 2018.
 5) Meirow D, Levron J, Eldar-Geva T, Hardan I, Fridman E, Zalel Y, et al: Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N Engl J Med*, 353 (3): 318-21, 2005.
 6) Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al: Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*, 364 (9443) : 1405-10, 2004.
 7) Dolmans MM, von Wolff M, Poirot C, Diaz-Garcia C, Cacciottola L, Boissel N, et al: Transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a series of 285 women: a review of five leading European centers. *Fertil Steril*, 115 (5): 1102-15, 2021.
 8) Wakimoto Y, Fukui A, Wakimoto G, Ikezawa Y, Matsuoka M, Omote M, et al: Association between spontaneous ovulation and serum anti-Mullerian hormone levels in a premature ovarian insufficiency patient after a multimodal treatment for breast cancer. *J Obstet Gynaecol Res*, 45 (11): 2297-301, 2019.
 9) Miyoshi Y, Yasuda K, Tachibana M, Yoshida H, Miyashita E, Miyamura T, et al: Longitudinal observation of serum anti-Müllerian hormone in three girls after cancer treatment. *Clin Pediatr Endocrinol*, 25 (4): 119-26, 2016.
 10) Gougeon A, Chainy GB: Morphometric studies of small follicles in ovaries of women at different ages. *J Reprod Fertil*, 81 (2): 433-42, 1987.
 11) Lintern-Moore S, Peters H, Moore GP, Faber M: Follicular development in the infant human ovary. *J Reprod Fertil*, 39

- (1): 53-64, 1974.
- 12) Johnston RJ, Wallace WH: Normal ovarian function and assessment of ovarian reserve in the survivor of childhood cancer. *Pediatr Blood Cancer*, 53 (2): 296-302, 2009.
 - 13) Meirrow D, Biederman H, Anderson RA, Wallace WH: Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction. *Clin Obstet Gynecol*, 53 (4): 727-39, 2010.
 - 14) McLaughlin M, Kelsey TW, Wallace WH, Anderson RA, Telfer EE: Non-growing follicle density is increased following adriamycin, bleomycin, vinblastine and dacarbazine (ABVD) chemotherapy in the adult human ovary. *Hum Reprod*, 32 (1): 165-74, 2017.
 - 15) Nicolay NH, Rühle A, Perez RL, Trinh T, Sisombath S, Weber KJ, et al: Mesenchymal stem cells are sensitive to bleomycin treatment. *Sci Rep*, 6: 26645, 2016.
 - 16) Oktay K, Harvey BE, Partridge AH, Quinn GP, Reinecke J, Taylor HS, et al: Fertility Preservation in Patients With Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol*, 36 (19): 1994-2001, 2018.
 - 17) Lopez SG, Luderer U: Effects of cyclophosphamide and buthionine sulfoximine on ovarian glutathione and apoptosis. *Free Radic Biol Med*, 36 (11): 1366-77, 2004.
 - 18) Marcello MF, Nuciforo G, Romeo R, Di Dino G, Russo I, Russo A, et al: Structural and ultrastructural study of the ovary in childhood leukemia after successful treatment. *Cancer*, 66 (10): 2099-104, 1990.
 - 19) Gonfloni S, Di Tella L, Caldarola S, Cannata SM, Klinger FG, Di Bartolomeo C, et al: Inhibition of the c-Abl-TAp63 pathway protects mouse oocytes from chemotherapy-induced death. *Nat Med*, 15 (10): 1179-85, 2009.
 - 20) Meirrow D, Dor J, Kaufman B, Shrim A, Rabinovici J, Schiff E, et al: Cortical fibrosis and blood-vessels damage in human ovaries exposed to chemotherapy. Potential mechanisms of ovarian injury. *Hum Reprod*, 22 (6): 1626-33, 2007.
 - 21) Adhikari D, Liu K: mTOR signaling in the control of activation of primordial follicles. *Cell Cycle*, 9 (9): 1673-4, 2010.
 - 22) Reddy P, Zheng W, Liu K: Mechanisms maintaining the dormancy and survival of mammalian primordial follicles. *Trends Endocrinol Metab*, 21 (2): 96-103, 2010.
 - 23) Kalich-Philosoph L, Roness H, Carmely A, Fishel-Bartal M, Ligumsky H, Paglin S, et al: Cyclophosphamide triggers follicle activation and "burnout"; AS101 prevents follicle loss and preserves fertility. *Sci Transl Med*, 5 (185): 185ra62, 2013.
 - 24) Poirrot C, Fortin A, Dhédin N, Brice P, Socié G, Lacorte JM, et al: Post-transplant outcome of ovarian tissue cryopreserved after chemotherapy in hematologic malignancies. *Haematologica*, 104 (8): e360-e3, 2019.
 - 25) Kevenaar ME, Meerasahib MF, Kramer P, van de Lang-Born BM, de Jong FH, Groome NP, et al: Serum anti-mullerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology*, 147 (7): 3228-34, 2006.
 - 26) Liew SH, Nguyen QN, Strasser A, Findlay JK, Hutt KJ: The ovarian reserve is depleted during puberty in a hormonally driven process dependent on the pro-apoptotic protein BMF. *Cell Death Dis*, 8 (8): e2971, 2017.
 - 27) Ben-Aharon I, Bar-Joseph H, Tzarfaty G, Kuchinsky L, Rizel S, Stemmer SM, et al: Doxorubicin-induced ovarian toxicity. *Reprod Biol Endocrinol*, 8: 20, 2010.
 - 28) Roness H, Kalich-Philosoph L, Meirrow D: Prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: possible roles for hormonal and non-hormonal attenuating agents. *Hum Reprod Update*, 20 (5): 759-74, 2014.
 - 29) Mahany EB, Hershman DL, Sauer MV, Choi JM: Pregnancy despite ovarian insufficiency in a patient with breast cancer. *Reprod Med Biol*, 12 (1): 35-8, 2013.

特別企画 「ARTと着床免疫」

序 文

山谷 文乃

兵庫医科大学医学部産科婦人科学講座

この度、特別企画として「ARTと着床免疫」を企画させていただきました。PGT-Aが日本で認可され、現在保険適用に向けて先進医療が進められていますが、PGT-Aのパイロット研究や特別臨床研究の結果からは正常胚を移植したとしても必ずしも妊娠成立しない、妊娠維持ができない症例もあることが証明されています。この結果からは、胚の異常によらない着床不全、不育症の存在が明らかであり、それは患者側からもはっきりと認識されるものであり、医療者としてはその原因究明を迫られることになると思います。本学会々員の皆様におかれましては、先進医療として子宮内膜の受容能検査のERAやERPeak、それらを行っても結果につながらない症例をたくさんご経験されているかと存じます。原因不明の着床不全や不育症に対する研究が世界中でさかんに進められており、日本でもたくさんの論文が掲載されています。不妊治療大国のひとつである我が国において、着床不全・不育症の原因不明因子の究明は急務であり、今後ますます注目されていくと考えます。

胚の着床において、母体の免疫反応は重要なプロセスになります。母体免疫に攻撃されずに胚が子宮内膜に接着・侵入し、さらに免疫的に保護されながら胚は発育していきます。また、感染・炎症からの適切な防御と胚の保護という、絶妙な免疫反応のバランスが必要とされます。これは臓器移植の移植免疫に通じるものがありますが、臓器移植とは異なり物理的な血管吻合などなく生着し、古来より誰に教えられるでもなく免疫治療もせず勝手に免疫調節が起こるところに生命の神秘を感じます。しかし、何らかの原因でその調節がうまくいかない可能性があるとするれば、そこに目を向けて解明していくのが我々の責務であり、また、目にみえない免疫反応の世界を白日のもとに晒していくことで新たな生命が誕生する手助けができるのが生殖免疫の醍醐味であると考えます。

今回は生殖免疫学の研究領域において第一線で活躍されている先生方からご執筆いただきました。杉本澄美玲先生、木村文則先生からは慢性子宮内膜炎について、中川浩次先生からはTh1/Th2比とタクロリムス療法について、小野洋輔先生からはネオ・セルフ抗体について、ご自身の研究成果をもとに論じていただきました。また、僭越ながら私からも着床不全とNK細胞異常について執筆させていただきました。いずれも研究結果から治療へとつながり、新発見も含んだ最新の話題となっております。今回、最もホットなこの話題を本誌で提供できることをとてもうれしく思います。生殖免疫という研究的話題が中心となり近寄りがたい印象があると思いますが、本企画を通じて少しでも研究と臨床の架け橋となることを望みます。

末筆ではございますが、日本IVF学会理事長の塩谷雅英先生、ならびに本誌編集委員長の柴原浩章先生にはこのような機会をいただきましたこと、厚く御礼申し上げます。また、ご多忙のなか貴重な論文をご執筆いただいた執筆者の皆様に深謝申し上げます。

ARTと着床免疫 ～慢性子宮内膜炎について

Immunology of implantation in ART ~ Chronic endometritis

杉本 澄美玲, 木村 文則

Sumire Sugimoto, Fuminori Kimura

奈良県立医科大学産婦人科

Nara Medical University Department of Gynecology and Obstetrics

要旨： 近年, ARTにおける着床障害の原因の一つとして, 慢性子宮内膜炎 (Chronic endometritis : CE)が注目されている。CEは, 子宮腔内への病原性微生物などの抗原が子宮内に存続し, その抗原に対して免疫学的応答が持続している状態である。症状は, 無症状から軽微な骨盤痛や不正性器出血まで様々である。最も使われるCEの診断方法は, 子宮内膜間質に形質細胞の浸潤を認めることであるが, 現時点では標準化された基準が存在しない。CEの患者では, 子宮内の免疫学的微小環境が変化し, それにより着床が妨げられると考えられる。本稿において, 慢性子宮内膜炎の概要とその子宮内免疫環境を含めた最新の研究結果を要約し, 今後の展望とともに述べる。

キーワード： 子宮内膜細菌叢, 慢性子宮内膜炎

英文要旨： Chronic endometritis (CE) is recently focused on one of the causes of implantation failure in ART. CE is a condition in which pathogenic microorganisms and other antigens persist in the uterine cavity and an immunological response to the antigens is sustained. Symptoms range from asymptomatic to minor pelvic pain and irregular genital bleeding. The most common diagnostic tool for CE is the presence of a plasma cell infiltrate in the endometrial stroma detected histologically, but no standardized criteria exist now. It is thought that patients with CE have an altered intrauterine immunologic microenvironment, which may interfere with implantation. In this article, we provide an overview of chronic endometritis and a summary of the latest research along with future perspectives.

キーワード： Chronic endometritis, Endometrial microbiota

はじめに

妊娠成立が障害される原因のうち, 3分の1は胚側の要因であり, 3分の2は胚を受け入れる子宮内膜の機能異常や, 胚と子宮内膜の連携の不調である。子宮内膜の胚受容能の低下, すなわち着床障害の原因の一つに, 慢性子宮内膜炎 (Chronic endometritis : CE) が挙げられる。CEの有病率は, 自然流産を繰り返す患者の7~56%, 着床不全を繰り返す患者の7.7~44%と報告されている^{1,2)}。本稿では, 子宮内膜炎が子宮内の免疫学的微小環境に及ぼす影響や, 実臨床における診断や治療方法について, 国内外の最新の研究結果と今後の展望を述べる。

慢性子宮内膜炎とは

子宮内膜炎には, 下腹部痛や発熱などの激しい臨床症状を伴う急性子宮内膜炎と, 臨床的には無症状から骨盤痛, 不正性器出血, 帯下異常などの軽微な症状のみで, 子宮内膜に炎症が持続するCEがある。病原菌などの抗原が子宮内に存続し, その抗原に対して免疫学的応答が持続している状態と考えられる。CEの主な病原体は, Mycoplasma, Enterococcus, Escherichia coli, Staphylococcus属, Streptococcus属などである³⁾。

CEと免疫細胞

1) B細胞

B細胞は、正常子宮内膜基底層の全リンパ球の5%未満である⁴⁾。CEでは、子宮内膜間質と機能層に形質細胞浸潤を認め、子宮内膜間質および分泌腺にも多数のB細胞が集簇している⁵⁾。しかしその機序は明らかになっていない。細菌感染による局所微小環境の変化が、CE患者における子宮内膜への末梢血B細胞の選択的な浸潤に関与していると考えられる。

2) T細胞

T細胞は、主に子宮内膜基底層に分布し、間質と上皮に散在している。末梢血のT細胞とは対照的に、子宮内膜に存在するT細胞の3分の2はCD8+細胞である⁶⁾。Liらは、CE患者の子宮内膜には、CD68+マクロファージ、CD83+成熟樹状細胞、CD8+T細胞、Fox3+Treg細胞の割合が有意に増加すると報告した⁷⁾。またこれらは、抗菌薬投与後に有意に減少した。

ヘルパーT細胞には、Th1、Th2、Treg、Th17などの亜群が存在する。免疫寛容に働くTh2とTregが優位となり、Th1とTh17を抑制すると妊娠が成立すると考えられている。

Kitazawaらは、非CE患者と比較して、CE患者の子宮内膜ではTh1細胞数は有意に増加し、Th2細胞数は減少していることを報告した⁸⁾。Th17細胞とFox3+Treg細胞の分布に有意差はなかった。

3) NK細胞

子宮内膜のNK細胞の主な表現型は、末梢血と異なり、細胞障害性の低いCD56^{bright}CD16-である^{9,10)}。CD56^{bright}CD16-NK細胞数は分泌後期の子宮内膜間質細胞の30～40%にまで増加し、妊娠成立に重要な役割を果たす⁹⁾。CEが存在する子宮内膜では、CD56^{bright}CD16-NK細胞の割合が分泌期で有意に減少した¹¹⁾。CE患者の子宮内膜では、このNK細胞のサブタイプの変化が、母体-胎児面の免疫バランスおよび胚の着床に影響を及ぼす可能性がある。

4) サイトカイン・ケモカイン

サイトカインやケモカインなどの異常は子宮内膜細胞の分布と機能を変化させ、CEの発症に寄与する。CE患者の子宮内膜ではIL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-10、IL-17、INF- γ 、TNF- α の発現が亢進し、IL-10、TGF β 、CCL4、IL-11の発現レベルが低下している¹²⁻¹⁴⁾。Robertsonらは動物実験によって、これらの炎症性サイトカインが胚にダメージを与え、母体の免疫反応を通じて間接的に子宮の胚受容能を阻害することを明らかにした¹⁵⁾。また、感染が起こると、子宮内膜細胞上のToll-like受容

体TLRファミリーが病原体関連分子パターンを検出し、サイトカイン(IL-1b, IL-6やIL-10など)、TNF- α 、ケモカイン(IL-8やCCL5など)、およびプロスタグランジンE2が分泌される^{16,17)}。ケモカインが多数の好中球とマクロファージを集め、サイトカインによって制御される^{18,19)}。

CEとホルモン分泌

胚移植と妊娠成立の成功には、子宮内膜の適切な増殖と分化が必要であり、それは性ステロイドホルモンによって制御されている。Wuらは、CE患者の子宮内膜間質細胞では、脱落膜化が阻害されていることを発見した²⁰⁾。

子宮内膜症との関連

子宮内膜症患者34人(子宮内膜症群)と子宮内膜症でない患者37人(非子宮内膜症群)において、慢性子宮内膜炎はそれぞれ52.94%と27.02%に確認され、子宮内膜症群で有意に多かった²¹⁾。子宮内膜症と慢性子宮内膜炎との関連を示唆しており、いずれも不妊症の原因となる慢性炎症性疾患であり、どちらが先行する病態であるのかなど、大変興味深い結果である。

CEの診断方法

1) 病理学的診断

CEの診断のゴールドスタンダードは、形質細胞の組織学的検出である。形質細胞は子宮内膜の間質領域には本来存在しない。形態学的に豊富な好塩基性細胞質と偏在する核を持つが、子宮内膜における形質細胞の検出は極めて困難であり、免疫組織化学(immunohistochemistry:IHC)による形質細胞マーカーCD138(別名syndecan-1)が用いられる²²⁻²⁵⁾。しかし、形質細胞検出によるCEの診断には国際的な診断基準が確立しておらず、報告によってCEの有病率が大きく異なる原因となっている。Hirataらは高倍率10視野当たり1個以上の形質細胞があれば、生児出生率と負の相関することを確認した²⁶⁾。今後、CEの診断方法の標準化が望まれる。

2) 子宮鏡検査

Cicinelliらは、充血、strawberry aspect(子宮内膜が充血して中央の白い点が子宮腔内に散在)、間質浮腫(増殖期の淡く肥厚した子宮内膜)、微小ポリープ(1mm未満の小さな血管性突起)の少なくとも1つの特徴で診断すると、組織検査との相関は93.4%と報告した²⁷⁾。一方で、子宮鏡検査は組織学的なCE検出に対して感度が

低かった²⁸⁾。微小ポリープ(1mm未満)のみで診断すると、陽性的中率および陰性的中率が高くなる²⁹⁾。子宮鏡検査はCEの組織学的診断の補助として有用であるも、単独での診断は困難である。

3) その他

Tortorellaらは、CEと月経排液中の炎症性サイトカインとの関係性を評価し、IL-6/TNF- α またはIL-6/IL-1 β を検出することによりCEの診断が向上することを示した³⁰⁾。

子宮内細菌叢の役割

近年は次世代シーケンシング(NGS)によって子宮の細菌組成を詳細に評価できるようになり、培養では検出できない微量または質の低い細菌も検出できる。

Morenoらは、子宮内膜細菌叢が生殖予後に及ぼす影響を分析した³¹⁾。乳酸菌優勢微生物叢群(90%以上の乳酸桿菌属)と比較して、非乳酸菌優勢微生物叢群(90%未満の乳酸桿菌属と10%以上の他の細菌)では、着床率、妊娠率、妊娠継続率、および生児出生率全てにおいて、有意に低下していた。さらに、Kadogamiらの子宮マイクロバイーム解析では、*Lactobacillus*属の*L. crispatus*、*L. iners*、*L. gasseri*、*L. jensenii*の4種が大部分を占めた³²⁾。単回凍結融解胚移植の臨床成績では、*L. iners*が優勢の症例で着床率が最も低かった。

元々の子宮内細菌叢がCE発症にどのように寄与するか明らかとなれば、CEのリスク因子が判明するかもしれない。

CEの治療

慢性子宮内膜炎に使用される抗菌薬は、第一レジメンとして、ドキシサイクリン(200mg/日)の2週間投与、第二レジメンとしてシプロフロキサシン(500mg/日)ないしオフロキサシン(400mgないし800mg/日)とメトロニダゾール(500mg/日)を組み合わせた14日間投与を行っている報告が多い。

Kitayaらは、CE患者の92.3%(108/117例)が第一レジメンで治癒したと報告した³⁾。さらに、オフロキサシン(400mg/日)とメトロニダゾール(500mg/日)14日間併用した追加治療により残り9例中の8例が治癒し、最終的に99.1%(116/117例)が治癒した。McQueenらは、反復早期流産ないし胎児死亡を有するCE患者(26/35例)にオフロキサシン(800mg)とメトロニダゾール(1000mg)を14日間投与し、残りの患者(9/35例)には、ドキシサイクリン単独、ドキシサイクリンとメトロニダゾール、シプロフロキサシンとメトロニダゾールのいずれかを投

与した²⁴⁾。1コース投与後の治癒率は94%(29/31)で2コース投与後の治癒率は100%(31/31例)であった。

ARTに対するCEの治療効果

Kitayaらの前向き研究では、CEの抗菌薬治療後の反復着床不全患者の最初のETサイクルと3回の累積ETサイクルにおける生産率は、当初からCEのないコントロール群に比べて有意に高かった(32.8%と22.1%、38.8%と27.9%)³⁾。Cicinelliらの報告では、抗菌薬治療によって正常化したIVF患者の妊娠率と生産率は、CEが持続した患者よりも有意に高かった(65%と33%、60.8%と13.3%)³³⁾。抗菌薬治療1年後の妊娠率は、CEが持続した患者よりも有意に高かった(74.8%と24.4%)。McQueenらによる前向き研究では、CEを伴わない反復早期流産患者の次回の妊娠における生産率は、CEを伴う患者よりも有意に高かった(87.1%、67.6%)²⁴⁾。

Vitaglianoらは、CE治療の反復着床不全女性のART成績への寄与について、システマティックレビューとメタアナリシスを報告した³⁴⁾。CEの治癒が組織学的に確認された患者では、CEが持続した患者より、妊娠継続率ないし生産率(オッズ比(OR):6.81)、妊娠率(OR:4.02)および着床率(OR:3.24)が有意に高かった。体外受精の成績は、CEが治癒した女性と元々CEに罹患していない女性で同等であり、流産率にも有意差はなかった。

抗菌薬以外の治療法として、以下の方法が試みられている。Pluzhnikovaらは、グロブリン静脈注射で妊娠率の改善を認めた³⁵⁾。Nakamuraらは、糖結合蛋白ラクトフェリンの有効性をin vitroで検討し、抗炎症性サイトカインのTNF- α やIL-1 β のmRNA発現が優位に低下したと報告した³⁶⁾。

このように、CEを治療することで、ARTの成績が有意に向上する。

今後の展望

慢性子宮内膜炎の機序解明と治療法の開発は、妊娠率向上だけでなく周産期予後を改善する可能性がある。治療法では従来の抗菌薬投与に加え、子宮内細菌叢を整える薬剤投与も有望である。さらに、プレコンセプションケアによる慢性子宮内膜炎の早期発見や予防によって、不妊症の発生率自体を下げる可能性にも期待したい。

参考文献

- 1) Féghali J, Bakar J, Mayenga JM, Ségard L, Hamou J, Driguez P, Belaisch-Allart J: [Systematic hysteroscopy prior to in vitro fertilization]. *Gynecol Obstet Fertil*, 31: 127-31, 2003.
- 2) Johnston-MacAnanny EB, Hartnett J, Engmann LL, Nulsen JC, Sanders MM, Benadiva CA: Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 93: 437-41, 2010.
- 3) Kitaya K, Matsubayashi H, Takaya Y, Nishiyama R, Yamaguchi K, Takeuchi T, Ishikawa T: Live birth rate following oral antibiotic treatment for chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure. *Am J Reprod Immunol*, 78, 2017.
- 4) Zeng S, Liu X, Liu D, Song W: Research update for the immune microenvironment of chronic endometritis. *J Reprod Immunol*, 152: 103637, 2022.
- 5) Kitaya K, Yasuo T: Aberrant expression of selectin E, CXCL1, and CXCL13 in chronic endometritis. *Mod Pathol*, 23: 1136-46, 2010.
- 6) Salamonsen LA, Lathbury LJ: Endometrial leukocytes and menstruation. *Hum Reprod Update*, 6: 16-27, 2000.
- 7) Li Y, Yu S, Huang C, Lian R, Chen C, Liu S, Li L, Diao L, Markert UR, Zeng Y: Evaluation of peripheral and uterine immune status of chronic endometritis in patients with recurrent reproductive failure. *Fertil Steril*, 113: 187-96 e1, 2020.
- 8) Kitazawa J, Kimura F, Nakamura A, Morimune A, Hanada T, Amano T, Tsuji S, Kasahara K, Satooka H, Hirata T, Kushima R, Murakami T: Alteration in endometrial helper T-cell subgroups in chronic endometritis. *Am J Reprod Immunol*, 85: e13372, 2021.
- 9) Inoue T, Kanzaki H, Imai K, Narukawa S, Katsuragawa H, Watanabe H, Hirano T, Mori T: Progesterone stimulates the induction of human endometrial CD56+ lymphocytes in an in vitro culture system. *J Clin Endocrinol Metab*, 81: 1502-7, 1996.
- 10) King A: Uterine leukocytes and decidualization. *Hum Reprod Update*, 6: 28-36, 2000.
- 11) Matteo M, Cicinelli E, Greco P, Massenzio F, Baldini D, Falagario T, Rosenberg P, Castellana L, Specchia G, Liso A: Abnormal pattern of lymphocyte subpopulations in the endometrium of infertile women with chronic endometritis. *Am J Reprod Immunol*, 61: 322-9, 2009.
- 12) Hao H, Yu H, Sun H, Zhao C, Zhang N, Hu X, Fu Y: DNaseI protects lipopolysaccharide-induced endometritis in mice by inhibiting neutrophil extracellular traps formation. *Microb Pathog*, 150: 104686, 2021.
- 13) Shen M, O'Donnell E, Leon G, Kisovar A, Melo P, Zondervan K, Granne I, Southcombe J: The role of endometrial B cells in normal endometrium and benign female reproductive pathologies: a systematic review. *Hum Reprod Open*, 2022: hoab043, 2022.
- 14) Park HJ, Kim YS, Yoon TK, Lee WS: Chronic endometritis and infertility. *Clin Exp Reprod Med*, 43: 185-92, 2016.
- 15) Robertson SA, Chin PY, Femia JG, Brown HM: Embryotoxic cytokines-Potential roles in embryo loss and fetal programming. *J Reprod Immunol*, 125: 80-8, 2018.
- 16) Ju J, Li L, Xie J, Wu Y, Wu X, Li W: Toll-like receptor-4 pathway is required for the pathogenesis of human chronic endometritis. *Exp Ther Med*, 8: 1896-900, 2014.
- 17) Chen P, Chen P, Guo Y, Fang C, Li T: Interaction Between Chronic Endometritis Caused Endometrial Microbiota Disorder and Endometrial Immune Environment Change in Recurrent Implantation Failure. *Front Immunol*, 12: 748447, 2021.
- 18) Carneiro LC, Cronin JG, Sheldon IM: Mechanisms linking bacterial infections of the bovine endometrium to disease and infertility. *Reprod Biol*, 16: 1-7, 2016.
- 19) Buzzaccarini G, Vitagliano A, Andrisani A, Santarsiero CM, Cicinelli R, Nardelli C, Ambrosini G, Cicinelli E: Chronic endometritis and altered embryo implantation: a unified pathophysiological theory from a literature systematic review. *J Assist Reprod Genet*, 37: 2897-911, 2020.
- 20) Wu D, Kimura F, Zheng L, Ishida M, Niwa Y, Hirata K, Takebayashi A, Takashima A, Takahashi K, Kushima R, Zhang G, Murakami T: Chronic endometritis modifies decidualization in human endometrial stromal cells. *Reprod Biol Endocrinol*, 15: 16, 2017.
- 21) Takebayashi A, Kimura F, Kishi Y, Ishida M, Takahashi A, Yamanaka A, Takahashi K, Suginami H, Murakami T: The association between endometriosis and chronic endometritis. *PLoS One*, 9: e88354, 2014.
- 22) Rotterdam H: Chronic endometritis. A clinicopathologic study. *Pathol Annu*, 13 Pt 2: 209-31, 1978.
- 23) Kannar V, Lingaiah HK, Sunita V: Evaluation of endometrium for chronic endometritis by using syndecan-1 in abnormal uterine bleeding. *J Lab Physicians*, 4: 69-73, 2012.
- 24) McQueen DB, Perfetto CO, Hazard FK, Lathi RB: Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*, 104: 927-31, 2015.
- 25) Bayer-Garner IB, Nickell JA, Korourian S: Routine syndecan-1 immunohistochemistry aids in the diagnosis of chronic endometritis. *Arch Pathol Lab Med*, 128: 1000-3, 2004.
- 26) Hirata K, Kimura F, Nakamura A, Kitazawa J, Morimune A, Hanada T, Takebayashi A, Takashima A, Amano T, Tsuji S, Kaku S, Kushima R, Murakami T: Histological diagnostic criterion for chronic endometritis based on the clinical outcome. *BMC Womens Health*, 21: 94, 2021.
- 27) Cicinelli E, Vitagliano A, Kumar A, Lasmar RB, Bettocchi S, Haimovich S: Unified diagnostic criteria for chronic endometritis at fluid hysteroscopy: proposal and reliability evaluation through an international randomized-controlled observer study. *Fertil Steril*, 112: 162-73. e2, 2019.
- 28) Guo GL, Chen SY, Zhang W, Zhang C, He L: Diagnosis value of hysteroscopy for chronic endometritis. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 40: 250-2, 2013.

- 29) Cicinelli E, Resta L, Nicoletti R, Zappimbulso V, Tartagni M, Saliani N: Endometrial micropolyps at fluid hysteroscopy suggest the existence of chronic endometritis. *Hum Reprod*, 20: 1386-9, 2005.
- 30) Tortorella C, Piazzolla G, Matteo M, Pinto V, Tinelli R, Sabbà C, Fanelli M, Cicinelli E: Interleukin-6, interleukin-1 β , and tumor necrosis factor α in menstrual effluents as biomarkers of chronic endometritis. *Fertil Steril*, 101: 242-7, 2014.
- 31) Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazán J, Alonso R, Alamá P, Remohí J, Pellicer A, Ramon D, Simon C: Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol*, 215: 684-703, 2016.
- 32) Kadogami D, Kimura F, Hanada T, Tsuji S, Nakaoka Y, Murakami T, Morimoto Y: Impact of *Lactobacillus* in the uterine microbiota on in vitro fertilization outcomes. *J Reprod Immunol*, 160: 104138, 2023.
- 33) Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Lepera A, Alfonso R, Indraccolo U, Marrocchella S, Greco P, Resta L: Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod*, 30: 323-30, 2015.
- 34) Vitagliano A, Saccardi C, Noventa M, Di Spiezio Sardo A, Saccone G, Cicinelli E, Pizzi S, Andrisani A, Litta PS: Effects of chronic endometritis therapy on in vitro fertilization outcome in women with repeated implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*, 110: 103-12. e1, 2018.
- 35) Pluzhnikova TA, Mikhina EA, Davydova NI, Shogiradze LD: Experience with intravenous immunoglobulin treatment in pregnant women with miscarriage and chronic endometritis. *Journal of obstetrics and women's diseases*, 67: 21-31, 2018.
- 36) Nakamura A, Kimura F, Tsuji S, Hanada T, Takebayashi A, Takahashi A, Kitazawa J, Morimune A, Amano T, Kushima R, Murakami T: Bovine lactoferrin suppresses inflammatory cytokine expression in endometrial stromal cells in chronic endometritis. *J Reprod Immunol*, 154: 103761, 2022.

ARTと着床免疫 ～着床不全症例に対するタクロリムス療法

Immunosuppressive agent, Tacrolimus, can improve the reproductive outcomes for the patients showing type 1 helper (Th1) cell/Th2 cell ratios who experienced multiple ART failures and repeated pregnancy losses

中川 浩次¹, 杉山 力一¹, 山口 晃史²

Nakagawa K¹, Sugitama R¹, Ymaguchi A²

¹ 杉山産婦人科新宿

² 国立成育医療研究センター 周産期・母性診療センター母性内科

¹ Sugiyama Clinic shinnjyuku

² National Center for Child Health and Development

要旨： 雌雄の配偶子である卵子と精子が結合して形成される細胞である受精卵は、母体(子宮)にとっては移植学的にsemi-allograftとみなすことができる。Semi-allograftは、通常、免疫学的に排除されるはずであるが、受精卵は排除されることなく着床し、出産まで母体内に保持することが可能である。このメカニズムに破綻が生じると反復着床不全(RIF)や習慣流産、さらには周産期合併症が生じる。妊娠成立とヘルパーT細胞の研究は30年以上も前から行われており、タイプ1ヘルパーT(Th1)細胞とタイプ2ヘルパーT(Th2)細胞のバランスが妊娠成立に重要であると考えられている。Th1/Th2細胞比をその指標として使用し、Th1/Th2比>10.3を免疫学的拒絶と考え、2011年より免疫療法として免疫抑制剤(タクロリムス)をRIF対策として使用している。本稿では、タクロリムス使用にまで至った経緯やその治療法、さらには今後の展望についても概説することとする。
キーワード：Th1/Th2比、タクロリムス、RIF、免疫抑制剤、RPL

英文要旨： Tacrolimus is an immunosuppressive drug which works as a calcineurin inhibitor and is currently being used to help reduce the risk of organ rejection among organ transplant recipients. In 2011, we gave Tacrolimus to infertility patients who had experienced repeated implantation failure (RIF) during ART treatment. The patients showed elevated type 1 helper T (Th1) /Th2 cell ratios, which we suspected were caused by immunological rejection, leading to a higher rate of RIF. Immunological reaction during pregnancy resembled those during organ transplantation as the embryo was recognized by the body as a transplanted organ. This caused a strong immunological response, with reduced immunological tolerance leading to implantation failure or miscarriage.

Th1 cells were defined as CD4+ lymphocytes with intracellular IFN- γ but without IL-4. Th2 cells were detected as CD4+ lymphocytes with intracellular IL-4 but without IFN- γ . The ratio of IFN- γ to IL-4 positive Th cells was expressed as the Th1/Th2 ratio. The cut-off value for starting tacrolimus treatment was Th1/Th2 cell ratios ≥ 10.3 . The dose of tacrolimus was selected depending on the Th1/Th2 cell ratios. Administration of tacrolimus started 2 days before embryo transfer. Our first report about tacrolimus treatment indicated that the clinical pregnancy rate (CPR) in the tacrolimus treatment group was significantly higher than that in the control group, and since then, higher CPR has been achieved among the RIF patients showing elevated Th1/Th2 cell ratios using tacrolimus. Moreover, tacrolimus could also significantly improve the take-home baby rate for repeated pregnancy loss (PRL) patients.

Currently, it has been reported that elevated Th1, Th17 and decreased Treg levels were associated with preeclampsia. Therefore, RIF patients with elevated Th1/Th2 ratio levels and/or low Treg might be candidates for preeclampsia. Tacrolimus can inhibit calcineurin in helper T cells, and as a result, secretion of several cytokines such as IL-2, INF- γ etc. were suppressed. Administration of tacrolimus for the RIF patients should be continued during pregnancy. Tacrolimus might prevent the occurrence of obstetrical complications such as preeclampsia and abruption.

キーワード：Th1/Th, Tacrolimus, RIF, immunosuppressants, RPL

はじめに

雌雄の配偶子である卵子と精子が結合して形成される細胞である受精卵は、母体(子宮)にとって半分は自分自身の細胞であるため自己、もう半分は精子由来の同種抗原を有するため非自己と考えることができ、移植学的に semi-allograft とみなすことができる¹⁾。つまり受精卵は完全に自己と一致していない、いわゆる「非自己」であるため、正常な免疫機能を有している女性の免疫反応により受精卵は拒絶されることが予測される。しかしながら、受精卵は拒絶されことなく子宮内膜に着床し、妊娠が成立する。今から60年以上前に Peter Medawar 博士が、免疫学的に異物である胎児胎盤がなぜ拒絶されないのか、という生殖免疫学の中心的命題を提起し²⁾、不思議な妊娠成立の免疫学的変化が研究されるようになった。異物認識の中心をなすのが T 細胞であり、CD4 分子を有するヘルパー T (Th) 細胞は様々なサイトカインを介して B 細胞による抗体産生や細胞障害性 T 細胞の機能を調節する³⁾。

Semi-allograft である受精卵を「異物」として拒絶する力が強い場合、受精卵は着床することなく排除され、着床に至らない。生殖補助医療 (ART) において、形態学的良好胚を複数回、胚移植を行っても妊娠成立に至らない状態を体外受精反復着床不全 (RIF) と定義⁴⁾されるが、この RIF 症例の中には、免疫学的に拒絶が強いため着床障害を生じている症例が少なからず存在することは、以前から指摘されていた。しかしながら、効果的で簡単な治療法がなかったため、脚光を浴びることはなかった。

ヘルパー T 細胞が免疫拒絶の指標になり得る？

1990 年代になって、この Th 細胞が産生するサイトカ

インにより 1 型ヘルパー T (Th1) 細胞と 2 型ヘルパー T (Th2) 細胞の 2 種類に大別され、そのバランスの変化が自己免疫疾患やアレルギーなどの病態に密接に関係することが明らかとなり、妊娠時の免疫応答も「Th2 有意」という状態で説明されるようになった⁵⁾。その後、Th2 有意の免疫状態が妊娠成立(着床や妊娠維持)には好ましい、とする考え方が主流となり⁶⁾、RIF 症例に Th1/Th2 比の上昇が認められるようになった⁷⁾。末梢血中の Th1 細胞 (CD4+; INF- γ + /IL-4-) と Th2 細胞 (CD4+; INF- γ - /IL-4+) を flow cytometry を用いて測定し、その比率 (Th1/Th2 比) を用いて拒絶の有無をチェックした⁸⁾。Th1/Th2 比の評価は、低温期に実施し、高温期は避けるようにしている。なぜならプロゲステロンが Th2 優位の免疫寛容状態を誘導するため、正確な評価ができなくなることを避けるためである⁹⁾。

拒絶の有無を判断するには基準が必要であるが、それまでは Th1/Th2 比を用いた免疫学的拒絶を判断する基準が存在していなかったため、基準を設定する必要があった。40 歳以下で、生児を得ている RIF ではない第 2 児不妊症症例 28 名の Th1/Th2 比の平均値 + 1SD (標準偏差) が 10.3 であったため、この 10.3 を基準値と定め、それ以上を示した場合を「上昇」、つまり拒絶があり、と定義した⁸⁾。我々の施設の RIF 症例 (n=448) のうち、37.7% (n=169) は Th1/Th2 比の上昇を示した (図 1)。Th1/Th2 上昇を「免疫学的拒絶あり」と考えた場合、RIF 症例の約 4 割の症例で「免疫学的拒絶あり」と診断することができた¹⁰⁾。

免疫学的拒絶の指標として「Th1/Th2 細胞比」が広く認知されてくると、あたかもヘルパー T 細胞が受精卵を攻撃しているような印象を抱いてしまう。しかし、実際は以下のようなメカニズムで受精卵の拒絶が生じていると推察される。まず、妊娠が成立するには semi-allograft

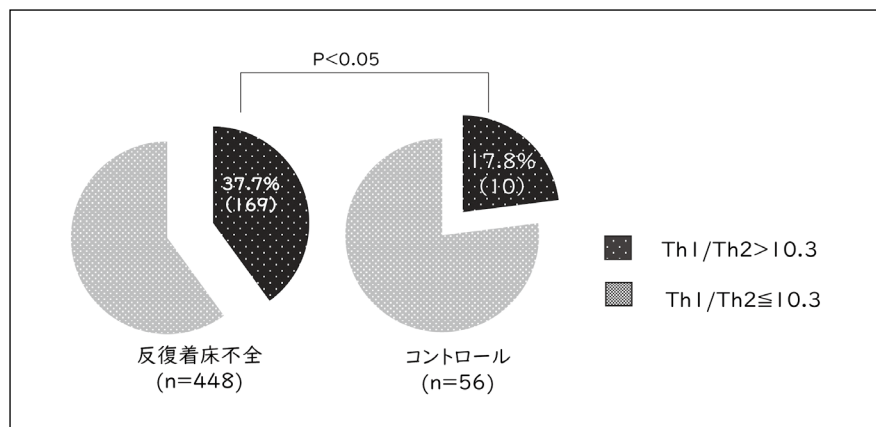


図 1 Th1/Th2 上昇を示す症例の頻度 (文献 10)

である受精卵(胚盤胞)がTh1細胞の探索から逃れる必要がある。Th1細胞は非自己の細胞(細菌、ウイルス、癌細胞等)の存在を探し、いわば「お巡りさん」のような役を担っていると考える(図2-a)。子宮内に移植されたり、子宮内膜に着床しかかっている受精卵は、容易にTh1細胞に「異物」として認識されると考えられるが、実際は認識されることはない。それを可能にしているのが制御性T細胞(Treg細胞)の存在である。受精卵は、Treg細胞によってTh1細胞の探索からうまく逃れる(隠れる)ことができ、「異物」として排除されることなく、子宮内膜に着床することが可能となる。一方、Th1細胞数が多い場合、Treg細胞では受精卵を隠し切れなくなり、結果として受精卵がTh1細胞に「異物」として認識され、着床が妨げられたり、着床後も排除されることとなる(図2-b)。

免疫学的拒絶には免疫抑制剤が効果的

移植外科領域では、移植された臓器(腎臓や肝臓等)が自己の臓器でない限り、免疫反応により拒絶される。この拒絶反応を解決するために、通常、免疫抑制剤が使用される。免疫抑制剤の代表的なものに副腎皮質ステロイドホルモン製剤(以下ステロイド製剤)を挙げることができる。欧米などでは免疫学的拒絶の有無に関わらず、胚移植後にステロイド製剤(プレドニンやデキサメサゾン等)が使用されることが少なくないが、これらのステロイド製剤は強力な抗炎症作用を示すため、子宮内膜の脱落膜化変化の際に必要な炎症反応(黄体ホルモンが惹起する子宮内膜の脱落膜化変化に伴う急性ストレス)や胚と脱落膜とのクロストークの際の炎症性サイトカインの産生を阻害してしま

い、着床を妨げることが懸念される¹¹⁾。

タクロリムスは、1987年に茨城県つくば市の土壌より分離されたバクテリアより産生されたタクロリムス類縁物質の1つであり、23員環マクロライド・マクロラクタム構造を持つ免疫抑制剤として開発された(日本では1993年に承認)¹²⁾。タクロリムスはT細胞内でFK結合タンパク(FKBP)と結合してタクロリムス-FKBP複合体を形成し、この複合体がカルシニューリンの活性化を阻害し、様々なサイトカインの産生(INF- γ 、IL-2等)を阻害する¹²⁾。つまり、タクロリムスはカルシニューリン阻害剤であり、T細胞の分裂増殖抑制ではなく、活性化を抑制することによりその効力を発揮する(図3)。分かりやすく解説すれば、受精卵を「異物」と認識したTh1細胞が、細胞障害性を有する細胞(マクロファージ等)へ「異物を認識した!」と伝える手段を遮断することによって、その効力を発揮する。カルシニューリン阻害剤としては、タクロリムスよりシクロスポリンの方が古くから(1972年にスイスのサンド社[現在のノバルティス社]が抗生物質開発中作業中にノルウェー南部の土壌から発見、日本での承認は1985年)臓器移植後の拒絶反応の抑制目的で使用されているため有名である。移植された胚を母体の免疫が拒絶することは、移植された臓器がレシピエントの免疫反応で拒絶されることと同様、つまり、異物を認識して拒絶すること、と考えた場合、免疫学的RIF症例の解決方法として免疫抑制剤の使用を選択することは決して飛躍しているとは思えない考え方と認識している。

カルシニューリン阻害剤としてのタクロリムスとシクロスポリンの特徴と副作用を表1へ示す¹³⁾。タクロリムスの方が半減期は長い、トラフ値が低いいため血中濃度で

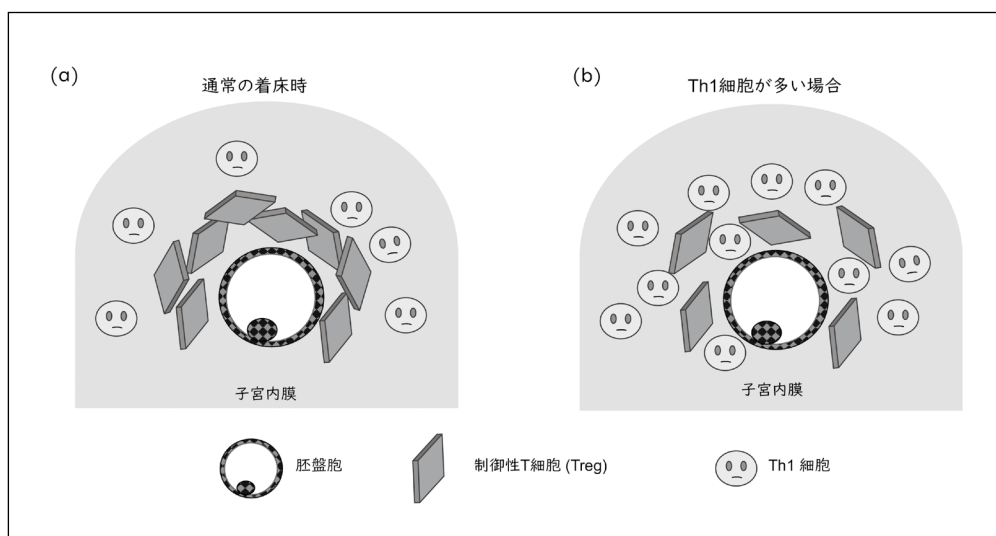


図2 受精卵(胚盤胞)がヘルパーT細胞の探索から逃れるメカニズムと認識されるメカニズム

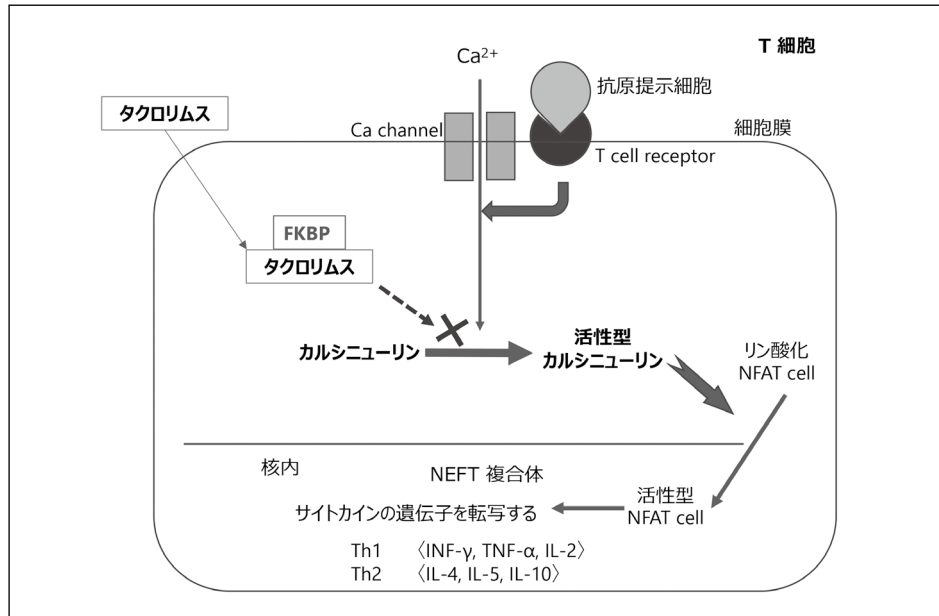


図3 T細胞内のサイトカイン産生メカニズムとタクロリムスの作用点(文献12 一部改変)

表1 各カルシニューリン阻害剤の特徴と有害事象の比較

	シクロスポリン	タクロリムス
半減期(T1/2)	35hr	5-18hr
トラフ値	5-10ng/ml	80-150ng/ml
腎障害	++	++
胃腸障害	+	+++
腎障害	++	++
高血圧	++	++
高血糖	+	++
高脂血症	++	+
多毛	+++	-

(日内会誌 98:2506~2511, 2009)

表2 当科におけるRIF症例に対するタクロリムスの治療成績

年	2018-2020	2011-2016	2011-2020
治療周期数	201	124	325
hCG+, n (%)	97 (48.3)	58 (46.8)	155 (47.7)
GS, n (%)	77 (38.3)	52 (41.9)	129 (39.7)
継続/出産, n (%)	61 (30.3)	42 (33.9)	103 (31.7)

表3 妊娠症例と非妊娠症例の免疫プロフィールの比較(2018-2020年)

	妊娠群	非妊娠群	
周期数	97	104	
年齢(歳)*	37.1±4.6	38.7±3.6	n.s.
Th1 (%) *	27.5±8.5	26.7±8.6	n.s.
Th2 (%) *	1.9±0.5	1.8±0.5	n.s.
Th1/Th2*	15.3±5.1	16.1±6.1	n.s.
High Th1 (%)	44.3%	38.5%	n.s.

High Th1:Th1>28.8を示した周期、*平均値±S.D.

の管理がしやすいことから、シクロスポリンよりかなり少ない量で効果が期待できること、という特徴を考慮し、我々はシクロスポリンではなくタクロリムスを免疫学的RIF症例の治療法として選択した。一方、胃腸障害、高血糖はタクロリムスの副反応として比較的高頻度に認められるため、妊娠中にも継続的にタクロリムス投与を行う場合、妊娠糖尿病に注意を要する必要がある。

実際の使用方法と臨床成績

表2に最近の当科におけるタクロリムスの臨床成績を示す。以前(2011~2016年)の我々の報告¹⁰⁾では、hCG陽性率:46.8%、臨床妊娠率:41.9%、継続妊娠/出産率:33.9%であったが、最近の成績(2018年~2020年)はhCG陽性率:48.3%、臨床妊娠率:38.3%、継続妊娠/出産率:30.3%であった。今回の成績を妊娠例と非妊娠例に分けて免疫学的プロフィール

を検討したが、年齢、Th1 値、Th2 値、Th1/Th2 比、さらに高 Th1 症例の割合を比較した結果を表3に示すが、妊娠群、非妊娠群に特徴的な傾向は認めなかった。

タクロリムスを経口投与した場合、主に十二指腸と回腸より吸収される。表1よりタクロリムスの半減期は35時間程度であるため、投与方法としては、1日1回夕食後に経口投与するよう指導している。投与開始は胚移植の2日前からとし、投与量は以前報告した基準とは異なり、Th1/Th2 比が10.3~15.8の場合2mg/日、15.8以上の場合は、3mg/日としている¹⁴⁾。

移植領域では、タクロリムス等の免疫抑制剤は血中濃度を一定に保つように投与量を管理している。現在は、タクロリムスを投与している症例に対しては、タクロリムスの血中濃度を測定しながら、その投与量を管理している。本薬剤は消化管からの吸収のため、投与量に見合った血中濃度に至っていない症例が時々ではあるが認められ、その管理には血中濃度の測定が好ましいと考えている。図4に各投与量における血中濃度の平均値を示す。投与開始の基準は上記に示す如くであるが、血中濃度を測定し、低い場合は増量、高い場合は減量をおこなっている。タクロリムスの有効血中濃度は、移植領域では血中トラフ値15~20ng/mlと高く設定されているが、膠原病領域では0.03~0.06mg/kg/日などトラフ値は5-10ng/mlに設定されている¹⁵⁾。

今後の可能性

タクロリムスを使用して妊娠に至っても、Th1/Th2 比が高い場合、結果として流産となってしまうケースも少なからず認める。妊娠が成立した場合、絨毛間腔へ侵入した絨毛外栄養膜 (EVT) は母体の Th1 細胞が多い場合、「異物」と認識され排除される可能性がある。この場合、

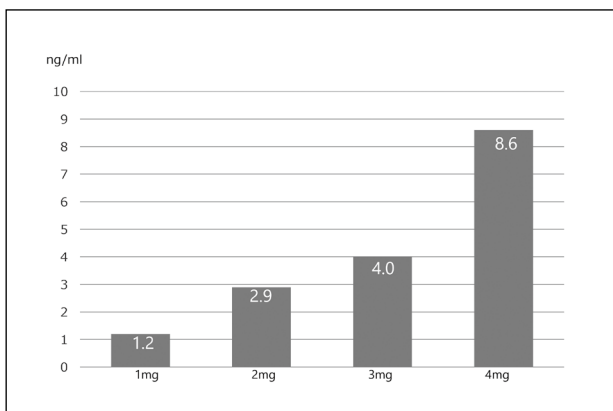


図4 タクロリムスの血中濃度 (夕1回の服用)

タクロリムスは Th1 細胞と異物排除を担う細胞 (マクロファージ等) との連絡を遮断する効果 (図5) があるので、流産治療の手段として期待できる。我々は、12回連続流産した習慣流産 (RPL) 症例に対して、タクロリムスを用いる (2mg/日) ことによって、13回目の妊娠は継続することができ、健児を得ることに成功している¹⁶⁾。この症例は第2児を希望され、第1児の時と同量で治療したが流産となってしまったため、タクロリムスを増量して使用することにより第2児を得ている。実際、Th1/Th2 比が高値を示す反復流産症例にタクロリムスを使用した場合、生児獲得率が使用しない場合に比して有意に高値を示した¹⁷⁾。以上の結果より、我々は、RIF 症例ばかりでなく RPL 症例に対しても、タクロリムスは有効な治療手段と考えている。

さらに、近年、Th1/Th2 比高値や Th1 高値、Treg 低値であることと、妊娠高血圧症候群 (HDP) の発症に因果関係があるとする報告がなされている¹⁸⁾。実際、我々は Th1/Th2 比高値の HDP や常位胎盤早期剥離 (早剥) 既往症例に対して、妊娠前から使用していたタクロリムスを妊娠後も継続し、HDP や早剥の周産期合併症を起こすことなく、健児を得ていることを報告している¹⁹⁾。

おわりに

2011年に、RIF 症例に対する対策に苦慮していた際に、「semi-allograft である受精卵が着床しないのは、免疫学的に拒絶されているのでは？」との考えから、免疫抑制剤であるタクロリムスの免疫学的 RIF 症例への応用へと進んでいった。表4にはその経緯をまとめている。さらに現在、「重症不妊症患者に対するタクロリムスの多施設共同2用量単群比較試験」が進行中であり²⁰⁾、本試験の結果によっては、近い未来に保険収載されることを期待している。

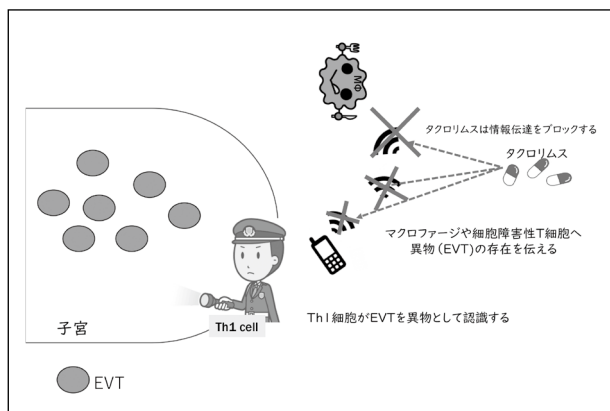


図5 タクロリムスが流産を防ぐメカニズム (仮説)

表 4 タムロリムスの生殖領域への応用の歴史

2011	RIF症例へタクロリムスの使用開始	
2015	RIF症例へのタクロリムスの有効性を世界で初めて報告	Nakagawa K, et al., AJRI 2015 (文献8)
2017	Th1 高値症例にはタクロリムスの増量必要と報告	Nakagawa K, et al., AJRI 2017
	12回連続流産症例への有効性を報告	Nakagawa K et al., <i>Reprod Med Biol</i> 2017 (文献16)
2018	ASRMの免疫療法のガイドラインに掲載	<i>Fertil Steril</i> 2018; 110: 387-400
2019	タクロリムス使用症例の周産期/新生児データ	Nakagawa K et al., AJRI 2019 (文献14)
	Rh不適合妊娠症例への有効性を報告	Nakagawa K, et al., <i>J Mat-Fetal Neonatal Med</i> 2019
2022	妊娠中のTh1/Th2細胞比変化を報告	Hisano M, Nakagawa K, et al., <i>Hum Fertil</i> 2022
	妊娠中のタクロリムス血中濃度の報告	Nakagawa K, <i>Immunology of recurrent pregnancy loss and Implantation failure, 2022</i> (文献3)
	不育症症例へのタクロリムスの有効性を報告	Nakagawa K, et al., <i>J womens Health Dev, 2022</i> (文献17)
2023	重症不妊症症例有効性の検討 –臨床試験–	Hisano M, Nakagawa K, et al., <i>Medicine, 2023</i> (文献20)
	妊娠高血圧症候群や早剥*予防	Hisano M, Nakagawa K, et al., <i>J Mat-Fetal Neonatal Med</i> 2023 (文献19)

参考文献

- 中川浩次:免疫操作法(1) – Th1/Th2 とタクロリムス. 臨産婦, 76: 107-110, 2022.
- Medawar PB: Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol*, 7: 320-338, 1953.
- Nakagawa K: Helper T cell pathology and repeated implantation failures. Kwak-Kim K, ed. *Pregnancy Loss and Implantation Failure, 1st Edition*, pp273-285, Academic Press, 2022.
- Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Fenghua L, Demiroglu A, Gurgan T, Cutting R, Ong K, Sallam H, Li TC: Recurrent implantation failure: definition and management. *Reprod Biomed Online*, 28: 14-38, 2014.
- WegmanTG, Lin H, Guilbert L, MOsmann TR: Bidirectional cytokine interactions in maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon? *Immunol Today*, 14: 353-356, 1993.
- 早川智・佐藤和雄: 妊娠と Th1/Th2. 炎症と免疫, 7: 251-259, 1999.
- Kwak-Kim J, Chung-Bang HS, Ng SC, Ntrivalas EI, Mangubat CP, Beaman KD, Beer AE, Gilman-Sachs A: Increased T cell 1 cytokines responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF. *Hum Reprod*, 18: 767-773, 2003.
- Nakagawa K, Kwak-Kim J, Ota K, Kuroda K, Hisano M, Sugiyama R, Yamaguchi K: Immunosuppression with tacrolimus improved reproductive outcome of women with repeated implantation failure and elevated peripheral blood Th1/Th2 cell ratios. *Am J Reprod Immunol*, 73: 353-361, 2015.
- 熊谷仁・平原潔・中山俊憲: 慢性炎症性病態形成と病原性 CD4T 細胞. *日本臨床免疫学会会誌* 39: 114-123, 2016.
- 中川浩次: 免疫学的環境に基づいた着床不全の治療戦略. *日産婦誌* 72: 1613-1617, 2020.
- 黒田恵司: 子宮内膜脱落膜化と着床不全. *産婦人科の実際* 69: 1043-1048, 2020.
- 山下道雄: タクロリムス (Fk506) 開発物語. *生物工程学*, 91: 141-154, 1988.
- 中川浩次: タクロリムスはどう作用し、どのように効くのか?. *臨産婦*, 74: 1252-1258, 2020.
- Nakagawa K, Kwak-Kim J, Hisano M, Kasahara Y, Kuroda K, Sugiyama R, Yamaguchi K: Obstetrical and perinatal outcome of the women with repeated implantation failures or recurrent pregnancy losses who received pre- and post-conception tacrolimus treatment. *Am J Reprod Immunol*, 82: e13142, 2019.
- 亀田秀人・小川祥江・鈴木勝也・長澤逸人: カルシニューリン阻害薬の使い方. *日内会誌*, 98: 2506-2511, 2009.
- Nakagawa K, Kuroda K Sugiyama R. After 12 consecutive miscarriages, a patient received immunosuppressive treatment and delivered an intact baby. *Reprod Med Biol*, 16: 297-310, 2017.
- Nakagawa K, Kwak-Kim I, Kuroda K, Horikawa T, takamizawa S, Hisano M, Kasahara Y, Sugiyama R,

Yamaguchi K: Takrolimus improved reproductive outcomes of women with recurrent pregnancy loss (RPL) showing elevated T helper 1 (Th1) /Th2 cell ratios. *J women's Health Dev*, 5: 264-270, 2023.

- 18) Salazar Garcia MD, Mobley Y, Henson J, Davies M, Skariah A, Dambaeva S, Gilman-Sachs A, Beaman K, Lampley C, Kawk-Kim J. Early pregnancy immune biomarkers in peripheral blood may predict preeclampsia. *J Reprod Immunol*, 125: 25-31, 2018.
- 19) Hisano M, Nakagawa K, Suzuki T, Sugiyama R, Yamaguchi K. Immunosuppressive therapy with tacrolimus is a potential drug candidate for the prevention of unexplained or preeclamptic stillbirths with Th1- dominant immune states: a case series of five patients. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 36: 2258254, 2023.
- 20) Hisano M, Nakagawa, K, Ono M, Yoshino O, Saito T, Hirota Y, Inoue E, Kikuchi K, Nakamura H, Yamaguchi K. Multicenter, 2-dose single-group controlled trial of tacrolimus for the severe infertility patients. *Medicine*, 102: e34317, 2013.

着床不全とネオ・セルフ抗体

Implantation failure and the anti- β 2GP I /HLA DR antibody

小野 洋輔¹, 和田 真一郎², 吉野 修¹, 山田 秀人³

Yosuke Ono¹, Shinichiro Wada², Osamu Yoshino¹, Hideto Yamada³

¹ 山梨大学医学部産婦人科 〒409-3898 山梨県中央市下河東1110

² 手稲溪仁会病院 産婦人科 〒006-0855 北海道札幌市手稲区前田1条12丁目1-40

³ 手稲溪仁会病院 不育症・ゲノム医療センター 〒006-0855 北海道札幌市手稲区前田1条12丁目1-40

¹ Department of Obstetrics and Gynecology, University of Yamanashi

² Department of Obstetrics and Gynecology, Teine keijinkai Hospital

³ Center for Recurrent Pregnancy Loss, Teine Keijinkai Hospital

要旨： HLA class II 分子による新たな自己免疫疾患発症機構により生じる、新規自己抗体であるネオ・セルフ抗体は、近年、多くの自己免疫疾患への関与が報告されている。ネオ・セルフ抗体の1つである抗 β 2GPI/HLA-DR抗体は、不育症のリスク因子として報告されたが、不妊症患者への関与についての検討はなされていなかった。最近、我々は、不妊症患者を対象に抗 β 2GPI/HLA-DR抗体を調べ、抗体の有無で患者背景や不妊症リスク因子を比較検討し、報告した¹⁾。その結果、不妊症患者の中に抗 β 2GPI/HLA-DR抗体陽性者が一定数存在すること、抗体陽性群に子宮内膜症の合併が多いこと、またART患者における抗体陽性群では、反復着床不全の既往が多いことが明らかとなった。我々の検討から、ネオ・セルフ抗体が、子宮内膜症合併不妊症や着床不全に関与する可能性が示唆された。

キーワード： 抗 β 2GP I /HLA-DR抗体, 子宮内膜症, 着床不全, ネオ・セルフ抗体

英文要旨： Neoself antibodies, which are novel autoantibodies generated by a new autoimmune disease pathogenesis mechanism by HLA class II molecules, have recently been reported to be involved in many autoimmune diseases. Anti- β 2GPI/HLA-DR antibody, one of the neoself antibodies, has been reported as a risk factor for recurrent pregnancy loss, but its involvement in patients with infertility has not been investigated. Recently, we examined anti- β 2GPI/HLA-DR antibodies in infertile patients and compared patient background and infertility risk factors with and without antibodies and reported the results¹⁾. The results revealed that a certain number of infertile patients were anti- β 2GPI/HLA-DR antibody-positive, that the antibody-positive group was more frequently complicated by endometriosis, and that the antibody-positive group of ART patients had a history of repeated implantation failure. Our study suggests that neoself antibodies may be involved in endometriosis-associated infertility and implantation failure.

キーワード： Anti- β 2GP I /HLA-DR antibody, endometriosis, implantation failure, neoself antibody

はじめに

抗リン脂質抗体をはじめとした複数の自己抗体が、不妊症患者に多く認められるとの過去の報告を受け、自己免疫異常の不妊症への関与が指摘されてきた。多くの研究がなされてきたが、自己抗体と不妊症の関連は、まだ議論のあるところである。近年、荒瀬らは、感染や炎症を契機に

細胞内のミスフォールドタンパク質が、ヒト白血球抗原クラスII (HLA-DR)により、誤って細胞表面に抗原提示され、この複合体に対する自己抗体(ネオ・セルフ抗体)が生じることを発見した^{2,3)}。ネオ・セルフ抗体は、関節リウマチをはじめとした多くの自己免疫疾患で報告が相次いでおり⁴⁾、産科領域でもネオ・セルフ抗体として、抗 β 2GPI/HLA-DR抗体が、抗リン脂質抗体症候群や不育症患者

で発見された^{5,6)}.抗β2GPI/HLA-DR抗体の抗原は,脱
落膜の血管内皮細胞に発現することが示されており,不
妊症の病態に関与している可能性がある.

本稿では,不妊症と抗β2GPI/HLA-DR抗体の関係を
調べるために,我々が不妊症患者224人に対して抗β
2GPI/HLA-DR抗体を調べたコホート研究¹⁾の結果を
中心に述べ,ネオ・セルフ抗体の着床不全の関与メカニ
ズムについても考察する.

1. 不妊患者全体におけるネオ・セルフ抗体

2020年9月1日から2021年12月31日の間に,倫理
委員会の承認の下,手稲溪仁会病院の不妊症外来に通
院する不妊患者224人を対象に観察研究が行われた.不
妊女性224人中40人(17.9%)が,抗β2GPI/HLA-
DR抗体陽性(cut off値:73.3 U)であった.抗β2GPI/
HLA-DR抗体陽性群と陰性群を比べると,抗体陽性患者
では,子宮内膜症の合併率が,抗体を有しない女性よりも
有意に高かった(陽性 vs 陰性;32.5%, 13/40 vs
17.4%, 32/184;P = 0.048,表1).224人の不妊
症患者のうち,45人が子宮内膜症を有し(revised-ASRM
stage II [n = 3], stage III [n = 19], stage IV [n =
23]),抗体陽性率は28.9%(13/45人)であり,子宮内
膜症女性45人の抗β2GPI/HLA-DR抗体の抗体価は,
非子宮内膜症女性179人の値よりも有意に高かった(子
宮内膜症 vs 非子宮内膜症;32.3 (6.5-531) U vs
20.4 (0-162800)U;P < 0.001,図1).

224人の不妊女性を対象にどの不妊リスク因子が,抗
β2GPI/HLA-DR抗体陽性と関連しているかを調べるた
めに多変量解析を行うと,子宮内膜症が,不妊女性におけ
る抗β2GPI/HLA-DR抗体陽性と関連する唯一有意な
因子であった(調整オッズ比[OR] 3.01, 95%信頼区
間[CI] 1.30-6.99;P = 0.010,表2).

2. ART 女性におけるネオ・セルフ抗体

224人の不妊患者中148人(66.1%)がARTを受
けたが,そのうち36人(24.3%が反復着床不全
(Repeated Implantation Failure; RIF)の既往があ
る患者であった.

ここでは,胚移植を3回施行しても妊娠に至らない場合
をRIFと定義し,生化学的妊娠は,妊娠に含めないことと
した.ARTを受けた148人のうち23人(15.5%)が抗β
2GPI/HLA-DR抗体陽性であった.ARTを受けた女性
のうち,抗体陽性群では,抗体陰性群と比較してRIFの割
合が,有意に高かった(陽性 vs 陰性;43.5%, 10/23
vs 20.8%, 26/125;P = 0.032,表3).RIF患者で
は,抗体陽性率が27.8%(10/36)と高かった.ART
を受けた148人における抗β2GPI/HLA-DR抗体価は,
RIFの既往の有無で差を認めなかったが,不妊症女性で
抗体価が200 U以上の8人全員がART患者であり,う
ち6人にRIFの既往を認めた(図2).抗体価が高いほど,
難治性の不妊症であった.

ART患者を対象にどのリスク因子が,抗β2GPI/HLA-

表1 抗β2GPI/HLA-DR抗体有無別の不妊症患者の背景

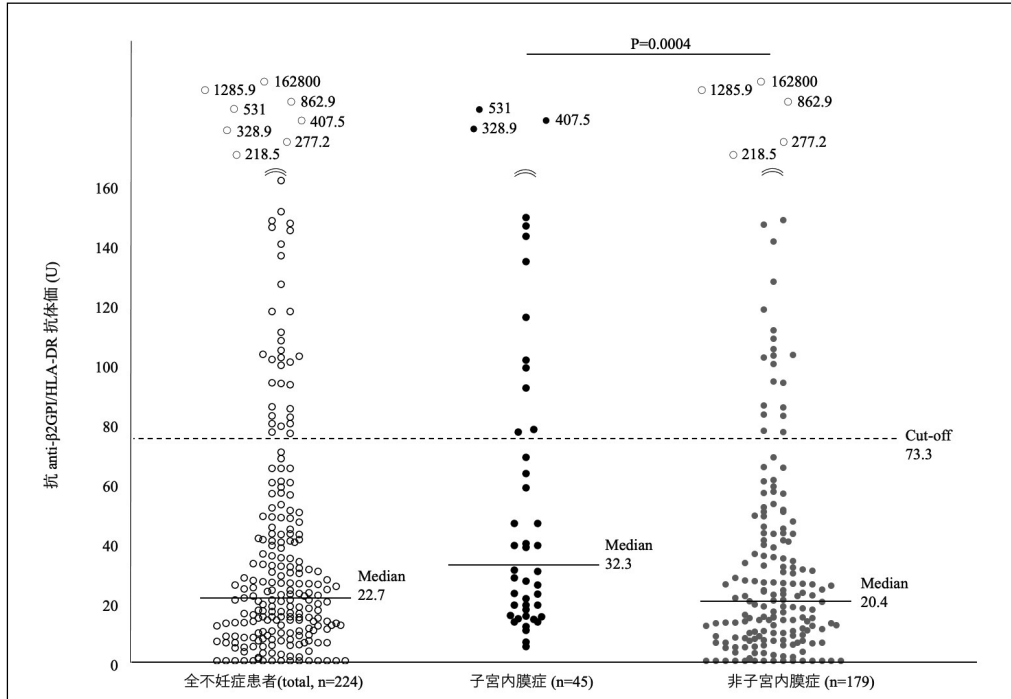
患者背景 (n=224人)	抗体陽性 n=40	抗体陰性 n=184	p 値
年齢 (歳)	35.1 ± 5.4	35.9 ± 4.4	0.341
BMI (kg/m ²)	22.9 ± 4.4	22.9 ± 4.7	0.928
経妊 (回)	1.6 ± 1.1	1.4 ± 1.4	0.337
経産 (回)	0.4 ± 0.6	0.3 ± 0.5	0.393
不育症歴あり	6 (15.0%)	20 (10.9%)	0.587
ART	23 (57.5%)	125 (67.9%)	0.269
子宮内膜症	13 (32.5%)	32 (17.4%)	0.048*
子宮筋腫	10 (25.0%)	33 (17.9%)	0.375
子宮内膜ポリープ	7 (17.5%)	36 (19.6%)	0.828
甲状腺機能異常	5 (12.5%)	24 (13.0%)	1.000
多嚢胞性卵巣症候群	5 (12.5%)	20 (10.9%)	0.783

Ono et al J Reprod Immunol 2023 を一部改定して掲載

means ± SD.

統計解析は, Student's t-test, Fisher's exact test を施行.

p 値 < 0.05 で有意差あり, * p < 0.05.



Ono et al J Reprod Immunol 2023 より抜粋

図1 不妊症患者 224 人における β 2GPI/HLA-DR 抗体価

表2 不妊症 224 人を対象とした抗 β 2GPI/HLA-DR 抗体陽性と関連するリスク因子の多変量解析

リスク因子	Odds ratio (95% CI)	p 値
年齢 (35歳以上)	0.72 (0.32-1.60)	0.413
BMI (kg/m^2)	1.29 (0.56-2.96)	0.544
妊娠既往	1.55 (0.73-3.27)	0.255
ART	0.56 (0.27-1.18)	0.130
子宮内膜症	3.01 (1.30-6.99)	0.010*
子宮筋腫	1.87 (0.77-4.56)	0.167
子宮内膜ポリープ	0.88 (0.35-2.25)	0.795
甲状腺機能異常	1.10 (0.37-3.23)	0.865
多嚢胞性卵巣症候群	1.27 (0.40-3.98)	0.686

Ono et al J Reprod Immunol 2023 を一部改訂して掲載

Logistic 回帰分析 (多変量解析) を施行.

p 値 < 0.05 で有意差あり, * p < 0.05.

DR 抗体陽性と関連しているかを調べるため、多変量解析を行うと、RIF は抗体陽性と有意な関連性を示した (調整 OR 2.92, 95% CI [1.05-8.11], P=0.040, 表4).

3. 子宮内膜症におけるネオ・セルフ抗体の関与の可能性

今回の検討から、器質的な子宮内膜症のある不妊女性では、抗 β 2GPI/HLA-DR 抗体陽性の有病率が

表 3 抗β2GPI/HLA-DR 抗体有無別の ART 患者の背景

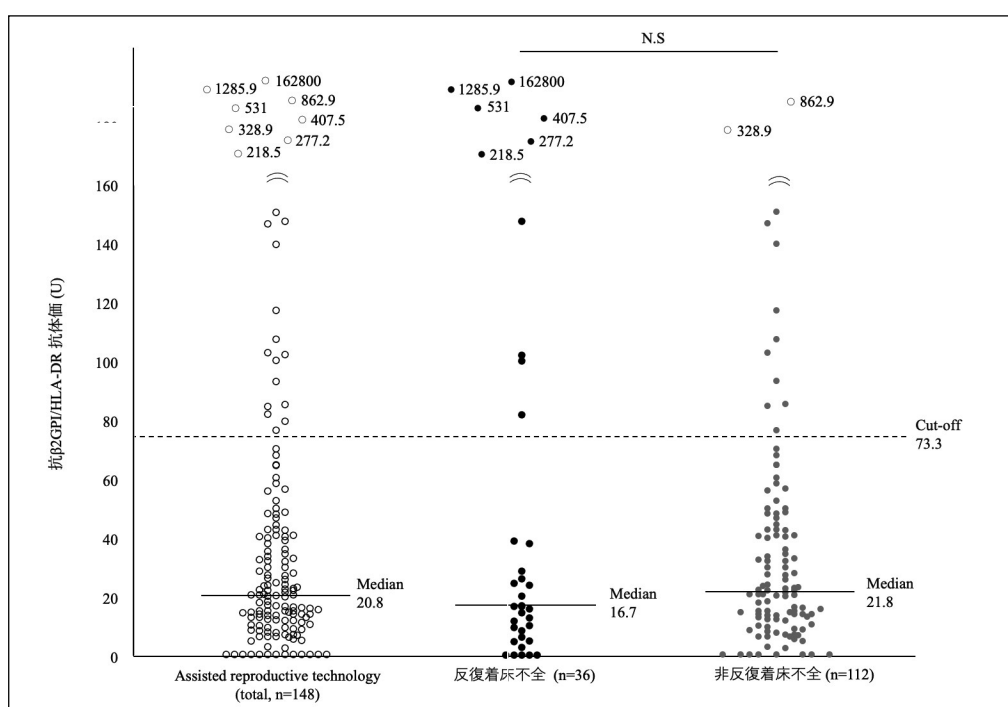
患者背景 n=148	抗体陽性 n=23	抗体陰性 n=125	p 値
年齢	36.3 ± 5.3	36.5 ± 4.2	0.799
BMI (kg/m ²)	23.8 ± 4.9	22.5 ± 4.4	0.206
経妊 (回)	2.0 ± 1.2	1.4 ± 1.5	0.073
経産 (回)	0.5 ± 0.7	0.3 ± 0.5	0.064
不育症	6 (26.1%)	15 (12.0%)	0.105
子宮内膜症	8 (34.8%)	27 (21.6%)	0.187
反復着床不全	10 (43.5%)	26 (20.8%)	0.032*

Ono et al J Reprod Immunol 2023 を一部改訂して掲載

means ± SD.

