

ISSN 1881-9028

日本IVF学会雑誌

Vol.28 No.1

2025

JSAR
Japan Society of Assisted Reproduction

— ご挨拶 —

日本IVF学会の会員の皆様におかれましては益々ご健勝のこととお慶び申し上げます。

この度、日本IVF学会の理事長を拝命いたしましたクリニックママの古井憲司でございます。自己紹介をさせていただきます。私は1991年から名古屋大学産婦人科学教室で体外受精の臨床に関わるようになりました。私は医学部の学生の頃から体外受精に興味を持っていましたので、名古屋大学産婦人科学教室で体外受精に関わることができましたことは私にとって最高の幸せでした。昼間は体外受精の臨床、夜は基礎の生化学教室でmolecular biologyの研究生活が始まりました。体外受精の臨床においては、当時は培養液も市販のものではなく α -MEMやHTFに患者非働化血清を加えて自分たちで作成していたことを思い出します。また、当時はまだICSIの技術はなく重症乏精子症の患者様に対してPZDやSUZIを行っていたことも懐かしく思い出します。日本IVF学会は、1993年にIVF JAPAN GROUP CEOの森本義晴先生をはじめとする4人の先生が発起人として設立されたIVF懇話会が始まりです。本学会は私がIVFに関わるようになった日本のIVFの草創期からARTに携わり日本のARTの歴史そのものであると思います。このような歴史ある学会の理事長を拝命いたしましたことは、私にとって身に余る光栄とともにその責務の重さを痛感しております。微力ではございますが、これまで本学会が培ってきた伝統を大切に引き継ぎつつさらなる発展に向けて全力を尽くす所存でございます。



日本IVF学会は設立以来、国内外における生殖医療の進歩に貢献してまいりました。基礎研究から臨床応用まで、幅広い分野における知見の交流を促進する場として会員の皆様のご尽力により常に高い水準を保ち続けております。また、生殖医療の倫理的課題や社会的役割においても積極的に議論を重ね多くの成果を挙げてまいりました。これらの成果は、設立者である森本義晴先生をはじめ歴代の役員の皆様そして会員の皆様の熱意とご努力の賜物であると心より感謝申し上げます。

一方で、近年の急激な少子化やARTの保険診療化、生成AIの進化などに伴い、私たちが直面する課題も複雑化しております。社会からの信頼を得ながら、学術的、技術的な進化だけでなく患者様に対する心のケアを含めた医療が今後ますます重要になるものと考えます。

これからの任期中、学術大会や学会誌を通じて最新の知見を積極的に発信し、新たな視点と発想を積極的に取り入れて日本IVF学会を会員の皆様にとってさらに魅力ある学会に発展させ、ARTを必要とする患者様の声に耳を傾け患者様と共に歩む学会でありたいと考えております。引き続き、皆様の温かいご指導ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

2025年 春

一般社団法人 日本IVF学会
理事長 古井憲司

特別企画 「男性不妊症の治療アプローチ～無精子症以外の症例にどう対応するか～」

序文	5
	千葉 公嗣 神戸大学大学院医学研究科腎泌尿器科分野
— 総説 —	
男性不妊症治療における薬物療法	6
	岡 真太郎, 白石 晃司 山口大学大学院医学系研究科泌尿器科学講座
— 総説 —	
不妊診療における精索静脈瘤に対する治療戦略	12
	岡田 桂輔 神戸大学大学院医学研究科 腎泌尿器科学講座
— 総説 —	
精液中酸化ストレスおよび精子DNA断片化	17
	竹島 徹平 横浜市立大学附属市民総合医療センター生殖医療センター泌尿器科

特別企画 「精子と環境」

序文	25
	藤ノ木 政勝 獨協医科大学 実験動物センター
— 総説 —	
呼吸器を介した環境因子による精子への影響	26
	吉田 成一 大分県立看護科学大学
— 総説 —	
精囊腺分泌液の雄性生殖における役割	31
	平 歩夢, 野田 大地 熊本大学 生命資源研究・支援センター 生殖機能学分野
— 総説 —	
卵管内ホルモンの変化に伴った精子受精能獲得の調節の仕組み	37
	藤ノ木 政勝 獨協医科大学 実験動物センター

— 総説 —

発達早期における環境要因，特にストレスおよびグルココルチコイドシグナルのかく乱が
精巣の発育および精子形成におよぼす影響 43

宮宗 秀伸，伊藤 正裕
東京医科大学 医学部医学科 人体構造学分野

論 文

— 総説 —

IMSI の有用性と課題 49

佐野 憲一，長谷川 久隆，吉田 淳
木場公園クリニック

— 総説 —

知っておくべき生殖補助医療前後の生殖器マイクロバイーム～周産期領域の観点から～ 54

漆山 大知¹，鍋田 基生²，宮本 新吾³，四元 房典¹
¹福岡大学医学部産科婦人科学講座 / ²つばきウイメンズクリニック / ³札幌孝仁会記念病院

— 原著 —

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 63

永廣 メイ，久野 貴司，上田 綾香，干場 友美子，小野崎 美絵，石川 慶子，石川 元春
いしかわクリニック

— 原著 —

当院における思春期・若年者世代妊孕性温存精子凍結保存の現状 72

谷口 久哲¹，下井 華代²，好村 正博²，島田 誠治¹，岡田 英孝³，木下 秀文¹
¹関西医科大学附属病院腎泌尿器外科，²関西医科大学附属病院生殖医療センター，³関西医科大学附属病院産科婦人科学

— 原著 —

凍結融解胚盤胞移植を受ける不妊女性における子宮内膜ポリープ切除術の切除方法の違いが妊娠率に与える
影響：組織回収型硬性子宮鏡と子宮内膜搔爬の比較 77

藤原 奨¹，辻 尚也¹，小西 晴久¹，北山 利江¹，門上 大祐¹，森本 真晴¹，勝 佳奈子¹，
中岡 義晴¹，森本 義晴^{1,2}
¹IVF なんばクリニック，²HORAC グランフロント大阪クリニック

— 症例報告 —

両側卵管留血腫に対して両側卵管切除術を施行し，
凍結融解胚移植で残存卵管間質部妊娠をきたした一例 82

浮田 美里^{1,2}，浮田 祐司¹，山口 奈津子²，浮田 恵²，浮田 真吾²，浮田 徹也²，大西 佑実³，藤田 浩平³
¹リプロダクション浮田クリニック，²浮田クリニック，³大津赤十字病院 産婦人科

—参加報告—	
第2回アジア生殖免疫学会 (The 2 nd Asian Congress for Reproductive Immunology: ACRI2024)	
参加報告	87
	福井 淳史
	兵庫医科大学医学部産科婦人科
—参加報告—	
FSANZ 2024 (パース) 参加報告: 学びと気づきの旅	89
	小宮 慎之介
	HORAC グランフロント大阪クリニック 関西医科大学大学院 産科学婦人科学講座
第28回 日本IVF学会学術集会のご案内	92
日本IVF学会雑誌発行における投稿論文募集のお知らせ	94
日本IVF学会雑誌 投稿規定	95
一般社団法人 日本IVF学会 定款	97
一般社団法人 日本IVF学会 役員	103
編集委員会	104

序文

千葉 公嗣

神戸大学大学院医学研究科腎泌尿器科分野

このたび、特別企画として「男性不妊症の治療アプローチ～無精子症以外の症例にどう対応するか～」を企画させていただきました。不妊カップルの約半数に男性因子が関与していることはよく知られておりますが、男性側の診断治療がなされないまま女性側のみ治療がすすめられることが依然多いのが現状です。無精子症症例では、ごく一部の症例を除いては精路再建や精巣精子採取といった外科的介入なしに治療をすすめることはできず、男性側の精査加療が必ず行われますが、実臨床で大半を占める乏精子症や精子無力症症例においては、治療対象となる男性側の病態が見過ごされている可能性があります。さらに、近年では精子数や運動率に問題がなくても、精子DNA断片化をはじめとした“精子の質”の悪化により妊孕能が低下する症例が少なからずあることも報告されています。保険適応となり補助生殖医療(ART)がより広く行われるようになった現在においても、より多くのカップルにおいて挙児というゴールにたどりつくためには男性側の治療の重要性について再認識する必要があると考えられます。

このような背景から、本特集では無精子症以外の男性不妊疾患に対する診断と治療について、それぞれの領域のエキスパートの先生がたにご執筆をお願いしました。岡真太郎先生には特発性造精機能障害に対する薬物療法について論じていただきました。造精機能障害は特発性が最も多く、臨床的にはこの領域の患者が大多数を占めることとなりますが、それぞれの薬物療法の現状についてまとめていただいております。また、岡田桂輔先生には特発性を除く造精機能障害で最も頻度が高い、精索静脈瘤に対する治療戦略について論じていただきました。精索静脈瘤は診断と治療適応判断が適切に行われた場合、外科的介入により精液所見の改善が期待でき、ひいては妊孕性の改善につながる疾患です。本疾患の病態、診断、最新の治療戦略について包括的に概説をいただいております。さらに、竹島徹平先生には、ガイドラインで「近い将来の課題」と位置づけられている精液の酸化ストレスと精子DNA断片化について、その病態や臨床的意義、測定法、対処法についてわかりやすく最新の知見を論じていただきました。今回の特別企画が、男性側女性側を問わず、不妊症診療に携わる先生がたにとって明日からの診療に役立つものとなることを確信しております。

最後になりましたが、日本IVF学会の塩谷雅英理事長(当時)ならびに柴原浩章編集委員長には、このような特別企画の機会を賜りましたこと、心より感謝申し上げます。また、ご多忙の中、貴重な論文をご執筆いただいた執筆者の皆様にも、深く御礼申し上げます。

男性不妊症治療における薬物療法

Drug therapy for male infertility

岡 真太郎, 白石 晃司

Shintaro Oka, Koji Shiraishi.

山口大学大学院医学系研究科泌尿器科学講座 〒755-8505 山口県宇部市南小串 1-1-1
Department of Urology, Yamaguchi University School of Medicine

要旨： 男性不妊症の治療は、造精機能障害、精路通過障害、性機能障害など、原因に応じた多様な治療方法が選択される。しかし男性不妊症の主な原因である特発性造精機能障害に対する確立した治療法がないのが現状であり、薬物療法を試みることとなる。内分泌療法は視床下部-下垂体-精巣系の内分泌環境を改善し、精子形成を促進することを目的としており、ゴナドトロピン療法、抗エストロゲン療法などが含まれる。一方、非内分泌療法は、副作用が少なく取り組みやすいため男性不妊症診療では頻繁に使用され、カリジノゲナーゼ製剤、ビタミン剤、漢方薬などが用いられる。非内分泌療法に用いられる薬剤は、精子形成を改善する報告は散見されるが作用機序が不明な点が多い。特発性造精機能障害に対してこれらの薬物療法が広く使用される一方で、エビデンスレベルの高い薬剤が少ないことが課題であり、今後の研究による機序の解明とエビデンスの蓄積が期待される。本稿では、男性不妊症の造精機能障害に対する内分泌療法および非内分泌療法について概説する。

キーワード： 造精機能障害, 男性不妊症, 内分泌療法, 非内分泌療法

ランニングヘッド： 男性不妊症における薬物療法

英文要旨： The treatment of male infertility involves various approaches depending on factors such as spermatogenic dysfunction, obstruction of the reproductive tract, and sexual dysfunction. Notably, idiopathic spermatogenic dysfunction is a major cause of male infertility. However, no established treatments currently exist, and empirical drug therapy is attempted. Drug therapy is classified into endocrine therapy and non-endocrine therapy. Endocrine therapies aim to improve the hormonal environment of the hypothalamus-pituitary-testicular axis to promote spermatogenesis. These therapies include gonadotropin therapy, anti-estrogen therapy, androgen therapy, and GnRH therapy. Non-endocrine therapies are frequently used in the treatment of male infertility due to their ease of use and minimal side effects. Non-endocrine therapies include kallikrein preparations, vitamins, and traditional herbal medicines. Although some reports suggest that these medications improve spermatogenic dysfunction, their mechanisms of action remain unclear. This paper provides an overview of both endocrine and non-endocrine therapies for spermatogenic dysfunction.

キーワード： male infertility, medical treatment, gonadotropin therapy

男性不妊症治療の原因は多岐に渡り、造精機能障害、正常な造精機能を有する精路通過障害、性機能障害等、原因に応じて様々な治療方法が選択される。精索静脈瘤等の造精機能障害をきたす基礎疾患が存在する場合には、原疾患に対する治療が優先される。しかし造精機能障害には基礎疾患が明らかでない特発性造精機能障害が半数以上を占め、男性不妊症の主要な原因であるに

もかかわらず、確立した治療法がないのが現状である。造精機能障害の原因が重複していることもしばしば経験される。男性不妊症に対する薬物療法は、外科的療法の適応とならない造精機能障害に用いられることになる。薬物療法はホルモン剤を使用する内分泌療法と、ホルモン剤以外を使用する非内分泌療法に分けられる。従来の薬物療法は、精液所見の改善を期待してARTに取り

受付 2024年9月7日 / 受理 2024年9月10日

責任著者：岡 真太郎 e-mail [s-oka@yamaguchi-u.ac.jp]

組む前の初期治療という位置づけであった。体外受精や顕微授精などの生殖補助医療技術の進歩によって、わずかな精子から挙児可能な状況になっているなかで、薬物療法の意義も見直されつつある。しかし近年はARTにおける精子 quality の改善を目指すことを目的としても重要性が認識されている。本稿では男性不妊症診療で用いられる内分泌療法と非内分泌療法に関して概説する。

まず内分泌療法について記載する。間脳視床下部から分泌されるゴナドトロピン放出ホルモン (GnRH) が下垂体前葉に作用して、性腺刺激ホルモン (ゴナドトロピン) である LH および FSH が分泌される。LH は精巣ライディッヒ細胞に作用してテストステロンの分泌を促す。FSH は主にセルトリ細胞に作用し、細胞増殖や精子形成に関連する遺伝子の発現を誘導し精子形成を促進する。GnRH は朝に分泌が高い日内変動を示し、その結果テストステロンの分泌も午前中に高くなる。視床下部 - 下垂体 - 精巣系による生殖に関する内分泌環境が正しく調整されていることが精子形成において重要である。内分泌療法とは、視床下部 - 下垂体 - 精巣系の内分泌環境を対象とする治療法である。内分泌療法を考慮する症例は、乏精子症や精子無力症などの造精機能障害を有した状態であり、かつゴナドトロピン正常～低下した症例である。正常な視床下部 - 下垂体 - 精巣系を有した造精機能障害の症例において、さらなる内分泌刺激を与えることで精巣内テストステロンを上昇させ、精子形成を促進することが目的である。高ゴナドトロピン血症を伴う高度造精機能障害の場合は、ゴナドトロピンが過剰に存在することにより LH/FSH レセプターのダウンレギュレーションが生じている。この状態ではゴナドトロピンを追加

投与しても効果発現は限定的であることが想定され、内分泌療法の適応にはなりにくいとされる。

内分泌療法は具体的にゴナドトロピン療法、抗エストロゲン療法、男性ホルモン療法、GnRH療法が挙げられる(表1)。ヒトの精子形成(精子が成熟するまでの過程)は、約64日間かかり、精子はさらに精巣上体で約10～14日間かけて成熟して運動能力を獲得する。以上のことから、内分泌療法の効果判定は最低3ヶ月間以上継続した後に行う必要がある。内分泌治療には、特異的疾患と非特異的疾患に対する治療のアプローチがある。以下、それぞれの内分泌療法の内容を示す。

1. 特異的疾患に対する内分泌療法

造精機能障害の原因が明確にホルモン異常に関連している場合に考慮される。原因疾患には、男性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症 (male hypogonadotropic hypogonadism, MHH) や高プロラクチン血症が挙げられる。

男性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症

MHH は、下垂体のゴナドトロピン分泌が不足することでテストステロン分泌不全や造精機能障害の原因となる疾患である。テストステロン欠乏症の場合はホルモン補充療法が有効であり、テストステロン欠乏症状の回復に高い有効性を示す。しかし、テストステロン補充療法は、性腺萎縮を引き起こすことが重大な問題であり、妊孕性獲得のための補充療法には主に性腺刺激ホルモンが用いられる。

MHH に対する性腺刺激ホルモンを用いた治療は妊孕

表1

	原因	治療法	薬剤	
内分泌療法	MHH	ゴナドトロピン療法	ゴナドトロピン療法	
	高プロラクチン血症	抗プロラクチン療法	プロモクリプチンメシル酸塩	
	特異性造精機能障害	ゴナドトロピン療法	hCG+hFSH	
		抗エストロゲン療法	クロミフェン、タモキシフェン	
		アロマターゼ阻害薬	レトロゾール、アナストロゾール	
		男性ホルモン療法	エナント酸エステル	
		GnRH療法	GnRH、GnRHアナログ	
非内分泌療法	造精機能障害	酵素製剤	カリジゲノナーゼ	
		ビタミン剤	ビタミンB12 ビタミンC、ビタミンE	
		エネルギー代謝促進剤	ATP コエンザイムQ10	
			カルニチン製剤	
			ミネラル	亜鉛
			漢方薬	八味地黄丸、補中益気湯、牛車腎気丸など

性獲得のために最もよく行われている。使用薬剤は LH 作用の強い hCG と、FSH 作用のある hMG あるいは rhFSH が用いられる。近年は治療効果の安定した rhFSH 製剤が使用される場合が多い。hCG 単独でも男性化や精子形成が得られた報告も散見されるが、hCG+rhFSH 療法と比較すると精子形成能は劣るとする報告が多く rhFSH の併用が推奨されている¹⁾。治療法としては hCG +rhFSH を 1-3 回 / 週、皮下投与 (在宅自己注射) が一般的である。治療期間は数ヶ月から数年に及ぶこともある。MHH に対するゴナドトロピン補充療法の有効性を検討したメタ解析の報告では、約 75% の症例で精子を認められた²⁾。特に思春期前発症の MHH に比べて思春期後発症の MHH では平均精子濃度が高い結果であった。

高プロラクチン血症

高プロラクチン血症は、男性不妊外来患者の中に高頻度で認められる。高プロラクチン血症は、視床下部に対する抑制効果により、正常なゴナドトロピン分泌ができず、造精機能障害の原因となる。高プロラクチン血症の原因は、下垂体腫瘍、ストレス、薬剤、特発性等である。ブロモクリプチンメシル酸塩 (ブロモクリプチン[®]) がプロラクチン抑制作用を持つ薬剤として知られている。強力なプロラクチン抑制作用により、造精機能障害の原因が高プロラクチン血症の際に効果が期待されていた。しかしブロモクリプチン投与と精液所見の関係はないという報告も多く、現在はエビデンスに乏しい状況である³⁾。高プロラクチン血症には、薬剤性のものや一過性に高プロラクチン血症を認めるが経過観察とともに正常化してくるものも少なくない。男性不妊症に対する高プロラクチン血症の治療適応症例は少数と考えられている。

2. 非特異的疾患に対する内分泌療法

正常な視床下部 - 下垂体 - 性腺機能を持ち、性腺刺激状態を有する特発性造精機能障害の症例が対象となる。内因性ゴナドトロピンを有する状態にゴナドトロピン刺激を加える治療法である。追加のゴナドトロピン刺激により、精巣内テストステロン濃度が上昇し、精子形成 (特に精子形成後期) の改善が期待される。

ゴナドトロピン療法

ゴナドトロピン療法は内分泌療法の代表的な治療法である。高度造精機能障害を伴う男性不妊症患者では、ネガティブフィードバック機構により一般的にゴナドトロピン分泌は亢進している。特発性造精機能障害では、

ゴナドトロピン欠乏状態ではないため、MHH 等の低ゴナドトロピン症例に比べてゴナドトロピン療法の効果は限定的と考えられる。ゴナドトロピン療法は具体的には hCG と rhFSH の組合せもしくは単独療法が主体である。造精機能の改善は FSH 製剤の効果が主であり、hCG 製剤については造精機能障害の改善効果は比較的弱いと考えられている^{4, 5)}。本邦でも使用可能となった hCG と rhFSH の皮下注射製剤は自己注射が認められている。rhFSH 療法に反応を示した症例で検討すると、IVF や ICSI 以外の方法での妊娠の可能性も高まるとの報告がある⁶⁾。また特発性乏精子症に対して rhFSH 製剤を使用して ICSI を施行した症例で臨床的妊娠率が改善することが報告された⁷⁾。AUA ガイドライン (2021 年) には、特発性造精機能障害症例に対する rhFSH 製剤の効果はグレード B として記載されているが、実際に使用されている施設は少なく、適応は慎重に判断しなければならない。

抗エストロゲン療法

抗エストロゲン剤は、視床下部にあるステロイド受容体に拮抗的に結合することで、エストラジオールによるネガティブフィードバックを阻害する。この結果、視床下部での GnRH 産生が上昇し、ゴナドトロピンおよびテストステロンが上昇する。薬剤としてはクロミフェンクエン酸塩 (クロミッド[®]) やタモキシフェンクエン酸塩 (タモキシフェン[®]) が用いられる。クロミフェンクエン酸塩は抗エストロゲン作用とエストロゲン作用を併せ持つ薬剤であり、高容量の使用は精細胞を障害するリスクがあることに注意する必要がある。具体的には、クロミフェンクエン酸塩 25mg 連日投与または 50mg 隔日投与を 3 ~ 6 か月継続する報告が多い。クロミフェンクエン酸塩による精子濃度と運動率の改善を示すメタ解析の報告があり、18 件の研究のうち 15 件は精子濃度と運動性の改善に有効性を示している⁸⁾。クロミフェンが無効とする報告では、血清テストステロン値が低下していない症例が多く含まれており、AUA/ASRM ガイドラインにおいて血清テストステロンが低値である造精機能障害症例への使用が望ましいとされる⁹⁾。

アロマターゼ阻害薬

テストステロンとエストラジオールのバランスが精子形成に重要と考えられている。造精機能障害の症例では、血清や精漿中のエストラジオールが上昇することが知られている。アロマターゼ阻害剤はテストステロンからエストラジオールへの変換を抑制することで、テストステロンとエストラジオールのバランスを改善することにより精子形成を促進する。血清テストステロン / エストラジオール比

が低い症例（10未満）に使用されることが多い。血清エストラジオールが低下すると、視床下部へのネガティブフィードバックが抑制され、ゴナドトロピン分泌が亢進することにより精子形成が促進される。本邦でのアロマターゼ阻害薬の使用報告は少ないが、レトロゾールやアナストロゾールなどの使用が ASRM ガイドラインに記載されており、精液濃度や運動率の改善を示すシステマティックレビュー論文を含めた報告がある^{10, 11)}。

男性ホルモン療法

精子形成には男性ホルモンであるテストステロンが必須であり、セルトリ細胞の機能維持、精母細胞の分化、精子細胞の成熟などに関与する。男性ホルモン療法は、テストステロン製剤（エンアルモンデポー[®]）を投与することによりテストステロンを補充する治療である。しかしテストステロンの過剰状態はネガティブフィードバックによりゴナドトロピン分泌を抑制し、結果として精巣萎縮を及ぼすこととなり、挙児希望症例には禁忌である。男性ホルモン療法は、否定的な報告も多く現在はほとんど行われていない治療である。

GnRH 療法

下垂体前葉におけるゴナドトロピン産生は視床下部で産生される GnRH によって制御される。GnRH や GnRH アナログ製剤を用いた特発性乏精子症の治療報告では、少量かつ持続的に用いることにより精液所見の改善に有効であったとの報告もある。GnRH は生物学的半減期が短く頻回な投与が必要である。また反応に個人差が大きく、過剰投与による下垂体機能異常が問題となり長期間の治療が困難となる問題がある。造精機能障害の改善を示すエビデンスに乏しく、現在ではあまり使用されていない。

3. 男性不妊症に対する非内分泌療法

原因不明の造精機能障害に対する薬物療法として、まず初めに副作用の少ない非内分泌療法を試み、無効時に内分泌療法に変更することが多い。非内分泌療法としては、主にカリクレイン製剤、ビタミン剤、漢方薬など造精機能障害を改善する可能性のある薬剤が用いられている。造精機能への作用機序は、DNA 合成の改善、抗酸化作用等、アポトーシス抑制等を期待される。しかしその作用機序は不明な点が多く、経験的に治療されることが多い。薬剤の特性を考慮して複数の薬剤を組み合わせ使用されることも多い。以下具体的に男性不妊外来で用いられている非内分泌療法の薬剤を記載する。

カリジノゲナーゼ(カリクレイン[®], カルナクリン[®])

カリジノゲナーゼは腎臓をはじめとするさまざまな組織で産生され、生体内に広く分布したタンパク質分解酵素の一つである。カリジノゲナーゼはキニノーゲンという基質を分解してブラジキニンを生成する。ブラジキニンは、血管拡張や毛細血管の透過性亢進、痛みの感受性の増強など、多くの生理的効果を持つ。このためカリジノゲナーゼ・キニン系は、血圧の調節や炎症反応、痛みの感知に重要な役割を果たしている。精巣においては、カリジノゲナーゼが精子形成の促進、精液の調整、血管拡張等に関与する。精子運動率を改善する機序として、精漿中のキニンが精子エネルギー代謝を改善することで運動能に好影響を与えることが示されている。臨床的には精子無力症を含め多くの有効性を示す報告例があり¹²⁾、男性不妊症診療ではビタミン B12 等との併用療法で広く用いられている。

ビタミンB12 (メチコバル[®])