統計解析は, Student's t-test, Fisher's exact test で施行.

p 値 < 0.05 で有意差あり, * p < 0.05.



Ono et al J Reprod Immunol 2023 より抜粋

図 2 ART 患者 224 人における β2GPI/HLA-DR 抗体価

28.9%と高く,子宮内膜症を有することが,不妊女性における抗体陽性のリスク因子であることが明らかとなった.現在までに子宮内膜症と自己抗体の関連については,証明されていないが,過去の文献では,子宮内膜症などの器質的骨盤疾患を有する女性は,自己抗体の保有率が高いこととや^{7, 8)},子宮内膜症女性の正所性子宮内膜および子

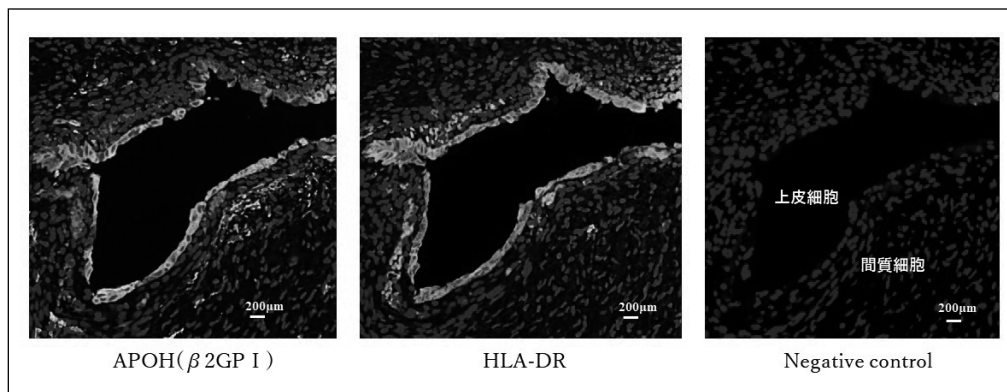
宮内膜症細胞にHLA-DR抗原が,発現していることなどが報告されている⁹⁾.最近の研究では,子宮内膜症患者の異所性子宮内膜症病変において,HLA-DRAおよびHLA-DRBの発現が,正常子宮内膜と比較して上昇していることが示されている^{10, 11)}.

子宮内膜症では,IL-6, IL-8, IL-1βなどの炎症性

表 4 ART148 人を対象とした抗 β 2GPI/HLA-DR 抗体陽性と関連するリスク因子の多変量解析

リスク因子	Odds ratio (95% CI)	p 値
年齢 (35歳以上)	0.71 (0.23-2.16)	0.542
BMI	1.85 (0.64-5.36)	0.258
妊娠既往	2.59 (0.84-7.92)	0.096
子宮内膜症	2.80 (0.91-8.55)	0.072
子宮筋腫	1.98 (0.54-7.32)	0.304
子宮内膜ポリープ	1.04 (0.29-3.79)	0.953
甲状腺機能異常	0.27 (0.03-2.36)	0.235
多嚢胞性卵巣症候群	2.82 (0.58-13.80)	0.201
反復着床不全	2.92 (1.05-8.11)	0.040*

Ono et al J Reprod Immunol 2023 を一部改訂して掲載
Logistic 回帰分析 (多変量解析) を施行
p 値 < 0.05 で有意差あり, * p < 0.05.



Ono et al J Reprod Immunol 2023 より抜粋

図 3 抗 β 2GPI/HLADR 抗体陽性患者の卵巣チョコレート嚢胞 (連続切片) における免疫染色
左: β 2GPI, 中央: HLA-DR, 右: negative control

サイトカインの産生により,骨盤内環境は,炎症状態にあることが知られる¹²⁾.ネオ・セルフ抗原が,感染や炎症などで発現が強くなることから考えると,この子宮内膜症の骨盤内炎症によって子宮内膜症病変に発現してくる可能性が考えられる.実際に,子宮内膜症患者の卵巣チョコレート嚢胞病変を免疫染色で評価すると,子宮内膜症病変の上皮と間質細胞の同部位に β 2GPIとHLA-DRが共発現しており(図3),これらの結果から,子宮内膜症の一部に,ネオ・セルフ抗体が関連している可能性が考えられた.

4. ネオ・セルフ抗体の着床不全への関与

自己抗体,特に抗リン脂質抗体とRIFとの関係については多くの研究がなされてきた. Gevaraが行った前向き研究では,抗核抗体,抗dsDNA抗体,リウマチ因子,抗カルジオリピン抗体,ループスアンチコアグulantなど,少なくとも1つの自己抗体が陽性であったRIF女性において,アスピリンとプレドニゾロンの併用療法が妊娠率を改善させた¹³⁾.一方で, Sternらの行った無作為化二重盲検プラセボ対照試験では,抗核抗体,抗リン脂質抗体,抗 β 2GPI抗体陽性のRIF女性において,アスピリンとヘパリンの併用療法は妊娠率と着床率を改善しなかった¹⁴⁾.このように,

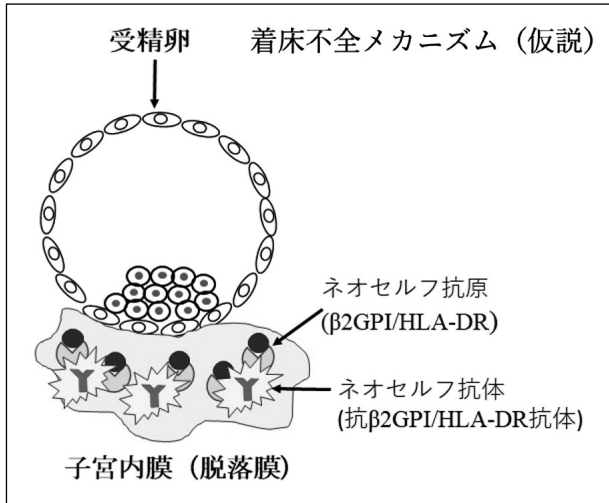


図4 抗 β 2GPI/HLADR抗体の着床不全への関与メカニズムのシエマ(仮説)

現段階で自己抗体または抗リン脂質抗体とRIFとの因果関係については結論づけるのは難しい¹⁵⁾。

今回の検討では、RIFの既往患者にネオ・セルフ抗体陽性者が多かった。ネオ・セルフ抗体は、従来の自己抗体と獲得機序が異なることから、着床時に何らかの影響を及ぼす可能性が示唆される。谷村らは、抗リン脂質抗体症候群や不育症患者において、 β 2GPI/HLA-DR抗原が、子宮内膜の血管内皮細胞に発現し、血栓症の原因となることを報告している⁶⁾。今回の検討結果と合わせて考えると、子宮内膜症の骨盤内炎症が、子宮内膜症病変だけでなく、正所性子宮内膜におけるネオ・セルフ抗原の発現も強め、着床時にネオ・セルフ抗体の標的となる可能性がある。Preliminaryな検討で、RIF既往のあるネオ・セルフ抗体陽性患者の正所性子宮内膜を免疫染色すると、卵巣チョコレート嚢胞と同様に子宮内膜にネオ・セルフ抗原の発現を認めた。すなわち着床時に抗 β 2GPI/HLA-DR抗体は、子宮内膜を標的として血栓が生じさせ、着床が阻害される可能性が考えられる(図4)。今後さらに関与メカニズムについて検討していく必要がある。

5. 今後の展望

今回の検討からネオ・セルフ抗体が、子宮内膜症合併不妊や着床不全に関与する可能性が示唆された。今後も前向きコホート研究を継続し、抗体陽性の不妊患者の妊娠予後を調べるとともに、抗血小板療法や抗凝固療法などの治療効果についても検討の余地があると考えられる。また、抗 β 2GPI/HLA-DR抗体価と子宮内膜症の重症度との相関や子宮内膜症に対する手術やホルモン療法

によるネオ・セルフ抗体価の変化についても明らかにしていくことで、子宮内膜症を合併不妊症に対する新たな治療戦略に繋がる可能性がある。

6. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご指導ご鞭撻を賜りました手稲溪仁会病院 不育症・ゲノム医療センター長の山田秀人先生に深く感謝の意を表します。

7. 参考文献

- 1) Ono Y, Wada S, Ota H, Fukushi Y, Tanimura K, Yoshino O, Arase H, Yamada H: Anti- β 2 glycoprotein I/HLA-DR antibody in infertility. *J Reprod Immunol*, 158: 103955, 2023.
- 2) Jiang Y, Arase N, Kohyama M, Hirayasu K, Suenaga T, Jin H, Matsumoto M, Shida K, Lanier L L, Saito T, et al: Transport of misfolded endoplasmic reticulum proteins to the cell surface by MHC class II molecules. *Int Immunol*, 25: 235-246, 2013.
- 3) Jin H, Kishida K, Arase N, Matsuoka S, Nakai W, Kohyama M, Suenaga T, Yamamoto K, Sasazuki T, Arase H: Abrogation of self-tolerance by misfolded self-antigens complexed with MHC class II molecules. *Sci Adv*, 8: eabj9867, 2022.
- 4) Jin H, Arase N, Hirayasu K, Kohyama K, Suenaga T, Saito F, Tanimura K, Matsuoka Sumiko, Ebina, K, Shi K, et al: Autoantibodies to IgG/HLA class II complexes are associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Proc. Natl Acad Sci USA*, 111: 3787-3792, 2014.
- 5) Tanimura K, Saito S, Nakatsuka M, Nagamatsu T, Fujii T, Fukui A, Deguchi M, Sasagawa Y, Arase N, Arase H, et al: The β 2-Glycoprotein I/HLA-DR complex is the major autoantibody target in obstetric antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheumatol*, 72: 1882-1891, 2014.
- 6) Tanimura KT, Jin H, Suenaga T, Morikami S, Arase N, Kishida K, Hirayasu K, Kohyama M, Ebina Y, Yasuda S, et al: β 2-Glycoprotein I/HLA class II complexes are novel autoantigens in antiphospholipid syndrome. *Blood*, 125: 2835-2844, 2015.
- 7) Sher G, Feinman M, Zouves L, Kuttner G, Maassarani G, Salem R, Matzner W, Ching W, Chong P: High fecundity rates following in vitro fertilization and embryo transfer in antiphospholipid antibody seropositive women treated with heparin and aspirin. *Hum Reprod*, 9: 2278-2283, 1994.
- 8) Nip MMC, Taylor PV, Rutherford AJ, Hancock KW: Autoantibodies and antisperm antibodies in sera and follicular fluids of infertile patients: relation to reproductive outcome after in-vitro fertilization. *Hum Reprod*, 10: 2564-2569, 1995.
- 9) Ota, H, Igarashi S: Expression of major histocompatibility complex class II antigen in endometriotic tissue in patients with endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril*, 60: 834-838, 1993.
- 10) Ahn SH, Khalaj K, Young SL, Lessey Koti M, Tayade C: Immune-inflammation gene signatures in endometriosis

patients. *Fertil Steril*, 106: 1420-1431, 2016.

- 11) Zhu S, Wang A, Xu W, Hu L, Sun J, Wang X: The heterogeneity of fibrosis and angiogenesis in endometriosis revealed by single-cell RNA-sequencing. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1869: 166602, 2022.
- 12) Taketani Y, Kuo TM, Mizuno M: Comparison of cytokine levels and embryo toxicity in peritoneal fluid in infertile women with untreated or treated endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*, 167: 265-270, 1992.
- 13) Geva E, Amit A, Liat LG, Yaron Y, Daniel Y, Schwartz T, Azem F, Yovel I, Lessing JB: Prednisone and aspirin improve pregnancy rate in patients with reproductive failure and autoimmune antibodies: a prospective study. *Am J Reprod Immunol*, 43: 36-40, 2000.
- 14) Stern C, Chamley L, Hale L, Baker HWG: A randomized, double-blind, placebo- controlled trial of heparin and aspirin for women with in vitro fertilization implantation failure and antiphospholipid or antinuclear antibodies. *Fertil Steril*, 80: 376-383, 2003.
- 15) Hornstein M, Davis O, Massey J, Paulson R, Collins J: Antiphospholipid antibodies and in vitro fertilization success: a meta-analysis. *Fertil Steril*, 73: 330-333, 2000.

着床不全とNatural Killer細胞異常 ～イントラリピッド療法と免疫グロブリン療法の効果～

Implantation failure with Natural Killer cell abnormality;
Intralipid therapy and Intravenous Immunoglobulin therapy for implantation failure patients

山谷 文乃, 福井 淳史, 柴原 浩章

Ayano Yamaya, Atsushi Fukui, Hiroaki Shibahara

兵庫医科大学医学部産科婦人科 〒663-8501 兵庫県西宮市武庫川町 1-1
Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Hyogo Medical University

要旨： 胚が子宮内膜に着床する過程で、免疫反応はなくてはならないものである。着床周辺期のNatural Killer(NK)細胞は子宮内膜のリンパ球の約70%を占め、着床において重要な役割を示し、その異常は末梢血・子宮内膜双方で起こりうるもので着床不全との関連性が報告されている。NK細胞異常は主に免疫過剰状態であることが報告されているが、免疫不活化状態でも着床不全になることが知られている。その治療法として、その免疫状態に合わせて活性化させる治療と抑制する治療が挙げられる。我々はNK細胞の細胞傷害性の強い着床不全患者に対して静脈内免疫グロブリン(Intravenous Immunoglobulin: IVIG)療法とイントラリピッド療法の比較試験を行い、双方とも遜色ない良好な結果が得られた。今後は十分なコンセンサスが得られるようデータの集積が課題である。

キーワード： Natural Killer細胞, イントラリピッド, 静脈内免疫グロブリン, 着床不全
ランニングヘッド： 着床不全とNK細胞異常, 脂肪乳剤とIVIGの効果

英文要旨： The immune response is an essential part of the process of embryo implantation into the endometrium. Natural killer (NK) cells in the peri-implantation period account for about 70% of lymphocytes in the endometrium and play an important role in implantation. It has been reported that implantation failure is mainly caused by immune overload, but it is also known that immune inactivation can also cause implantation failure. NK cell abnormalities can occur in both the peripheral blood and endometrium in implantation failure. The treatment methods include activation and suppression of NK cells according to their immune status. We conducted a comparative study of Intravenous Immunoglobulin (IVIG) therapy and Intralipid therapy in patients with implantation failure with NK cell abnormality, and found that both treatments were comparable. Future work is needed to accumulate data so that a sufficient consensus can be reached.

キーワード： implantation failure, intralipid, intravenous immunoglobulin, Natural Killer cell

緒言

着床不全は近年まで明確に定義されていなかったが、2023年のESHREガイドラインにおいて、着床が成立しなかった移植回数や移植胚の個数だけではなく、年齢やPGT-Aの有無を加味した着床成功率の閾値が60%を超えてもなお着床に至らないものを臨床的反复着床不全と定義された¹⁾。本邦でもPGT-Aを施行する例が増加して

おり、保険適用に向けて先進医療Bが進められているが、PGT-Aで正常胚を移植しても着床しない、流産に陥る例があることは本邦のパイロット研究・特別臨床研究でも明らかとなっており²⁾、今後胚の異常によらない着床不全の原因究明が注目されることは想像に難くない。しかし、着床不全の原因を診断するのは容易ではなく、さまざまな研究が行われている。ここでは免疫因子、特にNatural Killer (NK) 細胞異常と着床不全の関連性について述べ、

報告されている治療法を自験例も含めて述べていく。

着床不全とNK細胞異常

半分非自己である胚を母体が受け入れ妊娠が成立・維持するためには免疫反応が密接に関与している。特にNK細胞は、末梢血ではリンパ球の5~15%しか存在しないが³⁾、子宮内膜では月経周期によってその数は変動し、黄体中期から妊娠初期にかけて増加して子宮内に存在するリンパ球の約70%を占めるようになる⁴⁾。NK細胞はHLAクラスIを認識し、細菌や癌細胞など異物を攻撃して自己を守る働きをすることが知られているが、子宮NK細胞は感染から子宮内を保護しながら母体と胎児の免疫寛容にも関与し、児に対して保護的に働く^{5,6)}。また、母体の脱落膜への栄養膜細胞の過剰侵入を妨げる役割も担っている⁶⁾。着床周辺期での子宮NK細胞のはたらきは、栄養膜浸潤を直接促進するサイトカイン(IL-10やIL-8など)を産生し、さらに血管新生因子であるVEGF、胎盤増殖因子などを産生する⁷⁻⁹⁾。また、脱落膜間質細胞から分泌されるケモカインやサイトカインは末梢血から組織へNK細胞を誘導し、NK細胞の細胞毒性や活性化受容体発現を抑制し、子宮NK細胞とともに栄養膜浸潤を調整している¹⁰⁻¹³⁾。妊娠が起こらず月経が起こる最初の形態学的兆候に、粘膜破壊に先立つ子宮NK細胞の核断片化があり^{14,15)}、子宮NK細胞が子宮内膜の破壊を防ぐ役割を担っている可能性がある¹⁶⁾。

NK細胞はこのように細胞を傷害する役割と細胞を保護する役割という相反する役割を持っている。その機能分担は細胞表面に発現する表面抗原で判別され、その分布や割合は末梢血と子宮内膜では異なっている。すなわち、末梢血のNK細胞は子宮内膜や脱落膜のNK細胞を必ずしも反映していない。着床の時期や胎盤形成される前までは母体末梢血と児が直接接触合わず子宮内膜と胚との接着の問題であるため子宮内膜の免疫環境が妊娠成立に影響している可能性が高いが、絨毛が形成されたあと、絨毛間腔には末梢血が流れ込むため絨毛組織と末梢血が直接接し、脱落膜だけでなく母体の末梢血NK細胞環境が児に直接影響する可能性がある¹⁶⁾。では、末梢血と子宮内膜ではNK細胞の分布が異なり、末梢血が胚と直接接触合わないのであれば、末梢血のNK細胞環境は全く着床に関与しないのかという疑問が生じる。すなわち、子宮NK細胞の由来はどこなのかということである。子宮内膜に限らず、あらゆる臓器組織中のNK細胞分布は末梢血とは異なり、また臓器ごとでも異なっていると報告されている¹⁷⁾。子宮NK細胞の由来は、末梢血からリクルートされるものと子宮内膜で分化増殖するものがある¹⁸⁾。すなわ

ち、子宮NK細胞の一部は接着因子やケモカインによって末梢血から遊走されるため^{17,19)}、末梢血NK細胞異常が子宮内膜の環境に影響を与えている可能性がある。

以上より、末梢血と子宮内膜双方のNK細胞異常が着床不全に関与している可能性がある。Kwak-Kimらは、着床した患者と比して着床しなかった患者では胚移植時の末梢血CD56+ NK細胞、CD56+/CD16+ NK細胞の割合が高値であったと報告している⁵⁾。NK細胞に発現する抑制性のKIR (killer immunoglobulin-like receptor)はHLAクラスIをリガンドとしており、トロホブラストのHLA-Cを認識して抑制的に働き、KIR発現は末梢血より子宮内膜で発現量が多いとされているが²⁰⁾、NowakらはKIRの発現異常が着床不全を引き起こすと報告している²¹⁾。また、母体KIRと父系HLA-C変異の特定の組み合わせが生殖異常や児の発育とも関与するともいわれている^{20,22)}。子宮内膜における遺伝子発現を調査した報告によると、IL-15、グランザイムBの遺伝子発現がNK細胞の増殖と子宮内膜の脱落膜化に関わり²³⁾、そのほか間質細胞のプロゲステロンシグナル伝達や組織恒常性に関わる分子とともに脱落膜化スコアとして着床不全の診断と治療法の選択が検討されている。これまで我々は、黄体期中期の子宮内膜を採取し子宮NK細胞を解析することで、妊娠成立時の子宮腔の状態を知る試みを行っている。採取した黄体期中期の子宮内膜を物理的に粉碎し、フローサイトメトリーにて子宮NK細胞を解析したところ、不育症や反復着床不全では細胞傷害性の強いCD16+CD56dim細胞の割合が高値であることを報告した²⁴⁾。また、NK細胞の活性化受容体のひとつであるNKp46発現は着床不全や不育症で低下しており、その低下は子癩前症や妊娠糖尿病、子宮内膜症でもみられることを報告している²⁵⁾。免疫過剰活性化状態が着床不全の原因のひとつとして挙げられるが、着床において炎症が起こることも必要であり、着床不全には免疫過剰活性化群と不活化群がいることも示されている²⁶⁾。すなわち、免疫状態が適度に調整されていることが重要と考えられる。

着床不全に対するNK細胞検査の世界的な位置づけ

本邦における生殖医療ガイドラインでは着床不全に対するNK細胞検査の推奨度は明言されていないものの、2023年のESHREのガイドラインでは着床不全の検査として末梢血および子宮内膜のNK細胞検査は推奨されないと記載されている¹⁾。これは、単純なNK細胞の総数を評価することが子宮内膜環境を反映していない可能性やNK細胞の定量化や評価する手段が研究間で大幅に異なることが挙げられている。受容体などの機能検査はより

臨床的価値がある可能性があり、NK細胞が効果的な介入の潜在的な標的であることが示唆されている¹⁾ものの、データが不十分でまだコンセンサスが得られていないため、確率された検出方法とデータの集積が今後の課題と考えられる。

NK細胞異常のある着床不全に対する治療法

NK細胞異常のある着床不全に対する治療法はさまざま検討されているが、活性化状態にあるものに対しては免疫抑制、抑制状態にあるものに対しては炎症を惹起する治療が試みられている。子宮NK細胞が低下していたりIL-15発現が低下している着床不全において、子宮内膜スクラッチが有効であったと報告されている²⁶⁾。グルココルチコイドはNK細胞の細胞傷害性を低下させる効果や腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 産生を抑制する効果、子宮NK細胞レベルの低下が報告されている^{27,28)}。免疫グロブリンはNK細胞活性を正常化させるとされ、着床不全症例においても用いられている報告がある^{29,30)}。イントラリピッドもNK細胞異常を正常化すると報告されているが、着床不全に対するイントラリピッド療法が臨床的妊娠率、出生率ともに治療成績を改善するという報告や^{31,32)}妊娠成績は改善しなかったとする報告もあり³³⁾、十分なエビデンスはまだない。

本邦の生殖医療ガイドラインではNK細胞異常に対する治療としてグルココルチコイド、IVIg、イントラリピッドがCQ35において推奨度Cとして記載されている³⁴⁾。韓国のIVIg使用のガイドラインでは、原因不明の着床不全

に対して盲目的に免疫グロブリンを投与すべきではなく、NK細胞の状態やTh1/Th2比などの免疫学的検査の結果を基に投与すべきであるとしている³⁵⁾。カナダのガイドラインでは、免疫グロブリン、イントラリピッド、グルココルチコイドなど免疫治療は研究目的に限定的に使用されるべきであるとしている²⁷⁾。ESHREのガイドラインでは、免疫グロブリン、イントラリピッドの使用は推奨されないと記載されているものの、それぞれの効果を示す報告はあり、RCTが望まれるとされている¹⁾。

1. IVIg療法

免疫グロブリンは、重症感染症や特発性血小板減少症に使用される血液製剤である。免疫状態を正常化させることから、免疫異常のある不育症や着床不全において効果があると考えられている。IVIgの作用機序を図1に示す。末梢血中のNK細胞異常のある着床不全に対してIVIg療法を行ったところ、治療を行わなかった群に比して有意に臨床妊娠率が高かったという報告が散見される^{29,36,37)}。免疫グロブリンの半減期は18～25日であるため、400mg/kgを3～4週間毎に投与する報告がいくつか存在する^{29,35)}。また、着床不全では胚移植前に投与することが妊娠成績を良好にすると報告されているが^{29,30)}、何日前に投与するのかは一定していない。注意事項としては、本剤は血液製剤であるため投与前に説明のうえ同意書を取得する必要がある。なおIgA欠損症の場合は投与禁忌であるため、IgAの有無につき投与前に検査する必要がある。

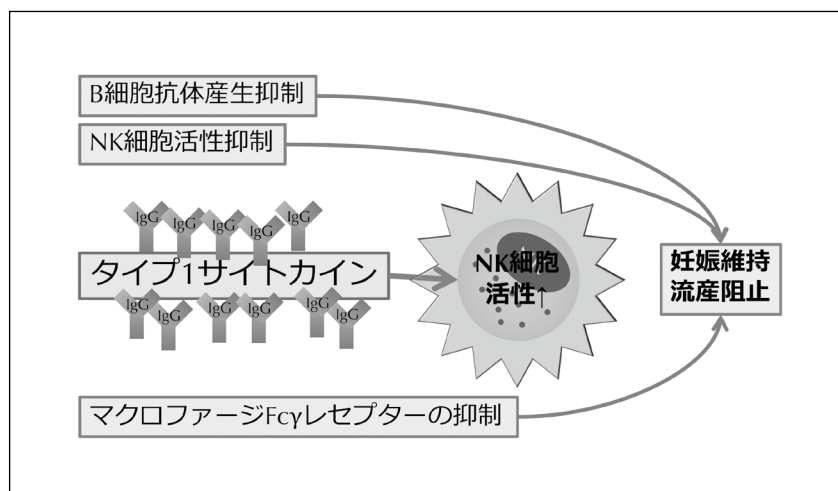


図1 免疫グロブリン (IVIg) の作用機序

IVIgが不育症に効果を示す作用機序は未だ不明であるが、免疫グロブリンが炎症性サイトカインや自己抗体に結合することで、炎症反応を調整し免疫細胞にも影響を与えられられる。

2. イントラリピッド療法

イントラリピッドは大豆油、グリセリン、卵リン脂質、グリセロールなどから構成される合成脂肪乳剤であり、術前・術後の栄養補給、妊娠悪阻の点滴などに用いられている。NK細胞活性や炎症性サイトカインも抑えるため、細菌感染の抵抗力を弱め細菌性敗血症のリスクを高める可能性について懸念されていたが³⁸⁾、のちにイントラリピッド投与によって外科手術患者の死亡率と入院期間が減少したことや³⁹⁾、敗血症患者の生存期間の改善に関連していることが報告された⁴⁰⁾。同様に、NK細胞異常のある着床不全や不育症に対して効果があるものと考えられ、研究が進められている(図2)^{32,41)}。着床不全に対してイントラリピッドを使用した報告では、臨床的妊娠率、生産率ともに改善がみられた^{31,32)}。IVIGと同様に投与開始時期や投与量、投与間隔は研究によってさまざまであるが、着床不全を対象とした場合は移植前に投与している。イントラリピッドの点滴治療の際は、急速に投与すると脂肪滴が血管内に形成される可能性があるため、添付文書上は10%液500mL・20%液250mLを3時間以上かけて点滴静注することが推奨されている。

3. IVIG療法とイントラリピッド療法の比較試験

前述のようにIVIGは血液製剤のひとつで重篤な患者

で使用されるため、闇雲に着床不全や不育症で投与され限られた供給品を減らすべきではない^{1,42)}。また、着床不全患者で使用する場合は自費投与となり、かなり高額となる。一方、イントラリピッドは自費投与であったとしても低価格であり、比較的投与しやすい製剤である。イントラリピッドとIVIGを直接比較した研究は少ないが、Coulamらは、NK細胞の細胞毒性が上昇している生殖不全の患者の妊娠転帰を、年齢および適応症が一致させたうえでIVIGとイントラリピッドで比較したところ、治療サイクルあたりの出産率はイントラリピッドで61%、IVIGで56%であり有意差は認めなかったと報告している⁴¹⁾。Mengらは、NK細胞異常のある不育症において、イントラリピッドとIVIGでNK細胞活性を同等に低下させ、かつ妊娠成功率も同等であることを示した⁴³⁾。

我々は、黄体中期の末梢血NK細胞活性高値、子宮内膜CD56dim/CD16+ NK細胞高値である着床不全を対象にイントラリピッドもしくはIVIGを投与し、それぞれの妊娠率を評価した。IVIGは1回15g、イントラリピッドは1回50g(20%, 250mL)を投与した。その結果、イントラリピッド、IVIGともに妊娠率が40%以上あり、有意差はみられていない(未発表データ)。また、投与時期別に解析すると、イントラリピッド・IVIGともに胚移植前に投与する方が胚移植日当日もしくは胚移植後に投与するよ

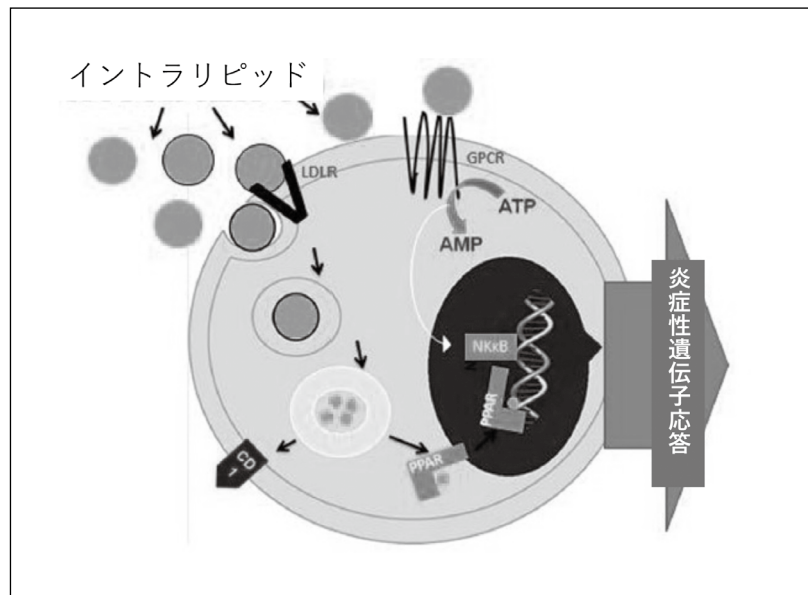


図2 イントラリピッドの作用機序(Coulamら, 2021³²⁾ 図2を一部改変) イントラリピッドがNK細胞を抑制する作用機序は未だ不明であるが、脂質粒子がGタンパク質共役受容体(G protein-coupled receptor; GPCR)のリガンドとして働き、NK細胞内のcAMPシグナル経路、NF-κB経路を活性化してDNA転写に影響を与え、また、脂質粒子はLDLレセプターを介してNK細胞内に取り込まれ、CD1受容体、ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体(Peroxisome proliferator-activated receptor; PPAR)に作用して、炎症促進遺伝子の発現を減弱させる。

りも妊娠成績が良好であった(未発表データ)。イントラリピッドはIVIGの治療成績と遜色ないものと考えられる。ただし、イントラリピッドとIVIGではNK細胞に対するメカニズムが異なると考えられ、治療の個別化は今後検討が必要である。

結 語

着床不全とNK細胞異常の関連性について大規模なRCTやデータの統一性がなく、十分なコンセンサスが得られておらず、また、治療法についても同様である。しかし、決してNK細胞検査が不要というわけではなく多数の有用性が示されており、今後はさらなるデータの集積が必要である。

参 考 文 献

- 1) Failure EWGoRI, Cimadomo D, de Los Santos MJ, Griesinger G, Lainas G, Le Clef N, McLernon DJ, Montjean D, Toth B, Vermeulen N, Macklon N: ESHRE good practice recommendations on recurrent implantation failure. *Hum Reprod Open*, 2023: hoad023, 2023.
- 2) Iwasa T, Kuwahara A, Takeshita T, Taniguchi Y, Mikami M, Irahara M: Preimplantation genetic testing for aneuploidy and chromosomal structural rearrangement: A summary of a nationwide study by the Japan Society of Obstetrics and Gynecology. *Reprod Med Biol*, 22: e12518, 2023.
- 3) Manaster I, Mizrahi S, Goldman-Wohl D, Sela HY, Stern-Ginossar N, Lankry D, Gruda R, Hurwitz A, Bdolah Y, Haimov-Kochman R, Yagel S, Mandelboim O: Endometrial NK cells are special immature cells that await pregnancy. *J Immunol*, 181: 1869-1876, 2008.
- 4) Vacca P, Vitale C, Montaldo E, Conte R, Cantoni C, Fulcheri E, Darretta V, Moretta L, Mingari MC: CD34+ hematopoietic precursors are present in human decidua and differentiate into natural killer cells upon interaction with stromal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108: 2402-2407, 2011.
- 5) Kwak-Kim J, Gilman-Sachs A: Clinical implication of natural killer cells and reproduction. *Am J Reprod Immunol*, 59: 388-400, 2008.
- 6) Moffett-King A: Natural killer cells and pregnancy. *Nat Rev Immunol*, 2: 656-663, 2002.
- 7) Hanna J, Goldman-Wohl D, Hamani Y, Avraham I, Greenfield C, Natanson-Yaron S, Prus D, Cohen-Daniel L, Arnon TI, Manaster I, Gazit R, Yutkin V, Benharroch D, Porgador A, Keshet E, Yagel S, Mandelboim O: Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nat Med*, 12: 1065-1074, 2006.
- 8) Li XF, Charnock-Jones DS, Zhang E, Hiby S, Malik S, Day K, Licence D, Bowen JM, Gardner L, King A, Loke YW, Smith SK: Angiogenic growth factor messenger ribonucleic acids in uterine natural killer cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 86: 1823-1834, 2001.
- 9) Lash GE, Schiessl B, Kirkley M, Innes BA, Cooper A, Searle RF, Robson SC, Bulmer JN: Expression of angiogenic growth factors by uterine natural killer cells during early pregnancy. *J Leukoc Biol*, 80: 572-580, 2006.
- 10) Germeyer A, Sharkey AM, Prasadajudio M, Sherwin R, Moffett A, Bieback K, Clausmeyer S, Masters L, Popovici RM, Hess AP, Strowitzki T, von Wolff M: Paracrine effects of uterine leucocytes on gene expression of human uterine stromal fibroblasts. *Mol Hum Reprod*, 15: 39-48, 2009.
- 11) Carlino C, Stabile H, Morrone S, Bulla R, Soriani A, Agostinis C, Bossi F, Mocci C, Sarazani F, Tedesco F, Santoni A, Gismondi A: Recruitment of circulating NK cells through decidual tissues: a possible mechanism controlling NK cell accumulation in the uterus during early pregnancy. *Blood*, 111: 3108-3115, 2008.
- 12) Carlino C, Trotta E, Stabile H, Morrone S, Bulla R, Soriani A, Iannitto ML, Agostinis C, Mocci C, Minozzi M, Aragona C, Perniola G, Tedesco F, Sozzani S, Santoni A, Gismondi A: Chemerin regulates NK cell accumulation and endothelial cell morphogenesis in the decidua during early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*, 97: 3603-3612, 2012.
- 13) Croxatto D, Vacca P, Canegallo F, Conte R, Venturini PL, Moretta L, Mingari MC: Stromal cells from human decidua exert a strong inhibitory effect on NK cell function and dendritic cell differentiation. *PLoS One*, 9: e89006, 2014.
- 14) Hamperl H, Hellweg G: Granular endometrial stroma cells. *Obstet Gynecol*, 11: 379-387, 1958.
- 15) Bulmer JN, Sunderland CA: Bone-marrow origin of endometrial granulocytes in the early human placental bed. *J Reprod Immunol*, 5: 383-387, 1983.
- 16) Moffett A, Shreeve N: Local immune recognition of trophoblast in early human pregnancy: controversies and questions. *Nat Rev Immunol*, 23: 222-235, 2023.
- 17) Shannon MJ, Mace EM: Natural Killer Cell Integrins and Their Functions in Tissue Residency. *Front Immunol*, 12: 647358, 2021.
- 18) Bulmer JN, Lash GE: Uterine natural killer cells: Time for a re-appraisal? *F1000Res*, 8, 2019.
- 19) Jabrane-Ferrat N: Features of Human Decidual NK Cells in Healthy Pregnancy and During Viral Infection. *Front Immunol*, 10: 1397, 2019.
- 20) Sharkey AM, Gardner L, Hiby S, Farrell L, Apps R, Masters L, Goodridge J, Lathbury L, Stewart CA, Verma S, Moffett A: Killer Ig-like receptor expression in uterine NK cells is biased toward recognition of HLA-C and alters with gestational age. *J Immunol*, 181: 39-46, 2008.
- 21) Nowak I, Wilczynska K, Wilczynski JR, Malinowski A, Radwan P, Radwan M, Kusnierczyk P: KIR, LILRB and their Ligands' Genes as Potential Biomarkers in Recurrent Implantation Failure. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 65: 391-399, 2017.
- 22) Nakimuli A, Chazara O, Hiby SE, Farrell L, Tukwasibwe S, Jayaraman J, Traherne JA, Trowsdale J, Colucci F, Lougee E, Vaughan RW, Elliott AM, Byamugisha J,

- Kaleebu P, Mirembe F, Nemat-Gorgani N, Parham P, Norman PJ, Moffett A: A KIR B centromeric region present in Africans but not Europeans protects pregnant women from pre-eclampsia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112: 845-850, 2015.
- 23) Dambaeva S, Bilal M, Schneiderman S, Germain A, Fernandez E, Kwak-Kim J, Beaman K, Coulam C: Decidualization score identifies an endometrial dysregulation in samples from women with recurrent pregnancy losses and unexplained infertility. *F S Rep*, 2: 95-103, 2021.
 - 24) Fukui A, Fujii S, Yamaguchi E, Kimura H, Sato S, Saito Y: Natural killer cell subpopulations and cytotoxicity for infertile patients undergoing in vitro fertilization. *Am J Reprod Immunol*, 41: 413-422, 1999.
 - 25) Fukui A, Kamoi M, Funamizu A, Fuchinoue K, Chiba H, Yokota M, Fukuhara R, Mizunuma H: NK cell abnormality and its treatment in women with reproductive failures such as recurrent pregnancy loss, implantation failures, preeclampsia, and pelvic endometriosis. *Reprod Med Biol*, 14: 151-157, 2015.
 - 26) Ledee N, Petitbarat M, Chevrier L, Vitoux D, Vezmar K, Rahmati M, Dubanchet S, Gahery H, Bensussan A, Chaouat G: The Uterine Immune Profile May Help Women With Repeated Unexplained Embryo Implantation Failure After In Vitro Fertilization. *Am J Reprod Immunol*, 75: 388-401, 2016.
 - 27) Shaulov T, Sierra S, Sylvestre C: Recurrent implantation failure in IVF: A Canadian Fertility and Andrology Society Clinical Practice Guideline. *Reprod Biomed Online*, 41: 819-833, 2020.
 - 28) Mekinian A, Cohen J, Alijotas-Reig J, Carbillon L, Nicaise-Roland P, Kayem G, Darai E, Fain O, Bornes M: Unexplained Recurrent Miscarriage and Recurrent Implantation Failure: Is There a Place for Immunomodulation? *Am J Reprod Immunol*, 76: 8-28, 2016.
 - 29) Ramos-Medina R, Garcia-Segovia A, Gil J, Carbone J, Aguaron de la Cruz A, Seyfferth A, Alonso B, Alonso J, Leon JA, Alecsandru D, Melia E, Carrillo de Albornoz E, Ordóñez D, Santillan I, Verdu V, Garcia Ruiz de Morales JM, Lopez-Hoyos M, Lopez Larios A, Sampalo A, Caballero P, Ortiz Quintana L, Fernandez-Cruz E, Sanchez-Ramon S: Experience in IVIg therapy for selected women with recurrent reproductive failure and NK cell expansion. *Am J Reprod Immunol*, 71: 458-466, 2014.
 - 30) Chernyshov VP, Dons'koi BV, Sudoma IO, Goncharova YO: Multiple immune deviations predictive for IVF failure as possible markers for IVIG therapy. *Immunol Lett*, 176: 44-50, 2016.
 - 31) Zhou P, Wu H, Lin X, Wang S, Zhang S: The effect of intralipid on pregnancy outcomes in women with previous implantation failure in in vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection cycles: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 252: 187-192, 2020.
 - 32) Coulam CB: Intralipid treatment for women with reproductive failures. *Am J Reprod Immunol*, 85: e13290, 2021.
 - 33) Martini AE, Jasulaitis S, Fogg LF, Uhler ML, Hirshfeld-Cytron JE: Evaluating the Utility of Intralipid Infusion to Improve Live Birth Rates in Patients with Recurrent Pregnancy Loss or Recurrent Implantation Failure. *J Hum Reprod Sci*, 11: 261-268, 2018.
 - 34) 日本生殖医学会：生殖医療ガイドライン，日本生殖医学会，2021.
 - 35) Sung N, Han AR, Park CW, Park DW, Park JC, Kim NY, Lim KS, Shin JE, Joo CW, Lee SE, Kim JW, Lee SK, Ivig Task Force KSfRI: Intravenous immunoglobulin G in women with reproductive failure: The Korean Society for Reproductive Immunology practice guidelines. *Clin Exp Reprod Med*, 44: 1-7, 2017.
 - 36) Moraru M, Carbone J, Alecsandru D, Castillo-Rama M, Garcia-Segovia A, Gil J, Alonso B, Aguaron A, Ramos-Medina R, Martinez de Maria J, Oliver-Minarro D, Rodriguez-Mahou M, Ortega V, Caballero P, Melia E, Vidal J, Cianchetta-Sivori M, Esteban C, Vargas-Henny L, Dale J, Ortiz-Quintana L, Fernandez-Cruz E, Sanchez-Ramon S: Intravenous immunoglobulin treatment increased live birth rate in a Spanish cohort of women with recurrent reproductive failure and expanded CD56 (+) cells. *Am J Reprod Immunol*, 68: 75-84, 2012.
 - 37) Heilmann L, Schorsch M, Hahn T: CD3-CD56+CD16+ natural killer cells and improvement of pregnancy outcome in IVF/ICSI failure after additional IVIG-treatment. *Am J Reprod Immunol*, 63: 263-265, 2010.
 - 38) Fischer GW, Hunter KW, Wilson SR, Mease AD: Diminished bacterial defences with intralipid. *Lancet*, 2: 819-820, 1980.
 - 39) Bae HJ, Lee GY, Seong JM, Gwak HS: Outcomes with perioperative fat emulsions containing omega-3 fatty acid: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Health Syst Pharm*, 74: 904-918, 2017.
 - 40) Hall TC, Bilku DK, Neal CP, Cooke J, Fisk HL, Calder PC, Dennison AR: The impact of an omega-3 fatty acid rich lipid emulsion on fatty acid profiles in critically ill septic patients. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 112: 1-11, 2016.
 - 41) Coulam CB, Acacio B: Does immunotherapy for treatment of reproductive failure enhance live births? *Am J Reprod Immunol*, 67: 296-304, 2012.
 - 42) Moffett A, Shreeve N: First do no harm: uterine natural killer (NK) cells in assisted reproduction. *Hum Reprod*, 30: 1519-1525, 2015.
 - 43) Meng L, Lin J, Chen L, Wang Z, Liu M, Liu Y, Chen X, Zhu L, Chen H, Zhang J: Effectiveness and potential mechanisms of intralipid in treating unexplained recurrent spontaneous abortion. *Arch Gynecol Obstet*, 294: 29-39, 2016.

ART時代のFT（卵管鏡下卵管形成術）の役割について

The Role of FT (Falloscopic Tuboplasty) in the Era of ART

荅口 昭次, 岡本 恵理, 水澤 友利, 林 奈央, 山田 聡, 十倉 陽子, 江夏 イーシェン, 山田 愛, 片山 和明, 山田 弘次, 芳川 裕美子, 江口 武志, 江夏 徳寿, 江夏 国宏, 塩谷 雅英

Shoji Kokeguchi, Eri Okamoto, Yuri Mizusawa, Nao Hayashi, Satoshi Yamada, Yoko Tokura, Ishen Enatsu, Ai Yamada, Kazuaki Katayama, Koji Yamada, Yumiko Yoshikawa, Takeshi Eguchi, Noritoshi Enatsu, Kunihiro Enatsu, 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 2.7.8F
HANABUSA WOMEN'S CLINIC

要旨： FT（卵管鏡下卵管形成術：falloscopic tuboplasty）は多くの施設で行われるようになってきている。FTは近位端卵管通過性異常と診断した卵管性不妊患者に有効で術後約1年以内に30%近くの妊娠率を得ている。挙児希望の年齢が上昇し一般不妊治療をショートカットし体外受精治療へ移行される例も多くなっている。FTの役割をFT後妊娠例からの視点で分析した。タイミング法後妊娠と人工授精妊娠例にFTがどのくらい寄与しているかをみると35歳前後でFT後に妊娠例が増える傾向にあった。35歳以降には一般不妊治療での妊娠率も下降するのでFT適応患者には強く勧めているためと思われる。また、FT術前には卵管異常の程度にかかわらず妊娠を期待できる（約30%）と説明しているが、術後にFT所見から患者にエビデンスに基づいて提案できることの報告はない。今回の検討から卵管内のヒダなどの所見異常が高度である例であっても2-3か月に集中して妊娠に至っている例が多い。その結果からすると卵管内異常所見の高度症例には、3-4か月一般不妊治療を行っても妊娠に至らない場合早目にステップアップを勧めることが望ましいことが判明した。

キーワード： 体外受精 (IVF), 卵管, 卵管鏡下卵管形成術 (FT), 卵管性不妊

英文要旨： The Falloscopic Tuboplasty (FT) is becoming increasingly performed in many facilities. It has proven to be effective for patients with proximal tubal patency disorders diagnosed with tubal infertility, achieving a pregnancy rate of nearly 30% within approximately one year after the procedure. In this paper, the role of FT in a widespread era of ART has been analyzed from the perspective of post-FT pregnancy 292 cases. When examining the contribution of FT to pregnancy rates in cases of timed intercourse and artificial insemination, there was a tendency for an increase in post-FT pregnancy cases among patients around the age of 35. As the pregnancy rates from general infertility treatments decrease after the age of 35, it is believed that FT is strongly recommended for eligible patients. Furthermore, prior to the FT procedure, patients have been informed that pregnancy can be expected regardless of the severity of tubal abnormalities. However, based on this study, it was observed that post-FT, there were many cases where pregnancy occurred within 2-3 months, even in cases with severe tubal abnormalities such as significant bad folds within the tubes. Consequently, in the cases with severe tubal abnormalities diagnosed by FT, if pregnancy does not occur after 3-4 months of general infertility treatment, it is advisable to consider advancing to take an early step up for ART.

キーワード： ART, fallopian tubes, FT (falloscopic tuboplasty)

緒言

不妊原因に卵管性不妊の占める率は10-20%とされ、卵管通過性異常の診断には一般に子宮卵管造影方法が

用いられ、当初はその治療方法として外科手術が用いられてきたが、1980年代後半には体外受精・胚移植による妊娠率がそれらに勝り、現在では行われなくなっている¹⁻³⁾。その経過の中で、卵管通過性異常の近位端

病変に対して卵管鏡下卵管形成術 (FT) が開発され実施されている。FTはフレキシブルな卵管鏡と卵管内腔へその卵管鏡を安全に導入するためのバルーンカテーテルを組み合わせた卵管カテーテルシステムを用い、卵管内腔の観察と同時に通過性改善治療を行う方法である。

一般名はLEカテーテルシステム (linear everting system) と呼び、1996年に保険収載され、健康保険および医療保険の適用があり、また高額療養費の扱いを受けることができるため患者の経済的負担も軽減できる利点がある。この開発はテルモ株式会社で、現在全国的に普及してきている。ホームページによると2018年には全国で83施設に導入されていたが、2021年2月には138施設でFTが実施されている⁴⁾。

FT術後の妊娠率は、1998年の末岡らの最初の報告では、両側卵管閉塞症例で20.7% (11/53)であった⁵⁾。その後卵管狭窄を含めた卵管通過性異常の検討が多く、施設で行われ、症例数も増えている。妊娠率についてFukudaら⁶⁾は2008年に27.1% (268/988)、Tanakaraは2011年に28.9% (44/153)³⁾、Kyonoらは2013年に25.0% (6/24)⁷⁾、また、われわれも2006年に34.5% (21/212)⁸⁾、2011年に29.7% (253/852)と報告してきた⁹⁾。年齢別妊娠率については29歳以下で39.7%、30～34歳で32.7%、35～39歳で25.6%、40歳以上で5.1%であった⁹⁾。以上よりFTは多くの発表で約30%の妊娠率を得られている優れた治療法と考えてよい。これから言えることは、卵管性不妊ではFTの術前に約30%の可能性でFTにより妊娠できると提案できることがわかる。今やART全盛の時代において、何時一般不妊治療からARTへ移行するかの指標が必要である。FT後に妊娠が成立した症例における術中所見を参考に、FTの果たす役割を今回検討した。

対象と方法

2019年1月から2023年6月の期間にFT後妊娠成立した292例を対象とした。背景因子として平均年齢32.7±2.3歳、卵管因子以外の不妊原因の割合は、多嚢胞性卵巣(PCO)69例(22%)、子宮筋腫(3cm以上)10例(3.2%)、男性因子39例(13.0%)、卵巣子宮内膜症12例(4.0%)であった(一部重複あり)。PCO症例の年齢別割合は、それぞれ29歳以下23.2%、30歳から34歳で18.4%、35歳から39歳で18.5%、40歳以上0%であった。また、クラミジア感染既往例は73例(25.0%)であった。卵管性不妊の診断は子宮卵管造影検査で行い、その卵管所見は、両側卵管狭窄205例(70.2%)、片側閉塞片側狭窄67例(23.0%)、両側卵管

閉塞20例(6.8%)であった。292例中104例(35.6%)は人工授精で妊娠に至った。

当院の初診日からFT手術実施までは平均8.0±2.7か月(1か月以内～41.5か月)であり、また、FT術後妊娠までの期間は平均3.3か月±0.6か月(1か月以内～13.8か月)であった。

FTは静脈麻酔下で経腔的に子宮鏡は使用せずに日帰り手術としておこない手術にはLEカテーテル6cmタイプを全例使用した^{10,11)}。当院ではスクリーニング検査中に子宮鏡検査を用いて子宮卵管口形状確認をしている。術中卵管内評価には、膨大部付近卵管内ヒダ所見(LEカテーテル6cm挿入部位所見)と卵管内病変のスコア(点数)の2つを用いた。前者は卵管膨大部周囲のみの評価であり、後者は卵管全体の評価である。その膨大部付近卵管内所見(子宮卵管口から6cm)は卵管内病変良好をヒダが正常であれば○とし、また不良は平坦およびヒダがない場合は×とし、ヒダ所見が一部不良や平坦混合所見を△とし3段階の評価とした。膨大部所見両側×例は112例、両側○は38例であった。そして卵管内病変スコアは、KerinらとNakagawaraを参考に独自に改変し作成した(未発表)^{12,13)}(表1)。卵管病変スコアはヒダ所見評価、異形血管有無、癒着有無、拡張、脂肪様黄色変化有無、出血有無の6項目に分けた。卵管の左右および近位部と遠位部と分け0-2までの三段階評価で最高加算評価点は48点とした。加算評価点が高い方が卵管のダメージが高い。その加算評価点数は平均8.0±2.1点であった。高度卵管異常を12点以上、また正常(0点)から軽度異常を4点未満とした。卵管内所見スコア12点以上群は68例、4点未満84例であった。統計処理はt検定およびWilcoxonのU検定を用い、有意差判定は0.05未満とした。

結果

1. FTおよびHSGの妊娠例に占める年齢別割合

一般不妊治療での妊娠例を年齢別に分けそれらの妊娠例中にFT後とHSG(3か月以内)後の占める割合を調べた。妊娠例はタイミング法で3008例、AIHで975例の合計3983例であった。また妊娠例中FT後は292例でHSG後3か月以内は285例であった。図1に示すように34歳でFT後は9.3%、35歳で11.8%、36歳で8.0%であった。またHSGは34歳で6.5%、35歳で7.7%、36歳で7.7%であった。一般治療での妊娠例に占める割合は35歳でピークを示した。

表1 卵管内評価点数表 (スコア)

			<右側>		<左側>	
			【近位部】	【遠位部】	【近位部】	【遠位部】
卵管ひだ	0	Good				
	1	Scant				
	2	None				
異型血管	0	None				
	1	Slight				
	2	Marked				
癒着	0	None				
	1	Thick				
	2	Web-like				
拡張	0	None				
	1	Minimal				
	2	Hydrosalpinx				
脂肪様黄色所見	0	None				
	1	Slight				
	2	Marked				
出血	0	None				
	1	Slight				
	2	Marked				

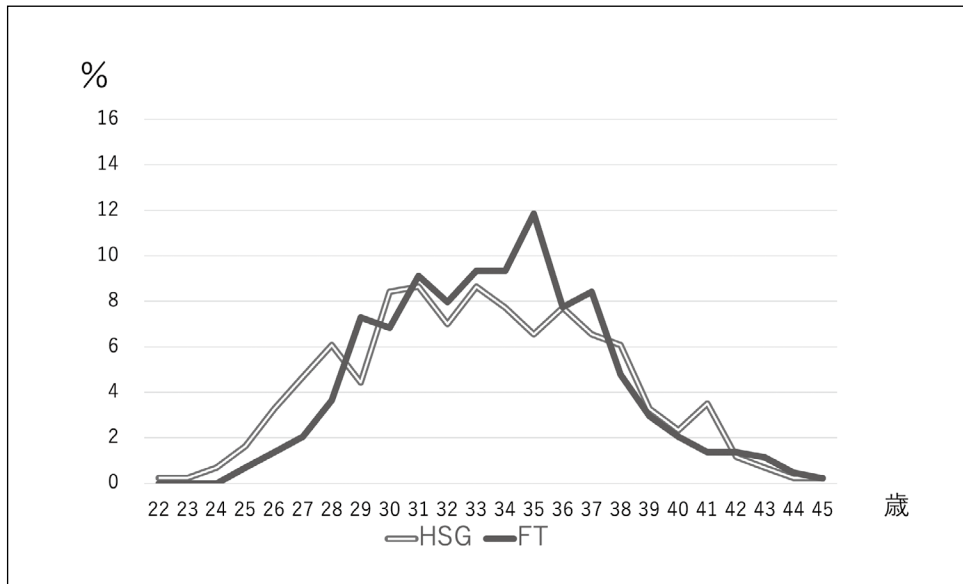


図1 FTとHSGが妊娠例に占める年齢別割合

2. FT手術後年齢別妊娠に至るまでの期間とその流産率

29歳以下(69例)はFT後妊娠に至るまで平均3.7±3.3か月, 30~34歳(125例)は平均3.1±2.5か月, 35~39歳(81例)では平均 3.1±2.2か月, 40歳

以上(17例)では平均3.9か月±3.0か月であった。また, 流産率は29歳以下8.7%, 30歳から34歳9.6%, 35歳から39歳12.3%, 40歳以上で4.7%であった。

3. 卵管膨大部付近の所見別妊娠に至るまでの期間(図2)

手術中所見のうち卵管膨大部付近の所見別に妊娠に至るまでの期間を図示した. 表記方法は上記で示したように卵管所見が両側とも不良は(××)とし, 両方とも良い(○○)とした. 図は妊娠に至る月別の実数でなく全体に占める割合で表した. 両側とも良好で平均3.4±2.6か月(0.6~9.3か月), 両側とも不良で平均2.8±2.6か月(0.5~13.8)であった(有意差あり p<0.01).

FT手術は排卵前にしているので, 数値1以下であるのはFT周期に妊娠したことを表している.

4. 卵管内所見スコア別の妊娠に至るまでの期間(図3)

卵管所見スコア点数評価12点以上は妊娠までに平均2.9±2.5か月(0.5~12.8か月)かかり, 4点未満の場合妊娠までの期間は平均3.8±2.7か月(0.6~11.6)であった(有意差あり P<0.001).

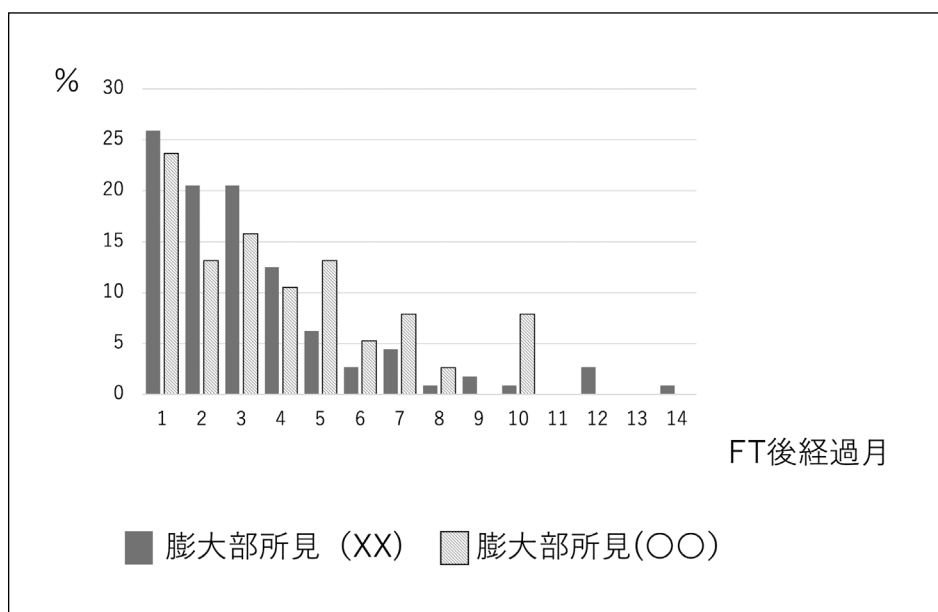


図2 膨大部所見別 FT 術後妊娠に至るまでの期間

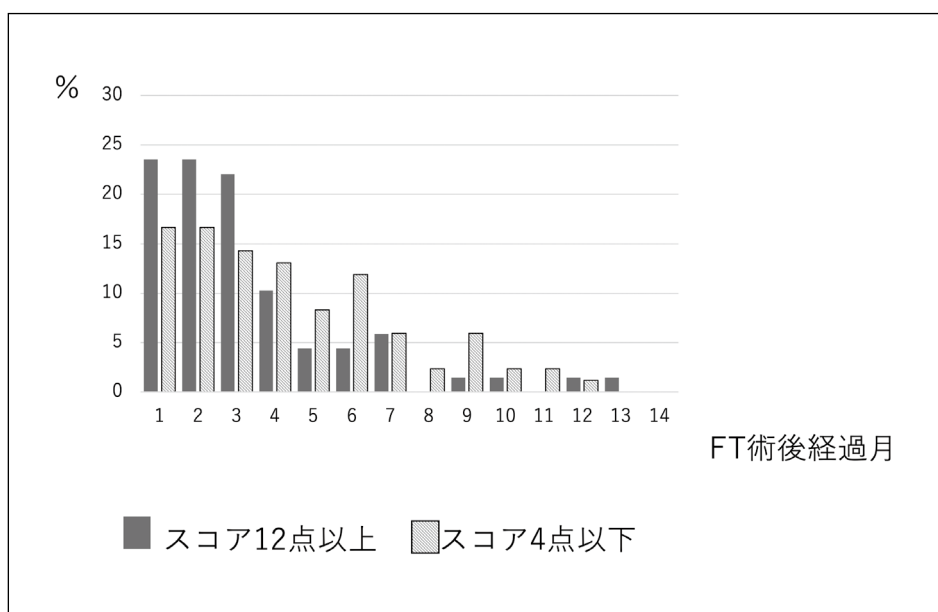


図3 卵管内評価スコア別 FT 術後妊娠に至る期間

5. クラミジア感染既往の有無別妊娠に至るまでの期間

クラミジア感染既往有り群38例で平均 3.2 ± 2.6 か月(0.6~11.5か月), クラミジア感染既往無し群112例で 3.3 ± 2.7 か月(0.5~13.8)であった(有意差なし).

サブグループ検討としてクラミジア感染既往に加え膨大部及所見別妊娠に至る期間を調べた. クラミジア感染既往有り群で膨大部所見(××)28例では平均 2.9 ± 2.6 か月(0.7~11.5)で妊娠成立し, 膨大部所見(〇〇)10例では妊娠に至るまでの期間は平均 4.0 ± 3.4 か月(0.6~9.3)であった(有意差あり $P < 0.001$). クラミジア感染既往無し群で膨大部所見(××)84例では平均 2.8 ± 2.6 か月(0.5~13.8)で膨大部所見(〇〇)28例では平均 3.2 ± 2.7 か月(0.6~9.3)であった(有意差なし).

続いてクラミジア感染既往に加え卵管内所見スコア別の妊娠に至るまでの期間を調べた. クラミジア感染既往有り群でスコア12点以上群24例は妊娠に至るまで平均 2.9 ± 2.8 か月(0.8~11.5)であった. スコア4点未満14例は平均 3.6 ± 2.7 か月(0.8~9.3)であった. 両群の有意差は $p < 0.05$ であった. またクラミジア感染既往無し群でスコア12点以上44例では 2.8 ± 2.4 か月(0.6~12.8)であった. クラミジア既往無し群でスコア4点未満70例は 3.8 ± 2.7 か月(0.6~11.6)であった. 両群の有意差は $p < 0.05$ であった.

6. 頻回ART不成功で一般不妊治療へステップダウンした後FT後に妊娠成立した例

体外受精治療を数回実施しても妊娠に至らずステップダウンをしてFT例で妊娠成立した例を3例経験している. その年齢は33歳1例, 36歳2例であり, 33歳例はFT後妊娠に至るまで1か月以内であり, 36歳の2例はFT後それぞれ4.7か月と8.2か月であった. 今回は36歳が妊娠例の上限であった.

考 察

2021年国内で行われた体外受精によって生まれた子どもは, 前年より9416人多い6万9797人で過去最多となったことが, 日本産科婦人科学会の調査で分かった. これは現在生まれてくる子の11人に1人はART治療によることを示している¹⁴⁾. 体外受精にステップアップする前に卵管因子が見つかり, 経過を見るも妊娠に至らない場合や長い不妊期間があった場合にこのFTを受け妊娠される例もよく経験する. そこで, 以下このART全盛期といわれる不妊治療においてFTの役割を今回の結果を踏まえて文献的考察を加えた.

FTは卵管性不妊症に対して日帰り手術で比較的短時間の手術で患者に対する肉体的, 経済的(健康保険適用)負担の少ない治療法である. 卵管性不妊症に対してはART治療前にFTを試みるべきであると考えている. FT術後の妊娠率は今までの報告では30%前後である^{3,6-9)}. ARTの妊娠率が35歳から低下することを踏まえて35歳までの卵管因子であればFTを勧める方針をとっている. 当院ではこの方針で図1のように35歳での妊娠例に対するFT後の割合にピークがある. 術前インフォームドコンセントでFT後6か月から7か月が過ぎると累積妊娠率は90%以上になる旨を説明し⁴⁾, それまでに妊娠に至らない場合ARTへステップアップが望ましいと説明している.

FT術後妊娠率に関連する背景はクラミジア感染症既往がある. クラミジア感染症は多くの場合卵管異常を起こす¹⁵⁾. 吉村はFT治療後妊娠例におけるクラミジア陽性例は25.0%であるのに対し, 妊娠が未成立例では40.0%であり, 卵管通過性を回復しえた例中にもクラミジア感染既往は妊孕性を低下させていることを示唆すると報告している¹⁶⁾. 当院からも同様の発表もしている⁸⁾. FTは術中にファイバースコープにより卵管内のヒダを確認できる利点がある. 今まではFT術後のインフォームドコンセントの明確な指標はなかった. それも術後妊娠率は1年くらいの経過をみるとヒダ所見の異常の有無によっても変わらなかったからである^{8,9)}. それゆえARTへのステップアップ時期は患者の希望も聞きながら6か月を目処に決定していた. 今回の解析では卵管内ヒダ所見が悪い例であっても妊娠される例は早期に妊娠していたがその後の妊娠率は低いことがわかった. ヒダ所見が悪い場合やスコア所見12点以上の患者には3~4か月の経過をみて妊娠に至らない場合には明確に体外受精へのステップアップを早めに提案してもよいと判断した.

また, FTとARTの関係で福田らはFTを行ってIVFに移行した患者はIVFによる妊娠成績が良いと報告している^{17,18)}. その報告の背景は, FT後の一般不妊治療では妊娠せずARTを実施した49症例(両側卵管閉塞10例, 両側狭窄29例, 閉塞・狭窄10例)とARTを直接実施した34症例(両側卵管閉塞9例, 両側狭窄19例, 閉塞・狭窄5例)である. 両側卵管閉塞19例中, FT後のARTによる妊娠率は70.0%(7/10)と直接ARTを実施した場合の33.3%(3/9)に比べ高い傾向にあった. しかし, 片側閉塞・片側狭窄15例ではFT後ART実施群での妊娠率60.0%(6/10)に対しARのみ実施群で80.0%(4/5)と差は認められず, 両側狭窄48例でもFT後ART実施群の妊娠率62.1%(18/29)とARTのみ実施群73.7%(14/19)と差は認められなかった. 無治療の卵管両側閉塞例のART妊娠率(33.3%

(3/9) はどちらか一方の卵管通過性が保たれている場合(75.0%(18/24)) に比べ有意($P < 0.05$) に低率であった。以上の結果は卵管疎通性の維持がARTにおける妊娠成立にも何らかの影響を与える可能性を示唆している。FTがその後のART治療にも好影響を示すのなら、積極的にFTを提案することも考えてゆきたい。

ASRMの卵管における治療の学会オピニオンをみると近位端の卵管異常における治療の部分にはカニューレ挿入と記載があるが、これはFT(LEカテーテルシステム)を直接示していない¹⁹⁾。記載されている治療法は、子宮鏡処置(子宮鏡下通水)と透視下でのカニューレーションであり、コメントには経験ある術者が行った場合には子宮鏡処置は31%、カニューレーション透視下治療は29%の妊娠率を得ることができ、その差はないとのことである。これはFTと同等の妊娠成績である。FTという治療方法があることをもっと世界的に周知する必要がある。

卵管通過性が改善するとART成績も良くなるなら症例を選別してFTをおこなうことは重要な今後の課題である。体外受精で採卵何度も行うも良い胚ができず、ステップダウンをし、タイミングなどで妊娠される例も遭遇する。今後は卵管が何らかにIVF成績に関与している可能性があるのewithゆるハイブリッド的な治療、すなわち、ART治療の待機周期にはタイミングや一般治療ができるようにFTも考慮する必要がある。今回の検討結果からはART治療からのステップダウンが36歳前後であれば不妊原因が卵管因子のみである場合、その後の治療として一般不妊治療や再度体外受精もめざしたハイブリッドの考え方で妊娠を目指すのも一つの方針である。

結 語

体外受精時代のFTの役割について解析した。手術中卵管内所見の確認はしているがその後の妊娠については、有力な異常所見であっても一定の率で所見に関わらず妊娠に至る。卵管内ヒダ所見と妊娠率に関してはクラミジア感染及び卵管内ヒダ所見が悪くても、妊娠率は変わらない。しかし、卵管内ヒダ所見やスコア点数所見が悪かった症例中妊娠される例は術後早期に妊娠する傾向が認められた。卵管内所見が悪い症例においては早めなARTへのステップアップが望ましいと今回の解析でわかった。

参 考 文 献

- 1) DeCherney AH: Tubal disease. Surgery and in vitro fertilization. Kase NG, Weingold AB, Gershenson DM, eds. Principles and practice of clinical gynecology. 2nd ed, pp445-57. London: Churchill Livingstone Inc., 1990.
- 2) 武谷雄二: 女性不妊症. 吉村泰典編, 新女性医学体系 不妊・不育, pp14-23, 中山書店, 1998.
- 3) Tanaka Y, Tajima H: Falloposcopic tuboplasty as an option for tubal infertility: an alternative to in vitro fertilization. Fertil Steril. 95 (1): 441-443, 2010.
- 4) FT 実施施設リスト. からだにやさしい不妊治療 (TERUMO). <https://ft.terumo.co.jp/unit.html>, (2023. 6. 27)
- 5) Sueoka K, Asada H, Tsuchiya S, Kobayashi N, Kuroshima M, Yoshimura Y: Falloposcopic tuboplasty for bilateral tubal occlusion. A novel infertility treatment as an alternative for in-vitro fertilization? Human Reprod, 13 (1): 71-74, 1998.
- 6) Sawabe M, Fukuda A, Hamada A, Sonoda M, Nakaoka Y, Morimoto Y: Experience of 1000 falloposcopic tuboplasty (FT) cases: FT is a novel, patient friendly and effective regimen for tubal factor infertility before ART. Fertil Steril, 90 (3): 40, 2008.
- 7) Kyono K, Kuchiki M, Hattori M, Sakai H, Sakamoto E, Takeuchi T: Efficacy of transvaginal falloposcopic tuboplasty. Fertil Steril, 100 (3): 399, 2013.
- 8) Koheguchi S, Watanabe J, Matsunaga M, Goto S, Shiotani M: Clinical outcomes following Falloposcopic Tuboplasty (FT) for tubal infertility. Fertil Steril, 86 (3): 299, 2006.
- 9) Koheguchi S, Kataoka N, Ogata S, Yamada S, Matsumoto Y, Shiotani M: Falloposcopic tuboplasty (FT) is an established endoscopic surgery for tubal infertility and an alternative to art: our experience of 852 cases followed up over six months after FT. Fertil Steril, 96 (3): 147, 2011.
- 10) 荅口昭次: 卵管鏡下卵管形成術. 柴原浩章編, エキスパートによる生殖領域の外科的手法, pp202-205, 中外医学社, 2020.
- 11) 末岡浩: 卵管鏡. 産婦人科内視鏡下手術スキルアップ. 改訂第2版, 日本産科婦人科内視鏡学会編, pp158-166, メジカルビュー社, 2010.
- 12) Nakagawa K, Inoue M, Nishi Y, Sugiyama R, Motoyama K, Kuribayashi Y, Akira S, Sugiyama R: A new evaluation score that uses salpingoscopy to reflect fallopian tube function in infertile women. Fertil Steril, 94 (7): 2753-2757, 2010.
- 13) Kerin JF, Williams DB, San Roman GA, Pearlstone AC, Grundfest WS, Surrey ES: Falloposcopic classification and treatment of fallopian tube lumen disease. Fertil Steril, 57 (4): 731-741, 1992.
- 14) 2021年体外受精・胚移植等の臨床実施成績. 日本産科婦人科学会. https://www.jsog.or.jp/activity/art/2021_ARTdata.pdf, (2023.8)
- 15) 野口昌良: クラミジア感染症 卵管不妊症になぜ重要か. 臨産婦, 52 (6): 784-787, 1998.
- 16) 吉村泰典: 卵管鏡下卵管形成法の適応拡大に関する技術的検討および妊娠後に関する検討. 厚生科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業) 研究報告書, 1999.

<https://www.niph.go.jp/wadai/mhlw/1999/h1118002.pdf>,
(2023. 7. 19)

- 17) Fukuda A, Hamada A, Sawabe M, Sonoda M, Nakaoka Y, Morimoto Y: Pregnancy rate of bilateral tubal occlusion patients by IVF improves after recovery of tubal patency by falloposcopic tuboplasty. *Fertil Steril*, 90 (3) : 155, 2008.
- 18) 福田 愛作 : 卵管性不妊治療における卵管鏡下卵管形成術 (FT) の効用 . 日産婦内視鏡会誌 , 24 (1): 61, 2008.
- 19) The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine American Society for Reproductive Medicine, Birmingham, Alabama : Role of tubal surgery in the era of assisted reproductive technology: a committee opinion. *Fertil Steril*, 115 (5): 1143-1150, 2021.

当院における女性年齢 45 歳以上の生殖補助医療の臨床成績

Clinical outcomes of Assisted Reproductive Technology for women age over 45 years old

山田 健市, 村川 晴生

Yamada K, Murakawa H

仙台ソレイユ母子クリニック 〒982-0014 宮城県仙台市太白区大野田 4-31-3
Sendai soleil maternal Clinic

要旨： 本邦のART症例登録システムにおいて、2020年実施成績では、採卵後の経過が示され、45歳以上での妊娠報告もあるが、培養成績報告は未だ少ない。そこで、45歳以上のARTについて比較検討を行った。2019年から2022年6月の期間、40歳以上の採卵653周期を対象とした。採卵時年齢40-42歳、43-44歳、45歳以上のDay3良好胚率は45.9%、50.4%、54.3%であり、45歳以上で有意に高く、胚盤胞発生率は61.0%、59.6%、38.1%であった。45歳以上は、胚盤胞発生率が有意に低くなった。凍結融解胚移植を実施した結果、採卵時年齢40-42歳、43-44歳、45歳以上の妊娠率は23.0%、10.6%、0%であり、45歳以上では妊娠症例がなかった。以上の結果から、高齢患者において、胚培養、臨床成績について、よく理解し納得した上でARTを実施することが重要である。

キーワード： 高齢、採卵、胚移植、胚培養、45歳以上

英文要旨： In the Japanese ART case registration system, the 2020 results show the progress after oocyte retrieval, and there are reports of pregnancies at age 45 and older, but there are still few reports of embryo culture results. Therefore, we examined whether ART at age 45 years and older is effective, and 653 oocytes retrieval cycles at age 40 years and older from 2019 to June 2022 were included in the study. The Day 3 good embryo rates were 45.9%, 50.4%, and 54.3% for age 40-42, 43-44, and 45 years and older at the time of oocyte retrieval, respectively, with significantly higher rates for 45 years and older, and blastocyst incidence rates of 61.0%, 59.6%, and 38.1% for 45 years and older. Blastocyst incidence was significantly lower for 45 years and older. As a result of vitrified-warmed embryo transfer, the pregnancy rates were 23.0%, 10.6%, and 0% for ages 40-42, 43-44, and 45 and older at the time of oocyte retrieval, respectively, and there were no pregnancy cases in patients 45 years and older. Consequently, it is important that ART be performed in elderly patients with a good understanding and acceptance of embryo culture and clinical outcomes.

キーワード： Embryo culture, Embryo transfer, Older age, Oocyte pick up, Over 45 years old

緒言(目的, 背景)

近年、本邦では晩婚化にともない妊娠を希望する年齢が上昇している。保険でARTを実施する場合は、年齢や胚移植回数に制限があるが、保険適用外であれば女性年齢は上限なく実施することができる。しかし、高齢女性ではARTの有効性が乏しく、45歳以上では採卵を行わないなど、年齢制限を設けている施設もあるが、当院のように、45歳以上の患者でも受け入れている施設も散見される。日本産科婦人科学会のART症例登録システムにおいて、2020年

実施成績では、採卵後の経過が示され、45歳以上での妊娠報告¹⁾もあるが培養成績の報告は未だ少ない。

そこで、本研究では、採卵時女性年齢が45歳以上のARTについて、採卵時の年齢を40-42歳、43-44歳、45歳以上と三区に分け、胚培養成績、その後の妊娠成績について比較検討することを目的とした。

対象と方法

2019年から2022年6月の期間、臨床研究の倫理指

受付 2023年5月31日 / 受理 2023年9月8日

責任著者：山田 健市 e-mail [kenichisoleil@gmail.com]

針に従い、研究同意が得られ採卵を実施した40歳以上の236症例653周期を対象とし、後方視的に解析した。

検討1) 採卵時の年齢を、40-42歳(平均AMH値1.74ng/mL)、43-44歳(平均AMH値0.93ng/mL)、45歳以上(平均AMH値0.82ng/mL)の三区とし、正常受精率、多前核形成率、Day3良好胚率、Day5/6良好胚盤胞発生率について比較検討を行った。

検討2) 検討1で得られた胚から凍結融解胚移植を実施した414周期について、妊娠率、流産率の比較検討を行った。

卵巣刺激の内訳は、自然周期法(6.5%)、低刺激法(66.9%)、GnRH antagonist法(10.3%)、GnRH agonist法(0.3%)、PPOS法(15.9%)のいずれかに行い、最大卵胞径が16mm-18mmに達した時点で、triggerを投与した。Triggerには、点鼻薬(ブセレキア点鼻液、富士製薬、日本)あるいはhCG(HCGモチダ筋注用、持田製薬、日本/オビドレル皮下注シリンジ、メルクバイオファーマ、日本)をそれぞれ単独あるいは、Dual triggerのいずれかを使用した。Trigger投与後、約34時間後に採卵を行った。採卵は、採卵針(OPU-NP19G325B、北里、日本)を使用し、手引きにて吸引後、検卵を行った。検卵後は、培養液(NI Fertilization Medium、ナカメディカル、日本/HiGROW IVF Plus、扶桑薬品工業、日本/Sydney IVF Fertilization Medium、Cook Medical、オーストラリア)を使用し、前培養を行った。精子調整は、密度勾配遠心法にて行った(80% SepaSperm、北里、日本/グッドスパーム80%、ナカメディカル、日本、300g×20min)。前培養数時間後に、c-IVFあるいはICSIを実施した。媒精後は、2系統の培養液(ONE STEP Medium、ナカメディカル、日本/Continuous Single Culture-NX Complete、富士フィルム和光純薬、日本/HiGROW OVIT Plus、扶桑薬品工業、日本)にて培養し、Day1、Day3、Day5、Day6と引き続き観察を行った。Day3良好胚は、6cell以上かつVeeck分類G3以上、良好胚盤胞は、Gardner分類の3BB以上とした。

胚凍結は、超急速ガラス化法にて凍結液(VT507、北里、日本/Vit Kit-Freeze NX、富士フィルム和光純薬、日本)を使用し、凍結デバイス(Cryotop、北里、日本/Rapid-i、Vitrolife、スウェーデン)に胚を載せ凍結を行った。

融解液(VT508、北里、日本)を使用し、胚培養を行っていた同じ種類の培養液にて数時間回復培養を行った。凍結融解胚移植は、HRT周期(エストロゲン製剤:エストラーナ、久光製薬、日本/プロギノーバ、Bayer AG、ドイツ、プロゲステロン製剤:デュファストン、Viatris、アメリカ/プロゲステンデポー筋注、ルトラール錠、富士製薬工業、日本/ルテウム腔用坐剤、あすか製薬、日本)にて実施した。

胚移植にはカテーテル(3Frカテーテル、北里/サンキョーメディック、日本)とスタイレット(3Fr対応スタイレット、北里/サンキョーメディック、日本)を用い、経膈超音波ガイド下にて胚移植を行った。胚移植二週間後に妊娠判定を行い、その後GSが確認できたものを臨床妊娠とした。

統計解析は、テューキー検定あるいは、フィッシャーの正確確率検定を使用し、P値0.05以下を有意差ありと判定した。

結果

検討1) 患者背景を表1に示した。45歳以上は、他区と比較し、有意に採卵回数は多く、採卵数は少なくなった。採卵時年齢40-42歳、43-44歳、45歳以上の正常受精率はそれぞれ、77.4%、76.4%、78.5%であった。多前核形成率は、3.4%、3.4%、5.8%であった。Day3良好胚率は、45.9%、50.4%、54.3%であり、45歳以上は40-42歳と比較し、有意に高くなった。Day5/6胚盤胞発生率は、61.0%、59.6%、38.1%、Day5/6良好胚盤胞発生率は、31.1%、32.4%、17.5%であった。45歳以上は、他区と比較し、Day5/6胚盤胞発生率および良好胚盤胞発生率が有意に低くなった(図1)。

検討2) 患者背景を表2に示した。年齢が上昇するにつれて、胚盤胞移植率が有意に低くなった。採卵時年齢40-42歳、43-44歳、45歳以上の妊娠率は23.0%、10.6%、0%であり、45歳以上区は、他区と比較し、有意に低くなった。採卵時年齢40-42歳、43-44歳の流産率は30.6%、33.3%であった(図2)。

考察

採卵時年齢が45歳以上になると、Day3まで良好に胚発育するものの、その後、胚盤胞へ至る割合が少なくなった。これは、女性年齢が高くなると染色体異数性胚が増加するという報告²⁾があるように、45歳以上ではそれらに起因して胚発育が停止している可能性が高いと考えられる。一方で、正常受精率と多前核形成率は各年齢区と比較し、有意差は認められなかった。これは、卵子の染色体異数性による妊孕能低下は、受精後および胚発育後に関連するものと推察される。本研究において、Day3良好胚率が45歳以上では40-42歳と比較し、有意に高くなった。われわれの知る限り、Day3良好胚率が高齢で上昇するという報告はなく、メカニズムについても不明である。古井³⁾は、Veeck分類と胚盤胞到達率の関係には精度の限界があることを示しており、Day3良好胚の定義について、今後さらなる検討が必要であると考えられる。

表 1 採卵時における患者背景 (検討 1)

	40-42歳	43-44歳	45歳以上
妻年齢 (歳)	41.1 ± 0.8 ^a	43.5 ± 0.5 ^b	45.8 ± 0.8 ^c
夫年齢 (歳)	42.9 ± 5.3 ^a	43.4 ± 5.2 ^a	45.8 ± 4.9 ^b
採卵回数 (回)	3.2 ± 2.7 ^a	3.2 ± 2.1 ^a	4.8 ± 3.6 ^b
AMH(ng/mL)	1.74 ± 1.32 ^a	0.93 ± 0.69 ^b	0.82 ± 0.95 ^b
採卵日 (日)	13.0 ± 2.0 ^a	12.4 ± 2.4 ^b	12.0 ± 2.6 ^b
採卵数 (個)	5.3 ± 4.2 ^a	3.3 ± 2.1 ^b	1.5 ± 1.6 ^c
自然周期法 (%)	1.9 ^a	9.2 ^b	15.7 ^b
低刺激法 (%)	59.9 ^a	76.3 ^b	75.0 ^b
GnRH antagonist (%)	1.5 ^a	6.6 ^b	2.1 ^b
GnRH agonist法 (%)	0.5	0	0
PPOS法 (%)	22.6 ^a	7.9 ^b	0 ^b

Mean ± SD
異符号間に有意差あり
P<0.05

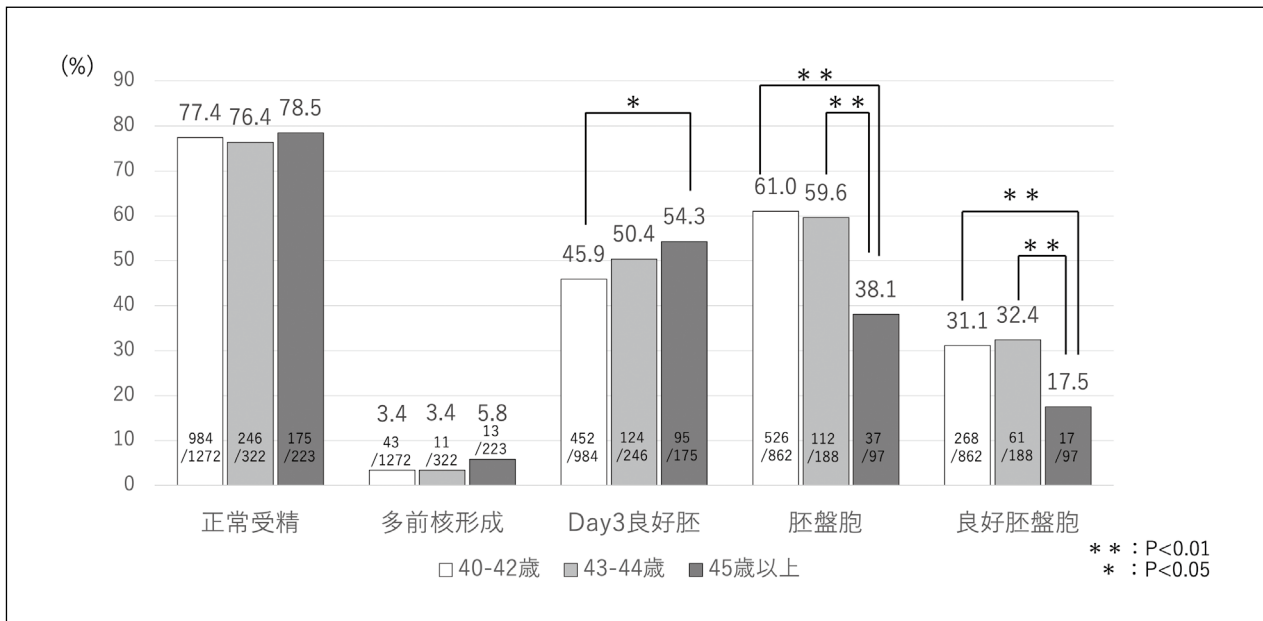


図 1 各年齢における胚培養成績 (検討 1)

正常受精率、多前核形成率に有意差は認められなかった。Day3良好胚率は40-42歳と比較し、45歳以上では有意に高くなった。胚盤胞発生率および良好胚盤胞発生率は45歳以上では他の年齢と比較し、有意に低くなった。検定は、フィッシャーの正確確率検定を用いた。P値、0.05以下を有意差ありと判定した。

さらに、近年ではタイムラプスを用いることで、より詳細に胚盤胞発生予測を検討することが可能となっている。今回の研究では、検討することができなかったが、タイムラプスを用いたDay3良好胚の定義によっては、年齢別での有意差がなくなることも考えられる。

当院において、採卵時年齢が45歳以上では、妊娠例がなかった。しかし、日本産科婦人科学会の報告で示され

ているように、採卵時に45歳以上でも出産報告は国内外に存在する⁴⁻¹¹⁾。本邦における自己卵子による最高齢出産の報告は、48歳6か月時に採卵を行った患者である¹⁰⁾。次いで、48歳5か月時に採卵を行った患者で報告されている⁶⁾。国外では、一定以上の年齢になると自己卵子ではなく卵子提供が提案されるが、Raniらの報告⁷⁾では、49歳の自己卵子を用い、50歳で出産に至ったことを報告し

表 2 移植時における患者背景 (検討 2)

	40-42歳	43-44歳	45歳以上
採卵時妻年齢 (歳)	41.1 ± 0.8 ^a	43.6 ± 0.5 ^b	45.6 ± 0.8 ^c
分割期胚移植周期 (数)	81	38	51
胚盤胞移植周期 (数)	188	47	9
胚盤胞移植率 (%)	69.9 ^a	55.3 ^b	15.0 ^c

Mean ± SD
 異符号間に有意差あり
 P < 0.05

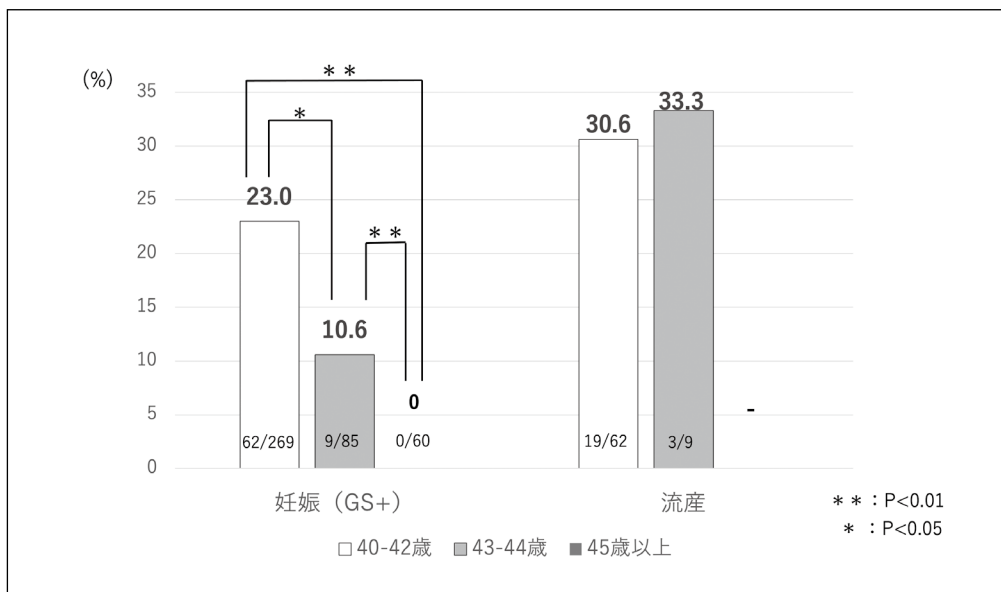


図 2 各年齢における妊娠率と流産率の成績 (検討 2)

妊娠率は年齢が高くなるにつれ有意に低下した。45歳以上では妊娠例が認められなかった。流産率は有意な差が認められなかった。

検定は、フィッシャーの正確確率検定を用いた。P 値、0.05 以下を有意差ありと判定した。

ている。出産まで至ったケースは極めて稀であるが、これらの患者は比較的、卵巣機能が良かった患者であると推察される。Spandorfer ら⁵⁾ は、45歳以上の自己卵子を用いた体外受精の結果では、採卵し得た患者のうち、臨床的妊娠率は11.2%(18/161)、流産率は72.2%(13/18)であったと報告している。そして、採卵周期を開始し得た患者のうち、生児を出産したのは、わずか2.2%(5/231)であり、出産した症例は、卵巣機能が正常で採卵数が5個以上の45歳に限定されていたと報告している。

最近の研究では、卵巣機能が低下した患者にplatelet-rich plasma (PRP) を卵巣内投与することで、成績改善が期待される研究が行われている¹²⁾。PRP は、一度活性化されると PRP が放出する多数の成長因子およびサイト

カインによって媒介される。組織再生、血管新生、細胞移動、分化、および増殖において役割を果たすことが示されている。特定の成長因子とサイトカインには、トランスフォーミング成長因子ベータ、線維芽細胞成長因子、インスリン様成長因子1および2、血管内皮成長因子、および上皮成長因子が含まれている¹³⁾。PRP が医療現場に初めて導入されたのは、整形外科、心臓胸部外科、形成外科、皮膚科、歯科、糖尿病性創傷治療における組織の成長と修復における役割で実施されている。しかし、現地点では、生殖補助医療分野でのPRP療法はエビデンスの蓄積が必要である。決して、若返りの泉ではない¹⁴⁾。

本研究は、新鮮卵子での検討である。本邦において、社会的卵子凍結の需要も増加傾向にあり、採卵時に40

歳以上でも卵子凍結を実施している施設もある。しかし、日本生殖医学会は採卵時の年齢は40歳以上では推奨しないとしている¹⁵⁾。Chronopoulouら¹⁶⁾は、社会的卵子凍結は多くの問題が未解決であるが、過去には選択できなかった選択肢が可能となっていると述べている。実施にあたっては、十分な情報に基づいて決定しなければならないとしている。現在、社会的卵子凍結で凍結した患者の転帰についての報告もなされるようになってきたが、実際に卵子を融解し、その後の受精率、妊娠率についての比較検討は未だ少ない。一方で、凍結卵子由来と新鮮卵子由来の受精率、妊娠率は同等とする報告¹⁷⁾もあることから、新鮮卵子での検討は、40歳以上で卵子凍結を希望する患者への情報提供の一助になる可能性がある。

周産期や育児の観点からも、高齢で出産することは避けた方が望ましい。高齢による妊娠、出産を勧めることはないが、個人の状態や環境に応じたフレキシブルな対応も必要であると考えられる。

本研究の結果から、女性年齢40歳以上の患者において、ARTで挙児を希望する場合は、なるべく年齢が若いうちにARTを実施し、社会的卵子凍結を含め、特に45歳以上では、胚培養成績、胚移植後の成績をよく理解し、現状を説明した上でARTを実施する必要がある。さらに、採卵時の年齢にかかわらず、高齢での妊娠、出産は厳重な管理とサポートが重要となり、出産後も産後ケアなど、子を育む制度や妊孕性に関する教育も社会全体で整備していくことが大切であると考えられる。

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) 2020年体外受精・胚移植等の臨床実施成績。公益社団法人日本産科婦人科学会。 https://www.jsog.or.jp/activity/art/2020_ARTdata.pdf, (2023.05.01)
- 2) Franiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, Scott RT Jr: The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril*, 101(3): 656-663.e1, 2014.
- 3) 古井憲司: 新しい胚評価法に基づく最適な胚移植時期. *J Reprod Engineer*. 13: 15-19, 2010.
- 4) Yoshida H, Oomiya Y, Sato T, Aono N, Araki Y: A successful pregnancy and delivery outcome for a 46-year-old woman following in vitro fertilization. *Reprod Med Biol*. 30; 3 (1): 39-42, 2004.
- 5) Spandorfer SD, Bendikson K, Dragisic K, Schattman G,

- Davis OK, Rosenwaks Z: Outcome of in vitro fertilization in women 45 years and older who use autologous oocytes. *Fertil Steril*. 87 (1): 74-76, 2007.
- 6) 藤本尚, 金谷美希, 田中恵美, 八木亜希子, 平山奈美, 大谷亜衣, 前田基子, 鎌田真由美, 森若治, 神谷博文: アロマターゼ阻害剤を使用した体外受精で、48歳で妊娠・49歳で分娩に至った一症例. *日受精着床誌*, 27 (1): 233-236, 2010.
- 7) Rani G, Goswami S, Chattopadhyay R, Ghosh S, Chakravarty B, Ganesh A: Live birth in a 50-year-old woman following in vitro fertilization-embryo transfer with autologous oocytes: a rare case report. *Fertil Steril*, 103 (2): 414-416, 2015.
- 8) Gunnala V, Irani M, Melnick A, Rosenwaks Z, Spandorfer S: One thousand seventy-eight autologous IVF cycles in women 45 years and older: the largest single-center cohort to date. *J Assist Reprod Genet*, 35 (3): 435-440, 2018.
- 9) Fujishiro E, Yoneyama K, Kakinuma T, Kagawa A, Tanaka R, Kajijima H: Retrospective outcome in women aged 45 years and older undergoing natural cycle IVF treatment. *Reprod Biomed Online*, 43 (1): 66-72, 2021.
- 10) 高屋茜, 吉岡陽子, 石原直子, 榎原嘉彦, 滝澤美智子, 額賀沙季子, 齋藤将也, 若松侑子, 齊藤英和, 浅田義: 48歳6か月時の自己卵子を用いた体外受精.PGT-Aにより生児を得た一例. *日受精着床誌*, 40 (1): 81-84, 2023.
- 11) Suzuki Y, Matsubayashi H, Ohara Y, Yamaguchi K, Doshida M, Takeuchi T, Ishikawa T: Frozen-Thawed Embryo Transfer Using Autologous Oocytes Retrieved from Women Aged \geq 45 Years: A Retrospective Study. *Fertility & Reproduction*, 5 (3): 1-8, 2023.
- 12) Hajipour H, Farzadi L, Latifi Z, Keyhanvar N, Navali N, Fattahi A, Nouri M, Dittrich R: An update on platelet-rich plasma (PRP) therapy in endometrium and ovary related infertilities: clinical and molecular aspects. *Syst Biol Reprod Med*, 67 (3): 177-188, 2021.
- 13) Sharara FI, Lelea LL, Rahman S, Klebanoff JS, Moawad GN: A narrative review of platelet-rich plasma (PRP) in reproductive medicine. *J Assist Reprod Genet*, 38 (5): 1003-1012, 2021.
- 14) Barad DH, Albertini DF, Molinari E, Gleicher N: Preliminary report of intraovarian injections of autologous platelet-rich plasma (PRP) in extremely poor prognosis patients with only oocyte donation as alternative: a prospective cohort study. *Hum Reprod Open*, 2022 (3): hoac027, 2022.
- 15) 社会的適応による未受精卵子あるいは卵巣組織の凍結・保存のガイドライン。一般社団法人日本生殖医学会。 http://www.jsrm.or.jp/guideline-statem/guideline_2013_02.pdf, (2023.05.01)
- 16) Chronopoulou E, Raperport C, Sfakianakis A, Srivastava G, Homburg R: Elective oocyte cryopreservation for age-related fertility decline. *J Assist Reprod Genet*, 38 (5): 1177-1186, 2021.
- 17) Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology: Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertil Steril*, 99 (1): 37-43, 2013.

ホルモン補充周期での凍結胚移植は 産科合併症のリスク因子である

Frozen embryo transfer in hormone replacement cycles is a risk factor for obstetric complications.

山田 弘次, 片山 和明, 江口 武志, 小寺 花織, 芳川 裕美子, 江夏 徳寿, 山田 愛, 林 奈央,
江夏 宜シェン, 十倉 陽子, 山田 聡, 水澤 友利, 岡本 恵理, 苔口 昭次, 塩谷 雅英

Koji Yamada, Kazuaki Katayama, Takeshi Eguchi, Kaori Kodera, Yumiko Yoshikawa, Noritoshi Enatsu, Ai Yamada, Nao Hayashi,
Yihhsien Enatsu, Yoko Tokura, Satoshi Yamada, Yuri Mizusawa, Eri Okamoto, Shoji Kokeguchi, 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 1-1-2 三宮セントラルビル 2,7,8 階
HANABUSA Women's Clinic

要旨： 2022年4月からARTの保険化が開始され、これまでARTを考えていなかった患者層にとっても治療に対する敷居が低くなった。しかしART患者が増加する中、凍結胚移植、特にホルモン補充周期移植（HRC-FET）による合併症が近年多く報告されている。HRC-FETは通院回数が少なく、移植日の調整が可能であるため患者にとって利便性が高い。またクリニックにとってもその管理が簡便であるため、当院でも以前はHRC-FETが移植の主流であった。

そこで凍結胚移植のなかでもHRC-FETとNC-FETにおいて、妊娠症例の産科合併症の頻度をHRC-FET 2597例とNC-FET 855例で比較検討した。

その結果、HRC-FET群では、妊娠高血圧症候群（HDP）、弛緩出血、癒着胎盤、帝王切開、輸血施行の発症頻度がNC-FET群に比し有意に高率であった。また、弛緩出血（分娩時異常出血）において、1000ml以上、2000ml以上、3000ml以上、4000ml以上の大量出血に分けて比較検討したところ、HRC-FET妊娠群では全ての出血量でその発症は有意に増加していた。妊娠糖尿病（GDM）、前置胎盤の発症率は両群において有意差は認めなかった。

以上により凍結胚を移植する場合にはHRC-FETよりもNC-FETの方が、産科的に安全性が高いことが示唆された。

キーワード：産科合併症、自然排卵周期移植（NC-FET）、ホルモン補充周期移植（HRC-FET）

英文要旨： Recently, as the number of ART patients increases, complications of frozen embryo transfers, especially hormone replacement cycle-frozen embryo transfers (HRC-FET) have been reported more frequently. HRC-FET is easy for clinics to administer, and has been the mainstay of HRC-FET transplantation at our clinic.

Therefore, we investigated the frequency of complications in HRC-FET and natural cycle-frozen embryo transfers (NC-FET). The incidence of HDP, Atonic bleeding (intrapartum hemorrhage), Cesarean section, blood transfusion, and placenta accreta were significantly higher in HRC-FET pregnancies than in NC-FET pregnancies.

The incidence of GDM and placenta previa was not significantly different between the two groups. The HRC-FET group had a higher incidence of complications such as HDP, slack hemorrhage, and placenta accreta, as well as a higher incidence of massive hemorrhage.

The results of this study suggest that NC-FET is safer than HRC-FET in terms of obstetric safety when transferring frozen embryos.

キーワード： hormone replacement cycle-frozen embryo transfers (HRC-FET), natural cycle-frozen embryo transfers (NC-FET), obstetric complication

緒言

1978年に初めて体外受精-胚移植(IVF-ET)による児が誕生して以来、2020年度には本邦で生殖補助医療(ART)により出生した児は6万341人にのぼり、同年度の総出生児の84万832人の7.2%にも達するようになった¹⁾。またARTにおいては、新鮮胚移植による出生児数4878人に対して、凍結融解胚移植による出生児数は5万5503人にのぼる。凍結融解胚移植は2008年ころから毎年増加し、2020年には91.9%にも及ぶが¹⁾、この要因として本邦での妊娠率が新鮮胚移植と比較して、凍結胚移植の妊娠率が高かった事が挙げられる。また2008年には日本産科婦人科学会より、多胎妊娠発生予防のため原則単一胚移植が推奨されるようになり、結果として余剰胚は凍結して保存しておくケースが増えた事、それを可能にするガラス化凍結保存法の開発により、胚へのダメージを軽減して高い妊娠率が期待できるようになったことも一因としてあげられる。一方、近年その凍結融解胚移植、なかでもホルモン補充周期移植(HRC-FET)では産科合併症、特に癒着胎盤・分娩時異常出血・妊娠高血圧症候群(HDP)などのリスクが上昇することが多く報告されるようになってきた。

そこで今回我々はホルモン補充周期移植(HRC-FET)における産科合併症の発症リスクを調べた。

対象と方法

2014年から2020年までの間で、当院でのARTにより分娩に至った5176症例を対象に、その産科合併症に関して後方視的に検討した。当院では妊娠9週前後で卒院時紹介状とともに、妊娠・分娩・産褥時の異常、

出血量などをチェックで記載できる返信用分娩報告フォームを同封しており、その返信データをもとに、妊娠高血圧症候群(HDP)、妊娠糖尿病(GDM)、弛緩出血、常位胎盤早期剥離、前置胎盤、癒着胎盤、帝王切開率、輸血施行例などの産科合併症について、その発症頻度を解析した。HRC-FET群と自然排卵周期移植(NC-FET)群に分けて比較検討した。統計学的解析はt検定、 χ^2 乗検定、フィッシャーの正確確率検定を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

結果

HRC-FET群とNC-FET群間において、年齢やBMI、分娩歴などの患者背景、分娩週数や早産率に関しても両群間で有意差は認めなかった(表1)。また双胎に関してNC-FET群で有意に高率であった($P < 0.05$) (表1)。

HDPの発症率において、HRC-FET群2597例中180例(6.9%)に対して、NC-FET群853例中38例(4.4%)と、HRC-FET群で有意に上昇していた($P < 0.05$) (表2)。GDMでは、HRC-FET群105例(4.0%)に対して、NC-FET群30例(3.50%)とその発症率に有意差はなかった。

前置胎盤において、HRC-FET群40例(1.54%)に対して、NC-FET群11例(1.29%)、また常位胎盤早期剥離ではHRC-FET群4例(0.15%)に対して、NC-FET群中4例(0.47%)とともに発症率に有意差は認めなかった。

癒着胎盤ではHRC-FET群118例(4.54%)に対して、NC-FET群8例(0.94%)とHRC-FET群において、その発症率は有意に上昇していた($P < 0.05$)。また弛緩出血(分娩時出血量)でも、HRC-FET群214例(8.24%)に対して、NC-FET群31例(3.62%)とHRC-FET群

表1 妊娠に至った移植法と患者背景

妊娠方法	HRC-FET	NC-FET	p 値
妊娠数 (人)	2597	855	
年齢 (歳)	35.59 ± 4.00	35.7 ± 3.93	NS
BMI(kg/m ²)	21.03 ± 3.31	21.00 ± 3.09	NS
分娩週数(週)	38.67 ± 3.28	38.57 ± 3.38	NS
早産 (人)	216	71	NS
初産 (人)	1600	554	NS
経産 (人)	997	301	NS
単胎妊娠数	2523	817	NS
多胎妊娠数	61	38	$P < 0.05$

表2 移植方法別による産科合併症の比較

移植方法	HRC-FET (N=2597)	NC-FET (N=855)	p 値	OR(95% 信頼区間)
HDP	180 (6.9%)	38 (4.4%)	<0.05	1.56 (1.09-2.23)
GDM	105 (4.0%)	30 (3.5%)	NS	1.15 (0.76-1.74)
弛緩出血	214 (8.24%)	31 (3.62%)	<0.05	2.27 (1.55-3.34)
常位胎盤 早期剝離	4 (0.15%)	4 (0.47%)	NS	0.33 (0.08~1.32)
前置胎盤	40 (1.54%)	11 (1.29%)	NS	1.29 (0.61-2.34)
癒着胎盤	118 (4.54%)	8 (0.94%)	<0.05	4.86 (2.36-9.98)
帝王切開	1151 (44.32%)	301 (35.2%)	<0.05	1.26 (1.09~1.46)
輸血	75 (2.89%)	6 (0.70%)	<0.05	4.12 (1.79~9.49)

表3 移植法別による分娩時出血量の比較

	HRC-FET	NC-FET	p 値
妊娠数 (人)	2597	855	
出血≧1000ml	228 (8.78%)	30 (3.51%)	<0.05
出血≧2000ml	82 (3.16%)	6 (0.70%)	<0.05
出血≧3000ml	22 (0.85%)	1 (0.12%)	<0.05
出血≧4000ml	12 (0.46%)	1 (0.12%)	<0.05

でその発症率は有意に上昇していた (P<0.05). 出血量別の検討では, 出血1000ml以上ではHRC-FET群228例(8.78%)に対して, NC-FET群30例(3.51%), 2000ml以上ではHRC-FET群82例(3.16%)に対して, NC-FET群6例(0.70%)とHRC-FET群で有意に増加していた (P<0.05) (表3). さらに出血3000ml以上, 4000ml以上の大量出血では, HRC-FET群でそれぞれ22例(0.85%)と12例(0.46%)に対して, NC-FET群ではそれぞれ1例(0.12%)のみだった. HRC-FET群では全ての分類で有意に増加していた (P<0.05) (表3).

輸血を必要とした例は, HRC-FET群75例(2.89%)に対して, NC-FET群6例(0.70%)とHRC-FET群で有意に増加していた (P<0.05). 帝王切開例でも, HRC-FET群1151例(44.3%)に対してNC-FET群301例(35.2%)と, HRC-FET群において有意に増加していた (P<0.05).

考 察

ARTにおいて凍結融解胚移植を成功させるには, 子宮

内膜調整方法が重要になるが、主にHRC-FETとNC-FETという二つのプロトコルがある。前者は外因性にホルモンを長期間にわたり補充する必要があるが、通院回数が少なく、移植日を調整できることが大きなメリットで、卵巣機能低下症例や排卵障害の患者に対してもよい適応となる。一方、後者はその周期の排卵に合わせて移植を行うため通院回数が多くなりがちで、さらに移植日の調整もできないが薬剤の使用は最小限で済み、その黄体機能を最大限に生かす事ができる。医療施設側としては外来管理が容易であるため、当院でも以前はHRC-FETが主流だった。しかし近年、以下に示すようにHRC-FETの産科合併症のリスクが多数報告されている。

HRC-FETはHDPのリスク因子であることが多数報告されている²⁻⁷⁾。HDPは年齢や多胎妊娠がそのリスクファクターになるが⁸⁾、今回の我々の検討では、年齢、多胎妊娠に関しては、HRC-FET群とNC-FET群の間で有意差を認めなかった。その発生機序については、高濃度のエストロゲンはトロホプラストの増殖が不十分で胎盤形成不全が原因とする報告⁹⁾、また妊娠初期のプロゲステロン値の異常によるトロホプラストの侵入異常から、胎盤形成不全を引き起こす機序などが推測されているが¹⁰⁾、特に近年、HRC-FETでは黄体が形成されない事がHDPの原因と報告されている^{11,12)}。黄体ではエストロゲンやプロゲステロンだけでなく、リラキシンやVEGFなど血管作動性物質も産生しており、これらの欠落により循環不全が生じる機序が推測されており¹¹⁾、黄体から産生されるプロレニンの欠落により、RAA系へ影響しHDPが引き起こされる可能性なども指摘されている¹²⁾。今回の我々の検討でも、HRC-FET群においてその発症率は有意に上昇していた。

またARTでは自然妊娠に比べて分娩時出血が多く¹³⁾、さらにHRC-FETではNC-FETに比べて増加するという報告がある⁷⁾。当院での検討でも、HRC-FET群ではNC-FET群と比較して出血が1000ml以上、2000ml以上、3000ml以上、4000ml以上の大量出血に分けて検討しても、すべてHRC-FET群で有意に増加していた($P<0.05$)。またその結果として、分娩時異常出血に伴う輸血例も、同群で有意に増加していた($P<0.05$)。

癒着胎盤は分娩時の大量出血を引き起こし、DICの発症や輸血の施行、妊産婦死亡などの原因となる産科管理上極めて重要な疾患である。そのリスク因子としては一般的に前置胎盤、帝王切開歴、経産婦などがある。さらに上記のリスク因子以外に、2011年にEsh-Broderらによって始めて、ARTと癒着胎盤の関連が指摘され¹⁴⁾、2015年にはKaserらも凍結胚移植は新鮮胚移植に比べて癒着胎盤の発症リスクが高いこと¹⁵⁾、さらにHRC-

FETではNC-FETに比べて癒着胎盤の発症率が高いことが報告されている¹⁶⁾。

癒着胎盤の発症頻度は、1985～1994年間の検討では約1/2510だったが¹⁷⁾、それ以降の1982年～2002年までの報告では約1/533まで大きく上昇する¹⁸⁾。また、自然妊娠での発症頻度は0.039%だが¹⁹⁾、新鮮胚移植では0.04～0.09%、さらに凍結胚移植では0.21～0.45%である⁹⁾。また新鮮胚移植の0.1%に対して、凍結胚移植では0.9%までその発症率は上昇するという報告もある²⁾。今回の我々の検討では、HRC-FET群では、NC-FET群に対して癒着胎盤の発症率は有意に増加していた($P<0.05$)。一方HRC-FET群では、帝王切開歴や前置胎盤の有無など背景についてNC-FET群との間に有意差は認めなかった。

癒着胎盤の発生機序は不明であるが、胎盤形成時期にエストロゲン濃度が低いと、トロホプラストは子宮内膜に深く増殖、分化してその結果癒着胎盤が生じると考えられている²⁰⁾。またエストロゲン低値による内膜の菲薄化がその原因である可能性^{15,21)}、また妊娠初期のプロゲステロン低値が、脱落膜化不全を引き起こす事が原因であるとの指摘もある²²⁾。癒着胎盤症例の移植・妊娠判定時のエストロゲン値や、移植時の内膜厚なども今後の課題として、検討する必要があると思われた。

ARTでは自然妊娠に比べてGDMの発症率は上昇するという報告がある^{23,24)}。中でもHRC-FETはNC-FETと比べてGDMの発症率は約半分だったという報告¹¹⁾、またHRC-FETとNC-FETの間に有意差はないという報告⁴⁾など議論の分かれるところである。妊娠胎盤から産生されるプロゲステロンはインスリン抵抗性を有するため、妊娠中のプロゲステロン製剤の使用はGDMのリスク因子であるとの報告がある²³⁾。また妊娠中のプロゲステロンによる糖尿病誘発リスクは、グルコーストランスポーター4(GLUT4)発現の減少を介して、骨格筋や脂肪組織におけるインスリン抵抗性の増強による可能性²⁵⁾や、さらにプロゲステロン受容体ノックアウトマウスは耐糖能を改善することも報告されている²⁶⁾。当院におけるGDMの検討では、両群間ではその発症率に有意差は認めなかったが、今回移植時のプロゲステロン値は評価しておらず、移植時のプロゲステロン値が上昇しているならその根拠となりうるため今後検討していきたい。

前置胎盤においてもHRC-FETで増加するという報告が多い^{4,27)}が、一方では差が無いという報告もある^{1,11)}。最近のメタアナリシスでは、有意に前置胎盤のリスクが上昇すると報告されている⁵⁾。当院の検討では、両群間でその発症に有意差は認めなかった。

またHRC-FETでは帝王切開率が上昇するという報告も多く^{4,28)}, 当院での検討でもHRC-FET群においてその発症率は有意に増加していた($P < 0.05$).

結 論

HRC-FETによる妊娠では, NC-FETと比べてHDP, 弛緩出血, 癒着胎盤, 帝王切開, 輸血施行例が高率に発症しており, 分娩時に大量出血を来した症例が数多く見られた. 以上の結果より, 凍結胚を移植の場合にはHRC-FETよりもNC-FETの方が, 産科的に安全性が高いことが示唆された.

参 考 文 献

- 1) 2020ART データブック 体外受精 胚移植等の臨床実績. 日本産科婦人科学会. <http://www.jsog.or.jp/activity/art/2020-ARTdata>
- 2) Saito K, Kuwahara A, Ishikawa T, 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 accreta, and gestational diabetes mellitus. *Hum Reprod*, 34 (8) : 1567-1575, 2019.
- 3) Nagata C, Limin Yang, Yamamoto-Hanada K, Mezawa H, Ayabe T, Ishizuka K, Konishi M, Ohya Y, Saito H, Sago H: Complications and adverse outcomes in pregnancy and childbirth among women who conceived by assisted reproductive technologies: a nationwide birth cohort study of Japan environment and children's study. *BMC Pregnancy Childbirth*, 19 (1) :77, 2019.
- 4) Yu Tao, Yanping Kuang, Ningling Wang: Risks of Placenta Previa and Hypertensive Disorders of Pregnancy Are Associated With Endometrial Preparation Methods in Frozen-Thawed Embryo Transfers. *Front Med (Lausanne)*, 646220, 2021.
- 5) Andrea Busnelli, Irene Schirripa, Francesco Fedele, Alessandro Bulfoni, Paolo Emanuele Levi-Setti: Obstetric and perinatal outcomes following programmed compared to natural frozen-thawed embryo transfer cycles: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*, 37 (7) : 1619-1641, 2022.
- 6) Lijuan Fan, Na Li, Xitong Liu, Xiaofang Li, He Cai, Dan Pan, Ting Wang, Wenhao Shi, Pengfei Qu, Juanzi Shi: Hormone replacement treatment regimen is associated with a higher risk of hypertensive disorders of pregnancy in women undergoing frozen-thawed embryo transfer. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023 Feb.
- 7) Andrea Busnelli, Irene Schirripa, Francesco Fedele, Alessandro Bulfoni, Paolo Emanuele Levi-Setti: Obstetric and perinatal outcomes following programmed compared to natural frozen-thawed embryo transfer cycles: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*, 37 (7) :1619-1641,2022.
- 8) Ben W J Mol, Claire T Roberts, Shakila Thangaratnam, Laura A Magee, Christianne J M de Groot, G Justus Hofmeyr : Pre-eclampsia. *Lancet*, 5: 999-1011, 2016.
- 9) Simon C, Dominguez F, Valbuena D, Pellicer A : The role of estrogen in uterine receptivity and blastocyst implantation. *Trends Endocrinol Metab*, 14 (5) :197-9, 2003.
- 10) Chen JZ, Sheehan PM, Brennecke SP, Keogh RJ : Vessel remodeling, pregnancy hormones and extravillous trophoblast function. *Mol Cell Endocrinol*, 349:138-144, 2012.
- 11) Takeshima K, Ezoe K, Onogi S, Kawasaki N, Hayashi H, Kuroda T, Kato K: Endometrial preparation and maternal and obstetrical outcomes after frozen blastocyst transfer. *AJOG Glob Rep*, 2 (4) : 2022.
- 12) Rosalieke E Wiegel, A H Jan Danser, Régine P M Steegers-Theunissen, Joop S E Laven, Sten P Willemsen, Valerie L Baker, Eric A P Steegers, Frauke von Versen-Höyneck: Determinants of Maternal Renin-Angiotensin-Aldosterone-System Activation in Early Pregnancy: Insights From 2 Cohorts. *J Clin Endocrinol Metab*, 105 (11) : 3505-3517, 2020.
- 13) Wen Tai, Lingmin Hu, Juan Wen: Maternal and Neonatal Outcomes After Assisted Reproductive Technology: A Retrospective Cohort Study in China. *Front Med (Lausanne)*, 2022.
- 14) Esh-Broder E, Ariel I, Abas-Bashir N, Bdolah Y, Celnikier DH: Placenta accreta is associated with IVF pregnancies: a retrospective chart review. *BJOG*, 118 (9) :1084-1089, 2011.
- 15) Daniel J Kaser, Alexander Melamed, Charles L Bormann, Dale E Myers, Stacey A Missmer, Brian W Walsh, Catherine Racowsky, Daniela A Carusi: Cryopreserved embryo transfer is an independent risk factor for placenta accreta. *Fertil Steril*, 103: 1176-1184, 2015.
- 16) Ishihara O, Araki R, Kuwahara A, Itakura A, Saito H, Adamson G: Impact of frozen-thawed single-blastocyst transfer on maternal and neonatal outcome: an analysis of 277,042 single-embryo transfer cycles from 2008 to 2010 in Japan. *Fertil Steril*, 101:128-33, 2014.
- 17) D A Miller I, J A Chollet, T M Goodwin: Clinical risk factors for placenta previa-placenta accreta. *Am J Obstet Gynecol*, 177 (1) ; 1045-9, 1997.
- 18) Serena Wu I, Masha Kocherginsky, Judith U Hibbard: Abnormal placentation: twenty-year analysis. *Am J Obstet Gynecol*, 192 (5) : 1458-61, 2005.
- 19) Seiji Sumigama I, Atsuo Itakura, Toyohiro Ota, Mayumi Okada, Tomomi Kotani, Hiromi Hayakawa, Kana Yoshida, Kaoru Ishikawa, Kazumasa Hayashi, Osamu Kurauchi, Satoru Yamada, Hiromi Nakamura, Katsuji Matsusawa, Katsumi Sakakibara, Mitsuaki Ito, Michiyasu Kawai, Fumitaka Kikkawa: Placenta previa increta/percreta in Japan: a retrospective study of ultrasound findings, management and clinical course. *Obstet Gynaecol*, 33 (5) : 606-11, 2007.
- 20) Wennerholm UB, Henningsen AK, Romundstad LB, Bergh

- C, Pinborg A, Skjaerven R, Forman J, Gissler M, NygrenKG, Titinen A: Perinatal outcomes of children born after frozen-thawed embryo transfer: a Nordic cohort study from the CoNARTaS group. *Hum Reprod*, 28: 2545-2553, 2013.
- 21) 山田智子・土井貴之・柏木唯衣・竹原啓・小宮山明・伊藤敏谷・小田智昭：凍結胚移植後の常位癒着胎盤の一例．静岡産科婦人科学会雑誌，7（1）：43-48，2018.
- 22) auniaux E, Jurkovic D: Placenta accreta: pathogenesis of a 20th century iatrogenic uterine disease. *Placenta*, 33（4）：244-251, 2012.
- 23) Ashrafi M, Gosili R, Hosseini R, Arabipoor A, Ahmadi J, Chehrazi M: Risk of gestational diabetes mellitus in patients undergoing assisted reproductive techniques. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 176:149-152, 2014.
- 24) Julia K Bosdou, Panagiotis Anagnostis, Dimitrios G Goulis, Georgios T Lainas, Basil C Tarlatzis, Grigoris F Grimbizis, Efstratios M Kolibianakis: Risk of gestational diabetes mellitus in women achieving singleton pregnancy spontaneously or after ART: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 26（4）：514-544, 2020.
- 25) Brani, steanu DD, Mathieu C: Progesterone in gestational diabetes Mellitus: guilty or not guilty?. *Trends Endocrinol Metab*, 14:54-56, 2003.
- 26) Picard F, Wanatabe M, Schoonjans K, Lydon J, O'Malley BW, Auwerx J: Progesterone receptor knockout mice have an improved glucose homeostasis secondary to beta-cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99:15644-8, 2002.
- 27) Bahram Salmanian, Karin A Fox, Sara E Arian, Hadi Erfani, Steven L Clark, Kjersti M Aagaard, Sarah E Detlefs, Soroush Aalipour, Jimmy Espinoza, Ahmed A Nassr, William E Gibbons, Amir A Shamsirsaz, Michael A Belfort, Alireza A Shamsirsaz: In vitro fertilization as an independent risk factor for placenta accreta spectrum. *Am J Obstet Gynecol*, 223（4）：2020.
- 28) Takeshima K, Jwa SC, Saito H, Nakaza A, Kuwahara A, Ishihara O, Irahara M, Hirahara F, Yoshimura Y, Sakumoto T: Impact of single embryo transfer policy on perinatal outcomes in fresh and frozen cycles analysis of the Japanese Assisted Reproduction Technology registry between 2007 and 2012. *Fertil Steril*, 105: 337-346, 2016.

iDAScoreによる胚評価と胚の正倍数性の関連性

Correlation between Embryo Score and Embryo Euploidy using iDAScore

桑鶴 ゆかり, 溝部 大和, 黒木 裕子, 福元 由美子, 徳留 茉里,
燃脇 晴恵, 折田 有史, 岩川 富貴子, 竹内 一浩

Yukari Kuwatsuru, Yamato Mizobe, Yuko Kuroki, Yumiko Fukumoto, Mari Tokudome,
Harue Moewaki, Yuji Orita, Tokiko Iwakawa, Kazuhiro Takeuchi

竹内レディースクリニック附設高度生殖医療センター 〒899-5421 鹿児島県始良市東餅田502-2
Takeuchi Ladies Clinic/Center for Reproductive Medicine

要旨： iDAScoreと胚の正倍数性の関連性について検討した。Day5およびDay6胚盤胞におけるiDAScoreおよび正倍数性率についてそれぞれ比較した。同様に,Day5およびDay6良好胚盤胞のiDAScoreおよび正倍数性率を比較した。最後に,Day5良好胚盤胞におけるeuploidy, mosaic, aneuploidyそれぞれのiDAScoreを比較し,Day6においても同様に検討した。Day5良好胚盤胞においては,正倍数性胚におけるiDAScoreのカットオフ値を抽出し,正倍数性胚盤胞獲得におけるiDAScoreのカットオフ値(iDAScore:9.1)を基準に2群に分類し,正倍数性率を比較した。Day5胚盤胞(8.92±0.63)はDay6胚盤胞(6.80±1.33)と比較して有意に高い値を示した(P<0.01)。Day5胚盤胞(29.6%)はDay6胚盤胞(16.0%)と比較して有意に高い値を示した(P<0.05)。Day5良好胚盤胞(8.95±0.59)はDay6良好胚盤胞(7.05±1.25)と比較して有意に高い値を示した(P<0.01)。Day5良好胚盤胞(30.9%)はDay6良好胚盤胞(14.3%)と比較して有意に高い値を示した(P<0.05)。また,Day5良好胚盤胞におけるiDAScoreにおいて,euploidy(9.14±0.35)およびmosaic(9.07±0.41)がaneuploidy(8.78±0.71)と比較して有意に高い値を示した(P<0.05)。カットオフ値9.1以上(37.0%)が9.0以下(23.5%)と比較し,有意に高い値を示した(P<0.05)。Day5の良好胚盤胞でiDAScore9.1以上を基準とすれば,正倍数性胚を識別できる可能性が高くなることが示された。

キーワード： EmbryoScope⁺™, iDAScore, Preimplantation genetic testing for aneuploidy
ランニングヘッド： iDAScoreによる胚評価と胚の正倍数性

英文要旨： We examined the relationship between iDAScore and embryo euploidy. The comparison of iDAScore and euploidy rates was conducted for Day5 and Day6 blastocysts, as well as for Day5 and Day6 good-quality blastocysts. Furthermore, the iDAScores of euploidy, mosaic, and aneuploidy were compared for both Day5 and Day6 good-quality blastocysts, respectively. In Day5 good-quality blastocysts, the extracted cutoff value of iDAScore for euploid embryos was used to classify two groups (iDAScore:9.1), and their euploidy rates were compared. The iDAScore of Day5 blastocysts (8.92±0.63) was significantly higher than that of Day6 (6.80±1.33) (P<0.01). The euploidy rate was notably greater in Day5 (29.6%) than in Day6 (16.0%) (P<0.05). Similarly, the iDAScore of Day5 good-quality blastocysts (8.95±0.59) was significantly higher compared with that of Day6 good-quality blastocysts (7.05±1.25) (P<0.01). The euploidy rate exhibited a significant increase in Day5 good-quality blastocysts (30.9%) compared with that of Day6 (14.3%) (P<0.05). These findings suggest that an iDAScore of 9.1 or higher in Day5 good-quality blastocysts enhances the likelihood of identifying positive euploid blastocysts.

キーワード： EmbryoScope⁺™; iDAScore; preimplantation genetic testing for aneuploidy.

緒言

体外受精の成功率を高めるためには染色体数的異常胚の移植を避け、正倍数性胚を移植することが重要であるが、現在の技術において、正倍数性胚の選別に最も有効な方法は着床前胚異数性検査 (Preimplantation genetic testing for aneuploidy: PGT-A) である。PGT-Aにおいては、その有用性を示唆する報告¹⁻³⁾が散見されている。近年においてはTrophectoderm-Biopsy (以下TE-Biopsy) が主流な方法であるが、TE-Biopsy実施のためには胚盤胞に発育することが前提となり、またTEを生検することは侵襲的であるため、非侵襲的に正倍数性胚を見極める方法の確立が重要である。タイムラプスインキュベーターであるEmbryoScope^{+TM} (Vitrolife, Gothenburg, Sweden) (以下ES⁺) には、Known implantation data (以下KIDScore) と呼ばれる、胚評価を行えるソフトが内蔵されている。KIDScoreはCleavage regularity, Developmental speed, Blastocyst qualityの3つの因子で構成されており、胚評価をスコア化し、評価が可能である⁴⁾。KIDScoreにおいては胚盤胞の形態学的評価に加え人工知能による解析補助を行うソフトであり、アノテーションが必要である。近年、深層学習と3次元畳み込みニューラルネットワークを用いて自動で胚評価を行えるソフトであるiDAScoreが開発された。iDAScoreはアノテーションの必要がなく人工知能による胚評価(胚ごとの着床の可能性を1~9.9でスコアリング)が可能であり、自動で移植優先順位を評価することができる。iDAScoreは画像分析に基づき着床能を有する胚を識別することができるため、この方法で着床する可能性の高い胚を予測できれば非侵襲的な胚選別が可能となる。iDAScoreを使用することで流産率が低下し、生児獲得率が上昇するとの報告も存在する⁵⁾。PGT-AおよびiDAScoreどちらにおいても胚盤胞に発育することが必須となるが、胚が順調に発育していけば、培養5および6日目に胚盤胞に到達する。培養5日目で胚盤胞に到達した胚の方が発育速度、グレード、妊娠率において高い値を示すことが知られている^{6,7)}。そこで本検討では、iDAScoreによる胚評価と胚の倍数性の関連性について調査した。具体的には、Day5およびDay6胚盤胞においてiDAScoreおよび胚の正倍数性に違いがあるか、また、iDAScoreを用いて正倍数性胚を選別するための最適な条件を検討した。

対象と方法

■対象

2019年12月から2020年11月においてPGT-A特別臨床研究の患者を対象とした。なお、本研究は当院倫理委員会承認のもと、オプトアウトを行い実施した。

■方法

調節卵巣刺激および胚培養

ゴナドトロピン放出ホルモン (GnRH) アゴニスト法、GnRHアンタゴニスト法またはprogestin primed ovarian stimulation法を用いて卵巣刺激を行った。ヒト絨毛性ゴナドトロピンを注射した36時間後に経膈超音波下にて採卵を行い、前培養3-4時間後に顕微授精を施行した。培養液はGlobal (LifeGlobal, Guelph, ON, Canada) またはContinuous Single Culture medium (FUJIFILM Irvine Scientific, Santa Ana, CA, USA) を用いた。顕微授精施行直後から培養液に胚を移し培養を開始した。胚培養には、EmbryoScope^{+TM} (Vitrolife, Gothenburg, Sweden) を使用し、37°C、5% O₂、6% CO₂、89% N₂の気相条件で最大6日間培養した。

TE-Biopsy

Biopsyは、レーザー照射(300 μs)にて細胞を切る方法(Pull法)を用いた。正常受精が確認された、ガードナー分類における3BB以上に育った胚盤胞の内部細胞塊(inner cell mass: ICM) から離れた位置のTE細胞をBiopsyの対象とした。レーザー穿孔装置LYKOS (Hamilton Thorne社)を用いて透明帯開口及びBiopsy, Assisted Hatching(AHA)を行った。採取細胞数においては4-5個の細胞を目安に採取し^{8,9)}、Biopsy後は胚盤胞が収縮しており、AHAをより安全に行えるためTE-Biopsy後に透明帯の4分の1程度AHAを施行した¹⁰⁾。

TE-Biopsyで得られた細胞検体のTubingおよびNGS解析

TE-Biopsyで得られた細胞検体は、PBS (1% PVP含有)にて顕微鏡下で洗浄した。底部にPBS (1% PVP含有)の微量な小滴(1.5 μl)を作成した細胞検体保存用の0.2mlチューブ(Eppendorf PCR Tubes, 0.2ml)に移動させ、マイナス20°C以下で冷凍保存を行った。TE-Biopsyで得られた細胞検体のNGS解析は、Takeuchi¹¹⁾の報告に沿って自施設内で実施した。

統計解析

統計解析はBellCurve for Excel (株式会社 社会情報サービス, 東京, 日本) を使用した。バージョンは3.20である。 χ^2 検定およびクラスカル・ウォリス検定を用いた。統計学的解析の有意水準は $P < 0.05$ とした。

■研究デザイン

患者背景

胚盤胞の凍結日数(Day5, Day5およびDay6, Day6)により3群に分類し, 採卵回数, 年齢, AMHの値を比較した。また, 初診時における不妊原因についても調査した。

検討I

まず, 109症例276個の胚盤胞を対象とし, Day5およびDay6胚盤胞におけるiDAScoreおよび正倍数性率についてそれぞれ比較した。次に, 良好胚盤胞のみに対象を絞り, Day5およびDay6良好胚盤胞のiDAScoreおよび正倍数性率を比較した。最後に, Day5良好胚盤胞におけるeuploidy, mosaic, aneuploidyそれぞれのiDAScoreを比較し, Day6においても同様に検討した。

検討II

検討Iの結果を踏まえて, ES⁺を用いてDay5まで培養した良好胚盤胞(217個)において, 正倍数性胚盤胞獲得におけるiDAScoreのカットオフ値を抽出した。またカットオフ値(iDAScore:9.1)を基準に2群(9.1以上または9.0以下)に分類し, 正倍数性率を比較した。

結果

患者背景

胚盤胞の凍結日数がDay6のみの場合は, Day5およびDay6に胚盤胞を凍結した群と比較して, 採卵回数が有意に多い値を示した($P < 0.05$) (表1)。患者年齢においては, 胚盤胞の凍結日数がDay6の場合は, Day5のみとDay5およびDay6に胚盤胞を凍結した群と比較して有意に高い値を示した(at least $P < 0.05$)。AMHにおいては胚盤胞の凍結日数がDay6の場合は, Day5のみとDay5およびDay6に胚盤胞を凍結した群と比較して有意に低い値を示した(at least $P < 0.05$)。Day5のみとDay5およびDay6に胚盤胞を凍結した群は採卵回数, 患者年齢, AMHのすべてにおいて差がなかったことが示された。初診時における不妊原因においては3群間で大きな偏りは見られなかった。

検討I

276個中226個(81.9%)がDay5凍結胚であり, 50個(18.1%)がDay6凍結胚であった(Day6のみに胚盤胞を凍結した症例由来は17個, Day5およびDay6に胚盤胞を凍結した症例由来は33個)。胚盤胞の凍結時期の違いがiDAScoreに及ぼす影響について, Day5胚盤胞(8.92 ± 0.63)はDay6胚盤胞(6.80 ± 1.33)と比較して有意に高い値を示した($P < 0.01$) (表2)。胚盤胞の凍結時期の違いが正倍数性率に及ぼす影響について, Day5胚盤胞(67/226 (29.6%))はDay6胚盤胞(8/50 (16.0%))と比較して有意に高い値を示した($P < 0.05$) (表2)。良好胚盤胞における凍結時期の違い

表1 患者背景

胚盤胞の凍結日数(Day5またはDay6)	Day5のみ	Day6のみ	Day5およびDay6
n	70	15	24
採卵回数*	3.31 ± 2.48 ^{ab}	5.20 ± 3.47 ^a	2.75 ± 1.75 ^b
年齢(歳)*	38.26 ± 5.13 ^c	41.54 ± 2.88 ^d	38.54 ± 3.64 ^c
AMH ** (μg/L) *	2.69 ± 2.73 ^e	1.64 ± 2.89 ^f	3.07 ± 2.05 ^e
初診時における不妊原因 (n)			
男性因子, n (%)	12 (17.1)	4 (26.7)	6 (25.0)
卵管因子, n (%)	3 (4.3)	3 (20.0)	2 (8.3)
卵巣機能不全, n (%)	13 (18.6)	0 (0.0)	1 (4.2)
子宮因子, n (%)	3 (4.3)	1 (6.7)	0 (0.0)
原因不明, n (%)	13 (18.6)	5 (33.3)	10 (41.7)
複合因子, n (%)	15 (21.4)	2 (13.3)	2 (8.3)
その他, n (%)	11 (15.7)	0 (0.0)	3 (12.5)

* データは平均値 ± 標準偏差で示した。** AMH: anti-Mullerian hormone

^{a-b} $P < 0.05$ ^{c-d} at least $P < 0.05$ ^{e-f} at least $P < 0.05$

がiDAScoreに及ぼす影響について、Day5良好胚盤胞(8.95±0.59)がDay6良好胚盤胞(7.05±1.25)と比較して有意に高い値を示した($P<0.01$)。良好胚盤胞の凍結時期の違いが正倍数性率に及ぼす影響について、Day5胚盤胞(67/217 (30.9%))はDay6胚盤胞(5/35 (14.3%))と比較して有意に高い値を示した($P<0.05$) (表3)。患者年齢において両群間に差は見られなかった(38.15±4.81–38.75±3.89)。また、Day5良好胚盤胞におけるiDAScoreにおいて、euploidy(9.14±0.35)およびmosaic(9.07±0.41)がaneuploidy(8.78±0.71)と比較して有意に高い値を示した(at least

$P<0.05$) (表4)。Day6胚盤胞におけるiDAScoreはeuploidy, mosaic, aneuploidy全てにおいて差が見られなかった(6.58±1.83–7.18±1.06) (表4)。

検討II

euploidy獲得におけるカットオフ値は9.1であった(図1)。カットオフ値を基準とし2群に分類した場合、正倍数性率においてカットオフ値9.1以上(44/119 (37.0%))が9.0以下(23/98 (23.5%))と比較し、有意に高い値を示した($P<0.05$) (表5)。

表2 胚盤胞の凍結時期 (Day5 および Day6) の違いが iDAScore および正倍数性率に及ぼす影響

	Day5	Day6
n	226	50
iDAScore	8.92±0.63 ^a	6.80±1.33 ^b
正倍数性率	67/226 (29.6%) ^c	8/50 (16.0%) ^d

^{a-b} $P<0.01$

^{c-d} $P<0.05$

表3 良好胚盤胞における凍結時期 (Day5 および Day6) の違いが iDAScore および正倍数性率に及ぼす影響

	Day5	Day6
n	226	50
良好胚盤胞数 (%)	217/226 (96.0%)	35/50 (70.0%)
それ以外の胚盤胞 (%)	9/226 (4.0%)	15/50 (30.0%)
良好胚盤胞における患者年齢 *	38.15±4.81	38.75±3.89
良好胚盤胞iDAScore	8.95±0.59 ^a	7.05±1.25 ^b
良好胚盤胞正倍数性率	67/217 (30.9%) ^c	5/35 (14.3%) ^d

* 良好胚盤胞を凍結した患者のみを対象とし、良好胚盤胞は4BB以上と定義した

^{a-b} $P<0.01$

^{c-d} $P<0.05$

表4 良好胚盤胞における Day5 および Day6 凍結胚の euploidy, mosaic, aneuploidy それぞれの iDAScore

	Day5		Day6	
	n	iDAScore	n	iDAScore
euploidy	67	9.14±0.35 ^a	5	6.58±1.83
mosaic	41	9.07±0.41 ^a	5	6.87±1.65
aneuploidy	109	8.78±0.71 ^b	25	7.18±1.06

^{a-b} at least $P<0.05$

表5 良好胚盤胞の euploidy 獲得における iDAScore のカットオフ値が euploidy 率に及ぼす影響

iDAScore	n	9.1以上	9.0以下
euploidy率	217	44/119 (37.0%) ^a	23/98 (23.5%) ^b

^{a-b} P<0.05

考 察

本研究の結果から、Day5の良好胚盤胞で、iDAScore9.1以上を基準とすれば、正倍数性胚を選択し得るひとつの指標となることが示された。検討Iの結果から、Day5胚盤胞はDay6胚盤胞と比較して、iDAScoreおよび正倍数性胚率ともに高い値を示し、より出生する可能性が高い胚盤胞であることが示された。これまでの報告^{6,7)}と同様に、Day5胚盤胞はDay6胚盤胞と比較して、より出生する可能性が高い胚盤胞であるといえる。しかし、Day6胚盤胞は患者年齢が高いことがiDAScoreや正倍数性胚率に影響していると考えられるため、良好胚盤胞のみに条件を絞り解析を行った。良好胚盤胞のみ条件に絞った場合においても同様にDay5胚盤胞はDay6胚盤胞と比較して、iDAScoreおよび正倍数性胚率ともに有意に高い値を示した(at least $P<0.05$)。この場合においては患者年齢に差がなかったことから、これ以降の検討においては患者年齢の影響がない良好胚盤胞のみを対象とした。Day5良好胚盤胞においては、iDAScoreが高ければ、移植適応胚である可能性が高い。一方、Day6良好胚盤胞においては、iDAScoreはeuploidy, mosaic, aneuploidy全てにおいて差が見られなかった。そのため、Day6良好胚盤胞ではiDAScoreによる胚の選別が困難であり、iDAScoreの胚評価はDay5良好胚盤胞でのみ有効であると考えられる。差が出なかった理由としては、胚の発育速度と胚盤胞のグレードが原因として考えられる。今回の検討では良好胚盤胞のみを対象としているため、胚盤胞のグレードが影響した可能性は低い。そのため、グレードが同等であれば胚の発育速度が原因として考えられる。iDAScoreは発育速度が加味された評価方法のため、仮に正倍数性胚であってもDay6で胚盤胞に到達した場合は、Day5で良好胚盤胞に到達した場合と比較するとiDAScoreは低い値を示してしまう。iDAScoreが高い値を示せば、正倍数性胚である可能性が高くなるはずだが、Day6で胚盤胞に到達すると発育速度が加味されてしまいDay6良好胚盤胞であっても全てにおいてiDAScoreが低い値を示してしまう(表4)。このことが影響し、

euploidy, mosaic, aneuploidyの3群間にiDAScoreの差がでなかったと考えられる。発育速度に関しては、適切な時期に適切なステージへ胚が発育していることが重要であるため¹²⁾、適切な発育速度が正倍数性胚獲得において重要であるといえる。今後はDay6において胚盤胞に到達するような発育速度の遅い胚の中から、正倍数性胚を識別するための新たな非侵襲的な観察方法の開発が求められる。

検討Iの結果を踏まえ、検討IIでは、Day5良好胚盤胞のみに焦点を絞り、検討を行った。iDAScoreは凍結融解単一胚盤胞移植において若齢患者では、妊娠予測のモデルになると報告されている¹³⁾。iDAScoreの値が高い患者は年齢が有意に若いことも報告されている⁵⁾ことから、iDAScoreは年齢による影響を受けると考えられる。本検討においても、表1の結果よりDay6のみの胚盤胞を凍結した群は患者年齢が有意に高い値を示している。表2の結果からも、Day6凍結胚で正倍数性胚が少なかった原因として、患者年齢が関係していると言える。また、採卵回数も有意に高値を示し、AMHにおいては有意に低値であることから、ART反復不成功の患者であると考えられる。このような患者においては、iDAScoreの有用性が反映されない可能性が高い。つまり、Day5において良好胚盤胞を獲得することが最もiDAScoreの有用性が発揮される。しかし、胚盤胞に複数個到達しない場合(1個しか胚盤胞に到達しない場合)は移植の優先順位を考える必要がないため、iDAScoreは全ての患者に有効ではなく、その有用性は患者背景や胚盤胞の発育状況の影響を受けると考えられる。また、図1においてiDAScoreにおける正倍数性胚盤胞獲得に対するROC曲線による解析から、ROC曲線下面積は0.6331、カットオフ値9.1であった。9.1を基準とし算出した場合、感度59.7%、特異度50.0%、陽性的中率37.0%、陰性的中率76.5%であった。このことから、iDAScore9.1を基準にした場合、正倍数性胚獲得率が高いというわけではなく、異数性胚を排除する確率が高いことがわかる。

本研究の結果から、Day5良好胚盤胞では、iDAScoreが高ければ移植適応胚である可能性が高く、iDAScoreが9.1以上の場合は、正倍数性胚を選択し得

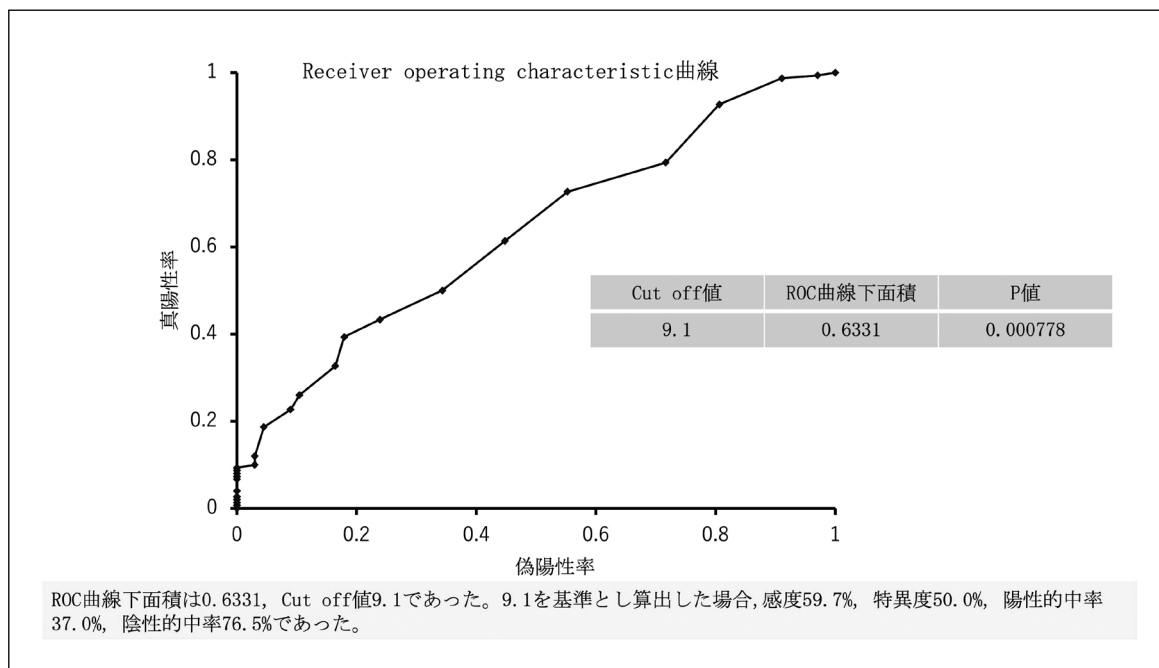


図1 iDAScoreにおける正倍数性胚盤胞獲得に対するROC曲線

るひとつの指標となると考えられる。これらの条件を満たす胚を移植することで、出生する可能性が高い胚を選別できると考えられる。

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ありません。

謝辞

本論文を作成するにあたり、ご協力いただいた関係者の方々に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Dahdouh EM, Balayla J, García-Velasco JA: Comprehensive chromosome screening improves embryo selection: a meta-analysis. *Fertil Steril*, 104: 1503-1512, 2015.
- 2) Forman EJ, Tao X, Ferry KM, Taylor D, Treff NR, Scott Jr RT: Single embryo transfer with comprehensive chromosome screening results in improved ongoing pregnancy rates and decreased miscarriage rates. *Human Reprod*, 27: 1217-1222, 2012.
- 3) Lee HL, McCulloh DH, Hodes-Wertz B, Adler A, McCaffrey C, Grifo JA: In vitro fertilization with preimplantation genetic screening improves implantation

- and live birth in women age 40 through 43. *J Assist Reprod Genet*, 32: 435-444, 2015.
- 4) Technote - KIDScore D5 v.3 decision support tool. Vitrolife. https://www.vitrolife.com/globalassets/support-documents/product-manuals/english-us/kidscore_decision_support_tool_user_manual_en-us.pdf, (2023. 7. 10)
- 5) Ueno S, Berntsen J, Ito M, Okimura T, Kato K: Correlation between an annotation-free embryo scoring system based on deep learning and live birth/neonatal outcomes after single vitrified-warmed blastocyst transfer: a single-centre, large-cohort retrospective study. *J Assist Reprod Genet*, 39: 2089-2099, 2022.
- 6) Desai N, Ploskonka S, Goodman L, Attaran M, Goldberg J.M, Austin C, Falcone T: Delayed blastulation, multinucleation, and expansion grade are independently associated with live-birth rates in frozen blastocyst transfer cycles. *Fertil Steril*, 106: 1370-1378, 2016.
- 7) Ferreux L, Bourdon M, Sallem A, Santulli P, Barraud-Lange V, Le Foll N, Maignien C, Chapron C, de Ziegler D, Wolf JP, Pocate-Cheriet K: Live birth rate following frozen-thawed blastocyst transfer is higher with blastocysts expanded on Day 5 than on Day 6. *Hum Reprod*, 33: 390-398, 2018.
- 8) Mizobe Y, Kuwatsuru Y, Kuroki Y, Fukumoto Y, Tokudome M, Moewaki H, Watanabe M, Iwakawa T, Takeuchi K: The effects of differences in trophectoderm biopsy techniques and the number of cells collected for biopsy on next-generation sequencing results. *Reprod Med Biol*, 21: e12463, 2020.
- 9) Kokkali G, Traeger-synodinos J, Vrettou C, Stavrou D, Jones CC, Cram DS, Makrakis E, Trounson AO, Kanavakis

E, Pantos K: Blastocyst biopsy versus cleavage stage biopsy and blastocyst transfer for preimplantation genetic diagnosis of beta-thalassaemia: a pilot study. *Hum Reprod*, 22: 1443-49, 2007.

- 10) Rubino P, Tapia L, Ruiz de Assin Alonso R, Mazmanian K, Guan L, Dearden L, Thiel A, Moon C: Trophectoderm biopsy protocols can affect clinical outcomes: time to focus on the blastocyst biopsy technique. *Fertil Steril*, 113: 981-89, 2020.
- 11) Takeuchi K: Pre-implantation genetic testing: Past, present, future. *Reprod Med Biol*, 20: 27-40, 2021.
- 12) Mizobe Y, Ezono Y, Tokunaga M, Oya N, Iwakiri R, Yoshida N, Onoue N, Miyoshi, K: Selection of human blastocysts with a high implantation potential based on timely compaction. *J Assist Reprod Genet*, 34: 991-997, 2017.
- 13) Ueno S, Berntsen J, Ito M, Uchiyama K, Okimura T, Yabuuchi A, Kato K: Pregnancy prediction performance of an annotation-free embryo scoring system on the basis of deep learning after single vitrified-warmed blastocyst transfer: a single-center large cohort retrospective study. *Fertil Steril*, 116: 1172-1180, 2021.