メチコバルは DNA 合成やリン脂質合成を促進する作用を持つことが知られており、主に末梢神経障害に用いられる薬剤である。悪性貧血患者にビタミン B12 を投与したところ精子数の改善を認めた報告があり、ビタミン B12 の精子形成への関与が注目されるようになった。精子形成においては、精細胞の DNA 合成に関与していることが確認されており、男性不妊症の治療に用いられている。精子濃度や運動率の改善が報告されている。精巣組織の代謝活性化作用を期待して、カリクレインとの併用により男性不妊症の治療薬として広く用いられている。

ビタミンE (ユベラ[®])およびビタミンC (シナール[®])

精子形成細胞は活性酸素等による酸化ストレスに鋭敏であり、酸化ストレスにより障害を受けやすい不飽和脂肪酸を多く含むため酸化ストレスに脆弱な細胞と考えられている。ビタミン E は脂溶性で細胞膜に局在することから細胞膜の酸化ストレスに対する主要な防御因子と考えられている。ビタミン E が抗酸化作用を持つ薬剤として、精子の酸化ストレスを防御し運動能の維持に関与すると考えられる。ビタミン E は古くから男性不妊症の治療薬として用いられており、臨床的には精子濃度、運動率ともに改善するとされている。臨床的には、他剤との相乗効果を期待してカルシノゲナーゼやビタミン C などと併用して用いられることが多い。ビタミン C は水溶性活性酵素の scavenger で、通常精漿に高濃度に存在している。ビタミン C およびビタミン E の併用で精子運動率や精子濃度の改善を示すメタ解析が報告されている¹³⁾。

ATP (アデホス®)

ATPは広く生体内に存在し、高エネルギーリン酸結合の代表的存在として細胞内のさまざまな化学反応や活動に必要なエネルギーを供給する役割を持つ。人工授精用凍結精子保存液にATPを添加することで精子の生存率が改善することから始まり、精漿中の果糖がATPを補酵素として分解され精子に運動エネルギーを供給するという機序が提唱され、精子エネルギー代謝改善を目的として古くから男性不妊症の治療薬に用いられている。

コエンザイムQ10 (ノイキノン®)

コエンザイムQ10は体内のほぼすべての細胞に存在し、特にエネルギー需要の高い心臓、肝臓、腎臓などの臓器に多く含まれている。電子伝達系の構成要素として、電子を受け取り酸化リン酸化のプロセスでエネルギーを生成する。特にエネルギーの欠乏しやすい組織の代謝を活性化させ回復させる作用があるとされる。またコエンザイムQ10は、強力な抗酸化物質でもあり、細胞内で発生する活性酸素を中和して細胞膜やミトコンドリアを酸化ストレスから保護する。これにより、細胞の老化や病気の進行を防ぐ役割が考えられている。精子形成に関しては、精漿を介して精子に作用することにより精子濃度や運動率を改善させることが報告されているが¹⁴⁾、妊娠率の改善を示す報告は少なく今後の調査が期待される。

亜鉛 (ノベルジン®)

亜鉛は精子形成において重要な役割を果たす微量元素である。血液検査にて血清亜鉛濃度を測定することが可能であり、亜鉛欠乏症が疑われる際に測定される。DNAおよびRNAの合成、酵素活性の調節、細胞分裂等に関与しており、精子形成の様々なプロセスに必須である。亜鉛が不足すると、精子濃度や運動低下の原因となる。亜鉛は抗酸化物質としても働き、精子細胞を酸化ストレスから保護する。特発性男性不妊症患者で精漿の亜鉛濃度の減少が知られており、亜鉛の補充は精子濃度や運動率を改善することが報告されている¹⁵⁾。

L-カルニチン製剤 (エルカルチン®)

精漿上体液中にエルカルニチンやアセチルLカルニチンが高濃度に存在し、精子ミトコンドリアで長鎖脂肪酸の輸送代謝に関与している。精子のエネルギー代謝を促進して運動能力を改善する。また間接的作用として抗酸化作用も有しており、精液中の活性酸素量を減少させ、精液の質を向上させる。精子無力症患者の精漿カルニチン濃度の低下が報告されており、カルニチン製剤の投与により精子運動率の改善が報告されている¹⁶⁾。高容量の

カルニチン製剤は精子毒性があるため、過剰投与には注意が必要である。

漢方薬

漢方薬は複数の混合された生薬から成り立っており、八味地黄丸、補中益気湯、牛車腎気丸等が男性不妊症治療に用いられることが多い。抗酸化ストレス作用、末梢血管拡張作用、DNA合成促進作用、ステロイド様作用など複数の効能を有している。精巣のテストステロンの分泌促進、精子運動能の改善作用が実験的に証明されている。八味地黄丸は、泌尿生殖器の機能低下に有効とされ、男性不妊症や性機能障害に使用される。精子形成に対する作用機序は不明であるが、精子濃度および精子運動率の改善が報告されている。特に精子濃度の改善に有効とされる。補中益気湯は強壯作用、免疫改善作用、抗ストレス作用等があり、疲労感や虚弱体質、消化不良などの改善に用いられることが多い。補中益気湯の投与により精子濃度および精子運動率の改善が報告されており、特に精子運動能改善に有効であり男性不妊症治療に広く用いられている¹⁷⁾。牛車腎気丸は八味地黄丸の含有する生薬に牛膝および車前子を加えたもので、基本的に八味地黄丸と同様の病態に用いられる。精子濃度および運動率の改善が報告されている。漢方薬は造精機能に関する詳細な作用機序については不明な点が多いが、男性不妊症の薬物治療において用いられる頻度は高く、良好な成績が多数報告されている。臨床的には他の薬物と併用して用いられることも多い。

薬物療法の課題

男性不妊症に対する薬物療法は一部の特異的治療を除いて経験に頼ることが多いのが現状である。特発性造精機能障害を対象とした治療では、日常的に用いられている薬剤であるもののエビデンスレベルの高い薬剤が少ないことが問題となる。精子形成を改善する機序の解明が重要と考えられ、今後のエビデンスの蓄積に期待される。漫然と使用することで適切なタイミングでの生殖補助医療の介入を妨げることがないように注意する必要がある。

参考文献

- 1) Yang L, Zhang SX, Dong Q, Xiong ZB, Li X: Application of hormonal treatment in hypogonadotropic hypogonadism: more than ten years experience. Int Urol Nephrol, 44 (2): 393-9, 2012.

- 2) Rastrelli G, Corona G, Mannucci E, Maggi M: Factors affecting spermatogenesis upon gonadotropin-replacement therapy: a meta-analytic study. *Andrology*, 2 (6) : 794-808, 2014.
- 3) Vandekerckhove P, Lilford R, Vail A, Hughes E: Bromocriptine for idiopathic oligo/asthenospermia. *Cochrane Database Syst Rev*, 1996 (2) : Cd000152, 2000.
- 4) Paradisi R, Busacchi P, Seracchioli R, Porcu E, Venturoli S: Effects of high doses of recombinant human follicle-stimulating hormone in the treatment of male factor infertility: results of a pilot study. *Fertil Steril*, 86 (3) : 728-31, 2006.
- 5) Paradisi R, Natali F, Fabbri R, Battaglia C, Seracchioli R, Venturoli S: Evidence for a stimulatory role of high doses of recombinant human follicle-stimulating hormone in the treatment of male-factor infertility. *Andrologia*, 46 (9) : 1067-72, 2014.
- 6) Foresta C, Bettella A, Garolla A, Ambrosini G, Ferlin A: Treatment of male idiopathic infertility with recombinant human follicle-stimulating hormone: a prospective, controlled, randomized clinical study. *Fertil Steril*, 84 (3) : 654-61, 2005.
- 7) Farrag A, Sagnella F, Pappalardo S, Costantini A, Lisi F, Carfagna P, Manna C: The use of r-hFSH in treatment of idiopathic male factor infertility before ICSI. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 19 (12) : 2162-7, 2015.
- 8) Huijben M, Huijsmans RLN, Lock M, de Kemp VF, de Kort LMO, van Breda J: Clomiphene citrate for male infertility: A systematic review and meta-analysis. *Andrology*, 11 (6) : 987-96, 2023.
- 9) Schlegel PN, Sigman M, Collura B, De Jonge CJ, Eisenberg ML, Lamb DJ, Mulhall JP, Niederberger C, Sandlow JJ, Sokol RZ, Spandorfer SD, Tanrikut C, Treadwell JR, Oristaglio JT, Zini A: Diagnosis and Treatment of Infertility in Men: AUA/ASRM Guideline PART II. *J Urol*, 205 (1) : 44-51, 2021.
- 10) Yang C, Li P, Li Z: Clinical application of aromatase inhibitors to treat male infertility. *Hum Reprod Update*, 28 (1) : 30-50, 2021.
- 11) Guo B, Li JJ, Ma YL, Zhao YT, Liu JG: Efficacy and safety of letrozole or anastrozole in the treatment of male infertility with low testosterone-estradiol ratio: A meta-analysis and systematic review. *Andrology*, 10 (5) : 894-909, 2022.
- 12) Takasaki N, Ogita T, Tonami H, Shimizu A, Ueno N, Okano H. Clinical evaluation of kallikrein in male infertility. *Hinyokika Kyo*, 32 (9) : 1313-8, 1986.
- 13) Zhou X, Shi H, Zhu S, Wang H, Sun S: Effects of vitamin E and vitamin C on male infertility: a meta-analysis. *Int Urol Nephrol*, 54 (8) : 1793-805, 2022.
- 14) Lafuente R, González-Comadrán M, Solà I, López G, Brassesco M, Carreras R, Checa MA: Coenzyme Q10 and male infertility: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*, 30 (9) : 1147-56, 2013.
- 15) Zhao J, Dong X, Hu X, Long Z, Wang L, Liu Q, Sun B, Wang Q, Wu Q, Li L: Zinc levels in seminal plasma and their correlation with male infertility: A systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*, 6: 22386, 2016.
- 16) Mongioi L, Calogero AE, Vicari E, Condorelli RA, Russo GI, Privitera S, Morgia G, La Vignera S: The role of carnitine in male infertility. *Andrology*. 4(5) :800-7, 2016.
- 17) Yoshida H, Tanifuji T, Sakurai H, Tashiro H, Ogawa H, Imamura K: Clinical effects of Chinese herb medicine (hochu-ekki-to) on infertile men. *Hinyokika Kyo*, 32 (2) : 297-302, 1986.

不妊診療における精索静脈瘤に対する治療戦略

Treatment strategies for varicocele in infertility practice

岡田 桂輔

Keisuke Okada

神戸大学大学院医学研究科 腎泌尿器科学講座 〒650-0017 兵庫県神戸市中央区楠町7-5-1 泌尿器科医局
Department of Urology, Kobe University Graduate School of Medicine

要旨: 精索静脈瘤は男性不妊症の重要な原因の一つであり、その診断と治療に関する知見は近年大きく深まりつつある。身体診察に加えて超音波検査も併用して診断される。治療は手術療法が基本であり、特に顕微鏡下内精静脈低位結紮術が標準的な術式として広く採用されている。この術式は術後再発率が低く、合併症リスクも低い。手術後の精液所見の改善や妊娠率の向上が期待される。また精索静脈瘤が精子DNA断片化に与える影響にも注目が集まっており、手術が妊娠率向上に寄与する可能性が示唆されている。しかし、治療の選択やタイミングについては患者個別の状況に応じた慎重な判断が求められるため、十分なインフォームドコンセントが重要である。現時点ではエビデンスがまだ不十分であるため、さらなる研究の進展が望まれる。

キーワード: 精索静脈瘤, 精子DNA断片化, 男性不妊症

ランニングヘッド: 精索静脈瘤の治療戦略

英文要旨: Varicocele is a significant cause of male infertility, and recent advancements have greatly enhanced our understanding of its diagnosis and treatment. Diagnosis typically involves physical examination supplemented by ultrasound imaging. The primary treatment is surgical, with the microsurgical subinguinal varicocelectomy being the most widely adopted standard procedure. This technique is associated with a low recurrence rate and minimal risk of complications. Postoperative improvements in semen parameters and increased pregnancy rates are anticipated. Additionally, there is growing interest in how varicocele affects sperm DNA fragmentation, with evidence suggesting that varicocelectomy may improve pregnancy outcomes by addressing this issue. However, decisions regarding treatment options and timing must be made with careful consideration of the individual patient's circumstances, making informed consent crucial. At present, the evidence supporting these interventions remains insufficient, highlighting the need for ongoing research to further elucidate their effectiveness.

キーワード: male infertility, microsurgical subinguinal varicocelectomy, sperm DNA fragmentation, varicocele

はじめに

厚生労働省の発表によると、2023年の出生者数は72.7万人であり、前年から4.3万人減少し、過去最低を記録した¹⁾。また、合計特殊出生率(15～49歳までの女性が生涯に産む子供の平均数)は1.20となり、2022年の1.26からさらに低下した。これは、1947年に統計が

開始されて以来の最低水準であり、8年連続で前年を下回る結果となった¹⁾。

一方、最新の2022年の国内における生殖補助医療(ART)による出生児数は77,206人であり、年々ARTによる出生児数は増加している²⁾。2022年4月からの不妊治療全般の保険適用化に伴い、その注目はさらに高まり、医療機関を受診する男性不妊症の患者数も増加している。

受付 2024年11月18日/受理 2025年2月25日

責任著者: 岡田 桂輔 e-mail [urokada@med.kobe-u.ac.jp]

男性不妊症の原因の約90%は造精機能障害であり、その主な原因としては特発性のものが最も多く、次いで精索静脈瘤が代表的である。精索静脈瘤は、陰嚢内の精索静脈叢の異常拡張と逆流を特徴とする比較的一般的な泌尿器科疾患である。この疾患の有病率は、一般成人男性の約15%、不妊症男性では約40%に上り、男性不妊の重要な原因の一つとして認識されている³⁾。

この疾患は、精子形成障害や精子機能低下を引き起こし、男性の生殖能力に深刻な影響を与える可能性がある。また、陰嚢部の不快感や痛みなどの身体的症状を伴うこともある。

近年、精索静脈瘤の病態生理に関する理解が深まるとともに、診断技術や治療法の進歩も見られる。特に、手術的治療と非手術的治療の選択、各種手術法の比較、治療後の経過観察など、様々な側面で新たな知見が蓄積されている。さらに、男性不妊治療に対する保険適用が開始されたことは、本疾患の治療アプローチに大きな変革をもたらした。精索静脈瘤に対する手術を含む男性不妊治療の多くが保険診療の対象となったことで、患者の経済的負担が軽減されるとともに、より多くの患者が適切な治療を受ける機会が広がった。この制度変更は、精索静脈瘤治療の普及と質の向上に寄与することが期待されている。

本稿では、精索静脈瘤の病態、診断、そして最新の治療戦略について包括的に概説する。特に、個々の患者の状況に応じた最適な治療法の選択や、臨床現場での実践的な指針を提供することを目指す。

診断について

精索静脈瘤は、内精静脈に血液が逆流し、精索内の蔓状静脈叢が怒張・うっ血をきたした状態である。解剖学

的に左側に多く発生し、両側に発生する例は約10%程度とされる。多くは無症状であり、男性不妊症の精査中に視診や触診で発見されることが多い。小児期や思春期においては、陰嚢の腫瘍や鈍痛などの症状で診断されることもある。鈍痛は運動時など、立位で腹圧が加わったときに出やすい。安静時に痛みを訴える場合は、非特異的な症状の可能性を考慮する必要がある。

診断は立位での陰嚢の視診および触診により行い、DubinとAmelarのグレード分類に基づいて以下の3段階に分類する⁴⁾ (表1)。グレード1は立位で腹圧負荷をかけると触知可能な場合、グレード2は立位のみで腹圧負荷なしに容易に触知可能な場合、グレード3は視診のみで診断可能な場合である。グレードが高い場合は、患側の精巣の発育遅延により精巣の左右差を認めることがある。また、精索静脈瘤を触知できないが、超音波検査で静脈の拡張が認められるものをsubclinical varicoceleと呼ぶ。

AUA (米国泌尿器科学会) およびASRM (米国生殖医学会) のガイドラインでは、精索静脈瘤の診断に陰嚢超音波検査を常用することは推奨されていない⁵⁾。陰嚢超音波検査の役割は、肥満体型や陰嚢の皮膚が厚い患者など、身体検査が不確実な場合に限定されている。それに対し、欧州泌尿器学会 (EAU) のガイドラインでは、臨床検査で精索静脈瘤の診断が行われた後に、カラードプラ超音波で確認することを推奨している⁶⁾。しかし、陰嚢超音波検査の広範な使用により、臨床的に検出されないsubclinical varicoceleの検出が増加する可能性があると考えられる。

一方で、日本の男性不妊症診療ガイドラインでは、「身体診察と併用することで、精索静脈瘤の診断に陰嚢超音波検査 (カラードプラ超音波検査を含む) は推奨される (推奨グレードA)」とされている⁷⁾。臨床経験が豊富な泌尿器

表1 精索静脈瘤のグレード分類(Dubin and Amelar grading system に準ずる)

グレード	定義
Subclinical	立位腹圧負荷で触知できないが、エコーで確認可
G1	立位腹圧負荷で初めて触知可
G2	立位のみで触知可
G3	視診のみで診断可

科医による身体診察とカラードブラ超音波検査を比較したところ、精索静脈瘤の診断と等級付けが完全には一致しなかったとの報告もある⁸⁾。これに基づくと、的確な診断には身体診察のみでは不十分であり、日本のガイドラインの記載は妥当であると考えられる。

治療の適応と術式について

男性不妊症診療における精索静脈瘤の外科的治療は、静脈瘤が触知され（グレード2以上）、精液所見が不良な症例に対して手術が推奨される。2021年のCochraneレビューでは、精索静脈瘤治療が生児出生率を向上させるかどうかは不明であるとされたが、妊娠率は改善することが示された⁹⁾。さらに、精液所見が不良で触知可能な精索静脈瘤を有する群では、妊娠率の改善がより顕著であった。また精索静脈瘤のgradeごとに治療効果を検討したシステミックレビューではgrade 1～3までのすべてで精子濃度および運動率が改善したと報告している¹⁰⁾。改善率はgradeと相関し、grade 1では統計学的に有意であるものの改善率が小さく、grade 2以上の精索静脈瘤が治療による恩恵を受ける可能性が高いと結論している。

静脈瘤が触知されない、いわゆるsubclinical varicoceleの症例や精液所見が正常な症例に対しては、安易に手術を勧めるべきではない。理由として、subclinical varicoceleの治療によって精液所見が改善する可能性はあるものの、現時点では妊娠率を改善するというエビデンスが乏しい¹¹⁾。また、合併症やコストの問題も考慮すると、これらの症例に対する治療は推奨されない。

精索静脈瘤の治療には塞栓術などの血管治療も可能であるが、治療の基本は手術療法である。精索静脈瘤を手術療法で根治することにより精液所見が改善し、一般の不妊症治療における妊娠率が向上することが知られている¹²⁾。また、精子のDNA断片化率など精子の質が改善することで、体外受精（IVF）における妊娠率の向上にもつながると報告されている¹³⁾。

術式としては、鼠径管より上方で内精静脈を処理する高位結紮術と、鼠径管の下方で内精静脈を処理する低位結紮術に大別される。腹腔鏡手術は高位結紮術に分類される。高位結紮術のメリットは、身体の中枢に近い位置で精巣静脈を処理するため、静脈の本数が少なく、精巣動脈を温存できることである。しかし、高位結紮術のデメリットとして、精巣静脈が体内の深い位置を走行しているため、術野を確保するために創部がある程度大きくなることや、微細な操作が難しいことが挙げられる。

高位結紮術は開放手術や腹腔鏡手術のいずれにおいても、後述する顕微鏡下低位結紮術と比較して再発率や

術後陰嚢水腫の発生が多いとの報告が多く、近年では第一選択として選ばれることが減少している。ただし、鼠径部の手術歴があり、高度な癒着が想定される症例や再発例においては、低位結紮術ではなく高位結紮術が選択されることがある。

低位結紮術には、鼠径管を開放して行う方法（inguinalアプローチ）と、外鼠径輪の下で行う方法（sub-inguinalアプローチ）がある。手術用顕微鏡を使用するマイクロサージェリーは、合併症や再発率が少ない術式である。低位結紮術の利点として、高位結紮術ではアプローチできない外精静脈にも対応できる点が挙げられる。

inguinalアプローチは、鼠径管上を外鼠径輪から約5cm上方に切開し、鼠径管を開放して精索を確保する方法である。これに対して、sub-inguinalアプローチは外鼠径輪の下側を約2～3cmの切開で精索を確保するため、侵襲が少なく、合併症も少ない。現在では、このsub-inguinalアプローチによる顕微鏡下内精静脈低位結紮術が標準術式となっている¹⁴⁾。

しかし、顕微鏡下低位結紮術では処理する静脈の数が多く、さらに動脈、リンパ管、神経の温存が不可欠であるため、マイクロサージェリーに対する高い熟練が必要である。

新しい話題①

非閉塞性無精子症に合併した精索静脈瘤について

非閉塞性無精子症（NOA）に対しては、その病態や精子回収率、合併症の観点から、顕微鏡下精巣内精子採取術（micro-TESE）が一般的である。この手術は、男性不妊症診療ガイドラインにおいても推奨グレードAとして位置づけられており、標準的な治療法とされている。

NOAに合併する精索静脈瘤の症例については、後ろ向き研究や観察研究において、精索静脈瘤を治療することで射出精液中に精子が出現する可能性があることや、TESE（精巣内精子採取）による精子回収率が向上するという報告がある¹⁵⁾。しかし、これらの研究はランダム化比較試験（RCT）の結果を含んでおらず、エビデンスの強度としては十分とは言えない¹⁶⁾。精索静脈瘤の治療が特定の患者群において精子回収率を改善する可能性が示唆されているが、研究結果は依然として一貫しておらず、患者個別の状況に応じた対応が求められている。

精索静脈瘤の治療後には、TESEおよびその後の顕微授精（ICSI）が遅延する可能性があるため、その点も考慮する必要がある。治療のタイミングと方法については、患者ごとの病態や希望に応じて慎重に決定されるべきであり、精索静脈瘤手術のメリットとデメリットを十分に説明し、患者が納得した上で治療を進めることが重要である。

新しい話題② 精索静脈瘤と「精子の質」に関して

ARTの普及に伴い、「精子の質」が注目されるようになっていいる。精子の質という言葉は、精子の形態、運動能力、DNAの状態などを総合的に評価する概念である。精子の質が高いということは、正常な形態を持ち、活発に動く能力があり、DNAの損傷率が低いことを意味する。精子の質は、受精能力や妊娠の成功率に大きく影響する。精子のDNAが損傷している場合、受精や胚の発育に問題が生じる可能性がある。そのため、精子の質は不妊治療や生殖医療において非常に重要な要素となっており、近年ではその質を数値化することが可能となってきた。

SDF (Sperm DNA Fragmentation, 精子DNA断片化)とは、精子ゲノムの一本鎖または二本鎖に切断が生じた状態を指す。成熟した精子にはDNA損傷を修復する能力がなく、これらの切断された状態は持続するため、SDFが精子に負の影響を及ぼす可能性がある。SDF値が高い場合、精子のDNAがより多く断片化されていることを意味し、受精能力の低下や胚発育不全、流産率の増加に関連が示唆される¹⁷⁾。

精索静脈瘤は精巣の温度上昇や酸化ストレスの増加を引き起こし、これが精子DNAの損傷を促進することが示唆されている。従来、精索静脈瘤手術は精液所見の改善を目的として行われていたが、近年ではSDFの改善、すなわち精子の質の改善にも有用であることが示されている¹⁸⁾。

精索静脈瘤患者においては、対照群と比較してDFI (DNA Fragmentation Index, DNA断片化指数)が高いことが報告されている¹⁸⁾。精索静脈瘤手術を実施することでDFIが低下し、術後のDFI低下率が大きい患者では妊娠率が高いことも示されている¹⁹⁾。また、精索静脈瘤手術後にARTを行ったグループが臨床妊娠率で優れているとされている²⁰⁾。精索静脈瘤を有する患者にはARTを検討する際にも手術を提案することが妥当と考えられるが、術後すぐにDFIの改善が見られるわけではなく、手術によるARTの遅延をどの程度許容できるかが課題であると考えられている。

まとめ

精索静脈瘤は男性不妊症の重要な原因の一つであり、その診断と治療に関する知見は近年大きく進展している。精索静脈瘤の診断には、身体診察と超音波検査の組み合わせが推奨されており、治療に関しては手術療法が基本とされている。特に顕微鏡下低位結紮術が標準的な術式とされ、その利点が評価されている。さらに、精索静脈

瘤と精子の質との関連についても多くの研究が進んでおり、エビデンスはまだ不十分であるものの、手術による精子の質の改善が示唆されている。しかし、治療の選択やタイミングについては、患者個別の状況に応じた慎重な判断が求められるため十分なインフォームドコンセントが重要である。今後の研究により、精索静脈瘤に対する最適な治療法やその効果についてのさらなる明確化が期待される。