精子ヒアルロン酸結合能と精子 DNA 損傷の関連および ヒアルロン酸結合精子使用顕微授精の有用性について

Correlation between sperm hyaluronan binding ability and DNA fragmentation,
and efficiency of ICSI using hyaluronic acid-bound sperm

夏目 明子¹, 北原 彩花¹, 岩本 祐佳¹, 水田 真平^{1,2}, 大原 康弘¹, 松林 秀彦^{1,2}, 石川 智基^{1,2}

Natsume A¹, Kitahara S¹, Iwamoto Y¹, Mizuta S^{1,2}, Ohara Y¹, Matsubayashi H^{1,2}, Ishikawa T^{1,2}

¹ リプロダクションクリニック大阪 〒530-0011 大阪府大阪市北区大深町 4-20 グランフロントタワー A 15F
Reproduction Clinic Osaka

² リプロダクションクリニック東京 〒105-7103 東京都港区東新橋 1-5-2 汐留シティセンター 3F
Reproduction Clinic Tokyo

要旨: ヒアルロン酸結合能のある精子は成熟率増加と DNA 損傷率 (DFI) 低下が報告されているが、ヒアルロン酸結合精子を用いた顕微授精 (PICSI) の有用性については明らかでない。今回、ヒアルロン酸結合能と DFI の関連、PICSI による培養成績を後方視的に検討した。

【方法】 2023 年 2～7 月に当院で採卵を行った 47 周期 327 個の卵子を対象とした。精子調整前後の DFI およびヒアルロン酸結合率を測定し、同一周期の卵子を従来の顕微授精 (ICSI 群) と PICSI 群に分け、培養成績 (受精率, 胚盤胞率, 良好胚盤胞率) を比較した。

【成績】 ヒアルロン酸結合率は原精液 (57.9%) と比べ精子調整後 (85.5%) に有意に増加し ($P < 0.01$)、DFI は原精液 (14.7%) と比べ調整後 (4.9%) に有意に低下した ($P < 0.01$)。原精液においてヒアルロン酸結合率と DFI に有意な負の相関を認めたと、培養成績は両群間で有意差を認めなかった。

【結論】 ヒアルロン酸結合精子は DNA 損傷と逆相関するが、培養成績には影響を及ぼさなかった。

キーワード: ヒアルロン酸結合能, ICSI, 精子 DNA 損傷, Physiologic intracytoplasmic sperm injection

英文要旨: Sperm with hyaluronan-binding ability have been reported to represent sperm maturation and to decrease DNA damage rate (DFI), but the usefulness of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with hyaluronan-bound spermatozoa (PICSI) is unclear. In this study, we retrospectively examined the relationship between hyaluronan-binding ability and DFI, and the culture results by PICSI.

[Methods] A total of 327 oocytes collected in 47 cycles from February to May 2023 at our hospital were included. DFI and hyaluronic acid binding rate before and after sperm preparation were measured. The retrieved oocytes from the same cycle were divided into two groups, conventional ICSI (ICSI group) and PICSI group, to compare culture results (fertilization rate, blastocyst rate, and good blastocyst rate).

[Results] The hyaluronic acid binding rate increased significantly after sperm preparation (85.5%) compared to the raw semen (57.9%) ($P < 0.01$), whereas the DFI rate decreased significantly after sperm preparation (4.9%) compared to the raw semen (14.7%) ($P < 0.01$). A significant negative correlation was found between the hyaluronic acid binding rate and DFI in raw semen, but there were no significant differences in culture results between the ICSI and PICSI groups.

[Conclusion] Hyaluronan-bound spermatozoa were inversely correlated with sperm DNA damage, which however did not affect subsequent culture performance.

キーワード: Sperm Hyaluronan-Binding Ability, ICSI, Sperm DNA Fragmentation Rate, Physiologic intracytoplasmic sperm injection

緒言 (目的, 背景)

DNA 損傷のない精子は妊娠成立に不可欠である。卵細胞質内精子注入法 (ICSI) では、精子は直接卵子に注入されるため、自然受精で起こる「異常精子を排除するための多くの過程」をバイパスする。したがって、精子 DNA 損傷のない良好な精子を選択することは、ICSI において良好な結果をもたらすものと考えられる。DNA 損傷が多い精子は受精後の培養成績や妊娠成績に悪影響となり¹⁾、流産リスクが増加することが示唆されている²⁾。また、ヒアルロン酸受容体を多く発現している精子は成熟した良好な精子であるとされ、現在ヒアルロン酸結合精子を用いた顕微授精 (PICSI) は先進医療として認められている。ヒアルロン酸結合能のある精子は核の成熟のみならず、DNA 損傷低下についての関連も報告されている。成熟した精子は精子形成の過程で、①原形質膜の再構築、②細胞質の押し出し、③核の成熟が起こり、④卵丘細胞に存在するヒアルロン酸に結合するためのヒアルロン酸受容体が高密度に発現している³⁾。自然な受精の過程では、卵丘細胞に存在するヒアルロン酸に精子が結合し透明帯に到達する必要があるが、原形質膜の再構築が不十分な未熟精子ではヒアルロン酸受容体が不十分であり結合力が低下する⁴⁾。また、未熟精子は細胞内酵素の含有率が高く、脂質過酸化により DNA 損傷や精子形態異常を誘導することが報告されている^{3,5)}。一方、ヒアルロン酸受容体が多く発現している成熟精子は、DNA 損傷や染色体異常性が少ないと報告されている⁴⁾。近年の大規模なランダム化比較試験では、従来の ICSI と比べ PICSI で受精率、臨床妊娠率、出産率に有意差は認めなかったが、流産率が有意に低下した⁶⁾。また、我々の施設では、過去の ICSI と比べ、後の採卵周期で PICSI を行うと、胚盤胞発生率、良好胚盤胞率の有意な増加が見られ、流産率が低下する傾向がみられた⁷⁾。本研究は、ヒアルロン酸結合能と精子 DNA 損傷 (DNA 断片化率, DFI) の関連、PICSI の培養成績を調査し、その有用性を検証した。

対象と方法

1. 対象

2023 年 2 月から 7 月に当院で採卵を行い、採卵当日の精液所見が運動精子濃度 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 以上で、かつ顕微授精予定の成熟卵子 (M II 卵) が 4 個以上獲得できた 47 周期 327 個 (妻平均年齢 36.4 ± 4.4 歳, 夫平均年齢 38.9 ± 6.9 歳) を対象とした。なお、本研究はご夫婦の書面による同意を得て、リプロダクションクリ

ニック大阪の倫理委員会の承認をもって行った。

2. 精液の測定, 調整

精液採取後、10 分間の液化後、マクラー精子分析カウンティングチャンバーにて総精子濃度、運動精子濃度、運動率、正常形態率、白血球濃度を計測し、運動精子濃度 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 以上である場合に本研究の対象とした。さらに原精液において精子自動解析システム SMAS (Sperm motility analysis system: DITECT, 日本) にて精液所見を各項目測定した。精子調整は 2 層密度勾配遠心法および swim up 法で処理をし、顕微授精を行う前に処理後の精子を原精液と同様に、マクラー精子分析カウンティングチャンバー、SMAS にて測定を行った。

3. 精液の解析

原精液および精子調整後の精子において、フローサイトメトリー (Beckman Coulter, Inc, Brea, CA, USA) を用いた精子クロマチン構造検査 (SCSA 法: Sperm Chromatin structure assay) を行った。本法の原理は酸処理により精子 DNA を変性させ、アクリジンオレンジ (AO) が S-S 結合の少ない 1 本鎖 DNA に結合すると赤色 (650nm) に蛍光を發し、S-S 結合の多い 2 本鎖 DNA の塩基対に挿入すると緑色 (526nm) の蛍光を發し、この蛍光を PC5.5 (610nm) および FITC (525nm) フィルターにて検出する。赤色に蛍光を發した集団の割合を DNA 断片化率 (DNA fragmentation index: DFI)、緑色に蛍光を發しその蛍光強度が強い集団 (過剰な核ヒストンレベル) を未熟精子 (High DNA Stainability; HDS) とし、測定を行った。

また、HBA[®] Assay (Cooper Surgical, Trumbull, CT, USA) を用いて精子ヒアルロン酸結合能を測定した。このデバイスはヒアルロン酸結合能の定量的評価を行う目的で開発され、成熟精子がヒアルロン酸と結合する特性を利用したもので、ヒアルロン酸がコーティングされたスライドガラスを用いて精子が付着した割合を HBA スコアとして評価する。原精液および精子調整後の精子をスライドガラスのヒアルロン酸がコーティングしてある部分に $10 \mu\text{L}$ 滴下し、格子状のグリッド線が描かれているカバーガラスを被せ、10 分間室温で静置した。顕微鏡にて頭部がスライドガラスに接着し、尾部の運動がみられる精子をカウントし、HBA スコアを求めるもので、合計で 100 個の精子をカウントし、ヒアルロン酸に結合した運動精子 / 総運動精子 $\times 100$ (%) で算出した。

4. 採卵方法

調節卵巣刺激は GnRH アンタゴニスト法 (27 周期)、GnRH アゴニスト short 法 (4 周期)、ルトラールによる PPOS 法 (16 周期) で行い、主席卵胞 20mm 程度で uHCG 製剤 5000 ~ 10000 単位、GnRH アナログ点鼻、もしくは rHCG 製剤 250ug による排卵誘発を行い、36

時間前後で経腔超音波ガイド下にて採卵を行った。

5. 顕微授精および培養成績

採卵で得られた成熟卵子をランダムに2群に分け、従来の顕微授精 (ICSI 群) と PICSI 群に分け、それぞれ実施した (sibling study)。採卵し得られた卵子は採卵から3~5時間、Universal IVF Medium (Cooper Surgical) 中で前培養を行った。前培養後に40IU/mlのリコンビナントヒトヒアルロニダーゼを使用し卵子-卵丘細胞複合体を除去し、通常のICSI群は、7%PVP中で形態が正常な運動精子を選別し不動化後、顕微授精を行った。PICSI群はヒアルロン酸を高濃度に含む Sperm Slow™ (Cooper Surgical) 中でヒアルロン酸に結合し前進性を失った運動精子を選別し顕微授精を行った。顕微授精は Piezo-ICSI (PRIME TECH LTD.) を使用し、顕微授精を施行後、タイムラプスインキュベーター Geri® (Genea BIOMEDX, Sydney, Australia) にて培養し、受精確認は顕微授精後18~22時間に行った。培養には SAGE 1-step™ (Cooper Surgical) を用い、卵子、胚の培養は37℃、6.0%CO₂、5.0% O₂、89.0% N₂の気相条件下で採卵後6日目まで培養を行った。

6. 評価項目 (後方視的検討)

- ①原精液、精子調整後のヒアルロン酸結合率およびDFI、HDS平均値の比較 (対応のある2標本のt検定、 $P<0.05$ を有意差ありとした)
- ②原精液、精子調整後それぞれにおいてヒアルロン酸結合率とDFI、HDSの相関 (ピアソンの積率相関解析、 $P<0.05$ を有意差ありとした)
- ③ICSI群とPICSI群の正常受精率、胚盤胞発生率、良好胚盤胞率を比較 (χ^2 検定、 $P<0.05$ を有意差ありとした) なお、胚盤胞の評価は Gardner の分類⁸⁾を用いて、5日目のGrade 3BB以上を良好胚盤胞とした。
- ④ヒアルロン酸結合率別でのICSI群とPICSI群の正常受精率、胚盤胞発生率、良好胚盤胞率を比較 (χ^2 検定、

$P<0.05$ を有意差ありとした) WorriIlowらの報告をもとに、原精液でのヒアルロン酸結合率のカットオフ値を65%と設定した⁹⁾。

- ⑤妻年齢別でのICSI群とPICSI群の培養成績の正常受精率、胚盤胞発生率、良好胚盤胞率を比較 (χ^2 検定、 $P<0.05$ を有意差ありとした)

結果

①ヒアルロン酸結合率およびDFI、HDS平均値の比較

ヒアルロン酸結合率は、原精液 (57.9 ± 19.4%) と比べ精子調整後 (85.5 ± 11.7%) に有意に増加した ($P<0.01$) (図1)。DFIは、原精液 (14.7% ± 11.8) と比べ精子調整後 (4.9% ± 7.9) に有意に低下した ($P<0.01$)。HDSは、原精液 (13.4% ± 9.1) と比べ精子調整後 (3.1% ± 4.8) に有意に低下した ($P<0.01$) (図2)。

②ヒアルロン酸結合率とDFI、HDSの相関

原精液においてヒアルロン酸結合率とDFIに有意な負の相関を認め (相関係数 $r = -0.36$; $P = 0.01$)、ヒアルロン酸結合率とHDSには有意な相関を認めなかった ($r = -0.04$; $P = 0.78$)。調整後においてはヒアルロン酸結合率とDFI ($r = -0.14$; $P = 0.35$) およびHDS ($r = -0.17$; $P = 0.25$) に有意な相関を認めなかった (図3)。

③ICSI群とPICSI群の培養成績の比較

ICSI群とPICSI群の正常受精率はそれぞれ83.0%と83.3%、胚盤胞発生率は57.6%と56.7%、良好胚盤胞率は32.8%と37.8%であり、どの項目にも有意差は見られなかった。(図4)

④ヒアルロン酸結合率別でのICSI群とPICSI群の培養成績の比較

原精液でのヒアルロン酸結合率 $\geq 65\%$ の場合のICSI群とPICSI群の正常受精率はそれぞれ77.3%と84.6%、胚盤胞発生率は57.4%と50.9%、良好胚盤

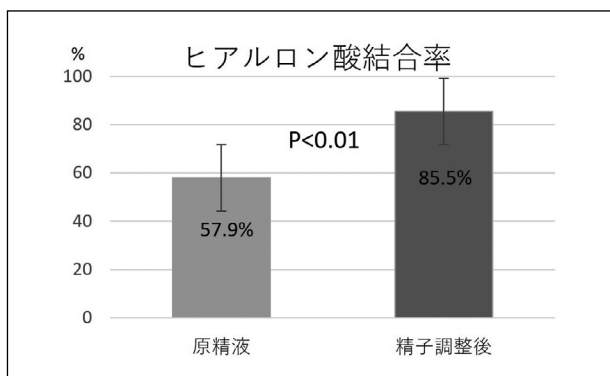


図1 原精液と精子調整後の結合率の平均値の比較

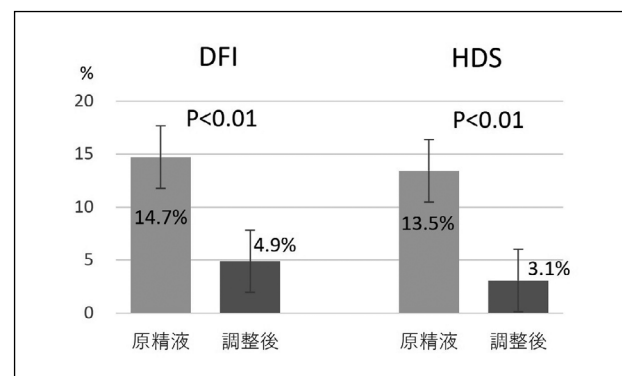


図2 原精液と精子調整後のDFI、HDSの平均値の比較

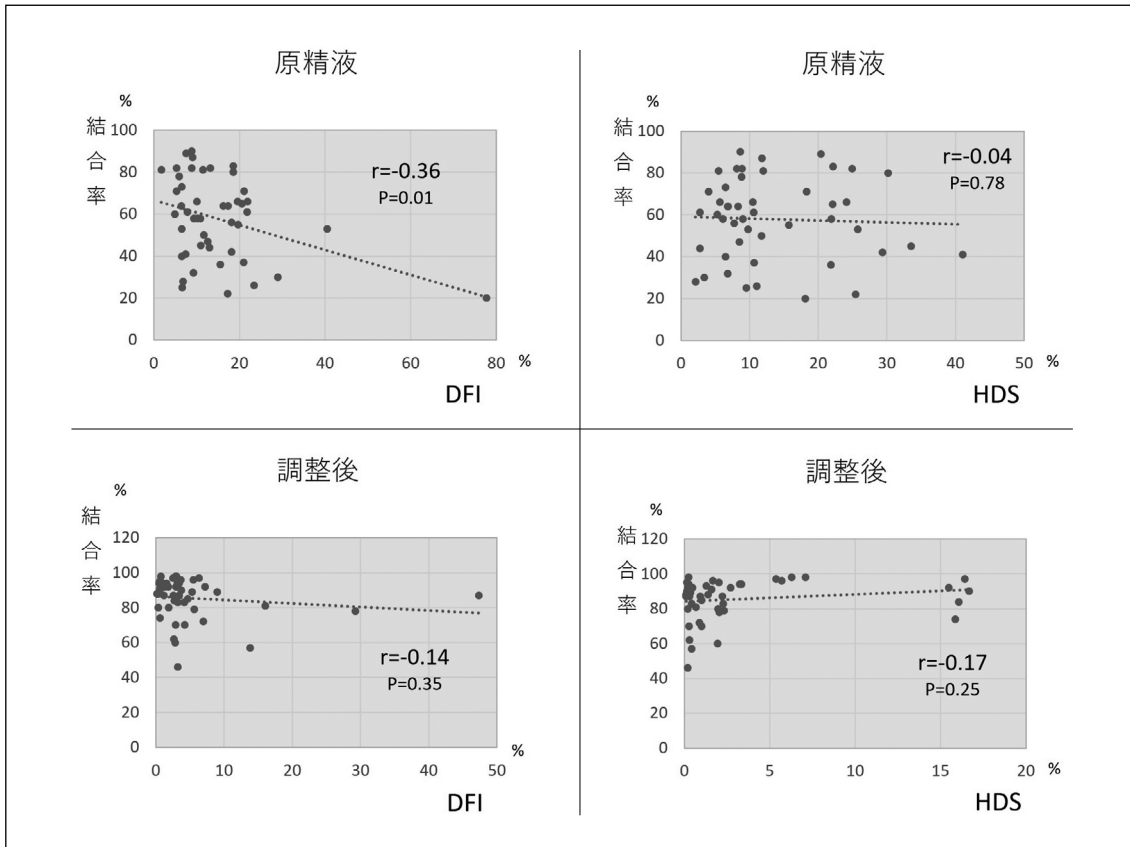


図3 ヒアルロン酸結合率と DFI, HDS の相関

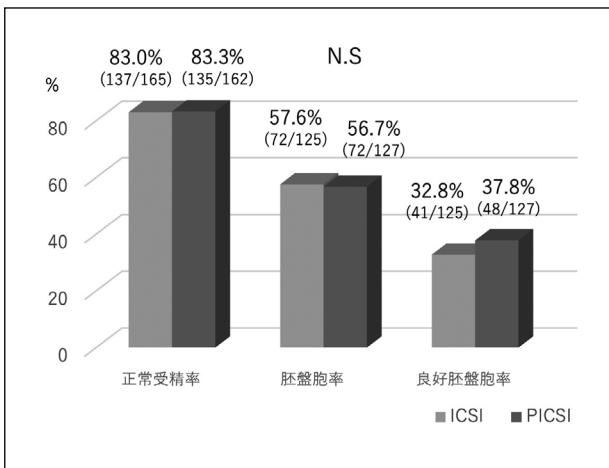


図4 c-ICSIとHA-ICSIの培養成績の比較

胞率は31.9%と35.8%であり、ヒアルロン酸結合率<65%の場合のICSI群とPICSI群の正常受精率はそれぞれ86.9%と82.5%、胚盤胞発生率は57.7%と60.8%、良好胚盤胞率は33.3%と39.2%であり、どの項目にも有意な差は見られなかった(図5)。精子調整

後のヒアルロン酸結合率別の培養成績については、ヒアルロン酸結合率65%未満の症例が4症例のみであったため、解析不可とした。

⑤年齢別での培養成績の比較

35歳未満、35-39歳、40歳以上において、ICSI群、PICSI群で正常受精率、胚盤胞率、良好胚盤胞率に有意差はみられなかった。それぞれの年齢別のDFI平均値は35歳未満:11.2%±6.12、35-39歳:20.0%±16.66、40歳以上:12.4%±6.03であり3群間で有意差はみられなかったが、35-39歳でDFIは高い傾向にあった。このため、有意差はみられないが、35-39歳の胚盤胞率、良好胚盤胞率の低下が認められた(図6)。

考 察

精子調整を行うことで、ヒアルロン酸結合率が有意に増加し、DFIとHDSは有意に低下した。この結果はSpanoらの報告と一致する¹⁰⁾。射出精子は雌性生殖路を通過する過程で受精能を獲得(キャパシテーション)するが、in vitroにおいても受精能獲得が可能であり、精子調整の際に精漿から精子が除去され、培養液中のアルブ

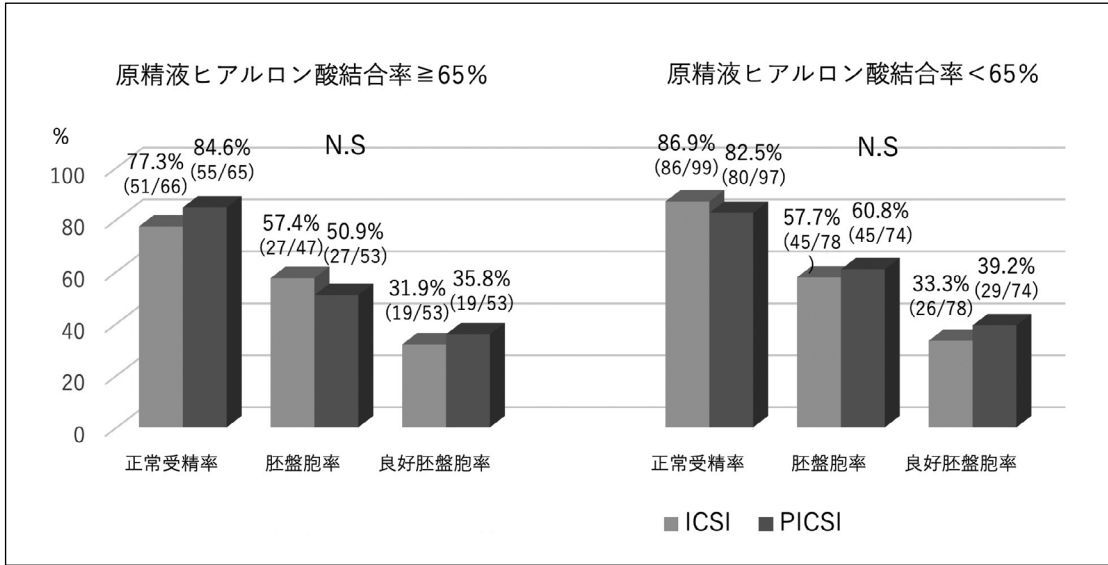


図5 原精液における結合率別の培養成績

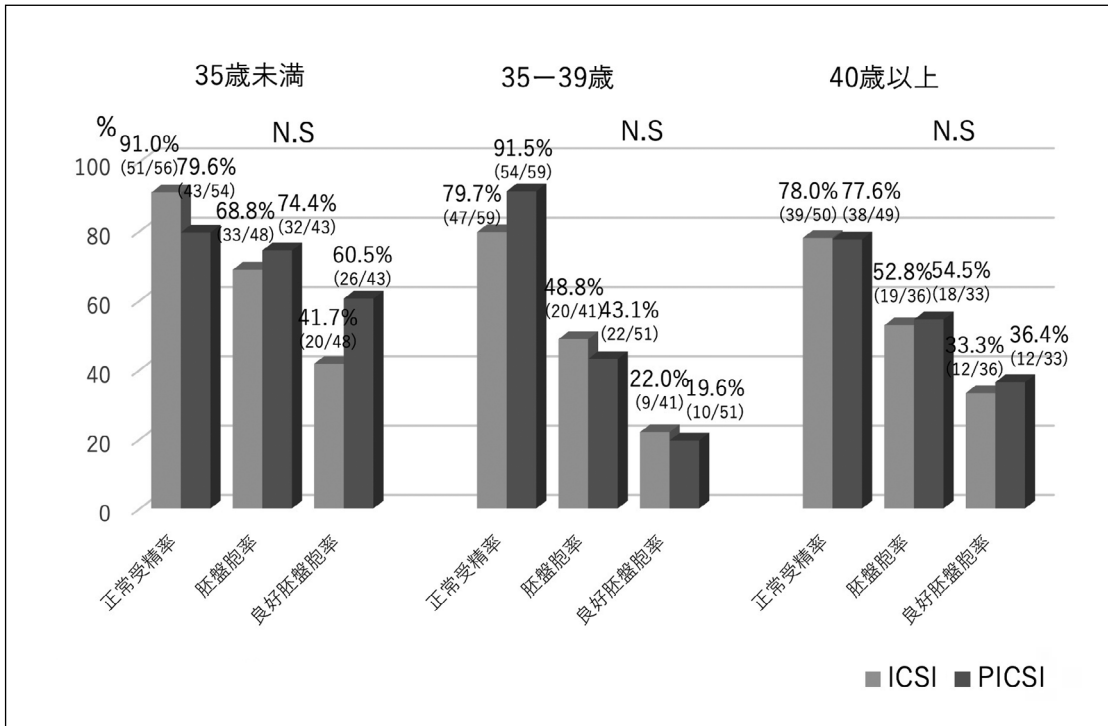


図6 年齢別の培養成績の比較

ミンや HCO_3^- により超活性化が進むといわれている¹¹⁾。また受精能獲得の指標とされているチロシンリン酸化とヒアルロン酸受容体の発現との関連¹²⁾、受精能獲得時に精子頭部での局在が変わる蛋白群 SPAM1 や ARSA は精子の透明帯への結合を調節し、さらにこれらの蛋白群の構造変化を調節する HSPA 2 はヒアルロン酸受容体の発現と関連すると報告されていることから¹³⁾、精子

調整を行うことでキャパシテーションが起こり、ヒアルロン酸受容体が増加したと考えられる。

原精液においてヒアルロン酸結合率と DFI は有意に負の相関を認めたことから、精子のヒアルロン酸結合能は精子の質を反映しているといえる。Lodovico らの報告ではヒアルロン酸結合精子は DNA 損傷が有意に低いと報告しており¹⁴⁾、Robert らの報告では原精液の付着率

が精子調整後の DFI と相関があるとしていることから¹⁵⁾ ヒアルロン酸結合精子を選別することは DNA 損傷のある精子を回避できる可能性があるといえる。しかし今回の検討では原精液でのヒアルロン酸結合率別の培養成績に大きな差異はなく、原精液での結合率から培養成績を予測することは難しいと思われた。妻年齢別の培養成績においてもそれぞれの年代において各群すべてに有意差はないが、35 歳未満では PICSI 群で良好胚盤胞率が高い傾向が見られた。35-39 歳、40 歳以上では ICSI 群、PICSI 群でほぼ同等であり、PICSI による改善はみられなかった。

Barbara らの報告では IVF においてはヒアルロン酸結合能と受精率は相関を示すが、ICSI においては受精率、胚質との相関がなかったとしている¹⁶⁾。さらに 2022 年 Robert らが報告した大規模なランダム化比較試験では PICSI は妊娠転帰に影響を与えると報告しており、特に高齢の夫婦において PICSI により妊娠成績の有意な改善を認めている¹⁵⁾。また、この報告では SCSA, COMET, SCD, TUNEL などの方法を用い、精子のヒアルロン酸結合能と DNA 損傷に負の相関があるとし、軽微な DNA 損傷は培養成績や初期の妊娠には影響を与えないが、流産率に影響がある可能性を指摘している。軽微な精子 DNA 損傷に対しては、卵子の細胞内酵素による修復する仕組みがあり、初期の妊娠や受精率には影響しないといわれているが、妻年齢の上昇とともにその機能が低下するとされている¹⁷⁾。卵子による修復機能低下を PICSI による精子選別で補える可能性が報告されているが¹⁵⁾、今回の結果からは培養成績においては高齢の患者に対して PICSI が有効であるとはいえなかった。今後、さらに症例数を増やし、妊娠転機まで追って検証する必要がある。またヒアルロン酸結合精子を選別することの意義を裏付けるための検証も必要であり、ヒアルロン酸結合精子の成熟性とヒアルロン酸受容体の発現に関わるタンパク質 (HSPA2, SPAM1, ARSA など⁴⁾) の関連やこれらの蛋白群が精子の質にどう関わっているか、検討する予定である。

参考文献

- 1) Luke Simon, Armand Zini, Alina Dyachenko, Antonio Ciampi, Douglas T Carrell: A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome. *Asian J Androl*, 19 (1): 80-90, 2017 Jan-Feb.
- 2) Armand Zini, Jason M Boman, Eric Belzile, Antonio Ciampi: Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*, 23 (12): 2663-8, 2008 Dec.
- 3) Gabor Huszar, Ciler Celik Ozenci, Sevil Cayli, Zoltan Zavaczki, Eleonora Hansch, Lynne Vigue: Hyaluronic acid binding by human sperm indicates cellular maturity, viability, and unreacted acrosomal status. *Fertil Steril*, 79 Suppl 3: 1616-24, 2003 Jun.
- 4) S Cayli, A Jakab, L Ovari, E Delpiano, C Celik-Ozenci, D Sakkas, D Ward, G Huszar: Biochemical markers of sperm function: male fertility and sperm selection for ICSI. *Reprod Biomed Online*, 7 (4):462-8, 2003 Oct-Nov.
- 5) Gabor Huszar, Attila Jakab, Denny Sakkas, Ciler-Celik Ozenci, Sevil Cayli, Elena Delpiano, Sinan Ozkavukcu: Fertility testing and ICSI sperm selection by hyaluronic acid binding: clinical and genetic aspects. *Reprod Biomed Online*, 14 (5): 650-63, 2007 May.
- 6) David Miller, Susan Pavitt, Vinay Sharma, Gordon Forbes, Richard Hooper, Siladitya Bhattacharya, Jackson Kirkman-Brown, Arri Coomarasamy, Sheena Lewis, Rachel Cutting, Daniel Brison, Allan Pacey, Robert West, Kate Brian, Darren Griffin, Yakoub Khalaf: Physiological, hyaluronan-selected intracytoplasmic sperm injection for infertility treatment (HABSelect): a parallel, two-group, randomised trial. *Lancet*, 393 (10170): 416-422, 2019 Feb 2.
- 7) 松永青由, 水田真平, 松林秀彦, 竹内巧, 石川智基: ヒアルロン酸結合精子を使用した ICSI は治療成績の改善に寄与するか?. *Journal of Mammalian Ova Research*, 39 (1): S28-S28, 第 63 回日本卵子学会学術集会, 2022
- 8) Gardner DK and Schoolcraft WB: Proceedings of the 11th World Congress on in vitro fertilization & human reproductive genetics. Towards reproductive certainty: Fertility & genetics beyond: pp347-371, 1999 Apr.
- 9) K.C. Worriow, S. Eid, D. Woodhouse, M. Perloe, S. Smith, J. Witmyer, K. Ivani, C. Khoury, G.D. Ball, T. Elliot, and J. Lieberman: Use of hyaluronan in the selection of sperm for intracytoplasmic sperm injection (ICSI). significant improvement in clinical outcomes-multicenter, double-blinded and randomized controlled trial, 28 (2): 306-314, 2013 Feb
- 10) M Spanò, E Cordelli, G Leter, F Lombardo, A Lenzi, L Gandini: Nuclear chromatin variations in human spermatozoa undergoing swim-up and cryopreservation evaluated by the flow cytometric sperm chromatin structure assay. *Mol Hum Reprod*, 5 (1): 29-37, 1999 Jan.
- 11) D E Boatman, R S Robbins: Bicarbonate: carbon-dioxide regulation of sperm capacitation, hyperactivated motility, and acrosome reactions. *Biol Reprod*, 44 (5): 806-13, 1991 May.
- 12) Leyla Sati, Sevil Cayli, Elena Delpiano, Denny Sakkas, Gabor Huszar: The pattern of tyrosine phosphorylation in human sperm in response to binding to zona pellucida or hyaluronic acid. *Reprod Sci*, 21 (5): 573-81, 2014 May.
- 13) Elizabeth G Bromfield, R John Aitken, Amanda L Anderson, Eileen A McLaughlin, Brett Nixon: The impact of oxidative stress on chaperone-mediated human sperm-egg interaction. *Hum Reprod*, 30 (11): 2597-613, 2015 Nov.
- 14) Lodovico Parmegiani, Graciela Estela Cognigni, Silvia Bernardi, Enzo Troilo, Walter Ciampaglia, Marco Filicori: "Physiologic ICSI": hyaluronic acid (HA) favors selection of spermatozoa without DNA fragmentation and with normal

nucleus, resulting in improvement of embryo quality. *Fertil Steril*, 93 (2): 598-604, 2010 Feb.

- 15) Robert West, Arri Coomarasamy, Lorraine Frew, Rachel Hutton, Jackson Kirkman-Brown, Martin Lawlor, Sheena Lewis, Riitta Partanen, Alex Payne-Dwyer, Claudia Román-Montañana, Forough Torabi, Sofia Tsagdi, and David Miller: Sperm selection with hyaluronic acid improved live birth outcomes among older couples and was connected to sperm DNA quality, potentially affecting all treatment outcomes. *37* (6): 1106-1125, 2022 Jun.
- 16) Barbara Pregl Breznik, Borut Kovačič, Veljko Vlajsavljević: Are sperm DNA fragmentation, hyperactivation, and hyaluronan-binding ability predictive for fertilization and embryo development in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection?. *Fertil Steril*, 99 (5): 1233-41, 2013 Apr.
- 17) Jordi Ribas-Maynou, Jordi Benet; Single and Double Strand Sperm DNA Damage: Different Reproductive Effects on Male Fertility. *Genes (Basel)*, 10 (2): 105, 2019 Jan 31.

生殖医療における研究発表の基本

The basics of a research report in reproductive medicine

高橋 俊文

Toshifumi Takahashi

福島県立医科大学ふくしま子ども・女性医療支援センター 〒960-1295 福島県福島市光が丘1番地
Fukushima Medical Center for Children and Women, Fukushima Medical University,
Hikarigaoka 1, Fukushima City, Fukushima, Japan

要旨: 医学研究の成果は学会や論文を通じて社会へ発信される。しかしながら、学会発表の多くは必ずしも科学的な手法でデータ分析が行われていない。生殖医療に関わる医療者は多職種であり、それぞれが学会で発表する機会が増加している。2022年から不妊治療の保険診療が開始され、生殖医療への社会的関心が高まっており、正しい情報の発信は生殖医療に関わる医療者の責務である。本稿では、研究初心者が陥りやすいピットフォールを示しながら、データ解析の基本的なルールについて解説した。研究はすべて特定の研究デザインの型に分類可能であり、研究者は研究を開始する時点で研究の型を意識する必要がある。研究の動機にはクリニカル・クエスチョンが必要であり、クリニカル・クエスチョンを研究実施可能な状態に具体的かつ定量的に構造化したのがレサーチ・クエスチョンである。レサーチ・クエスチョンはPE (1) CO に従い作成する。データには種類があり、それぞれの種類に応じてデータの要約方法が異なることは重要な点である。体外受精治療における受精率のデータを分析する際には個々の患者の卵子と受精卵を合算しないように注意すべきである。受精率をパーセンテージで表記をする際には、中央値とメジアンまたは四分位範囲を用いるべきである。前後比較研究は比較対照群のない研究の代表であり、新しい治療法のパイロット研究で実施されることが多い。前後比較研究は治療の有効性について結論を出すことはできない研究デザインであることを肝に銘じておくべきである。

英文要旨: The results of medical research are disseminated to society through academic conferences and papers. However, many conference presentations may not thoroughly analyze data in a scientifically rigorous manner. Medical professionals involved in reproductive medicine represent a multidisciplinary field, and they have increasingly frequent opportunities to share their findings at academic conferences. In 2022, the initiation of insured treatment for infertility marked the beginning of heightened social interest in reproductive medicine. This paper aims to elucidate the fundamental principles of data analysis while highlighting common research pitfalls that novice researchers are prone to encountering. All research endeavors can be categorized into specific research design types, and it is imperative for researchers to identify the appropriate research type when embarking on a study. A clinical question serves as the catalyst for research motivation, and a research question is a structured, quantifiable formulation of a clinical question that facilitates the research process. Research questions are developed in accordance with the PE (1) CO framework. It is crucial to recognize that distinct data types necessitate unique methods for data summarization. When analyzing data related to fertilization rates in IVF treatment, it is essential to exercise caution and refrain from aggregating the oocytes and fertilized eggs of individual patients. Expressing fertilization rates as percentages is best achieved with median and interquartile range. Pre- and post-comparative studies are typical in research, especially in the early stages of investigating new treatments. However, it is imperative to bear in mind that pre- and post-comparative studies are research designs that do not allow for definitive conclusions regarding treatment effectiveness.

1. はじめに

医学研究とは、医療や健康に関する基礎的・臨床的問題に対して科学的な手法を用い実験・調査・分析を行い、エビデンスを獲得することである。研究の成果は学会や論文を通じて社会に発信される。しかしながら、学会発表の多くは必ずしも科学的な手法でデータ分析が行われていない。これは、研究者およびその指導者の知識不足に由来する所が多い。

生殖医療に関わる医療者は、医師、胚培養士、看護師、カウンセラーと多職種であり、それぞれが学会で発表する機会が増加している。2022年には生殖補助医療（assisted reproductive technology, ART）を含む不妊治療の保険診療が開始され、生殖医療への社会的関心が高まっており、正しい情報の発信は生殖医療に関わる医療者の責務である。

本稿では、研究初心者が陥りやすいピットフォールを示しながら、科学的な手法でデータ解析を行うに当たったの基本的なルールについて解説した。

2. 研究デザインの型

1) 観察研究と介入研究

すべての研究は特定の研究デザインの型に分類することができる。研究デザインの型を図1に示した¹⁾。研究デザインには大きく分けて、観察研究と介入研究がある。我々の行う研究の多くが観察研究である。介入研究の代表例としてランダム化比較試験（Randomized Controlled Trial, RCT）がある。観察研究と介入研究の大きな違いは、曝露（Exposure）を研究者が操作できるかどうかである。

2) 分析的研究：ケースコントロール研究

観察研究には分析的研究と記述的研究がある。分析的研究と記述的研究の違いは比較対照があるかどうかである。分析的研究は、要因とアウトカムの時間的な流れにより、コホート研究とケースコントロール研究に分類できる。ケースコントロール研究の例として、煙草と肺癌の関係についての研究がある。肺癌になった患者で喫煙をしていた者をケース、喫煙していなかった者をコントロールとして各々（ケースとコントロール）で肺癌になった割合を分析する。肺癌のなりやすさはオッズ比として計算される。ケースコントロール研究は、アウトカム（肺癌）から遡って過去の要因（喫煙）の有無を調べることになる。

3) 分析的研究：コホート研究

一方、コホート研究では要因が先にありその後アウトカムが起きる（そういう意味では前向き）。コホートとは同じ属性をもつ集団の事であり、このコホートを現在から未来へ追跡するのが前向きコホート研究、過去から現在へ追跡するのが後ろ向きコホート研究である。この辺の用語は混乱しやすいので、要因とアウトカムの順序をまず考え、その後、時間軸（現在、過去）のどの時点から研究を開始するのかを図示するとわかりやすい（図2）。

4) 記述的研究

記述的研究は比較対照のない研究であり、症例報告研究や症例集積研究が該当する。また、アンケート調査などの特定の時間で実施した研究は横断研究に分類されるが、横断研究も記述的研究に分類される。記述的研究は分析的研究と比較するとエビデンスレベルは高くない。しかしながら、症例報告は患者毎の個別医療を詳細に記録したものであり、臨床を行う上では参考になるところが多く、筆者

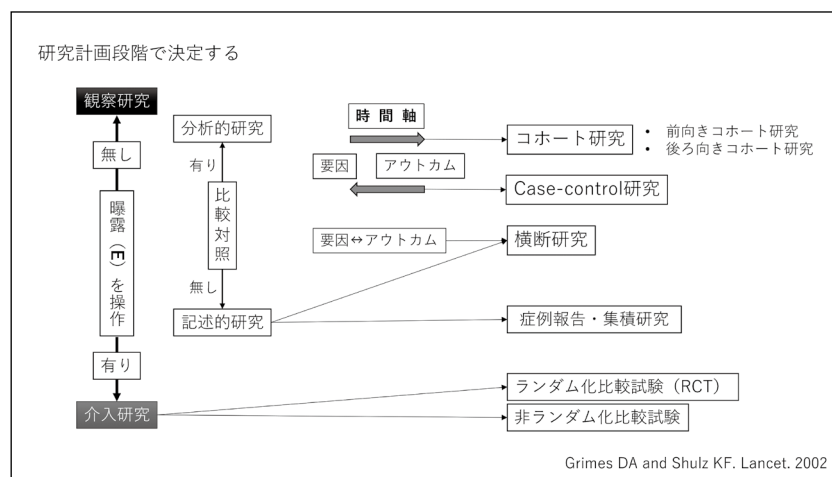


図1 研究デザインの型

は価値が高いと考えている。

研究を実施する際に自分達がこれから行う研究はどの研究デザインの型に該当するか確かめることは、正しい研究手法で研究を行う上での第一歩である。

3. リサーチ・クエスションの作り方

1) クリニカル・クエスションとリサーチ・クエスション

研究を行うには目的とそれを実行するための方法が必要である。クリニカル・クエスション (clinical question, CQ) は、臨床の現場で生じる疑問であり、個別的・概念的なものである。研究は CQ のままでは実行することはできず、リサーチ・クエスション (research question, RQ) の形に変換する必要がある。

RQ は研究の設計図のようなものである。RQ には以下の3つの要素を含む。①研究目的の明確化 (目的と結論)、②研究計画に必要な要素に分解 (構造化)、③具体的、量的に変換 (比較可能)。これの要素を含んだ RQ を作るには以下に示す方法論が確立されている。

2) RQ の具体的な作り方: PE (I) CO

RQ は PE (I) CO に従って作成することが推奨されている (図3)。PE (I) CO を一つずつ説明する。“P” は Patient/Participants で研究対象のことである。“E” は Exposure で曝露または要因であり、“I” は Intervention で介入である。介入も曝露の一種であるので、E (I) と示される。“C” は Comparison で比較対照、コントロールである。“O” は Outcome である。PE (I) CO には以下の関係が成り立つ、 $P=E(I)+C$ 、 $E(I)$ または $C \rightarrow O$ 、compare the O of E (I) and C。

3) CQ から RQ への具体例

CQ から RQ を作成する例を示す (図4)。CQ は「当院でのアシステッドハッチング (AH) は ART 治療に有効か?」である。研究を今から始めるつもりで読んでいただきたい。“これまでに自施設で行ってきた AH が治療成績を改善しているかどうか調べてみたい” が研究の動機である。すでに実施された事 (過去) を研究対象にするので、研究デザ

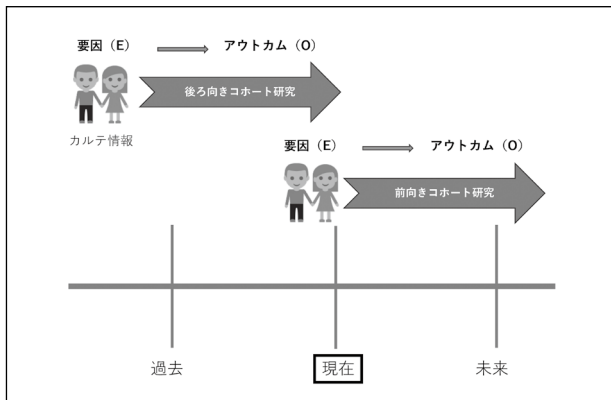


図2 後ろ向きコホート研究とは

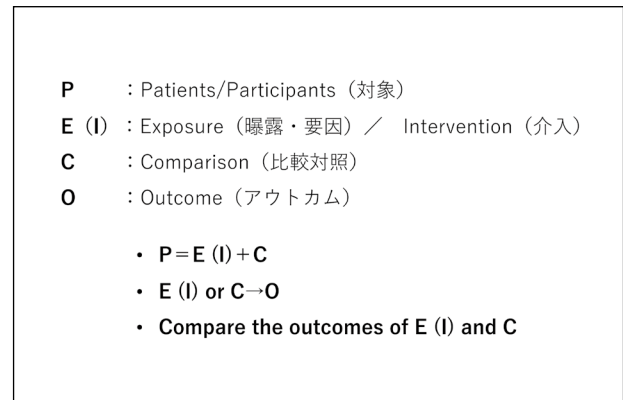


図3 RQ の作り方: PE (I) CO とは

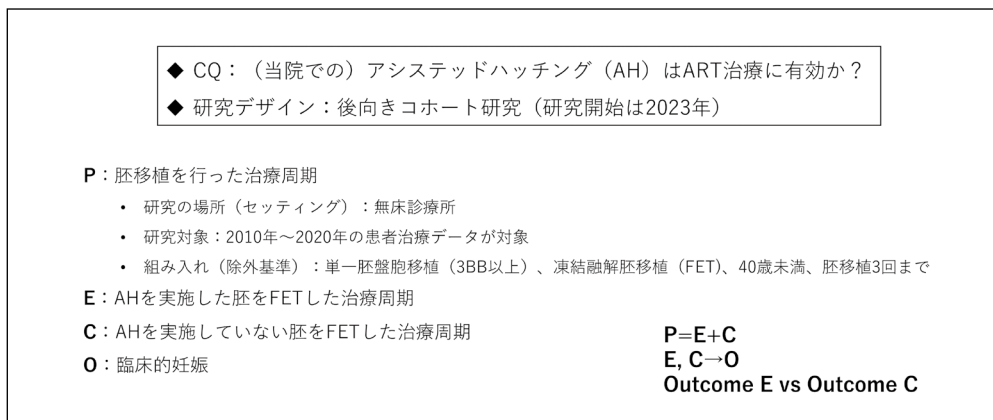


図4 RQ を PE (I) CO で作ってみよう

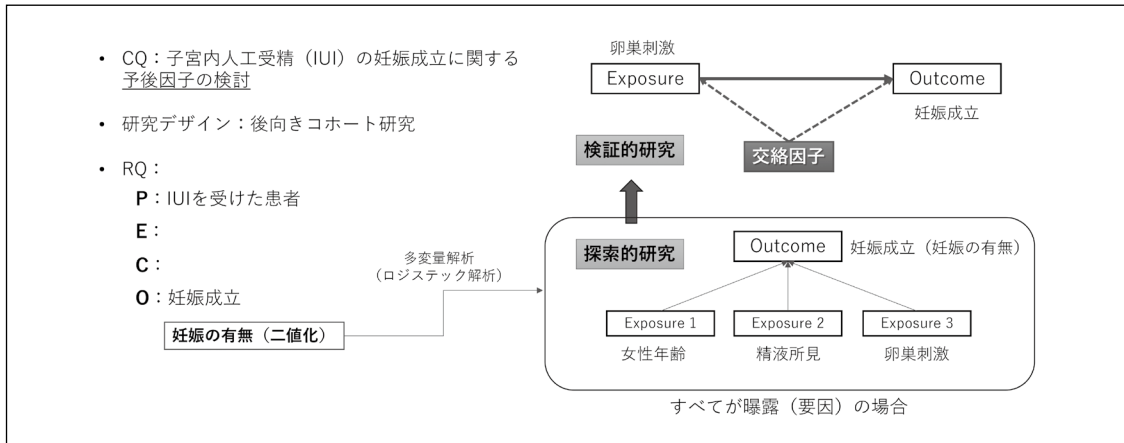


図6 RQがPE(I)COにならない研究例

表1 データの種類

• 身長 (cm) : 150、155、160、・・・180	連続変数
• 体重 (kg) : 45、50、55・・・95	連続変数
• 喫煙本数(本) : 1、2、3・・・100	離散変数
• 妊娠回数 : 0、1、2、3・・・10	離散変数
• 性別 : 男性、女性	カテゴリ変数 (名義変数)
• 血液型 : A、B、O、AB型	カテゴリ変数 (名義変数)
• 不妊原因 : 男性、女性、原発・続発、卵管性、子宮性	カテゴリ変数 (名義変数)
• 内膜症のstage : Stage I、II、III、IV	カテゴリ変数 (順序変数)

表2 データの記載方法

変数の分類	細分類	例	分布の要約
カテゴリ変数	名義変数	性別、血液型、不妊原因	割合 (%)
	順序変数	内膜症のstage	割合 (%)
連続変数	非正規分布	CA125値、AMH値	中央値 四分位範囲
	正規分布	身長、体重	平均値 標準偏差
離散変数		喫煙本数、妊娠回数	中央値 四分位範囲

福間真悟, 渡部一宏. もしあなたが臨床研究を学んだら医療現場はもっとときめく, じほう, 2019より一部引用し演者が改変

カテゴリ変数には名義変数と順序変数がある。カテゴリ変数には数字でないデータも含まれる。表1に示したように、男性、女性などの性別やA、B、AB、O型などの血液型は名義変数である。子宮内膜症の重症度を表すI、II、III、IV期のstage分類や初期胚の形態学的分類であるVeeck分類のG1、G2、G3、G4、G5は、数字に順序はあるが平均や中央値で要約することは出来ない順序変数である。

2) データの記載方法 (要約)

データの要約とはその集団のデータの集まりを代表する

数字に変換することである。データの要約にはデータの種類とその分布により一定のルールがある (表2)。連続変数はデータ分布により要約の方法が変わる。データが正規分布であれば平均と標準偏差でデータは要約できるが、非正規分布の場合は中央値とメジアンまたは四分位範囲で要約する。カテゴリ変数の要約は割合 (パーセンテージ) を用いる。採卵数や受精率の分布が正規分布になることはなく、それらのデータ要約は中央値とメジアンまたは四分位範囲を用いる。

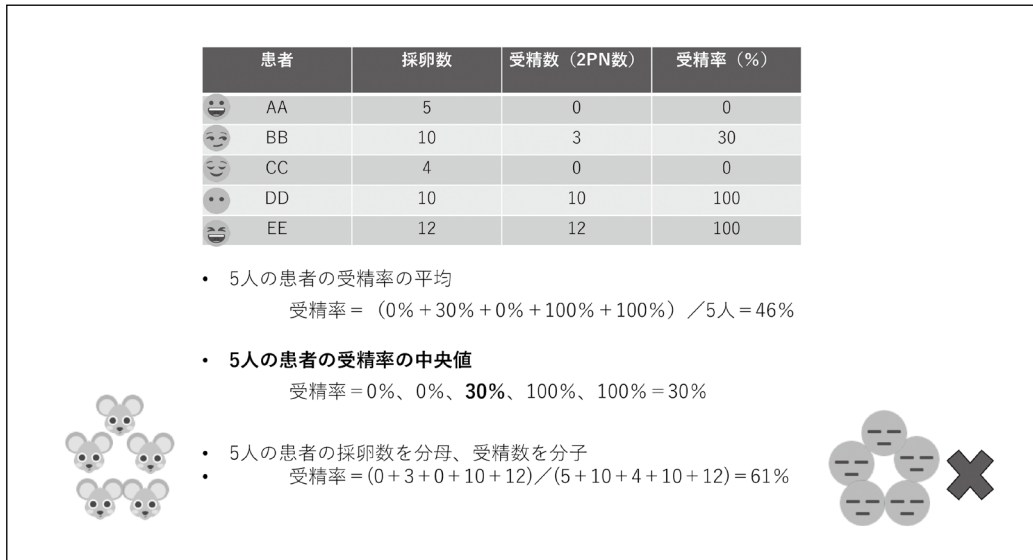


図7 パーセントの取扱いに注意

3) 生殖医療でよく誤用されるパーセンテージ表記

体外受精治療では受精率、胚盤胞形成率などの比較検討が行われる。読者はこれらのパーセンテージ表記に疑問を感じていた方も多いのではないだろうか。受精率を例にとって解説する(図7)。5名の患者の受精率の平均は46%、中央値は30%であった。一方、採卵数と受精数をすべて合算して受精率を計算すると61%になった。すなわち、5名の患者から得られる受精率の要約は3つ存在しそれぞれ異なる。マウスでは均一な遺伝子背景をもった集団を実験に使用するため、それぞれの個体から採卵された卵子は同一と見なすことが可能であり、採卵数と受精数を合算する方法が可能である。しかしながら、ヒトでは患者1人1人の背景因子が異なるため、個々の患者の採卵数と受精数を合算することはできない。たとえ患者数が大きくなっても、受精率の分布は正規分布をとることはないので、受精率のデータの要約は中央値とメジアンまたは四分位範囲で示すべきである。

5. “やる”と後で困る研究

前後比較研究はコントロールがない研究の代表であり、研究初心者が少なからず誤用する研究デザインの型である。前後比較研究は介入研究として実施される。介入研究は前向き研究であり、一般的にエビデンスレベルの高い研究に分類される。しかしながら、前後比較研究はコントロールがないことから、記述統計と同じエビデンスレベルである。前後比較研究では、同一患者の治療前のデータと治療後のデータを比較することで治療の有効性を検討する研究で

ある。ある治療の有効性を明らかにする場合は、介入を行わない患者のデータ取得を行い比較する必要がある。

6. 終わりに

筆者は研究発表における基本的な要点を以下の4つと考えている。①説明がわかりやすいこと。②背景、目的、結果、限界、結論を包括的に伝えること。③目的と結論が一貫していること。④聴衆が理解しやすい言葉で伝えること。研究にはルールが存在し、本稿で述べた要点はその基本である。研究発表が適切なルールに従って行われることは、正確な情報を社会に提供し、生殖医療の発展に貢献する基盤となる。

謝辞

本稿は、第41回日本受精着床学会(2023年7月28日、仙台)の教育講演「いまさら聞けない研究発表の基本—生殖医療の現場から正しい情報発信を目指して」の内容を元に執筆した。

参考文献

- 1) Grimes DA, Schulz KF: An overview of clinical research: the lay of the land. Lancet, 359: 57-61, 2002.
- 2) 福岡真悟・渡部一宏:もしあなたが臨床研究を学んだら医療現場はもっとときめく。じほう, 2019.

PGT-A プログラムを臨床的に確立するための工夫

Our strategy to maximize clinical PGT-A program

和田 龍, 後藤 優介, 寄田 朋子, 長場 美由紀, 品川 詩織, 永井 徹, 向田 哲規

Ryu Wada, Yusuke Goto, Tomoko Yorita, Miyuki Nagaba, Shiori Shinagawa, Toru Nagai, Tetsunori Mukaida

広島 HART クリニック 〒732-0822 広島市南区松原町 3-1-301

Hiroshima HART Clinic

要旨： Preimplantation testing for aneuploidy (PGT-A; 着床前胚染色体異数性解析) は得られた胚の染色体数を移植前に網羅的に調べる検査で、生殖補助医療(ART)治療成功率を改善することが期待され、日本産科婦人科学会により2016年から予備研究が、2019年12月から特別臨床研究が始められた。現在研究は終了し、その結果は2023年5月に日本生殖医学会雑誌RMB¹⁾に掲載されている。日本産科婦人科学会の見解、細則に則り医療行為として2022年9月から認定を得た施設で実施されている。PGT-Aを臨床的に確立するには胚盤胞の外細胞生検とNGS解析システムを適切に施行するだけでなく、排卵誘発を含めた患者管理、採卵、顕微授精、その後の培養管理を最適化して形態良好な胚盤胞をより多く得るための工夫が必要である。

キーワード： PGT-A, 胚盤胞外細胞層生検, NGS解析, 染色体異数性, Mosaic胚

英文要旨： Recently, assisted reproductive technology (ART) has been advanced along with the genetic technology, especially with the program of preimplantation genetic testing (PGT). One of the major reasons for recurrent implantation failures (RIF) of ART attempts could be considered with increasing incidence of genetic aberration of eggs related with ages. PGT has been introduced as one of the powerful tools to overcome this major reason for RIF. In order to establish efficient PGT program in the ART clinic, several clinical issues will be needed to be addressed, such as patient management including proper ovarian stimulation protocol, fertilization methods, time-lapse culture and monitoring system, less invasive TE biopsy for NGS evaluation, suitable endometrial preparation for embryo transfer. In this chapter, more detailed information will be introduced including clinical results as well as technical aspect at ART laboratory Management to establish the ultimate strategy for PGT program.

はじめに

流産原因の中で染色体異数性が関係する割合が最も多く、流産物の染色体検査で70.3%にトリソミーなどの染色体異数性が認められたという報告がある²⁾。そのため胚盤胞に達した胚の染色体異数性の解析を行い、異常が認められる胚盤胞の移植を回避することで、流産や着床不全を減少させることができると考えられる。しかしながらPGT-Aによる解析で、染色体異数性が無く移植可能と判断された胚盤胞を移植しても妊娠率は70~80%という報告もある³⁾。著者らの施設でも異数性のない胚盤胞を移植して臨床妊娠率は64.5%、流産率は10.2%となっており、着床不全の原因は胚の染色体異数性以外の要因が必ずある点を示している(表1)。2021年の日本産科婦人科学会のART治療結果集計⁴⁾における単一凍結融解胚移植の妊娠率38.1%、流産率24.8%とは患者背景の相違があるため単

純に検討は出来ないが、かなり良い結果となっている点はPGT-Aの臨床的有用性を示していると推測される(表2)。

PGT-Aの適応としては反復流産、反復着床不全が現在日本産科婦人科学会が行った臨床研究の結果から有用性が認められている。また保険診療において移植回数が規定数を終えた場合や、年齢的な問題(43歳以上)で自費診療にせざるを得ない患者がその適応となる。そのような状況で我々に求められるのは臨床診療での適切な治療の方向性、そしてそれに対応できるART Laboの技術の向上による確実に効率のよい治療を行うことである。

PGT-Aの対象患者は主に高年齢であることが多く、採卵数が限られてことが少なくない。我々は適切な卵巣刺激によりできるだけ多くの卵胞を発育させ、胚盤胞まで発達させることによりPGT-Aができる胚盤胞の数を増やさなければならぬ。凍結融解胚移植するための緻密なプロトコルを確立させると同時に、ラボワークではPGT-Aを実施でき

表1 正常胚1個移植臨床成績

周期数	平均年齢	臨床妊娠率	流産率
183周期	37.5歳	64.5%(118/183)	10.2%(12/118)

表2 凍結胚を用いた治療成績 (2021年) (抜粋)

凍結融解胚移植	
単一胚移植数	199,698
単一胚移植での妊娠	76,054
単一胚移植での妊娠率	38.1%
流産数	21,548
妊娠当たりの流産率	24.8%

る胚盤胞を増加させ、いかにTE (trophectoderm) 生検 (TE-Biopsy) を行うことによる胚へのダメージを減らし、効率の良いPGT-Aのプログラムを成立させなければならない。

本稿では我々はいかに効率よくPGT-A後の移植可能胚盤胞を獲得し、その移植により、効率的に妊娠、出産に繋げていくかを臨床診療とART Laboでの技術に分けて述べる。

臨床診療

ARTの基本方針は、効率的に治療を行うため患者情報を得ながらStep upしていくことが必要である。我々は初回の採卵周期ではOHSSの可能性や子宮筋腫などの子宮因子などの問題がなければ採卵周期に新鮮分割胚移植を行い、余剰胚は追加培養しDay5~6で胚盤胞まで達した胚のみ、胚盤胞の発達状態、患者背景により1~2個ずつ胚盤胞をガラス化低温保存する。それらの凍結融解胚移植はまずは排卵周期での企画を考える。これはホルモン補充周期が妊娠、出産の周産期管理において合併症(HDP、癒着胎盤、出血多量、輸血など)を誘引することが多くなってきていることが明らかになりつつある⁵⁾ため、排卵周期を企画することが困難な多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)や卵巣予備能の極度に低下した症例などは適応とはしない。排卵周期で妊娠に至らない場合には子宮鏡で子宮内腔の状況を確認のうえでホルモン補充周期を企画する。2回目の採卵周期は患者背景、ここまでの治療経過により新鮮胚盤胞移植や全胚盤胞凍結にするかを選択する。特に保険診療を継続するか自費診療へ移行するか、患者の希望、意思も確認し、これまでの治療背景により胚盤胞が得られるかどうかなどからPGT-Aを前提とした周期を企画していくこととなる。

PGT-Aを実施することで移植前にその胚盤胞の染色

体に異常があるかどうか検査することは移植しても着床しない、あるいは流産になる胚盤胞の移植を回避することができ、これは患者の身体的、精神的、経済的負担の軽減にも有用である。

臨床におけるパフォーマンスを最大に生かすためには、より多くの異数性のない胚盤胞を作成することが必要で、そのためには1回の採卵で採卵数を確保し、成熟卵の割合をできるだけ増加させ、PGT-Aを実施できる胚盤胞を増やすことが求められる。PGT-Aの検査に出す胚盤胞は患者の背景および治療経過に沿ったベストな刺激で、年齢が高い場合や不育症や着床不全の場合には特にできるだけ数多くの採卵ができることが必要であり、そのために必要なことを下記に示す。

1) 卵巣刺激方法

PGT-Aの適応のある患者は正常染色体の胚盤胞をできるだけ多く得る必要性のある患者が多いはずである。胚盤胞の個数をできるだけ増やすには成熟卵の割合を増やす必要性があるので、年齢、卵巣予備能、胞状卵胞数、前周期までの治療経過などを踏まえ、刺激方法、薬剤量、排卵抑制方法、刺激日数も、Triggerの種類や投与量、1種類にするか2種類にするのか、またその投与時間を患者それぞれのこれまでの治療背景や反応に合致するものを選択するべきである。また、採卵しても卵の質が悪い場合には次の採卵に向けての排卵誘発法の変更や、抗酸化剤のサプリメントや血流改善による卵質改善を期待して鍼灸による対応など積極的な介入を行っていくことでPGT-Aに使用できる胚盤胞の数が増えることを期待する。

2) 機器：超音波機器、血液検査機器

生殖医療における診療では超音波検査でできるだけ正確に評価するために超音波機器では高機能なものを使用することで正確に評価することができ、さらに複数人で診療をしているクリニックなどではそれぞれの医師の主観が入ることにより卵胞計測に差が起るため、客観的な評価方法として3Dで計測することによりその差異はなくすることができる。院内に常設している血液検査機器で結果を院内ですぐに把握することにより、ベストな採卵のタイミングを決定することができる。

3)採卵方法

採卵する際にはできるだけ回収率を上げるためには①麻酔方法②採卵針の選択③吸引方法が重要な点としてあげられる。

①麻酔方法

麻酔は体動が起こらず、呼吸が抑制しない適度な麻酔の深度を調整することにより採卵の手技自体が的確になる。卵胞数が多い場合には患者へのストレスが多くなる場合があるため鎮痛剤併用で静脈麻酔を選択し、卵胞数が少ない場合で患者の静脈麻酔の強い希望がなければ局所麻酔で行う。時に、静脈麻酔において体動が抑制できない場合もあり、その際には覚醒させ、局所麻酔のもと体動を自制させることが必要になることもある。また卵巣の位置が子宮背側にある場合には子宮を穿通したうえでの採卵になるため卵胞数が少なくても鎮痛剤と鎮静剤併用による麻酔が必要である。あまり重要ではないと思われるかもしれないが、採卵手技を確実にすることで採卵数は増加する。

②採卵針の選択

卵胞数、卵巣の位置、麻酔方法を加味し採卵針の径は19G、20G、タイプはストレート針やテーパード針を選択する。子宮を介して採卵をしなければならないような場合や、やや遠い位置にある卵巣の場合にはたわみの少ないストレートの19Gを選択し静脈麻酔で、そうでない場合で卵胞数が多くない場合なら20Gを選択する。

③吸引方法

採卵の際の卵胞吸引に関しても自動陰圧ポンプを用い適切な吸引圧(100~150mmHg)にて単に吸引する形で施行し、常に陰圧をかけることにより卵の回収を逃すことは少なくなる。卵胞液を吸引後、培養液等を用いて卵胞内をFlashし卵胞壁に付着している可能性のある顆粒膜細胞と一体となっている卵(COC; Cumulus Oocyte Complex)をできるだけ回収する。また、特に卵胞数が少なくいいサイズの卵胞、すなわち成熟している卵子が入っていると期待される貴重な卵胞の場合はもちろんこれは手技が確実になければならないことは言うまでもない。

このように卵胞数や卵巣の位置などにより採卵方法に細かく対応し、回収できない卵子を少なくすべきである。そして、回収した卵胞液、Flashingした液は隣接する培養室ですぐに検卵する。

4)ART Laboでの技術

ART Laboでの操作については、いかに回収した卵子を効率よく受精させ、胚質を低下させることなく胚盤胞にまで発達させ、TE-Biopsyを施行しガラス化低温保存させることができるかが鍵になる。

①Piezo-ICSI

第一により多くの受精卵を得るために受精率の高い手法が求められる。著者らのクリニックでは従来のスパイクのついた針を用いて穿刺を行うConventional-ICSI(C-ICSI)から針の先端がフラットになっており、Piezoパルスで穿孔、穿破を行うPiezo-ICSIを2016年に導入した。Piezo-ICSIの導入により受精率や変性率、胚盤胞到達率、良好胚盤胞率において有意な改善が見られた(表3)。さらにPiezo-ICSIの利点として術者による手技の統一が容易であることも挙げられる。これは煩雑なART Labo業務において普遍性、再現性を高くし、不妊治療の結果に安定性をもたらすことにつながると考えられる。

また、Piezo-ICSI施行前には紡錘体の観察を行っている。紡錘体の可視、不可視、その位置を観察することで、形態だけでは判断できない卵子の成熟度をより正確に把握することで成績の向上が期待できる(表4)。得られた情報を培養士だけではなく医師とも共有し臨床業務に反映させることにより、排卵誘発、Triggerのタイミングの確認、見直しにより、次回の採卵以降の結果の向上にもつながっていくことが求められる。

②胚培養・観察システム

近年、経時的連続胚観察システム(TLC)の普及により胚培養、胚観察の環境は大きく変わってきている。TLCは受精直後から培養終了まで原則的にIncubatorから胚を取り出すことなく胚培養、胚観察が可能になり、受精判定

表3 Conventional-ICSIとPiezo-ICSIの比較

広島HARTクリニック 対象Conventional-ICSI:2013~2014 587周期
Piezo-ICSI:2017~2018 870周期

	平均年齢(歳)	受精率(%)	変性率(%)	Day5 BL率(%)	D5 ≧③BB(%)
Conventional-ICSI	38.6 ^a	66.8 ^b (2352/3522)	6.2 ^c (219/3522)	32.4 ^d (708/2185)	17.4 ^e (380/2185)
Piezo-ICSI	39.3 ^a	76.7 ^b (4518/5892)	2.9 ^c (170/5892)	44.1 ^d (1937/4397)	31.2 ^e (1373/4397)

同一符号間で有意差あり a:P<0.05 b,c,d,e:P<0.001

表 4 紡錘体可視, 不可視別の成績

広島HARTクリニック 期間2017.11~2018.4 平均年齢37.9歳 230症例

紡錘体可視化率 (%)	紡錘体	M II 個数	受精率 (%)	D5 胚盤胞到達率 (%)	D5 ≧ ③BB (%)
81.9 (1336/1632)	可視	1336	81.4 ^a (1087/1336)	54.2 ^b (576/1062)	37.8 ^c (401/1062)
	不可視	296	61.1 ^a (181/296)	30.7 ^b (55/179)	17.6 ^c (31/179)

同一符号間で有意差あり a,b,c:P<0.001

表 5 Embryo Plasty 培養臨床成績

培養成績	対照群	Embryo Plasty 施行群	
胚盤胞発達率	67.2% (43/64)	83.2% (218/262)	P < 0.01
胚盤胞あたりの良好胚盤胞率	18.6% (8/43)	54.6% (119/218)	P < 0.001
Hatching/Hatched率	0% (0/64)	59.9% (157/262)	-

・Embryo Plasty 施行群: 対象期間2017年7月~2019年5月 141周期 262個 平均年齢36.6±5.0

・対照群: 対象期間2017年1月~6月 38周期 64個 平均年齢36.1±4.4

※対照群の定義: Embryo Plasty 施行開始前にEmbryo Plasty 施行群と同様の所見が認められた胚

	周期数	平均年齢	移植個数	臨床的妊娠率 (GS確認)	着床率	流産率
新鮮胚移植	12	36.9±3.3	12	66.7% (8/12)	66.7% (8/12)	12.5% (1/8)
凍結融解胚移植	39	36.5±4.9	48	35.9% (14/39)	31.3% (15/48)	14.3% (2/14)

時の前核(PN)の見逃しを防ぐとともに, 安定した胚培養環境の維持が可能になっている. また現在のPGT-Aは胚盤胞期のTE-Biopsyが一般的であり, 採卵から5日目, 6日目の適切なタイミングでTE-Biopsyを行うためには胚の詳細な観察が必要不可欠である. 通常のIncubatorでの胚培養では頻りに培養dishをIncubatorから出して胚の状態を確認し, TE-Biopsyのタイミングを決定しなければならず培養士にとっても大きな負担となる. 一方でTLCでの胚培養は先述した通り, 培養dishを出すことなく経時的な胚観察が可能のため, 培養士の負担を軽減することができるとともに, 培養dishをIncubatorから取り出すことにより発生するリスクも回避することが可能である.

③ Embryo Plasty

先述した通りTLCでの胚培養はPGT-Aを実施するにあたって大きなメリットがあるが, TLCから得られる情報の積極的な活用方法として当院ではEmbryo Plastyを実施している. TLCでの経時的観察のなかで胞胚腔形成に関与しない遊離割球や細胞割球間のfragmentation (frag) が胞胚腔形成を阻害している現象を確認すること

ができる. それらの胚盤胞は形態学的評価による胚質低下や拡張収縮する過程で変性に至る所見が散見される. そこで著者のクリニックでは遊離割球やfragが接する部分の透明帯をLAH(Laser Assisted Hatching)により大きく開口することをEmbryo Plastyとして行っている. Embryo Plastyを施行することにより胞胚腔拡大に伴って遊離割球やfragが胚外に押し出され形態学的評価の向上や胚質改善を期待することができ, 結果的に胚盤胞到達率と良好胚盤胞率が向上している(表5). これは従来であれば形態不良によりBiopsyが施行できないという判断がされていた胚においてもEmbryo Plastyを施行することにより形態学的評価の改善もしくは胚質向上が認められBiopsyを施行することができ, 染色体正常胚を獲得する確率を高めることになる.

④ TE-Biopsy

これまで述べているがTE-BiopsyはART Laboで行われる操作でもっとも侵襲性の高い操作である. TE-Biopsyの手法は決まった手技はなく透明帯の開口の時期や実際に細胞を採取する方法はART Laboによって異

なってくるがいずれにしてもTE-Biopsy後の胚盤胞の生存性を考慮し十分なトレーニングを積む必要がある。当院では胞胚腔が拡張し外細胞層を構成する細胞が十分増加した拡張期胚盤胞に達した時点でLaser Artificial Shrinkage(LAS)により胞胚腔を収縮させた後に、ICMから離れた位置の透明帯を開口し、ICMの位置を確認しながらTE-Biopsyを施行する、という手法を選択している。この手法であればICMの位置を確認しながらTE-BiopsyをすることでTE-Biopsyの場所のコントロールができ、また採卵後3～4日目に細胞が十分に増えてからTE-Biopsyを施行することで胚盤胞本体に対するTE-Biopsyの影響をより軽減できる。PGT-Aは解析して終わりではなく解析の結果、異数性が無いと判定された胚を移植して挙児を得ることが目的である。そのためTE-Biopsyもいかに胚への影響を軽減できるかを念頭におきながら実施していく必要がある。

⑤胚のガラス化低温保存

TE-Biopsy後の胚はPGT-Aの結果が出るまでガラス化低温保存する必要がある。これは現在PGT-Aに用いられる次世代シーケンサー(NGS)での解析に数日要するためである。そのためガラス化低温保存・融解の技術は胚の生存性に直結する重要なステップである。当院では凍結時、拡張期胚盤胞に対してLaser Artificial Shrinkage:LASを施行し胞胚腔が収縮した状態でガラス化低温保存を行っている。LASの施行により融解後の生存率の向上が期待できる⁶⁾。そのため当院では従来、拡張期胚盤胞に対してはLASを実施しているがTE-

Biopsyを施行することでLASと同じ効果が期待できる。TE-Biopsy後の胚はPGT-Aの結果が確認されるまでガラス化低温保存することになるため、ガラス化低温保存および融解も重要なステップとなる。基本的に必要になってくるのがPGT-AのためのTE生検後の胚盤胞の凍結技術である。以前は緩慢凍結法であったが、様々な問題点があったため、ガラス化低温保存を開発した。

5)PGT-Aの結果の取り扱いについて

染色体異数性解析に現段階で用いられているNGS(New Generation Sequencing;次世代シーケンサー)は、採取された細胞内のDNAの増幅(WGA;Whole Genome Amplification)を経て行われており、全染色体のコピー数解析が可能になっている。そしてCNV(Copy Number Variation)解析による異数性解析のみが行われている施設が多いが、染色体異常には1か所のトリソミーやモノソミーなどの異数性のほかに複数か所の異数性や倍数性異常なども認められる。このように染色体の異常は多岐にわたるため、包括的な染色体解析が必要となりCNV解析のみではなくSNV(Single Nucleotide Variant)解析による倍数性解析も含めて行うべきである。それによりUPDや3倍体などの解析ができ、移植適応のある胚盤胞は今まで以上に確実に選択できるようになる。特に前核が1個や3個の場合は正常受精ではないが、それに対してCNV解析を行うと2倍体である確率は、著者らの施設のデータではそれぞれ64.5%、43.2%となり、これは前核のみで倍数性は確定することは適切でないことを意味し、倍数性

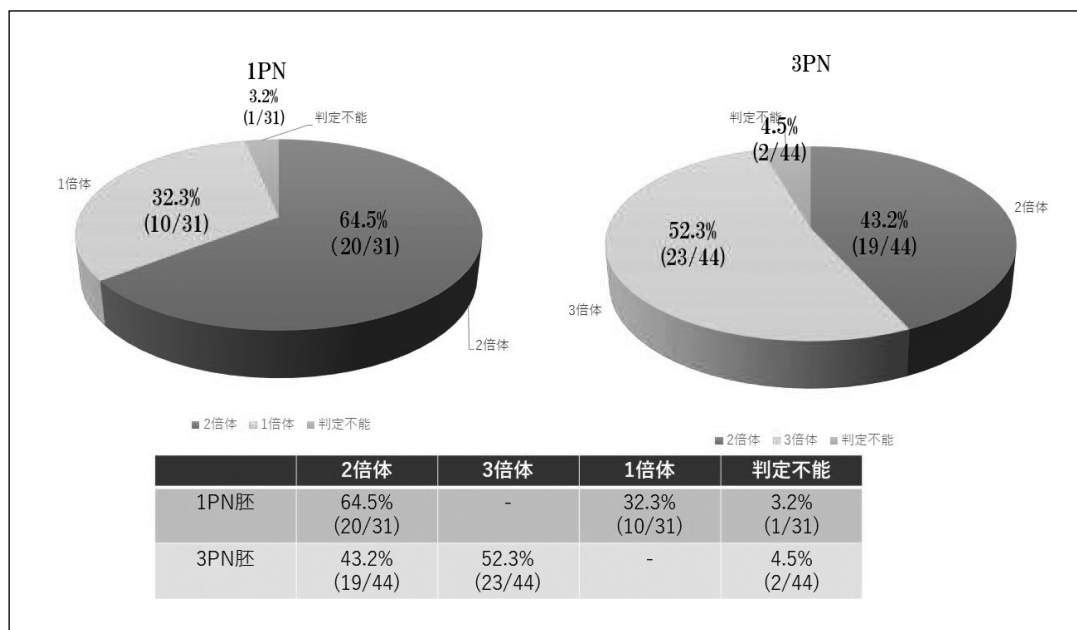


図1 3PN胚, 1PN胚における倍数性解析

解析も同時に行う必要であることを示している(図1)。

著者らの施設でのPGT-Aの結果では異数性なし(Normal), 異数性あり(Abnormal), Mosaic, 倍数性異常はそれぞれ31.2%, 53.9%, 14.4%, 0.6%であった(図2)。胚盤胞の約半数がAbnormal胚であり, これらの胚はPGT-Aを行わなければ移植され, 妊娠, 出産につながらない不要な胚移植を実施してしまうことになる。また, 年齢が上昇するとNormal胚が減少し, Abnormal胚が増加を示している(図3)。日本産科婦人科学会の統計データにおける流産の割合が年齢により増加することはこれに相関していることを示す(図4)。そして, 著者らの施設でのデータでは胚盤胞のGradeが低くなると染色体正常胚率が低下することを示している(図5)。これはPGT-Aを実施していない場合に年齢と胚盤胞のGradeを加味して移植胚を決めるための参考にもなる。

しかし, ここで問題となるのはMosaic胚の取り扱いに

おける移植の可否に関して共通した考え方に至っていないことである。Mosaic胚は初期受精卵の染色体不分離を起こし, 異なる染色体構成を持つ細胞が同じ受精卵の中に存在する状態のことを示す。どのようなMosaic胚が移植に適しているか, その程度(高頻度, 低頻度), あるいは何か所にあるか, どの染色体にMosaicがあるかなどにより移植適応の有無が各施設間, 各医師間で共通しているとは言えないのが現実である。しかし, 1000個のMosaic胚を移植し出産症例はほとんどが正常核型であったという報告もあり⁷⁾, 著者らの施設でも実際にMosaic胚を移植し妊娠, 出産に至った症例を経験している(図6)。胎児や出生後の個体ではMosaicの頻度が少ないことから, 同一胚に異数性のある細胞が含まれていたとしても着床後の胚発達過程で異数性のある細胞が排除され, 異数性のない細胞が発達していくという「胚の自己修復」という作用が働いているとの報告がある⁸⁾。さらに

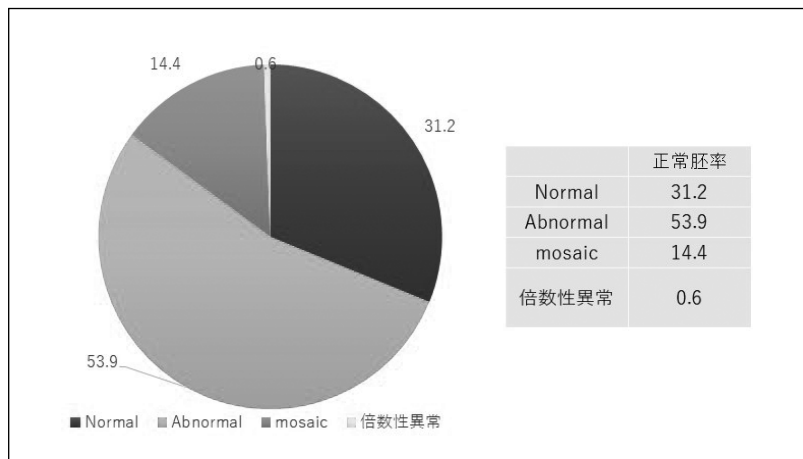


図2 正常胚率円グラフ

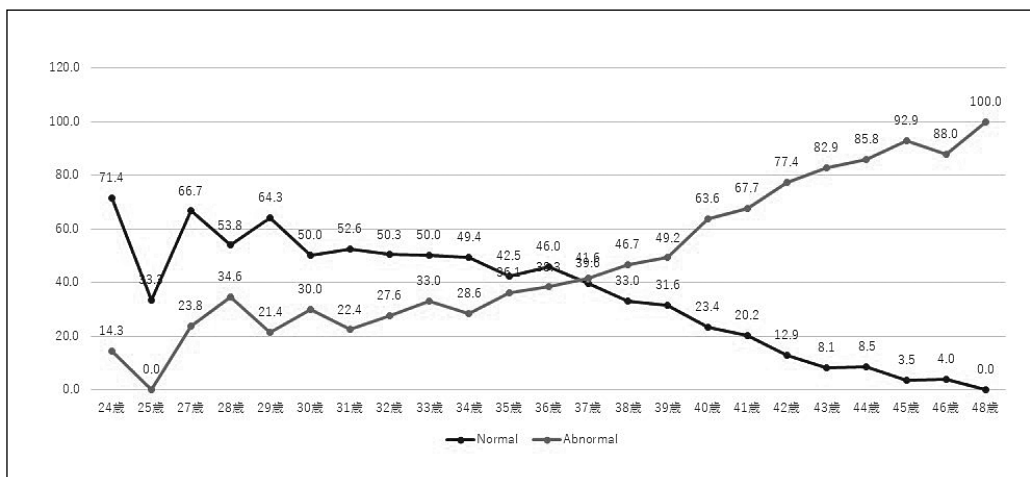


図3 Normal, Abnormal 折れ線グラフ

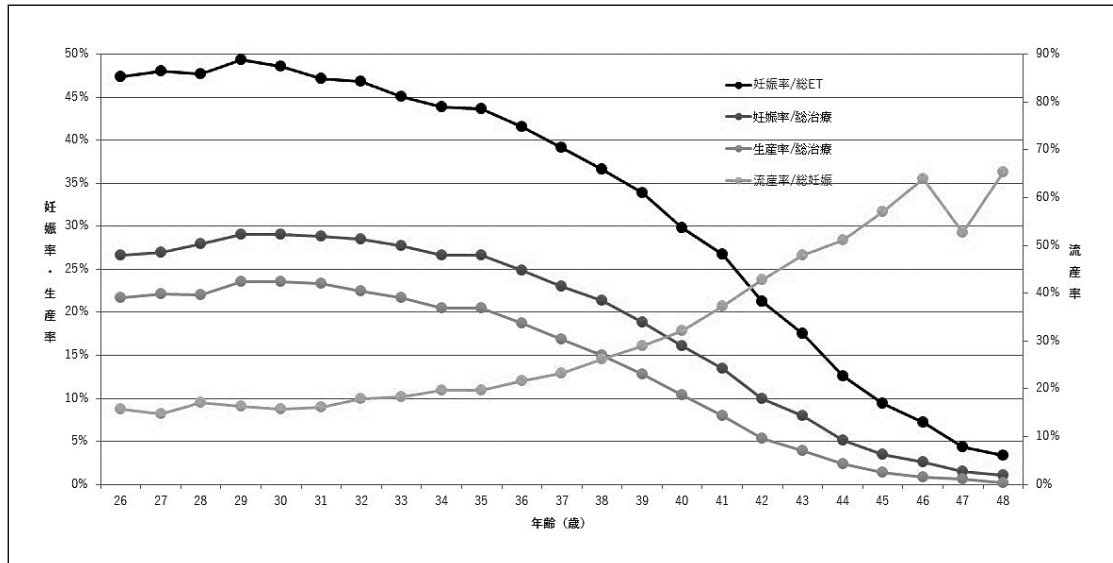


図 4 ART 妊娠率・生産率・流産率 2021

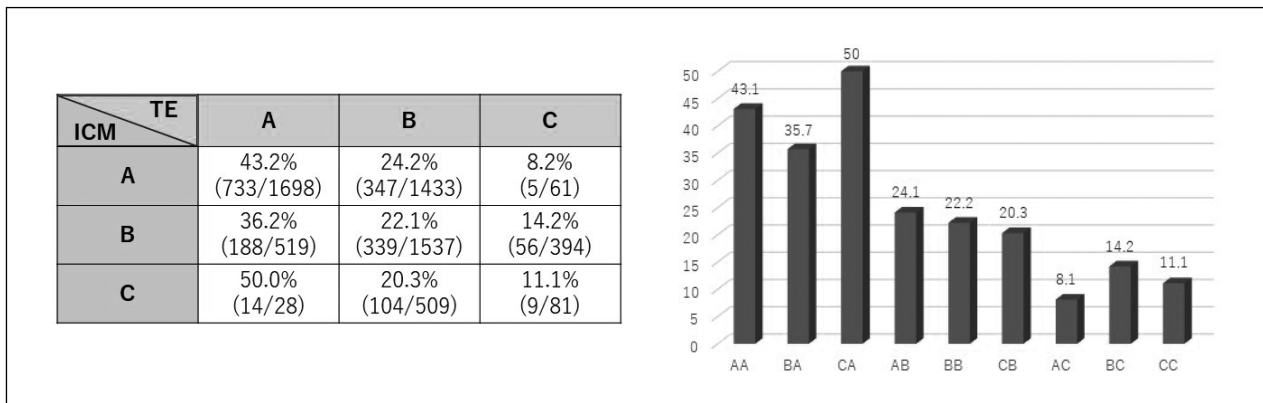


図 5 グレード別正常胚率

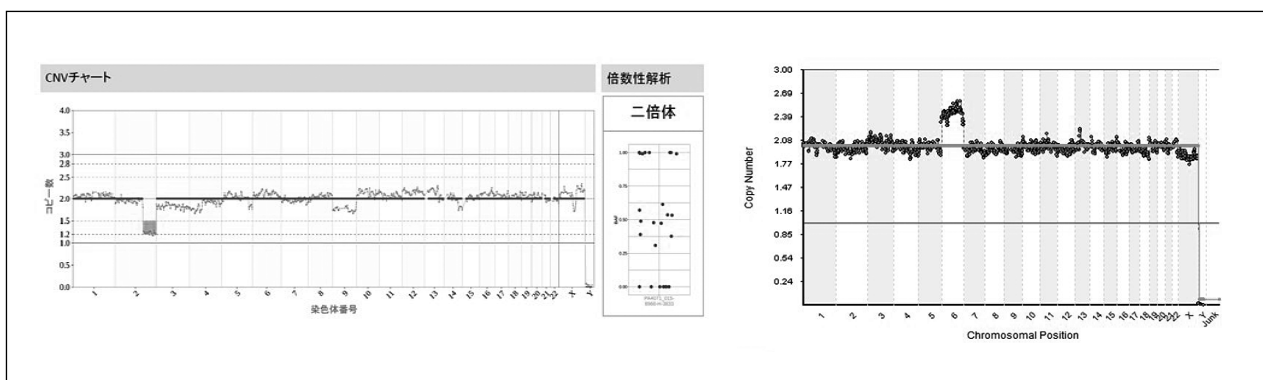


図 6 出産症例の PGT-A

は Mosaic 胚を移植し、流産になった際の POC (流産物) の染色体解析 (NGS) を行うと、一致していない症例も少ないが存在する (図 7)。それにより、今後はどのような Mosaic 胚が移植に適しているかがある程度判断できる

ようになる可能性もあると考える。しかし Mosaic 胚は移植に対して「適」でも「不適」でもない「準適」の分類となり、臨床現場では移植の可否の判断に苦慮していることがあるのが実際であり、各施設、各医師の判断によることに

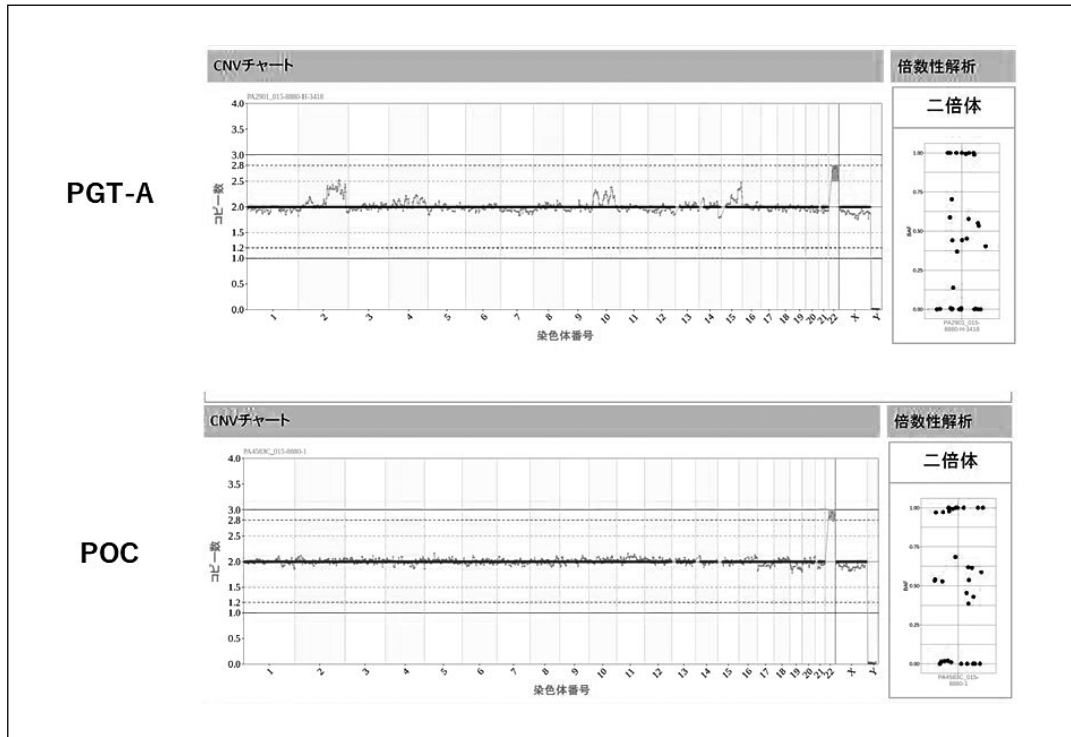


図7 PGT-AとPOC-NGSが相違していた症例

なっているが、日本産科婦人科学会から出されている「着床前胚染色体異数体検査における胚診断指針」にのっとり患者に対して十分なインフォームドコンセントを行う必要がある。

現段階で用いられているNGSは採取された細胞内のDNAの増幅(WGA; Whole Genome Amplification)を経て行われているため、その際に発生するノイズの影響がNGSの結果に判断を困難にする場合が少なくない。その要因としては、手技、生検された細胞の状態、その他の夾雑物の混入(Contamination)が考えられる。また、そのような場合でも胚盤胞のGradeが良好な胚においては再生検も考慮しなければならない症例も存在する。

6) PGT-Aで獲得された移植可能胚を有効にいかすための凍結融解胚移植

PGT-Aで移植可能胚が得られれば、その貴重な胚盤胞の凍結融解胚移植を行う上で最も妊娠率、出産率が高くなるような積極的な医療介入をすることが必要になる。PGT-Aを行う患者の多くは流産歴や治療歴を持っているため、不育症検査(APS, 免疫系, 凝固系, 着床の窓のテストなど)や子宮鏡を行ったうえで、あらゆる治療を併用し、凍結融解胚移植を行うべきである。それらの結果により著者らの施設ではバファリン、柴苓湯、イントラリピッド、ヘパリン、タクロリムス、G-CSFなどを併用している。子

宮筋腫、子宮内膜症があればGnRHaを数周期施行、または必要に応じて外科的治療を行わなければならない。また卵管留水腫を認める場合には卵管内の液体が着床不全の原因になっていると考えられるため両側卵管切除も行わなければならない。また、治療歴の中で子宮鏡を行いマイクロポリープや発赤などの慢性子宮内膜炎の診断が得られれば抗生剤の耐性を考慮に入れながらメトロニダゾールやビブラマイシンを使用し、ラクトフェリン、乳酸菌製剤の使用により対応している。

Discussion

ART Laboで行われる手技は基本的に生理学的な状態を保つように行われているため、できるだけ卵や胚に負荷や侵襲がかからないように設計され行われているが、唯一、PGT-Aのための細胞採取は胚の一部の細胞を採取するという侵襲的な手技を必要とするため、患者の治療背景として年齢、治療歴、流産歴、卵巣予備能、採卵数、胚盤胞のGrade、患者の希望の有無、経済性、挙児希望人数などを考慮して必要最小限で行われるべきである。胚盤胞が得られる個数が少ない場合には年齢を考えてPGT-A非実施の複数個の胚移植を行うことも選択肢の一つとなり、患者それぞれに対するきめ細かい治療方針の決定を要する。著者らの施設では胚移植で2回以上の着

床不全や流産歴があった患者に対してPGT-A非実施の胚2個の移植を行ったが、多胎妊娠率は1%以下であった(院内データ,未発表)。

そして一般不妊治療を行っている施設ではIUIのための精液調整や精液検査などART Laboにおける操作を減らすことは難しいが、理想的にはできる限り減らすことで、ART、PGT-Aの作業に集中することができ、それにより一層正確な手技を遂行できることになる。そして十分な人材と機材(倒立顕微鏡, マニピュレーター)を整備しておくことによりゆとりをもってTE生検などの手技の確実性を上げると考えられる。著者らの施設において一般不妊治療は行っておらず、年間に約1000件の採卵, 約900件の胚移植に対して、常に培養士は10人が在籍し、倒立顕微鏡4台, 実体顕微鏡5台, レーザー機器が3台, EmbryoScope⁺ (Vitrolife社)3台が整備されておりゆとりをもってラボワークを行うことができる。さらには時間のロスをなくすためにバーコード管理も行うことによりダブルチェックを行い、業務軽減や思い込みによるヒューマンエラーも減少させることもできている。また、検卵, TE-Biopsyについては2人一組で業務を行うことや、必要に応じていつでもトリプルチェックを行う体制も整っている。

このようにART Laboにおいて、PGT-AのProgramを確立し適切に運用するためには、必要な業務と業務軽減の選択のバランスを考慮して業務内容をその状況に合わせて最も充実したものにしていくことが必要となる。

ここでPGT-Aの結果を患者に説明するうえで、TE-Biopsyの結果、異数性異常がないという判定でもICMの異数性異常がないとは保証できない。逆に異数性の場合でもICMが絶対異数性であるといえない。また、Mosaic胚の移植でも胚発達過程で異数性細胞が排除あるいは自然淘汰され異数性のない細胞のみで胚が発達していくことも報告されている⁹⁾。このように5~10細胞で胚盤胞全体の状況を完全に表されているわけではないため、PGT-Aの結果には診断の限界があることを理解しておく必要がある。

今後、TE生検を行わなくて済むNI-PGT (Non invasive-PGT) すなわちCell free DNAを用いたPGTも研究されており、Grade不良の胚盤胞、すなわち細胞数の少ない胚盤胞に対して侵襲性の高いTE-Biopsyの必要性がなくなる可能性も出てきている。TE生検によるPGT-Aとの一致率、正確性が今後の課題となるものの、必要な検査になると予想される。

おわりに

ART治療でPGT-Aで移植可能胚をできるだけ得られ

るようにしていくことは工夫のある緻密な臨床業務と精度の高い、確かな培養技術が求められ、常に基本の見直しと技術の向上を心掛け、精度管理を徹底しなければならない。

参考文献

- 1) Takeshi Iwasa, Akira Kuwahara, Toshiyuki Takeshita, Yuka Taniguchi, Mikio Mikami, Minoru Irahara: Preimplantation genetic testing for aneuploidy and chromosomal structural rearrangement: A summary of a nationwide study by the Japan Society of Obstetrics and Gynecology. *Reprod Med Biol*, 22 (1): e12518, 2023. Published online 2023 May 31. doi: 10.1002/rmb2.12518
- 2) Anna Soler, Carme Morales, Irene Mademont-Soler, Ester Margarit, Antoni Borrell, Virginia Borobio, Miriam Muñoz, Aurora Sánchez. Overview of Chromosome Abnormalities in First Trimester Miscarriages: A Series of 1,011 Consecutive Chorionic Villi Sample Karyotypes. *Cytogenet Genome Res*, 152: 81-89, 2017.
- 3) Takeshi Sato, Mayumi Sugiura-Ogasawara, Fumiko Ozawa, Toshiyuki Yamamoto, Takema Kato, Hiroki Kurahashi, Tomoko Kuroda, Naoki Aoyama, Keiichi Kato, Ryota Kobayashi, Aisaku Fukuda, Takafumi Utsunomiya, Akira Kuwahara, Hidekazu Saito, Toshiyuki Takeshita, Minoru Irahara: Preimplantation genetic testing for aneuploidy: a comparison of live birth rates in patients with recurrent pregnancy loss due to embryonic aneuploidy or recurrent implantation failure. *Hum Reprod*, 34: 2340-2348, 2019.
- 4) 令和4年度倫理委員会、登録・調査小委員会報告、2021年分の体外受精・胚移植等の臨床実施成績および2023年7月における登録施設名 日産婦誌, 75: 1089-1110, 2023.
- 5) Kazumi Takeshima, Kenji Ezoe, Sachie Onogi, Nami Kawasaki, Hiroko Hayashi, Tomoko Kuroda, and Keiichi Kato: Endometrial preparation and maternal and obstetrical outcomes after frozen blastocyst transfer. *AJOG Glob Rep*, 2 (4):100081, 2022. doi: eCollection 2022 Nov.10.1016/j.xagr.2022.100081.
- 6) Ehab Darwish, Yasmin Magdi: Artificial shrinkage of blastocoel using a laser pulse prior to vitrification improves clinical outcome. *J Assist Reprod Genet*, 33: 467-471, 2016.
- 7) Manuel Viotti, Andrea R Victor, Frank L Barnes, Christo G Zouves, Andria G Besser, James A Grifo, En-Hui Cheng, Maw-Sheng Lee, Jose A Horcajadas, Laura Corti, Francesco Fiorentino, Francesca Spinella, Mariaiulia Minasi, Ermanno Greco, Santiago Munné: Using outcome data from one thousand mosaic embryo transfers to formulate an embryo ranking system for clinical use. *Fertil Steril*, 115 (5) : 1212-24, 2021.
- 8) Jiao J, Bei Shi, Matthew Sagnelli, Dalei Yang, Yaxin Yao, Wenlu Li, Lin Shao, Sijia Lu, Da Li, Xiuxia Wang: Minimally invasive preimplantation genetic testing using blastocyst culture medium. *Hum Reprod*, 34: 1369-1379, 2019.
- 9) Greco E, Minasi MG, Fiorentino F: Healthy Babies after Intrauterine Transfer of Mosaic Aneuploid Blastocysts. *New England Journal of Medicine*, 373 (21): 2089-2090, 2015. doi: 10.1056/nejmc1500421.

検体取り違い防止システムの重要性 — より効率的な安全対策を試みる新たな取り組み —

The significance of sample identification system
— Exploring novel approaches for more efficient security measures —

緒方 洋美, 峯川 亮子, 吉田 貴則, 緒方 誠司

Ogata H, Minekawa R, Yoshida T, Ogata S

オガタファミリークリニック 〒659-0094 兵庫県芦屋市松ノ内町2-3 エウルビル2,3階
Ogata Family Clinic, Eulu-Bld.2F & 3F, 2-3, Matsunouchicho, Ashiya-shi, Hyogo, 659-0094 Japan

要旨： 配偶子・胚の取り違いは、患者への精神的・身体的負担が大きく必ず回避しないといけない事態である。国内や欧米のガイドラインは、検体・容器は必ずダブルチェックで識別を行うとし、電子システムにおける取り違い防止を強く推奨している。我々は今回、データベースソフトであるFileMakerとiPhoneを組み合わせた取り違い防止システムを新しく開発した。さらに患者が本システムをどう評価しているかを把握するためのアンケートを実施した結果、安心感や必要性を感じるという評価が多いことがわかった。

キーワード： 取り違い防止システム, iPhone, FileMaker

ランニングヘッド： 取り違い防止システムの重要性

英文要旨： The mix-up of gametes or embryos is a situation that must be avoided at all costs due to the significant emotional and physical burden it places on patients. Both domestic and Western guidelines emphasize the necessity of manual double-checking for sample and container identification and strongly advocates for sample identification through electronic systems. In this study, we have developed a new sample identification system using the FileMaker database software in combination with iPhones. Furthermore, to understand how patients perceive this system, we conducted a survey. The results revealed that patients feel a sense of security from the system and recognize it as an essential tool.

キーワード： FileMaker, iPhone, sample identification system

ランニングヘッド： The significance of sample identification system

1987年に世界で初めて受精卵の取り違いの報告^{1,2)}がされた後、2009年には国内でも香川県の病院にて取り違った胚における妊娠事例が報告され、メディアなどでも大きく報道された。配偶子・胚の取り違いは、言うまでもなく患者への精神的・身体的負担が大きく必ず回避しないといけない事態である。

日本産科婦人科学会の会告においては、「体外での配偶子・受精卵の操作にあたっては、安全確保の観点から必ずダブルチェックを行う体制を構築すること」とされている³⁾。また、European Society of Human Reproduction and Embryology Special Interest Group (ESHRE SIG)におけるガイドラインにおいても、検体・容器はダブルチェックで識別を行うかまたは、電子システムにお

ける取り違い防止を強く推奨するとしている⁴⁾。これらを踏まえ、現在培養室において検体・容器の識別のためにダブルチェックが当たり前のように実施されている。しかしながら、ルーチン化されたダブルチェックにおいては慣れからおきるヒューマンエラーも想定される。そのため、ESHRE SIGでも推奨されている客観的に監視が可能な電子システムによる取り違い防止対策は、ヒューマンエラーを避けるための有効的な手段の一つと考えられる。

市販されている取り違い防止システムは、バーコードやIDチップを容器に貼付し専用のバーコードリーダーやチップの読み取り装置を用いて認証を実施していくが、バーコードを読み取る際に配偶子、胚に有害な可能性

受付 2023年8月31日 / 受理 2023年9月12日

責任著者：緒方 洋美 e-mail [h.ogata@ogatafamilyclinic.com]

のある光を照射する、チップが高価でコストの負担がある、完成されたシステムからそれぞれのクリニックの業務内容に合わせた仕様変更が実施しにくいなど、問題点も多く認められる。そこで我々は新たな試みとして、高機能カメラが内蔵されWi-FiやBluetoothを介して他機器との接続が簡単に可能なiPhoneを用いて安全・効率的かつ柔軟性のある取り違い防止システムの開発を行った。また、開発した取り違い防止システムの運用について患者がどのように評価しているかを把握するためにアンケート調査を実施したのでここで報告する。

当院が開発した取り違い防止システムは、データベースソフトであるFileMaker (Clariss社)で基本的なシステムを作成し、バーコードリーダーとして使用する端末にiPhoneを採用し、iOS上で作動するアプリであるFilemaker Goにより基本的なシステムと連携させた。

iPhoneを採用した理由は①FileMakerのデータベースにアプリ(FileMaker Go)を介しWiFi経由で接続、データのやりとりが容易にできる②光を照射しないカメラ経由でのバーコードの読み取り機能が付いている③高機能なカメラを有しバーコードの読み取りに時間を要しない④現在のiPhoneの普及状況からみてスタッフの操作方法の習熟にも時間を要さない⑤白衣のポケットに収納できる大きさでコンパクトである⑥豊富に流通しており故障時の代替え機の準備も容易である、などが挙げられる。

認証には1・2次元バーコードを利用している。培養Dish、精子チューブ、精液容器、SEET液用の容器、検尿容器、採血管、患者用リストバンド、モバイル診察券などに貼付・表示されたバーコードをiPhoneで読み取っていくことで、患者からの受け取りや、検体容器間の配偶子・胚の移動の際に取り違いが起こっていないことをシステム内で確認し記録している。例えば、採卵時に患者から精液容器を受け取る際には、まず患者の目の前であらかじめ準備しておいた精液容器貼付用のバーコードを読み取り、認証画面に表示された氏名を患者に目視および読み上げて確認してもらったうえで、その場で精液容器にバーコードを貼付する。次に培養室で、先ほど認証された精液容器と精子調整用チューブとの認証を行い精子調整の作業に入る。さらに媒精時には、患者のデータを記録するFileMaker・採卵用Dish・IVF用Dish・精子調整用チューブの4点のバーコードを順番に読み取りIDが一致していることを認証することで取り違い防止を実施している(図1)。我々が認証のシステムを作るうえで特に重視したことは、治療を開始する際に患者の目の前で認証がスタートしていくという流れである。これにより、容器に貼付されたバーコードを基準

として、培養室でも適切に認証が継続されていくという安心感を患者に与えることができるのではないかと考えている。

今回のアンケートの対象は、2021年5月に医師より患者の同意を得た上で用紙を配布した100名とした。内容は、認証を受けたことがあるか、認証を受けた検査・処置、所要時間とプロセス、また認証についてどう思うか今後の必要性を含めて質問した。

回収率は100%で1名記入漏れで除外した。認証実施の有無は、ある96名、ない3名となり認証項目別には、採血30%、精液検査19%、人工授精18%、採卵14%、移植10%、SEET6%、手術3%であった。認証についてどう思うかという質問に対する回答は、非常に安心できた55%、安心できた40%、普通5%となり、合計で95%が安心できたと回答した。時間は、非常に短い48%、短い31%、普通20%、短くない1%であり、手間は全体の96%が全然手間ではない、または手間ではないと回答した。認証の必要性について、認証を受けたことがある方は、必ず必要と思う59%、必要と思う37%、普通4%で96%の方は必要と思うとの回答であった。実施歴のない3名も、必要性については全員が必ず必要または必要と思うとのことであった(図2)。自由記載欄には、「丁寧に診察して頂いていると思い安心できます」、「良い取り違い防止システムがあれば、手間でも良いので採用して頂けると安心です」、「画面に記載された氏名を自分で確認できることが安心できた」などの意見があった。

取り違い防止システム導入の目的の一つとして、患者へできるだけ安心感を与える事がある。様々な面で不安を抱えている患者から、治療の際その不安の一つでも多く取り除くことも我々生殖医療に携わる者の義務である。特に、胚培養士は患者と接する機会が少なく患者側からすると、大切な配偶子・胚がどのように扱われているのか不安に感じるのではないかと危惧される。そこで、出来るだけ患者に安心感を与えられるように、胚培養士が検体の受け取りを直接行い、患者の目の前から検体の認証が始まるようにシステムを作成し運用することとした。アンケート調査からも本システムの導入は患者に安心感を与え、患者側もこのようなシステムの必要性を評価していることが示唆された。

取り違い防止システムの二つ目の目的としては、胚培養士にとって働きやすい環境を作ることが挙げられる。胚培養士は配偶子・胚を取り扱う上で、細やかな作業が要求され集中力あるいは緊張感が常に欠かせない環境下で勤務している。さらに当然取り違い防止にも細心の注意が必要であることから客観的に監視ができる



図1 採卵時の精液容器受け取りから媒精までの認証の様子

システムの導入は、胚培養士の心理的な負担を軽減させることができ、より安心して働ける環境を提供できるのではないと思われる。我々は、これらの目的が達成できるよう FileMaker と iPhone を組み合わせた運用の設計を行った。

今回、iPhone を採用した最大の理由は、光を照射することなくカメラ経由で瞬時にバーコードの読み取りが可能な点である。通常のバーコードリーダーの場合光をバーコードに照射し読み取る事が多く卵や胚への影響が少な

いと言われている LED 光であっても全く影響がないとは言いきれない。実際、光線の色の違いや照度の強さが培養成績に影響するという報告がなされている⁵⁾。

PGT-A の普及などにより個人間の取り違えのみならず胚と胚との取り違えも防止しなくてはならない時代になり、今後も患者により安心感を与え、そして培養士にとっても安心して使用できるシステムの開発・普及がますます必要になってくると考えられる。

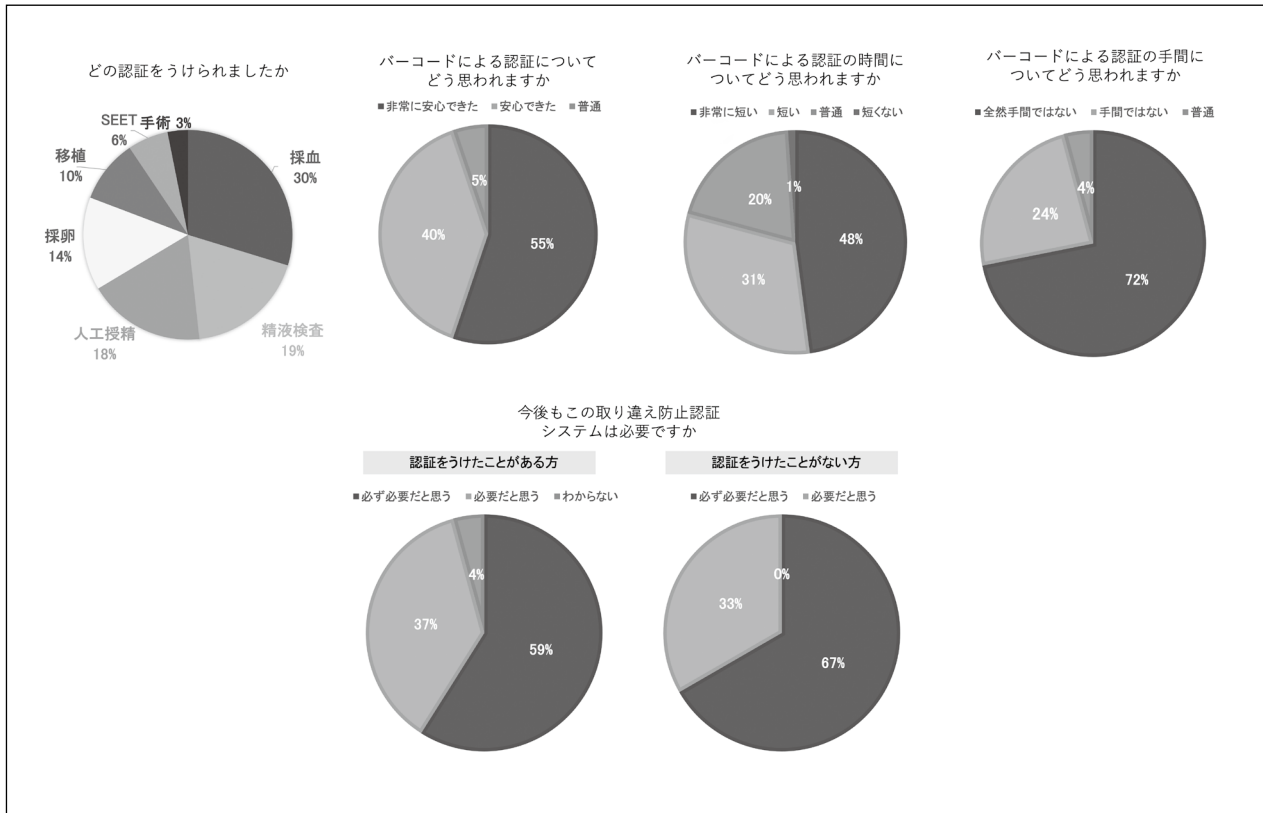


図 2 取り違え防止システムに対する患者アンケートの結果

参考文献

- 1) Liebler R: Are you my parent? Are you my child? The role of genetics and race in defining relationships after reproductive technological mistakes. Depaul J Health Care Law, 5: 15-56, 2002.
- 2) Spriggs M: IVF mix up: white couple have black babies. J Med Ethics, 29: 65, 2003.
- 3) 生殖補助医療実施医療機関の登録と報告に関する見解. 日産婦誌 75 巻 1 号, 公益社団法人日本産科婦人科学会, 2023 年 1 月.
- 4) ESHRE Guideline Group on Good Practice in IVF Labs, De los Santos MJ, Apter S, Coticchio G, Debrock S, Lundin K, Plancha CE, Prados F, Rienzi L, Verheyen G, Woodward B, and Vermeulen N: Revised guidelines for good practice in IVF laboratories (2015). Hum Reprod, 31 (4): 685-6, 2016.
- 5) Oh SJ, GongSP, Lee ST, Lee, EJ, Lim JM: Light intensity and wavelength during embryo manipulation are important factors for maintaining viability of preimplantation embryos in vitro. Fertil Steril, 88 (4): 1150-7, 2007.

第 25 回 IFFS 2023 (International Federation of Fertility Societies) 参加報告

塩谷 雅英

英ウィメンズクリニック理事長, 日本IVF学会理事長, 第70回日本生殖医学会学術講演会会長

IFFS 2023は、悠久の歴史を誇る街、そしてギリシャ神話に登場する妊孕の女神であるアフロディーテ(写真1)が見守る街、アテネで開催された。会場となったメガロン・アテネ国際会議場は近代的なデザインと機能を備え、大会のテーマである"Exploring New Horizons in Fertility Care"に相応しく、会場ではまさに熱い議論が4日間に亘り交わされた。この会議場はアテネ市街を一望するリカベトス山の麓にあり、パルテノン神殿のあるアクロポリスからも程近いところである。

初日となった9月10日にはプレコンgressが開催された。テーマとして取り上げられたのはARTプログラムの品質マネジメント、EndometriosisのEBM, RIF, Andrology, Reproductive geneticsであり、現在私達に突きつけられている課題が凝縮された内容であった。大会期間を通じて、Key noteセッション6コマ、Trilogyセッション9コマ、スペシャルシンポジウム5コマ、パネルセッション8コマ、Regionalセッション16コマ、Great debateセッション5コマ、さらには、口演発表、ポスター発表合わせて300演題と、極めて盛り沢山の内容であった。Regionalセッションを設けたのは、日本生殖医学会、ESHRE、ASRM、FIGO、IFFS、フランス、インド、ロシア、アフリカ、オーストラリア・ニュージーランド、中国、エジプト、トルコ、



写真1

ギリシャ神話の愛と美と性、そして生殖を司るギリシャ神話の女神。オリンポスの神々に美しさを称賛され、最高神ゼウスの養女となったとされる

イタリア、セルビア、中東、等である。ほぼ全世界を網羅していると言っても過言では無い。大会3日目に開催された日本生殖医学会主催のJSRM Regionalセッションでは、慈恵医科大学の岸裕司先生が座長を担当された。演者としては、大阪大学の滝内剛先生が「卵巣刺激法としてのPPOS法の成績について」、東北大学の立花眞仁先生が「生殖補助医療における卵細胞質置換の有用性について」、そして、慶應大学の佐藤卓先生が「PGTにおける全ゲノム増幅の手法の比較検討」をテーマとして講演された。いずれも海外からの参加者の注目を集め、多くの質疑応答がなされたのは印象的であった。

「Improving endometrial receptivity. Is it a reality today?」と題されたパネルセッションでは、ギリシャ大学のKolibianakis 教授がモデレーターとして、そして、パネラーの一人として、バレンシア大学のSimon教授が登壇し、ERA検査のEBMについての議論がなされた(写真2)。スクリーンには

ESHRE Good practice for add-ons
in reproductive medicine 2023
Due to the lack of clear benefit,
endometrial receptivity tests are not
recommended

と映し出されおり、スクリーンを見つめるSimon教授が首を傾げている姿が印象的であった。EBMを厳しく追求し、著名な研究者であるSimon教授を目の前にしても忸度しないその姿勢に強い印象を受けた。

さて、IFFSは3年に一度、世界各地で持ち回りで開催されることになっている。前回は2019年にLinda Giudice教授を大会長として、米国で開催された。従って、アテネのIFFSは本来なら2022年に開催されるはずであったが、Covid19パンデミックの影響を受けて1年延期されての開催であった。そして次回の第26回IFFSは日

本生殖医学会理事長大須賀穰教授を大会長として、2025年4月に東京で開催される予定である。我が国での開催は、1989年に坂元正一教授を大会長として開催して以来、実に36年ぶりとなる。テーマは、「Diversity, Sustainability and Resilience」とされ、すでにそのプログラムはIFFS委員長のEdgar Mocanu教授をはじめとするIFFS主要メンバーと日本生殖医学会との複数回にわたる打ち合わせにて固まりつつある。今回のIFFSにはその下見を兼ねて、2025東京IFFS開催に関わる日本生殖医学会の主要メンバーが多く参加した(写真3)。

会場の一角には、2024東京IFFSのブースを設けて参加者にアピールを行い多くの参加者が東京での開催に興味を持ちブースに立ち寄ってくれた(写真4)。写真中央はIFFS委員長Edgar Mocanu教授である。IFFS委員長に相応しく、フレンドリーであり、かつ非常にエネルギッシュな人物という印象を受けた。

2025東京IFFSは、第70回日本生殖医学会学術講演会と併催される予定である(写真5)。現在鋭意準備中であるが、世界のトップランナーと交流し、かつ、そのバイタリティーに触れることのできる貴重な機会となることは間違いなく、日本からも多くの参加者を期待したい。

それではここからは、歴史を肌で感じることのできる贅沢な街、アテネについて少々誌面をお借りする。アテネ観光の第一は、アクロポリスである(写真6)。中でもなんとと言ってもパルテノン神殿はアテネの象徴と言える。紀元前447年からおよそ11年の歳月をかけて建設され、ギリシャの建築・美術の傑作であり、世界遺産となっている。

神殿の中には人類史上最高傑作と言われている、高さ13メートルの「アテナ・パルテノス」像が祀られていたが、西暦500年頃に東ローマ帝国によってコンスタンチノープルに持ち去られ、その後10世紀頃に破壊されている。この像を模したたくさんのコピーが発掘されているが、今となっ



写真2
子宮の胚受容能についてのパネルディスカッション。左から二人目がERA検査の開発者としても有名なCarlos Simon教授



写真3
中央が2025東京IFFS大会長を務める大須賀穰教授。2025年の日本での開催に向けて、日本生殖医学会のコアメンバーがアテネの会場に集結した



写真4
2025東京IFFSブース。写真中央が現在のIFFS委員長Edgar Mocanu教授。ブースに立ち寄り、2025年に向けての励ましをいただいた。教授の左手が筆者



写真5
2025東京IFFSポスター

写真6
パルテノン神殿。紀元前432年に完成した。アテネ観光の目玉であるアクロポリスにある



てはその姿を想像するしかないのは残念で仕方ない(写真7).

北側には6体の女神像が屋根を支えるエレクティオン神殿を見ることができる(写真8). 現在見ることができる女神像は6体すべてがレプリカである. オリジナルの5体はアテネのアクロポリス博物館に展示されており, 残り1本は19世紀に国外に持ち出され, 現在は大英博物館に展示されている.

市内のどこからでも見える標高300メートルのリカベトス山を訪れるのも良い. 麓から山頂までは, ケーブルカーで5分ほどで到着する. 山頂からはまさに息を呑む風景を眺めることができる. アテネ市街のみならず, その向こうにはエーゲ海まで見渡すことができ, ソクラテス, プラトン, アリストテレス, ピタゴラス, ヒポクラテス——, 多くの賢人達がかつてこの街で活躍した昔に思いを馳せながら, ひととき歴史のロマンに浸るのもアテネ観光の醍醐味であろう(写真9).

当たり前ではあるが, 街中の至る所でギリシャ文字を見かけた. 数学や物理で習った馴染みのある文字が並んでいるものの, 読めそうで読めないのが面白い(写真10).

最後に

いつものことながら, 国際会議に出席すると改めて海外の参加者の熱意を肌で感じる. 特に, 今や世界一の治療件数を誇る中国からの発表が増えており, その質も近年飛躍的に向上している. 治療件数において我が国は中国に次ぐART大国であることから, 日本からの情報発信への期待は小さくない. 2025年に日本生殖医学会学術講演会と併催される2025東京IFFSでは, 我が国から多くの講演発表がなされることを願いたい. それこそが, 「おもてなし」の最たるものであると考える.



写真7
「アテナ・パルテノス」像.
人類史上最高傑作と言われているが, 今となってはその姿を想像するしかない.



写真8
6体の女神像が屋根を支えるエレクティオン神殿. ここにも悲しい物語が秘められている



写真9
海拔約300メートルのリカベトス山からは, アテネの市街を一望できる. 遠くにはエーゲ海を望む



写真10
ギリシャ語で書かれたプレート. 読めそうで読めないのが面白い

ASPIRE 2023 参加記

林 奈央

英ウイメンズクリニック

9月7日～10日にアデレードで開催されましたASPIRE2023(The 12th Congress of the Asia Pacific Initiative on Reproduction)へ参加させていただきました。

到着日は時間的余裕があったため、空港からタクシーは利用せず、公共バスの車窓からの街並みを楽しみながら市街地へ。アデレードは基盤目で整備された非常に美しい街並みで、到着後は予習しておいた無料の美術館・博物館めぐり、オーストラリアの生物や先住民の文化に触れることができました。

と、ここまで書くと、さも旅慣れた日本人風に聞こえたかもしれませんが、初一人海外、しかも低次元の英語力で、愛想笑いと「Thank you」「Excuse me」でほぼ乗り切り、内心は楽しむどころかひやひやでした。

アデレード到着後一人も日本人に遭遇しないまま、翌日の学会会場でもなかなか日本からの先生をお見かけせず、やっと午後森本義晴先生の後ろ姿を見つけた時には飛びつきたい衝動にかられるほど嬉しかったです。その後もいつも多く学ばせていただいている先生方にもお会いでき、なかなか日本ではお声をかける勇気がでないですが、ここぞとばかりに図々しくお話させていただきました。

ポスター会場では、優秀ポスターに選出されていたKIDScoreについての演題を拝見していると演者の先生

がお声をかけてくださり、私のつたない英語での質問にも対応、補足説明もしていただき、海外学会ならではのDiscussionを体験させていただきました。翌日のVitrolife社のシンポジウムでもiDAScoreに関する講演は大盛況で、タイムラプスのAI scoringの注目度がよく伝わってきました。

着床前診断のパイオニアであるイギリスのAlan Handyside先生が着床前診断のこれまでと今後の展望について講演されているのを拝聴でき、時々クスッと笑えるジョークに乗り遅れながらも、目覚ましい変化を遂げている生殖医療を実感させられました。

私は今回、子宮内膜のmicroRNA解析によるWOI同定検査についての発表をさせていただきましたが、少し前までESHREやASRMであれだけ多く報告されていたERA/ERPeakなどのWOI同定に関する演題発表が私と企業からの演題のみで、「WOI」という言葉がもはや過去のものになっている印象を受けました。そんな逆風の中、Intilab社が血中のmicroRNAを使った新しいWOI同定検査についてシンポジウムで報告されておりました。

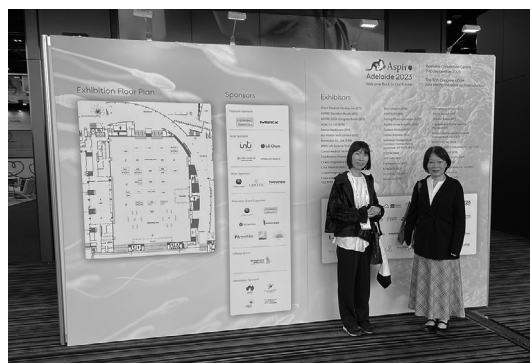
3日目の午後に発表であったため、そこまでは学会を楽しむより緊張がずっと続いておりましたが、発表当日は当院研究部かつ岡山大学准教授でもある大月先生が会場



① 南オーストラリア美術館



② アデレードコンベンションセンター



③ 応援にかけつけてくださった大月先生と

にかけてくださり、本当に心強かったです。カンニングペーパーも万全の準備でしたが、当日発表者席からはスライドコメントもしっかり見える大きなモニターが設置されており、安心して発表に挑むことができました。どの程度私のJapanese Englishで伝えられたかは不明ですが、フロアや司会の先生方から質問もいただき、想定質問では全くなかったですが何とか答えて(?)無事に戦い終えることができました。

行くまでは不安しかなかったのですが、参加させていただくと本当に貴重な経験ばかりで、この英語力を何とか鍛えて今後また国際学会で発表できるよう、日々研鑽を重ねていきたいと強く思いました。このような機会を与えてくださった塩谷先生ありがとうございました。

余談ですが、オーストラリアといえばコアラとカンガルーです。絶対に会いに行く!! と、強い意志で一人タクシーに乗り込み、郊外のCleland Wild Lifeparkへ。広大な敷地で人にほとんど遭遇せず、放し飼い?のカンガルーたちの無数の視線を浴びながら、どちらが見物されているのかわからない感覚に陥り…購入した餌を手にのせるとこちらに来て食べてくれ、私を含めたその様子を観光客のご夫婦が撮影されていたので、「私のも写真とって!」とお願いし、無事来た証を残すことができました。コアラholdは諦め、コアラclose up体験に参加し、王子動物園では遠くから眺めるだけのコアラをなでなですることができ至福のひと時を過ごし、ぬいぐるみまでちゃっかり日本へ持ち帰ることができました。



④ 同じセッションのChairと演者集合



⑤ 初めて間近で見たコアラ

ESHRE 2023 参加記

岡本 恵理

Eri Okamoto

英ウイメンズクリニック
Hanabusa Women's Clinic

このたび、第39回ESHRE Annual Meetingに参加しましたのでその報告をいたします。

2023年のESHREはデンマークのコペンハーゲンで6月25日から6月28日まで開催されました。Covid-19の事情を鑑みオンライン・オンデマンド参加も可能なハイブリッド開催でしたが、私は6月23日から30日まで夏休みを兼ねて長期間行かせていただきました。

Covid-19の影響で日本からコペンハーゲン空港行きの直行便はなくなってしまいましたので、私はフィンエアーを利用してフィンランド経由で入国しました。旅客機はロシア上空を飛ばないため北極経由でヘルシンキ空港まで13時間、乗り継ぎ後に1時間40分と長旅です。入国審査はシェンゲン協定エリア内に最初に入ったところで行いますのでヘルシンキ空港で長蛇の列に並びました。

ESHREは毎年6月末から7月初め頃に開催されますが、ヨーロッパはジュンブライドと言われるようにこの時期が最も気候の良い、結婚式や旅行に適した時期です。しかも昼が長く、コペンハーゲンは日出が4時半、日没が22時と日長が17時間半もあり、めいっぱい観光することができました。

医師になって25年になりますが、お恥ずかしいことに海外開催の国際学会に参加するのは今回が初めてで、いきなり生殖医療分野としては世界最大のESHREに参加したので、とにかく規模の大きさに圧倒されました。

今回の参加者は88.5%が現地参加、残りがオンライン参加で、企業などの参加者2,291名を合わせると11,533人、129か国からの参加ということでした。

メインプログラムだけで468ユーロ(約7万円)の参加費なので、何億というお金の動くすごい大会なのだと思います(下世話な話ですいません)。

60%がヨーロッパ内からの参加者で、参加国のトップ10を表に示します(表1)。

私は口演に演題応募しましたが、残念ながらポスターで採択されました。今回は2109の抄録提出があり、採択されたのは口演が230、ポスターが800ということで、採択率は48.8%であったようです。ここ5年では最も多い応募であったようです。

6月25日はプレコンgresコースということで、19のテーマから一つを選んで参加します。メインプログラムとは別に参加費が必要なのと定員があるため、参加者は2027

表1

Top 10 Europe		Top 10 Rest of the World	
Spain	581	India	549
United Kingdom	550	U.S.A.	299
Italy	453	Australia	191
France	417	Thailand	187
Ukraine	395	Brazil	183
Germany	387	China	160
Denmark	385	Israel	129
The Netherlands	227	Mexico	128
Belgium	194	Canada	106
Poland	188	Japan	102
Switzerland	188		

人でした。

私はART成功率を改善するための方法についてのディベートセッションに参加しました。ディベートのテーマは8つ、①子宮内フローラ検査 ②タイムラプス培養 ③黄体補充 ④全胚凍結 ⑤内膜スクラッチ ⑥PGT ⑦採卵時の卵胞フラッシュ ⑧Duo stimを行うべきかどうか。もちろん賛成派も反対派も立派なエビデンスを用意してきていますので優劣はつかず結論も出ないのですが、多様な考え方に触れることができました。朝9時から夕方5時まで濃い時間を過ごした後は、いったんホテルに帰って着替えたのちにオープニングセレモニーへ。

オープニングセレモニーではコペンハーゲン大学の生殖医療部門の教授と顧問、ESHREの理事長から挨拶があり、ピアノやバイオリン演奏とともにバレエやダンスや合唱などが披露されました(写真1,2)。

その後エキシビションホールへ移動してドリンクとフィ

ンガーフードが振舞われます(写真3,4)。デンマークのカールスバーグ社のビールもいただきました。帰りは22時になりましたがまだ外は夕暮れ時でした(写真5)。

6月26日からメインプログラムの開始です。

演題としてはプロテオミクスの手法やAIを用いた胚の評価の方法に関するものが多い印象でした。もちろんPGTの演題も多かったです。また、日本と同じく海外でも自然排卵周期の融解胚移植が良いという流れになっていました。出生児の疫学に関する内容も多かったです。

会場には今流行りの大きな文字の看板があり(写真6)、会場への道路の案内に精子の絵が使われているのが面白かったです(写真7)。

ポスターエリアでe-posterを見ることができるようになっており、自分のポスターと一緒に記念写真を撮りました(写真8,9)。



写真1



写真2

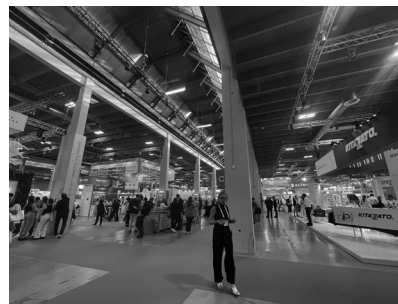


写真3



写真4

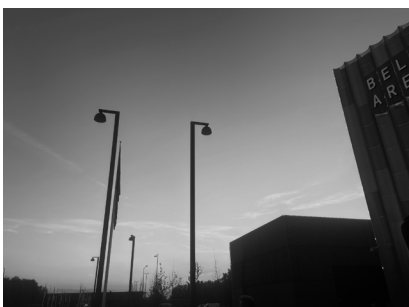


写真5



写真6



写真7



写真8



写真9

この日の夜は企業主催のボートツアーに招待していただきました。約1時間の船旅は、カラフルな建物がぎっしりと建ち並ぶニューハウスが船の発着地です。アンデルセンが愛したという港は、コペンハーゲンと言えば一番の観光名所と言っても良いスポットで、絵はがきでも良く描かれる風景です(写真10)。最初は曇っていましたが、ツアーが終わるころには晴れてきて素敵な写真が撮れました。ボートの中でもカールスバーグのビールを飲みました(写真11)。

6月27日の夜はネットワーキングイベントが王立プレイハウス(写真12)で開催されました。ここでは口演とポスター発表の基礎・臨床部門それぞれの優秀演題が表彰されました(写真13)。

口演の基礎部門の優秀演題に選ばれたのは、1000人の女性の便中のマイクロバイオームを解析して子宮内膜症のあるなしで違いがあるかを調べたが違いがなかったという報告です。ネガティブデータであってもサンプル数の多い大規模な解析であれば評価されるということなのでしょう。

続いて臨床部門では、卵管妊娠に対しメソトレキセート注射に加えてEGFRアンタゴニストであるゲフィチニブを用いると効果的かどうかの臨床試験の報告で、Phase2までは効果があったのにPhase3では残念ながら否定されたという発表が選ばれました。

ポスター発表の基礎部門に選ばれたのは、NT4

(Neurotrophic factor 4) を培養液に添加することで体外培養における2次卵胞の成長を促進することができるという報告です。

臨床部門ではホジキンリンパ腫における化学療法の強度によってその後のAMH値や無月経の期間に差があるかを調べた報告が選ばれました。

ここからはデンマーク観光の話を少し。

まずはデンマークの地図をご覧ください(写真14, <https://www.club-t.com/sp/special/abroad/north-europe/dnk/>)。

デンマークは多くの島からできており、国土面積は九州とほぼ同じで、人口は兵庫県とほぼ同じです。国民の幸福度が最も高い国として有名ですね。消費税は25%と高い代わりに教育費や医療費は無料です。

6月28日はクロージングレセプションには出ずに昼で切り上げて、国鉄で1時間半ほど離れたオーデンセに向かいました。

ここはアンデルセン童話で有名なアンデルセンの生まれ育った街で、アンデルセンはオーデンセの名誉市民なのだとか。グレートベルト海峡にかかる吊り橋を渡ってシェラン島からフュン島まで。間に小さな島があるのでそれぞれの吊り橋の長さは明石海峡大橋よりは短いみたいです。オーデンセといえばアンデルセンしか有名なものがないのですが、家に描かれた壁画やアンデルセン童話をモチー



写真10



写真11



写真12



写真13

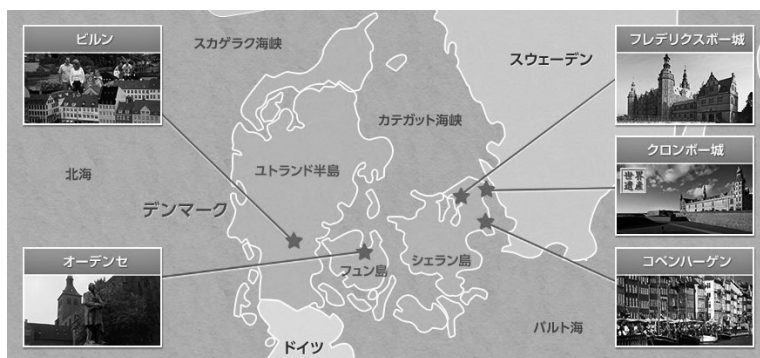


写真14

フにした像など色々あって、歩いていてもおしゃれな街です。

アンデルセンが育った家は観光名所になっています(写真15)。とても貧しく、父親が革職人の仕事をする部屋に家族3人で寝ていたとか。アンデルセンはそこで空想をふくらませながら育ったようです。

アンデルセン博物館に行きましたが、2021年にリニューアルしたところらしく、ヘッドセットをつけてそれぞれのポイントで音声を聞くのですが、言語は英語かデンマーク語しかありません。聴覚障害の方と英語かデンマーク語がわからない方が行っても楽しめない施設ですが、どっぷりアンデルセン童話の世界に浸れる展示で、私はみにくいアヒルの子とかおやゆび姫とか日本で絵本になっているものしか知らなかったのですが、子供が持っている童話集を読んでみようかなと思いました(写真16)。

コペンハーゲン中心部の観光もしましたが、私は郊外が好きですので、世界遺産のクロンボー城の紹介をします。コペンハーゲン中央駅から国鉄で1時間ちょっとで最寄り駅まで行けますが、デンマークの駅にはコインロッカーや手荷物を預けるところがないのでスーツケースを転がしていかなければならず、タイヤが石畳の上で壊れるかと思いました。

駅を降りたらすぐに見えるクロンボー城は海に突き出た要塞です(写真17)。ハムレットの舞台になったお城だそうです。中庭には立派な噴水があったそうですが、スウェーデンに占領されている間に持って行かれてしまったとか。スウェーデン領土は向こう岸に見えていて、ここから船で30

分ほどで行くことができます(写真18)。

余談ですが、昔は寒かったので部屋を暖めるのが大変で、中世の王侯夫婦はわざわざ別々の部屋で寝てそれぞれの部屋を暖められるのが富の象徴だったとか。だから夫婦仲の悪いカップルが多かったらしいです。

同じく電車で1時間ほどで行けるところにあるフレデリクスボー城も良かったです。現在はカールスバーグが所蔵する博物館になっていますが、お城の前の湖とバロック式庭園が大変きれいでした(写真19)。

他には電車で30分ほどのロスキレという町にも行きました。ここには世界遺産のロスキレ大聖堂があります(写真20)。ロスキレは15世紀までデンマーク王国の首都だったようで、ロスキレ大聖堂はデンマーク王室の埋葬教会で、代々の君主の豪華な装飾の棺が飾られているそうですが、あいにく夕方に行ったので内部の見学はできませんでした。少し歩くとフィヨルドの海岸に出て、昔のヴァイキングの船を再現したものがたくさん停泊していました。

コペンハーゲン中心部だけでも観光名所はたくさんありますが、もし時間が許すようでしたら、郊外も見どころはたくさんありますので是非訪ねてみてください。

以上で今回のESHRE 2023の報告を終わりにいたします。この度国際学会参加の貴重な機会を与えてくださった塩谷理事長はじめ休みの間の診療をカバーしてくださった同僚の医師の方々にも心より感謝申し上げます。



写真15



写真16



写真17



写真18



写真19



写真20

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

合同開催

第21回世界体外受精会議 (ISIVF2023)

メインテーマ

Approach to sustainable ART

会期

2023年11月2日(木)～11月4日(土)

会場

大阪国際会議場

学術集会抄録集

理事長挨拶 (一般社団法人 日本IVF学会 理事長 / 塩谷 雅英)	122
学術集会長挨拶 (第26回 日本IVF学会 学術集会 会長 / 中岡 義晴)	123
Program	124
会場アクセス	128
フロアマップ	130
展示会場図	131
お知らせ	132

Current topics 1

座長：兵庫医科大学病院 / 澤井 英明

卵子の染色体数異常の細胞生物学的な原因	137
理化学研究所 / 北島 智也	

Current topics 2

座長：竹内レディースクリニック / 竹内 一浩

重篤な遺伝性疾患を対象とした着床前遺伝学的検査と生命倫理 — 過去・現在・未来 —	138
東海大学 / 三上 幹男	

Current topics 3

座長：浅田レディースクリニック / 浅田 義正

PGT-A のデータから考える胚移植個数	139
徳島大学 / 岩佐 武	

特別講演 1

座長：豊橋市民病院 / 安藤 寿夫

生殖と周産期医療のリエゾン	140
三重大学 / 池田 智明	

特別講演 2

座長：古賀文敏ウイメンズクリニック / 古賀 文敏

甲状腺疾患が生殖医療の成績に及ぼす影響	141
岡本甲状腺クリニック / 岡本 泰之	

特別講演 3

座長：IVF なんばクリニック / 中岡 義晴

不妊治療，卵子提供，のち医療的ケア児の母	142
衆議院議員 / 野田 聖子	

シンポジウム 1：患者様の治療を中断させないサポート

座長：アイブイエフ詠田クリニック / 詠田 由美
田園都市レディースクリニック / 河村 寿宏

私が考える「患者様の治療を中断させないサポート」	143
英ウイメンズクリニック / 塩谷 雅英	
患者様の治療を中断させないサポート	144
木場公園クリニック / 吉田 淳	
納得して不妊治療を受ける共有意思決定プロセスへの看護支援	145
越田クリニック / 藤島 由美子	

シンポジウム 2：着床障害の原因と治療

座長：滋賀医科大学 / 村上 節
札幌エンドメトリウムリサーチ / 東口 篤司

Probiotics は定着するのか	146
表参道 ART クリニック・滋賀医科大学大学院 / 門上 大祐	
反復着床不全に対する免疫学的検索の意義とその対策	147
兵庫医科大学病院 / 福井 淳史	
子宮内膜ポリープや粘膜下筋腫の対応	148
関西医科大学 / 岡田 英孝	

日本臨床エンブリオロジスト学会：モザイク胚を考える

座長：楠原ウイメンズクリニック / 沖津 摂
杉山産婦人科 / 渡邊 英明

非侵襲的な胚評価方法からのモザイク胚アプローチ	149
浅田レディースクリニック / 木田 雄大	
現行の侵襲 PGT 診断で生じるモザイク胚アプローチ	150
神戸元町夢クリニック / 杉本 岳	
モザイク胚と出生前診断	151
東京慈恵会医科大学 / 佐村 修	

保険制度の中で先進医療としてのタイムラプスをいかに活用するか

座長：IVF なんばクリニック / 中岡 義晴

先進医療としてのタイムラプスの有効活用と今後の展望	152
広島 HART クリニック / 向田 哲規	
タイムラプス (EmbryoScope+) 導入後のラボ業務の変化	153
いしかわクリニック / 小野崎 美絵	

一般演題 (口頭発表)

座長：大分大学 / 楢原 久司
醍醐渡辺クリニック / 渡辺 浩彦
TBD

ヘテロ接合型欠損個体における加齢による退行性変化 — 組織学的・生理学的解析 —	154
岡山大学 / 若松 美沙紀	
マウス卵母細胞質内 cAMP 濃度上昇による卵の異常分裂およびクロマチン凝集塊形成	154
岡山大学 / 赤尾 咲来	
プロゲステロンとエストラジオールによる精子超活性化運動と体外受精の調節	155
獨協医科大学 / 藤ノ木 政勝	
当院における新鮮胚移植と凍結胚移植の比較検討	155
醍醐渡辺クリニック / 人見 裕子	
反復 ART 不成功例に対する凍結融解胚移植周期多血小板血漿子宮内膜投与法有用性の検討	156
IVF 大阪クリニック / 山田 悠太	
ART 妊娠後の流産と子宮内フローラの関連性について	156
つばきウイメンズクリニック / 坂井 和貴	
低乳酸培養液を用いた胚培養成績の比較検討	157
英ウイメンズクリニック / 籠橋 茜	
Conventional IVF 由来 1PN の直径は移植後経過に影響しない	157
IVF なんばクリニック / 西野 奈緒美	
精子選別における AI の有用性 — AI による良好精子選別支援の効果検討 —	158
木場公園クリニック / 石橋 和悟	

座長：山下レディースクリニック / 山下 正紀
フェニックスアートクリニック / 藤原 敏博

採卵時の局所麻酔使用における痛みの軽減を目指して	158
英ウイメンズクリニック / 藤井 美喜	
日本 IVF 学会による黄体補充のアンケート調査	159
札幌エンドメトリウムリサーチ / 東口 篤司	
クロミフェン周期後分割胚移植の内厚別妊娠率の検討 — 新鮮胚移植と凍結胚移植の特徴 —	159
みなとみらい夢クリニック / 米山 剛一	
SMAS を用いた男性不妊患者への L-カルニチン, CoQ10 含有サプリメント投与の有効性の検討	160
HORAC グランフロント大阪クリニック / 朝香 未来	
男性不妊治療患者の喫煙に対する意識調査および精液所見との比較	160
英ウイメンズクリニック / 下村 紫	
無精子症患者における MESA の有効性について	161
英ウイメンズクリニック / 唐津 円	

座長：いしかわクリニック / 石川 元春
足立病院 / 中山 貴弘
TBD

精液中に観察された結晶は受精率や胚発生に影響を及ぼすのか — 2例の症例報告 —	161
浅田レディースクリニック / 徳田 愛未	
凍結融解胚盤胞移植における回復培養後の胚の拡張性と臨床成績との関係	162
京野アートクリニック仙台 / 門間 里奈	
分割期に認められる多核を有する割球の数が胚盤胞到達率に及ぼす影響	162
京野アートクリニック仙台 / 白田 薫	
がん患者の妊孕性温存療法における体外成熟培養 (Onco-IVM) の有用性	163
IVF 大阪クリニック / 境 眞実	
胚発生スピード別の Gardner 分類及び iDAScore の euploid 率	163
ART クリニックみらい / 清水 雅司	
抗酸化物質添加培地の使用が胚の iDAScore に及ぼす影響	164
蔵本ウイメンズクリニック / 影山 美桜	
胚盤胞径および形態による移植胚選択基準の再考	164
つばきウイメンズクリニック / 河知 美佳	
胚盤胞の形態学的評価と直径による凍結胚選択基準の検討	165
蔵本ウイメンズクリニック / 星井 彩花	
凍結胚盤胞の移植時における回復率が妊娠率, 出産率, 出生児へ与える影響の比較検討	165
新橋夢クリニック / 市田 怜奈	

一般演題〔ポスター発表〕

P-1 原疾患治療に伴う妊孕性温存目的の精子凍結の検討	166
セント・ルカ産婦人科 / 甲斐 由布子	
P-2 医学適応で凍結した卵子を用いた ART 治療から出産に関する検討	166
県立広島病院 / 畑 景子	
P-3 直径140 μ m未満のDay5胚盤胞を凍結すべきか?	167
岡山二人クリニック / 川原 結貴	
P-4 Life Whisperer Viability と妊娠予測確率との妊娠予測精度の比較	167
岡山二人クリニック / 花谷 美香	
P-5 血中亜鉛値が体外受精および胚培養成績に与える影響についての検討	168
国際医療福祉大学病院 / 柿沼 敏行	
P-6 液体窒素タンク重量モニター (スマートマット [®]) の使用経験	168
いしかわクリニック / 永廣 メイ	
P-7 胚盤胞画像からの妊娠予測 — iDAScore と LifeWhisperer の比較 —	169
浅田レディースクリニック / 木田 雄大	
P-8 産休育休により長期間臨床現場を離れることは胚培養士の技術維持に影響するか	169
倭 IVF クリニック / 星田 汐美	
P-9 POI 症例における GM-CSF 含有培養液の有効性についての解析	170
ローズレディースクリニック / 福島 由樹	

P- 10	女性のライフステージをみすえた不妊治療中の子宮筋腫核出術適応の検討	170
	HORAC グランフロント大阪クリニック / 北山 利江	
P- 11	初回タイムラプス胚培養で疑った男女生殖器感染症の治療に難渋した一例	171
	豊橋市民病院 / 鈴木 邦昭	
P- 12	Piezo-ICSI 後の卵子活性化により良好胚盤胞を得た分割期停止の2例	171
	東北大学病院 / 菅原 淳史	
P- 13	カルボキシル化ポリリジン含有精子凍結保存液はヒト精子 DNA 断片化を抑制する	172
	三重大学大学院 / 武内 大輝	
P- 14	染色体異常を呈する早発卵巣不全患者における Turner 症候群との関連	172
	聖マリアンナ医科大学 / 鈴木 由妃	
P- 15	未受精卵子において凍結融解処置のミトコンドリア動態に対する影響を検討する	173
	聖マリアンナ医科大学 / 鈴木 由妃	
P- 16	胚移植直前の胚盤胞拡張度は妊娠成績に影響を与えるか?	173
	HORAC グランフロント大阪クリニック / 関藤 孝昭	
P- 17	がん患者に対する同一周期2回採卵の効率的な方法についての検討	174
	三重大学 / 前沢 忠志	
P- 18	妊孕性低下が予見される Turner 症候群患児に対して卵子凍結保存を行った二症例	174
	聖マリアンナ医科大学 / 岩端 秀之	
P- 19	iDAScore v2.0 における胚評価とその妊娠予測精度	175
	つくば木場公園クリニック / 谷合 萌	
P- 20	卵巣組織凍結・融解移植における卵巣移植に必要な至適培養時間の検討	175
	聖マリアンナ医科大学 / 杉下 陽堂	
P- 21	-196℃で動作可能な RFID タグを用いた新規卵巣組織凍結検体管理システムの開発	176
	聖マリアンナ医科大学 / 杉下 陽堂	

学術集会 共催・協賛企業・後援一覧	177
日本IVF学会雑誌発行における投稿論文募集のお知らせ	178
日本IVF学会雑誌 投稿規定	179
一般社団法人 日本IVF学会 定款	181
一般社団法人 日本IVF学会 役員	187
編集委員会	188

ごあいさつ

第26回日本IVF学会学術集会は、中岡義晴大会長のもと、大阪にて開催されます。今大会は、日本IVF学会の前理事長である森本義晴先生が大会長を務められる第21回世界体外受精会議(ISIVF2023)との合同開催となっております。そのため、例年よりセッション数は少なくなっているとのことですが、「Approach to sustainable ART」のテーマのもとに様々な分野の専門家を演者として招聘され、一つ一つの内容が濃い、非常に魅力的なプログラムを企画いただいております。

また、お二人の大会長のご尽力により、第26回日本IVF学会学術集会に参加登録いただいた方は、第21回世界体外受精会議(ISIVF2023)にも参加できるとのことです。この大変貴重な機会に、両大会の日本・世界の著名な先生方の講演をぜひご聴講ください。

テーマにあります“sustainable”は、昨今よく聞かれる言葉ですが、人がいなければ国・社会は持続できませんし、国・社会の未来を創るのは生まれてくる子どもたちです。ご両親から子どもへと命を紡ぐお手伝いをしているARTは、少子化の進む日本において今後さらに重要な役割を担うことになると思われまます。ARTを取り巻く環境は目まぐるしく変化しておりますが、今大会において最新の知見を得て、日々の診療および研究の発展にお役立ていただければ幸いです。