参考文献

- 1) 令和5年(2023)人口動態統計月報(概数)の概況.厚生労働省. <https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/geppo/nengai23/dl/kekka.pdf>, (2025.2.27)
- 2) 2022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/2022_JSOG-ART.pdf, (2025.2.27)
- 3) 厚生労働省子ども・子育て支援推進調査研究事業 わが国における男性不妊に対する検査・治療に関する調査研究 平成27年度総括・分担研究報告書ダイジェスト版. 日本泌尿器科学会. https://www.urol.or.jp/lib/files/info/ministries/20170105_research_report.pdf, (2025.2.27)
- 4) Dubin L, Amelar RD: Varicocele. Urol Clin North Am, 5(3): 563-572, 1978.
- 5) EAU Guidelines on Male Infertility. European Association of Urology. <https://d56bochlfluxqnz.cloudfront.net/media/EAU-Guidelines-on-Male-Infertility-2019.pdf>, (2025.2.27)
- 6) Male Infertility Best Practice Policy Committee of the American Urological Association; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Report on optimal evaluation of the infertile male. Fertil Steril, 86: S202-9, 2006.
- 7) 日本生殖医学会. CQ 1男性不妊症の診断に陰嚢超音波検査(カラードプラ超音波検査を含む)は推奨させるか?男性不妊症診療ガイドライン. 第1版, pp12-15, メディカルレビュー社, 2024.
- 8) Cocuzza MS, Tiseo BC, Srougi V, Wood GJA, Cardoso JPGF, Esteves SC, Srougi M: Diagnostic accuracy of physical examination compared with color Doppler ultrasound in the determination of varicocele diagnosis and grading: Impact of urologists' experience. Andrology, 8: 1160-6, 2020.
- 9) Persad E, O'Loughlin CA, Kaur S, Wagner G, Matyas N, Hassler-Di Fratta MR, Nussbaumer-Streit B: Surgical or radiological treatment for varicoceles in subfertile men. Cochrane Database Syst Rev, 4 (4): CD000479, 2021.
- 10) Asafu-Adjei D, Judge C, Deibert CM, Li G, Stember D, Stahl PJ: Systematic Review of the Impact of Varicocele Grade on Response to Surgical Management. J Urol, 203(1): 48-56, 2020.
- 11) Belay RE, Huang GO, Shen JK, Ko EY: Diagnosis of clinical and subclinical varicocele: how has it evolved?. Asian J Androl, 18 (2): 182-185, 2016.
- 12) Agarwal A, Cannarella R, Saleh R, Boitrelle F, Gül M, Toprak T, Salvio G, Arafa M, Russo GI, Harraz AM, Singh R, Garrido N, Hamoda TAA, Rambhatla A, Kavoussi P,

- Kuroda S, Çalik G, Saini P, Ceyhan E, Dimitriadis F, Henkel R, Crafa A, Palani A, Duran MB, Maziotis E, Saïs É, Bendayan M, Darbandi M, Le TV, Gunes S, Tsioulou P, Sengupta P, Hazir B, Çeker G, Darbandi S, Durairajanayagam D, Aghamajidi A, Alkhalidi N, Sogutdelen E, Leisegang K, Alarbid A, Ho CCK, Malhotra V, Finocchi F, Crisóstomo L, Kosgi R, ElBardisi H, Zini A, Birowo P, Colpi G, Park HJ, Serefoglu EC, Nguyen Q, Ko E, de la Rosette J, Pinggera GM, Nguyen HVP, Kandil H, Shah R: Impact of Varicocele Repair on Semen Parameters in Infertile Men: A Systematic Review and Meta-Analysis. *World J Mens Health*, 41 (2) : 289-310, 2023.
- 13) Birowo P, Rahendra Wijaya J, Atmoko W, Rasyid N: The effects of varicocelectomy on the DNA fragmentation index and other sperm parameters: a meta-analysis. *Basic Clin Androl*, 30: 15, 2020.
 - 14) Cayan S, Shavakhabov S, Kadioğlu A: Treatment of palpable varicocele in infertile men: a meta-analysis to define the best technique. *J Androl*, 30 (1) : 33-40, 2009.
 - 15) Esteves SC, Miyaoka R, Roque M, Agarwal A: Outcome of varicocele repair in men with nonobstructive azoospermia: systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl*, 18(2): 246-253, 2016.
 - 16) Kirby EW, Wiener LE, Rajanahally S, Crowell K, Coward RM: Undergoing varicocele repair before assisted reproduction improves pregnancy rate and live birth rate in azoospermic and oligospermic men with a varicocele: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*, 106 (6): 1338-1343, 2016.
 - 17) Simon L, Zini A, Dyachenko A, Ciampi A, Carrell DT: 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.
 - 18) Smit M, Romijn JC, Wildhagen MF, Veldhoven JL, Weber RF, Dohle GR: Decreased sperm DNA fragmentation after surgical varicocelectomy is associated with increased pregnancy rate. *J Urol*, 183 (1) : 270-274, 2010.
 - 19) Zini A, Dohle G: Are varicoceles associated with increased deoxyribonucleic acid fragmentation?. *Fertil Steril*, 96(6) : 1283-1287, 2011.
 - 20) Esteves SC, Roque M, Agarwal A: Outcome of assisted reproductive technology in men with treated and untreated varicocele: systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl*, 18 (2) : 254-258, 2016.

精液中酸化ストレスおよび精子DNA断片化

Seminal oxidative stress and sperm DNA fragmentation

竹島 徹平

Teppei Takeshima

横浜市立大学附属市民総合医療センター生殖医療センター泌尿器科 〒232-0024 横浜市南区浦舟町4-57
Department of Urology, Reproduction Center, Yokohama City University Medical Center

要旨： 活性酸素(ROS)は生体の維持に必要であるが、加齢・生活習慣・環境因子・精索静脈瘤などの要因により精液中ROSが過剰になると抗酸化力との均衡が崩れ酸化ストレスを生じる。酸化ストレスは精子細胞膜の脂質過酸化による運動性の低下だけでなく、精子DNAの断片化をきたす。精子DNA断片化は胚発生および妊娠転帰に負の影響を与えることが知られている。酸化ストレスおよび精子DNA断片化の測定・定量化について、現時点ではエビデンスの蓄積が十分とはいえず多くの診療ガイドラインではルーチンでの測定は推奨されていないものの、適応を選んで考慮される。酸化ストレスおよびDNA断片化精子の除去目的に先進医療技術を用いた精子選別法が行われている。同時に、男性パートナーに対する治療介入も並行して行われるべきであり、泌尿器科医をはじめとした男性不妊診療医への適切なコンサルテーションが望ましい。
キーワード： 活性酸素, 酸化ストレス, 精索静脈瘤, 精子DNA断片化, 男性不妊症
ランニングヘッド： 精液中酸化ストレスと精子DNA断片化

英文要旨： Seminal reactive oxygen species (ROS) are necessary for the steps involved in the essential physiological response for fertilization, but when ROS production become excessive due to factors such as aging, lifestyle, environmental factors, and varicocele, the homeostatic balance with antioxidant capacity is disrupted, causing oxidative stress. Oxidative stress not only causes a decrease in motility due to lipid peroxidation of the sperm cellular membrane but also causes fragmentation of sperm DNA. It is known that sperm DNA fragmentation has a negative impact on embryonic development and pregnancy outcomes. At present, there has been not enough evidence to measure and quantify oxidative stress and sperm DNA fragmentation, and although many clinical practice guidelines do not recommend it as a routine measurement, it should be considered in selected cases. Sperm selection using advanced medical technology are being used to remove sperm with oxidative stress and DNA fragmentation. At the same time, treatment interventions for the male partner should also be carried out in parallel, and appropriate consultation with urologists and other male infertility specialists is desirable.

キーワード： male infertility, reactive oxygen species, oxidative stress, sperm DNA fragmentation, varicocele

ランニングヘッド： Seminal oxidative stress and sperm DNA fragmentation

はじめに

世界保健機関 (World Health Organization: WHO) のラボラトリーマニュアルが2021年に改定され第6版が発行された¹⁾。精液所見基準下限値がマイナーチェンジとなっただけでなく精子DNA断片化検査がextended examination

に、精液中酸化ストレス検査がadvanced examinationという位置付けで収載された。2024年2月に発刊となった本邦の男性不妊症診療ガイドライン²⁾においても、これらの測定については、「現時点では標準的とは言い難いものの近い将来の課題と想定される」Future Question (FQ)として設定されており、いずれについても臨床的には重要ではある

ものの十分なエビデンスが蓄積されるまでは慎重に使用し、解釈されるべきであると考えられている。本稿では酸化ストレスおよび精子DNA断片化について、その病態や臨床的意義、測定法、およびその対処法についても概説を行う。

酸化ストレス

活性酸素 (reactive oxygen species: ROS) はヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$)、スーパーオキシドアニオン ($\cdot\text{O}_2^-$) をはじめとしたフリーラジカルおよび過酸化水素 (H_2O_2) などの非ラジカルに分類される。前者は不対価電子を持つ不安定で寿命の短い反応性の化学化合物であり他の化合物から不対電子を奪うことで電子のペアを形成し、酸化を引き起こしうる。後者は生体内の金属イオンが存在すると、反応性が高く酸化作用の強いヒドロキシラジカルを生成する作用を有する³⁾。

ROSは生物学的および生理学的な酸化還元反応に不可欠なプロセスを制御するシグナル伝達経路に影響を与えることが明らかになっており、特に受精過程におけるキャパシテーション、ハイパーアクチベーション、卵子との細胞膜融合に不可欠である。

しかし過剰なROSが生体内の防御機構である抗酸化力

を上回ることによって不均衡が生じ、酸化ストレスが発生する³⁾。

内因性ROSの主な発生源として、精漿中の白血球、および形態学的に異常な頭部と細胞質を有する未熟精子がある。前者は感染防御に関与し、ミエロペルオキシダーゼ系を活性化して病原体を分解する際にROSが産生される。後者は細胞質に大量のグルコース-6-リン酸脱水素酵素を含む残余小体を保持しており、細胞内ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADPH) を生成する。NADPHは、細胞膜内に位置するNADPHオキシダーゼを介してROSを生成する³⁾。

その他、加齢や喫煙・食生活・肥満や過度の飲酒などの生活習慣、高温環境やフタル酸曝露などの環境因子、停留精巣や精索静脈瘤、尿路性器感染症なども過剰なROS産生の原因となる⁴⁾。

酸化ストレスは脂質過酸化による精子細胞膜の流動性の消失をきたし、運動性低下をはじめとした精子パラメータ異常の原因となる^{5,6)} だけでなく、精子DNA断片化の原因となる(図1)。特発性男性不妊症の約半数に酸化ストレスが関与していることがわかっており、抗酸化療法など治療介入の対象となる患者の同定のため酸化ストレスの定量化がしばしば行われている⁷⁾。

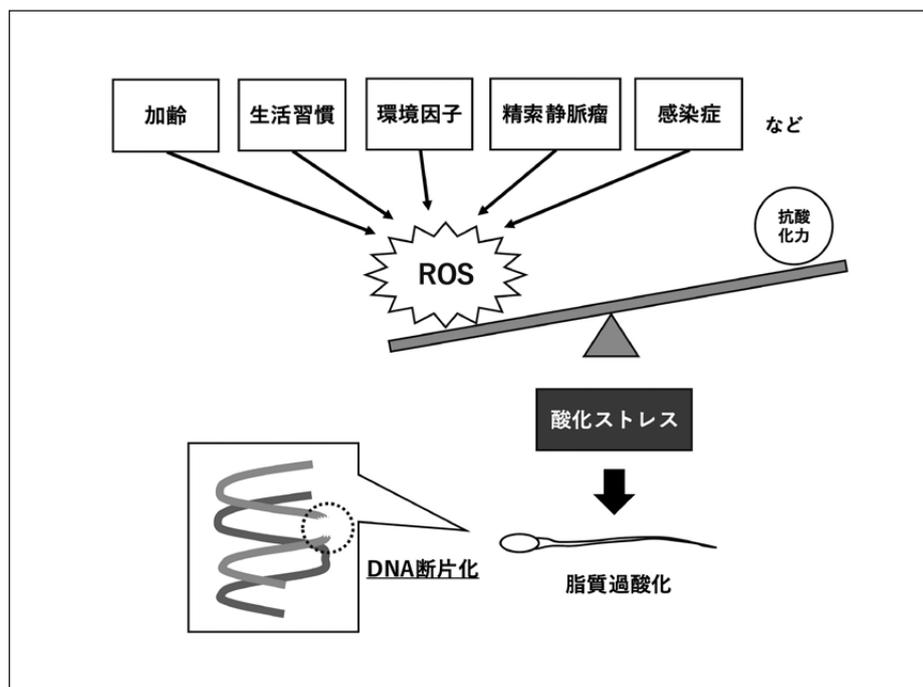


図1 酸化ストレスの発生と精子DNA断片化
生活習慣や環境因子、精索静脈瘤などが原因で過剰なROSが発生することにより酸化ストレスが生じる。酸化ストレスは精子DNA断片化をきたしうる。

精子 DNA 断片化

精子頭部にある核内には遺伝情報であるDNAが存在する。正常なDNA構造は正常受精や胚発生、妊娠の成立に不可欠である。

精子形成の最終過程で、クロマチンを構成するヒストンがプロタミンに置換され、クロマチンの凝縮（コンパクション）が起こる。この際に内因性ヌクレアーゼであるトポイソメラーゼIIがDNAを切断し、DNAリガーゼが修復を行う。しかし、熱や喫煙、環境因子や化学物質などの因子によりトポイソメラーゼやDNAリガーゼの活性異常が生じることにより修復が行われず、DNA断片化が生じる⁴⁾。同時に、酸化ストレスもカスパーゼ3を活性化させ、直接DNA鎖を切断し断片化を生じさせる。断片化には1本鎖切断と2本鎖切断があり、前者はもう一方の鎖が複製の鋳型として修復されることがあるが、後者は修復不能となる。いずれも生殖過程において負の影響を与える⁴⁾。

受精後、胚発生は分割期（初期胚）までは卵子由来のmRNAが使用され、一般的に8細胞期（day3）に胚性ゲノム活性が始まり、胚自身のゲノムからの転写が行われることで胚発生が進行する。つまり、DNA断片化精子が受精した場合、分割期胚以後に発生停止が起こり、胚盤胞への到達率が低下すると考えられる（図2）⁸⁾。また、特に2本鎖切断精子においては反復流産と深く関連しているとの報告がある。

おもな酸化ストレス測定法

精液中の酸化ストレス測定法は、精液中のROSを直接測定する直接法と、ROSによって引き起こされた酸化的損傷のマーカーを測定する間接法に分類される。

前者としてルミノール反応を利用した化学発光法（chemiluminescence）や蛍光プローブを使用したフローサイトメトリー、電子スピン共鳴法があり、後者としては脂質過酸化の産物であるマロンジアルデヒド（malondialdehyde: MDA）やDNA酸化損傷のマーカーである8-OHdG（8-hydroxy-2'-deoxyguanosine）などがある。また、抗酸化力の指標として総抗酸化能（total antioxidant capacity: TAC）の測定がしばしば行われる。TAC測定の代表的なアッセイがトロロックス等価抗酸化能（Trolox-equivalent antioxidant capacity: TEAC）であり、トロロックスを標準物質としてサンプルの抗酸化能を定量化する方法である。さらに、ROSと抗酸化力のバランスを評価する目的でROS-TAC scoreが用いられてきた。

しかしながら、いずれの測定法も煩雑で時間がかかり臨床で運用しにくいと、主に研究目的として用いられてきた。近年、ROSと抗酸化力のバランスを評価するアッセイとして、酸化還元電位（oxidation-reduction potential: ORP）がしばしば用いられる⁹⁾。これは、酸化レベルと還元レベルのバランスを電位（mV）で測定する簡便かつ短時間で測定可能な方法である。通常、精子濃度あたり（mV/10⁶/ml）の標準化ORP（standardized ORP: sORP）で酸化ストレスを評価し、そのカットオフ値は1.36mV/10⁶/mlと報告されている。ORPは精

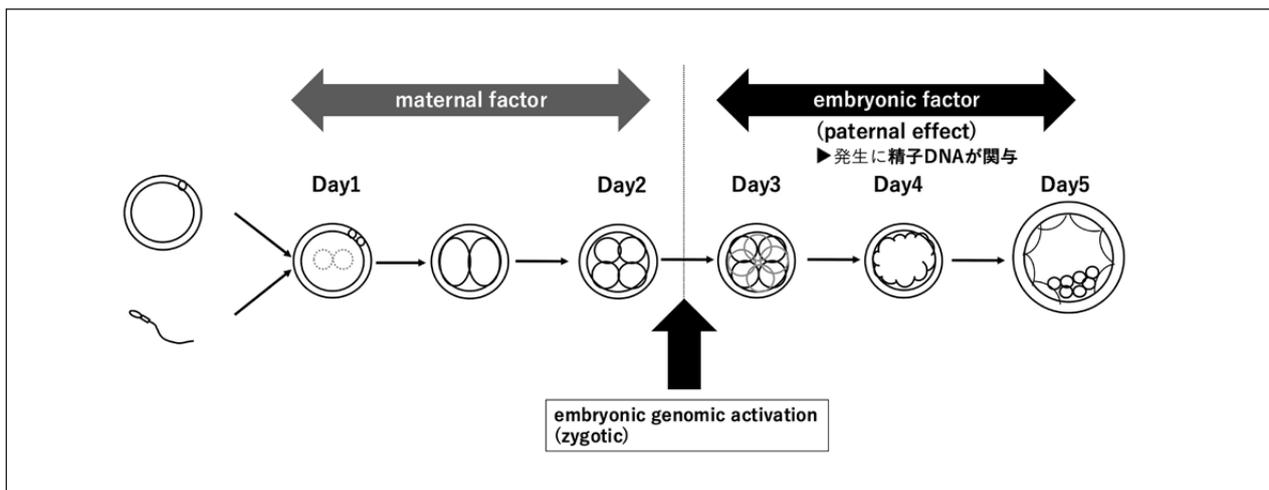


図2 精子 DNA 断片化と胚発生

精子 DNA 断片化が生じると、day3 以降の胚発生が停止する。これは、胚性ゲノム活性化が生じることにより、胚発生が卵子由来から胚自身のゲノムにより進行するためである。

子パラメータと負の相関関係にあり、不妊男性と対照群を区別するのに有用であると報告されている。一方で、本アッセイはWHOラボラトリーマニュアル第6版においてAdvanced examinationの位置付けであり強力なエビデンスが不足していると言及されている¹⁾。そのため、十分なエビデンスが蓄積されるまでは本検査の適応選択および解釈は慎重になされる必要があると考えられる。

おもなDNA断片化測定法

DFI測定法は複数存在し、DNAの1本鎖または2本鎖の切断を直接評価する直接法と酸処理に対するクロマチンの構造変化を検出する間接法に分類される(表1)¹⁰⁾。臨床において最もよく用いられているのは精子クロマチン構造検査(sperm chromatin structure assay: SCSA[®])である。これは、クロマチンの構造変化を測定した間接法であり、酸処理した精子にアクリジンオレンジ染色を行いフローサイトメーターで赤色蛍光染色された精子の割合を測定する検査系である。その他、断片化したDNA末端にヌクレオチド(デオキシウリジン三リン酸)を結合させ蛍光標識させるTUNEL法や、アガロースゲル上で精子に電場をかけ蛍光標識したDNAが尾を引いて移動するのを観察するComet法、精子頭部のHalo構造の有無を観察するSCD(sperm chromatin dispersion)法がある。いずれの測定法も長所・短所が存在するが、標準化されたプロトコールがなく、各測

定法やキットにより様々なカットオフ値が存在し、DFI高値の定義が異なるため、注意が必要である²⁾。

原因不明不妊男性と生殖機能正常なドナーでは精液所見に有意な差を認めないものの原因不明不妊男性においてDFIが有意に高いとの報告があり、既存の精液検査だけでは同定できない男性不妊症因子の検出に有効であると考えられる²⁾。また、DFI高値患者は低値患者と比較し、良好胚形成率(RR0.65, 95%CI[0.62, 0.68])および臨床妊娠率(RR0.85, 95%CI[0.75, 0.96])が有意に低く、流産率(RR1.57, 95%CI[1.18, 2.09])が高かった¹¹⁾。特に、反復流産患者の男性パートナーにおける精子DFIは、対照群と比較し有意に高かった(平均差11.91%, 95%CI[4.97, 18.86])¹²⁾。

DFI測定についても、WHOラボラトリーマニュアル第6版においてExtended examinationの位置付けである¹⁾。また、米国生殖医学会・泌尿器科学会(ASRM/AUA)における男性不妊診断・治療ガイドラインにおいてもスクリーニング検査としては推奨されておらず、反復流産など適応を選んで行うべきとされている¹³⁾。本邦の男性不妊症診療ガイドラインにおいてもFQとして扱われ、測定は限定的に推奨されるものの今後の検討が必要とされている。

おもな精子選別法

DNA損傷の少ない精子を選別する方法としてさまざまな

表1 さまざまな精子DNA断片化測定アッセイ

アッセイ	長所	短所
SCD	簡易・簡便なキットあり	間接法(ssDNA breakのみ) 酸処理が必要
AO staining (SCSA [™])	多数の報告例あり、カットオフ値が存在する 凍結検体でも可能	間接法(ssDNA breakのみ) 酸処理が必要
Comet	少数の細胞のみ要する 直接法:個々の精子の損傷程度を測定可能 種々のタイプのDNA損傷を測定可能	時間と労力を要する freshなサンプルが必要
TUNEL	直接法 市販のキットが入手可能 凍結サンプルでも可能 ssDNA/dsDNA breakとも検出可能	種々のカットオフ値が存在

方法が用いられている。ここでは一般的な精子調整法として行われている密度勾配遠心法やswim up法を除く、本邦で現在先進医療技術として用いられている精子選別法のDNA損傷精子選別のエビデンスについて述べる。

①膜構造を用いた生理学的精子選択術(ZyMöt™)

8μmの孔をもつメンブレンを通過する正常形態前進精子を選別する手法。不動精子や孔を通過できない非正常形態精子、不純物は回収されず遠心分離による物理的損傷もなく効率的に良好精子を選別可能である。本法による回収精子のDNA断片化率の低下に関しては多くの研究で支持されており、有益である可能性がある。しかし、臨床転帰をアウトカムとした、従来の選別法と比較した13の研究を統合したメタ解析¹⁴⁾において、ICSIによる臨床妊娠率・流産率とも統計学的に有意な差を認めなかったと報告されている。有効性をさらに評価するためには標準化されたプロトコル下でのRCTが必要であると考えられる。

②ヒアルロン酸を用いた生理学的精子選択術(PICSI)

成熟精子にヒアルロン酸結合受容体が高発現している性質を利用し、ヒアルロン酸含有培養液中に精子を添加し、ヒアルロン酸と結合し前進性が低下している精子を選別する方法。ヒアルロン酸結合精子は精子DNA断片化率を有意に低下させる¹⁵⁾。また、DNA断片化率が高い精子に対し、異なる精子選別法(PICSI、密度勾配遠心法、精巣精子使用、磁気活性化細胞選別(MACS))をランダム割付し臨床アウトカムを比較したRCT¹⁶⁾において、PICSIは有意に妊娠率・着床率が高い結果であった。しかし、通常のICSIと臨床アウトカムを比較した他のRCTにおいて、臨床アウトカムに有意な差を認めなかったとする報告もあり、今後本法の有用性を正確に評価するためにはデータ蓄積が必要であると考えられる。

③強拡大顕微鏡による形態良好精子の選別(IMSI)

精子を高倍率(1,000～6,000倍)かつ高解像度で微細に観察し、頭部空胞(vacuole)の少ない精子や形態的に良好な精子を選別する方法。精子頭部の大きな空胞は異常なクロマチンパッケージングを有する¹⁷⁾と考えられており、IMSIによる精子選別が臨床アウトカムに重要であると考えられている。しかし通常のICSIと比較した、13のRCTを統合したCochrane Databaseにおける系統的レビュー・メタ解析¹⁸⁾では、IMSIは有意に臨床妊娠率を改善する可能性がある(リスク比1.23,95%信頼区間(CI)[1.11, 1.37])もののエビデンスの質が低く不確実であった。生産分娩率・流産率については有意な差を認めなかった。こちらについても質の高い研究によるエビデンスの統合が望まれる。

おもな治療介入

臨床においては、ラボワークとして行う精子選別法以外にも、酸化ストレスや精子DNA断片化を軽減させるため男性パートナーに対する治療介入も重要である。以下におもな点を挙げる。

①生活指導

過剰な精液中ROS産生の外的因子としては先述の通り生活習慣や環境因子が挙げられるため、そのような因子を避けるよう指導することが重要である¹⁹⁾。

つまり、喫煙^{20,21)} およびアルコールの過剰摂取を控える²²⁾、バランスの取れた食事と運動により(過体重の場合は)減量を行う^{23,24)}、プラスチック可塑剤であるフタル酸エステルへの曝露を避ける²⁵⁾、陰囊の温度上昇を伴う生活習慣(タイトな下着の着用、長時間の熱湯での入浴、サウナ浴、膝上でのPCの使用、サイクリング)は可能な限り避ける²⁶⁻²⁸⁾、有機溶剤を使用する場合は保護具の使用や換気を行う、などの生活指導が重要である。また携帯電話の電磁波は、ROS産生を増加させ、抗酸化活性を低下させることが知られており²⁹⁾、スマートフォンや携帯電話はズボンのポケットに入れないなどの注意が必要である。また、患者に生活習慣の是正につき啓発したことにより観察期間中央値28日で有意に精子濃度および運動率が改善しただけでなく、DFIが有意に改善した(平均値差-9.0%, $p=0.0075$)との報告³⁰⁾もあることから生活指導の重要性が示唆される。

②禁欲期間の指導

精子は精細管から精巣網を通過した後、精巣上体尾部に至る過程でROSに曝露されることによりDNA断片化が生じる。したがって射精の頻度を増やし、精巣上体における精子の貯蔵期間を短くすることで精子のROSへの曝露を減らすことができ、精子の運動性を高め、DNA断片化を低減させることが可能である。