先日2023年9月28日(日本時間)に、当会顧問である柳町隆造先生がご逝去されました。この場をお借りして深い哀悼の意を表させていただきます。

皆様ご存じの通り、柳町先生は、哺乳動物における体外受精の方法を確立し、顕微授精の開発と技術革新を行い、生殖補助医療技術の展開に基礎研究と技術開発の両面で大きく貢献され、現在のARTの礎を築いた一人です。柳町先生がおられなければ、今のART技術はなかったと言っても過言ではありません。当学会においても、各大会の口頭演題発表のうち、基礎系の研究内容で最も優れた発表を、柳町先生の名を冠する「柳町隆造賞」として表彰して参りました。今後もこの賞の名に相応しい発表が続くよう、ARTを担う皆様の研鑽を高めていただける学会活動を続けていきたく存じます。また、柳町先生の研究に対する情熱や開発された技術を未来へ紡ぎ、発展させ、よりよい未来を創る一助になればと考えております。

それでは、大阪にて皆様とお会いできるのを楽しみにしております。多くの皆様のご参加をお待ちしております。

令和5年秋

一般社団法人 日本IVF学会
理事長 塩谷 雅英
(英ウィメンズクリニック理事長)

ごあいさつ

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。

令和 5 年秋

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)

RoomA

日	時間	区分/テーマ	演題	演者	座長	
11月2日(木)	14:00 ~15:30	ISIVF	Lessons from Legends	1. 柳町隆造名誉教授 追悼講演	阿久津 英憲 (国立成育医療研究センター・再生医療センター)	吉村 泰典 (慶應義塾大学大学院) 長田 尚夫 (Natural ART Clinic 日本橋)
				2. Truth telling in reproductive medicine	Robert Norman (University of Adelaide (Australia))	
				3. IVF & Prof. ROBERT G. EDWARDS	Victor Gomet (University of British Columbia (Canada))	
	16:00 ~17:30	ISIVF	Mitochondria / ER	1. Mitochondria Strategy in Reproduction -Cell engineering and holistic approach	森本 義晴 (President, ISIVF (Japan))	細井 美彦 (近畿大学) 三谷 匡 (近畿大学)
				2. Endoplasmic reticulum stress: a key regulator of the follicular microenvironment in the ovary	原田 美由紀 (東京大学)	
				3. Improving mitochondria in the ovarian stroma, granulosa cells and gametes to restore embryo development and fertility	Rebecca L. Robker (University of Adelaide (Australia))	
11月3日(金)	8:00 ~8:50	ISIVF	モーニングセミナー: Sparm	Oxidation-reduction potential (ORP) is a sensitive indicator for reproductive outcomes in ART	Ralf Henkel (Imperial College London (UK))	Evaldas Brazaitis (Caerus Biotechnologies (Switzerland))
	9:00 ~10:30	ISIVF	Endometriosis	1. New horizons in the treatment of endometriosis	大須賀 穰 (東京大学)	久慈 直昭 (東京医科大学) Moon Hwasook (Good Moonhwa Hospital (Korea))
				2. Reproductive health issues in endometriosis	岩瀬 明 (群馬大学大学院)	
				3. Endometriosis and ART	Young Min Choi (Grace Hospital (Korea))	
	11:00 ~12:00	ISIVF	Hysteroscopy / Chronic Endometritis	1. Unveiling the Paradox of Silent Endometritis: A Novel Diagnostic Approach Merging Hysteroscopy and 3D-PD	小宮 慎之介 (HORAC グランフロント大阪クリニック, 関西医科大学)	石塚 文平 (聖マリアンナ医科大学, ローズレディースクリニック) 吉田 仁秋 (仙台 ART クリニック)
				2. Impact of chronic endometritis on reproduction	木村 文則 (奈良県立医科大学)	
	12:20 ~13:20	ISIVF	ランチョンセミナー1: PGT	PGT	Tony Gordon (CooperSurgical, Inc.)	苛原 稔 (徳島大学大学院) Shin Yong Moon (M Fertility Center)
	13:50 ~15:20	ISIVF	Ovarian stimulation	1. Can NAD supplementation improve Oocyte Quality?	William Ledger (University of New South Wales (Australia))	久保 春海 (東邦大学) 吉田 淳 (木場公園クリニック)
				2. Adjuvant treatments for poor responders: does something really work?	Omar Sefrioui (African Fertility Center by Women's Clinic (Morocco))	
				3. Advantages of Progestin Primed Ovarian Stimulataon (PPOS) --New Controlled Ovarian Stimulation Method--	塩谷 雅英 (英ウィメンズクリニック)	
	15:50 ~17:20	ISIVF	RIF	1. Preliminary study of intraovarian injection of autologous platelet-rich plasma (PRP) in women with clomiphene citrate resistant polycystic ovary syndrome with a history of recurrent IVF failure	Timur Gürگان (Bahçeşehir University (Turkey))	岡田 英孝 (関西医科大学) 蔵本 武志 (蔵本ウイメンズクリニック)
				2. How recurrent implantation failure (RIF) should be defined and managed?	柴原 浩章 (兵庫医科大学)	
3. AMH and Ovarian Aging: Between Quantity or Quality of Oocytes				Budi Wiweko (University of Indonesia (Indonesia))		
11月4日(土)	8:30 ~10:00	JSAR	★シンポジウム 2: 着床障害の原因と治療	1. Probiotics は定着するのか	門上 大祐 (表参道 ART クリニック, 滋賀医科大学大学院)	村上 節 (滋賀医科大学) 東口 篤司 (札幌エンドメトリウムリサーチ)
				2. 反復着床不全に対する免疫学的検索の意義とその対策	福井 淳史 (兵庫医科大学病院)	
				3. 子宮内膜ポリープや粘膜下筋腫の対応	岡田 英孝 (関西医科大学)	
	10:30 ~11:30	JSAR	★特別講演 3	不妊治療, 卵子提供, のち医療的ケア児の母	野田 聖子 (衆議院議員)	中岡 義晴 (IVF なんばクリニック)
	11:30 ~12:00	JSAR	Current topics 3	PGT-A のデータから考える胚移植個数	岩佐 武 (徳島大学)	浅田 義正 (浅田レディースクリニック)

★: 日本専門医機構産婦人科領域講習受講単位の付与

RoomB

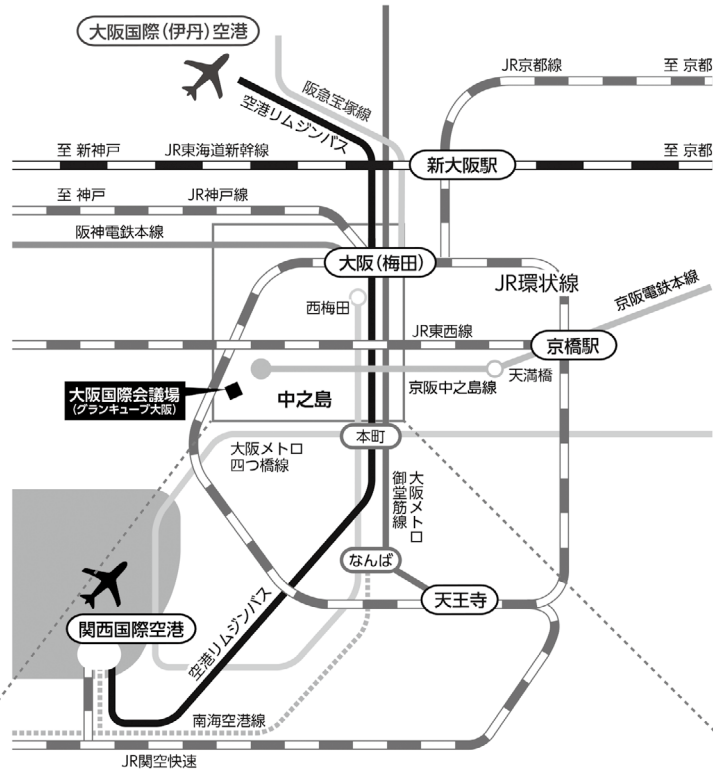
日	時間	区分/テーマ	演題	演者	座長	
11月2日(木)	14:00 ~15:30	ISIVF	Regenerative Medicine	1. Reconstitution of Gametogenesis Using Pluripotent Stem Cells	林 克彦 (大阪大学)	木村 正 (大阪大学大学院) 杉野 法広 (山口大学大学院)
				2. Current Advancements in Regenerative Medicine	Kwang-Yul Cha (CHA Health Systems (Korea))	
				3. Regenerative Medicine in Infertility Treatment: Revolutionizing Reproductive Medicine	Kamthorn Pruksananonda (Chulalongkorn University (Thailand))	
	16:00 ~17:30	ISIVF	Lifestyle and Reproduction	1. Effects of time-restricted feeding on fertility competence in female mice	橋本 周 (大阪公立大学大学院)	堤 治 (山王病院) 石原 理 (女子栄養大学)
				2. Lifestyle and Reproduction	Svend Lindenberg (Copenhagen Fertility Center (Denmark))	
				3. Professional and Environmental exposures to EDCs: Impact in Gametes and IVF Reproductive Outcomes	Moncef Benkhalifa (Picardie University Jules Verne (France))	
11月3日(金)	9:10 ~9:55	JSAR	Current topics 1	卵子の染色体数異常の細胞生物学的な原因	北島 智也 (理化学研究所)	澤井 英明 (兵庫医科大学病院)
	9:55 ~10:40	JSAR	Current topics 2	重篤な遺伝性疾患を対象とした着床前遺伝学的検査と生命倫理 -過去・現在・未来-	三上 幹男 (東海大学)	竹内 一浩 (竹内レディースクリニック)
	11:00 ~12:00	JSAR	保険制度の中で先進医療としてのタイムラプスをいかに活用するか	1. 先進医療としてのタイムラプスの有効活用と今後の展望	向田 哲規 (広島 HART クリニック)	中岡 義晴 (IVF なんばクリニック)
				2. タイムラプス (EmbryoScope+) 導入後のラボ業務の変化	小野崎 美絵 (いしかわクリニック)	
	12:20 ~13:20	JSAR	ランチョンセミナー2	間葉系幹細胞に着眼した新たな人工授精 / 体外受精法開発の試み Attempt to develop a new IUI/IVF method focusing on mesenchymal stem cells	島田 昌之 (広島大学大学院)	高見澤 聡 (杉山産婦人科)
	13:50 ~14:35	JSAR	特別講演 1	生殖と周産期医療のリエゾン	池田 智明 (三重大学)	安藤 寿夫 (豊橋市民病院)
	14:35 ~15:20	JSAR	特別講演 2	甲状腺疾患が生殖医療の成績に及ぼす影響	岡本 泰之 (岡本甲状腺クリニック)	古賀 文敏 (古賀文敏ウイメンズクリニック)
15:50 ~17:20	JSAR	シンポジウム1: 患者様の治療を中断させないサポート	1. 私が考える「患者様の治療を中断させないサポート」	塩谷 雅英 (英ウイメンズクリニック)	詠田 由美 (アイブイエフ詠田クリニック) 河村 寿宏 (田園都市レディースクリニック)	
			2. 患者様の治療を中断させないサポート	吉田 淳 (木場公園クリニック)		
			3. 納得して不妊治療を受ける共有意思決定プロセスへの看護支援	藤島 由美子 (越田クリニック)		
11月4日(土)	8:30 ~10:00	ISIVF	IVM	1. Safety of Routine Clinical Use of IVM from Our Long-term Experience	福田 愛作 (IVF 大阪クリニック)	塩谷 雅英 (英ウイメンズクリニック) 向田 哲規 (広島 HART クリニック)
				2. Development of IVM and applications to infertility and cancer patients	Robert Gilchrist (University of New South Wales Sydney (Australia))	
				3. Improvement in the clinical application of IVM	Johan Edgard Smitz (Free University Brussels (Belgium))	
	10:30 ~12:00	ISIVF	Social / Preconception Care	1. Why we need to teach reproductive health education	Joyce Harper (University College London (UK))	池田 智明 (三重大学) Milton Leong (The Women's Clinic Hong Kong (Hong Kong))
				2. How preconception care is ring bell for the ART?	太田 邦明 (東京労災病院)	
				3. Management of Gynecological Diseases as "Preconception Care"	甲賀 かをり (千葉大学大学院)	
12:45 ~13:45	JSAR	フェアウェルセミナー	ART 妊娠率向上のキーポイント	福田 愛作 (IVF 大阪クリニック)	藤原 浩 (金沢大学病院)	

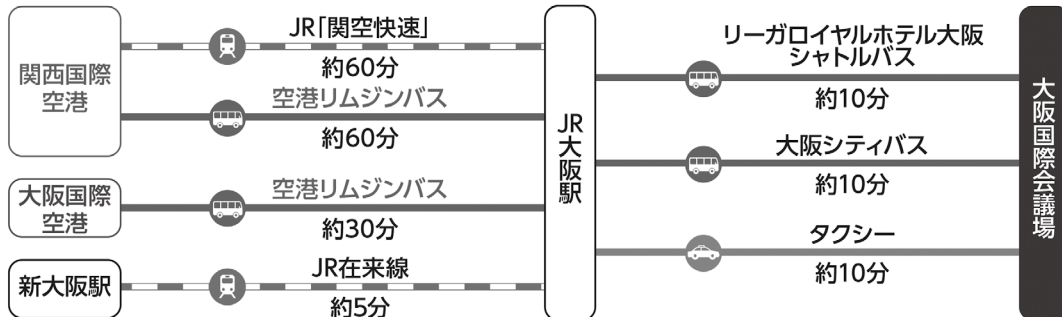
日	時間	区分/テーマ	演題
11月2日(木)	14:00 ~15:30	ISIVF 一般演題	<ol style="list-style-type: none"> 1. Altered DNA Methylation of IRS-1 does not Correlate with Gene Expression and HOMA-IR in PCOS 2. Genetic variants and epigenetic modifications of the FTO gene in lean PCOS 3. Cellular senescence and senolytics in PCOS pathology 4. Epigenetic Clock Age Prediction based on 853.307CpG Sites in White Blood Cells and Cumulus Cells of Women with Infertility 5. Genes and viruses should be considered in assisted reproduction to optimise the success rate of in vitro fertilisation. 6. The Expression of miR-372 and miR-661 in Human Blastocyst Culture Media as a Potential Biomarker for Non-Invasive Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy 7. Metabolomic analysis of follicular fluid in women with endometriosis: a prospective study 8. A safe and effective strategy to improve the development capacity of oocytes; autologous mitochondria supplementation from adipose stem cells 9. The role of cellular senescence in chemotherapy-induced primary ovarian insufficiency (POI)
	16:00 ~17:30	ISIVF 一般演題	<ol style="list-style-type: none"> 1. The association between miR-183 with adhesion and apoptosis gene in endometriosis tissue 2. Influence of X-ray exposure during hysterosalpingography on the quality of oocytes in IVF 3. Outcomes of Biphasic in Vitro Maturation Treatment on Non-obese Women with Polycystic Ovary Syndrome: Does Phenotype Have Any Impact? 4. Morphological assessment alone is a sufficient criterion for selecting transferred blastocysts in a single blastocyst transfer 5. Outpatient treatment of ectopic pregnancies: Chorionic villi targeted (CV-T) therapy with transvaginal local injection of absolute ethanol and its Efficacy in 267 Cases 6. Effect of Laparoscopic Surgical Correction on Chronic Endometritis and Pregnancy Rates post in vitro Fertilization 7. Unraveling the protective interplay between PGK1 and ITI-H4 in recurrent pregnancy loss 8. Niacin improves developmental competence of in vitro grown porcine oocyte 9. Nucleolar variations in IVF embryos: Implication for prenatal development and birth outcomes
11月3日(金)	9:00 ~10:30	JSAR 一般演題 (優秀演題)	<ol style="list-style-type: none"> 1. ヘテロ接合型欠損個体における加齢による退行性変化 - 組織学的・生理学的解析 - 2. マウス卵母細胞質内 cAMP 濃度上昇による卵の異常分裂およびクロマチン凝集塊形成 3. プロゲステロンとエストラジオールによる精子超活性化運動と体外受精の調節 4. 当院における新鮮胚移植と凍結胚移植の比較検討 5. 反復 ART 不成功例に対する凍結融解胚移植周期多血小板血漿子宮内膜投与法有用性の検討 6. ART 妊娠後の流産と子宮内フローラの関連性について 7. 低乳酸培養液を用いた胚培養成績の比較検討 8. Conventional IVF 由来 1PN の直径は移植後経過に影響しない 9. 精子選別における AI の有用性 - AI による良好精子選別支援の効果検討 -
	11:00 ~12:00	JSAR 一般演題	<ol style="list-style-type: none"> 1. 採卵時の局所麻酔使用における痛みの軽減を目指して 2. 日本 IVF 学会による黄体補充のアンケート調査 3. クロミフェン周期後分割胚移植の内膜厚別妊娠率の検討 - 新鮮胚移植と凍結胚移植の特徴 - 4. SMAS を用いた男性不妊患者への L-カルニチン, CoQ10 含有サプリメント投与の有効性の検討 5. 男性不妊治療患者の喫煙に対する意識調査および精液所見との比較 6. 無精子症患者における MESA の有効性について
	12:20 ~13:20	JSAR ランチオン セミナー3	今後の ART は何を指すか? 10年後の ART は?
	13:50 ~15:20	JSAR 一般演題	<ol style="list-style-type: none"> 1. 精液中に観察された結晶は受精率や胚発生に影響を及ぼすのか - 2例の症例報告 - 2. 凍結融解胚盤胞移植における回復培養後の胚の拡張性と臨床成績との関係 3. 分割期に認められる多核を有する割球の数が胚盤胞到達率に及ぼす影響 4. がん患者の妊孕性温存療法における体外成熟培養 (Onco-IVM) の有用性 5. 胚発生スピード別の Gardner 分類及び iDAScore の euploid 率 6. 抗酸化物質添加培地の使用が胚の iDAScore に及ぼす影響 7. 胚盤胞径および形態による移植胚選択基準の再考 8. 胚盤胞の形態学的評価と直径による凍結胚選択基準の検討 9. 凍結胚盤胞の移植時における回復率が妊娠率, 出産率, 出生児へ与える影響の比較検討
	15:50 ~17:20	JSAR 日本臨床エンブリオロジスト学会: モザイク胚を考える	<ol style="list-style-type: none"> 1. 非侵襲的な胚評価方法からのモザイク胚アプローチ 2. 現行の侵襲 PGT 診断で生じるモザイク胚アプローチ 3. モザイク胚と出生前診断
11月4日(土)	8:30 ~10:00	ISIVF Oncofertility	<ol style="list-style-type: none"> 1. Current status and issues related to Oncofertility in Japan 2. Options to restore fertility with prepubertal testicular tissue 3. Oocyte Cryopreservation for Fertility Preservation in Women with Endometriosis

	演者	座長
	Naylah Muna (Universitas Indonesia)	徳永 義光 (空の森クリニック) 杉下 陽堂 (聖マリアンナ医科大学) TBD
	Vita Silvana (Universitas Indonesia)	
	Tsurugi Tanaka (The University of Tokyo)	
	Pritta Ameilia Iffanolida (Universitas Indonesia)	
	Nadia El Borai Yamamura (Tokai University School of Medicine)	
	Kresna Mutia (Universitas Indonesia)	
	Hye Kyeong Kim (Cha University Ilsan Hospital)	
	Udayanga Sanath Kankanam Gamage (HORAC Grand Front Osaka Clinic)	
	Zixin Xu (The University of Tokyo)	
	Muhammad Ikhsan (Universitas Indonesia - Dr. Cipto Mangunkusumo General Hospital)	
	Hiroshi Matsumoto (IVF Osaka Clinic)	
	Vu Ngoc Anh Ho (IVFMD and HOPE Research Center, My Duc Hospital (Viet Nam))	
	Manami Irie (IVF Osaka Clinic)	
	Hisao Osada (Natural ART Clinic Nihombashi)	
	Hisao Osada (Natural ART Clinic Nihombashi)	
	Bum Chae Choi (Creation & Love Women's Hospital)	
	Takayuki Yamochi (Osaka Metropolitan University)	
	Md Wasim Bari (University of Yamanashi)	
	若松 美沙紀 (岡山大学)	植原 久司 (大分大学) 渡辺 浩彦 (醍醐渡辺クリニック) TBD
	赤尾 咲来 (岡山大学)	
	藤ノ木 政勝 (獨協医科大学)	
	人見 裕子 (醍醐渡辺クリニック)	
	山田 悠太 (IVF 大阪クリニック)	
	坂井 和貴 (つばきウイメンズクリニック)	
	籠橋 茜 (英ウイメンズクリニック)	
	西野 奈緒美 (IVF なんばクリニック)	
	石橋 和悟 (木場公園クリニック)	
	藤井 美喜 (英ウイメンズクリニック)	
	東口 篤司 (札幌エンドメトリウムリサーチ)	
	米山 剛一 (みなとみらい夢クリニック)	
	朝香 未来 (HORAC グランフロント大阪クリニック)	
	下村 紫 (英ウイメンズクリニック)	
	唐津 円 (英ウイメンズクリニック)	福田 愛作 (IVF 大阪クリニック)
	徳永 義光 (空の森クリニック)	
	徳田 愛未 (浅田レディースクリニック)	石川 元春 (いしかわクリニック) 中山 貴弘 (足立病院) TBD
	門間 里奈 (京野アートクリニック仙台)	
	臼田 薫 (京野アートクリニック仙台)	
	境 眞実 (IVF 大阪クリニック)	
	清水 雅司 (ART クリニックみらい)	
	影山 美桜 (蔵本ウイメンズクリニック)	
	河知 美佳 (つばきウイメンズクリニック)	
	星井 彩花 (蔵本ウイメンズクリニック)	
	市田 怜奈 (新橋夢クリニック)	
	木田 雄大 (浅田レディースクリニック)	
	杉本 岳 (神戸元町夢クリニック)	
	佐村 修 (東京慈恵会医科大学)	
	鈴木 直 (聖マリアンナ医科大学)	木村 文則 (奈良県立医科大学) Kyung-Ah Lee (CHA University (Korea))
	Christine Wyns (Catholic university of Louvain (Belgium))	
	Jung Ryeol Lee (Seoul National University (Korea))	

会場アクセス

交通アクセス・周辺地図





- ✈ 関西国際空港から
 - JR「関空快速」で「大阪」駅まで約60分
 - 空港リムジンバスで「大阪」駅前まで約60分

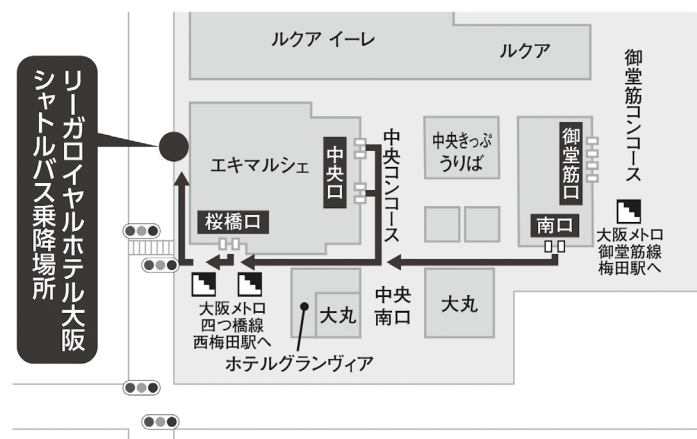
- ✈ 大阪国際空港(伊丹)から
 - 空港リムジンバスで「大阪」駅前まで約30分

- 🚗 新幹線(新大阪駅)から
 - JR在来線で「大阪」駅まで約5分

- 🚉 JR「大阪」駅から
 - リーガロイヤルホテル大阪シャトルバスでリーガロイヤルホテル大阪まで約10分/無料
 - 大阪シティバス53系統(船津橋行)または55系統(鶴町四丁目行)で堂島大橋まで約15分
 - タクシーで約10分/約1,000円

シャトルバスのご案内

JR大阪駅から、リーガロイヤルホテル大阪シャトルバス(無料)をご利用いただけます。

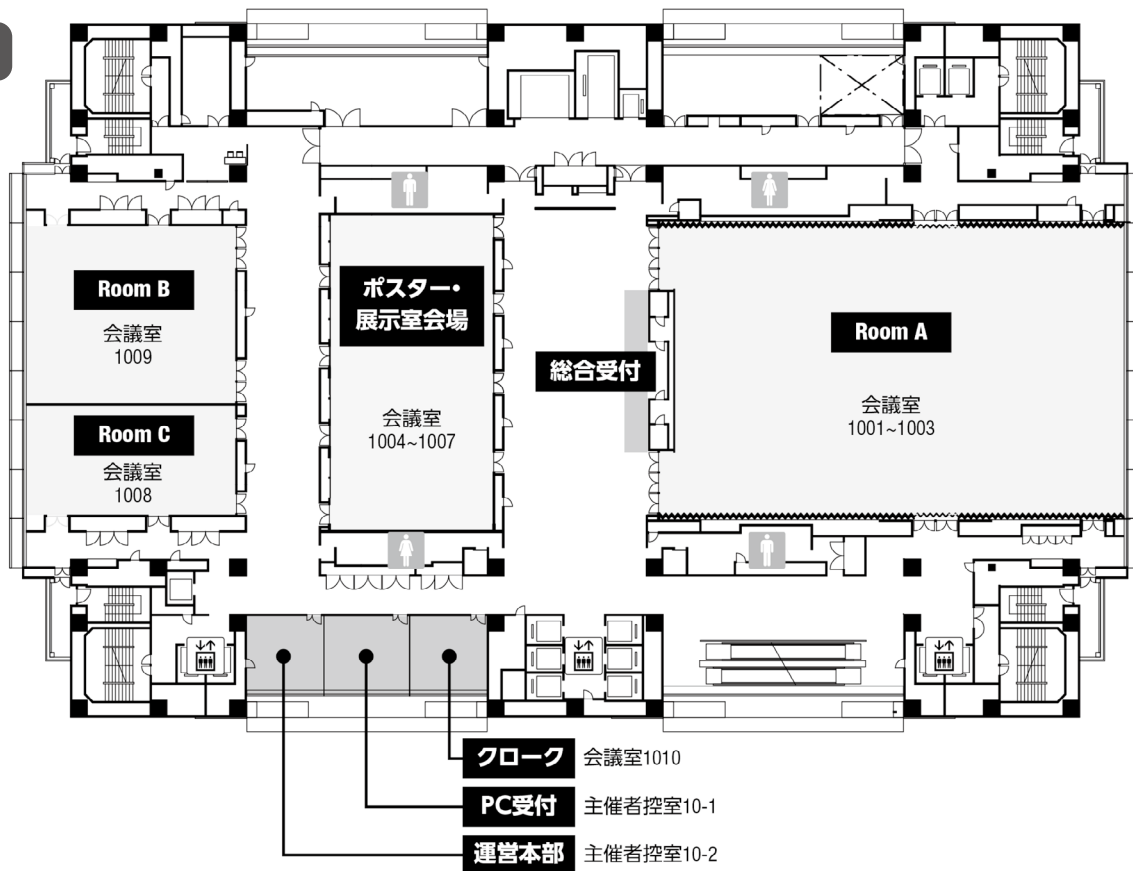


運行時間	
<平日> 7:45~21:30 (毎時15分間隔)	<土日祝> 7:45~10:00 (毎時15分間隔) 10:00~21:00 (毎時 6分間隔) 21:00~21:30 (毎時15分間隔)

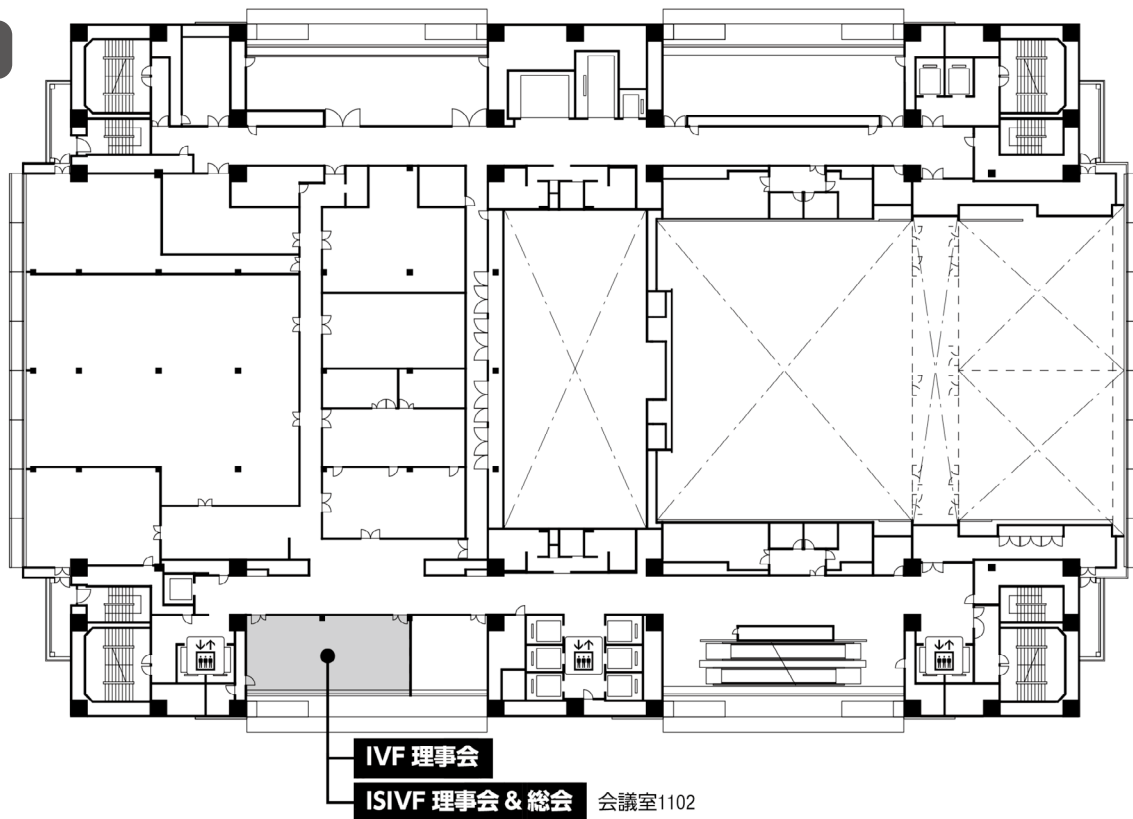
新型コロナウイルス感染症拡大の状況により、運行時間等が変更になる可能性があります。

フロアマップ【大阪国際会議場】

10F

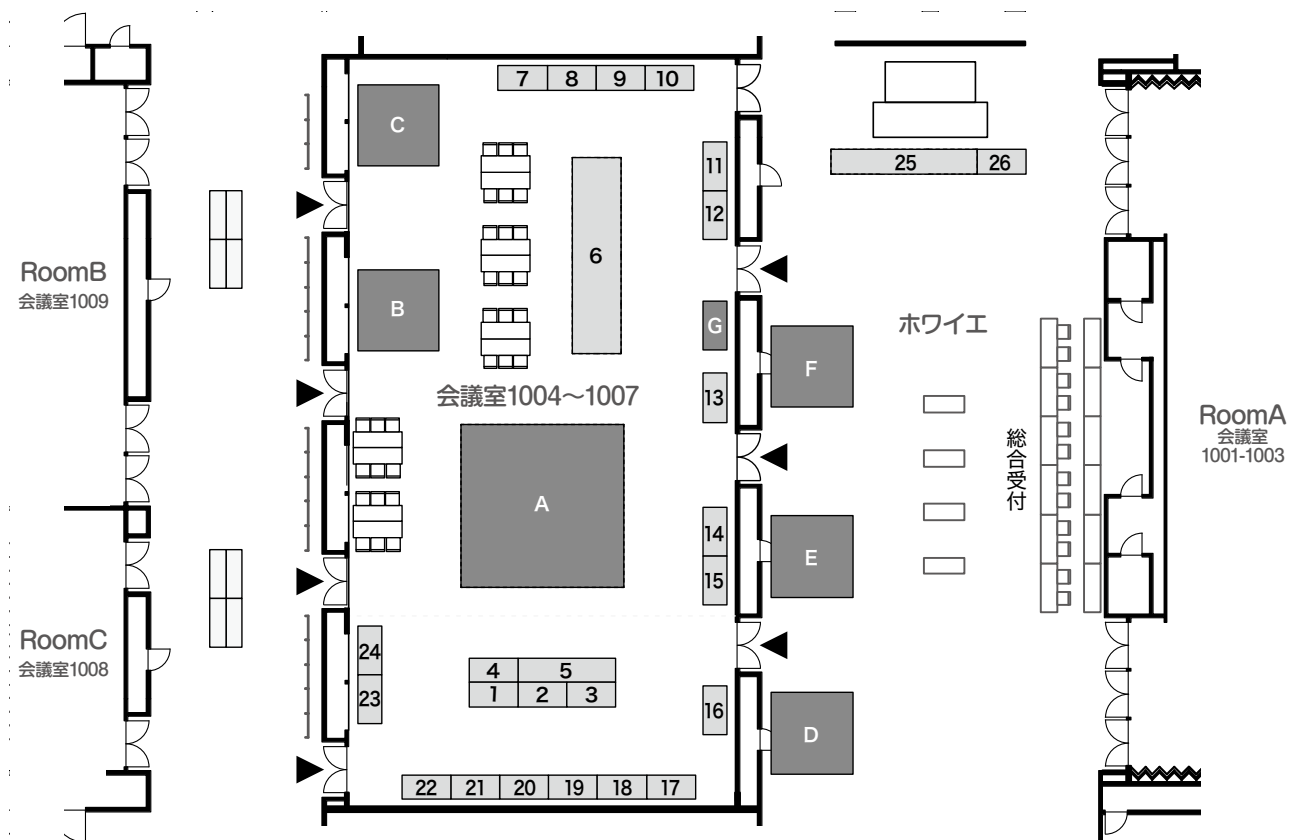


11F



展示会場図

10F



【第26回 日本 IVF 学会学術集会 (26JSAR)】

- | | |
|--------------------------------------|---------------------|
| 1 システムロード株式会社 | 14 GEヘルスケア・ジャパン株式会社 |
| 2 株式会社サリー・ジョイス・ジャパン/
損害保険ジャパン株式会社 | 15 扶桑薬品工業株式会社 |
| 3 オリジオ・ジャパン株式会社 | 16 株式会社ナカメディカル |
| 4 株式会社アイジェノミクス・ジャパン | 17 株式会社オフショア |
| 5 ヴィトロライフ株式会社 | 18 Varinos株式会社 |
| 6 株式会社リプロライフ | 19 ニプロ株式会社 |
| 7 株式会社パートナーズ | 20 vivola株式会社 |
| 8 松浪硝子工業株式会社 | 21 富士フイルム和光純薬株式会社 |
| 9 株式会社ユー・ディー | 22 株式会社東機貿 |
| 10 株式会社Revorf | 23 株式会社ドクターズファーマシー |
| 11 株式会社ファルコバイオシステムズ | 24 エア・ブラウン株式会社 |
| 12 ナノソックスジャパン株式会社 | 25 フェリング・ファーマ株式会社 |
| 13 メディー・コン インターナショナル株式会社 | 26 メルクバイオファーマ株式会社 |

【第21回 世界体外受精会議 (ISIVF2023)】

- | | |
|------------------------------|--------------------------|
| A 株式会社北里コーポレーション | E クラシエ薬品株式会社 |
| B 株式会社メニコン | F Caerus Biotechnologies |
| C CHA Medical Group | G 一般社団法人日本生殖医学会 |
| D 株式会社AAプロジェクト/株式会社Healthase | |

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

合同開催：第21回世界体外受精会議 (ISIVF 2023)

●概要

会期：2023年11月2日(木)～11月4日(土)

会場：大阪国際会議場(グランキューブ大阪)

〒530-0005 大阪府大阪市北区中之島5丁目3-51

TEL: 06-4803-5555

学術集会参加者へのお知らせ

●学会受付

◆総合受付

場所：10階 Room A (会議室 1001～1003) 前

受付日時：11月2日(木) 12:00～19:00

11月3日(金) 7:30～16:30

11月4日(土) 8:00～12:00

◆PC受付

場所：10階 主催者控室 10-1

受付日時：11月2日(木) 12:00～18:00

11月3日(金) 7:30～16:30

11月4日(土) 8:00～12:00

●参加登録

- ・参加をご希望の方は、第26回 日本 IVF 学会 学術集会 Web サイト、【参加登録】ページより、オンラインによる参加登録を行ってください。
- ・ネームカードは、会場内の総合受付で QR コードをスキャンして発行してください。
- ・QR コードは、参加登録後に配信されるメールに添付されています。また、ご自身の参加登録アカウントのメインメニューでも表示されております。QR コードをスマホ等に保存するかプリントアウトしたものを必ずご持参ください。
- ・ネームカードをお持ちの方は、すべての学術集会プログラムにご参加いただけます。会場内ではホルダーに入れて必ずご着用ください。
- ・ネームカードは見やすいところに着用の上、ご入場ください。会期中、ネームカードのない方の入場はお断りいたします。

●参加費

			前期	後期
参加費	会員	医師	20,000 円	22,000 円
		医師以外	10,000 円	12,000 円
	非会員	医師	23,000 円	25,000 円
		医師以外	13,000 円	15,000 円

※前期加登録費は 2023 年 10 月 11 日 (水) までのお申し込みに適用されます。

※第 26 回日本 IVF 学会学術集会に参加登録いただく方は、第 21 回世界体外受精会議 (ISIVF2023) にもご参加いただくことができます (税区分は不課税となっております)。

●コンgresバッグ

コンgresバッグをご用意しております。

QR コードでネームカードを発行する際にお受け取りください (引換券はございません)。

●プログラム抄録集

学会雑誌が学術集会講演抄録集を兼ねておりますので、会員の方は当日ご持参ください。お忘れの方には学会当日に 3,000 円で販売いたします (数に限りがございます)。

【非会員の皆様】プログラム集の事前送付はございません。事前にオンラインで購入している方は、会期当日に Registration Inquiry Desk にてお渡しいたします。当日ご購入いただくことも可能です。

●社交行事のご案内

◆ウェルカムレセプション

日 時：11月2日(木) 18:00～

会 場：大阪国際会議場 10 階 展示ブース・ホワイエ

参加費：無料 ※参加費に含まれます

◆懇親会

日 時：11月3日(金) 18:30～

会 場：リーガロイヤルホテル大阪・ロイヤルホール

参加費：3,000 円

申込方法：オンライン登録サイトからお申し込みいただけます。

●専門医などの出席証明について

1) 日本専門医機構単位付与講習／日本産科婦人科学会専門医研修出席証明

「e 医学会カード」による講習受講証明を行いますので、「e 医学会カード」をご持参ください。学会単位 10 点・機構単位 3 単位

また、下記 2 セッションにつきましては、それぞれ 1 セッションごとに 1 ポイントの日本専門医機構産婦人科領域講習受講単位が付与されます。

機構 1 単位／1 セッション

・シンポジウム 2：着床障害の原因と治療

・特別講演 3

- 2) 日本産婦人科医会研修参加証
研修参加証シールを発行いたします(1日1枚)。
- 3) 日本生殖医学会生殖医療専門医
日本生殖医学会生殖医療専門医更新ポイント5点が加算されます。当日受付にて芳名帳を用意いたします。会員カードをご提示のうえご記名をお願いいたします。

● ランチョンセミナーについて

ランチョンセミナーは事前予約制です。当日参加ご希望の方は受付にてお問合せください。フードロス削減の取り組みとして、事前申込数分＋予備(若干数)のお弁当をご用意いたします。事前申込のない方は、お弁当が確保できない場合がございますのでご注意ください。

● Free Wi-Fi について

会場内で Wi-Fi データ通信がご利用いただけます。

※場所や回線状況によっては繋がりにくい場合がございます。予めご了承ください。

SSID: FREE-OICC

Pass: grandcube

● 会場内でのご注意

- ・セッション会場内では携帯電話の電源を OFF にするか、マナーモードに設定してください。
- ・会長の許可のない掲示・展示・印刷物の配布は固くお断りいたします。
- ・講演スライド等の録画・録音・撮影は一切禁止いたします。また、無断転用・複製も一切禁止いたします。
- ・講演会場内での呼び出しはいたしません。10F ホワイエに掲示板を設置いたしますので、総合受付までお問合せください。

● 器械展示のご案内

ポスター展示会場と同会場にて器械展示を行います。

会場: 1004-1007 会議室＋ホワイエ

口演発表者へのご案内

● 講演時間

特別講演、企画プログラム: 別途ご案内の通り

シンポジウム: 質疑応答含め90分(30分/人)

口頭演題発表: 発表7分、質疑応答3分

- 講演者は各セッション開始30分前までに、PC受付(10F 主催者控室10-1)にて試写をお済ませください。

パソコンを持参される方も、セッション開始30分前までに受付をお済ませください。データは専用のPCに保存させていただきますが、発表が終わり次第データは消去させていただきます。会場に用意してあるPCでは、パワーポイントの「発表者ツール」機能は使用できません。

【発表データをお持ち込みの方へ】

- ・ソフトは Windows 版 Power Point 2013 以降 2021 までをご使用ください。
 - ※ Macintosh をご使用の方は、PC 本体をお持ち込みください。
 - ※ 動画ファイルをご使用の方は、PC 本体をお持ち込みください。
- ・フォントは OS 標準のもののみご使用ください。
- ・画像の解像度は、FullHD (1920 × 1080) をお願いいたします。
- ・発表データは USB フラッシュメモリーに保存してお持ちください。

【ノート PC 本体をお持ち込みの方へ】

- ・バックアップとして、必ずメディアもご持参ください。
- ・画像の解像度は FullHD (1920 × 1080) をお願いいたします。
- ・PC 受付の液晶モニターに接続し、映像の出力チェックを行ってください。
 - ※ PC の機種や OS によって出力設定方法が異なります。
- ・プロジェクターとの接続ケーブルの端子は HDMI です。
- ・PC によっては専用のコネクタが必要となりますので、必ずお持ちください。
 - ※特に薄型ノート PC は別途付属コネクタが必要となりますので、ご注意ください。
- ・スクリーンセーバー、省電力設定は事前に解除ください。
- ・コンセント用電源アダプタを必ずご持参ください。
 - ※内蔵バッテリー駆動の場合、発表中に映像が切れる恐れがありますので、ご注意ください。

● 利益相反の開示

本学術総会で演題を発表する全ての演者は、利益相反状態の有無を開示する必要があります。COI 状態を発表スライドの最後に開示してください。

ポスター発表者へのご案内

● ポスター会場

10 階 1004-1007 会議室+ホワイエ

● ポスター掲示および撤去時間

掲示：11月3日(金) 12:00 まで

撤去：11月4日(土) 8:00 ~ 12:00 の間

※撤去されなかった方のポスターは、学会事務局にてポスターボードから外し、受付横の段ボール箱に入れておきますので、お受け取りください。受け取りに来られない場合は処分しますので、予めご了承ください。

● ポスター発表コアタイム

以下の時間に各自のポスターの前で質疑応答に備えてください。座長による進行はありません。

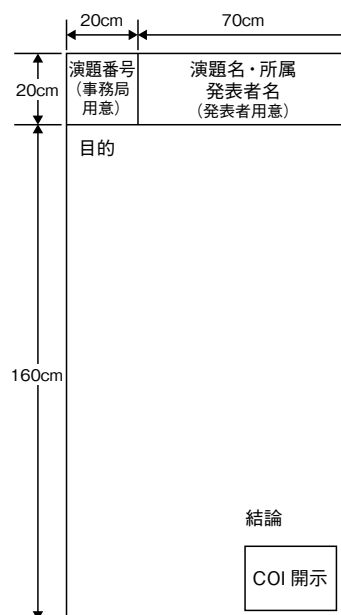
11月3日(金) 16:00 ~ 18:00

- ポスター展示要綱

ポスター展示用パネルのサイズは横90cm×縦180cmです。各自のパネルの左上に20cm×20cmのポスターパネル番号(例:P1)が表示されております。横70cm×縦20cmの演題名・所属・演者名の入ったタイトルをご用意ください。

- 利益相反の開示

本学術総会で演題を発表する全ての演者は、利益相反状態の有無を開示する必要があります。COI状態はポスターの最後に開示してください。



演者・座長へのお願い

- 口演発表

セッション開始10分前には、各会場内前方の「次演者席・次座長席」に着席し、待機してください。

- ポスター発表

発表開始5分前までに、ご自身のポスター前に待機してください。討論は自由討論で行い、座長による進行はありません。

卵子の染色体数異常の細胞生物学的な原因



北島 智也

理化学研究所生命機能科学研究センター
染色体分配研究チーム
チームリーダー

略 歴

2004年7月 東京大学分子細胞生物学研究所 助手
2007年4月 European Molecular Biology Laboratory (EMBL) Heidelberg 博士研究員
2012年2月－現在 独立行政法人理化学研究所発生・再生科学総合研究センター (2018年4月より国立研究開発法人理化学研究所生命機能科学研究センター) 染色体分配研究チーム チームリーダー
8月－現在 京都大学大学院生命科学研究科分子病態学分野 客員准教授 (2020年4月より客員教授)
2019年4月－現在 国立研究開発法人理化学研究所生命機能科学研究センター 副センター長

卵子の染色体数異常は、流産やダウン症など先天性疾患の主要な原因の一つである。この染色体数異常は、卵母細胞が卵子に成熟する過程の減数第一分裂における染色体分配にエラーが起こることによって生じる。卵母細胞は他の細胞に比べて染色体分配エラーを起こしやすく、しかもそのエラー頻度は母体年齢とともに上昇する。卵母細胞に特異的な性質やライフ時間進行がどのように染色体分配エラーを起こしやすくするのは、明らかではない。

我々はマウス卵母細胞を研究モデルとして用い、細胞生物学的な解析からこの問題に取り組んでいる。独自のライブイメージング技術を用いることにより、卵母細胞の減数第一分裂における染色体と、それを分配する細胞内装置である紡錘体の動態を解析し、それらの背景にある分子機構を調べてきた。これまでに、卵母細胞で染色体分配エラーを起こしやすくする内在性の要因として、卵母細胞特異的な(1)紡錘体二極化の機構、(2)染色体と紡錘体微小管の接続の制御があることを見出してきた。また、ライフ時間進行に伴うエラー要因として、(3)染色体接着の減衰があることを見出してきた。卵母細胞ではこれらの要因が重なり合って染色体分配エラーが引き起こされると考えられる。

今回の発表では、染色体を個別に可視化する新たなライブイメージング解析から見えてきた知見を含めて紹介し、卵母細胞の染色体分配エラーの細胞生物学的な機構について議論したい。

重篤な遺伝性疾患を対象とした着床前遺伝学的検査と生命倫理 - 過去・現在・未来 -



三上 幹男

東海大学医学部医学科
専門診療学系産婦人科学
教授

略 歴

1984年 3月 慶應義塾大学医学部卒業
5月 慶應義塾大学医学部研修医
1987年 4月 慶應義塾大学医学部助手
1990年 4月 国立埼玉病院厚生技官(産婦人科)
1991年 9月 米国 La Jolla Cancer Research Foundation(現 Burnham Institute) 研究員
10月 慶應義塾大学医学博士
1995年 7月 慶應義塾大学助手
1998年 2月 国立病院機構埼玉病院院長
4月 慶應義塾大学医学部客員講師
2003年 4月 同客員助教授
2006年 1月 東海大学医学部医学科専門診療学系産婦人科学教授

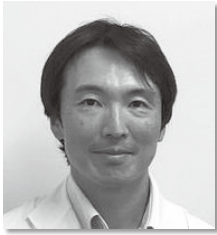
日本産科婦人科学会常務理事(臨床倫理監理委員会委員長2019.6-2023.6), 日本婦人科腫瘍学会理事長, 日本産婦人科手術学会常務理事, 日本産科婦人科内視鏡学会常務理事(2021.6-2023.6), 日本エンドメトリオーシス学会理事, 日本医学会出生前検査認証制度等運営委員会委員(2021.9-2023.9), 厚生労働省厚生科学審議会専門員, 内閣府こども家庭審議会NIPT等の出生前検査に関する専門委員会委員, 内閣府日本学術会議特任連携会員

日本産科婦人科学会(JSOG)では1998年「着床前診断に関する見解」発表後, 重篤な遺伝性疾患に限り1症例毎に審査し着床前診断実施を容認してきた。その後見解には適時追加修正が行われてきたが, 2020年より2021年にかけて広く社会に意見を伺うために「PGT-Mに関する倫理審議会」を行い, その報告書をもとに見解を改定し, 2022年4月新たな重篤性の基準, 審査システムでの事例審査の開始に至った。

見解改定以前は, 成人に達する以前に日常生活を著しく損なう状態が出現したり, 生命の生存が危ぶまれる状況になる疾患を, 重篤な疾患の基準としていた。この基準は, 成人に達する前に亡くなるか, 人工呼吸器が必要となるような状態, と解釈されていたが, その解釈には該当しないが「日常生活を強く損なう症状」とも捉えられる事例申請があり, 様々な意見があったことから, 重篤性の考え方, 判断の流れに関して再検討の必要ありと判断し「PGT-Mに関する倫理審議会」を開催した。その結果, 新たな重篤性の定義は, 「原則, 成人に達する以前に日常生活を強く損なう症状が出現したり, 生存が危ぶまれる状況になり, 現時点でそれを回避するために有効な治療がないか, あるいは高度かつ侵襲度の高い治療を行う必要がある状態」とした。この改定は, 成人以後に発症する疾患でも, 人工呼吸器が必要となるような状態でもとも審査対象となることを意味している。新たな重篤性での申請では, 担当生殖医療専門医, 遺伝疾患専門医, 臨床遺伝専門医, この3名が申請者になることとし, 異なる見地からの意見を総合した上で申請を行っていただく形(PGT-M希望夫婦・遺伝性疾患患者本人・

PGT-Mに関しての中立性/自律性を尊重する立場)とした。審査では, 専門学会(臨床と遺伝関連)にも, ①医学的視点(分子遺伝学的な視点での診断正確性と重篤性の基準)での判断, その上で②PGT-Mを希望するご夫婦の生活背景や置かれた立場・考えも考慮し総合判断, を意見書として提出いただく。それらを総合して外部委員を含んだJSOG内審査小委員会で判断するが, そこでは委員の全員の一致をもって承認とし, 判断が不一致の時には, 臨床倫理個別審査会(小委員会での情報以外に, 申請者も出席可能で発言の機会がある, 該当疾患の地域での福祉・サポートに関して考慮)での最終判断に任せるという流れである。今までの違いは, 重篤性の基準の改定, 専門学会の先生方の意見を伺うこと, PGT-Mを希望するカップルの背景について考慮を行うこと(カップルが意見を提出可能, 申請者が代弁できる, など), 一定の条件で再申請できること, 個人情報について注意しながら審査結果は公表すること, などである。今後, 様々な議論すべき課題が生じてくることも予想され, PGT-Mに関する継続審議小委員会にて広くオープンに議論を継続していく。

PGT-A のデータから考える胚移植回数



岩佐 武

徳島大学大学院医歯薬学研究部
産科婦人科学分野教授

略 歴

2002年 5月 徳島大学医学部附属病院医員(研修医)
2007年 4月 徳島赤十字病院産婦人科
2008年 6月 徳島大学病院医員
2010年 4月 徳島大学病院地域産婦人科診療部特任助教
2011年 6月 カリフォルニア大学バークレー校客員研究員
2013年 4月 徳島大学病院地域産婦人科診療部特任准教授
2019年 10月 徳島大学病院周産母子センター講師
2020年 8月 徳島大学大学院医歯薬学研究部産科婦人科学分野教授

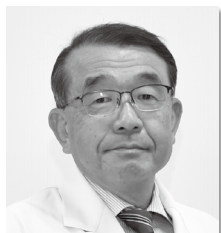
近年の生殖医療の発展は目覚ましく、成功までに長い年月を要した体外受精・顕微授精も現在では一般的な治療として世界各国で実施されている。わが国では年間40万周期以上の生殖補助医療(ART)が行われ、これにより6万人以上の子どもが誕生するなど、世界でも指折りの生殖医療大国となっている。日本のARTの特徴として多胎率の低さが挙げられるが、これは全国の施設が「移植胚数は原則1個」とする日本産科婦人科学会の見解を遵守してきた結果であり、世界に誇るべき内容と言える。一方、ARTの保険適用によって移植回数に対する意識が高まり、今後高齢患者を中心に二個胚移植(DET)が選択されるケースが増えることが危惧されている。

今後の胚移植のあり方を検討する上で、着床前胚染色体異数性検査(PGT-A)の臨床データは非常に重要な意味を持つと考えられる。わが国で実施したPGT-A特別臨床研究によれば、生検を実施した胚における正倍数性胚の割合は、30代前半で30%前後、30代後半で20%前後、40歳以上で10~20%と女性の年齢が高くなるほど低下していた。一方、正倍数性胚を移植した場合の妊娠率は70%前後と高く、これはいかなる年齢層においても同等の結果であった。これらの結果から、PGT-Aを実施していない胚についてはSETを原則としながらも年齢を含め様々な視点から移植胚数を検討すること、およびPGT-Aによって正倍数性とされた胚についてはSETを厳守することが必要と考えられる。なお、治療の効率性と多胎予防の観点から、特に高齢患者についてはPGT-Aを早い段階から選択すべきとの意見が挙がっているが、現在の見解細則では一定の条件を満たすまでPGT-Aを実施することはできない。こちらについては今後新たな臨床研究を立案するなど、有効性について科学的に

評価する必要がある。

わが国のARTにおける多胎率の低さは先人達の努力によって培われたものであり、我々にはそれを維持する責務が課せられている。多胎は患者家族の一生に関わる事案であることを肝に銘じ、新たな医療技術を適切に取り入れながらさらなる予防に努めることが必要と考えられる。

生殖と周産期医療のリエゾン



池田 智明

三重大学大学院
医学系研究科臨床医学系講座
産科婦人科学教授

略 歴

1977年 4月 宮崎医科大学医学部医学科入学
1983年 3月 宮崎医科大学医学部医学科卒業
7月 大阪大学医学部附属病院産婦人科研修医
1984年 7月 市立貝塚病院産婦人科医師
1987年 7月 大阪府立母子保健総合医療センター産婦人科医師
1988年 7月 宮崎医科大学医学部産婦人科学講座助手
1994年 8月 カリフォルニア大学アーバイン校産婦人科研究員留学
1996年 5月 宮崎医科大学医学部附属病院周産母子センター助手配置換
2000年 10月 宮崎医科大学医学部附属病院周産母子センター講師
2002年 10月 宮崎大学医学部附属病院周産母子センター講師
2005年 8月 国立循環器病センター周産期治療部部长
2009年 4月 国立循環器病センター研究所再生医療部部长(兼任)
2010年 4月 独立行政法人国立循環器病研究センター周産期・婦人科部部长(所属名変更)
2011年 9月 三重大学大学院医学系研究科病態解明医学講座生殖病態生理学分野教授
2012年 4月 三重大学大学院医学系研究科臨床医学系講座産科婦人科学教授(所属名変更)
2013年 10月 三重大学医学部附属病院副院長兼任(～2019年9月30日)
2021年 5月 三重大学特命副学長(医療担当)兼任
2022年 4月 三重大学副学長・医学部附属病院院長兼任

【専門分野】

周産期、特に周産期脳障害、胎児心拍数モニタリング、妊産婦死亡、胎児付属物を使った再生医療

わが国でARTで生まれた児は2022年の時点で6万人を超えており、そのうち92%が凍結胚移植(FET)によることが特徴である。本講演では、生殖と周産期に関わる医療者が協力して取り組んでいくべき3つの話題について述べる。

(1) 癒着胎盤:FETは、癒着胎盤やRPOC (retained products of conception, 胎盤遺残)と密接に関係しており、特にホルモン補充周期では約10%に合併する。これは大量出血による妊産婦の生命にもかわり、また子宮摘出となる可能性も高く、周産期医療として重要性を増している。FETと関連する常位癒着胎盤は出生前に診断することが難しく、分娩後に思わず遭遇することも多い。我々はこれに対して、子宮を内反して直視下に癒着胎盤を摘出する方法を開発した。TURIP法 (technique for fertility preservation for placenta accrete spectrum without placenta previa) を考案し、これまで10例に応用した。

(2) 帝王切開癒着部症候群 (Cesarean scar syndrome :CSS) は、子宮筋層の癒着部が2mm以上陥凹し症状のある例をいい、不正出血、月経困難症の他、続発性不妊となることが知られている。陥凹部に貯留する液体が着床不全をきたすことが機序の一つと考えられている。2022年4月からCSSに対する腹腔鏡下子宮癒着部修復術が保険収載された。われわれは、修復縫合の行いやすさからロボット手術として自費で行っている。

(3) 妊娠高血圧症候群 (HDP) :ART妊娠は非ART

妊娠にくらべて、HDPの率が高いことが報告されている。特に卵子提供妊娠においては、われわれの最近の171例を対象にした調査から26%がHDPを発症した。脳出血による母体死亡例もあったことから、HDPの予防や管理に対して習熟する必要がある。

甲状腺疾患が生殖医療の成績に及ぼす影響



岡本 泰之

岡本甲状腺クリニック
理事長・院長

略 歴

1985年 鹿児島大学医学部医学科卒業
大阪市立大学医学部第二内科学教室入局(現大阪公立大学)
1990年 シカゴ大学甲状腺研究部門研究員
1993年 大阪市立総合医療センター代謝内分泌内科
2006年 岡本甲状腺クリニック開設, 現職

学 位: 医学博士

専門医: 日本甲状腺学会専門医, 日本内分泌学会専門医・指導医

甲状腺疾患は妊娠可能年齢の女性に頻度が高く、その年齢分布は生殖医療を受ける女性と重なる。甲状腺疾患による妊娠への負の影響は古くから知られている。2000年前後から、遊離T4(FT4)正常でTSH基準範囲超えすなわち潜在性甲状腺機能低下症(SCH),あるいはTSH 2.5 μ U/mL以上から基準範囲上限までの高値正常の妊婦における妊娠転帰に関する報告が増加している。イタリアのNegroらは2010年、妊娠初期TSHが2.5から5.0 μ U/mLの妊婦は2.5 μ U/mL以下の妊婦と比較して流産産のリスクが有意に高く、さらに甲状腺ホルモン薬(LT4)投与は妊娠有害事象を減少させることを報告した。これらの報告を境に我が国でも軽度のTSH高値に対して積極的にLT4が投与されるようになった。現時点では、2021 European Thyroid Association Guideline on Thyroid Disorders prior to and during Assisted Reproduction が生殖医療に関する最新のガイドラインである。甲状腺疾患のスクリーニングとしてガイドラインでは、TSHとTPOAbの測定を推奨している。ヨウ素摂取量の多い日本では、甲状腺機能低下症の主な原因である橋本病の組織学的変化はTgAbの方が鋭敏に検出できる。我々の検討では、TSH高値不妊女性で自己抗体陽性者のうち、TgAb陽性かつTPOAb陽性が52%、TgAb単独陽性が44%、TPOAb単独陽性が4%であり、TgAbのみ測定すれば抗体陽性者の96%を検出できる。ただし、甲状腺自己抗体と不妊症や生殖医療の成績との関連を検討した報告の多くはTPOAbによる海外データである。甲状腺自己免疫(TAI)そのものの生殖医療の成績に関するメタ解析では採卵数、受精率、着床率、妊娠率に影響はないが、出生率がわずかに低下する。しかし、甲状腺機能正常でTAIを有する女性へのLT4による介入研究ではLT4投与は出生率を改善しなかった。免

疫系に介入する治療成績は皆無である。生殖医療における卵巣刺激は血清E2の上昇とそれに続くT4結合グロブリンの上昇をもたらす。結合蛋白の増加はFT4を減少させ、ネガティブフィードバックによりTSHを上昇させる。このTSH上昇は、すでに甲状腺機能低下症のある女性、TAI陽性女性で現れやすい。甲状腺機能低下症と生殖医療の成績との関係では、TSHのカットオフ値を2.5 μ U/mLとした研究では、2.5 μ U/mL未満と2.5 μ U/mL以上では出生率や流産率には差がない。TSHが基準範囲を超えるSCH女性に対してLT4で介入した場合、出生率が向上した。以上から、TSHが基準範囲を超える女性、およびTSHが2.5 μ U/mLから基準範囲上限の間でかつTAI陽性女性に対しては卵巣刺激前からのLT4投与が推奨される。LT4を投与する場合、我々の成績では妊娠前TSHを1.6 μ U/mL以下に維持しておくことと妊娠成立時に85%の女性がTSH 2.5 μ U/mL以下を保っており、1.0~1.5 μ U/mLをコントロール目標としている。初期投与量の目安は体重1kgあたり1 μ gとしている。以上、本講演ではガイドラインの根拠となっている代表的なエビデンスを紹介するとともに、われわれの診療成績について紹介する。

不妊治療, 卵子提供, のち医療的ケア児の母



野田 聖子
衆議院議員

略 歴

1983年帝国ホテルに入社。1987年に岐阜県議会議員に26歳で当選。1993年衆議院議員総選挙で初当選(10期)。1998年郵政大臣、2008年消費者行政推進担当大臣、2012年自由民主党総務会長、2017年総務大臣・女性活躍担当内閣府特命担当大臣、2018年衆議院予算委員長、2020年自由民主党幹事長代行。2021年内閣府特命担当大臣(地方創生、少子化対策、男女共同参画)、女性活躍担当大臣、こども政策担当大臣、孤独・孤立対策担当大臣等を歴任。2022年自由民主党情報通信戦略調査会長

私は1度目の結婚の時に14回にわたる体外受精に挑戦するも、子どもを授かることはできなかった。その後出会った夫とは、養子を迎えることを真剣に考え、民間あっせん団体へ確認したところ、年齢や共働きであることを理由に親となることが認められなかった。この時の経験は、後に「特別養子縁組あっせん法」へと繋がるが、当時養子縁組あっせんについて国は関与しておらず、民間のあっせん団体に任されていた。この法律で国が関わることで、養親希望者と施設で育つ子どもたちのあっせんがより進むことが期待され、またあっせんされた子どもたちの情報についても国が関与することができるようになった。

その後、親になることを諦めかけていた私に、夫から卵子提供の提案があった。日本では、卵子提供が法的に認められていると断言できなかったため、法律で認められている米国ネバダ州でドナーから卵子提供を受けた。そして、2010年6月、2度目の卵子提供で妊娠することができ、2011年1月私は50歳で母親になった。

生まれた息子は心臓疾患など多くの障害があり、生まれてすぐに新生児集中治療室(NICU)に入り、自宅に戻れたのは2歳3か月の時だった。その後、息子は自宅での生活のために気管切開をし、胃ろうとなったが、退院直後から受けられる「医療的ケア児」への支援が無いまま、退院と同時に家での医療行為を伴う育児のスタートを切ることとなった。

また、医療的ケア児を受け入れてくれる保育園や小学校探しにはとても労力を要した。私の場合は個別に看護師を依頼し配置することで、民間の保育園で何とか受け入れ可能となった。その後、特別支援学校から公立小学校特別支援学級に編入、卒業し、現在は中学1年生となり、一人で元気にバス通学をしている。

障がいのある子どもの親となったことで、全国に約

2万人と推計されている医療的ケア児とその家族の支援を目指し、2021年6月「医療的ケア児及びその家族に対する支援に関する法律」を成立させた。支援センターの設置、学校への親の付添い問題解消のための看護師配置、卒業後の居場所問題、支援の自治体間格差等の課題解消を目的としている。更に今年4月には「こども家庭庁」が創設され、福祉・医療・教育の壁を克服した切れ目ない包括的支援の実現等を目的とし、そこには障がい児や、困難な状況にある子どもの支援も含まれている。

私が「不妊治療」を受けていた頃は、周りに知られたくない治療であった。しかし5.5組に1組が不妊治療を受けている現在、隠さず受診できる治療だと言うことを定義したいと「生殖補助医療の提供等及びこれにより出生した子の親子関係に関する民法の特例に関する法律」を2020年12月成立させた。これにより、第三者からの精子や卵子の提供を受けることによって生まれた子どもの親子関係を明確化することができた。2020年体外受精で生まれた子の割合は13.9人に1人。昨年4月から不妊治療の保険適用も始まり経済的負担が軽減されることから、今後も受診者が増えることが予想されている。今後の課題として、代理出産の在り方や、第三者からの精子・卵子提供によって生まれた子の「出自を知る権利」、また、提供者情報の保存・管理については、今後も慎重に検討を続けていきたい。

私が考える「患者様の治療を中断させないサポート」



塩谷 雅英

英ウィメンズクリニック
理事長

略 歴

1985年3月 島根医科大学卒業、京都大学医学部婦人科学産科学教室
1988年9月 京都大学医学部婦人科学産科学教室医員
1994年4月 神戸市立中央市民病院産婦人科医長
2000年3月 英ウィメンズクリニック開設

医学博士(京都大学)、日本産科婦人科学会専門医・指導医、日本生殖医学会生殖医療専門医・指導医、臨床遺伝専門医、日本臨床細胞学会専門医

日本IVF学会理事長、日本生殖医学会特任理事、日本受精着床学会理事、日本生殖心理学理事、日本生殖医療支援システム研究会理事長、JISART理事、日本生殖発生医学会理事、生殖バイオロジ-東京シンポジウム理事、日本レーザーリプロダクション学会理事、日本卵子学会代議員、日本生殖医学会生殖医療ガイドライン評価委員、近畿産婦人科学会内分泌・生殖研究部会委員、兵庫県産婦人科学会学術委員、兵庫県不妊治療支援検討会委員、兵庫医科大学非常勤講師、大阪医科薬科大学臨床教育教授、大阪信愛学院大学客員教授

生殖補助医療では、挙児を得る可能性は高いものの、その一方で治療に苦慮する症例もある。反復して不成功となる原因は、胚側の因子と着床側の因子に大きく大別することができる。さらに胚側の因子は、卵子、精子の質の問題に、そして、着床側の因子は、子宮内環境、子宮内膜の受容能、着床に係る免疫の問題、女性の内分泌および栄養の問題、等に分類することができる。これらの原因が単独で、そして時には複数複雑に交錯して、難治性不妊の様相を呈している場合、治療は長引き、患者の精神的、経済的負担は増していく。時として、治療の中断を申し出る患者に遭遇することも日常の臨床においては稀ではない。

そのような患者を前にした場合、私たち医療者のとるべき態度はどのようなものであるべきであろうか？

むやみに励まし、治療の継続を提案することが正解とは言い難い。まずは、過去の治療記録に目を通し、そして臨床経験を通じて、継続を促すべきか、あるいは、中断・終結を提案すべきか検討する。治療の継続が患者にとってメリットがあるのか、あるいは無いのか、その判断に迷う場合には同僚医師や上司に相談するのも良いだろう。当院では、症例検討会の議題にとりあげ、医師、培養士、看護師、カウンセラーなど様々な職種のスタッフで問題を共有し、そして治療方針を検討している。一人一人の経験・知識・そして考え方には個性があり、思いがけない対策が飛び出すこともある。また、患者も、このミーティングで多くのスタッフが話し合ってくれた、取り組んでくれた、その総意に基づいて治療方針が提案されている、という安心感、信頼感の醸成につながり、治療を継続するエネルギーになっている。

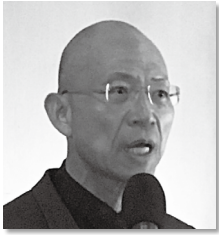
繰り返しになるが、治療の継続を提案することが、その患者にとって本当にメリットがあるのか、無いのか、まずは検討する。そのためには過去の治療経過を見

直し、そして問題点を洗い出し、提案できる治療、改善すべきことを探す。

治療の引き出しを多く用意することも重要である。同じ治療を漫然と繰り返すようでは、患者は次の治療に期待することができず、ややもすると治療を中断するという判断に陥る可能性がある。当院では、排卵誘発のプロトコルや用いる薬剤の変更、トリガーのタイミングの変更、移植方法・移植のタイミングの変更、精子選別方法の変更、授精方法の変更、など提案できる体制をとるようにしている。

一方で、治療の継続を提案することは患者にとってはメリットが無い、と考えられる場合には、治療の終結を提案するべきである。近年、卵子成熟停止、あるいは、初期胚発生停止を繰り返す患者において、遺伝子変異との関連を指摘する報告がなされている。判断に迷う場合にはこれらの遺伝子変異検査を提案することも一つである。そして、原因となる遺伝子変異を認めた場合、さらなる治療で挙児を得ることができると可能性は低くとどまることを説明し、理解していただくように努力することも大切である。

患者様の治療を中断させないサポート



吉田 淳

木場公園クリニック
理事長・院長

略 歴

1986年 3月 愛媛大学医学部卒業
5月 東京警察病院産婦人科
1991年 8月 池下レディースチャイルドクリニック
1992年 4月 日本産科婦人科学会専門医
1993年 10月 高度医療研究所・中央クリニック非常勤医師
1994年 7月 東邦大学医学部第一泌尿器科学講座特別大学院研究生
1997年 11月 医学博士(男性不妊症と染色体異常)
11月 日本不妊学会賞受賞
1999年 1月 木場公園クリニック院長(不妊センター)
2007年 4月 生殖医療専門医
2009年 10月 臨床遺伝専門医

体外受精などの保険適応が2022年4月に開始してから、卵巣機能がいい人には、患者さんの身体にフレンドリーなゴナールFとフェマラを使用した中刺激法を第一選択としている。具体的には、月経3日目からフェマラ1錠を5日間使用、ゴナールFの注射は月経3日目、4日目、6日目、8日目に112.5単位を使用、月経9日目に超音波検査とホルモン検査を行って、その結果からその後のゴナールFの注射の量と使用する日を決定している。トリガーにはhCG5000単位を使用している。この卵巣刺激法を選択すると、卵巣の腫れがひどくない時には、新鮮胚移植を実施することができる。当院における新鮮胚移植の割合は保険適応開始前が24.6%、開始後が34.0%であった。また、排卵誘発剤の注射は、保険適応前は主にフェリングを使用していたが、保険適応後は主にゴナールFを使用している。卵巣刺激法に高刺激を選択した時は、ゴナールF+クロミッド法またはゴナールF+ヒスロン法を主に行なっている。原則的にゴナールFは月経3日目から毎日使用、クロミッドまたはヒスロンは月経5日目から使用する。AFC（胞状卵胞数）によってゴナールFの注射の量を決定している。また卵巣刺激開始約5日後の卵胞の成長とホルモン検査の結果から、注射の量は調節している。

ARTを行なって妊娠判定が陰性でしたとのみ伝えただけでは、患者さんは真っ暗になってしまう。まず卵巣刺激法やホルモンの推移と成長した卵胞数、卵子回収率、受精率、分割率、胚盤胞到達率などの結果の説明を再度した後、次回のチャレンジに向けてどのような戦略で行くかの説明をしている。具体的には、良好な胚が獲得できなかったときには、卵巣刺激法を変更している。卵胞が多数発育しているにも関わらず卵子回収率や成熟率が低率な時は、デュアルトリガーを行い、トリガーから採卵までの時間も長くしている。

デュアルトリガーとトリガーから採卵までの時間を長くすることで、卵子回収率および顕微授精後の受精率が改善することがある。2回胚移植を行っても着床が成立しない時は、子宮内細菌叢検査、子宮内膜受容能検査、子宮鏡を行なっている。2回の着床障害や2回の流産の既往があるときは、PGT-A（着床前胚染色体異数性検査）を考慮している。また、高度乏精子症で射出精液中に良好な精子が得られない時は、精巣内精子採取術を実施して精巣精子で顕微授精を行うこともある。卵子の質が悪い時には、栄養解析を行って不足している栄養素を選択的に補充する個別のサプリメント補充を実施する場合もある。

最後になるが、私が医療人として常に心がけていることは、患者さんと同じ目線で、患者さんに寄り添って、診察をすることである。

納得して不妊治療を受ける共有意思決定プロセスへの 看護支援



藤島 由美子
越田クリニック看護師長

略歴
1981年4月～2006年3月 神戸市立中央市民病院
不妊カウンセラー（日本不妊カウンセリング学会）
2002年～
2006年4月～ 現在に至る 医療法人越田クリニック看護師長
2007年～ 不妊症看護認定看護師（日本看護協会）
2009年～ 生殖医療コーディネーター（日本生殖医学会）
2020年～ 認定がん・生殖医療ナビゲーター（日本がん・生殖医療学会）

不妊治療は結果の不確かさと時間的制限、カップルでの治療という特徴があり、身体的・心理的・社会的にも大きな負担がある。今回、当院での患者への共有意思決定支援の実際を紹介し、看護の役割と課題について報告する。

当院の特徴は、患者・カップルの背景や治療歴などを考慮し、希望などを取り入れながら、最新のエビデンスに基づいた治療を医療チームで共有し診療している。また診療後に看護師が原則、すべての患者に対応して不明点を解消し、不安をできる限り軽減し、安心して治療が受けられる体制づくりに力を注いでいる。さらに当院通院女性の約9割が就業者であり、仕事と治療継続の両立ができる体制を整えるため16時30分から20時迄の夜間診療にて平均60名の患者を受け入れ、看護師はスケジュール調整相談なども積極的に行っている。

初診カップルへの適切なケアの提供は、通院中断ケースを減少させることにつながる（實崎，2021）ことから、筆者はカップルが納得して不妊治療を受けるプロセスへの看護支援として、①初診時から信頼関係を構築、②最新の正確な情報提供、③理解・納得して進めるよう継続的な支援、④患者の心に寄り添う看護を実践してきた。具体的には初診時には看護師が問診を取り、今までの経過や希望を聞き頑張った努力を労い、一般的な検査や治療法や費用などについて説明し、現在の思いの傾聴をすることで関係性を構築し、仕事と不妊治療の両立の相談など、心理・社会面での支援も行ってきた。診察後の看護師対応により、「治療はなかなかうまくいかないけど、話を聞いてもらってスッキリした」「疑問点が解決した」など、医師には相談できない些細な事項であっても自身の価値観に基づいた相談ができたことで、納得して進む意志決定支援につながっている。また妻が46歳