禁欲期間2日以内と、3日以上での患者の精液パラメータを比較した系統的レビュー・メタ解析³¹⁾では、禁欲が短い患者群において有意に精液量および精子濃度は低かったが運動率および前進運動率ともに有意に高かった。また、DFIは禁欲が短い群において有意に低下が見られた(-3.82%, 95%CI[-6.09, -1.54])。全1030のART周期を禁欲2-7日の群と7日以上群に分け臨床転帰につき比較検討した後ろ向き観察研究³²⁾では、受精率に有意な差を認めなかったが、移植あたりの臨床妊娠率(44.4% vs. 32.7%, オッズ比(OR) 1.6, 95%CI[1.1, 2.3])、生産分娩率(34.2% vs. 24.1%, OR1.6, 95%CI[1.1, 2.5])ともに禁欲期間が短い群で有意に高かった。以上より2日程度の禁欲期間

での射精を指導するのが望ましいと考えられる。

③抗酸化物質の摂取

前述の通り、ROSが生体内の抗酸化力を上回ることによって酸化ストレスが生じる。そのため、抗酸化物質を摂取することで酸化状態と還元状態の均衡をとり、酸化ストレスによる精子の脂質過酸化やDNA断片化を低減できる可能性がある。Cochrane Databaseによる65の抗酸化療法のプラセボ対照RCT結果を統合した系統的レビュー・メタ解析³³⁾では、ビタミンCとEの併用療法はDFIを有意に低下させた(-13.8%, 95%CI[-17.5, -10.10])。各種抗酸化物質摂取の効果を統合した結果、臨床妊娠率(OR1.89, 95%CI[1.45, 2.47])および生児獲得率(OR1.43, 95%CI[1.07, 1.91])が対照群と比較し有意に高かった結果が得られた³³⁾。他にもL-カルニチンやコエンザイムQ10は非常に強力な抗酸化作用を有しており、前者はスーパーオキシドアニオンや過酸化水素を除去し脂質の過酸化を抑制する。後者はミトコンドリアに作用しエネルギー産生による精子の運動性の改善やスーパーオキシドの形成を阻害し精子の酸化ストレスを予防する効果が期待できる³⁴⁾。

しかし、非酸化ストレス状態の患者に抗酸化物質を投与することで還元ストレスが生じる可能性も示唆されており³⁵⁾、酸化ストレス状態の有無につき評価した上で投与対象を決定するのが本来望ましい³⁶⁾が、こちらについても今後のエビデンスの蓄積が必要である。

④精索静脈瘤治療

精索静脈瘤は精巣静脈の逆流により精巣付近の蔓状静脈叢が拡張し、精巣に熱ストレスおよび酸化ストレスが加わることによって生じる精子DNA断片化と深く関わっている。精索静脈瘤に対する手術はいくつかのアプローチがあるが、もっとも行われている方法は外鼠径輪下で精索を確保し、顕微鏡下に精巣静脈を結紮するsubinguinal approachである。精索静脈瘤手術は造精機能の改善効果とともに有意な精子DFIの低下(-7.23%, 95%CI[-9.86, -5.59])もみられる³⁷⁾。無治療の精索静脈瘤症例と精索静脈瘤を施行した群でのART治療転帰を比較したメタ解析³⁸⁾によると、手術群で有意に臨床妊娠率(OR1.59, 95%CI[1.19, 2.12])および生児獲得率(OR2.17, 95%CI[1.55, 3.06])が高かった。このことから、精索静脈瘤を有する男性不妊症症例は精液所見改善による一般不妊治療だけでなく、ARTにおける臨床妊娠・生児獲得目的でも積極的に外科的治療介入を考慮すべきであると考えられる。

⑤精巣精子を使用したICSI

前述の通り、精子は精巣上体において酸化ストレスの修飾を受ける。精巣は強力な抗酸化システムによって保護されており、精巣内の精子のSDFレベルは、射精された精子の3分の1ほど低いことが報告されている³⁹⁾。そのため、536人、9の研究を統合したメタ解析⁴⁰⁾によるとTESEによる精巣内精子を用いたICSIはDFIが高い射出精子を使用したICSIと比較し臨床妊娠率(OR2.51, 95%CI[1.49, 4.21])および生児獲得率(OR2.59, 95%CI[1.33, 5.04])が有意に高いと報告されている。しかし精巣内精子は射出精子と比較し未熟であり、有意に異数性率が高いとの報告もある³⁹⁾。従って、無精子症以外の理由でTESEを行う場合、ART反復不成功症例や高度乏精子症など症例を限定して行われるべきである。

おわりに

精液中酸化ストレス測定や、精子DNA断片化検査は現時点では多くの診療ガイドラインにおいて積極的に推奨されるに至っていない。しかし、原因が同定できない特発性男性不妊症における治療対象の同定や、反復ART不成功時の精子側の治療アプローチの適応決定など、検査対象を選択すれば非常に重要な検査であると考えられる。同時に、酸化ストレス状態の場合や精子DFIが高値であった場合に、精索静脈瘤の有無などを診断可能な泌尿器科をはじめとした男性不妊治療医への適切なタイミングでのコンサルテーションが非常に重要であると考えられる。

参考文献

- 1) Organization WH: WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Who laboratory manual for the examination and processing of human semen. 2021.
- 2) 日本泌尿器科学会編: 2024年版 男性不妊症診療ガイドライン. 2024.
- 3) Takeshima T, Usui K, Mori K, et al: Oxidative stress and male infertility. *Reprod Med Biol*, 20(1): 41-52, 2020.
- 4) Agarwal A, Majzoub A, Baskaran S, et al: Sperm DNA Fragmentation: A New Guideline for Clinicians. *World J Mens Health*, 38(4): 412-471, 2020.
- 5) Takeshima T, Yumura Y, Yasuda K, et al: Inverse correlation between reactive oxygen species in unwashed semen and sperm motion parameters as measured by a computer-assisted semen analyzer. *Asian J Androl*, 19(3): 350-354, 2017.
- 6) Yumura Y, Takeshima T, Kawahara T, et al: Reactive oxygen species measured in the unprocessed semen samples of 715 infertile patients. *Reprod Med Biol*, 16(4): 354-363, 2017.

- 7) Agarwal A, Parekh N, Panner Selvam MK, et al: Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility. *World J Mens Health*, 37(3): 296-312, 2019.
- 8) Tesarik J, Greco E, Mendoza C: Late, but not early, paternal effect on human embryo development is related to sperm DNA fragmentation. *Hum Reprod*, 19(3): 611-5, 2004.
- 9) Agarwal A, Roychoudhury S, Sharma R, Gupta S, Majzoub A, Sabanegh E: Diagnostic application of oxidation-reduction potential assay for measurement of oxidative stress: clinical utility in male factor infertility. *Reprod Biomed Onlin*, 34 (1) : 48-57, 2017.
- 10) Conti D, Calamai C, Muratori M: Sperm DNA Fragmentation in Male Infertility: Tests, Mechanisms, Meaning and Sperm Population to Be Tested. *J Clin Med*, 13 (17) : 5309, 2024.
- 11) Deng C, Li T, Xie Y, et al: Sperm DNA fragmentation index influences assisted reproductive technology outcome: A systematic review and meta-analysis combined with a retrospective cohort study. *Andrologia*, 51(6) : e13263, 2019.
- 12) McQueen DB, Zhang J, Robins JC: Sperm DNA fragmentation and recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*, 112(1): 54-60, 2019.
- 13) Schlegel PN, Sigman M, Collura B, et al: Diagnosis and treatment of infertility in men: AUA/ASRM guideline part I. *Fertil Steril*, 115(1): 54-61, 2021.
- 14) Ferreira Aderaldo J, da Silva Maranhão K, Ferreira Lanza DC: Does microfluidic sperm selection improve clinical pregnancy and miscarriage outcomes in assisted reproductive treatments? A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 18 (11) : e0292891, 2023.
- 15) Parmegiani L, Cognigni GE, Bernardi S, Troilo E, Ciampaglia W, Filicori M: "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.
- 16) Hozyen M, Hasanen E, Elqusi K, et al: Reproductive Outcomes of Different Sperm Selection Techniques for ICSI Patients with Abnormal Sperm DNA Fragmentation: a Randomized Controlled Trial. *Reprod Sci*, 29(1): 220-228, 2022.
- 17) Franco JG, Jr, Mauri AL, Petersen CG, et al: Large nuclear vacuoles are indicative of abnormal chromatin packaging in human spermatozoa. *Int J Androl*, 35(1): 46-51, 2012.
- 18) Teixeira DM, Hadyne Miyague A, Barbosa MA, et al: Regular (ICSI) versus ultra-high magnification (IMSI) sperm selection for assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev*, 2(2): CD010167, 2020.
- 19) Ivell R: Lifestyle impact and the biology of the human scrotum. *Reprod Biol Endocrinol*, 5: 15, 2007.
- 20) Saleh RA, Agarwal A, Sharma RK, Nelson DR, Thomas AJ, Jr: Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertil Steril*, 78(3): 491-9, 2002.
- 21) Elshal MF, El-Sayed IH, Elsaied MA, El-Masry SA, Kumosani TA: Sperm head defects and disturbances in spermatozoal chromatin and DNA integrities in idiopathic infertile subjects: association with cigarette smoking. *Clin Biochem*, 42(7-8): 589-94, 2009.
- 22) Maneesh M, Dutta S, Chakrabarti A, Vasudevan DM: Alcohol abuse-duration dependent decrease in plasma testosterone and antioxidants in males. *Indian J Physiol Pharmacol*, 50(3): 291-6, 2006.
- 23) Kort HI, Massey JB, Elsner CW, et al: Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl*, 27 (3): 450-2, 2006.
- 24) Singer G, Granger DN: Inflammatory responses underlying the microvascular dysfunction associated with obesity and insulin resistance. *Microcirculation*, 14(4-5) : 375-87, 2007.
- 25) Sedha S, Kumar S, Shukla S: Role of Oxidative Stress in Male Reproductive Dysfunctions with Reference to Phthalate Compounds. *Urol J*, 12(5): 2304-16, 2015.
- 26) Southorn T: Great balls of fire and the vicious cycle: a study of the effects of cycling on male fertility. *J Fam Plann Reprod Health Care*, 28(4): 211-3, 2002.
- 27) Jung A, Strauss P, Lindner HJ, Schuppe HC: Influence of moderate cycling on scrotal temperature. *Int J Androl*, 31 (4): 403-7, 2008.
- 28) Rao M, Zhao XL, Yang J, et al: Effect of transient scrotal hyperthermia on sperm parameters, seminal plasma biochemical markers, and oxidative stress in men. *Asian J Androl*, 17(4): 668-75, 2015.
- 29) Desai NR, Kesari KK, Agarwal A: Pathophysiology of cell phone radiation: oxidative stress and carcinogenesis with focus on male reproductive system. *Reprod Biol Endocrinol*, 7: 114, 2009.
- 30) Komiya A, Kato M, Shibata H, et al: Results of lifestyle modification promotion and reproductive/general health check for male partners of couples seeking conception. *Heliyon*, 9 (4) : e15203, 2023.
- 31) Raditya M, Hari Soejono A, Siswanto MA, et al: Impact of Shorter Abstinence Periods on Semen Parameters: A Systematic Review and Meta-Analysis. *World J Mens Health*, 2024.
- 32) Periyasamy AJ, Mahasam path G, Karthikeyan M, Mangalaraj AM, Kunjummen AT, Kamath MS: Does duration of abstinence affect the live-birth rate after assisted reproductive technology? A retrospective analysis of 1,030 cycles. *Fertil Steril*, 108(6): 988-992, 2017.
- 33) de Ligny W, Smits RM, Mackenzie-Proctor R, et al: Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*, 5 (5) : CD007411, 2022.
- 34) Majzoub A, Agarwal A: Systematic review of antioxidant types and doses in male infertility: Benefits on semen parameters, advanced sperm function, assisted reproduction and live-birth rate. *Arab J Urol*, 16(1): 113-124, 2018.
- 35) Sadeghi N, Boissonneault G, Tavalae M, Nasr-Esfahani MH: Oxidative versus reductive stress: a delicate balance for sperm integrity. *Syst Biol Reprod Med*, 69(1): 20-31, 2023.
- 36) Agarwal A, Parekh N, Panner Selvam MK, et al: Male

Oxidative Stress Infertility (MOSI) : Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility. *World J Mens Health*, 37(3): 296-312, 2019.

- 37) Lira Neto FT, Roque M, Esteves SC: Effect of varicocelectomy on sperm deoxyribonucleic acid fragmentation rates in infertile men with clinical varicocele: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*, 116(3): 696-712, 2021.
- 38) Esteves SC, Roque M, Agarwal A: Outcome of assisted reproductive technology in men with treated and untreated varicocele: systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl*, 18 (2) : 254-8, 2016.
- 39) Moskovtsev SI, Alladin N, Lo KC, Jarvi K, Mullen JB, Librach CL: A comparison of ejaculated and testicular spermatozoa aneuploidy rates in patients with high sperm DNA damage. *Syst Biol Reprod Med*, 58 (3) : 142-8, 2012.
- 40) Khoo CC, Cayetano-Alcaraz AA, Rashid R, et al: Does Testicular Sperm Improve Intracytoplasmic Sperm Injection Outcomes for Nonazoospermic Infertile Men with Elevated Sperm DNA Fragmentation? A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur Urol Focus*, 10(3): 410-420, 2024.

序文

藤ノ木 政勝

獨協医科大学 実験動物センター

この度編集委員長の柴原浩章先生より特集の企画・立案を託される機会を頂きました獨協医科大学実験動物センターの藤ノ木です。私は齧歯類(主にハムスター、マウス、ラット)をモデルに哺乳類精子の運動機能を研究している研究者です。日本IVF学会誌の企画として、さらに生殖医療の現場に携わる方々が読まれる誌の企画としてどのような企画が良いか悩みましたが、私の研究テーマが精子(の運動)であることや精子が取り巻く環境に応じて受精能獲得を起こし運動様式を変えていくということであることから、「精子と環境」というテーマで企画を立案しました。環境と言っても、精子を取り巻く環境には様々な状態が存在します。雄性配偶子である精子は精巣で形成され精巣上で成熟します。この過程では精巣漿液と精巣上皮漿液が精子を取り巻く環境を形成しています。そして、精液に含まれて雌性内性器内に射精されますが、精液では精漿が取り巻く環境を形成します。なお精漿は精巣漿液と精巣上皮漿液に精嚢腺分泌液と前立腺分泌液が加わって構成されますが、その多く(約70%)を精嚢腺分泌液が残り約30%を前立腺分泌液が占め、精漿漿液や精巣上皮漿液はほとんど無視できる割合になってしまいます。射精された精子は子宮を通過し卵管に移動します。卵管内では卵管液の中を遊泳しながら受精能獲得を起こしたのち卵母細胞と融合・受精をします。ちなみに卵管液は卵管分泌液から構成されると考えられますが、卵巣から排卵される際に卵母細胞と共に放出される卵泡液も加わり、卵管采近傍や膨大部から峡部にかけて卵管液成分の濃度勾配が形成されているという報告もあります。

さてこの一連の生理は精子を取り巻く様々な環境の中で起こることから当然の事として精子と環境との相互作用の中で生理現象が現れることになると考えられます。では実際に精子とそれを取り巻く環境にどのような関係性があるのでしょうか？ 今回の特集では精子を取り巻く環境を4つに定義しました。すなわち精液環境、卵管内環境、体内環境、体外環境です。1つ目の精液環境に関しては、精嚢腺分泌液と前立腺分泌液から成る精漿と精子との関係について熊本大学生命資源研究・支援センター生殖機能分野准教授の野田大地先生と大学院生の平歩夢先生に「精嚢腺分泌液の雄生殖能力における役割」というタイトルで考察していただきます。2つ目の卵管内環境に関しては、卵管液や卵泡液といった卵管内の体液と精子との関係について藤ノ木が「卵管内ホルモンの変化に伴った精子受精能獲得の調節の仕組み」というタイトルで考察させていただきます。3つ目の体内環境に関しては、男性の体内におけるストレスの影響によるホメオスタシスの変化と精子との関係について東京医科大学人体構造学分野准教授の宮宗秀伸先生に「発達早期における環境要因、特にストレスおよびグルココルチコイドシグナルのかく乱が精巣の発育および精子形成におよぼす影響」というタイトルで考察していただきます。最後の4つ目の体外環境に関しては、大気などのいわゆる環境に浮遊する微粒子といった環境因子が体内に侵入することと精子との関係について大分県立看護科学大学人間科学講座生体反応学研究室准教授の吉田成一先生に「呼吸器を介した環境因子による精子への影響」というタイトルで考察していただきます。

精子は精巣で作られそして卵管膨大部で卵母細胞と出会うまでには様々な環境を潜り抜ける非常に長い旅を経る必要があります。それぞれの環境において精子がどのように応答しているのか、思いをはせていただけたらと思います。最後になりますが、第一線で活躍される先生方に執筆をお引き受けいただけ大変ありがたくこの場を借りて深謝します。

呼吸器を介した環境因子による精子への影響

The Effects of Inhaled Environmental Factors on Sperm

吉田 成一

Seiichi Yoshida

大分県立看護科学大学 〒870-1201 大分県大分市廻栖野2944-9
Oita University of Nursing and Health Sciences

要旨: 大気中に存在する各種汚染物質 (SO₂, NO₂, 自動車排気由来の微粒子を含む各種粒子状物質) および喫煙が精子に及ぼす影響について, ヒト疫学研究および動物実験の知見を紹介する. これらの因子は, 精子数の低下, 運動率の減少, 異常形態の精子の増加やDNA損傷など, 精子性状の悪化を引き起こすとともに, 酸化ストレス, 内分泌かく乱, エピジェネティック変化等を介して影響することが示唆されてきた. 大気汚染物質は, 複数の交絡因子の存在から原因物質や因果関係の特定が困難であり, 個人での対応は困難である. 一方, 喫煙に関しては個人での対策が可能であり, 全てのたばこ製品を使用しないことがよりよい精子性状のために有効であると考えられる.

キーワード: 精子, 自動車排気, 大気汚染物質, たばこ

英文要旨: This review presents findings from human epidemiological research and animal experiments on the impact of various atmospheric pollutants - including SO₂, NO₂, and particulate matter derived from automobile exhaust - and smoking on sperm quality. These factors have been associated with the deterioration of sperm quality, such as reduced sperm count, decreased motility, increased abnormal morphology, and DNA damage. These effects are suggested to impact sperm via mechanisms including oxidative stress, endocrine disruption, and epigenetic modifications. Atmospheric pollutants are difficult to address at the individual level due to the presence of multiple confounding factors that complicate the identification of causative agents and causal relationships. In contrast, individual-level measures are feasible for smoking, and complete abstinence from all tobacco products is considered effective in maintaining improved sperm quality.

キーワード: Air pollutants, Automobile exhaust, Sperm, Tobacco

1. はじめに

呼吸器を介した環境因子による生体影響として, 古くはロンドンスモッグや四日市公害といった大気汚染物質が呼吸器系に悪影響を与えることが種々の報告で明らかにされている. これらの健康影響の起因物質として, 二酸化硫黄 (SO₂) や二酸化窒素 (NO₂) が知られており, SO₂ や NO₂ による健康影響は呼吸器系にとどまらず循環器系への影響や発がんなどへの影響も明らかにされている. さらに1990年以降, 大気汚染物質として浮遊粒子状物質 (特に粒径が2.5 μm以下のPM_{2.5}) やディーゼル車から排出されるガス (ディーゼル排気) による健康影響が懸念されて

おり, PM_{2.5} やディーゼル排気の濃度上昇により死亡率の増加, 呼吸器系疾患や循環器疾患に悪影響を与えることも明らかにされてきた. さらに, これらの因子が男性 (雄性) 生殖系にも影響を与えることを示す知見もいくつかある.

本稿では, 呼吸器を介した環境因子として, SO₂, NO₂, 自動車排気, PM_{2.5} などの粒子状物質と嗜好品ではあるが呼吸器を介してヒト健康に悪影響を与える因子であるたばこによる男性 (雄性) 生殖系への影響についてヒトを対象とした調査研究, 実験動物を用いた実験研究による知見のうち, 特に造精機能や精子性状への影響について紹介したい.

2. SO₂, NO₂による影響

1) ヒトへの影響

チェコ共和国において実施されたTepliceプログラムにおいてSrám等は、大気汚染物質の曝露と男性生殖系の機能低下との関連性を解析し、SO₂濃度の上昇が精子の運動率低下および異常形態の精子割合の増加と有意に関連していることを明らかにしている¹⁾。さらに、Cai等は、多施設共同研究において約33,000人の精液サンプルを解析し、大気中のSO₂濃度と被検者の精子濃度および精子性状(運動率)との間に負の相関が認められることを報告している²⁾。また、Liu等は、21件の研究論文を対象としたメタアナリシスを実施し、SO₂曝露が精子運動率および精子数の低下に、またNO₂曝露が精子数の低下にそれぞれ有意に関連することを示した²⁾。これらの知見は、SO₂およびNO₂の曝露がヒトの精子性状の悪化に寄与する可能性を示唆するものである。

2) 動物への影響

大気環境中には、後述する各種粒子状物質や光化学オキシダントなど、多様な交絡因子が存在するため、SO₂およびNO₂がヒトの精子性状や造精機能に悪影響を及ぼす原因因子であるか評価することは困難である。したがって、それらの交絡因子の影響を排除した上でSO₂およびNO₂の寄与を評価するためには、実験動物を用いた吸入曝露実験により、その影響を精密に解析するとともに影響発生メカニズムを明らかにすることが求められる。Li等は、SO₂による精子形成への影響を評価するために、5mg/m³のSO₂(およそ2ppm相当であり、2ppmは作業環境許容濃度相当である)をマウスに曝露したところ、テストステロン値の低下や酸化的ストレスなどが生じ、精巣組織の変性や精子数の減少、異常形態の精子割合の増加など、雄性生殖系が障害されることを示した³⁾。一方、純粋なNO₂ガス曝露によるマウスあるいはラットなど動物への影響を評価した研究は極めて限られている。Kripke, Sherwinは、1ppmのNO₂ガス曝露(NO₂の環境基準は1日平均値が0.04ppmから0.06ppmまでのゾーン内又はそれ以下)ではラット精巣において影響が認められなかったと報告した⁴⁾。これは、NO₂が実験動物の雄性生殖系に影響を与えないということを示すものではなく、NO₂は強力な酸化作用を有しており、呼吸器系に強い障害をもたらすため、純粋なNO₂ガス曝露による生殖系への影響評価が困難であるという側面のためである。

3. 自動車排気による影響

1) ヒトへの影響

自動車排気の吸入による精子数あるいは精子性状への影響について、Rosa等は、高速道路の料金所職員の精子の運動率、直進運動性、頸管粘液貫通試験などの精子性状が同一地域に住んでいる男性と比較すると悪化していたことを報告した⁵⁾。Rubes等は、チェコ共和国プラハ市の中心部に勤務する(自動車排気の曝露をより受けると考えられる)警察官を対象とし精液性状を評価したところ、曝露により精子DNAの断片化が亢進し、精子の生存率や異常形態の精子割合が増加すること等を示した⁶⁾。このように、各種の自動車排気が精子性状の悪化に関与することを示唆する知見はあるが、自動車排気以外の大気汚染物質の曝露を受けるため、起因物質の解明は進んでおらず、詳細な影響発生メカニズムも不明である。

2) 動物への影響

Ieradi等は、ローマ市内の交通量の異なる地域で野生ネズミを捕獲し、高交通量地域で捕獲したネズミの精子の形態異常が高いことを示し、鉛及びカドミウムの血中濃度も高いことを報告した⁷⁾。Yoshida等は、マウスにディーゼル排気を曝露し、造精機能の低下や精子性状の悪化が生じることを示し、これらの影響が精巣組織の変性やLH受容体mRNA発現量の低下などに起因するとした⁸⁾。精子数の減少は精子形成の元になる精子幹細胞のホーミング機構に関与するβ₁-インテグリン等の発現減少に起因するとした。このように、自動車燃料として用いられる、ディーゼル燃料やガソリン燃料由来の排気により造精機能の低下、精子性状の悪化が生じ、内分泌系のかく乱や精子形成に関与する遺伝子の発現変動に起因することが分かっている。

4. PM_{2.5} などの大気中に存在する粒子状物質による影響

1) ヒトへの影響

PM_{2.5}とは、大気中に浮遊している粒子状物質のうち、空気力学径の粒径が2.5μm以下の粒子をさし、PM₁₀とは同様に粒径が10μm以下の粒子である。PM_{2.5}は気管支や肺胞まで到達するとされ、PM_{2.5}より粒径の大きいPM₁₀は下気道領域への到達にとどまるとされる⁹⁾。Rubes等は、チェコ共和国において石炭火力の燃焼によって発生する粒子状物質が精子性状に影響を与えるか評価したところ、長期間、高濃度の汚染環境に曝露されていた男性の精子DNAの断片化が有意に亢進することを明らかにした¹⁰⁾。特に、精子形成の初期段階に、高濃度の

PM_{2.5}の曝露を受けると精子数の減少に与える影響が大きいことも示した¹¹⁾。Radwan等は、ポーランドにおいてPM₁₀、PM_{2.5}、SO₂などの大気汚染物質濃度と精子性状などとの相関を評価したところ、PM₁₀、PM_{2.5}、SO₂などの大気汚染物質濃度と異常形態の精子の割合に有意な正の相関を認めることを示した¹²⁾。さらに、同一研究グループにおいて、PM₁₀、PM_{2.5}、SO₂などの大気汚染物質濃度と精子の性比との関係性を評価したところ、PM₁₀およびPM_{2.5}濃度が高くなるとY染色体とX染色体の比は、小さくなり、実社会における性比の低下（男子数の低下）と一致していると結論づけている¹³⁾。

Huang等は、中国武漢においてPM_{2.5}と精子数などとの関係性を評価したところ、PM_{2.5}濃度が高くなると精子濃度、精子数が低下することを明らかにし、これの要因としてアンチモン、カドミウム、鉛などの金属が関係することを示した¹⁴⁾。大気中に存在する粒子状物質によるヒト精子性状に悪影響を示さないという報告も散見されるが¹⁵⁾、多くの研究で粒子状物質は、ヒト精子性状に悪影響を与えるという報告である。粒子状物質は多数の化学物質から構成され、地域や季節によって成分が異なるため、影響が一部異なることも生じると考えられる。自動車排気中に含まれる微粒子も大気中の粒子状物質となることも含め、大気中の粒子状物質によりヒト精子性状が悪化すると考えることが妥当といえる。

2) 動物への影響

大気中に存在する粒子状物質による動物への健康影響を評価した研究は少ない。これは、動物への曝露に必要な試料の採取が困難であることや曝露方法として比較的高い技術力が必要となるためである。Yoshida等は、日本に飛来した黄砂をマウスに気管内投与し、雄性生殖系への影響を評価したところ、造精機能の低下、精子性状の悪化が生じることを明らかにした¹⁶⁾。また、Qiu等は、トレーラー車内にマウスを飼育し、ケージ内に大気を導入することで環境中のPM_{2.5}の吸入曝露を行い、雄性生殖系への影響を評価した結果、造精機能が低下することを明らかにした¹⁷⁾。この影響は視床下部に炎症を惹起し、下垂体機能を低下させることにより生じる可能性があるとした。このような粒子状物質による雄性生殖系への影響について、ミトコンドリア機能障害やDNA損傷などにより生じることや¹⁸⁾、酸化ストレス¹⁹⁾、精母細胞のメチル化を介したエピジェネティック制御²⁰⁾などにより生じるとの報告がされている。大気中に存在する粒子状物質による影響はヒト、動物ともに、精子性状を悪化させるという報告が多く、また、その影響発生メカニズムについても解明が進んでいる。粒子状物質の起因物質としての同定には至っていないが、粒子状物

質が多数の化学物質により構成されているにもかかわらず、一貫して精子性状を悪化させるという知見に至っていることから、粒子状物質の高濃度地域に居住する男性の精子性状が悪化し、妊孕性に悪影響が生じる可能性を考える必要があるといえる。

5. たばこによる影響

1) ヒトへの影響

喫煙による各種健康影響に関する報告は数多くあり、男性生殖系への悪影響の報告も多くの研究者からされている。Evans等は、喫煙者43人と非喫煙者43人を対象に精液検査を行ったところ、喫煙により異常形態の精子割合が増加することを明らかにした²¹⁾。一方、Rigau等は、喫煙者58人と非喫煙者101人を対象に精液検査を行ったところ、喫煙による精子性状への影響は認められなかった²²⁾。その後、Vine等によりメタアナリシスが行われ、喫煙は精子濃度の低下に関連することが示され、それ以前に行われた研究において一貫した結論にならなかったことは対象者数が少なかったことと結論付けた²³⁾。Zavos等は、喫煙は精子運動率の低下、精子生存率等を低下させるが、喫煙者の精子を非喫煙者の精漿で培養するとそれらの影響は改善されること、非喫煙者の精子を喫煙者の精漿で培養すると精子運動率の低下や精子生存率の低下が生じることを明らかにし、喫煙による精子性状の悪化は精漿を介する可能性を示した²⁴⁾。Laqqan等は、喫煙による精子DNAメチル化が生じ、精子性状に影響を与えるという報告を行った²⁵⁾。喫煙は精子性状を悪化させ、その機序として活性酸素種が関与すること、精子DNAにエピジェネティックな影響を与えることが明らかにされている。一方、従来のたばこによる健康影響が懸念される中、健康影響が小さいとされる新型たばこが普及しつつある。新型たばこである、電子たばこや加熱式たばこによる影響評価も行われつつあるがヒトでの健康影響評価は限られている。Holmboe等は²⁶⁾、電子たばこの使用により精子数の減少が認められるという報告を行っているが、海外で使用される電子たばこにはニコチンが含まれているということに対し、日本で使用されている電子たばこにはニコチンが含まれていないこと、また、日本では新型たばことしては加熱式たばこが主流であることから、今後、加熱式たばこを含めた新型たばこに関する研究が必要といえる。

2) 動物への影響

Polyzos等は、マウスにたばこの主流煙あるいは副流煙を曝露し精子性状や妊孕性を評価したところ、主流煙は精子DNAの障害を惹起すること、妊孕性の低下や受精卵

の成長を阻害することを、副流煙は精子運動率などの精子性状を悪化させることや妊孕性の低下が生じることを明らかにした²⁷⁾。Zhao等は、幼弱期のマウスにたばこ煙抽出物を投与した結果、精子形成がされることを示すとともに、その影響発生に酸化ストレスが関与することを示唆する知見を得た²⁸⁾。

Golli等は、新型たばこの一種である電子たばこのリキッドをラットに腹腔内投与したところ、精子濃度と生存率の低下を認めたと²⁹⁾。Wang等は、新型たばこの一種である加熱式たばこをラットに吸入曝露したところ、異常形態の精子割合が増加し、脂質過酸化が亢進すること、テストステロン濃度が低下することなども明らかにした³⁰⁾。

喫煙による精子への影響について、ヒトを対象とした研究、動物を対象とした研究ともに精子数の減少、精子性状の悪化、精子DNA障害やエピジェネティック変異を惹起することが示されている。また、従来の燃焼式たばこから近年の健康志向の高まりにより使用が急増している新型たばこである電子たばこや加熱式たばこによる影響評価も行われてきているが、ともに精子に悪影響を与える知見が示されている。

6. おわりに

大気汚染物質としていくつかの因子による精子への影響について概説してきたが、多くの因子が精子に悪影響を与えるといえるが、大気汚染物質に関しては個人によるコントロールが難しいともいえる。一方、喫煙による精子への影響は個人でコントロールができるものであり、精子への悪影響を防ぐという観点ではどのような様態のたばこ製品でも使用しないことが重要であるといえる。

文献

- 1) Srám RJ, Binková B, Rössner P, Rubes J, Topinka J, Dejmeš J: Adverse reproductive outcomes from exposure to environmental mutagens. *Mutat Res*, 428: 203-15, 1999.
- 2) Liu J, Dai Y, Li R, Yuan J, Wang Q, Wang L: Does air pollution exposure affect semen quality? Evidence from a systematic review and meta-analysis of 93,996 Chinese men. *Front Public Health*, 11: 1219340, 2023.
- 3) Li X, Yi H, Wang H: Sulphur dioxide and arsenic affect male reproduction via interfering with spermatogenesis in mice. *Ecotoxicol Environ Saf*, 165: 164-173, 2018.
- 4) Kripke BJ, Sherwin RP: Nitrogen dioxide exposure--influence on rat testes. *Anesth Analg*, 63: 526-8, 1984.
- 5) Rosa MD, Zarrilli S, Paesano L, Carbone U, Boggia B, Petretta M, Maisto A, Cimmino F, Puca G, Colao A, Lombardi G: Traffic pollutants affect fertility in men. *Hum Reprod*, 18: 1055-61, 2003.
- 6) Rubes J, Sipek J, Kopecka V, Musilova P, Vozdova M, Prinosilova P, Topinka J, Pastorkova A, Svecova V, Sram RJ: The effects of age on DNA fragmentation, the condensation of chromatin and conventional semen parameters in healthy nonsmoking men exposed to traffic air pollution. *Health Sci Rep*, 4: e260, 2021.
- 7) Ieradi LA, Cristaldi M, Mascanzoni D, Cardarelli E, Grossi R, Campanella L: Genetic damage in urban mice exposed to traffic pollution. *Environ Pollut*, 92: 323-8, 1996.
- 8) Yoshida S, Sagai M, Oshio S, Umeda T, Ihara T, Sugamata M, Sugawara I, Takeda K: Exposure to diesel exhaust affects the male reproductive system of mice. *Int J Androl*, 22: 307-15, 1999.
- 9) Azuma K: Recent scientific knowledge and political aspect on health risk due to fine particulate matter. *Indoor Environ*, 23: 129-39, 2020.
- 10) Rubes J, Selevan SG, Evenson DP, Zudova D, Vozdova M, Zudova Z, Robbins WA, Perreault SD: Episodic air pollution is associated with increased DNA fragmentation in human sperm without other changes in semen quality. *Hum Reprod*, 20: 2776-83, 2005.
- 11) Henry TD, Porucznik CA, Honda TJ, VanDerslice JA, Blackburn BE, Cox KJ, Carrell DT: Differential impacts of particulate air pollution exposure on early and late stages of spermatogenesis. *Ecotoxicol Environ Saf*, 220: 112419, 2021.
- 12) Radwan M, Jurewicz J, Polańska K, Sobala W, Radwan P, Bochenek M, Hanke W: Exposure to ambient air pollution--does it affect semen quality and the level of reproductive hormones?. *Ann Hum Biol*, 43: 50-6, 2016.
- 13) Radwan M, Dziejirska E, Radwan P, Jakubowski L, Hanke W, Jurewicz J: Air Pollution and Human Sperm Sex Ratio. *Am J Mens Health*, 12: 907-912, 2018.
- 14) Huang X, Zhang B, Wu L, Zhou Y, Li Y, Mao X, Chen Y, Wang J, Luo P, Ma J, Zhang H, Peng Z, Cui X, Xie S, Huo X, Zhang M, Bao W, Shi T, Liu Y: Association of Exposure to Ambient Fine Particulate Matter Constituents With Semen Quality Among Men Attending a Fertility Center in China. *Environ Sci Technol*, 53: 5957-5965, 2019.
- 15) Santi D, Vezzani S, Granata AR, Roli L, Santis MCD, Ongaro C, Donati F, Baraldi E, Trenti T, Setti M, Simoni M: Sperm quality and environment: A retrospective, cohort study in a Northern province of Italy. *Environ Res*, 150: 144-153, 2016.
- 16) Yoshida S, Nishitaka M, Oshio S, He M, Ichinose T: Airborne Asian sand dust aggravates mouse spermatogenesis and sperm quality. *J Jpn Soc Atmos Environ*, 48: 175-180, 2013.
- 17) Qiu L, Chen M, Wang X, Qin X, Chen S, Qian Y, Liu Z, Cao Q, Ying Z: Exposure to Concentrated Ambient PM2.5 Compromises Spermatogenesis in a Mouse Model: Role of Suppression of Hypothalamus-Pituitary-Gonads Axis. *Toxicol Sci*, 162: 318-326, 2018.
- 18) Zhang J, Liu J, Ren L, Wei J, Duan J, Zhang L, Zhou X, Sun Z: PM_{2.5} induces male reproductive toxicity via mitochondrial dysfunction, DNA damage and RIPK1 mediated apoptotic signaling pathway. *Sci Total*

Environ,634: 1435-1444, 2018.

- 19) Liu H, Ding S, Nie H, Shi Y, Lai W, Liu X, Li K, Tian L, Xi Z, Lin B: PM_{2.5} exposure at different concentrations and modes induces reproductive toxicity in male rats mediated by oxidative and endoplasmic reticulum stress. *Ecotoxicol Environ Saf*, 244:114042, 2022.
- 20) Sang Y, Liu J, Li X, Zhou G, Zhang Y, Gao L, Zhao Y, Zhou X: The effect of SiNPs on DNA methylation of genome in mouse spermatocytes. *Environ Sci Pollut Res Int*, 28: 43684-43697, 2021.
- 21) Evans HJ, Fletcher J, Torrance M, Hargreave TB: Sperm abnormalities and cigarette smoking. *Lancet*, 1: 627-9, 1981.
- 22) Rigau LJR, Smith KD, Steinberger E: Cigarette smoking and semen quality. *Fertil Steril*, 38: 115-6, 1982.
- 23) Vine MF, Margolin BH, Morrison HI, Hulka BS: Cigarette smoking and sperm density: a meta-analysis. *Fertil Steril*, 61: 35-43, 1994.
- 24) Zavos PM, Correa JR, Antypas S, Zavos PNX, Zarmakoupis CN: Effects of seminal plasma from cigarette smokers on sperm viability and longevity. *Fertil Steril*, 69: 425-9, 1998.
- 25) Laqqan M, Tierling S, Alkhaled Y, Porto CL, Solomayer EF, Hammadeh ME: Aberrant DNA methylation patterns of human spermatozoa in current smoker males. *Reprod Toxicol*, 71: 126-133, 2017.
- 26) Holmboe SA, Priskorn L, Jensen TK, Skakkebaek NE, Andersson AM, Jørgensen N: Use of e-cigarettes associated with lower sperm counts in a cross-sectional study of young men from the general population. *Hum Reprod*, 35: 1693-1701, 2020.
- 27) Polyzos A, Schmid TE, Guzmán BP, Vega BQ, Marchetti F: Differential sensitivity of male germ cells to mainstream and sidestream tobacco smoke in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol*, 237: 298-305, 2009.
- 28) Zhao G, Mo J, Zheng T, Li Y, Wu X, Huang J, Liu G, Huang Z, Yu B: Puberty exposure to cigarette smoke extract impairs adult spermatogenesis in the mouse. *Reprod Toxicol*, 83: 8-13, 2019.
- 29) Golli NE, Rahali D, Lamine AJ, Dallagi Y, Jallouli M, Bdiri Y, Ba N, Lebret M, Rosa JP, May ME, Fazaa SE: Impact of electronic-cigarette refill liquid on rat testis. *Toxicol Mech Methods*, 26: 427-34, 2016.
- 30) Wang H, Tian Y, Fu Y, Ma S, Xu X, Wang W, Lu F, Li X, Feng P, Han S, Chen H, Hou H, Hu Q, Liu C: Testicular tissue response following a 90-day subchronic exposure to HTP aerosols and cigarette smoke in rats. *Toxicol Res (Camb)*, 12: 902-912, 2023.

精嚢腺分泌液の雄性生殖における役割

Roles of seminal vesicle secretions in male reproduction

平 歩夢, 野田 大地

Ayumu Taira, Taich Noda

熊本大学 生命資源研究・支援センター 生殖機能学分野
〒860-0811 熊本県熊本市中央区本荘2丁目2-1 生命資源研究・支援センター 新館602
Division of Reproductive Biology, Institute of Resource Development and Analysis

要旨: 体内において、精子は副生殖腺分泌液とともに雌性生殖道内に射出される。副生殖腺分泌液が付着する前の精子を体外に取り出して卵と共培養すると受精するため、副生殖腺分泌液の雄妊孕性における役割はあまり解析されてこなかった。しかし、副生殖腺の1つである精嚢腺に注目すると、マウス精嚢腺を外科的に除去した雄の妊孕性が低下することや精嚢腺分泌液と精子を混合して子宮内に注入すると精子のみを注入する場合よりも高い受精率が得られることから、体内において精嚢腺分泌因子は精子受精をサポートすると考えられる。遺伝子改変マウスを使って精嚢腺分泌タンパク質の機能が解析されており、例えばSVS2 (seminal vesicle secretion 2) が子宮内免疫から精子を保護する役割があるなど、精子受精に関わる精嚢腺タンパク質も明らかになってきた。本稿では、筆者らが取り組んできた研究成果と併せて、特に精嚢腺分泌因子の雄妊孕性における役割と今後の展望を紹介する。

キーワード: 遺伝子改変, 受精, 精嚢腺, 精子

ランニングヘッド: 精嚢腺分泌因子の機能

英文要旨: The mixture of sperm and accessory gland secretions is ejaculated into the female reproductive tract. Since cauda epididymal sperm without accessory gland secretions can fertilize eggs in vitro condition, the physiological function of the accessory gland secretions on male fertility remains unclear. When the seminal vesicle, one of the accessory glands, is surgically removed in mice, these males are subfertility. In fact, the fertilization rates obtained by artificially injecting the mixture of seminal vesicle secretions and cauda epididymal sperm are higher than those obtained by injecting only cauda epididymal sperm. Thus, the seminal vesicle secretions improve sperm fertilization in vivo. The physiological functions of the seminal vesicle secreted proteins have been analyzed using genetically modified mice, and some proteins involved in male fertility have been elucidated. Specifically, seminal vesicle secretion 2 (SVS2) plays a role in protecting sperm from intrauterine immunity. In this article, we will introduce the role of seminal vesicle secretions in male fertility, along with the results of our research and current studies.

キーワード: fertilization, genetically modified mice, seminal vesicle, sperm

1. はじめに

精巣で産生された精子は、精巣の隣に存在する管組織（精巣上体）を移行中に、卵と受精するための能力を獲得し、射出されるまで精巣上体尾部に蓄えられる。その後、精巣上体尾部精子は精漿とともに雌性生殖道内に射出される。精漿は前立腺、精嚢腺、尿道球腺などから構成され

る副生殖腺の分泌液に由来する。ヒト精漿の約7割が精嚢腺に由来することや精嚢腺を外科的に除去したマウスやラットでは妊孕性が低下することから、特に精嚢腺分泌因子の雄妊孕性における役割が遺伝子欠損マウスを用いて個体レベルで解析されてきた。本総説では、それらの知見を今後の展望も交えながら紹介したい。

2. 精嚢腺の雄妊孕性における役割

精子は、副生殖腺から分泌される液とともに雌性生殖道内に射出される。副生殖腺は、多くの哺乳類において、主に精嚢腺、前立腺および尿道球腺から構成されていて、ヒトでは精嚢腺や前立腺に由来する分泌成分が精漿の大半を占める（精嚢腺が約7割、前立腺が約2割）¹⁾。精嚢腺や前立腺を外科的に除去したマウスやラットを使った交配試験では、特に精嚢腺除去雄の妊孕性が低下したため〔産仔数：9.8 ± 0.9 [前立腺 (dorsal and ventral prostates) 除去雄]、4 (精嚢腺除去雄)]²⁾、精嚢腺の雄妊孕性における役割が解析されてきた。例えば、私たちが精嚢腺除去雄の妊孕性低下の原因を調べたところ、①げっ歯類やチンパンジーなどの一部の霊長類の雄が交配により作る膣栓（プラグと呼ばれる）がほとんど形成されないこと、および②プラグが小さいために精液が漏れ出てしまい、受精に必要な精子数が子宮内に

とどめられないことが分かった（図1AとB）³⁾。このようにして、精嚢腺分泌液にはプラグ形成に関わる因子が存在することが明らかになった。ただ精嚢腺分泌因子の役割がプラグ形成だけかという点、そうではなさそうだ。例えば、副生殖腺分泌液が付着する前の精子を精巢上部尾部から採取して、「精子のみ」あるいは「精子と精嚢腺分泌液の混合液」をそれぞれ人工的に子宮内に注入して漏れを防止する目的でワセリンを使って栓をした結果、精子と精嚢腺分泌液を混合したほうが高い受精率が得られた（図1C）³⁾。その理由として、精嚢腺分泌液にはフルクトースなどの糖が含まれるため精子運動性が精子のみを注入するよりも長時間維持された可能性や、精嚢腺分泌液は弱アルカリ性のため弱酸性である膣や子宮の内宮液と混ざって中性へと環境が変化し、その結果精子のみを注入するよりも精子が生存できた可能性が考えられた。また、電子顕微鏡を使って精嚢腺分泌液と混合した後の精子を観察すると、精子細胞

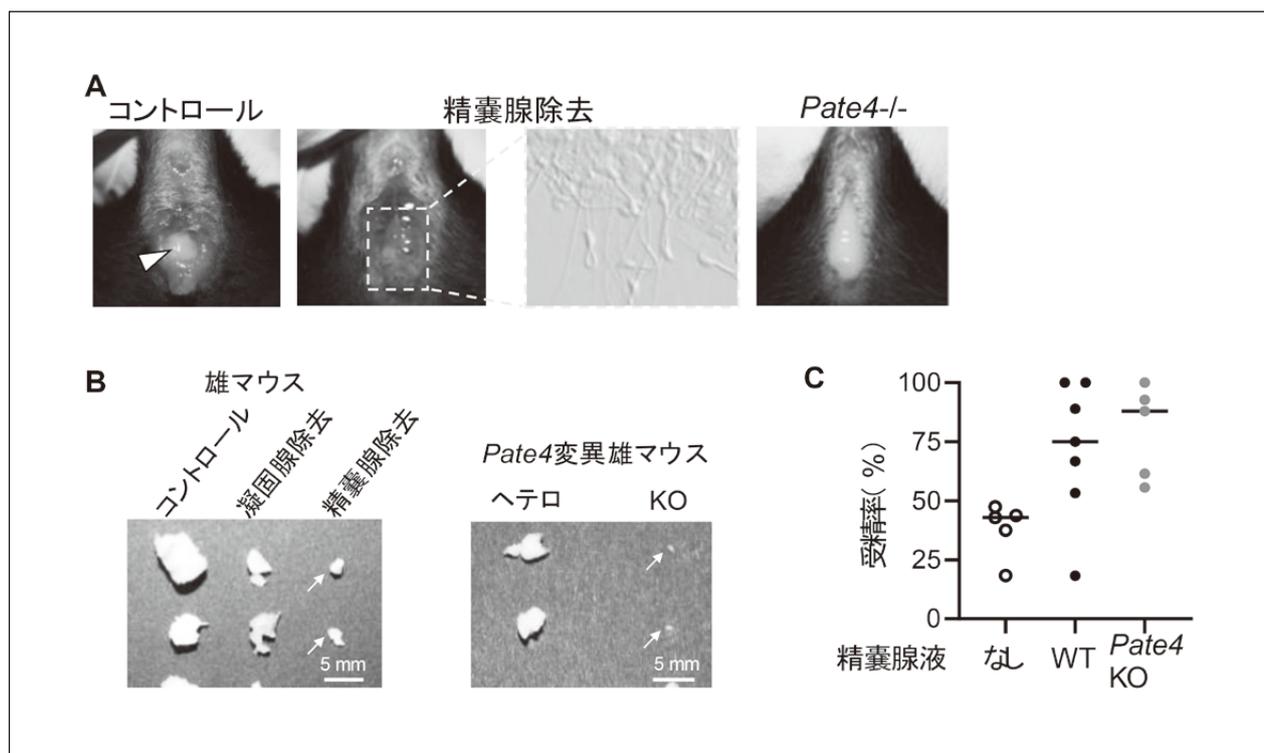


図1 精嚢腺や精嚢腺分泌タンパク質 PATE4 を欠損させると雄マウスはプラグをほとんど作れない。

- A) 交配後の膣の観察。げっ歯類やチンパンジーなどの一部の霊長類では、交配により膣に栓（プラグ、矢じり）が形成される（パネルBを参照）。精嚢腺除去雄マウスや *Pate4* KO 雄マウスはプラグをほとんど作れないため、交配後の膣から精液が漏出した（精嚢腺除去、右の拡大図）。
- B) プラグの観察。凝固腺は前立腺の一部である。精嚢腺除去雄マウスや *Pate4* KO 雄マウスが作るプラグはコントロールと比べて小さかった（矢印）。
- C) 受精率。精子のみよりも精子と野生型 (WT) 精嚢腺分泌液を混合して子宮内に注入したほうが高い受精率が得られた。一方、*Pate4* KO 精嚢腺液を使った場合でもWT 精嚢腺液と同程度の受精率が得られた。

図1は引用文献3より引用・改変した。

膜表面に精囊腺分泌液が付着したことから⁴⁾、精子へと付着する精囊腺分泌成分が精子の受精能力を制御する可能性も考えられた。精囊腺分泌タンパク質に注目すると、現在までに精囊腺分泌液には約50種類のタンパク質が存在することが明らかにされている⁵⁾。ゲノム編集技術の登場により、従来のES細胞を用いた相同組換え法よりも短時間・低コストで遺伝子改変マウスを作製できるようになった⁶⁾。このような技術進歩などの背景もあって、精囊腺分泌液に存在するタンパク質の生理学的機能が個体レベルで解析され始めているので、下記に最新の知見を交えつつ紹介する。