以上の場合、初診日前に不妊症看護認定看護師（CN）の個別看護師面談を行い、挙児希望の思いや今の状況をゆっくり話せる時間と空間を共有し、治療法や生産率、高齢妊娠と出産の合併症などの情報提供後、選択肢の支援を共有意思決定してきた。その結果、回数を決めての治療を選択される方や治療をしないと選択される方もおられ、自身で納得した道を進む機会になっている。このように患者中心の看護支援を実践してきたが、夜間診療などでは患者数が多いため看護業務が多忙となり、患者の悩みにタイムリーに関わることができないなどのジレンマもある。今後は心理面を支援する資料の作成や書籍・パンフレットの紹介などリソースの充実によって看護支援の補完ができることを予定している。

筆者は不妊症看護CNとして、院長とスタッフの協力のもと、前述した治療過程での看護展開ができていく。2022年現在、全国で172名の不妊症看護CNが活動しているが、現在は教育課程が休講状態である。来年度から不妊症だけでなくとどまらず生殖領域全般の生殖看護認定看護師教育施設として英ウィメンズクリニック・大阪信愛学院大学生殖看護認定看護師教育研修センターの開講準備が進んでいる。生殖医療の専門的知識を持ち生殖看護実践能力が高い生殖看護CNが増え、高度看護実践と看護職への指導・相談が実践できるCNが養成されることで、生殖看護の質が向上し、支援にいかせることを切望している。

Probiotics は定着するのか



門上 大祐

表参道 ART クリニック・
滋賀医科大学大学院

略 歴

2011年 滋賀医科大学医学部医学科卒業
公益財団法人 田附興風会 医学研究所 北野病院
2016年 IVF なんばクリニック
2021年～ 滋賀医科大学大学院医学系研究科産科学婦人科学講座
2023年～ 表参道 ART クリニック

資格：産婦人科指導医、生殖医療専門医、がん生殖ナビゲーター

ヒトと共生する100兆個の細菌は体の各部位で細菌叢を形成しており、生息部位の機能発現、免疫調整を担っている。正常細菌叢からの逸脱 (Dysbiosis) は、宿主の不利益に繋がることが知られている。個別にみると、腎生殖器には全体の9%の細菌が存在し、その大部分を *Lactobacillus* が占めている。過去には無菌臓器と考えられていた子宮にも細菌叢が存在することが明らかになっており、特に子宮内細菌叢と妊娠/着床との関係が着目されている。

子宮や膣の細菌叢においては *Lactobacillus* が減少した状態を Dysbiosis と定義するのが一般的であり、大部分の女性では *L.crispatus*, *L.iners*, *L.gasseri*, *L.jensenii* の1つまたは2つの種が含まれる。近年、*Lactobacillus* の中でも種毎に異なる特徴を有する内容が徐々に明らかになっているおり、細菌叢の評価として種レベル解析の重要性が認識されつつある。Dysbiosis に対する治療手段としては、Antibiotics, Probiotics, Prebiotics, Microbial transplants が候補となる。膣 Dysbiosis の研究では、メトロニダゾール単剤による治療は再発率が高く、理由として、治療後に *L.iners* が優勢な菌叢が形成されることが報告されている。そのため、メトロニダゾール使用後に Probiotics を併用することで高い治癒率が達成されることが報告され臨床応用が期待されている。

我々は子宮内 Dysbiosis に対する治療に着目し、メトロニダゾール、Probiotics, Prebiotics それぞれ単剤では治癒率が低く、メトロニダゾール使用後に *L.gasseri* を主体とする Probiotics を併用することで高い治癒率が得られることを報告した。臨床上も本治療を施行し、高い治癒率と Dysbiosis 改善後の妊娠率を得られていたが、保険化の影響により本剤の使用が難しくなり、現在は *L.acidophilus*, *L.rhamnosus* から構成される Probiotics を使用している。結果、

Probiotics を構成する *Lactobacillus* の種が変わることで子宮内 Dysbiosis の治癒率は低下し、治療後の菌叢の特徴にも変化を認めている。

本講演では、反復着床不全の患者を対象に行った子宮内細菌叢検査の結果、Dysbiosis であった症例に対する治療としての Probiotics の使用経験および、ART 成績への影響、菌叢評価について文献的考察を踏まえて報告する。

反復着床不全に対する免疫学的検索の意義とその対策



福井 淳史

兵庫医科大学
産科婦人科学講座准教授

略 歴

1995年 弘前大学医学部卒業
1999年 弘前大学大学院医学研究科卒業
弘前大学医学部附属病院産科婦人科助手
2005年 米国シカゴ Rosalind Franklin University / The Chicago Medical School 留学
2007年 弘前大学医学部附属病院産科婦人科助教
2011年 弘前大学医学部附属病院産科婦人科講師
2014年 弘前大学医学部附属病院産科婦人科講師兼診療准教授
2016年 仙台ARTクリニック院長
兵庫医科大学産科婦人科学講座講師
2018年 兵庫医科大学産科婦人科学講座准教授
2020年 福島県立医科大学ふくしま子ども・女性医療支援センター特任教授(非常勤)

妊娠の成立や維持には、内分泌系のほかにも免疫系が重要な役割を果たしている。免疫系は、父親由来の抗原を有して母体にとっては異物である胎児を、支障なく着床させ、10ヶ月の妊娠期間中、母体と巧みに協調させ妊娠を維持させる。しかし、免疫学的には異物である胎児がなぜ拒絶されないのかという生殖免疫学の中心的命題が提起されて半世紀以上が過ぎた現在でも、免疫学的妊娠成立維持機構が完全に解明されたとは言いがたい。

妊娠の成立・維持においてT細胞やNK細胞などの免疫担当細胞は、末梢血中や子宮内膜に存在し、子宮内における免疫機構の維持に重要な役割を果たしている。これまで末梢血、子宮内膜、脱落膜中の免疫担当細胞の数および構成比率、あるいは受容体発現やサイトカイン産生異常、産生比率などについての様々な検討がなされ、妊娠の成立や維持におけるT細胞やNK細胞などの免疫系の関与については、ほぼ確立された概念であるといえる。

妊娠中には、1型(TNF- α やIFN- γ などによる炎症性免疫反応)および2型(IL-4, IL-10などによる抗炎症反応)免疫反応がおこる。胚の着床と引き続いておこる子宮内膜への浸潤のプロセスは、炎症性免疫反応、つまり1型免疫反応によるものであり、その後の胎児の成長と発達は抗炎症性の2型免疫反応によるものである。T細胞のうち、1型サイトカインを産生するヘルパーT(Th)細胞はTh1細胞と、2型サイトカインを産生するヘルパーT細胞はTh2細胞といわれ、Th1/Th2比の変化により生殖異常を診断する試みが行われ、反復着床不全や不育症などの生殖異常ではTh1/Th2比が高値となることが知られてきている。子宮内のNK細胞は黄体期から妊娠初期にかけて増加し、妊娠初期には子宮内リンパ球の約70%を占めるようになる。我々は、体外受精・胚移植において細胞

傷害性NK細胞が増加していると妊娠が成立しがたいこと、NK細胞表面に発現するサイトカイン産生と細胞傷害性に関与するNKp46受容体発現が生殖異常で低下することを報告した。さらには精液が子宮NK細胞を変化させ、妊娠が成立・維持されやすい状態へと導くものの、これが起こらない場合には不妊症となる可能性を報告した。またNKp46発現からその後の妊娠予後を推定できる可能性も示している。NK細胞の妊娠への関与については異論がないものと思われるが、適確なバイオマーカーが不足しているため各種ガイドラインではNK細胞の検査は推奨されていない。

いまだデータが不足しており十分なエビデンスとはなっていないのが現状であるものの、NK細胞異常が認められる反復着床不全に対しては、副腎皮質ホルモンやビタミンD、免疫グロブリン療法(IVIG)、脂肪乳剤療法(LE)が有効である可能性が報告されている。これらの治療成績を示すと共にNK細胞の表面抗原発現が着床不全のバイオマーカーとなり得るのかを皆様と議論したい。

子宮内膜ポリープや粘膜下筋腫の対応



岡田 英孝

関西医科大学
産科学婦人科学講座
主任教授

略歴

1993年 関西医科大学卒業
2001年 IVF大阪クリニック医長
2003年 プリンズヘンリー医学研究所(オーストラリア)留学
2015年 関西医科大学産科学婦人科学主任教授
2022年 関西医科大学医学部教務部長
2023年 関西医科大学副学長 教育担当

日本産科婦人科学会(産婦人科専門医・指導医, 理事), 日本生殖医学会(生殖医療専門医・指導医, 理事), 人類遺伝学会(臨床遺伝専門医・指導医・指導責任医), 日本受精着床学会(常務理事), 日本IVF学会(常務理事), 日本がん・生殖医療学会(理事, 認定がん・生殖医療ナビゲーター)

子宮内膜ポリープや粘膜下筋腫は、子宮内腔の構造変化や内膜機能の異常により、着床障害の原因となる。これらは、産婦人科診療で頻繁に遭遇する疾患で、不妊症以外にも異常子宮出血の要因となる。着床障害の原因としては、内腔の変形だけでなく、子宮内膜の炎症性変化、ホルモン感受性障害、胚受容能のズレ、血流障害、子宮収縮異常、胚移動障害などが挙げられ、着床率・妊娠率を向上させる目的で、子宮内膜ポリープや子宮筋腫を切除・除去している。子宮内膜ポリープは、経腔超音波検査で高輝度を示し、ポリープが疑われたら、悪性を否定するために適宜内膜検査を行う。ソノヒステログラフィー、子宮鏡検査で診断して、子宮鏡手術・ポリープ除去術を施行する。

子宮筋腫は、経腔超音波検査でやや低～高輝度を示し、上記検査に加えてMRI検査が診断に有用である。子宮筋腫に対する薬物治療や子宮動脈塞栓術は着床率向上に寄与せず、子宮筋腫摘出・核出術は、不妊症あるいは着床障害への治療適応を慎重に判断して施行する。手術の要否は、明確な基準はないが、筋腫の部位(内腔への圧排)、大きさ、性状、個数、年齢、不妊期間や治療歴、症状、既往の妊娠・分娩・産褥経過を考慮し決定する。さらに、術前の胚凍結の選択肢についても十分検討する。子宮鏡下子宮筋腫摘出術、腹腔鏡あるいは開腹の筋腫核出術の術式は、子宮筋腫の長径、個数、子宮内腔への突出度から判断している。粘膜下筋腫に対する子宮鏡下手術の適応は、筋腫径30mm以下かつ突出度が50%以上を目安とする。

本講演では、当科での症例やデータを提示しながら、子宮内膜ポリープや粘膜下筋腫の対応を概説したい。

非侵襲的な胚評価方法からのモザイク胚アプローチ



木田 雄大

浅田レディースクリニック

略 歴

2010年3月 近畿大学生物理工学部遺伝子工学科卒業
2012年3月 近畿大学大学院生物工学専攻博士前期課程修了
4月 医療法人浅田レディースクリニック入職
現在 浅田レディース勝川クリニックLab長

「胚を傷つけずに、染色体の正常性を評価する方法はないのか。」生殖補助医療に携わる者として、そう思う人は多いのではないだろうか。胚の染色体正倍数性は妊娠・出産に至るための重要なポイントであり、異数性胚は高い確率で着床の失敗や初期流産に繋がりが産子を得ることができない。そのため、正倍数性胚を選択的に移植できれば妊娠・出産への近道となると考えられ、この課題を解決する手法としてPGT-Aが用いられるようになった。しかし、現在の一般的なPGT-Aでは、胚の細胞を一部採取する必要があるため、胚への侵襲性が懸念される。また、胚生検はその操作上あまり気の進む手技ではない。そのため、侵襲性の低い方法で胚の正倍数性や異数性を評価する方法の開発が求められる。

近年、ディープラーニング技術を用いた機械学習が開発されて以来、AIの進歩は目覚ましく、医療分野においても画像診断の支援ツールとして広く応用されるようになった。生殖補助医療分野では、タイムラプスインキュベーターの普及により胚発生画像を記録することが一般的なものとなってきており、以前は得られた胚画像から、発生過程におけるイベントのタイムポイントや発生様式のアノテーションを人の手で行うことで胚質を推察してきたが、ルーチンとして臨床に落とし込むには作業が煩雑で問題があった。しかし、AIにより胚画像から自動で胚質を数値化し評価することが可能となってきており、臨床応用は目前と思われる。Presagen社はLife Whisperer "Genetics"を開発しており、これは「Day5の胚盤胞画像1枚」から「正倍数性胚の可能性」をスコア化するAIである。そのため、普段の培養の過程で得られた画像をAIに解析させるだけで正倍数性の予測を行うことができ、タイムラプスインキュベーターが無い場合も、画質条件の合うカメラさえあれば、所定の培養時間の胚画像を撮ること

で利用可能である。スコアは0.0～10.0までの間で表示され、生検のような侵襲的な操作やサンプリング操作を行う必要が一切無く、正倍数性胚の予測が可能となっており、PGT-Aの代替として期待される。しかし、PGT-Aから得られる結果には「正倍数性」「異数性」以外に「モザイク胚」が存在する。モザイク胚とは1つの胚の中で正倍数性と異数性の細胞が混在している状態であり、STARの報告では10.5%～26.4%の範囲で存在するとされている。モザイク胚は移植胚としての扱いが議論されているが、移植後の妊娠出産成功率が下がるものの、児を得られていることが報告されており、モザイクの箇所や程度によっては、十分なカウンセリングのもと、移植が許容されてきている。そのため、モザイク胚へのアプローチも必要になってくる。

本演題では、AIによる胚画像解析について当院の取り組みをご紹介します。モザイク胚への非侵襲的なアプローチの可能性についてお話ししたい。

現行の侵襲 PGT 診断で生じるモザイク胚アプローチ



杉本 岳

神戸元町夢クリニック
遺伝診療部室長

略 歴

2009年 近畿大学大学院総合理工学研究科理学専攻遺伝カウンセラー養成課程修了
神戸元町夢クリニック入職
2014年 神戸元町夢クリニック培養室主任
2015年 神戸元町夢クリニック遺伝診療部室長
2019年 藤田医科大学大学院医学科分子遺伝学専攻

近年の生殖医学および分子遺伝学の発展により、胚の染色体解析が可能となった。FISHによる染色体解析から始まり、現在ではNGS（Next-generation sequencing）による網羅的な解析が可能となった。PGT-A（Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidies）は不妊治療の選択肢として広く用いられるようになり、PGT-Aの結果に基づく胚選択により、移植当たりの妊娠率向上や流産リスクの低減、不妊治療に有する期間の短縮が期待されている。

現行のPGT-Aは栄養外胚葉（TE）生検により得た5-10細胞から抽出したDNAを鋳型として染色体コピー数解析が実施される。しかし、受精後の有糸分裂で起きた染色体分配エラーは、異なる染色体構成の細胞系列を生じさせ、この異なる細胞系列の細胞が生検細胞中に含まれると、解析結果は中間的なコピー数を示しモザイクと判定される。この結果が正確なものなのか、それとも解析の性質によるアーチファクトなのかは今のところ不明である。また、TEと内部細胞（ICM）の染色体構成が一致しない場合があり、TEの異常が胚の生存性にどのような影響を及ぼすかもわかっていない。このようにPGT-Aで得られるモザイクという結果は、PGT-Aの結果解釈を複雑なものにしている。

網羅的なPGT-Aの普及によりモザイクの検出が可能になって以来、モザイク胚の移植例の報告も徐々に増え、現在までにモザイク胚の取り扱いについて様々な議論がなされてきた。PGT-Aが本邦でも広く実施されるようになったが、十分に理解されていないモザイクという結果に基づいて臨床的判断を下す際には注意すべきである。モザイク胚を移植不適胚として過度に判定することは、累積妊娠率が低くなる可能性がある一方で、最近では胚で検出されたモザイクに関連する染色体異常児の報告も散見され、モザイク胚の移植

後の出生前診断の意義についても議論が必要である。

PGT-Aで生じるモザイクについての議論は今後も不可欠であり、ここでは現行のPGT-Aで生じるモザイクに関する問題点に焦点を当て、各学会の見解・ガイドラインを参考にモザイク胚の理解を深める。

モザイク胚と出生前診断



佐村 修

東京慈恵会医科大学
産科婦人科学講座教授

略 歴

1989年 広島大学医学部附属病院産婦人科研修開始
1998年 タフツ大学ニューイングランドメディカルセンターリサーチフェロー
2009年 呉医療センター産婦人科産科医長
2013年 JA尾道総合病院産婦人科部長
2014年 東京慈恵会医科大学産科婦人科学講座 特任准教授
2016年 東京慈恵会医科大学産科婦人科学講座 准教授
2019年 東京慈恵会医科大学産科婦人科学講座 教授(現職)
2021年 東京慈恵会医科大学附属病院母子医療センター長(併任)

日本産科婦人科学会専門医、指導医、臨床遺伝専門医、指導医、
日本周産期・新生児(母体)専門医、指導医、臨床細胞遺伝学認定士、指導士

着床前胚異数性検査 (PGT-A) 後の妊娠の場合に出生前遺伝学的検査を行う必要があるかどうかという点では、正倍数体と診断された胚を移植した場合には、胎児の異数性染色体異常の検出を目的とした非侵襲性出生前遺伝学的検査 (NIPT) や羊水検査は原則不要と考えられるが、モザイク胚を移植した場合には考慮されることになる。

PGT-Aの染色体検査として主に次世代シーケンシング (NGS) 法が用いられ、全染色体の解析が可能となる。解析に用いる少量の生検細胞(5から10細胞)からの全ゲノム増幅産物量にばらつきが生じること、またNGS法は相対的なばらつきを測定する検査法のため倍数性異常など診断がつかない異常があることなどを含め診断精度は100%ではない。また、羊水穿刺により採取した多数の細胞から染色体解析法ができる羊水検査と比較して診断精度は低下するのでPGT-Aの結果が必ずしも正しくない場合もあり得る。さらに、正倍数性か異数性かの判断がつかないモザイク胚も存在する。したがって、Preimplantation Genetic Diagnosis International Society (PGDIS) はそのようなモザイク胚による妊娠では出生前診断を強く推奨している。また、移植する場合にモザイク胚を使用することは、正数性胚を使用する場合と比較して、負の転帰のリスクが増加する可能性がないわけではない。

しかしながら、PGT-Aにおけるモザイク胚の定義に関してはその判定に関して5つの細胞から行っていることに対して、その判定をもってモザイク胚と本当にいえるのか反対する意見もある。PGT-Aで異数性ありと診断された胚の一部には正常な妊娠につながることを報告している。PGT-Aの正確性を支持するものは、1回のTrophectoderm biopsy (TEB) で「モザイク」胚と「異数性」胚を区別できると主張するが、生物学的な理由と数学的な理由から、1回の平均5細胞

のTEBでは、単に「モザイク」胚と「異数性」胚を区別することはできないとの意見もある。生物学的な理由としては、TEと胎児はそれぞれ異なる細胞系(胚体外と胎児)に由来し、着床前の段階ではそれぞれの異数性は必ずしも関連しない。さらに、胚盤胞後の細胞系では、それぞれ異数体細胞を排除する能力に違いがあり、胚盤胞の胚性細胞系では選択的自己修正を可能にする一方で、胚外細胞系を産生する外胚葉、ひいては胎盤ではそれができない。この違いは、完全に正常な新生児が、しばしば、限局した異数性染色体細胞を持つ胎盤から出産するという観察によって証明されている。

モザイク胚に対する対応も変化してきており将来的には胎児の異数性染色体異常の検出を目的とした出生前遺伝学的検査が必要なしとなる可能性もある。いずれの場合も出生前検査の前後の遺伝カウンセリングが必須である。

先進医療としてのタイムラプスの有効活用と今後の展望



向田 哲規

広島 HART クリニック
理事長・院長

略 歴

- 1985年 高知医科大学医学部産科婦人科学教室入局
- 1988年 マイアミ大学医学部生化学教室と生殖医学教室へ留学：排卵機構の研究および体外受精(IVF)の基礎と臨床の知識習得
- 1989年 帰国し、高知医科大学医学部産科婦人科助手として勤務
- 1990年 産婦人科専門医認定、ダイヤモンド不妊クリニックへ留学(Diamond Institute for Infertility, New Jersey, USA)生殖補助医療のラボディレクターとして勤務し、臨床研究も行う。
- 1995年 5年間の留学研修の後帰国し、広島HARTクリニックに勤務：院長として高度生殖補助医療の症例を管理し、基礎・臨床研究にも従事、ヒト胚の低温保存法(ガラス化法)、高倍率精子選別による顕微授精法(ICSI;IMSI)、持続胚観察システム(タイムラプス)バーコードを用いた生殖補助医療(ART)安全管理システム等の提唱・導入など
- 2002年・2003年 日本受精着床学会、世界体外受精会議記念賞
- 2005年 ガラス化胚盤胞移植法のビデオがASRMのビデオ部門優秀賞
- 2010年 ガラス化胚盤胞移植の周産期成績に関する抄録が、ESHREの口頭発表のClinical Science Awardの候補となる。
- 2013年 広島HARTクリニック、理事長・院長

(社)日本産婦人科学会認定専門医、(社)日本生殖医学会認定生殖医療専門医
日本受精着床学会理事、RBM OnlineのEditorial Board、日本IVF学会常務理事

近年のART医療を取り巻く状況は目まぐるしく変化し、科学技術の進歩に伴って、治療方法、ART Laboの機器も進化発展しており、それらを適切に活用しながら医療レベルを高めることは生殖医療に携わる医療関係者としては重要な責務である。

また、不妊治療領域への保険医療制度の適用に伴い、保険診療と併用することが可能な先進医療制度を活用した新たな技術・治療法の導入の試みも始まっており、近年国内外で急速に普及が進んでいるタイムラプス装置を用いた胚培養もその一つである。また、タイムラプス装置から出力される大量の画像情報をソフトウェア的に処理して胚評価に利用するAIベースのシステムなども急速に発展している。

このタイムラプス観察・培養システムを、どのように活用するかはとても重要であり、ARTラボ内だけでなく、患者説明のToolとして使える点、ART医療に関する教育、職員間の情報共有の点からも有効に使うことは少なからずの投資が必要な機器を設置する場合は考慮すべきである。

本講演では、同技術の導入によるラボ現場の作業の流れや胚評価方法に生じる変化と、施設運営の観点から先進医療としてのタイムラプス装置をより一層有効的に活用するために取りうる方策について、当該施設での使用の実例、経験を含め紹介する。

タイムラプス (EmbryoScope+) 導入後のラボ業務の変化



小野崎 美絵
いしかわクリニック

略 歴
1997年 近畿大学農学部卒業
近畿大学医学部解剖学教室勤務
2002年 いしかわクリニック勤務

現在、多くのART施設にて導入されているタイムラプスインキュベータであるが、当院においても2021年11月に導入した。現在、全症例において、タイムラプスインキュベータ (Vitrolife 社 EmbryoScope+) による胚培養を行っている。本講演では、ラボスタッフとしての視点から、タイムラプスインキュベータ導入前のラボワークの課題、導入に至った経緯、導入後のラボワークの変化、タイムラプスインキュベータの有用性をデータとともに紹介する。

また、近年、様々な分野でAI（人工知能）が発展し、誰もが利用できる時代となった。ART分野においても、タイムラプスインキュベータで得られた連続画像から着床の可能性が高い胚を自動的に識別してくれるAIベースの評価システムが開発され、その能力は発展を続けている。当院においては、Vitrolife 社のiDAScoreを導入し、臨床の現場にて活用している。その活用方法も併せて紹介したい。

ヘテロ接合型欠損個体における加齢による退行性変化 — 組織学的・生理学的解析 —

若松 美沙紀¹⁾, 青木 勇斗²⁾, 園 菜々美³⁾, 藤原 靖浩⁴⁾, 国枝 哲夫⁵⁾, 大月 純子^{1), 3), 6)}

- 1) 岡山大学農学部応用動物科学コース
- 2) 岡山赤十字病院検査部生理検査第二課
- 3) 岡山大学大学院環境生命自然科学研究科
- 4) 東京大学定量生命科学研究所
- 5) 岡山理科大学獣医学部
- 6) 岡山大学生殖補助医療技術教育センター

【目的】

Rnf212は減数分裂の組み換えに関与する重要な因子であり、*repro57*マウスは*Rnf212*遺伝子を欠損した不妊症モデルマウスである。*repro57*ホモ接合型変異雄マウスでは減数分裂が第一分裂中期で停止することで無精子症になるが、*repro57*ヘテロ接合型変異雄マウスでは精子形成に問題はなく、自然交配により産仔を獲得できる。しなしながら、ヘテロ接合型の遺伝子変異の場合の加齢による精子形成能・精子機能への影響は不明である。よって本研究では*repro57*ヘテロ接合型雄マウスの加齢に伴う組織学的変化、および産仔数への影響を調べることを目的とした。

【方法】

9-20週齢マウスを若齢群、45-50週齢マウスを老齢群とし、*repro57*ヘテロ接合型若齢および老齢マウス、野生型若齢および老齢マウスの精子濃度および精子運動率を精子運動解析システム(SMAS, ディテクト社)にて調べた。また、精巣重量の比較、HE

染色画像による精細管の解析により、*repro57*ヘテロ接合型雄マウスの老化による精細管の退行性変化を調べた。さらに、過排卵処理した野生型雌マウスと*repro57*ヘテロ接合型若齢および老齢、野生型若齢および老齢マウスの交配による産仔数を比較した。

【成績】

野生型マウスでは若齢、老齢マウス間に精子濃度および運動性に有意な差が見られず、野生型若齢マウスと*repro57*ヘテロ接合型若齢マウス間においても有意差が見られないのに対し、*repro57*ヘテロ接合型老齢マウスでは、野生型若齢および老齢に比べ、いずれも有意な低下が見られた。精巣重量においても*repro57*ヘテロ接合型老齢マウスでは同様に他群すべてと比較して有意な減少が認められた。HE染色による組織染色の結果、*repro57*ヘテロ接合型老齢マウスの精細管面積、精細管面積あたりの円形精子細胞数および伸長精子細胞数は、*repro57*ヘテロ接合型若齢と野生型若齢マウス間に有意な差は見られないものの、*repro57*ヘテロ接合型老齢マウスではヘテロ接合型若齢マウスに比べて有意な減少が認められた。また、精細管の1横断面あたりに存在した空胞の総面積において*repro57*ヘテロ接合型老齢マウスは他群に比べ有意な増加が認められた。産仔数は*repro57*ヘテロ接合型老齢マウスでは他群と比較し有意に減少した。

【結論】

本研究より*repro57*ヘテロ接合型マウスでは加齢による顕著な老化様退行性変化が認められた。また、*repro57*ヘテロ接合型老齢マウスにおける産仔数の減少は、空胞形成、精子濃度と運動率の低下に起因すると考えられた。本研究の結果より、他の精子形成に関連する遺伝子変異においてもヘテロ接合型を有する症例では加齢による精子形成機能低下が起こる可能性が考えられ、本研究結果はヘテロ接合型の加齢に起因する造精障害解明の一助となり得る。

光染色を行った。

【成績】

IBMX 2.0~3.0mM添加区で異常な卵細胞分裂が見られ、濃度に比例し異常分裂の割合も増加した(2.0mM: 14.3%, 2.5mM: 33.7%, 3.0mM: 55.6%)。また、これは紡錘体のローテーション不全によって生じ、卵が二分(一方は大きな極体)することがtime-lapse観察システムによって判明した。同時に、IBMX 2.0~3.0mM添加区ではクロマチン凝集塊(AC)の形成も見られ、濃度依存的にAC形成頻度が上昇した(2.0mM: 22.4%, 2.5mM: 64.4%, 3.0mM: 100%)。このAC形成は、分裂失敗および異常分裂が起きた卵子でも観察された。また、dbcAMPでも同様に15~40mM添加区で濃度依存的なAC形成が観察された(15mM: 2.5%, 20mM: 3.6%, 25mM: 35.0%, 30 mM: 77.9%, 35 mM: 90.7%, 40mM: 100%)。また、IBMXおよびdbcAMPなしの培養液で洗浄後4時間培養後、紡錘体を再形成し、紡錘体-AC形成は可逆的に起こることが確認された。

【結論および考察】

本研究より、細胞質内のcAMP濃度の上昇による異常な細胞質分裂は紡錘体のローテーション不全によることが判明した。また、ヒト卵母細胞やブタ卵母細胞で報告されているACは、通常マウス卵母細胞には存在しない現象であるため、ヒト卵母細胞およびブタ卵母細胞でのAC形成がcAMP濃度の上昇と関連があることが考えられる。ヒトやブタ卵母細胞の紡錘体は卵表層に対して垂直に形成されることから、卵細胞質内cAMP濃度の上昇に起因する異常分裂は起こらないことが推測される。なお、本研究で判明したcAMP濃度上昇によるAC形成は、核置換(細胞質置換/ミトコンドリア置換)法のマウスモデルとなり、ミトコンドリアの持込がより少ない安全な方法としての有用性が確認できており、ヒトへの応用が期待される。

マウス卵母細胞質内cAMP濃度上昇による卵の異常分裂およびクロマチン凝集塊形成

赤尾 咲来¹⁾, 肖 維²⁾, 大月 純子^{1), 2), 3)}

- 1) 岡山大学農学部応用動物科学コース
- 2) 岡山大学大学院環境生命自然科学研究科
- 3) 岡山大学生殖補助医療技術教育センター

【目的】

環状ヌクレオチドであるcAMPは、哺乳類において卵子の成熟の制御における重要な役割を果たしており、cAMP濃度の上昇が減数分裂第一期での分裂停止の維持に必要である。しかし、cAMP濃度の上昇によって卵の異常分裂が引き起こされることが報告されており、そのメカニズムについては不明である。本研究ではcAMP濃度上昇が第一減数分裂時の卵母細胞にもたらす影響について検討した。

【方法】

過排卵処理を行ったICR雌マウスのGV卵を採取後GVBDした卵を、非特異的PDE阻害薬である3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX) または内因性cAMPの作用をもつdibutyryl-cAMP (dbcAMP) にて20時間培養した。濃度はIBMXが0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0mMの7グループ、dbcAMPが0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40mMの9グループで検討を行った。紡錘体および細胞分裂の動態観察にはtime-lapse観察システム(PrimoVision, VitroLife)を使用した。また、薬剤除去後の紡錘体形成を確認するため、DAPIを用いたDNA染色および抗 α -tubulin抗体を用いた免疫蛍

プロゲステロンとエストラジオールによる精子超活性化運動と体外受精の調節

藤ノ木 政勝

獨協医科大学医学部先端医科学統合研究施設実験動物センター

【目的】

哺乳類精子は受精能獲得という質の変化を経なければ卵と受精できない。受精能獲得を経た精子は超活性化運動という独特の運動様式を示すようになる。ハムスター精子においてプロゲステロンは超活性化運動の惹起を促進し、エストラジオールは促進分を抑制することを報告している。超活性化運動は受精能獲得と連動していることから、プロゲステロンとエストラジオールによる超活性化運動の調節に伴って受精が調節されるのか、マウスを用いて検討を行った。

【方法】

モデル動物としてICRマウスを用いた。培地にmTALP溶液を使用し、精子受精能獲得および体外受精を実施した。運動解析は

ビデオ位相差顕微鏡を用いて行い、体外受精は通常のマウス体外受精法のプロトコールで行った。

【成績】

マウス精子の超活性化運動はプロゲステロンによって惹起の促進が起こり、エストラジオールによって促進が抑制された。プロゲステロンは20 ng/mlで最もよく惹起の促進を示し、エストラジオールはプロゲステロンの濃度の約1/1000の濃度(20 pg/ml)を境にこれより濃い濃度の時に抑制し、薄い濃度の時には抑制をしなかった。次に体外受精を行ったところ、超活性化運動の惹起の促進及び促進の抑制と連動する様に、プロゲステロンにより体外受精の成績は向上し、エストラジオールによって向上が抑制された。

【結論】

今回の検討からプロゲステロンは超活性化運動の惹起を促し、さらに体外受精での受精の向上も促すことが分かった。そして、エストラジオールはこれらプロゲステロンの作用を抑制していた。プロゲステロンとエストラジオールの作用は濃度依存的であったことから、生体内においてプロゲステロンとエストラジオールの分泌量の変化に伴った配偶子レベルでの受精調節が起こっている可能性が考えられた。

当院における新鮮胚移植と凍結胚移植の比較検討

人見 裕子, 佐々木 亜衣, 田中 亜理佐, 西村 美希,
久保田 健, 田村 出, 山口 剛史, 渡邊 由美子, 石川 弘伸,
渡邊 浩彦

醍醐渡辺クリニック

【目的】

近年、本邦では凍結胚移植が増加しており、なかでも全胚凍結後に融解胚移植を行う施設が増えている。重症OHSSの回避やPPOS法など、全胚凍結が必須な場合以外での医学的必要性に関しては明確な議論が少ない一方で、ホルモン補充による凍結融解胚移植が種々の産科合併症の増加を来すことがわかり、新鮮胚移植を見直す動きも見られる。当院では以前より年中無休の体制のもと、患者が少しでも早く妊娠に至るように、条件が適していれば積極的に新鮮胚移植を行ってきた。今回、新鮮胚移植が有用な選択肢か否かを検討するため、当院の新鮮胚移植、ホルモン補充(HR)による凍結胚移植及び排卵周期での凍結胚移植に分けて臨床成績を後方視的に検討した。

【方法】

2021-2022年の2年間に当院において胚盤胞移植を行った2523周期のうち、新鮮胚移植367周期(F群)、HR法凍結胚移植を行った

1987周期(CH群)、排卵周期で凍結胚移植を行った169周期(CN群)において妊娠率、流産率を胚移植時の年齢別に比較検討を行った。(尚、当院の採卵周期では採卵日の採卵数、E2値、P値、胚の発育速度などにより新鮮胚移植すべきか判断している)

【結果】

F群, CH群, CN群での移植あたりの妊娠率は、各35歳以下63.3% (50/79), 66.8% (571/855), 56.7% (34/60), 36~39歳では61.0% (83/136), 56.7% (360/635), 49.2% (29/59), 40歳以上28.9% (44/152), 40.2% (200/497), 30.0% (15/50)と40歳以上のCH群が高い傾向にあるが有意差はなかった。流産率は、各35歳以下6.0% (3/50), 17.3% (99/571), 11.8% (4/34), 36~39歳では15.7% (13/83), 21.7% (78/360), 13.8% (4/29), 40歳以上43.2% (19/44), 32.0% (64/200), 20.0% (3/15)と35歳以下のF群はCH群より有意に低かった($p < 0.05$)。

【結論】

新鮮胚移植も凍結胚移植と同様に良好な妊娠率であった。流産率は35歳以下においてはHR法凍結胚移植で有意に高く、次いで排卵周期凍結胚移植、新鮮胚移植の順で低い結果となった。新鮮胚移植に適した症例を慎重に選択すれば良好な妊娠率が期待できるとともに、35歳以下では流産率も低いいため新鮮胚移植は有効な胚移植の選択肢であることが示唆された。また有意差はないものの凍結胚移植においては、HR法より排卵周期での移植による方が流産率は低い傾向にあるため、同法での凍結胚移植を今後増やして検討していきたい。

反復 ART 不成功例に対する凍結融解胚移植周期多血小板血漿子宮内膜投与法有用性の検討

山田 悠太¹⁾, 大垣 彩¹⁾, 水野 里志¹⁾, 上田 匡¹⁾, 重田 護¹⁾, 辻 勲¹⁾, 福田 愛作¹⁾, 森本 義晴²⁾,

1) IVF 大阪クリニック
2) HORAC グランフロント大阪クリニック

【目的】

多血小板血漿 (PRP) には多くの生理活性物質が含まれ、組織修復や再生能力を高めることが知られている。生殖補助医療の分野でも胚移植周期の子宮内腔に PRP を投与することで、子宮内膜の肥厚や着床環境が改善され妊娠率が向上することが報告されている。当院では 2021 年 3 月から子宮内 PRP 療法を開始した。今回、当院での反復 ART 不成功例における子宮内 PRP 療法の有用性を検討したので報告する。

【方法】

2021 年 3 月から 2022 年 5 月までに、子宮内 PRP 療法実施周期 (以下 PRP 周期) に凍結融解胚移植を実施した反復 ART 不成功例 27 症例を対象とした。

PRP の抽出にはスマートプレップシステム (テルモ BCT 株式会社) を用い、子宮内膜への投与は原則月経周期の 12 日目と 14 日目に実施した。本検討は認定再生医療等委員会の倫理審査の後、厚生労働省に臨床試験番号 PB5200038 として登録している。

- ①患者背景を評価した。
- ②症例あたりの臨床妊娠率を算出した。また、前回の凍結融解胚移植から本周期までに着床検査及び治療を追加で実施していない 19 症例に対し、PRP 周期と前回の移植周期で臨床妊娠率を比較した。

ART 妊娠後の流産と子宮内フローラの関連性について

坂井 和貴¹⁾, 長谷川 麻理¹⁾, 野手 健造¹⁾, 杉野 明香²⁾, 田中 克²⁾, 荒井 渉²⁾, 芦川 亨大²⁾, 嶋田 美穂²⁾, 伊木 朱有美¹⁾, 鍋田 基生¹⁾

1) つばきウイメンズクリニック
2) Varinos 株式会社

【目的】

近年、子宮内細菌叢 (子宮内フローラ) と不妊症の関連性が指摘されているが、妊娠成立後における流産と子宮内フローラとの関連性の研究は豊富とは言えない。そこで本研究では、ART 妊娠後の周産期予後と子宮内フローラの関連性について後方視的に検討を行った。

【方法】

2021 年 4 月から 2022 年 12 月までに当院にて ART 妊娠後に流産あるいは正期産となり、喫煙歴なし、慢性子宮内膜炎陰性、かつ流産症例については流産絨毛染色体検査 (POC 検査) が実施され胎児の染色体異常の有無が確認された 18 症例を対象とした。子宮内フローラ検査では、子宮内腔液を採取し NGS を用いて各細菌の占有率を算出した。POC 検査の結果を考慮し、周産期予後と子宮内

③対象症例のうち子宮内膜肥厚を目的とした 5 症例 7 周期について移植時子宮内膜厚を過去の移植周期と比較した。

【成績】

- ①平均年齢は 37.0 ± 4.8 歳、過去の平均移植回数は 5.6 ± 2.9 回であった。ERA 検査かつ加療後であった症例は 70.4% (19/27)、EMMA 検査かつ加療後であった症例は 88.9% (24/27)、凝固溶解系及び免疫系の着床検査実施かつ加療後の症例は 92.6% (25/27)、慢性子宮内膜炎検査実施かつ加療後の症例は 85.6% (23/27) であった。また、本検討までに PGT-A 正倍数性胚の移植経験がある症例は 63.0% (17/27) であった。
- ②症例あたりの臨床妊娠率は 44.4% (12/27) であった。また、同一背景下での比較では PRP 周期の臨床妊娠率は 47.4% (9/19)、前回の移植周期では 5.3% (1/19) であったが流産となった。PRP 周期で臨床妊娠率は有意に高かった。
- ③子宮内膜肥厚を目的とした 5 症例の移植時平均内膜厚は 8.3 ± 0.8 mm で過去の移植時平均内膜厚は 8.9 ± 1.0 mm と差はなかった。症例ごとに比較しても明らかな肥厚を認めなかった。

【結論】

子宮内 PRP 療法を実施した症例は、着床に関する様々な検査だけでなく PGT-A も実施済みであり反復 ART 不成功例の中でも難治性の症例であった。しかしながら、子宮内 PRP 療法を実施することで、妊娠率が有意に向上した。PRP 内に含まれる細胞増殖や血管新生に関与する何らかの成長因子の働きにより着床環境が改善され臨床妊娠に至った可能性が示唆された。また、子宮内膜が明らかに肥厚した症例はなく、本検討では子宮内膜肥厚の効果を認めなかった。

2022 年 4 月からの不妊治療に対する保険適用により、PRP 療法のような自費治療との混合診療が不可能となったことから症例のリクルートが困難な状況となっている。どのような症例に有効であるかの検討にはまだ多くの症例が必要であるため、限られた制度の中で子宮内 PRP 療法の有効性を明らかにするための努力を継続したい。

フローラの関連性について検討を行った。尚、本研究は患者同意を得て行った。

【成績】

対象症例を POC 検査の結果を含めて流産 Euploid 群 (6 症例)、流産 Aneuploid 群 (5 症例)、出産群 (7 症例) に分類した。属レベルで見ると *Bifidobacterium* 属の平均占有率は 12.5%、0.0%、0.0% と流産 Euploid 群で高い傾向にあった。*Lactobacillus* 属の平均占有率はそれぞれ 53.8%、22.0%、56.4% となり有意差は認められなかったが、種ごとに層別比較検討した結果、*L.gasseri* の平均占有率が 3.3%、1.6%、29.7% と出産群で高い傾向となった。また、*Liners* については 30.6%、19.8%、14.0% と流産 Euploid 群で高い傾向となった。

【結論】

流産 Euploid 群、流産 Aneuploid 群、出産群において、属ごとに検出率および平均占有率の比較を行った結果、有意な差は得られなかった。*Bifidobacterium* 属、*Prevotella* 属は流産 Euploid 群で平均占有率が高い傾向があり、これらの菌は胚の染色体数が正常である Euploid で見られるため、周産期予後に悪影響を及ぼしている可能性が考えられた。また、*Lactobacillus* 属について種レベルで比較した結果、*L.gasseri* は出産群において平均占有率が高く、*Liners* は流産 Euploid 群において平均占有率が高い傾向が見られた。これらのことから、同じ *Lactobacillus* 属でも *L.gasseri* は妊娠維持に関わる可能性が考えられ、*Liners* は流産と関連する可能性が示唆された。

低乳酸培養液を用いた 胚培養成績の比較検討

籠橋 茜, 阿部 礼奈, 角本 知世, 古橋 孝祐, 岩崎 利郎,
伊藤 宏一, 岡本 恵理, 苔口 昭次, 塩谷 雅英
英ウィメンズクリニック

【目的】

富士フィルム和光純薬社のCSC-NXは培養液中の過剰な乳酸蓄積を防ぎ、代謝ストレスを減らすことを目的として開発された低乳酸濃度培養液である。今回我々はCSC-NXと従来の培養液の培養成績を比較検討したので報告する。

【方法】

2022年10月から2023年3月に当院で採卵を行った117症例(n=1174)について、cIVF症例は回収卵数7個以上、ICSI症例はMII卵数4個以上を対象とした。cIVF症例は媒精4時間後から、ICSI症例は精子穿刺後からCSC-NX(CN群)(n=555個)とOrigio社SAGE 1-step(SAGE群)(n=619個)にランダムに分けてsibling培養した。受精率、分割率、分割期良好胚率、胚盤胞発生率(Day5)、良好胚盤胞率(Day5)を比較し、カイニ乗検定を用いてp

<0.05を有意差ありとした。なお、分割期良好胚はVeeck分類の4cellG2以上、良好胚盤胞はGardner分類のG3BB以上とした。

【結果】

検討対象の妻平均年齢と当院平均ART回数はcIVF25症例では35.5±5.3歳と2.8±1.9回であり、ICSI92症例では34.2±4.6歳と1.9±1.4回であった。cIVF症例におけるCN群とSAGE群の培養成績は受精率(82.0% vs 81.8%)、分割率(87.2% vs 86.8%)、分割期良好胚率(52.6% vs 57.1%)、継続培養胚当たりの胚盤胞発生率(59.8% vs 54.9%)、施行卵数当たりの良好胚盤胞率(21.8% vs 20.3%)と、受精卵数当たりの良好胚盤胞率(26.6% vs 24.8%)となり、両群に有意な差を認めなかった。次にICSI症例においては受精率(83.6% vs 85.4%)、分割率(92.6% vs 95.3%)、分割期良好胚率(50.2% vs 55.9%)、継続培養胚当たりの胚盤胞発生率(61.2% vs 54.4%)で両群に差を認めなかったが、施行卵数当たりの良好胚盤胞率(29.6% vs 21.7%)と、受精卵数当たりの良好胚盤胞率(35.4% vs 25.4%)はCN群で有意に高くなった(P<0.01)。

【考察】

ICSI症例において低乳酸濃度培養液を使用することで良好胚盤胞率が有意に上昇しその有用性が示唆された。胚の発生における代謝産物として細胞内外に乳酸が蓄積される。培養液中の乳酸濃度が低い環境では乳酸によるストレスが軽減され、質の高い胚盤胞が増えたのではないかと考えられた。

Conventional IVF由来1PNの 直径は移植後経過に影響しない

西野 奈緒美¹⁾, 中野 達也¹⁾, 佐藤 学^{1), 2)}, 中岡 義晴¹⁾,
森本 義晴²⁾

1) IVF なんばクリニック

2) HORAC グランフロント大阪クリニック

【目的】

Conventional IVF(c-IVF)において、受精確認時に1前核のみの胚(1PN胚)がしばしば観察される。精子侵入後6時間程度で前核が形成されるが、c-IVFでは精子の進入時間を特定できない。そのため当院ではc-IVF後の1PN胚を正常受精とし、良好に発育した場合は2PNと同様治療に用いている。以前に、同一症例の2PN胚の前核直径に比べ1.2倍以上の直径を持つ1PN胚の発育能は高く、前核の直径比は発育能予測因子になりえることを報告した。本検討は直径別での1PN胚由来の移植後経過を比較、後方的に検討した。

【方法】

2017年1月から2021年12月に当院でc-IVFを施行後、タイムラプスインキュベータにて培養し、分割期胚または胚盤胞にて凍結保

存、その後単一凍結融解胚移植を行った2304周期を対象とした。なお、1PN胚は前核直径30µm以上(大)と30µm未満(小)に分類した。内訳としては2PN胚(2234周期)、1PN胚(大)(49周期)、1PN胚(小)(21周期)であった。検討:1PN胚(大)、1PN胚(小)、2PN胚由来の移植後の生産率(=生産数/GS数)、流産率(=流産数/GS数)、出生児の体重、胎盤重量を比較した。

【成績】

妻年齢において1PN胚(大) vs. 1PN胚(小)のみ有意な差を認めた(1PN胚(大):36.1歳 vs. 1PN胚(小):38.8歳 vs. 2PN胚:37.1歳)。2PN胚、1PN胚(大)と1PN胚(小)において、着床率、生産率、流産率、出生児の体重、胎盤重量、在胎日数で差はなかった(着床率39.7%(886/2233) vs. 44.9%(22/49) vs. 42.9%(9/21)、生産率75.8%(672/886) vs. 77.3%(17/22) vs. 66.7%(6/9)、流産率21.4%(190/886) vs. 18.2%(4/22) vs. 22.2%(2/9)、出生児の体重3079.2g vs. 3159.5g vs. 3352.4g)、胎盤重量(584.2g vs. 550.2g vs. 632.8g)、在胎日数(282.0日 vs. 277.6日 vs. 276.2日)。

【結論】

本検討において、前核直径に関わらずc-IVF由来1PN胚を移植しても妊娠、生産、流産には影響がないことが示唆された。しかし、前核直径が30µm未満の場合、妊娠、生産、流産には影響がないものの、前核直径が30µm以上と比較すると胎盤が重くなる傾向にある。今後は出生後の発育状況も含め症例数を増やし、さらに検討していく必要があると考える。

精子選別におけるAIの有用性 — AIによる良好精子選別支援の 効果検討 —

石橋 和悟, 長谷川 久隆, 浦嶋 紗妃, 宮崎 史佳,
村田 さくら, 星野 由貴, 佐藤 由莉香, 佐野 憲一,
関本 僚平, 吉田 淳
本場公園クリニック

【目的】

顕微授精(ICSI)に採用する精子の選別では、培養士の技術に依存が大きく客観性に課題がある。

近年、人工知能(AI)による画像認識技術の急激な進歩から、不妊治療の現場においてもAIが活用され客観的な胚評価が可能となっている。

株式会社エビデントは倒立顕微鏡下で直接精子を観察しながら、リアルタイムでAIによる精子選別が可能となるシステムを開発した。

我々は株式会社エビデントと共同研究し、AIによる良好精子選別支援が倒立顕微鏡下での精子選別にどのような効果があるか比較検討した。

【方法】

頭部の幅、長さ、縦横比、楕円との近似、左右の対称性、空胞の数、頭部の幅に関してAIが良好精子と判定する数値を基準培養士が設定した。

2023年3月～6月に当院で顕微授精を実施した中で、研究同意を得て提供された臨床使用後の破棄精子10サンプルを対象とした。

ICSI歴11年と4年のスタッフ2名がそれぞれAI未使用下、AI使用下で精子を10匹ずつ選別し、基準培養士が良好精子を判定、良好精子選別率を算出した。

AI使用下では、AIにより選別された精子の中から最終的に各個人が良好と判断した精子を選択するものとした。加えて、精子1個あたりの平均選別時間を比較検討した。

【成績】

設定した基準となる数値は、頭部の幅:3.16～4.35 μ m、頭部の長さ:4.50～5.55 μ m、頭部縦横比:1.27～1.51、頸部の幅:1.98以下、頭部と楕円の近似:0.044以下、左右対称性:0.4以下、空胞の数:無しとした。

良好精子選別率はICSI歴11年のスタッフのAI未使用下、AI使用下でそれぞれ69% \pm 12.2、56% \pm 14.3であった。また、ICSI歴4年のスタッフではAI未使用下、AI使用下それぞれ67% \pm 10.0、65% \pm 12.8であった。

共にAIの選別補助による良好精子選別率に有意な差は無かった。

精子1個辺りの平均選別時間はICSI歴11年のスタッフでAI未使用下、AI使用下それぞれ92.8 \pm 31.5(秒)、56.1 \pm 12.8(秒)($P<0.01$)であった。ICSI歴4年のスタッフではAI未使用下、AI使用下それぞれ101.8 \pm 33.7(秒)、80.3 \pm 20.2(秒)($P<0.01$)であった。

両スタッフ共にAI使用下において選別時間が有意に減少した。

【結論】

良好精子選別率に差が無く、1個あたりの精子選別の時間が短縮されたことから、AIによる良好精子選別支援は精子選別の精度を維持したまま、業務の効率化が可能となることが示された。

また、ICSIの経験年数によらずAIによる精子選別に効果が得られたことから、顕微授精をこれから始めるスタッフへの教育支援にも効果が期待された。

採卵時の局所麻酔使用における 痛みの軽減を目指して

藤井 美喜, 下村 紫, 青木 愛, 江夏 徳寿, 苔口 昭次,
塩谷 雅英
英ウィメンズクリニック

【目的】

採卵時の疼痛緩和の方法は、静脈麻酔、局所麻酔、鎮痛剤内服などがある。当院では局所麻酔の使用経験は10年以上に及び、現在では調節卵巣刺激後の採卵時の麻酔時の約半数以上の患者に使用している。採卵時の痛みの程度を分析することで、今以上の疼痛軽減をすることを目的とした。

【方法】

2022年12月～2023年1月に局所麻酔で採卵を受けた患者に対しアンケートを実施した。局所麻酔薬は塩酸メピバカインを使用し、23Gの穿刺針を用いて経膈超音波下に膈壁から左右卵巣近傍腹膜下に浸潤させる方法を用いている。採卵時と採卵後の疼痛変化をNRSスコア(Numerical Rating Scale)を用いて分析した。

【成績】

計224名から回収した(回収率58.0%)。平均年齢は38.0(\pm 4.7)

歳、平均麻酔使用量は7.0(\pm 2.5)ml、平均採卵所要時間7.8(\pm 3.3)分、平均卵巣穿刺数11.2(\pm 8.8)個であった。局所麻酔方法の選択については「自分が決めた」57.1%、「医師が決めた」34.4%であった。採卵時の痛みはNRSスコア5.5 \pm 2.5、採卵後は3.8 \pm 2.9に減少した($p<0.01$)。39.7%の患者が採卵後も下腹部の痛みが続いていた。採卵時の痛みと卵巣穿刺数の関係は $y = 0.5061x + 8.7841$ 、 $R^2 = 0.3257$ で正の相関がみられた。また、卵巣穿刺数13個以上の時、強い痛み(NRSスコア7～10)であった。採卵時の痛みは「穿刺時」84.8%が最も多く、次に「採卵直前の膈消毒」29.5%であった。採卵時の痛みは、「予想より痛くなかった」32.6%と返答していた。採卵後に55.8%の方が鎮痛剤を内服し、多くは30分以内に内服していた。また、声かけや肩をさするなどスキンシップが緊張緩和につながっていた。

【結論】

採卵後の痛みは有意に軽減できていたが採卵後約3割の患者に痛みが続いていたため、採卵後の疼痛緩和を今まで以上に迅速な対応が必要である。穿刺数が増えるほど痛みが強い傾向であり、採卵穿刺数13個以上の時に強い痛みを生じていたことから、穿刺技術の向上と静脈麻酔使用の有無を考慮していきたい。声かけやスキンシップが緊張緩和につながっていたことから、今まで以上に行うことで緊張を緩和し、疼痛緩和につなげたい。

日本IVF学会による黄体補充のアンケート調査

東口 篤司

札幌エンドメトリウムリサーチ

【目的】

日本IVF学会は2013年に当時のARTにおける黄体補充の実態を調査するため第1回目のアンケート調査をおこない、2017年には4種類のP4陰剤が出そろってから1年が経過した時点で黄体補充がどのように変化したか調査するため第2回目のアンケート調査をおこなっているが、今回、2023年3月末の時点で不妊治療の保険適用が始まってから1年が経過し、また最近発生している薬剤供給の滞りが国内のARTにおける黄体補充にどのように影響しているかを調べるため、2023年6月に第3回目のアンケート調査をおこなった。

【方法】

日産婦ART登録施設623施設にオンラインでアンケート調査を実施した。

【成績】

132施設(21.2%)から回答があった。1施設からの回答に不明な点があり131施設からの回答を分析した。

施設あたりの卵胞ホルモンの新鮮胚移植/凍結胚移植における使用率(%)は、E2貼付剤:22.1/90.1、マイクロナイズドE2:7.6/38.2、結合型エストロゲン:5.3/21.4、経口避妊薬:3.1/3.1、エステル型E2経口剤:2.3/7.6、E2ゲル剤:0.8/16.0、エステル型E2注射薬:

0.8/3.8だった。

施設あたりの黄体ホルモンの新鮮胚移植/凍結胚移植における使用率(%)は、P4陰剤:53.4/84.0、ジドログステロン:37.4/49.6、P4経口剤:23.7/37.4、クロールマジノン酢酸エステル:14.5/25.2、ヒドロキシprogステロンカプロン酸エステル:9.9/13.0、P4注射薬:5.3/9.2、経口避妊薬:3.1/2.3、メドロキシprogステロン酢酸エステル:1.5/3.8、自家製P4陰剤:0.8/0.8だった。

のべ治療周期あたりの(同一の1周期に2種類の薬剤を併用した場合、のべ周期は2周期と計算されている)卵胞ホルモンの新鮮胚移植(のべ3272周期)/凍結胚移植(のべ57769周期)における使用率(%)は、E2貼付剤:79.7/70.3、結合型エストロゲン:7.6/9.0、経口避妊薬:5.9/1.5、エステル型E2注射薬:3.0/2.3、マイクロナイズドE2:2.5/11.3、エステル型E2経口剤:1.3/3.9、E2ゲル剤:0.03/1.6だった。

のべ治療周期あたりの黄体ホルモンの新鮮胚移植(のべ10170周期)/凍結胚移植(のべ74736周期)における使用率(%)は、P4陰剤:37.5/47.9、ジドログステロン:18.9/14.9、P4経口剤:16.3/17.4、ヒドロキシprogステロンカプロン酸エステル:9.9/3.0、クロールマジノン酢酸エステル:7.8/14.5、自家製P4陰剤:6.9/0.04、経口避妊薬:1.4/0.5、メドロキシprogステロン酢酸エステル:1.3/1.2、P4注射薬:0.3/0.6だった。

使用時期に関しては卵胞ホルモン、黄体ホルモンとも妊娠8~9週にピークが認められた。

【結論】

2017年のアンケート調査と結果と比較すると、卵胞ホルモン製剤では貼付剤が多く、黄体ホルモン製剤ではP4陰剤が多い点では変わりなかった。一方、注射薬のホルモン製剤が激減し、P4経口剤が増加していた。

クロミフェン周期後分割胚移植の内膜厚別妊娠率の検討 — 新鮮胚移植と凍結胚移植の特徴 —

米山 剛一, 嶋村 純, 藤城 栄美, 香川 愛子, 田中 理恵子, 針金 幸代, 寺田 光二郎, 伊藤 訓敏, 家田 祥子, 貝嶋 弘恒
みなとみらい夢クリニック

【背景】

当科における分割胚移植において新鮮胚移植と凍結融解胚移植では、自然周期、レトロゾール周期では臨床的妊娠率に大きな差は認められなかった。しかし、クロミフェン周期のみ凍結融解胚移植の方が高い臨床的妊娠率を呈した。

【目的】

クロミフェン周期採卵後の分割胚移植において子宮内膜厚が臨床的妊娠率に与える影響を新鮮分割胚移植、排卵後凍結融解分割胚移植の各々に分け検討し、その特徴を把握する。

【方法】

当院にて2019年1月1日から2023年4月30日までにクロミフェン使用による新鮮分割胚移植あるいは採卵周期以降の周期に排卵後凍結融解分割胚移植を施行し、プセリリン酢酸塩によるトリガー時、および移植時の両者の内膜厚を測定し得た周期を検討し、子宮内膜厚が臨床的妊娠に与える影響を検討した。ホルモン補充周期は除外した。

【成績】

新鮮分割胚移植周期は235周期あり、症例の平均年齢は、35.7

(24.0-46.0)歳、平均採卵回数は1.5回、平均の移植回数は0.9回であった。症例全体の臨床的妊娠率(胎嚢出現率)は、23.4%であった。移植時子宮内膜厚別の臨床的妊娠率は、内膜厚8.0-10.0mm:15.8%(n=38)、10.1-12.0mm(n=117):21.4%、12.1-14.0mm(n=74):25.7%、14.1mm以上(n=6):83%であった。また、トリガー時の子宮内膜厚別の臨床的妊娠率は、内膜厚7.0mm未満:17.6%(n=51)、7.1-8.0mm:24.2%(n=91)、8.1-9.0mm:16.7%(n=36)、9.1-10.0mm:34.3%(n=35)、10.1mm以上:27.3%(n=22)であった。媒精別ではregular法で25.4%、顕微授精で23.8%であった。他方、排卵後凍結融解分割胚移植は512周期認められ、症例の平均年齢は、34.8(25.0-45.0)歳であった。症例全体の臨床的妊娠率(胎嚢出現率)は、38.5%であった。移植時子宮内膜厚別の臨床的妊娠率は、内膜厚8.0-10.0mm:32.0%(n=97)、10.1-12.0mm(n=289):37.0%、12.1-14.0mm(n=125):44.8%、14.1mm以上(n=1):100%であった。また、トリガー時の子宮内膜厚別の臨床的妊娠率は、内膜厚8.0mm未満:41.9%(n=31)、8.0-8.9mm:35.2%(n=128)、9.0-9.9mm:37.0%(n=108)、10.0-10.9mm:39.5%(n=114)、11.0-11.9mm:35.6%(n=45)、12.0-12.9mm:45.8%(n=48)、13.0-13.9mm:35.3%(n=17)、14.0mm以上:38.1%(n=21)であった。

【考察】

トリガー時の子宮内膜厚別の臨床的妊娠率に注目すると新鮮分割胚移植では、9.0mm以上で臨床的妊娠率が30%台に上昇した。他方、凍結融解分割胚移植では、トリガー時の子宮内膜厚が8.0mm未満でも41.9%の臨床的妊娠率を呈した。この差が全体的な臨床的妊娠率の差に反映されているものと思われた。

【結論】

クロミフェン周期後の分割胚移植における臨床的妊娠率は、新鮮分割胚移植では23.4%、凍結融解分割胚移植では、38.5%であった。この臨床的妊娠率の差異は、凍結融解分割胚移植ではより薄い内膜厚でも臨床的妊娠が認められることにあると考えられた。

SMASを用いた男性不妊患者へのL-カルニチン, CoQ10含有サプリメント投与の有効性の検討

朝香 未来¹⁾, 尾形 龍哉¹⁾, 佐藤 学²⁾, 森本 義晴¹⁾,

1) HORAC グランフロント大阪クリニック

2) IVF なんばクリニック

【目的】

近年, 男性不妊症の割合は増加してきており, 男性側に問題があるケースは約半数に及ぶ。当院の検討において, 乏精子症, 精子無力症と診断された患者を対象とし, ミトコンドリアの代謝促進に作用するL-カルニチン, エネルギー産生に必要な物質であるCoQ10を主成分としたサプリメントを投与すると精子濃度, 運動率にて改善されることを以前報告した(小倉ら, 2021年日本受精着床学会)。同様のサプリメントを服用した患者に対し, 精子運動解析システム(SMAS)を用いて, 服用前後の精液検査データの詳細な比較を行った。

【方法】

当院を受診し, 乏精子症・精子無力症と診断された男性不妊患

者38名(26～49歳, 平均39.1歳)を対象にL-カルニチン, CoQ10, ビタミンC・E, リコピン, 亜鉛, セレン, ビタミンD, ビタミンB12, 葉酸を含有したサプリメントの投与を最短1週間, 最長半年行った。精液検査はSMASを用いて実施し, 精液量, 総精子濃度, 運動率, 精子運動性指数(SMV), 前進運動率, 直線速度, 曲線速度, 平均速度, 直進性, 直線性, 曲線性, 頭部振幅, 頭部振動数を算出した。上記13項目について, 服用前後の比較検討を行った。

【成績】

運動率は服用前(35.5%)と比べ服用後(48.9%)と有意に高かった($p<0.01$)。SMVは, 服用前(127.4)に対し, 服用後(195.5)で有意に高かった($p<0.01$)。前進運動率は服用前(29.1%)と比較し, 服用後(38.7%)で有意に高かった($p<0.01$)。その他10項目には服用前後で有意な差は認められなかった。

【結論】

サプリメントの服用により, 精子運動率, SMV, 前進運動率に改善が見られた。本サプリメントのCoQ10は, ミトコンドリアの電子伝達系で働く酵素であり, エネルギー産生に重要な物質であることから, L-カルニチンとの相乗効果で精子のミトコンドリア活性が向上し, 精子運動に関わる項目を改善させたことが示唆された。今後は, サプリメント服用が受精率に効果があるかを検討したい。

男性不妊治療患者の喫煙に対する意識調査および精液所見との比較

下村 紫, 藤井 美喜, 青木 愛, 江夏 徳寿, 塩谷 雅英
英ウィメンズクリニック

【目的】

不妊治療において喫煙は男女ともに治療の妨げとなる要因の一つとして挙げられる。男性については精液濃度の低下, 運動率の低下, 精子の奇形率の上昇, 女性については早期閉経や流産リスクの上昇等があげられる。厚生労働省の統計によると現在習慣的に喫煙している成人の割合は男性27.1%, 女性7.6%である。年齢階級別にみると, 30～60歳男性でその割合が高く, 約30%が喫煙しており, 不妊治療中の夫婦の年齢層と重なっている。本検討では男性不妊治療患者の喫煙に対する理解度を把握し, 精液所見との比較を行うことで, 今後の必要な介入や支援について考えることを目的とした。

【方法】

2022年11月21日～2023年1月31日に男性不妊外来を受診した男性患者に対しWebによるアンケートを実施した。

【成績】

アンケートは320部配布し210件返答があった(返信率65.6%)。平均値はそれぞれ年齢36.8歳, 不妊治療期間15か月, 精液量3.29ml, 精液濃度56M/ml, 運動率36.8%, 精子運動性指数算出値(SMV)193であった。喫煙群については現在喫煙している者を喫煙群, 過去喫煙歴がある者, 喫煙歴のない者を非喫煙群とし, 喫煙群13.3%, 非喫煙群86.7%だった。喫煙群のうち「禁煙したいと思う」17.9%, 「禁煙したいと思うがやめられない」53.6%, 「禁煙したいと思わない」28.6%だった。喫煙が精子に影響を与えると知っているのは喫煙群で85.7%, 非喫煙群で87.3%であり両群間に差は無かった($p=0.76$)。精子所見を喫煙群と非喫煙群で比較すると精液量3.2ml vs 3.3ml, 精液濃度50M/ml vs 58M/ml, 運動率30.8% vs 37.7%となり喫煙群で有意に運動率が低かった($p=0.04$)。

【結論】

男性不妊患者のうち, 喫煙群において喫煙が精子に影響を与えると知っているものの, 喫煙をやめられていないという現状がわかった。喫煙を止めるためには禁煙補助薬の使用, 禁煙外来の活用等があるが, 最も重要なのは「禁煙する」という当人の動機付けである。そもそも成人の行動変容を促すには対象が行動変容ステージのどの段階にあるのかを把握し, その段階に応じた支援が必要である。また, 喫煙は精子の運動率に影響を与えているということが確認された。喫煙が不妊治療に与える影響とあわせて禁煙の必要性を患者へ伝え, 禁煙への強い動機付けを支援していく介入を考慮していくことが重要だと考える。

無精子症患者におけるMESAの有効性について

唐津 円¹⁾, 片田 雄也¹⁾, 古橋 孝祐¹⁾, 江夏 徳寿^{1), 2)},
伊藤 宏一¹⁾, 岡本 恵理¹⁾, 苔口 昭次¹⁾, 塩谷 雅英¹⁾,
岩崎 利郎¹⁾

1) 英ウィメンズクリニック
2) 英メンズクリニック

【目的】

無精子症に対する治療として、精巣内精子回収法(TESE: testicular sperm extraction)は広く行われており、結果についても多くの報告を認める。一方で、精巣上体精子回収法(MESA: microscopic epididymal sperm aspiration)を実施する施設は限られており、結果に関する報告はあまり多くない。今回、我々はMESAの有効性について後方視的検討を行ったので報告する。

【対象・方法】

2021年1月から2022年9月において、当院にてTESE症例142例

(144周期)とMESA症例33例(43周期)より得られた精子を用いて顕微授精を実施した患者を対象とした。MESAの33例は全例TESEとの併施であった。検討項目は、受精率、分割率、胚盤胞発生率、良好胚盤胞率とした。良好胚盤胞はGardner分類のG3BB以上とした。

【結果】

TESE群とMESA群の培養成績は、それぞれ2PN率55.2%(487/882), 71.1%(214/301), 1PN率8.4%(74/882), 5.0%(15/301), 3PN率3.4%(30/882), 2.7%(8/301), 分割率82.5%(506/613), 92.0%(218/237), 胚盤胞発生率33.1%(143/432), 48.9%(87/178), 良好胚盤胞率30.8%(44/143), 21.8%(19/87)となり、2PN率、分割率、胚盤胞発生率においてMESA群が有意に高値を示した。

【考察】

TESEと比較し、MESAでは運動能が高い精子の割合が多く、より成熟した精子を回収できることから、2PN率、分割率、胚盤胞発生率において有意に高い結果が得られた可能性が考えられる。この結果により、閉塞性無精子症などの症例においては、TESEに加えてMESAも並行して施行することが培養成績の向上に有効である可能性が示唆された。

精液中に観察された結晶は受精率や胚発生に影響を及ぼすのか—2例の症例報告—

徳田 愛未^{1), 2)}, 辻 暖永^{1), 2)}, 日比 初紀^{1), 3)},
福永 憲隆^{1), 2)}, 浅田 義正^{1), 2)}

1) 浅田レディースクリニック
2) 浅田生殖医療研究所
3) 協立総合病院泌尿器科

【目的】

ARTにおいて精液中に多数の結晶が観察される症例を経験した。しかしながら、これらの結晶の成分がARTの治療成績に影響を与えるのかは不明である。そこで患者背景や結晶の形から結晶成分を推測するとともに治療結果を追跡調査し結晶の析出がARTの治療成績に影響を及ぼすか調査した。

【方法】

2022年に精液中に結晶の析出がみられた2症例を対象とし、精液所見・受精率・胚盤胞発生率・胚移植後の臨床妊娠を調査した。また、患者の既往歴や精液のpH・結晶の形状から結晶成分を推測した。

【成績】

症例①: 妻29歳, 子宮内膜症の診断あり。夫31歳, 既往歴はなし。当院でのART実施前の精液検査での所見は運動精子濃度3.87×

106/ml, 運動率28.6%, pH8.2であった。ART実施時の原精液中には結晶は見られなかったが、精液処理後の精子混濁液で結晶が観察された。形状は棒状の形をしており大きさも約70 μ mと大きな結晶が多数確認された。処理後の運動精子濃度は0.5 \times 106/ml, 運動率27.8%であった。またICSI実施後の受精率は80%(4/5)であり、その後Day3にて単一新鮮胚移植を行ったが妊娠には至らなかった。余剰胚は継続培養し得られた胚盤胞2つ(66.6%)はガラス化法にて凍結保存を行った。別のホルモン補充周期にて凍結融解胚移植を行い妊娠が成立した。その後経過良好により他院紹介となった。

症例②: 妻38歳, 排卵障害の診断あり。また精子不動化抗体が陽性であった。夫46歳, 既往歴はなし。当院でのART実施前の精液検査での所見が運動精子濃度22.68 \times 106/ml, 運動率51.6%, pH8.2であった。過去3回の採卵では結晶は観察されなかったが、貯卵の為再度採卵を行ったところ原精液中から結晶が確認された。形状は棒状または棒状の結晶が重なり菊花状になっているものが多数確認された。処理後の運動精子濃度は38.45 \times 106/ml, 運動率82.8%であった。また、ICSI実施後の受精率は75%(3/4)であり、受精卵はすべて前核期胚凍結を行った。以前の周期で得られた受精卵で凍結融解胚移植を行い、妊娠が成立し経過良好により他院紹介となった。

【結論】

精液中で確認された結晶は棒状や菊花状の形状をしており、精液のpHがアルカリ性であることから今回の症例で見られた結晶はリン酸カルシウム結晶と推測した。少なくとも結晶が受精率には影響はなく、また妊娠経過も良好なことから精液中に結晶が確認されても治療へ大きな影響はないことが示唆された。今後症例数を増やし結晶の成分の同定、発生条件などについて調査を行う。

凍結融解胚盤胞移植における回復培養後の胚の拡張性と臨床成績との関係

門間 里奈¹⁾, 服部 裕充^{1), 2), 3), 4)}, 高橋 瑞穂¹⁾, 小泉 雅江¹⁾, 長浦 聡子¹⁾, 戸屋 真由美¹⁾, 五十嵐 秀樹¹⁾, 京野 廣一^{1), 2), 3), 4)}

1) 京野アートクリニック仙台
2) 京野アートクリニック高輪
3) 京野アートクリニック盛岡
4) 日本卵巣組織保存センター (HOPE)

【目的】

凍結融解胚盤胞移植における回復培養後の胚の拡張性と臨床成績の関係性を明らかにすることを目的とした。

【方法】

2018年1月～2022年12月に単一凍結融解胚盤胞移植を施行した39歳以下の症例を対象とし、凍結時のGardner分類における発育段階が4以上の胚盤胞について、良好胚(BB以上)と不良胚(AC/BC)に分けて検討した。対象胚は全て融解後に透明帯開口法を施行し、回復培養は4～5時間行った。回復培養後に胞胚腔が拡張した胚をA群(良好胚193症例202周期, 不良胚103症例109周期), 胞胚腔が拡張しかつGradeが上昇した胚をB群(良好胚1080症例1453周期, 不良胚429症例515周期), 胞胚腔が拡張しなかった胚をC群(良好胚85症例91周期, 不良胚66症例67周期)とし、それ

ぞれの妊娠率(移植当たりの胎嚢が確認された割合), 妊娠継続率(移植当たりの妊娠12週以降まで妊娠が継続した割合), 流産率(妊娠当たりの流産が確認された割合)について χ^2 検定を用いて比較した。P<0.05を有意差有りとした。

【成績】

各群の移植時の妻平均年齢は、良好胚でA群34.9±3.3歳, B群35.1±3.1歳, C群34.9±3.4歳, 不良胚でA群35.6±3.2歳, B群35.7±3.1歳, C群35.5±3.0歳であり、差は認められなかった。良好胚の妊娠率はA群53.5%(108/202), B群60.9%(885/1453), C群49.5%(45/91), 妊娠継続率はA群43.6%(88/202), B群49.8%(723/1453), C群36.3%(33/91)であり、いずれもB群とC群との間に差が認められた。良好胚の流産率はA群18.5%(20/108), B群18.3%(162/886), C群26.7%(12/45)であり、差が認められなかった。不良胚の妊娠率はA群25.7%(28/109), B群49.5%(255/515), C群19.4%(13/67), 妊娠継続率はA群22.9%(25/109), B群34.6%(178/515), C群11.9%(8/67)であり、A群とB群, B群とC群との間に有意差が認められた。不良胚の流産率はA群10.7%(3/28), B群30.2%(77/255), C群38.5%(5/13)であり、差は認められなかった。

【結論】

回復培養後に胞胚腔の拡張を十分に認めない胚では、妊娠率、妊娠継続率の低下が認められたが、症例数の制限もあり流産率には差が認められなかった。良好胚では回復培養後に凍結時と同じまで胞胚腔が拡張した胚は発育が進んだ胚と比較して差がなく、融解後の拡張期までの発育スピードは臨床成績に影響を与えないことが示された。一方、不良胚では回復培養後の胞胚腔の拡張の有無、発育スピードが妊娠率、妊娠継続率に影響することが示唆された。