3. 精囊腺液の精子運動能力向上における役割

精子は主に頭部、中片部、および尾部に分けられて、中片部や尾部の細胞質やミトコンドリアで産生されるATPにより精子は運動する⁷⁾。精囊腺を外科的に除去した雄マウスの射出精子は運動性が低下するため、精囊腺液に存在するフルクトースなどの糖が精子運動のエネルギー源として利用されると考えられる⁸⁾。また、遠心分離により精囊腺分泌タンパク質に富む画分を得て精子培養液に加えた結果、運動性が向上した⁹⁾。この結果は、糖だけでなく精囊腺分泌タンパク質も精子運動に関与する可能性を示唆する。そこで、特に存在量が多い精囊腺分泌タンパク質を精囊腺液中より単離し、精子と共培養して精子運動に関わるタンパク質のスクリーニングが行われた結果、SPNKL (serine protease inhibitor, Kazal type-like), CEACAM10 (CEA cell adhesion molecule 10), PATE4 (prostate and testis expression 4), QSOX1 (quiescin Q6 sulfhydryl oxidase 1), およびSVA (seminal vesicle antigen) が候補として挙げられた¹⁰⁻¹⁴⁾。この中で、*Ceacam10*, *Qsox1*, *Pate4*をそれぞれ欠損 (knockout; KO) させたマウスが作製されている。具体的には、*Ceacam10* KOマウス同士の交配で得られる産仔数はコントロールと比べて23%減少した。*Ceacam10*は胎盤でも発現するため、KO胚の発生や胎盤が観察されたが正常だった¹⁵⁾。このように、CEACAM10は妊娠性に必要であるものの、精子受精能力への関与は不明である。*Qsox1*は全身性の発現パターンを示し、ストレートKOマウスを作製すると心血管などに異常を呈することが明らかにされたが、妊娠性への影響は分かっていない¹⁶⁾。また私たちが*Pate4* KOマウスを作製して交配試験を行った結果、KO雄マウスと交配した野生型雌マウスの出産回数が減少することに気づいた [1か月あたりの出産回数: 1.70 ± 0.18 (野生型), 0.37 ± 0.34 (*Pate4* KO)]³⁾。そこで、私たちは*Pate4* KO雄マウスと交配直後の雌マウスの膣を観察した。その結果、プラグ形成に関わるSVS2 [seminal

vesicle secretions 2, 別名 semenogelin 1 (SEMG1)] やSVS3が残っているにも関わらず*Pate4* KO雄はプラグが形成できないこと (図1A-B), および*Pate4* KO精囊腺分泌液を精子と混ぜて子宮内に注入すると野生型精囊腺分泌液を使った場合と同程度の受精率が得られることが分かった (図1C)。これらの結果から、PATE4は運動性などの精子受精能力ではなく、プラグ形成に必須な因子である。少し精子運動から逸れるが、プラグは精囊腺から分泌されるSVS1-3が前立腺から分泌されるトランスグルタミナーゼ4 (TGM4) の機能によりε-(γ-glutamyl) lysine結合して作られると考えられていた¹⁷⁻¹⁹⁾。実際、*Tgm4* KO, *Svs2* KOや*Svs2-6* KO雄マウスではプラグがほとんど形成されない^{4, 20-21)}。一方、私たちはTGM4の基質配列を持たないPATE4がプラグ形成に必須な因子であること (図1A-B), およびTGM4の基質配列を保存してプラグ形成に関わると長年考えられてきた*Svs1* KO雄マウスがプラグを形成できること (図2)²²⁾を明らかにした。これらの結果から、私たちは従来考えられてきたTGM4依存のよりも複雑な分子メカニズムでプラグが形成されると考えている。このようにして、in vitroの実験系でいくつかの精囊腺分泌タンパク質が精子運動性に関与することが示唆されているものの、個体レベルで明らかにした報告はない。この結果は、単独の遺伝子をKOするだけでは、残っている精囊腺因子が精子運動性の機能を補償する可能性や、まだKOされていない精囊腺タンパク質が精子運動性に関与する可能性を示唆する。

4. 精囊腺液の精子受精能力制御における役割

雌性生殖道内に射出された精子は、マウスだと2時間ほどかけて卵が存在する卵管膨大部へと移行する。1951年、ChangやAustinは射出直後の精子を卵と共培養しても受精できないこと、およびその能力の獲得には射出精子が雌性生殖道内に一定時間留まる必要があることを明らかにした²³⁻²⁴⁾。一方、精漿成分が付着する前の精子を精巢上体尾部から採取して卵と共培養すると受精できる²⁵⁾。この違いに注目して、Changは子宮内に一定時間留まって受精能力を獲得した精子を回収し、その精子と精囊腺分泌液を混ぜて卵管に注入すると受精率が低下することを発見した²⁶⁾。これらの結果は、射出時に精子と混合される精漿成分によって精子の受精能力が一旦抑制されること、およびその機能は精囊腺分泌因子が担うことを示す。

膣内や子宮内に射出された精子は、卵管に移行すると様々な生化学的な反応を起こして、卵管膨大部で卵と受精する。具体的には、上述した精子受精能力を抑制する精囊腺分泌タンパク質は、射出直後の精子の細胞膜表

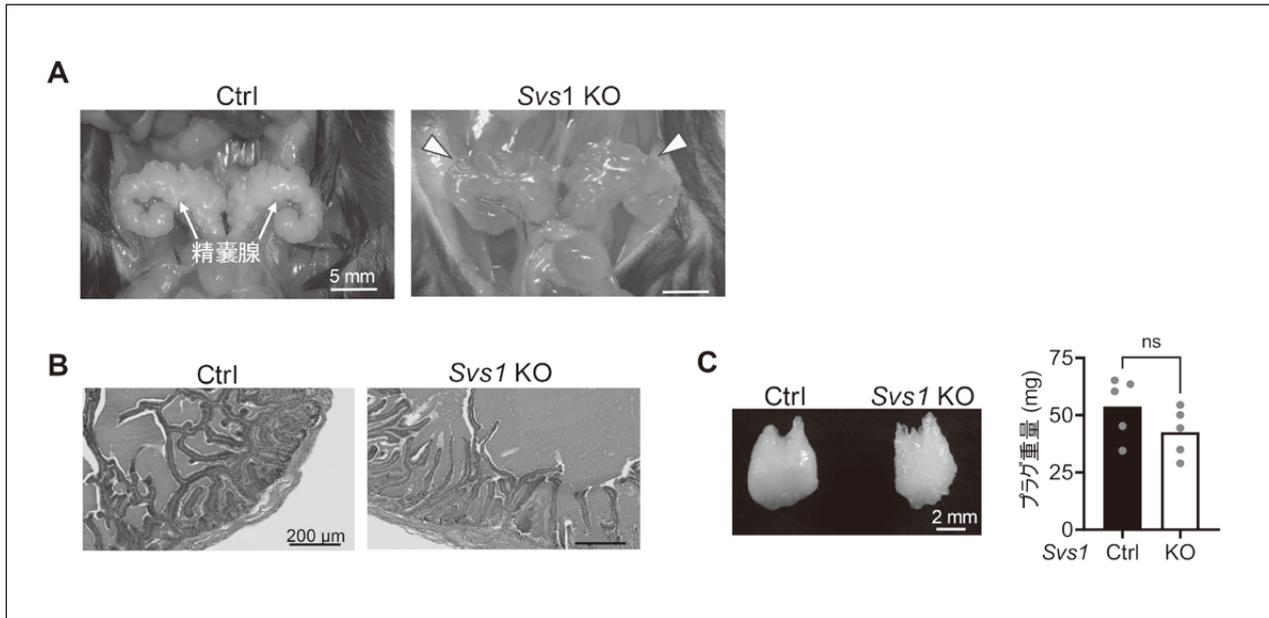


図2 精囊腺分泌タンパク質 SVS1 を KO しても、KO 雄マウスはプラグを形成できる。

A) 精囊腺の外観。詳細な原因は不明だが、*Svs1* KO 雄では精囊腺の色が透明になる異常が見られた (矢じり)。

B) ヘマトキシリン・エオシン染色による精囊腺の組織学的形態の観察。両者の間で明らかな構造的違いは観察できなかった。

C) プラグの観察。パネル A で示したように、*Svs1* KO 精囊腺では外観の異常が観察された一方、KO 雄プラグを形成できた。ns: not significant.

図2は引用文献22より引用・改変した。

面に付着する一方、卵管内へ移行した多くの精子では消失する^{13, 27-28}。卵管内に移行した精子細胞膜では、詳細な分子メカニズムはよく分からないもののコレステロールが流出して細胞内 Ca^{2+} や HCO_3^- が上昇する。その結果、可溶性アデニル酸シクラーゼにより細胞内 cAMP (cyclic adenosine monophosphate) シグナリングが活性化され、その後精子鞭毛の超活性化 (マウスだと8の字様運動と形容される) や先体反応 (精子頭部の先体領域に蓄えられた酵素の放出) が起こる。精子細胞膜コレステロールの流出から始まるこれらの一連の過程は受精能獲得と呼ばれる²⁹⁻³¹。現在までに、受精能を獲得させたあるいは先体反応を起こした精子を子宮内に注入しても精子は卵管へとほとんど移行できないことが報告されている³²⁻³³。このようにして、精囊腺分泌因子による精子受精能力の抑制は、精子が効率的に受精するために寄与する。そこで精子受精能力の抑制に関わる精囊腺分泌タンパク質の同定が in vitro 実験によりスクリーニングされてきた。その結果、8種類の精囊腺分泌タンパク質 {LYZ3 (lysozyme 3), SVS2, SERPINE2 [serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade E, member 2], SPINKL (serine protease inhibitor, Kazal type-like), SPINK1 (serine peptidase inhibitor, Kazal type 1), SVA, SVS4,

QSOX1} をそれぞれ含む培地中で精子を培養すると、受精能獲得が抑制された^{10, 13, 34-39}。精囊腺分泌タンパク質は精子細胞膜表面に接着するため、それぞれの精囊腺分泌タンパク質と結合する精子因子が調べられた結果、SVA はリン脂質¹⁴、SVS2 はスフィンゴ糖脂質 (GM1)⁴⁰、SPINK1 は PRSS39 (serine protease 39)⁴¹ にそれぞれ結合した。このように in vitro 実験により精子受精能力に関与する精囊腺分泌タンパク質が明らかになってきたので、これらの因子の雄妊孕性における生理学的機能が KO マウスを作製して調べられてきた。具体的には、*Serpine2* KO マウスにおいて、セリンプロテアーゼインヒビターとして機能する SERPINE2 が失われることで SVS2 などの精囊腺分泌タンパク質が分解されてしまい、その結果 *Serpina2* KO 雄マウスはプラグが作れず妊孕性が低下した⁴²。また *Spink1* は精囊腺だけでなく膵臓でも発現し、*Spink1* のストレート KO マウスを作製すると腺房細胞のオートファジー変性による膵臓の萎縮などの表現型を呈して出生後致死になり、SPINK1 の精囊腺における機能は解析できなかった⁴³。*Svs2* KO マウスはプラグ形成不全を示した⁴。そこで、河野らは *Svs2* KO 精囊腺分泌液を精子と混ぜて子宮内に注入して、精子受精能力における SVS2 の機能を解析したところ、子宮内に注入した精子のほとんどが死滅した。この

結果は、SVS2は精子受精能力ではなく子宮内免疫機構から精子を保護する役割があることを示す⁴⁾。このように、精子受精能力の制御に関わる精嚢腺分泌因子はまだよく分かっておらず、現在も探索が続けられている。

5. おわりに

精巢上体尾部に蓄えられている精子を体外に取り出して卵と共培養すると、効率よく受精できることから、精子とともに射出される精漿成分の受精における機能はまだ分かっていないことが多い。現在、ヒトでは4組に1組のカップルが不妊症に悩まされており、その約半数は男性に起因する。男性不妊症の原因として、造精機能障害、精路通過障害、性行為障害などが挙げられるが、約半数の男性不妊の原因は特定できていない⁴⁴⁾。今後、私たち生命科学者によって精嚢腺などの副生殖腺分泌タンパク質の精子受精能力に関する基礎的知見を蓄積していけば、将来的にヒト男性不妊症を診断するための新規分子マーカーの開発が期待でき、その結果不妊治療への応用が期待できると考えている。

6. 引用文献

- Prins GS and Lindgren M: Accessory Sex Glands in the Male. In Plant TM and Zeleznik AJ, Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, 4th edition, pp773-804, Academic press, 2015.
- Pang SF, Chow PH, Wong TM: The role of the seminal vesicles, coagulating glands and prostate glands on the fertility and fecundity of mice. J Reprod Fertil, 56: 129-132, 1979.
- Noda T, Fujihara Y, Matsumura T, Oura S, Kobayashi S, Ikawa M: Seminal vesicle secretory protein 7, PATE4, is not required for sperm function but for copulatory plug formation to ensure fecundity. Biol Reprod, 100: 1035-1045, 2019.
- Kawano N, Araki N, Yoshida K, Hibino T, Ohnami N, Makino M, Kanai S, Hasuwa H, Yoshida M, Miyado K, Umezawa A: Seminal vesicle protein SVS2 is required for sperm survival in the uterus. Proc Natl Acad Sci U S A , 111: 4145-4150, 2014.
- Dean MD, Clark NL, Findaly GD, Karn RC, Yi X, Swanson WJ, MacCross MJ, Nachman MW: Proteomics and comparative genomic investigations reveal heterogeneity in evolutionary rate of male reproductive proteins in mice (Mus domesticus). Mol Biol Evol, 26: 1733-1743, 2009.
- Oji A, Noda T, Fujihara Y, Miyata H, Kim YJ, Muto M, Nozawa K, Matsumura T, Isotani A, Ikawa M: CRISPR/Cas9 mediated genome editing in ES cells and its application for chimeric analysis in mice. Sci Rep, 6: 31666, 2016.
- du Plessis S, Agarwal A, Mohanty G, van der Linde M: Oxidative phosphorylation versus glycolysis: What fuel do spermatozoa use?. Asian J Androl, 17: 230-235, 2015.
- Mukai C, Okuno M: Glycolysis plays a major role for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. Biol Reprod, 71: 540-547, 2004.
- Peitz B: Effects of seminal vesicle fluid components on sperm motility in the house mouse. J Reprod Fertil, 83: 169-176, 1988.
- Lin MH, Lee RK, Hwu YM, Lu C, Chu SL, Chen YJ, Chang WC, Li SH: SPINKL, a Kazal-type serine protease inhibitor-like protein purified from mouse seminal vesicle fluid, is able to inhibit sperm capacitation. Reproduction, 136: 559-571, 2008.
- Li SH, Lee RKK, Hsiao YL, Chen YH: Demonstration of a glycoprotein derived from the Ceacam10 gene in mouse seminal vesicle secretions. Biol Reprod, 73: 546-553, 2005.
- Luo CW, Lin HJ, Chen YH: A Novel Heat-labile Phospholipid-binding Protein, SVS VII, in Mouse Seminal Vesicle as a Sperm Motility Enhancer. J Biol Chem, 276: 6913-6921, 2001.
- Balu R, Ramachandran SS, Mathimaran A, Jeyaraman J, Paramasivam SG: Functional significance of mouse seminal vesicle sulfhydryl oxidase on sperm capacitation in vitro. Mol Hum Reprod, 29: gaac025, 2022.
- Huang YH, Chu ST, Chen YH: Seminal vesicle autoantigen, a novel phospholipid-binding protein secreted from luminal epithelium of mouse seminal vesicle, exhibits the ability to suppress mouse sperm motility. Biochem J, 343: 241-248, 1999.
- Finkenzeller D, Fischer B, Lutz S, Schrewe H, Shimizu T, Zimmermann W: Carcinoembryonic Antigen-Related Cell Adhesion Molecule 10 Expressed Specifically Early in Pregnancy in the Decidua Is Dispensable for Normal Murine Development. Mol Cell Biol, 23: 272-279, 2003.
- Caillard A, Sadoune M, Cescau A, Meddour M, Gandon M, Polidano E, Delcayre C, da Silva K, Manivet P, Gomez AM, Cohen-Solal A, Vodovar N, Li Z, Mebazaa A, Samuel JL: QSOX1, a novel actor of cardiac protection upon acute stress in mice. J Mol Cell Cardiol, 119: 75-86, 2018.
- Tseng HC, Lin HJ, Tang JB, Gandhi PS, Chang WC, Chen YH: Identification of the major TG4 cross-linking sites in the androgen-dependent SVS I exclusively expressed in mouse seminal vesicle. J Cell Biochem, 107: 899-907, 2009.
- Lin HJ, Luo CW, Chen YH: Localization of the transglutaminase cross-linking site in SVS III, a novel glycoprotein secreted from mouse seminal vesicle. J Biol Chem, 277: 3632-3639, 2002.
- Tseng HC, Tang JB, Gandhi PSS, Luo CW, Ou CM, Tseng CJ, Lin HJ, Chen YH: Mutual adaptation between mouse transglutaminase 4 and its native substrates in the formation of copulatory plug. Amino Acids, 42: 951-960, 2012.
- Shindo M, Inui M, Kang W, Tamano M, Cai T, Takada S, Hibino T, Yoshida M, Yoshida K, Okada H, Iwamoto T, Miyado K, Kawano N: Deletion of a seminal gene cluster

- reinforces a crucial role of SVS2 in male fertility. *Int J Mol Sci*, 20: 4557, 2019.
- 21) Dean MD: Genetic disruption of the copulatory plug in mice leads to severely reduced fertility. *PLoS Genet*, 9: e1003185, 2013.
 - 22) Noda T, Taira A, Shinohara H, Araki K: The testis-, epididymis-, or seminal vesicle-enriched genes *Aldoat2*, *Serpina16*, *Aoc113*, and *Pate14* are not essential for male fertility in mice. *Exp Anim*, 72: 314-323, 2023.
 - 23) Austin CR: Observations on the penetration of the sperm in the mammalian egg. *Aust J Sci Res B*, 4: 581-596, 1951.
 - 24) Chang MC: Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes. *Nature*, 168: 697-698, 1951.
 - 25) 豊田裕・横山峯介・星冬四郎: マウス卵子の体外受精に関する研究: I. 精巢上体精子による受精成績. *家畜繁殖誌*, 16: pp147-151, 1971.
 - 26) Chang MC: A detrimental effect of seminal plasma on the fertilizing capacity of sperm. *Nature*, 179: 258-259, 1957.
 - 27) Tseng HC, Lee RKK, Hwu YM, Lu CH, Lin MH, Li SH: Mechanisms underlying the inhibition of murine sperm capacitation by the seminal protein, SPINKL. *J Cell Biochem*, 114: 888-898, 2013.
 - 28) Araki N, Trencsényi G, Krasznai ZT, Nizsalóczki E, Sakamoto A, Kawano N, Miyado K, Yoshida K, Yoshida M: Seminal vesicle secretion 2 acts as a protectant of sperm sterols and prevents ectopic sperm capacitation in mice. *Biol Reprod*, 92: 8, 2015.
 - 29) Davis BK: Timing of fertilization in mammals: Sperm cholesterol/phospholipid ratio as a determinant of the capacitation interval. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 78: 7560-7564, 1981.
 - 30) Cross NL: Role of cholesterol in sperm capacitation. *Biol Reprod*, 59: 7-11, 1998.
 - 31) Yanagimachi R: Acceleration of the acrosome reaction and activation of guinea pig spermatozoa by detergents and other reagents. *Biol Reprod*, 13: 519-526, 1975.
 - 32) Shalgi R, Smith TT, Yanagimachi R: A quantitative comparison of the passage of capacitated and uncapacitated hamster spermatozoa through the uterotubal junction. *Biol Reprod*, 46: 419-424, 1992.
 - 33) Muro Y, Hasuwa H, Isotani A, Miyata H, Yamagata K, Ikawa M, Yanagimachi R, Okabe M: Behavior of mouse spermatozoa in the female reproductive tract from soon after mating to the beginning of fertilization. *Biol Reprod*, 94: 80, 2016.
 - 34) Ou CM, Lee RKK, Lin MH, Lu CH, Yang TH, Yeh LY, Tsai PSJ, Li SH: A mouse seminal vesicle-secreted lysozyme c-like protein modulates sperm capacitation. *J Cell Biochem*, 122: 653-666, 2021.
 - 35) Kawano N, Yoshida M: Semen-coagulating protein, SVS2, in mouse seminal plasma controls sperm fertility. *Biol Reprod*, 76: 353-361, 2007.
 - 36) Li SH, Hwu YM, Lu CH, Lin MH, Yeh LY, Lee R: Serine Protease Inhibitor SERPINE2 Reversibly Modulates Murine Sperm Capacitation. *Int J Mol Sci*, 19: 1520, 2018.
 - 37) Zalazar L, Stival C, Nicolli AR, de Blas GA, Krapf D, Cesari A: Male Decapacitation Factor SPINK3 Blocks Membrane Hyperpolarization and Calcium Entry in Mouse Sperm. *Front Cell Dev Biol*, 8: 575126, 2020.
 - 38) Huang YH, Chu ST, Chen YH: A seminal vesicle autoantigen of mouse is able to suppress sperm capacitation-related events stimulated by serum albumin. *Biol Reprod*, 63: 1562-1566, 2000.
 - 39) Araki N, Kawano N, Kang W, Miyado K, Yoshida K, Yoshida M: Seminal vesicle proteins SVS3 and SVS4 facilitate SVS2 effect on sperm capacitation. *Reproduction*, 152: 313-321, 2016.
 - 40) Kawano N, Yoshida K, Iwamoto T, Yoshida M: Ganglioside GM1 mediates decapacitation effects of SVS2 on murine spermatozoa. *Biol Reprod* 79: 1153-1159, 2008.
 - 41) Ramachandran SS, Balu R, Vilwanathan R, Jeyaraman J, Paramasivam SG: A mouse testis serine protease, TESPI, as the potential SPINK3 receptor protein on mouse sperm acrosome. *Mol Hum Reprod*, 27: gaab059, 2021.
 - 42) Murer V, Spetz JF, Hengst U, Altrogge LM, de Agostini A, Monard D: Male fertility defects in mice lacking the serine protease inhibitor protease nexin-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98: 3029-3033, 2001.
 - 43) Ohmuraya M, Hirota M, Araki M, Mizushima N, Matsui M, Mizumoto T, Haruna K, Kume S, Takeya M, Ogawa M, Araki K, Yamamura KI: Autophagic cell death of pancreatic acinar cells in serine protease inhibitor Kazal type 3-deficient mice. *Gastroenterology*, 129: 696-705, 2005.
 - 44) Jose-Miller AB, Boyden JW, Frey K.A: Infertility. *Am Fam Physician*, 75: 849-856, 2007.

卵管内ホルモンの変化に伴った精子受精能獲得の調節の仕組み

Regulation of sperm capacitation by oviductal hormones

藤ノ木 政勝

Masakatsu Fujinoki

獨協医科大学 実験動物センター 〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林880
Research Center for Laboratory Animals, Dokkyo Medical University, Tochigi 321-0293, Japan

要旨： 哺乳類精子は卵管内で受精能獲得と呼ばれる質的な変化を経ると受精できるようになる。この変化を「受精能獲得 (capacitation)」と呼ぶ。受精能獲得を始めた精子はリザーバーである卵管峡部の上皮細胞から離れ、卵管膨大部に向かって遊泳を開始すると共に運動様式の変化が起こり超活性化運動 (hyperactivation) を示すようになる。さらに、頭部で先体反応 (acrosome reaction) と呼ばれる開口放出を起こし、ヒアルロン酸などを消化しながら卵-卵丘細胞複合体へ侵入していく。この受精能獲得は卵管内で起こる現象であることから卵胞液を含む卵管環境の影響を受けることが示されている。古くは卵胞液やそれに含まれる成分の影響であり、新しくは排卵周期に伴った卵管液成分の変化の影響である。そこで本稿において、卵胞液や卵管液のどの様な成分が受精能獲得にどの様な影響を与え、精子の受精能獲得の調節がなされているか論じる。

キーワード： 受精能獲得, 精子, 先体反応, 超活性化運動, 卵管
ランニングヘッド： 精子と卵管環境

英文要旨： Mammalian spermatozoa have to be capacitated in an oviduct before fertilization. Capacitated spermatozoa show a motility change which is called as hyperactivation and an exocytosis which is called acrosome reaction. Hyperactivation is a specialized motility to move in viscous fluids. Furthermore, hyperactivated spermatozoa are able to pass through oocyte envelopes. Acrosome reaction is an exocytosis to digest hyaluronic acid and proteins of oocyte envelopes. Moreover, acrosome reacted spermatozoa expose oocyte binding systems at equatorial segment of head. Only capacitated spermatozoa are able to penetrate an oocyte. In general, an oviductal environment changes together with ovulation rhythms. Many previous studies show that hormones and neurotransmitters, which include in a follicle fluid and an oviductal fluid, regulate spermatozoal capacitation in a dose dependent manner. Moreover, some of oviductal hormones and neurotransmitters affect the fertilization success. Therefore, it seems that spermatozoal capacitation is regulated according to an oviductal environment. In the article, I review and discuss the effects of an oviductal environment on spermatozoal capacitation.