分割期に認められる多核を有する割球の数が胚盤胞到達率に及ぼす影響

白田 薫¹⁾, 高橋 瑞穂¹⁾, 服部 裕充^{1), 2), 3), 4)}, 長浦 聡子¹⁾, 小泉 雅江¹⁾, 戸屋 真由美¹⁾, 五十嵐 秀樹¹⁾, 京野 廣一^{1), 2), 3), 4)}

1) 京野アートクリニック仙台
2) 京野アートクリニック高輪
3) 京野アートクリニック盛岡
4) 日本卵巣組織凍結保存センター (HOPE)

【目的】

本研究では3, 4, 5細胞の時期における多核の出現と多核を有する割球の数が胚盤胞到達率に及ぼす影響を検討した。

【方法】

2022年4月から2023年5月までに採卵を行った、922症例1428周期を対象とした。PGT, 凍結精子, 人為的卵子活性化症例は対象外とした。正常受精由来胚について、3～5細胞のそれぞれの時期における多核の出現と多核を有する割球数別の胚盤胞到達率、臨床成績を比較した。統計解析は χ^2 乗検定を用い、Bonferroni法で調整を行った。p<0.05を有意差ありとした。

【成績】

対象の妻平均年齢は38.4±4.8歳であった。正常受精卵5872個のうち、3細胞期以降に多核が観察されたものは1282個で多核率は21.8%(1282/5872)、受精方法別ではC-IVF:18.2%(331/1821),

ICSI:23.5%(951/4051)で、ICSIで有意に高かった。多核の出現時期は、3～10細胞期で確認されたが、3～5細胞期での出現が93.1%を占めていた[3細胞期:30.3%(389/1282), 4細胞期:48.3%(619/1282), 5細胞期:14.5%(186/1282)]。正常受精あたりの各時期の胚盤胞到達率は、非多核胚63.5%(1570/2474), 3細胞期19.0%(74/389), 4細胞期47.5%(294/619), 5細胞期40.9%(76/186)であり、非多核胚と3～5細胞期多核胚, 3細胞期多核胚と4, 5細胞期多核胚の間にそれぞれ有意差が認められた。次に、多核を有する割球数別の胚盤胞到達率は、3細胞のうち1細胞が多核を有する群(以下1/3群)の場合26.3%(49/186), 2/3群15.6%(20/128), 3/3群6.7%(5/75)で1/3群vs3/3群で有意差が認められた。4細胞期では1/4群57.5%(233/405), 2/4群28.8%(40/139), 3/4群29.8%(14/47), 4/4群25.0%(7/28)で1/4群とその他の群にそれぞれ有意差が認められた。5細胞期では1/5群46.8%(51/109), 2/5群46.0%(23/50), 3/5群0.0%(0/16), 4/5群12.5%(1/8), 5/5群33.3%(1/3)で1/5群vs3/5群, 2/5群vs3/5群でそれぞれ有意差が認められた。さらに、非多核胚537周期, 3～5細胞期多核胚54周期における凍結融解胚盤胞移植の移植あたりの妊娠率(GS)は、49.5%(266/537), 40.7%(22/54), 妊娠継続率(12週以降までの妊娠継続)は、38.9%(209/537), 27.8%(15/54), 流産率(流産/妊娠あたり)は21.4%(57/266), 31.8%(7/22)であり、いずれも有意差を認めなかった。

【結論】

受精方法が多核の出現に影響することが示唆された。また、3細胞期以降に多核が認められると胚盤胞到達率が低下するが、4細胞期以降では多核を認めない細胞が少なくとも3細胞以上あれば影響が少ないことが示唆された。多核由来胚盤胞の移植は臨床成績に影響しない可能性があるが、症例数を増やしてさらなる検討が必要である。

がん患者の妊孕性温存療法における体外成熟培養(Onco-IVM)の有用性

境 眞実¹⁾, 樽井 幸与¹⁾, 井谷 裕紀¹⁾, 水野 里志¹⁾, 福田 愛作¹⁾, 森本 義晴²⁾

1) IVF 大阪クリニック

2) HORAC グランフロント大阪クリニック

【目的】

生殖腺毒性の報告がある化学療法や放射線治療が必要ながん等の患者は治療後に妊孕性が低下する可能性があるため、妊孕性温存目的の卵子凍結保存(Onco-卵子凍結)等が推奨される。可能な限り多くの卵子を獲得するためには卵巣刺激を用いた採卵が推奨されるが、原疾患治療に緊急を要する場合は困難である。原疾患治療に猶予が無い患者や女兒に対しては卵巣組織凍結が行われているが、実施可能な施設に限られ、報告も少ない。体外成熟培養(IVM)は多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)症例などに対して臨床応用されている一方で、無刺激かつ短期間で採卵が可能という特徴がある。そこで当院では原疾患治療に猶予がなく卵巣刺激を用いた採卵が不可能と考えられた症例に対し妊孕性温存目的のIVM(Onco-IVM)を行っている。本研究ではOnco-IVMとOnco-卵子凍結を比較し、Onco-IVM成績の現状を示すとともに、Onco-IVMとPCOS症例などに対して行ったIVM(normal-IVM)を比較し、患者背景の違いによるIVM成績への影響について検討した。

【方法】

2006年1月から2023年2月のOnco-卵子凍結38症例47周期,2020

胚発生スピード別の Gardner 分類及び iDAScore の euploid 率

清水 雅司, 白井 美希, 安田 忠頼, 織田 文香, 野中 百香, 坂本 朱華利, 高田 彩音, 加藤 万里子, 飯田 日南, 村田 泰隆

ART クリニックみらい

【目的】

胚盤胞評価は主観的な形態評価とともに胚発生スピードが重視されてきたが、近年、AI解析による客観的な胚評価の1つとしてiDAScore(Vitrolife)が報告されている。当院でPGT-A解析した胚盤胞について胚発生スピードを含めたGardner分類及びiDAScoreのeuploid率を後方視的に検討した。

【方法】

2020年から2022年5月、EmbryoScope+(Vitrolife)にて胚培養を行い、PGT-A解析結果の得られた168症例882個(PGT-A開始時の年齢39.2歳±3.9)のday5及びday6胚盤胞を対象とした。Gardner分類はG1:AA/BA, G2:AB/BB, G3:C評価含むの3グループに分けた。iDAScoreは1.0-9.9の数値で表され9.9が最も良好となる。iDAScore ver1.0を使用し、D1:9.5以上, D2:9.0-9.4, D3:8.5-8.9, D4:8.0-8.4, D5:7.9以下の5グループに分けた。検討①では、day5G1~G3及びday6G1~G3のeuploid率を比較した。検討②では、day5D1~D5及びday6D1~D5のeuploid率を比較した。検討③では、day5G1におけるD1~D5のeuploid率を比較した。

【成績】

検討① Gardner分類におけるday5胚盤胞のeuploid率はG1:

年2月から2023年2月のOnco-IVM8症例8周期を対象とした。それぞれ年齢、当院初診から採卵迄の日数、採卵数、成熟卵数、成熟率を比較した。またOnco-IVMと同期間のnormal-IVM18症例19周期とOnco-IVMの年齢、採卵数、成熟率を比較した。

【成績】

Onco-卵子凍結とOnco-IVMにおいて平均年齢(29.6±8.3歳 vs.27.0±7.9歳)に有意差はなかった。またOnco-卵子凍結よりOnco-IVMの方が初診から採卵迄の日数(16.9±19.0日 vs.2.3±1.2日, p<0.05)は有意に短かった。採卵数(11.4±9.9個 vs.5.5±3.4個, p<0.05)と成熟卵数(9.9±9.0個 vs.1.0±0.5個, p<0.05)は有意に少なく、成熟率(87.0±19.7% vs.29.2±32.2%, p<0.05)も低かった。また、normal-IVMとOnco-IVMとの比較では年齢(31.6±4.0歳 vs.27.0±7.9歳)に差は無かった。採卵数(14.7±8.4個 vs.5.5±3.4個, p<0.05)はOnco-IVMの方が有意に少なかったが、成熟率(35.5±19.8% vs.29.2±32.2%)に差は無かった。

【結論】

Onco-IVMにおける初診から採卵迄の期間は、Onco-卵子凍結と比較して有意に短く、目的とする準備期間の短い採卵が可能であることが示された。Onco-IVMの採卵数は卵巣刺激を実施していないため、Onco-卵子凍結と比較して有意に少なかったものの、採卵及び成熟卵の獲得が出来た。Onco-IVMの成熟率はOnco-卵子凍結と比較して有意に低かった。一方でOnco-IVMの採卵数はPCOSの既往がある患者が多いnormal-IVMと比較して有意に少なかったが、成熟率に差は見られなかった。このため、Onco-IVMから得られた卵子は、少なくともnormal-IVMと同等の成熟能を有していることが示された。以上よりOnco-IVMは、成熟卵数の多寡を問わない程に原疾患治療に時間的猶予がない患者に対する妊孕性温存療法として有用であると考えられた。

42.7% (102/239), G2:20.1% (55/273), G3:12.7% (9/71)だった。day6胚盤胞ではG1:37.2% (35/94), G2:19.0% (20/105), G3:12.0% (12/100)だった。day5 day6ともにG1がG2及びG3よりも有意にeuploid率が高く(p<0.01)、胚評価が良好なほどeuploid率に高い傾向が見られた。

検討② iDAScoreにおけるday5胚盤胞のeuploid率はD1:61.5% (16/26), D2:33.6% (80/238), D3:22.5% (43/191), D4:22.0% (18/82), D5:18.8% (9/48)だった。day6胚盤胞ではeuploid率はD1:0.0% (0/0), D2:0.0% (0/0), D3:23.1% (3/13), D4:36.2% (17/47), D5:19.3% (47/244)だった。day5ではD1がD2~D5よりも有意(p<0.01)に、D2がD3~D5よりも有意(p<0.05)にeuploid率が高かった。day6ではiDAScore9.0以上は存在せず、D3~D5に差はなく一定の傾向も見られなかった。

検討③ day5G1におけるiDAScore別のeuploid率はD1:62.5% (15/24), D2:42.7% (67/157), D3:35.4% (17/48), D4:28.6% (2/7), D5:33.3% (1/3)だった。day5G1ではiDAScoreが高いほどeuploid率に高い傾向が見られた。

【結論】

Gardner分類ではday5とday6で同等の形態評価であればeuploid率に差はなく、評価が良好なほど高いeuploid率が得られたことから、胚発生スピードよりも形態評価を優先する移植胚選択が有効だと考えられた。一方、iDAScoreではday5において9.0以上でeuploid率が有意に高くなっていく傾向があるものの、day6においてiDAScoreはeuploid率をまったく反映していなかった。day5ではD2とD3(8.5以上9.5未満)、day6ではD5(8.0未満)に解析胚数が集中しており、iDAScoreはeuploid率とは無関係に胚発生スピードが強く反映されるスコアリングであることが予想された。iDAScore単独では移植胚選択せず、胚発生スピード及び従来の形態評価と組み合わせるとより妊娠の可能性の高い胚盤胞を選択する第2指標として有用な可能性が示唆された。

抗酸化物質添加培地の使用が 胚のiDAScoreに及ぼす影響

影山 美桜, 水本 茂利, 長尾 洋三, 渡辺 瞳, 田中 啓子,
小柳 沙織, 奥田 紗矢香, 後藤 美緒, 伊賀 淑穂,
大坪 可奈子, 蔵本 武志
蔵本ウイメンズクリニック

【目的】

iDAScore(VitroLife)は人工知能を用いた胚評価法の一つで、胚の画像分析により、1.0-9.9のスコアで評価するシステムである。

また、生殖補助医療において体外培養における酸化ストレスは、フラグメンテーションやアポトーシスを誘起し、胚の発生能を低下させることが指摘されている。当院ではこれまでに抗酸化物質(N-アセチルシステイン、アセチル-L-カルニチン、 α -リポ酸)添加により35歳以上の症例において臨床妊娠率が向上する事を報告している。このような抗酸化物質添加培地の有効性を示す報告はあるものの、iDAScoreに及ぼす影響は明らかでない。

そこで、本研究では抗酸化物質(Ao)添加の有効性とiDAScoreの関係性について後方視的に検討した。

【方法】

2018年8月から2019年12月まで当院にてAo添加培地使用に対するインフォームドコンセントの下採卵を実施した症例を対象とし、

単一融解胚盤胞移植を行った247周期について検討した。

卵子はランダム表に基づき、対照区及びAo区に分け、媒精、胚培養を行った。精子処理は精液を半量ずつ対照区及びAo区に分け、密度勾配法により処理を行った。

単一融解胚盤胞移植を行った対照区(113周期)及びAo区(134周期)の胚における臨床妊娠率及びiDAScoreを後方視的に調査すると共に、4つの年齢群、A群25-32歳(30.2 \pm 1.6)、B群33-34歳(33.7 \pm 0.5)、C群35-37歳(36.0 \pm 0.9)、D群38-40歳(38.8 \pm 0.7)に分け比較した。

【成績】

対照区及びAo区における臨床妊娠率は53.1%、59.7%であり、有意な差は見られず、iDAScoreの平均値はそれぞれ、8.50 \pm 1.04、8.30 \pm 1.24であり有意な差は見られなかった。

また、年齢群ごとの臨床妊娠率は対照区及びAo区でそれぞれA群(70.6%、54.8%)、B群(61.7%、65.0%)、C群(41.9%、52.5%)、D群(27.8%、65.6%)となり、D群において有意に高かった。(P<0.05)

一方、iDAScoreの平均値は対照区及びAo区でそれぞれA群(8.67 \pm 0.92、8.27 \pm 1.22)、B群(8.39 \pm 0.88、8.46 \pm 1.24)、C群(8.34 \pm 1.30、8.28 \pm 1.24)、D群(8.67 \pm 0.92、8.27 \pm 1.41)となり、いずれの区間においても有意な差は見られなかった。

【結論】

Ao添加はiDAScoreに影響しなかった。このことから、高齢患者におけるAo添加の有効性は発生动態ではなく、生理学的変化によるものであると考えられる。

胚盤胞径および形態による 移植胚選択基準の再考

河知 美佳, 伊木 朱有美, 野手 健造, 長谷川 麻理,
坂井 和貴, 鍋田 基生
つばきウイメンズクリニック

【目的】

これまで多くの施設で、初期胚は主にVeeck分類、胚盤胞は主にGardner分類を用いて胚を形態的に評価し、評価が最も良好な胚が優先的に移植胚として選択されてきた。現在では、タイムラプスインキュベーターを利用し発育過程を確認して評価するなど、様々な情報が選択基準として用いられている。今回我々は、従来の形態的評価による移植胚の選択基準が有用であるかを再検討するため、当院で単一凍結融解胚移植に用いた胚盤胞の直径と形態を評価し、臨床成績との関連性を後方視的に解析した。

【方法】

2021年1月から12月までに当院にて採卵から5日目に凍結した胚を使用して単一凍結融解胚移植を実施し、臨床妊娠の成否が得られている469周期を対象とした。胚盤胞凍結時の直径と形態をタイム

ラプスで評価し、A～D群とした。A群(180 μ m以上かつBB以上の形態良好胚)、B群(180 μ m以上かつBB未満の形態不良胚)、C群(180 μ m未満かつBB以上の形態良好胚)、D群(180 μ m未満かつBB未満の形態不良胚)に分類し、これらを移植した後の臨床妊娠率、出生率との関連性を検討した。

【成績】

単一胚盤胞移植に用いた胚の直径は正規分布を示した。胚盤胞の直径と臨床妊娠率、出生率との関係は、胚盤胞の直径が大きいほど臨床妊娠率、出生率ともに高くなる傾向であった。胚盤胞の直径および形態で分類し比較すると、臨床妊娠率はA群49.2%、B群30.2%、C群32.0%、D群11.4%となり、出生率はA群32.6%、B群18.7%、C群20.0%、D群4.5%となった。180 μ m以上かつ形態良好胚盤胞である場合は、その他と比べ、臨床妊娠率、出生率ともに有意に高かった(p<0.01)。また、180 μ m以上かつ形態不良胚の場合と180 μ m未満かつ形態良好胚の場合に有意な差は認められなかった。

【結論】

今回の解析結果より、従来の形態的評価による移植胚選択の基準が有用であることが確認されたことから、今後も胚盤胞径および形態の評価を移植胚選択の判断基準の一つとして採用したいと考ええる。

胚盤胞の形態学的評価と直径による凍結胚選択基準の検討

星井 彩花, 水本 茂利, 長尾 洋三, 渡辺 瞳, 田中 啓子,
小柳 沙織, 奥田 紗矢香, 後藤 美緒, 伊賀 淑穂,
大坪 可奈子, 蔵本 武志
蔵本ウイメンズクリニック

【目的】

2022年4月から不妊治療における保険適用が開始された。ARTでは移植回数の制限があるため、妊娠率の高い胚を選択することが重要になった。当院ではこれまでに胚盤胞の直径と形態評価の検討を行い、直径が大きくなると妊娠率が向上する傾向があることを明らかにしている(九州・沖縄生殖医学会2021)。そこで本研究では胚選択基準向上のためサイズを細分化し胚の形態評価との関係性を調べた。

【方法】

2018年5月から2022年3月に、Day5胚盤胞の単一融解胚移植を受けた治療初回の患者911名を対象とした。形態評価は当院基準のA, A'をGood胚, B, B'をFair胚, CをPoor胚と分類した。また直径は凍結前に測定を行った。なお、当院ではGardner分類3CC以上の胚盤胞を凍結している。本検討では、直径190 μ m以上(XL

凍結胚盤胞の移植時における回復率が妊娠率、出産率、出生児へ与える影響の比較検討

市田 怜奈, 大久保 毅, 宮林 里菜子, 樋口 藍, 樋口 謙太,
松尾 涼子, 田口 智美, 恩田 知幸, 林 輝明, 大見 健二,
瀬川 智也
新橋夢クリニック

【目的】

ARTにおける凍結胚盤胞移植の割合は増加しているが、融解後の胚盤胞評価には未だ明確な基準はない。凍結前の基準で良好とされる胚盤胞であっても、融解後に胞胚腔が十分に再拡張しない胚盤胞も認め、それらの着床・妊娠・出生児への影響が懸念される。2019年日本A-PART 学術講演会にて我々は、移植直前時の胞胚腔拡張が良好な胚盤胞ほど妊娠率が高くなることを報告した。今回我々は、孵化胚盤胞を凍結する直前に行う収縮処理時の胚盤胞径から見た、移植時の胚盤胞径の回復率における妊娠成績および出生時身長と体重について比較し、融解後の胚盤胞評価の基準になるか検討した。

【方法】

当院で2016年10月から2019年10月にかけて、人工的孵化処理を施した孵化胚盤胞に対してガラス化凍結を施行し、融解後に移植まで至った胚盤胞2506個を対象とした。全症例に対して、ガラス化凍結を施行する直前でピペッティングによる収縮処理を行なった。

群), 180 μ m以上190 μ m未満(L群), 170 μ m以上180 μ m未満(M群), 170 μ m未満(S群)に分けグレードごとの割合を比較した(検討1)。また胚の形態評価と直径が臨床的妊娠率(CP率)に及ぼす影響について比較した(検討2)。

【成績】

(検討1) Good胚の割合はXL群, L群, M群, S群でそれぞれ70.0%(217/312), 55.9%(94/168), 39.1%(70/179), 26.6%(67/252)となり, XL群がL, M, S群より有意に高くなった。一方, Fair胚の割合は, それぞれ29.5%(92/312), 42.9%(72/168), 55.9%(100/179), 64.7%(163/252)となり, XL群がL, M, S群より有意に低くなった。Poor胚においてもFair胚と同様の傾向がみられた。

(検討2) XL群におけるGood胚, Fair胚, Poor胚のCP率はそれぞれ68.7%(149/217), 67.4%(62/92), 66.7%(2/3)となった。各グレード間で有意な差は見られず, Poor胚でもGood胚と同等のCP率が得られた。L, M, S群においては形態評価の高い胚の方が高くなる傾向が見られ, S群においては, Poor胚18.2%(4/22)と比べてGood胚55.2%(37/67), Fair胚45.4%(74/163)が有意に高くなった。特にAランクは66.7%(2/3)となり, XL群と同等のCP率が得られた。

【結論】

Day5のGardner3以上の凍結胚選択基準として, Good胚なら直径の大きさに関わらず凍結し, Poor胚であっても直径190 μ m以上であれば凍結を考慮する必要があることが示唆された。

収縮処理後である凍結前胚盤胞および、融解から1時間以上の回復培養を行った移植直前胚盤胞、それぞれの長径と短径2点を測定して平均胚盤胞径を算出した。凍結前より移植前の平均径が小さい胚盤胞を回復率100%未満群(n=164)、凍結前より移植前の平均径が大きい胚盤胞を回復率100%以上群(n=2342)とした。両群における臨床的妊娠率(胎嚢確認)、出産率、在胎週数、出生児の体重および身長について比較検討した。

【結果】

回復率100%未満群および回復率100%以上群における臨床的妊娠率は、それぞれ25.6%(42/164)、46.8%(1095/2342)であり(p<0.01)、出産率はそれぞれ13.4%(22/164)、32.7%(767/2342)であった(p<0.01)。また、在胎週数はそれぞれ37.8 \pm 2.7週、37.8 \pm 2.2週であり両群間に有意差は認められなかった。同様に出生児の平均体重はそれぞれ3006 \pm 610g、2977 \pm 504g、平均身長はそれぞれ48.8 \pm 3.4cm、48.8 \pm 3.1cmであった。出生児の平均体重と平均身長についても有意差は認められなかった。

【結論】

今回の結果により凍結胚盤胞の移植成績向上には、移植時における胚盤胞径の大小だけでなく、収縮処理時の胚盤胞径から移植前胚盤胞における回復度も重要と分かった。収縮処理時の胚盤胞径より移植前の胚盤胞径が小さい胚盤胞における妊娠率は低下するものの、妊娠継続する症例もある。また、それらの出生児の体重と身長に影響はないことが明らかとなった。よって、移植前胚盤胞の胚盤胞径が収縮処理時の胚盤胞径より小さい胚において、妊娠率は顕著に低下するものの、健児出生が見込めるため移植を回避するという結論には至らなかった。

P-1 原疾患治療に伴う妊孕性温存目的の精子凍結の検討

甲斐 由布子¹⁾, 甲斐 博宣²⁾, 津野 晃寿¹⁾, 伊東 裕子¹⁾, 宇津宮 隆史¹⁾

1) セント・ルカ産婦人科
2) 大分大学医学部腎泌尿器外科学講座

【目的】

生殖補助医療(ART)の進歩に伴い、精子の凍結保存が可能になった。妊孕性に影響を与える化学療法や放射線治療前には精子凍結保存が推奨されるが、現在すべての男性患者が精子凍結を行ってはいない。大分県では2014年乳癌患者の卵子凍結を目的とし「おおいた乳癌・生殖医療ネットワーク」を発足し、2018年からは全科の患者に対して妊孕性温存を図る目的で「がん・生殖医療フォーラム大分」に名称を変更し活動している。今後さらに精子凍結保存の啓蒙を行い、適切な時期に精子凍結を行えるよう、今回その実績を検討し報告する。

【方法】

1992年から2021年まで当院で妊孕性温存目的に精子凍結をおこなった患者90例(悪性腫瘍88例, 停留精巣1例, 精巣捻転1例)に

ついて検討した。この研究はセント・ルカ産婦人科倫理委員会の承認を得た。

【成績】

患者90名, 年齢(中央値)29歳(14-51歳), 凍結回数1回-12回(中央値1回)。ART施行は20例(すべて顕微授精), 凍結継続中47例, 他院移送3例, 廃棄38例(廃棄理由 自然妊娠3例, 逝去14例, 不明21例)であった。基礎疾患:血液疾患52%(47/90), 泌尿器疾患30%(27/90), 消化器疾患10%(9/90), 脳外科疾患4.4%(4/90), その他3.3%(3/90)。年齢分布:10歳代11%(10/90), 20歳代44%(30/90), 30歳代33%(30/90), 40歳以上6.7%(6/90)。総妊娠率70%(14/20), 総出生率65%(13/20)。疾患別出生率:血液疾患73%(8/11), 泌尿器疾患80%(4/5), 消化器疾患33%(1/4)。妻年齢別出生率 36歳未満77%(10/13), 36歳以上28.6%(3/7)。化学療法施行前後出生率:施行前精子凍結例75%(12/16), 施行後精子凍結例33%(1/3)。

【結論】

ART施行例の出生率は65%であり, 悪性疾患患者も挙児を十分に期待できる結果であった。妻年齢は36歳未満の方が出生率は高く, 化学療法施行前に精子凍結施行した方が出生率も高かった。治療の予定, 年齢を考慮し適切な精子保存をすることが重要であり, 精子保存が必要である全科の疾患主治医に対して定期的な啓蒙を行っていききたい。

P-2 医学適応で凍結した卵子を用いたART治療から出産に関する検討

畑 景子, 渡邊 陽子, 西村 加奈子, 三浦 貴弘, 植木 穂衣, 頼 英美, 原 鐵晃, 兒玉 尚志

県立広島病院成育医療センター生殖医療科

【目的】

がん生殖医療ネットワークが全国的に整い、生殖細胞への毒性の強い治療の前に、卵子などを医学適応で凍結保存する妊孕性温存がスムーズに実施できるようになった。一方、使用症例はまだ少なく、妊孕性温存を行った患者年齢、原疾患、治療方法などのバリエーションも多いことから、妊孕性温存を検討している患者に提示できる治療実績は不足している。当施設では早期から妊孕性温存治療に取り組んでおり、近年凍結卵子の使用症例が増加している。今回、妊孕性温存目的で凍結した卵子を使用した症例において、融解後の治療および出産について検討する。

【方法】

2010年1月1日から2022年12月31日までに同意を得て妊孕性温存

目的の卵子凍結をした70例(30.9±6.7歳)のうち、凍結卵子を使用した7例(33.4±6.9歳)を対象とした。治療方法は、一部または全ての凍結卵子を融解し、生存卵子に対して顕微授精を実施、受精卵培養し分割胚あるいは胚盤胞の単一胚移植を行った。症例ごとに培養および移植成績の検討を行った。

【結果】

凍結卵子を使用した7例の原疾患は、乳がん6人、大腸がん1人、凍結卵子の保存期間は平均5.1±1.6年、凍結卵子の使用率は55.3%(52/94)、融解後の生存率(MIIおよびMI)は96.2%(50/52)、ICSI受精率は87.5%(42/48)、分割率90.5%であった。全例1回以上の胚移植(8例;分割胚7例,胚盤胞1例)ができ、余剰胚は分割胚(19個)あるいは胚盤胞(11個)で凍結した。凍結卵子を融解した周期に移植し、臨床妊娠率62.5%(5/8)、うち1例は自然流産、出産に至った4例は、全て正期産、出生体重3,242±320gであった。妊娠に至らなかった3例の転帰は、自然妊娠、凍結卵子を用いた治療中に転院、高齢による治療終了となった。

【結論】

当院の妊孕性温存治療戦略による凍結卵子使用の妊娠率は、日産婦登録調査の凍結卵子を用いた治療の臨床妊娠率29.0%(2020年)と比較しても高い値であり、今後も症例数を増やして検討を続けたい。

P-3 直径140 μ m未満の Day5胚盤胞を凍結すべきか？

川原 結貴, 平田 麗, 羽原 俊宏, 林 伸旨
岡山二人クリニック

【目的】

2022年4月より生殖補助医療が保険適用となったが、対象要件に女性年齢とともに胚移植回数が含まれ、これまで以上に早期妊娠につながる妊娠率の高い胚選択が重要となる。我々は、採卵後5日目(Day5)に直径140 μ m未満であった胚盤胞は、140 μ m以上の胚盤胞と比較し生産率が低く、胚盤胞直径は生児獲得の指標となることを報告してきた。このことから培養期間を延長し、より拡張した胚盤胞を凍結することで移植あたりの妊娠率を高められる可能性があるが、培養期間延長による妊娠成績への影響は不明である。今回、Day5に直径140 μ m未満であった胚盤胞について、Day5凍結の有無とその後の妊娠成績を後方的に検討した。

【方法】

2019年1月から2021年12月までに当院にて採卵を行い、Day5に胚盤胞直径が120-140 μ mであった412個を対象とした。なお、採

卵時の女性年齢40歳以上、CC胚、PGT-A胚および2022年12月までに融解しなかった胚は対象から除外した。Day5に凍結した193個を凍結群、Day5には凍結せずDay6まで培養継続した219個を培養群とし、妊娠成績を比較した。なお、胎嚢確認をもって妊娠成立とした。

【成績】

凍結群と培養群の採卵時女性年齢、IVF回数および融解後生存率に差はなかった。Day5胚盤胞直径は凍結群131 \pm 6.4 μ m、培養群127 \pm 5.0 μ mであり、凍結群が大きかった(P<0.01)。凍結群の妊娠率は43.5%(84/193)であった。培養群219個のうち、41個はDay5以降に発育停止またはCC胚となり凍結できなかった。発育した178個はDay6に凍結し、移植あたりの妊娠率は48.3%(86/178)であった。発育停止胚を含めた培養群の妊娠率は39.3%(86/219)であり、凍結群と同等であった。凍結時の良好形態胚に限定した移植あたりの妊娠率は、凍結群43.8%(56/128)、培養群61.6%(69/112)と培養群の妊娠率が高率であった(P<0.01)。

【結論】

Day5に直径140 μ m未満であった胚盤胞をDay6まで培養期間を延長しても妊娠率は低下しないことが示唆された。また、拡大胚盤胞まで培養期間を延長することは、発育停止胚の移植を避け、形態良好胚をより選別することができることから、移植あたりの妊娠率を高められると考えられる。

P-4 Life Whisperer Viabilityと 妊娠予測確率との妊娠予測精度 の比較

花谷 美香¹⁾, 平田 麗¹⁾, 羽原 俊宏¹⁾, 宮木 康成²⁾,
林 伸旨¹⁾

1) 岡山二人クリニック
2) Medical Data Labo

【目的】

早期の妊娠成立のためには妊娠の可能性がより高い胚盤胞を選択して移植する必要がある。その指標として、胚盤胞それぞれの個別評価として妊娠予測確率が算出できる関数を作成し報告した(2018年 第36回日本受精着床学会)。現在、当院ではこの関数から算出された妊娠予測確率を用いて移植胚の選択を行っている。しかし近年ではAIによる胚評価も行われるようになり、Presagen社のLife Whisperer Viabilityは採卵後5日目の胚画像1枚で妊娠の可能性の高い胚の評価が可能となっている。そこで今回、Life Whisperer Viabilityと当院が使用している妊娠予測確率との精度比較を行った。

【方法】

2019年1月から2021年12月までに当院にて採卵を行い、採卵後5

日目に凍結を行った胚盤胞のうち、2023年5月までに単一融解胚盤胞移植を行った1469症例3111周期を対象とした。妊娠予測確率は女性年齢、AMH、Day3グレード、凍結時グレード、胚盤胞直径など妊娠と関連する10項目を用いて関数から予測確率を算出した。Whispererは女性年齢と凍結前の胚盤胞画像をアップロードしスコアリングを行った。胎児心拍の確認をもって妊娠陽性とし、それぞれの受診者動作特性(ROC)曲線の曲線下面積(AUC)を比較した。なおPGT-A実施胚については対象から除外した。

【成績】

妊娠予測確率を10%ごとに、Whispererを1点ごとに区切り妊娠率を比較したところ、どちらも予測値が上昇するごとに妊娠率も上昇していた。それぞれのAUCは、妊娠予測確率は0.70、whispererは0.61であった(P<0.001)。

【結論】

AIによる胚盤胞画像を使用したLife Whisperer Viabilityと比較して、10項目の関連因子を使用した妊娠予測確率の方が高い精度だった。しかし、Whispererは画像1枚と年齢のみでの評価が可能であり、培養士間での評価のズレが生じる可能性がある妊娠予測確率と比較してより客観的で安定した評価につながると考えられる。また、妊娠予測確率関数に胚盤胞画像を併用することでさらに診断精度を高められる可能性があり、今後さらに妊娠予測確率関数の検討を行っていく。

P-5 血中亜鉛値が体外受精および胚培養成績に与える影響についての検討

柿沼 敏行, 柿沼 薫, 野澤 来規, 大和田 真希, 九島 紫織, 中園 亜由美, 柳田 薫

国際医療福祉大学病院リプロダクションセンター

【背景・目的】

受精時における亜鉛イオン (Zn^{2+}) の卵外への一過性放出(亜鉛スパーク)が報告され, 受精においてはCaシグナルのみならず, Znシグナルも重要な役割を持つことが示唆されている. 今回, 血清亜鉛値が体外受精, 胚培養成績に与える影響について検討を行った.

【対象・方法】

2022年9月から2023年5月までに当院で採卵を行った40歳未満の患者を対象とした. 採卵前の血液検査で亜鉛値が $80\mu\text{g/dl}$ 未満を亜鉛低値群, $80\mu\text{g/dl}$ 以上を亜鉛正常群に分け, 体外受精, 胚培養成績に与える影響について, 後方視的に検討を行った.

【結果】

亜鉛低値群64名, 亜鉛正常群は40名で, 平均年齢, BMIに各群で有意差はなかった. 採卵個数, 受精率, 2PN率, 多核率, 胚利用率は, 2群間で有意差は認められなかったが, 胚盤胞到達率は, 亜鉛低値群 $38.2\pm 34.8\%$, 亜鉛正常群 $47.6\pm 33.8\%$ で, 亜鉛低値群では有意に低下していた ($P=0.007$).

媒精方法別の検討は, Conventional In-Vitro Fertilization (cIVF) では, 採卵個数, 受精率, 2PN率, 多核率, 胚盤胞到達率, 胚利用率のいずれも2群間で有意差は認められなかった. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) では, 採卵個数, 受精率, 2PN率, 多核率, 胚利用率は, 2群間で有意差は認められなかったが, 胚盤胞到達率は, 亜鉛低値群 $36.0\pm 35.7\%$, 亜鉛正常群 $49.1\pm 39.3\%$ で, 亜鉛低値群では有意に低下していた ($P=0.035$).

【考察】

胚盤胞到達率は, 亜鉛低値群では低かったことから, 血清亜鉛値の測定は, 亜鉛スパークによる受精卵のクオリティの指標を反映している可能性が示唆された.

P-6 液体窒素タンク重量モニター(スマートマット®)の使用経験

永廣 メイ, 上田 綾香, 藤森 友美子, 小野崎 美絵, 石川 慶子, 久野 貴司, 石川 元春

いしかわクリニック

【目的】

生殖補助医療における凍結保存管理に欠くことのできない液体窒素 (LN_2) の残量確認は必須業務となっている. しかし保存に必要な LN_2 は業務時間内だけでなく LN_2 タンクの開閉が無い業務時間外や長期休暇中にも減少するため, 業務終了から業務開始の間に LN_2 がどの程度減少したかを把握する必要がある. この度, 当院ではスマートマット®を導入することで業務時間外の LN_2 減少量の確認が可能となったかを調査した.

【方法】

25°C に設定された室内で, 2022年12月22日から2023年7月10日の間, 当院の LN_2 タンク XC33/22 (容量33.4L) 6台と SR-36 (容量36.2L) 2台の計8台に株式会社 Smart Shopping のスマートマット® (SM-W34) を設置し, 1日4回 (2,8,14,20時の6時間おき) 計測, 16時と21時に Wi-Fi 接続確認のメールをスタッフに送信した.

【成績】

計測結果から, 業務中の LN_2 減少量が最大となったのは凍結融

解用に LN_2 を取り出す XC33/22②であり, 2023年1月26日に 2kg/day 減少した. 長期休暇は2022年12月28日から2023年1月4日の7日間と2023年4月29日から2023年5月5日の6日間とし, LN_2 タンクの開閉が無くても約一週間で $1.5\text{--}3.8\text{kg/day}$ の減少が確認でき, SR-36 (口径119mm) が XC33/22 (口径70mm) より早く減少していた. 問題点は, ①地震対策に非対応であり, 現状, SM-W34は任意の時間に重量を計測し, 地震直後の計測や遠隔で計測することが出来ない. そのため地震直後の LN_2 タンクの状態は把握できない. ②約4か月間概ね連続モニターが可能であったが, その後5回 Wi-Fi の接続切れが起り Wi-Fi 接続手順にて再接続した. SM-W34は, サイズA3, 厚さ30mmで LN_2 タンク下に設置できコンパクトである. 本体は電源ボタンとランプがあり, それらを LN_2 タンクの前面側に設置している. Wi-Fi の接続切れは, スタッフが LN_2 タンクに胚を移動させる, 業者が LN_2 を補充する際に電源ボタンを7秒以上押したことが要因として考えられる. また Wi-Fi ルーターは導入時, メーカー担当者が床に設置し, 推奨する机上や障害物がなく見通しの良い箇所に設置されていなかったことが原因であり, 机上に移動した後に Wi-Fi 接続トラブルは改善された.

【結論】

業務後から次の業務までの間 LN_2 がどの程度減少したか, SM-W34を導入することで確認が可能となった. また LN_2 タンクの開閉操作がない長期休暇(1週間程度)で約 2kg の減少を確認できた. このことから業務時間外の LN_2 減少量の確認は SM-W34 の使用により可能となった. また LN_2 の異常減少を院外にいてもメールによりモニターも可能である.

P-7 胚盤胞画像からの妊娠予測 - iDAScoreと LifeWhispwererの比較 -

木田 雄大^{1), 2)}, 福永 憲隆^{1), 2)}, 辻 暖永^{1), 2)},
吉田 静香^{1), 2)}, 徳田 愛未^{1), 2)}, 渡邊 紘之^{1), 2)},
近藤 文哉^{1), 2)}, 竹田 翔^{1), 2)}, 浅田 義正^{1), 2)}

1) 浅田レディースクリニック
2) 浅田生殖医療研究所

【目的】

近年のAI技術の進歩により、タイムラプス動画から自動で妊娠予測が可能になってきている。Vitrolife社の"iDAScore(iDA)"と、Presagen社のLifeWhispwerer "Viability"(LW)は、どちらも「胚の画像」から「妊娠(FHB)結果」をスコア化するAIであり、妊娠率とスコアに相関があると報告されている(Ueno et al., 2021, M. VerMilylea et al., 2020)。しかし、AIの仕様として大きく異なる点がある。iDAは胚盤胞までの成長過程を含むTimelapse画像を使用してスコアを出すのに対し、LWはDay5の胚盤胞画像1枚のみを使用する。また、iDAを使用するには専用のTimelapseインキュベーターのみの適応である一方、LWは画質条件を満たすカメラさえあれば良いため応用が利く。さらに、iDAでは1胚につき5,000枚以上の画像が必要だが、LWは1枚でよい画像データの管理面で有効である。そのため、利便性ではLWの方が高いが、移植胚選択ツールとしてはより高い精度が求められる。そこで、本研究ではiDAとLW

の精度を後方視的に検証し、移植胚選択ツールとしてのパフォーマンスに差があるか検証を行った。

【方法】

2018～2021年にEmbryoScope+8にて培養しDay5に胚盤胞形成(Gardner分類 ≥ 1)した胚のうち、当院での移植初回で単一凍結融解胚移植を行った359胚を対象とした。胚画像からiDA/LWを用いて妊娠予測をスコア化し、胎児心拍を転帰としたデータセットを作成した。iDA群は四分位数を用いて、LW群は推奨の4区に分類(Low, Medium, High, Very High)し傾向検定にて妊娠率とスコアの傾向性を評価した。また、それぞれのAUC(Area Under the Roc Curve)を比較した。

【成績】

両法にて、評価が上昇するにつれ妊娠率の上昇傾向が確認された(iDA: Low 35.2%, Medium 46.9%, High 52.1%, Very High 65.4%; LW: Low 36.0%, Medium 46.3%, High 60.5%, Very High 63.4%)。また、AUCはiDA:0.635 LW:0.627であり、有意差はなかった($P=0.732$)。

【結論】

iDAとLWのパフォーマンスは同等であったことから、胚盤胞1枚から妊娠予測をするAIでも、Timelapse画像を使用した妊娠予測AIと同様のパフォーマンスが出せると考えられる。しかし、LWではDay5時点で胚盤胞形成をしていなければ妊娠予測をすることができない。そのため、今後は発生遅延胚の妊娠予測をどう工夫すれば正しく予測できるか検討を進めていきたい。

P-8 産休育休により長期間臨床現場を 離れることは胚培養士の 技術維持に影響するか

星田 汐美¹⁾, 榎原 由佳¹⁾, 山住 藍¹⁾, 川合 優菜¹⁾,
日野 沙也加¹⁾, 宮村 知子¹⁾, 吉田 剛大¹⁾, 石川 立¹⁾,
宗 修平²⁾, 山口 和香佐¹⁾, 俵 史子¹⁾

1) 俵 IVF クリニック
2) 浜松医科大学生殖周産期医学講座

【目的】

ART施設において胚培養士のスキルの向上・維持は重要である。胚培養士が産休育休を取得し長期間臨床現場を離れることは、復職後の育児と仕事の両立の不安に加えそれまで培ってきたスキルの低下も懸念される。当院において胚培養士3名が同時期に約1年間の産休取得及び育休後の職場復帰を経験した。胚培養士の重要なスキルとして、胚盤胞評価の精度管理を目的に当院で定期的に行っている胚盤胞グレードテストの結果とc-ICSIの臨床成績を指標とし復職者それぞれ産休前後の結果を比較することで長期間臨床現場から離れる影響について検討を行った。

【方法】

産休育休を取得した培養士3名をそれぞれ培養経験8年目:A, 7年目:B, 5年目:Cとした。職場復帰後に経験年数に応じた約1か月の復帰プログラムに沿ってトレーニングを行った。トレーニング後に臨床現場に復帰した3名の産休育休取得前後の胚盤胞グレードテストの結果およびc-ICSIの臨床成績の比較を行った。胚盤胞グレードテストは指導培養士1名が様々なグレードを含む約30枚の胚画像

を選定し、胚のサイズ、ICM、TEのグレードを評価した。指導培養士との胚盤胞評価の一致度は κ 係数を用いて算出し、 $\kappa > 0.6$ を一致度良好とした。c-ICSIの臨床成績は2021年2月から2023年1月の期間に3名がc-ICSIを施行した94症例MII卵350個を対象とし、3名それぞれの産休取得前後3ヶ月間のc-ICSI正常受精率・胚盤胞到達率および産休取得後3か月間の臨床成績と培養室全体成績を比較した。検討には χ^2 検定を用いた。

【成績】

胚盤胞グレードテストの結果では産前/産休後初回での一致度はサイズ:A(0.63/0.8), B(0.95/0.58), C(0.77/0.79), ICM:A(0.65/0.61), B(0.39/0.79), C(0.88/0.82), TE:A(0.82/0.77), B(0.80/0.65), C(0.88/0.78)であり、1名で産休後のサイズの評価が基準よりも下回っていた。産休後の基準が下回ったBは指導胚培養士の指導を受け、その後の再テストで評価基準に達した。c-ICSIの結果では、産前/産後のA,B,Cそれぞれの正常受精率はA:83.1%/74.7%, B:79.7%/82.9%, C:68.8%/70.2%, 胚盤胞到達率はA:60.0%/71.7%, B:73.6%/60.6%, C:43.5%/55.2%であった。培養室全体成績との比較では、培養室全体/産前A,B,Cそれぞれの正常受精率:75.5%/74.7%,82.9%,70.2%, 胚盤胞到達率:48.4%/71.7%,60.6%,55.2%と有意な低下は認めなかった。

【結論】

胚盤胞グレードテストの結果では産前産後で大きく差が出る傾向はみられなかった。個々の評価のブレは指導胚培養士による指導および一定の評価基準を示すことで評価技術が維持できると考えられる。c-ICSIの臨床成績の結果では各項目において産前産後で同等の成績が維持できていたことから、経験年数5年以上の中堅胚培養士においては長期間臨床現場を離れても1ヶ月程の復帰プログラムにより産前と同程度のスキルに回復し、これまで培ってきた経験を継続して活かすことができると示唆された。

P-9 POI症例におけるGM-CSF含有培養液の有効性についての解析

福島 由樹, 名古 満, 神岡 絵梨, 木村 真智子, 井原 基公, 古谷 正敬, 石塚 文平
ローズレディースクリニック

【目的】

女性生殖器内で自然に分泌されるサイトカインの1つである顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)は、胚の発生や着床、子宮内膜環境調節等に関与していると考えられている。GM-CSF含有培養液の使用が、胚発生や胚移植後の臨床成績に与える影響についていくつかの報告がある。しかし、早発卵巣不全患者(POI; Primary Ovarian Insufficiency)から得られた胚に対するGM-CSF含有培養液の有効性については、未だ不明瞭な部分が多い現状にある。そこで本研究では、GM-CSF含有培養液を使用したPOI症例の胚発生および胚移植後の臨床成績について後方視的な解析を行った。

【方法】

2018年1月から2021年12月に当院で採卵を行ったPOI患者のうち、卵子が獲得でき、cIVFまたはICSIを施行した1883周期(cIVF:

942周期, ICSI:941周期)を対象とした。Day1時に正常受精(2PN)が確認された胚を、初期胚培養期間(Day1-Day3)においてGM-CSF含有培養液を使用した周期(A群:184周期)と未使用の周期(B群:1699周期)の2群に分類し、分割率と良好初期胚獲得率を比較した。また、同期間に凍結できた初期胚の移植後の臨床成績についても比較を行った。

【成績】

POI症例における分割率は、cIVFにおいて2群間で有意差は認められなかった(A群:97.2%, B群:96.7%)。ICSIにおいては、B群(91.0%)と比較しA群(97.9%)で有意に低い結果となった($P<0.01$)。良好初期胚獲得率は、cIVF(A群:31.0%, B群:48.4%)、ICSI(A群:26.9%, B群:43.3%)ともにB群と比較しA群で有意に低い結果となった($P<0.01$)。胚移植後の臨床成績については、化学的妊娠率(A群:13.3%, B群:23.0%)、臨床妊娠率(A群:13.3%, B群:20.6%)ともに2群間で有意差は認められなかった。

【結論】

本研究では、POI症例に対するGM-CSF含有培養液の有効性は認められなかった。しかし、GM-CSF含有培養液使用対象症例はART反復不成功症例が多く、GM-CSF含有培養液未使用症例との患者背景に偏りがある可能性がある。今後は各症例におけるGM-CSF含有培養液の使用前後での成績を比較し、さらなる解析を行いたい。

P-10 女性のライフステージをみすえた不妊治療中の子宮筋腫核出術適応の検討

北山 利江, 脇川 晃子, 姫野 隆雄, 寺脇 奈緒子, 森本 篤, 小宮 慎之介, 浅井 淑子, 井上 朋子, 森本 義晴
HORAC グランフロント大阪クリニック

子宮筋腫は性成熟期女性の20~30%で発生・増大するホルモン依存性良性腫瘍であり、不妊治療目的に当院に来院される方は主に妊孕性改善が目的での管理となる。ただ、一般的にARTでの妊娠率は年齢別に2.9% - 48.0%(日本産科婦人科学会 ARTデータブック2020)と幅があり、当院で加療される方も結果的に妊娠されず不妊治療を終結される方もある。

【目的】

筋腫の手術を勧めるか否かの指標を模索する。

【方法】

当院で経験した症例を後方視的に検討した。

【成績】

子宮筋腫核出術後に採卵や移植成績が改善し妊娠・分娩となった症例を多数経験している。また妊娠にはいたらずとも子宮筋腫の性質や女性のライフステージも考え筋腫核出術を紹介し、依頼した症例もあった。

【結論】

子宮筋腫核出術の紹介時期とその妊娠予後について改めて再考したので報告する。

P-11 初回タイムラプス胚培養で疑った男女生殖器感染症の治療に難渋した一例

鈴木 邦昭^{1), 2)}, 安藤 寿夫^{1), 3)}, 古井 達人^{1), 2)},
古井 憲作^{1), 2)}, 山田 友梨花^{1), 2)}, 嶋谷 拓真^{1), 2)},
諸井 條太郎^{1), 2)}, 甲木 聡^{1), 2)}, 寺島 康浩⁴⁾

1) 豊橋市民病院総合生殖医療センター

2) 同 産婦人科

3) 同 産婦人科 (生殖医療)

4) 同 泌尿器科

【目的と方法】

不妊症の原因の1つとして生殖器細菌感染があることを指摘されている。初回タイムラプス胚培養結果から男女両方の細菌感染の診断に至ったものの治療に難渋した症例を経験した。本症例に対し抗生剤治療と生活指導を行うことにより細菌感染が改善し、胚移植後に臨床妊娠に至ったためこれを報告する。

【成績】

症例は不妊症夫婦で初診時何れも30歳以下。多嚢胞性卵巣症

候群と乏精子症、精子無力症を認めICSIにて治療を行う方針とした。初回採卵術を行い得た成熟卵6個にICSIを行ったが全てにタイムラプス培養で分割期の発生不良や遅延が一斉に生じる典型的なパターンを認めた。細菌感染を疑い膣及び子宮頸管の分泌物と精液の培養検査を行ったところ何れからも *Enterococcus faecalis* を検出した。薬剤感受性を参考に抗生剤治療を繰り返したが *Escherichia coli* や *Streptococcus agalactiae* (GBS) などが検出され治療に難渋した。泌尿器科に依頼し治療を行うも *Enterococcus faecalis* が複数回検出され、MRI検査を行ったが精路に明らかな異常所見を認めなかった。その一方で改めて婦人科医により性交渉や排泄習慣、居住環境に関する詳細な問診と指導を併せて行った。膣及び頸管分泌物の培養検査からGBSは検出されるものの *Lactobacillus species* が優位となったことを確認し2回目の採卵術を施行した。得られた成熟卵5個にICSIを行いday5に新鮮胚移植を実施し余剰胚2つを凍結したところ妊娠が成立した。

【結論】

治療経過から生殖器細菌感染症を疑い診断に至ったものの治療に難渋した本症例は生活習慣の詳細な問診が決め手となった。Time to livebirthの実現には男女両方の診察と泌尿器科やラボワークとの協働が重要なことを実感した症例であった。

P-12 Piezo-ICSI後の卵子活性化により良好胚盤胞を得た分割期停止の2例

菅原 淳史, 立花 眞仁, 平賀 裕章, 佐藤 壮樹, 高橋 藍子,
高橋 友梨, 虎谷 惇平, 横山 絵美, 志賀 尚美, 渡邊 善,
齋藤 昌利

東北大学病院産婦人科

【目的】

体外受精(IVF)、および顕微授精(ICSI)単独ではday3分割期にて胚発育を停止したが、Piezo-ICSI+卵子活性化(AOA)により良好胚盤胞を得た2症例を経験したので報告する。

【症例】

症例1. 妻: 39歳。0妊0産。34歳時に結婚。38歳時に右下腹部痛を主訴に近医を受診した際に多発子宮筋腫と診断され、挙児希望もあることから当院に紹介となった。AMH値は0.52 ng/mLであり、卵巣予備能の低下が指摘された。初回の経膣採卵法(OPU)を行った際、精液性状が悪化し(原精液量: 4.2 mL, 総精子数: 4.1×10^6 /mL, 運動率: 26.2%), 乏精子症・精子無力症と診断されICSIの適応となった。

症例2. 妻: 37歳。0妊0産。33歳時に結婚後、4年間妊娠に至らず当院に紹介となった。AMH値は3.52 ng/mLであった。精液検査では、乏精子症、精無力症(原精液量: 2.8 mL, 総精子数: 10.3×10^6 /mL, 運動率: 9.7%)と診断されICSIの適応となった。

【成績】

症例1. 39 ~ 41歳時までOPUを5回実施した。peak E2値は 841.4 ± 597.9 pg/mL, 採卵数は 1.20 ± 1.10 , 受精率は 91.7 ± 16.7 % (いずれも average \pm S.D.) であったが、受精卵が得られた4周期全てにおいて、day3分割期にて発生を停止した。6回目のOPUでは1つの成熟卵子を獲得し、Piezo-ICSIとAOAを併用したところ正常受精を確認し、5日目に胚盤胞(ガードナー分類: 3BB)へ到達したため凍結した。凍結融解胚移植を行った結果、hCG陽性となるも化学流産であった。

症例2. 38歳時に初回のOPUを実施した。peak E2値は1756 pg/mL, 採卵数は3, 受精率は100%であったが、day3分割期にて胚発生を停止した。2回目のOPUでは、2つの成熟卵子を得た。Piezo-ICSI+AOAを実施し、正常受精卵2つを確認し、1つが5日目に胚盤胞(4AA)へ到達したため凍結した。凍結融解胚移植を行ったところ、hCG陽性となるも化学流産であった。

【結論】

胚発育停止や低胚盤胞率症例におけるAOAの有効性については一定の見解がないが、受精後のCa²⁺イオンの律動的放出の低下、および停止に起因する胚発育不良症例は、AOAが有効であるという報告が存在する。今回我々はPiezoパルスによる精子不動化処理が卵子活性化因子の放出を増強するという先行研究から、Piezo-ICSIとAOAの組み合わせを用い、良好な結果を得た。今後は、さらなる症例の集積を行って有効性を検証する。

P-13 カルボキシル化ポリリジン含有精子凍結保存液はヒト精子DNA断片化を抑制する

武内 大輝^{1),2)}, 立花 亮太^{1),2)}, 東元 誠也²⁾, 真柄 栄梨²⁾, 寺田 堅斗^{1),2)}, 植村 碧²⁾, 前沢 忠志^{1),2),3)}, 高山 恵理奈^{2),3)}, 西岡 美喜子^{1),2),3)}, 池田 智明^{1),2),3)}

1) 三重大学大学院医学系研究科産科婦人科学
2) 三重大学医学部附属病院高度生殖医療センター
3) 三重大学医学部附属病院産科婦人科

【目的】

精子凍結では凍結時の急激な浸透圧変化により精子DNA断片化(Sperm DNA Fragmentation; SDF)が生じる。SDFは妊娠率や着床率などの体外受精成績に影響する事が報告されており、ヒトにおいてSDFを予防することは極めて重要である。我々は以前の報告で動物成分を含まないXeno-freeな新規ヒト精子凍結保存液を開発し、耐凍剤として使用したカルボキシル化ポリリジン(CPLL)の作用によりSDFが抑制される可能性が示唆された。しかしながら、比較対象として使用した上市既製品と構成成分が異なっていたため、CPLLによりSDFが低減したのか不明であった。そこで本

研究では、CPLLにSDF抑制作用があるかを確認し、その作用機序の解明を行った。

【方法】

本研究は、2020年から2022年の間に当大学病院を受診し、IC後に同意を得られた男性不妊患者20名の精液分析後に廃棄された精液サンプルを使用した。精液をDGC処理後に各精子凍結保存液で凍結し、融解後した精子のSDF率を測定した。また、作用機序解明のために活性酸素種(Reactive oxygen species: ROS)、酸化ストレス、ミトコンドリア膜電位、精子膜の脂質過酸化の評価を行った。使用した精子凍結保存液はCPLLフリー、CPLL含有、CPLLの代わりにヒト血清アルブミン(HSA)含有の3種類を使用した。

【成績】

CPLL含有群は、CPLLフリー群とHSA群よりSDF率が有意に低下した。その作用機序として、細胞質内ROSとLPOについても、CPLL含有群で有意に低下した。さらにCPLL含有群はミトコンドリア膜電位については有意に高い値を示し、運動率についても有意に高い値を示した。

【結論】

CPLLにはSDFの低減作用があり、その作用は細胞質内ROSとLPOの阻害に起因する可能性が示唆された。

P-14 染色体異常を呈する早発卵巣不全患者におけるTurner症候群との関連

鈴木 由妃^{1),2)}, 杉下 陽堂^{1),2)}, 岩端 秀之¹⁾, 高江 正道¹⁾, 洞下 由記¹⁾, 右田 王介³⁾, 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大学院難病治療研究センター
3) 聖マリアンナ医科大学臨床検査医学

早発卵巣不全(premature ovarian insufficiency:POI)は40歳未満で閉経を呈する疾患である。あらゆる不妊治療に抵抗性を示し、その原因の一つに染色体異常が知られている。

Turner症候群は45,Xを代表とする性染色体異常症で、出生女児の1/1000人程度の頻度で認め、臨床的には、低身長・性腺異形成・特徴的奇形徴候により特徴づけられる。また、高ゴナドトロピン性無月経を呈することが多く、難治性不妊を認め自然妊娠に至ることは稀であるものの、妊娠が成立した場合には心疾患や大動脈疾患による妊娠合併症のハイリスクとなる。Turner症候群の確定診断を受け通院するpure Turner症候群患者がいる一方で、身体的特徴が乏しくPOIの精査の過程で初めて指摘される潜在的モザイクTurner症候群患者も多い。

今回我々はPOI患者のうちTurner症候群に関連した患者について検討するために、スクリーニング検査で染色体異常症例の内訳とTurner症候群に関連する頻度と内訳を検討した。

【方法】

2009年1月～2021年7月に当院にて不妊治療を希望し染色体検査(G-一分染法)を実施したPOI症例1804例のうち骨髄移植後の7例を除外した1797例を対象とし、染色体異常を認めた症例数とその内訳を後方視的に検討した。また、染色体異常を認めた症例のうち、Turner症候群に関連した症例の頻度と内訳を後方視的に検討した。

【成績】

POI患者のうち、染色体異常は161例となり全体の9%を呈していた。この161例の染色体異常の詳細は、数的異常77例(48%)、構造異常61例(38%)、数的異常と構造異常を併せ持つものが20例(12%)、その他が3例(2%)であった。このうち、Turner症候群に関連するものが83例であり、全体の51%を占めた。Turner症候群に関連する83症例の詳細の検討では、pure Turner症候群は6例(7%)、モザイクTurner症候群は77例(93%)であった。モザイクTurner症候群のうち数的異常のモザイクは57例(69%)、構造異常のモザイクは20例(24%)であった。

【結論】

POIでは染色体異常症例の頻度は9%であった。今回の検討では染色体異常を呈する症例のうち、51%(83例/161例)がTurner症候群に関連するものであり、このうちモザイクTurner症候群は77例であった。潜在的モザイクTurner症候群患者がおり、必要に応じてTurner症候群に応じたスクリーニング検査を含めたプレコンセプションケアの必要性について考慮が必要であると考えられた。

P-15 未受精卵子において凍結融解処置のミトコンドリア動態に対する影響を検討する

鈴木 由妃^{1), 2)}, 杉下 陽堂^{1), 2)}, チェン サンディ²⁾, 遊道 和雄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大学院難病治療研究センター

【目的】

未受精卵子凍結は、思春期・若年成人(Adolescent & Young Adult :AYA) 女性がん患者に対する妊孕性温存療法として一般的な技術として確立されている。しかし未受精卵子凍結の生児獲得率は約15%であり、十分な治療成績を期待できるとは言えない。我々はこれまでの研究で走査型電子顕微鏡(TEM)による凍結卵子内ミトコンドリアの密度の低下と膨化を確認し、凍結ストレスによるミトコンドリア構造の損傷を報告している。卵子凍結保存の技術および治療成績の向上を目指しMII卵子の凍結融解過程に起こる障害を評価するため、凍結融解未受精卵子における凍結融解処置のミトコンドリア動態を検証する。

【方法】

6-12週齢ICRマウスより獲得したMII卵子を新鮮卵子群、凍

結融解卵子群の2群に分け、走査型電子顕微鏡を用いてミトコンドリアを観察した。また、それぞれのミトコンドリアの分布および膜電位の評価としてMito-tracker(MT), TMREでの蛍光染色施行後、共焦点レーザー顕微鏡にてミトコンドリアのクラスター分布およびその面積を2DおよびZ-stackを用い3D解析を実施した。またTEMにてミトコンドリアの分布を再確認した。ミトコンドリア恒常性評価として、RT-qPCRおよびデジタルPCRにてミトコンドリアDNAコピー数評価、ミトコンドリア恒常性関連遺伝子MFN1, MFN2, Dnml1, Opa1, Fis1, SIRTを解析した。

【成績】

走査型電子顕微鏡による評価では、凍結融解卵子群においてミトコンドリアの密度の低下と膨化を確認した。共焦点レーザー顕微鏡によるミトコンドリアのクラスター分布およびその面積2Dおよび3D解析では、両群間にクラスター数の減少とともに面積の増大に有意差を認めた。TEM解析でも同様にミトコンドリア数の減少に有意差を認めた。DNAコピー数の評価では両群間に有意差は認めず、ミトコンドリア関連遺伝子MFN2, Dnml1, SIRT3では有意差を認める変化を確認した。

【結論】

凍結融解過程よりミトコンドリアに障害が引き起こされるが、アポトーシスに至るほどの大きなダメージは受けにくいと考えられ、ミトコンドリア内部の変化が、何らかの障害を引き起こし卵子凍結における妊娠率の低下の原因となる可能性が示唆された。

P-16 胚移植直前の胚盤胞拡張度は妊娠成績に影響を与えるか？

関藤 孝昭, 尾形 龍哉, 富田 和尚, 幸池 明希子, 宮本 有希, 森本 義晴

HORAC グランフロント大阪クリニック

【目的】

胚盤胞凍結融解胚移植において、当院では胚移植当日の午前胚を融解し、約4～5時間の回復培養した後、胚の拡張度を確認してから胚移植を実施している。

胚移植直前の胚の拡張度は様々であり、今回、拡張度の違いが妊娠成績に影響を与えるかを後方視的に検討した。

【方法】

2018年11月から2021年12月までに胚移植時年齢39歳以下で凍結

融解単一胚盤胞移植を実施した589周期を対象とした。TEが透明帯ちょうどまで拡張した状態を拡張度100%とし、収縮状態では透明帯直径に対するTEの直径割合、ハッチング状態では全細胞中半分のTEがハッチした状態を150%と目安にし、各胚10%刻みで拡張度の評価を行った。胚の拡張度が90%未満(A群:49周期), 100%(B群:46周期), 110～140%(C群:284周期), 150%以上(D群:210周期)の4群に分け、各群の臨床妊娠率を比較した。

【成績】

臨床妊娠率はA群で32.7%(16/49), B群で43.5%(20/46), C群で50.0%(142/284), D群で53.8%(113/210)であり、A群と比較してC, D群では共に有意に高かった($p < 0.05$)。

【結論】

胚移植直前において収縮状態にある胚では、ハッチング状態の胚と比べて妊娠成績が低下したことから、胚の拡張度が妊娠成績に影響を与えることが分かった。収縮状態の割合が増加した際は、凍結融解手技や試薬の見直しの必要があると考えられる。

P-17 がん患者に対する 同一周期2回採卵の効率的な 方法についての検討

前沢 忠志¹⁾, 武内 大輝¹⁾, 阪本 美登¹⁾, 西岡 美喜子¹⁾,
高山 恵理奈¹⁾, 洞下 由記²⁾, 花田 哲郎³⁾, 黄 海鵬⁴⁾,
萩原 克幸¹⁾, 鈴木 直²⁾, 池田 智明¹⁾

1) 三重大学

2) 聖マリアンナ医科大学

3) 滋賀医科大学

4) 埼玉医科大学総合医療センター

近年のがん治療成績の向上により、がん治療の予後は飛躍的に改善したが、若年がん患者への化学療法等による性腺毒性により、将来に不妊となることが大きな問題となっている。そのため、若年がん患者へのがん治療前の妊孕性温存療法が広く行われている。

女性に対しては、卵巣組織凍結、卵子・胚凍結など、疾患や病期に応じて可能な方法が選択されている。卵子・胚凍結に関して、可能な限り短期間で多くの卵子を獲得するため、ランダムスタート法やDual Stimulation法等の方法が広く行われている。しかし、卵巣機能が良好な症例に対するDual Stimulation法は、採卵後にOHSS様に卵巣が腫大することがあり、2回目の卵巣刺激開始の時期の判断が難しい。今回我々は、2010～2021年の間に日本の4施設でがん患者に対するDual Stimulation法による採卵を実施した症例を検討し、卵巣機能良好症例に対するDual Stimulation法による2回目卵巣刺激の至適開始時期を検討した。症例数は69例で、平均年齢は34.3歳(20～42歳)であった。そのうち、妊孕性温存のために2回の採卵を実施した症例は22例で、その平均年齢は34.3歳(25～41歳)であった。結果は、Dual Stimulation法による初回の採卵数が5個以上の場合は卵巣腫大のリスクが高く、その症例に対しては8日間の待機期間を設ければ、最も効果的に2回目の卵巣刺激による採卵が実施出来るという結論を得た。今後、多くの施設で実施されれば、妊孕性温存目的の卵子・胚凍結において、より短期間に多くの卵子を獲得出来ることが期待出来る。

P-18 妊孕性低下が予見される Turner 症候群患児に対して 卵子凍結保存を行った二症例

岩端 秀之, 高江 正道, 中村 健太郎, 松山 夏美,
古山 紗也子, 中嶋 真理子, 伊藤 薫, 鈴木 由妃,
杉下 陽堂, 洞下 由記, 鈴木 直

聖マリアンナ医科大学産婦人科学

【緒言】

Turner 症候群(以下 TS) は X 染色体の部分または完全欠失およびモザイクなどにより出生女児の 2500 人に 1 人程度の割合で発症する。TS では低身長や心血管・腎疾患など様々な病態を呈し、卵巣機能不全や不妊症にも関連している。TS 患者の約 2/3 が自然月経発来に到らず、自然妊娠率は 2-5% と報告されている。妊孕性低下はアポトーシスの加速によって起こる卵子数の著しい減少による卵巣性無月経が原因となり、根本的な治療法は存在しない。これまで特に小児では経膈操作の困難さや小児卵子を用いた妊娠成績の不透明さから積極的に行われてこなかったが、欧州生殖医学会では卵巣機能が存続する 12 歳以上の若年 TS 患者では将来の選択肢

を残すために、卵子凍結保存のオプションについてカウンセリングを行うことが推奨されている。今回我々は TS と診断された女児に対して卵子凍結保存を行った二症例を経験した。本研究は本学倫理委員会の承認を受けて実施している。

【症例 1】

15 歳, 身長 147cm, 体重 41kg, 初経 10 歳, 月経不順, 核型 45,X, 妊孕性温存目的に当院へ紹介された。当院にて血中 AMH 2.98 ng/ml であった。調整卵巣刺激(COS) 下採卵を 3 回行い、現在まで 15 個の成熟卵子を凍結保存している。

【事例 2】

13 歳, 身長 137cm, 体重 39kg, 初経 10 歳, 希発月経, 核型 45,X, 前医にて AMH 0.23 ng/ml, 卵巣機能低下症が疑われ、当院へ妊孕性温存目的に紹介された。COS 下採卵を 3 回行い、現在まで 9 個の成熟卵子を凍結保存している。両症例とも経膈採卵を行ったが合併症などは認めなかった。

【考察】

TS では若年のうちに卵巣機能が根絶するリスクがある。小児卵子を用いた生殖補助医療については症例の蓄積が望まれるが、早期の卵巣機能評価や妊孕性温存の選択に関する十分な遺伝カウンセリングを行った上で、卵子凍結保存は小児においても安全に行うことができる妊孕性温存の 1 つの選択肢となる可能性が示唆された。

P-19 iDAScore v2.0における 胚評価とその妊娠予測精度

谷合 萌¹⁾, 岩田 京子¹⁾, 松崎 夢々果¹⁾, 中村 沙織¹⁾,
毛塚 ちひろ¹⁾, 入江 沙衣子¹⁾, 大溝 晃子¹⁾, 難波 千絵¹⁾,
吉岡 伸人¹⁾, 吉田 淳^{1), 2)}

1) つくば木場公園クリニック
2) 木場公園クリニック

【目的】

ヒト胚のタイムラプス観察が可能となり、胚の評価は静止画像による評価から動的評価が可能となった。加えて、近年、人工知能(AI)によるタイムラプス画像を用いた深層学習から着床能を自動評価するシステムによる胚選択が可能となってきた。

本研究ではAIによる自動胚評価システムの有用性について、当院の形態学的評価に基づき実施した単一胚盤胞移植の結果を用いて後方視的に検討した。

【対象および方法】

本研究は2020年2月から2022年12月にEmbryoScopeTM(Vitrolife)にて胚盤胞まで培養し、凍結融解胚移植を実施した1416個の胚を対象とした。当院の胚評価は胚培養経験7年以上の

胚培養士3名によりGardner分類を用いた形態学的評価法にて行った。AI評価システムはVitrolife Technology Hub(Vitrolife)のiDAScore v2.0を用いた。検討はiDAScore v2.0により自動算出されたスコアと当院胚培養士が算出した胚盤胞グレードにおける関連性とそれぞれの評価モデルにおける妊娠予測能の比較をROC解析にて行った。

【結果】

検討対象とした胚のICM, TE, 胚腔グレードいずれの形態評価においてiDAScore v2.0スコアとの高い相関が認められた。また、iDAScore v2.0にて算出された妊娠予測能別(スコア1-3, 3-5, 5-7, 7-8, 8-10)の妊娠成績においても相関が認められた。更にiDAScore v2.0と当院胚培養士による胚盤胞評価の妊娠予測能の比較において、iDAScore v2.0におけるAUCは0.633、当院の形態評価モデルは0.626であり、両モデルにおいて有意な差は認められなかった。

【結論】

本研究より、iDAScore v2.0による自動評価と培養士による胚の形態評価において強い相関が認められた。加えて、妊娠予測能においても同等の予測能であったことから、AIによる自動胚選択システムの有用性が示唆された。人によるアノテーションが不要なAIの自動胚評価は培養士の主観的評価を伴わず、一貫性があり、迅速に評価可能である。作業効率等の観点からも有用であると考えられた。

P-20 卵巣組織凍結・融解移植における 卵巣移植に必要な至適培養時間 の検討

杉下 陽堂^{1), 2)}, 鈴木 由妃^{1), 2)}, チェン サンディ²⁾,
上川 篤志¹⁾, 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大学院難病治療研究センター

【目的】

卵巣組織凍結保存における世界的標準的方法は緩慢凍結法(SF法)である。近年ガラス化凍結法(VF法)による生児獲得の報告が散見される。VF法は高濃度の凍結保護剤が用いられ、融解卵巣組織内の凍結保護剤遺残に関する安全性の検証が必要とされた。我々はウシ卵巣を対象に融解後卵巣組織内における凍結保護剤遺残に関する解析を行い、融解後約60分で凍結保護剤がゼロに近づくことをすでに報告した。本研究ではウシ卵巣を対象に融解後凍結卵巣移植の至適時間を検討した。

【方法】

ウシ卵巣、新鮮組織群(F群)と凍結融解群(C群)を比較した。融解後組織片を15分, 30分, 1時間, 2時間, 5時間, 24時間と培養し、組織障害を培養液中LDH, アポトーシスマーカー pan-AKT, AMHをELISA法、そしてRT-PCRおよび免疫組織化学染色で評価した。また卵胞活性をニュートラルレッド(NR)染色、ミトコンドリア活性をTMRE(膜電位)/MTG(分布)蛍光染色を用い共焦点レーザー顕微鏡で評価した。

【成績】

培養液中LDH値は融解後5-24時間培養後に上昇を認めた(F群vs5-24時間:p<0.05)。pan-AKT発現はC群15分で一時的な低値を示した(F群vs15分:p<0.001)。Caspase3発現ではC群24時間培養で有意に高値を示した(F群vs24時間:p<0.001)。NR染色ではF群で有意に高値を示した(p<0.05)。C各群においてTMRE/MTG比は1時間群で一時的な減少を認めた(p<0.05)。

【結論】

2時間以上の組織培養では組織障害を認め、卵胞活性評価はVF後細胞生存率が低下した。一方、ミトコンドリア機能は一時的な機能低下を示すが回復した。VF法では移植片の組織生存率を最大化するため、卵巣移植術開始1-2時間前に卵巣組織融解を開始する必要性が示唆された。

P-21 **-196°Cで動作可能なRFIDタグを用いた新規卵巣組織凍結検体管理システムの開発**

杉下 陽堂^{1), 2)} 鈴木 由妃^{1), 2)} チェン サンディ²⁾,
上川 篤志¹⁾, 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大学院難病治療研究センター

【目的】

小児・AYA 世代がん患者に対する妊孕性温存療法では、温存検体を長期間液体窒素素内で保存する必要がある。従来、凍結検体の管理において、患者情報を手書きで記録し、目視で検体の識別を行うと共に、患者情報を紙台帳やコンピューターに手入力する管理方法が採用されているが、ヒューマンエラーを減らすことができないこと等が課題であった。そこで、我々は-196°Cの液体窒素中でも検体管理可能なRFIDタグ方式を用いた新たな凍結検体管理システム開発の実現可能性に関して検討した。

【方法】

6名の参加者がウシ卵巣組織を用い閉鎖型卵巣組織ガラス化凍結・融解方法を従来法または新RFIDタグを用いた方法で実施し、それぞれの処置に要した時間を測定した。Shapiro-Wilk検定によりデータの正規性を確認した後、Unpaired t 検定により差の有意性を評価した。

【成績】

閉鎖型の卵巣組織ガラス化凍結・融解法では、各工程の所要時間を新旧の方法で有意差を示し($t(4) = 2.938$, $p = 0.042$, $d = 2.40$)、RFIDタグ方式では凍結保存時間が11分短縮された。解凍時各工程の所要時間においてもRFIDタグ方式で2分短縮し、有意な差が確認された($t(4) = 2.797$, $p = 0.049$, $d = 2.28$)。

【結論】

本研究で検証した新たなRFIDタグ方式は、液体窒素中に保存された生体サンプルの管理に適していると考えている。卵巣組織凍結保存では、小児領域における卵巣検体を扱うことから、凍結保管期間が10年単位と長期となる可能性がある。RFIDタグ方式を用いた新たな凍結検体管理システムは生殖組織、細胞の凍結保存、融解の効率を向上させるだけでなく、ヒューマンエラーを低減させる可能性があることが示唆された。



日本IVF学会雑誌

Vol.26 No.2

www.jsar.or.jp