キーワード： acrosome reaction, capacitation, hyperactivation, oviduct, spermatozoa

はじめに

精子は射精・放精されたのち運動性を示す。多くの非哺乳類精子においては、運動性を示す精子のほとんどは卵と受精する能力を有する。一方、哺乳類精子において

は運動性を示すことと受精する能力を有することは同一ではない。射精された精子は基本的に運動性を示すが受精する能力を有しておらず、卵管内に移動してのち受精する能力を有するようになる。この受精する能力を有する有さないという違い、すなわち受精する能力を有さなかった精子が

有するようになることを受精能獲得 (capacitation) と呼ぶ^{1, 2)}。受精能獲得の過程において、精子が示すようになる2つの大きな変化が知られている。一つは運動性の変化で、変化した運動の事を超活性化運動 (hyperactivation) といい、もう一つの変化は精子頭部で見られる開口放出で、これを先体反応 (acrosome reaction) という¹⁻³⁾。超活性化運動は受精能獲得をした精子が示す推進力の高い運動で、粘性の高い卵管液において超活性化運動を示す精子のみが遊泳し前進する事が出来るとされる。排卵される卵母細胞は透明帯という外殻に包まれ、さらに卵丘細胞が多数張り付いて卵丘細胞層を構成する。透明帯と卵丘細胞層という多層の卵外被を通過しないと精子は卵母細胞にたどり着けないが、これら卵外被を通過するためにも推進力の高い超活性化運動を示すことが必要であると考えられている³⁾。一方の先体反応はヒアルコナーゼなどの分解酵素を放出し、卵外被を分解する。また、頭部赤道面に卵母細胞との結合・融合装置を表出させる¹⁻³⁾。従って受精能獲得を経た精子のみが卵母細胞に近接することができ、受精することになる。少なくとも受精能獲得の過程で起こる超活性化運動を起こす能力と受精の間には正の相関関係が成り立つという報告がなされている⁴⁻⁷⁾。

受精能獲得と卵管環境

上述のように精子受精能獲得は卵管内に起こる哺乳類精子の変化であり、それ故に精子が受精能獲得を起こす時に卵管内に存在する物質等の影響を受けると予想される。一般論として排卵周期に伴って性ホルモンの分泌量 (血中濃度) が変化することは良く知られているところである。卵管内 (もしくは卵管液) においても排卵周期に伴って性ホルモンであるプロゲステロンの濃度は変化することが、また排卵時に卵母細胞と共に排出される卵胞液にもプロゲステロンは含まれていることが報告されている⁸⁾。ハムスターにおいて性周期に伴った血清、卵胞液、卵管液におけるプロゲステロン濃度が測定されており、それらは血清で5.56 ~ 12.85ng/ml、卵胞液で4.2 ~ 7.4 μg/ml、卵管液で44.04 ~ 175.06ng/mlの範囲で存在すると報告されている⁸⁾。血清および卵管液に含まれるプロゲステロン濃度の範囲において、ハムスターおよびヒト精子では超活性化運動および卵母細胞への精子の侵入 (penetration) が濃度依存的に惹起・促進され、この濃度では先体反応は惹起されないことが分かっている⁹⁻¹⁴⁾ (図1)。これに対して、先体反応は卵胞液に含まれるプロゲステロン濃度で惹起される¹⁴⁻¹⁸⁾。さらに超活性化運動がプロゲステロンにより惹起・促進することを介して体外受精 (*in vitro fertilization*) の成績がマウスでは濃度依存的に増加した¹²⁾。しかし、ヒトとラットでは確認できていない^{6,13)}。

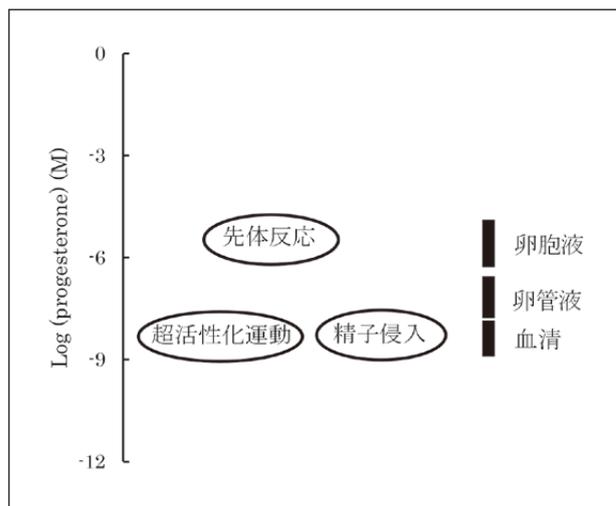


図1 各受精能獲得反応に影響するプロゲステロン濃度

多くの場合でプロゲステロンとエストロゲンは対になって作用することは多くみられる^{18, 19)}。精子受精能獲得に係る機能についてプロゲステロンはアクセルとして作用していたことから、エストロゲンがブレーキとして作用することが推定される。マウス、ラット、ハムスター精子において超活性化運動はプロゲステロンによって濃度依存的に惹起・促進されるが^{9,12,13)}、マウスとハムスター精子においてこのプロゲステロンの作用はエストラジオールによって濃度依存的に抑制された^{20,21)}。さらにマウスでは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惹起・促進と抑制に連動するように体外受精の成績も増加・減少した²¹⁾。先体反応も卵胞液に含まれる濃度のプロゲステロンにより惹起するが、このプロゲステロンの作用もプロゲステロンと同じ濃度のエストラジオールによって抑制されることが報告されている¹⁹⁾。

セロトニン (5-ヒドロキシトリプタミン, 5-HT) は神経伝達物質としてよく知られているが、卵管液や生殖器官に含まれ、卵成熟や胚発生、ステロイドホルモン合成など生殖機能の調節に関与する²²⁾。ヒト精子において各種5-HT受容体とトリプトファンヒドロキシラーゼやトランスポーターが発現しており、運動性や遊泳速度の調節に関わっていることが示唆されている^{23,24)}。マウス、ラット、ハムスター精子においてセロトニンは超活性化運動を濃度依存的に惹起・促進させる²⁵⁻²⁷⁾。マウス精子においてセロトニンは5-HT₂受容体、5-HT₃受容体、5-HT₄受容体および5-HT₇受容体を介して超活性化運動に作用した²⁶⁾。またラット精子においてセロトニンは5-HT₄受容体のみを介して超活性化運動に作用していた²⁷⁾。さらにマウスとラットではセロトニンによる超活性化運動の惹起・促進に伴って体外受精の成

績も増加し、どちらの動物の場合も5-HT₄受容体が関与していた^{26,27}。ハムスター精子においては、fM ~ pMのセロトニンは5-HT₂受容体を介して、nM以上のセロトニンは5-HT₄受容体を介して超活性化運動に作用していた²⁵。加えて、5-HT₂受容体を介したハムスター精子超活性化運動の惹起・促進はエストラジオールによっては抑制されないが、GABA (γアミノ酪酸)によって抑制された²⁸。先体反応に関してもセロトニンによって惹起されることがハムスター精子で報告されている²⁹。

GABAは5-HT₂受容体を介したハムスター精子超活性化運動の惹起・促進を抑制するとともに、プロゲステロンによるハムスター精子超活性化運動の惹起・促進も抑制することが分かっている^{28,30}。これらに対しヒト精子においてGABAは超活性化運動を惹起するとされており³¹、GABAの影響には種差が大きいと考えられる。ヒツジ³²、ラット³³、ウシ³⁴、マウス³⁵ およびブタ³⁶において、GABAは先体反応を惹起すると報告もされている。そしてGABAは卵管において脳の2.5倍量で存在し、性周期に伴って濃度変化をされるとされている^{37,38}。

メラトニンは松果体から分泌されるホルモンとして知られ、夜間の血中濃度が高く日中は低いという分泌の概日リズムがあり、季節による概日リズムの変化により性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の分泌変化を引き起こす^{39,40}。その結果として繁殖の季節リズム (短日繁殖と長日繁殖) が形成され、精子形成が影響を受ける。またメラトニンは抗酸化物質としても知られており、卵巣内では卵胞 (もしくは卵母細胞) の老化防止効果が知られる⁴¹。精子受精能獲得も酸化ストレスが刺激になることもあり⁴²、メラトニンは卵胞液に含まれ⁴³、精子に対しては酸化ストレスを調節することで超活性化運動および先体反応の惹起・促進を引き起こす^{44,45}。さらにメラトニンによる超活性化運動の惹起・

促進はエストラジオールによって抑制され、GABAによって抑制されなかった⁴⁶。

プロゲステロン、エストラジール、セロトニン、メラトニン、GABAについて筆者が得た知見を中心に精子超活性化運動と卵管環境 (ホルモンや神経伝達物質の分泌) との関係について述べた。筆者が研究対象にしているマウス、ラット、ハムスターでの知見を表1に示す。すべてを明らかに出来ている訳ではないもののプロゲステロンとセロトニンはどの動物でも同じ効果を及ぼした。エストラジールはマウスとハムスターでともに抑制の効果を示し、検討中ではあるがラットでも抑制の効果を示す結果が得られ始めている。メラトニンとGABAは検討中の結果を含めて考えると効果に種差がありそうである。次に精子超活性化運動、体外受精の成績、卵管環境 (ホルモンや神経伝達物質の分泌) の関係について、マウスとラットでの知見を表2と表3にそれぞれ示す。表2に示すように、マウスにおいてプロゲステロンとセロトニンは共に超活性化運動の惹起・促進を促し、さらに体外受精の成績も増加させた。一方エストラジオールはプロゲステロンによる超活性化運動の惹起・促進を抑制し、さらにプロゲステロンによる体外受精の成績の増加も抑制した。表3に示すように、ラットにおいてはマウスと異なりプロゲステロンによって超活性化運動の惹起・促進は起こったが、体外受精の成績へは影響を及ぼさなかった。しかしセロトニンはラット精子超活性化運動を惹起・促進し、さらに体外受精の成績を増加させた。以上の様に比較検討してみると、検討したホルモンや神経伝達物質のうちセロトニンの作用が種差が最もなく、また5-HT₄受容体が共通して関与する受容体であることが分かった。

表1 精子超活性化運動に対する卵管内に分泌されるホルモンや神経伝達物質の影響

作用因子	ハムスター精子	マウス精子	ラット精子
プロゲステロン	作用あり (促進) ⁹	作用あり (促進) ¹²	作用あり (促進) ¹³
エストラジオール	作用あり (抑制) ^{20, 46}	作用あり (抑制) ²¹	
メラトニン	作用あり (促進) ⁴⁴		
セロトニン	作用あり (促進) ²⁵ 5-HT ₂ 受容体と5-HT ₄ 受容体を濃度で使い分け	作用あり (促進) ²⁶ 5-HT ₂ 受容体, 5-HT ₃ 受容体, 5-HT ₄ 受容体, 5-HT ₇ 受容体が関与	作用あり (促進) ²⁷ 5-HT ₄ 受容体のみ関与
GABA	作用あり (抑制) ^{28, 30}		

空欄の項目は未検討もしくは検討中

表2 マウスにおける精子超活性化運動と体外受精の成績に対する卵管内に分泌されるホルモンや神経伝達物質の影響

作用因子	超活性化運動	体外受精
プロゲステロン	作用あり (促進) ¹²⁾	作用あり (増加) ¹²⁾
エストラジオール	作用あり (抑制) ²¹⁾	作用あり (抑制) ²¹⁾
セロトニン	作用あり (促進) ²⁶⁾ 5-HT ₂ 受容体, 5-HT ₃ 受容体, 5-HT ₄ 受容体, 5-HT ₇ 受容体 が関与	作用あり (増加) ²⁶⁾ 5-HT ₄ 受容体が関与

表3 ラットにおける精子超活性化運動と体外受精の成績に対する卵管内に分泌されるホルモンや神経伝達物質の影響

作用因子	超活性化運動	体外受精
プロゲステロン	作用あり (促進) ¹³⁾	なし ¹³⁾
セロトニン	作用あり (促進) ²⁷⁾ 5HT ₄ 受容体のみ関与	作用あり (増加) ²⁷⁾

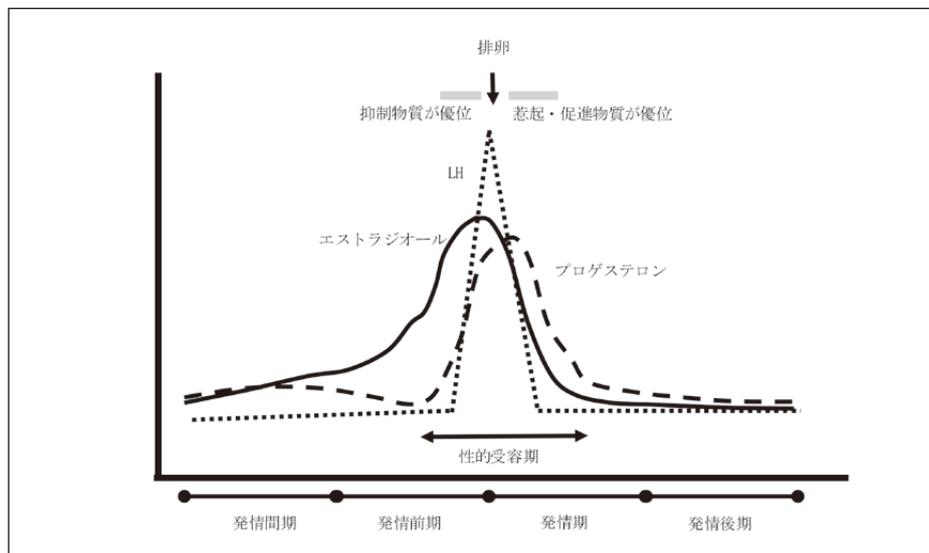


図2 ハムスター精子に対するホルモン濃度変化と惹起・促進および抑制の関係性

卵管環境に応じた精子受精能獲得の調節の意義

複数のホルモンや神経伝達物質が排卵周期に伴って卵管内に分泌され、その分泌に応じて精子受精能獲得が起こり、さらに受精のコントロールがなされていると考えられることを述べてきた。プロゲステロンとエストラジオールの関

係性において、プロゲステロンは惹起・促進を促しエストラジオールはこれを抑制するが^{9,12,13,20,21)}、超活性化運動が起こるタイミングはプロゲステロンとエストラジオールの濃度比によって決まることがハムスター精子を用いた検討で明らかになっている⁴⁷⁾。これらの知見を性周期と合わせて考えると図2に示すような関係性が認められる。性的受容期の

中ほどで排卵が起こり、排卵前に精子が卵管に移動してくるか、排卵後に精子が移動してくるかによって受精能獲得のタイミングが制御されているのではないかと考えることが可能である。すなわち排卵前に卵管に精子が移動してきた場合は受精能獲得が前倒しされる必要はなく、一方で排卵後に移動してきた場合にはすでに卵管内に卵母細胞が存在するので受精能獲得を惹起・促進し前倒しすることが必要になるという、配偶子レベルでの受精調節が存在するのではないかとということである。

超活性化運動が起こるタイミングはまた加齢の影響を受けることが分かっている⁴⁶⁾。加齢によって超活性化運動が起こるタイミングは遅くなっていくが、プロゲステロンやセロトニンといった超活性化運動を惹起・促進する物質が存在すると加齢による超活性化運動の遅延が解消される。ホルモンや神経伝達物質の分泌は加齢の影響を受けると考えられるので、加齢による精子の質の低下だけでなく卵管環境も加齢の影響を受け受精が起こりにくくなると考えられる。

最後に

卵管内環境の変化に応じて精子受精能獲得の応答が起こり受精に至る可能性を述べてきた。したがって、いかにホメオスタシスを安定にし乱さないようにすることが大切であると言える。精子を取り巻く卵管内環境のホメオスタシスがどのような状態であるのかは不明なことが多いが、しかし精子受精能獲得へのホルモンや神経伝達物質の作用を攪乱する物質はたくさん存在する。例えば、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の調節はエストロゲン様物質によって攪乱され、超活性化運動が起こるタイミングがずれることが分かっている⁴⁷⁾。また、セロトニンによる超活性化運動の惹起・促進はセロトニン受容体を介して起こるが、セロトニン受容体の拮抗剤は薬として処方されるものである。またセロトニン受容体の拮抗剤の中にはヒスタミン受容体拮抗剤であったりし、この場合鼻水を止める薬として抗アレルギー薬や風邪薬に含まれることがある。もちろん生活の質を上げることは重要な視点であるので、花粉が多く飛散する時期に抗アレルギー薬を服用することに何ら問題がある訳ではないが、服用するものが卵管環境に影響を及ぼし卵管内のホメオスタシスを攪乱するという視点を持って服用するもの（薬だけではなくサプリメントなどすべて）を選択するということも必要だろうと考える。

参考文献

1) Florman HM, Fissore RA: Fertilization in mammals. In: Plant TM, Zeleznik AJ, ed. Knobil and Neill's Physiology

of Reproduction 4th ed Vol 1, pp149-196, London: Elsevier Inc, 2015.

2) Barresi MJ, Gilbert SF: Fertilization. In: Barresi MJ, Gilbert SF, ed. Developmental biology, 12th ed, pp215-246, New York: Oxford University Press, 2020.

3) Yanagimachi R: Mammalian fertilization. In: Knobil E, Neill JD, ed. The Physiology of Reproduction 2nd ed Vol. 1, pp 189-317, New York: Raven Press, 1994.

4) Wang C, Surrey ES, Lee GS, Chan SYW, Leung A: Human sperm hyperactivation and acrosome reaction and their relationships to human in vitro fertilization. Fertil Steril, 59: 1221-1227, 1993.

5) McPartlin LA, Suarez SS, Czaya CA, Hinrichs K, Bedford-Guass SJ: Hyperactivation of stallion sperm is required for successful in vitro fertilization of equine oocytes. Biol Reprod, 81: 199-206, 2009.

6) Alasmari W, Barratt CLR, Publicover SJ, Whalley KM, Foster E, Kay V, Martins da Silva S, Oxenham SK: The clinical significance of calcium-signalling pathways mediating human sperm hyperactivation. Hum Reprod, 28: 866-876, 2013.

7) Breznik BP, Kova B, Vlajavljivi V: 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: 1233-1241, 2013

8) Libersky EA, Boatman DE: Progesterone concentrations in serum, follicular fluid, and oviductal fluid of golden hamster during the periovulatory period. Biol Reprod, 53: 477-482, 1995.

9) Noguchi T, Fujinoki M, Kitazawa M, Inaba N: Regulation of hyperactivation of hamster spermatozoa by progesterone. Reprod Med Biol, 7: 63-74, 2008.

10) Strünker T, Goodwin N, Brenker C, Kashikar ND, Weyand I, Seifert R, Kaupp UB: The CatSper channel mediates progesterone-induced Ca²⁺ influx in human sperm. Nature, 471: 382-386, 2011.

11) Lishko PV, Botchkina IL, Kirichok Y: Progesterone activates the principal Ca²⁺ channel of human sperm. Nature, 471: 387-391, 2011.

12) Suzuki R, Fujinoki M: Progesterone increases the success of in vitro fertilization via enhanced sperm hyperactivation in mice. J Reprod Dev, 69: 147-153, 2023.

13) Miyazawa Y, Fujinoki M: Enhancement of rat spermatozoal hyperactivation by progesterone. J Reprod Dev, 69: 279-290, 2023.

14) Libersky EA, Boatman DE: Effects of progesterone on in vitro sperm capacitation and egg penetration in the golden hamster. Biol Reprod, 53: 483-487, 1995.

15) Yudin AI, Gottlieb W, Meizel S: Ultrastructural studies of the early events of the human sperm acrosome reaction as initiated by human follicular fluid. Gamete Res, 20: 11-24, 1988.

16) Osman RA, Andria ML, Jones AD, Meizel S: Steroid induced exocytosis: the human sperm acrosome reaction. Biochem Biophys Res Commun, 160: 828-833, 1989.

17) Llanos MN, Anabalon MC: Studies related to progesterone-

- induced hamster sperm acrosome reaction. *Mol Reprod Dev*, 45: 313-319, 1996.
- 18) Tamburrino L, Marchiani S, Muratori M, Luconi M, Baldi E: Progesterone, spermatozoa and reproduction: An updated review. *Mol Cell Endocrinol*, 516: 110952, 2020.
 - 19) Luconi M, Francavilla F, Porazzi I, Macerola B, Forti G, Baldi E: Human spermatozoa as a model for studying membrane receptors mediating rapid nongenomic effects of progesterone and estrogens. *Steroids*, 69: 553-559, 2004.
 - 20) Fujinoki M: Suppression of progesterone enhanced hyperactivation in hamster spermatozoa by estrogen. *Reproduction*, 140: 453-464, 2010.
 - 21) Fujikura M, Fujinoki M: Progesterone and estradiol regulate sperm hyperactivation and in vitro fertilization success in mice. *J Reprod Dev*, 70: 96-103, 2024.
 - 22) Dubé F, Amireault P: Local serotonergic signaling in mammalian follicles, oocytes and early embryos. *Life Sci*, 81: 1627-1637, 2007.
 - 23) Jiménez-Trejo F, Tapia-Rodríguez M, Cerbón M, Kuhn DM, Manjarrez-Gutiérrez G, Mendoza-Rodríguez CA, Picazo O: Evidence of 5-HT components in human sperm: implications for protein tyrosine phosphorylation and the physiology of motility. *Reproduction*, 144: 677-685, 2012.
 - 24) Omote M, Wakimoto Y, Shibahara H: Possible role of 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptor on human sperm motility regulation. *Cureus*, 15: e49530, 2023.
 - 25) Fujinoki M: Serotonin-enhanced hyperactivation of hamster sperm. *Reproduction*, 142: 255-266, 2011.
 - 26) Sugiyama Y, Fujinoki M, Shibahara H: Effects of 5-hydroxytryptamine on spermatozoal hyperactivation and in vitro fertilization in mice. *J Reprod Dev*, 65: 541-550, 2019.
 - 27) Koyano Y, Fujinoki M: Influences of 5-hydroxytryptamine on sperm hyperactivation and in vitro fertility in rats. *J Reprod Dev*, in press, 2025.
 - 28) Fujinoki M, Takei GL: γ -aminobutyric acid suppresses enhancement of hamster sperm hyperactivation by 5-hydroxytryptamine. *J Reprod Dev*, 63: 67-74, 2017.
 - 29) Meizel S, Turner KO: Serotonin or its agonist 5-methoxytryptamine can stimulate hamster sperm acrosome reactions in a more direct manner than catecholamines. *J Exp Zool*, 226: 171-174, 1983.
 - 30) Kon H, Takei GL, Fujinoki M, Shinoda M: Suppression of progesterone-enhanced hyperactivation in hamster spermatozoa by γ -aminobutyric acid. *J Reprod Dev*, 60: 202-209, 2014.
 - 31) Calogero AE, Hall J, Fishel S, Green S, Hunter A, D'Agata R: Effects of γ -aminobutyric acid on human sperm motility and hyperactivation. *Mol Hum Reprod*, 2: 733-738, 1996.
 - 32) de las Heras MA, Valcarcel A, Perez LJ: In vitro capacitating effect of gamma-aminobutyric acid in ram spermatozoa. *Biol Reprod*, 56: 964-968, 1997.
 - 33) Hu JH, He XB, Wu Q, Yan YC, Koide SS: Subunit composition and function of GABA_A receptors of rat spermatozoa. *Neurochem Res*, 27: 195-199, 2002.
 - 34) Puente MA, Tartaglione CM, Ritta MN: Bull sperm acrosome reaction induced by gamma-aminobutyric acid (GABA) is mediated by GABAergic receptors type A. *Anim Reprod Sci*, 127: 31-37, 2011.
 - 35) Kurata S, Hiradate Y, Umezu K, Hara K, Tanemura K: Capacitation of mouse sperm is modulated by gamma-aminobutyric acid (GABA) concentration. *J Reprod Dev*, 65: 327-334, 2019.
 - 36) Kurata S, Umezu K, Takamori H, Hiradate Y, Hara K, Tanemura K: Exogenous gamma-aminobutyric acid addition enhances porcine sperm acrosome reaction. *Anim Sci J*, 93: e13744, 2022.
 - 37) del Rio RM: Gamma-aminobutyric acid system in rat oviduct. *J Biol Chem*, 256: 9816-9819, 1981.
 - 38) Louzan P, Gallardo MGP, Tramezzani JH: Gamma-aminobutyric acid in the genital tract of the rat during the oestrous cycle. *J Reprod Fertil*, 77: 499-524, 1986.
 - 39) Turek FW & Van Cauter E 1994 Rhythms in reproduction. In: Knobil E, Neill JD., ed. *The Physiology of Reproduction* 2nd ed Vol.2, pp487-540, New York: Raven Press, 1994.
 - 40) Bronson FH, Heideman PD: Seasonal regulation of reproduction in mammals. In: Knobil E, Neill JD., ed. *The Physiology of Reproduction* 2nd ed Vol.2, pp541-582, New York: Raven Press, 1994.
 - 41) Tamura H, Takasaki A, Taketani T, Tanabe M, Kizuka F, Leev L, Tamura I, Maekawa R, Asada H, Yamagata Y, Sugino N: Melatonin as a free radical scavenger in the ovarian follicle. *Endocrine J*, 60: 1-13, 2013.
 - 42) O' Flaherty C, de Lamirande E, Gagnon C: Positive role of reactive oxygen species in mammalian sperm capacitation: triggering and modulation of phosphorylation events. *Free Rad Biol Med*, 41: 528-540, 2006.
 - 43) Brzezinski A, Seibel MM, Lynch HJ, Deng MH, Wurtman RJ: Melatonin in human preovulatory follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metabol*, 64: 865-867, 1987.
 - 44) Fujinoki M: Melatonin-enhanced hyperactivation of hamster sperm. *Reproduction*, 136: 533-541, 2008.
 - 45) du Plessis SS, Hagenaar K, Lampiao F: The in vitro effects of melatonin on human sperm function and its scavenging activities on NO and ROS. *Andrologia*, 42: 112-116, 2010.
 - 46) Fujinoki M, Takei GL: Estrogen suppresses melatonin-enhanced hyperactivation of hamster spermatozoa. *J Reprod Dev*, 61: 287-295, 2015.
 - 47) Fujinoki M: Regulation and disruption of hamster sperm hyperactivation by progesterone, 17 β -estradiol and diethylstilbestrol. *Reprod Med Biol*, 13: 143-152, 2014.
 - 48) Miyashita M, Fujinoki M: Effects of aging and oviductal hormones on testes, epididymides, and sperm of hamster. *Reprod Med Biol*, 21: e12474, 2022.

発達早期における環境要因, 特にストレスおよびグルココルチコイドシグナルのかく乱が 精巣の発育および精子形成におよぼす影響

The Effects of Stress and Disruption of Glucocorticoid Signal during Early Life Stage
on Testicular Development and Spermatogenesis

宮宗 秀伸, 伊藤 正裕

Hidenobu Miyaso, Masahiro Itoh

東京医科大学 医学部医学科 人体構造学分野 〒160-8402 東京都新宿区新宿6-1-1
Department of Anatomy, Tokyo Medical University, 6-1-1 Shinjuku, Shinjuku-Ku, Tokyo, 160-8402, Japan.

要旨: 精子形成は精子幹細胞が分化, 変態し最終的に精子を産生する複雑な過程である。様々な外的・内的要因が精子形成を障害することが知られている。近年筆者らは動物実験モデルにおいて, 新生児期母児分離による発達早期のストレス (Early life stress, ELS) およびそれに伴い過剰あるいは慢性的に分泌されたグルココルチコイドに曝された児において, 産生精子数の減少を見出した。その機序として, 筆者らは ELS を受けた児におけるセルトリ細胞数の不可逆的な減少を見出し, さらに現在, 精子の形態異常や精子エピゲノム状態の変動を生じる可能性を見出しつつある。これらの知見をヒトに外挿した場合, 胎児期および新生児期の期間におけるグルココルチコイドシグナルのかく乱が起こった場合, セルトリ細胞数の減少を通じて将来的に精子形成障害を生じる可能性が示唆される。今後, 基礎・臨床の両面において, より詳細な調査解析が望まれる。

キーワード: Early life stress, グルココルチコイド, 新生児期母児分離, 精子形成, セルトリ細胞
ランニングヘッド: 発達早期の過剰なグルココルチコイドと精巣毒性

英文要旨: Spermatogenesis is a series of processes, in which spermatogonial stem cells proliferate, differentiate and mature into spermatozoa. It is known that many external and internal factors affect spermatogenesis. Recently we clarified that early life stress (ELS) by neonatal maternal separation (NMS) or exposure to glucocorticoid secreted excessively or chronically following ELS resulted in decrease of spermatozoa count in mouse model. As a mechanism which causes reduction of spermatozoa count, we reported that NMS-induced ELS or neonatal corticosterone injection caused irreversible reduction of Sertoli cell number. Now, we are currently investigating the effects on morphology in sperm and epigenomic status in sperm genomic DNA following ELS or neonatal corticosterone treatment.

Extrapolated our results using mice, there is a possibility, in human, that disruption of glucocorticoid signal in fetal and neonatal periods may affect Sertoli cell number and finally result in adverse effects on spermatogenesis later. Further studies are required to understand the effects of ELS or neonatal corticosterone treatment on the male reproductive system in both basic and clinical studies.

キーワード: Early life stress, Glucocorticoid, Neonatal maternal separation, Sertoli cells, Spermatogenesis

緒言

精子形成は、精巣の曲精細管内において精子幹細胞が精祖細胞、精母細胞、精子細胞へと分化・成熟し、最終的に精子に至る複雑な過程である。精祖細胞から精子までの分化成熟にはヒトではおよそ64日(マウスでは35日)を要し、一日当たり数千万の精子が産生される。この過程は、古典的には内分泌系による制御を受けているとされてきた。その後、生殖系には遺伝子発現による制御や免疫系による制御を含む、精子形成過程の多岐にわたる制御機構が備わっていることが明らかになってきた¹⁾。精子形成過程の制御機構の破綻は精子形成障害を生じる。外傷、感染、温熱、血流障害、通過障害、放射線、加齢、化学物質曝露などの様々な外的・内的要因が、精子形成過程の制御機構に影響をおよぼすことが明らかになりつつある。

近年筆者らは、発達早期のライフステージにおけるストレス(Early life stress, ELS)、それに伴いグルココルチコイドの過剰あるいは慢性的な分泌が生じた場合、児において、セルトリ細胞数の不可逆的な減少と産生精子数の減少をはじめとする、生殖系の障害が生じることを見出した²⁻⁴⁾。本稿ではELSが精巣の発育および精子形成におよぼす影響について、発達早期のライフステージにおけるグルココルチコイドシグナルの重要性を交えて概説したい。

発達早期のライフステージにおける「環境」と健康影響

発達早期の児をとりまく環境要因は、その後の児の健康状態と関連する可能性があると考えられ、現在様々な調査が行われている。Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) 学説(成人病胎児起源説)に基づき行われた多くの研究によって、環境汚染物質への曝露や喫煙、飲酒、栄養状態などの妊娠中母体環境要因や生後の児を取り巻く様々な環境要因が、児におけるアレルギー疾患、肥満、精神発達障害などの発症リスクとなることが報告されている。

DOHaD学説においては、発達早期における不適切な環境要因は児にゲノムDNAのメチル化を始めとするエピゲノム状態の変化を引き起こし、その結果として児において、将来的に健康被害を生じる素因が形成されると考えられており、現在様々な観点から調査研究が行われている。

発達早期の環境要因としての「ストレス」

ストレスとは、何らかの刺激が体に加えられた結果、体が示すゆがみや変調のことを指す用語である。ストレスはヒトおよび動物の精神面および身体面において多種多様な影

響をおよぼすことが知られている。ストレスに対する生体反応の一つとして、視床下部-下垂体-副腎皮質軸(hypothalamic-pituitary-adrenal axis; HPA軸)の作用が挙げられる^{5,6)}。すなわち、ストレスに対してHPA軸を通じて、副腎皮質ホルモンの一つとして知られるグルココルチコイド(主としてコルチゾールまたはコルチコステロン、CORT)が分泌され、それらは各器官系や臓器に作用し、身体をストレス環境に適応させる。

ストレスについて、特に発達早期のライフステージにおいて児が受けるストレスすなわち「ELS」、およびそれに伴い過剰あるいは慢性的に分泌されたCORTは未成熟の段階にある神経系に作用しその発達に影響をおよぼす。このことが将来的なうつや自閉症発症のリスク因子となることが、ヒトおよびラット・マウスなどをを用いた様々な研究および総説によって多数報告されてきた^{7,8)}。一方、文献を調査する限りELSが雄性生殖系におよぼす影響の報告は限定的であり、長らく詳細な評価は行われてこなかった。しかしながら発達早期の段階では思春期以降と比して、精巣においてグルココルチコイド受容体が高発現していることや⁹⁾、セルトリ細胞や一部の精子形成細胞がグルココルチコイド受容体を発現していることが報告されており¹⁰⁾、これらの知見は精巣の正常な発達におけるグルココルチコイドシグナルの重要性およびそのかく乱による健康リスクの可能性を示唆している(図1)。

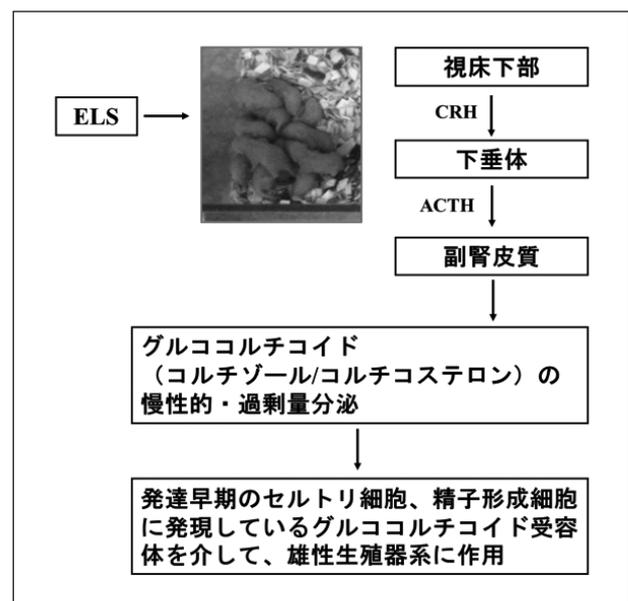


図1 発達早期のストレスが精巣に影響をおよぼす機序
ELS; Early life stress
CRH; 副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン
ACTH; 副腎皮質刺激ホルモン

ELSと精巣の発育および精子形成

筆者らはELSが雄性生殖系系におよぼす健康影響の詳細評価のため、新生児期母児分離 (Neonatal Maternal Separation; NMS) によるELSモデルを採用した^{2,3)}。この動物実験モデルは出生直後の児を母親から一日当たり一定時間強制的に分離することによって、児にELSを誘導するモデルとして知られている。筆者らはクローズドコロニーマウスであるICRマウス (Slc:ICR) について、生後1日目から10日目の間、一日当たり0.5, 1, 2時間の母児分離を行い、生後10日齢, 16日齢, および10週齢において児の評価を行った。

生後10日齢における、母児分離マウスの血中CORT濃度は対照マウスと比較して上昇しており、特に2時間の母児分離マウスでは有意であった。さらに精巣の発達に重要とされるホルモンとして、トリヨードサイロニンとテストステロンについて評価を実施したところ、血中トリヨードサイロニン濃度に関しては有意差を認めず、テストステロン濃度については2時間の母児分離マウスにおいて有意に減少するというデータが得られた。

2時間の母児分離マウスにおいてさらに詳細に評価したところ、10日齢における体重および精巣重量は対照マウスと比較して有意に減少していた。一方16日齢では体重、精巣重量ともに有意な増加を認めた。10週齢において、精細管あたりに含まれる精子形成細胞数を評価したところ、分離マウスにおいて、精祖細胞、精母細胞、円形精子細胞の全てについて有意な減少が認められた。精巣上体尾部に含まれる成熟精子数についてもまた、有意な減少が認められた。

発達早期のCORT投与が 雄性生殖系系におよぼす影響

筆者らは、NMSによるELSモデルマウスにおいて見出された雄性生殖系系における影響は、ストレスに伴うCORTの過剰あるいは慢性的な分泌によるものであると仮定した⁴⁾。Biaginiらは新生児期ラットにおいて一日当たり10 mg/kg body weightのCORTを投与した場合、雄性生殖系系の発育に影響が生じることを報告している¹¹⁾。筆者らはBiaginiらの先行研究を参考にし、上記の仮定を検証することを目的として、ICRマウスに対して生後1日目から10日目の間、セサミオイルに溶解したCORTを0.36(low-), 3.6(middle-), 36(high-dosed)mg/kg body weightの三段階の濃度で、皮下注射によって投与し、評価を行った。

生後10日齢における血中CORT濃度は、投与マウスにおいて対照マウスと比べて、投与量依存的に有意な上昇

を示した。特にlow-dosedマウスにおいて、2時間の母児分離マウスで確認された値に近い血中CORT濃度が認められた。精巣重量は生後10日齢において対照マウスと投与マウスの間で有意な差を認めず、16日齢ではすべての投与マウスで有意な増加を認めた。特にlow-dosedマウスについて10週齢で評価したところ、対照マウスと比較し、精巣重量および精巣上体尾部に含まれる成熟精子数について、いずれも有意な減少が生じていることが明らかになった。

ELSおよび新生児期CORT投与が生じる 精子形成障害の機序

筆者らの2つのマウスモデルは、いずれも成熟精子数の減少すなわち精巣において精子形成の障害が生じている可能性を示した。この機序の一端を明らかにするために筆者らは、精細管内セルトリ細胞に着目した。

精細管あたりのセルトリ細胞数を、SOX9など特異的マーカーを用いた免疫組織化学によって評価したところ、NMSによるELSモデルマウスについて、2時間の母児分離マウスでは対照マウスと比較して、10週齢時におけるセルトリ細胞数の有意な減少が見出された。このセルトリ細胞数の減少は16日齢においても認められた。さらにNMSがセルトリ細胞数の減少を引き起こすメカニズムを明らかにすることを目的に筆者らは、サイクリン依存性キナーゼインヒビターの一つでありセルトリ細胞の増殖停止因子としても知られているp27に着目した¹²⁾。筆者らの解析は生後10日齢の時点で、p27を発現しているセルトリ細胞数 (p27陽性セルトリ細胞数) が、2時間の母児分離マウスにおいて対照マウスと比較して有意に増加しているという結果を示した。CORT投与モデルマウスにおいて同様の検討を行ったところ、10週齢, 16日齢, および10日齢を通じて (low-dosed) 投与マウスにおいてセルトリ細胞数の減少が見出され (図2), p27陽性セルトリ細胞数は生後10日齢の時点で投与マウスにおいて有意に増加していた。

以上二つのモデルマウスを用いた研究結果は、ELSおよびそれによって過剰あるいは慢性的に分泌されたグルココルチコイドに曝されることによってセルトリ細胞数の減少が生じ、減少したセルトリ細胞数は思春期以降のライフステージにおいても回復しないこと、さらに結果として、思春期以降のライフステージにおいて産生される精子数の減少を含めた、雄性生殖系系の長期的な健康被害が生じる可能性を示唆している。

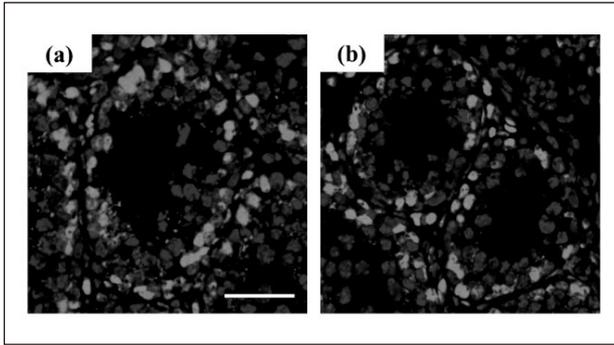


図2 CORT投与モデルマウス精巣組織における免疫組織化学

生後16日齢における対照マウス(a)およびCORT投与マウス(b)精巣組織について、セルトリ細胞マーカーであるSOX9による染色が行われた。CORT; Corticosterone, Bar = 50 μ m

グルココルチコイドシグナルと精巣

筆者らの研究は、発達早期のライフステージにおけるストレスおよびそれによって過剰に生じたグルココルチコイドが、セルトリ細胞数の減少と産生精子数の減少を引き起こすことを示した。マウスにおけるセルトリ細胞の増殖期は生後16日目前後で終了し、それらのセルトリ細胞は成熟期に移行し、それ以降セルトリ細胞は増殖しないとされる¹²⁾。Hazraらの報告によれば、マウスセルトリ細胞におけるグルココルチコイド受容体の発現は生後20日目前後まで認められるがその後精巣全体におけるグルココルチコイド受容体の発現量は急激に減少する。生後70日目の時点では、セルトリ細胞におけるグルココルチコイド受容体の発現は認められていない。さらに、グルココルチコイド受容体をノックアウトした場合、セルトリ細胞数が減少することが報告されている¹⁰⁾。このことは、思春期前におけるセルトリ細胞の発育において、グルココルチコイドシグナルが重要な働きを持つことを示唆している。一連の研究は、発達早期におけるセルトリ細胞の正常な増殖には、当該時期における「適切なレベルの」グルココルチコイドシグナルが必要であること、グルココルチコイドシグナルの正常範囲内を逸脱した亢進および抑制の両方が、セルトリ細胞の正常な増殖を障害しその後の健康被害を生じる可能性を示している。

一方、発達早期における過剰なストレスやグルココルチコイドシグナルの異常は、精子の性状にどのような影響をおよぼすのであろうか。上述のように筆者らは、NMSによるELSモデルマウスやCORT投与モデルマウスにおいて、精巣内精子形成細胞数および成熟精子数の減少を報告している。少なくとも筆者らのこれまでの予備検討は、発達早期のグルココルチコイドのかく乱が、1) 形態異常を有する成熟精子の割合を増加させる可能性があること、2) 成

熟精子のゲノムDNAにおけるメチル化状態を変動させる可能性があること、を示している。

特に2) について、筆者らはモデルマウスの精巣上部尾部より回収した精子からゲノムDNAを抽出し、それらのゲノムDNAに対するメチル化解析を行った。階層的クラスタリング解析および主成分分析は、実験マウスと対照マウスにおける精子ゲノムDNAが異なるメチル化特性を有することを示した(図3)。現在、データの精査およびより詳細な解析が進められている。

グルココルチコイド受容体は、発達早期の精巣において、セルトリ細胞に加え、ライディッチ細胞、精細管周囲筋様細胞、早期の精子形成細胞に発現することが報告されている^{9,10)}。いくつかの先行研究は、CORTが様々な細胞種においてゲノムDNAメチル化状態の変動を生じる可能性を、in vivo, in vitroにおいて報告している¹³⁾。上記(2)は、生殖細胞においても、CORTがゲノムDNAメチル化状態の変動を生じる可能性を示唆している。

発達早期のヒトにおける グルココルチコイドシグナルのかく乱

以上は筆者らによるモデルマウスにおける研究成果の一端であるが、我々ヒトにおいて発達早期のライフステージにおけるグルココルチコイドシグナルのかく乱は、どのような場合に生じるのであろうか。一例として臨床現場では、早産の可能性のある場合に児の肺の成熟を促すことを目的に、母体に対してグルココルチコイド(ベタメタゾンやデキサメタゾン)の投薬が行われることがある¹⁴⁾。また別の例として、出生後の児は母体の回復のために一時的に母体から離れた環境に置かれることがあり、不適切な「母児の分離」や、このことによる児のストレス負荷は、愛着障害をはじめとして児の発育に影響をおよぼし、うつや自閉症を引き起こすリスクファクターとなることが報告されている¹⁵⁾。このような医療処置としてのグルココルチコイドの投薬や母児の分離から生じるストレス負荷の状態は、児においてグルココルチコイドシグナルのかく乱を生じる可能性があるが、それらの雄性生殖器系における影響について詳細に調査した研究はこれまでに報告されていない。

一方Sharpeらは、ヒトのセルトリ細胞は胎児期から新生児期間に特に急激に増殖すると報告している^{16,17)}。本稿で紹介した実験結果をヒトに外挿した場合、すなわち、この期間にグルココルチコイドシグナルのかく乱が生じた場合、セルトリ細胞数の減少を通じて精子形成細胞数の減少、産生される精子数の減少、さらには精子ゲノムDNAにおけるエピゲノム異常を生じ、最終的に男性生殖器系の機能に影響が生じるのかもしれない。

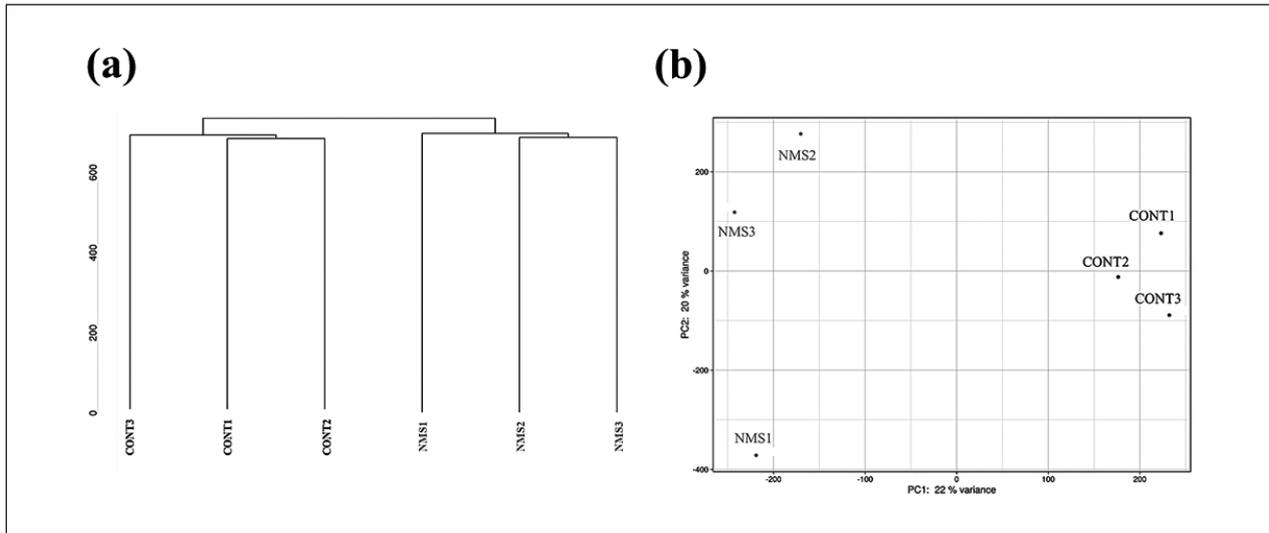


図3 NMSによるELSが精子ゲノムDNAメチル化状態におよぼす影響
 階層的クラスタリング解析 (a) および主成分分析 (b) は、実験マウスと対照マウスにおける精子ゲノムDNAが異なるメチル化特性を示している。NMS; Neonatal maternal separation, ELS; Early life stress.

おわりに

本稿は、発達早期のライフステージにおけるグルココルチコイドシグナルのかく乱が雄性生殖系におよぼす影響を概説した。Skakkebaekらは、過去50年の間に男性の精子数が半減したという論文を発表し、その後多くの研究は、成人男性における精液中の精子濃度の減少や精子運動能の低下を相次いで報告してきた^{18,19)}。男性の生殖機能の低下は複合的な要因によって生じるとされるが、筆者らの研究は、発達早期における環境要因、特にストレスおよびグルココルチコイドシグナルのかく乱もまた、精子形成に影響をおよぼす可能性を示唆している。本領域のさらなる研究の発展が望まれる。

参考文献

- 1) Miyaso H, Ogawa Y, Itoh M: Microenvironment for spermatogenesis and sperm maturation. *Histochem Cell Biol*, 157 (3) : 273-85, 2022.
- 2) Miyaso H, Nagahori K, Takano K, Omotehara T, Kawata S, Li ZL, Kuramasu M, Wu X, Ogawa Y, Itoh M: Neonatal maternal separation causes decreased numbers of sertoli cell, spermatogenic cells, and sperm in mice. *Toxicol Mech Methods*, 31 (2) : 116-25, 2021.
- 3) Miyaso H, Takano K, Nagahori K, Kawata S, Li ZL, Kuramasu M, Wu X, Ogawa Y, Itoh M: Neonatal maternal separation increases the number of p27-positive Sertoli cells in prepuberty. *Reprod Toxicol*, 102: 56-66, 2021.
- 4) Miyaso H, Takano K, Nagahori K, Li ZL, Kawata S, Kuramasu M, Ogawa Y, Yoshioka H, Matsuno Y, Yokota S, Itoh M: Neonatal corticosterone administration increases p27-positive Sertoli cell number and decreases Sertoli cell number in the testes of mice at prepuberty. *Sci Rep*, 12(1): 19402, 2022.
- 5) Hostinar CE, Gunnar MR: Future directions in the study of social relationships as regulators of the HPA axis across development. *J Clin Child Adolesc Psychol*, 42(4): 564-75, 2013.
- 6) Johnson SB, Riley AW, Granger DA, Riis J: The science of early life toxic stress for pediatric practice and advocacy. *Pediatrics*, 131(2): 319-27, 2013.
- 7) Brummelte S, Pawluski JL, Galea LA: High post-partum levels of corticosterone given to dams influence postnatal hippocampal cell proliferation and behavior of offspring: A model of post-partum stress and possible depression. *Horm Behav*, 50(3): 370-82, 2006.
- 8) Holmes L, Shutman E, Chinaka C, Deepika K, Pelaez L, Dabney KW: Aberrant Epigenomic Modulation of Glucocorticoid Receptor Gene (NR3C1) in Early Life Stress and Major Depressive Disorder Correlation: Systematic Review and Quantitative Evidence Synthesis. *Int J Environ Res Public Health*, 16(21): 4280, 2019.
- 9) Levy FO, Ree AH, Eikvar L, Govindan MV, Jahnsen T, Hansson V: Glucocorticoid receptors and glucocorticoid effects in rat Sertoli cells. *Endocrinology*, 124(1): 430-6, 1989.
- 10) Hazra R, Upton D, Jimenez M, Desai R, Handelsman DJ, Allan CM: In vivo actions of the Sertoli cell glucocorticoid receptor. *Endocrinology*, 155(3): 1120-30, 2014.
- 11) Biagini G, Pich EM: Corticosterone administration to rat

- pups, but not maternal separation, affects sexual maturation and glucocorticoid receptor immunoreactivity in the testis. *Pharmacol Biochem Behav*, 73(1): 95-103, 2002.
- 12) Beumer TL, Kiyokawa H, Roepers-Gajadien HL, van den Bos LA, Lock TM, Gademan IS, Rutgers DH, Koff A, de Rooij DG: Regulatory role of p27kip1 in the mouse and human testis. *Endocrinology*, 140(4): 1834-40, 1999.
 - 13) Lee RS, Tamashiro KL, Yang X, Purcell RH, Harvey A, Willour VL, Huo Y, Rongione M, Wand GS, Potash JB: Chronic corticosterone exposure increases expression and decreases deoxyribonucleic acid methylation of Fkbp5 in mice. *Endocrinology*, 151(9): 4332-43, 2010.
 - 14) Kemp MW, Newnham JP, Challis JG, Jobe AH, Stock SJ: The clinical use of corticosteroids in pregnancy. *Hum Reprod Update*, 22(2): 240-59, 2016.
 - 15) Vetulani J: Early maternal separation: a rodent model of depression and a prevailing human condition. *Pharmacol Rep*, 65(6): 1451-61, 2013.
 - 16) Cortes D, Müller J, Skakkebaek NE: Proliferation of Sertoli cells during development of the human testis assessed by stereological methods. *Int J Androl*, 10(4): 589-96, 1987.
 - 17) Sharpe RM, McKinnell C, Kivlin C, Fisher JS: Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction*, 125(6): 769-84, 2003.
 - 18) Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE: Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ*, 305(6854): 609-13, 1992.
 - 19) Levine H, Jørgensen N, Martino-Andrade A, Mendiola J, Weksler-Derri D, Mindlis I, Pinotti R, Swan SH: Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis. *Hum Reprod Update*, 23(6): 646-59, 2017.

IMSI の有用性と課題

Utility and Challenges of IMSI

佐野 憲一，長谷川 久隆，吉田 淳

Kenichi Sano, Hisataka Hasegawa, Atsumi Yoshida

木場公園クリニック 〒135-0042 東京都江東区木場 2-17-13 亀井ビル 5,6,7F
Kiba Park Clinic

要旨： 顕微授精では，良好な精子を選別する必要がある．従来のICSIにおける精子の選別は，400倍の顕微鏡下で行われているが，精子の形態評価には限界がある．これに対して，高倍率で精子の形態学的評価を行う技術である運動性精子オルガネラ形態検査 (Motile Sperm Organelle Morphology Examination: MSOME) と，顕微授精を組み合わせたIMSI (Intracytoplasmic Morphologically selected Sperm Injection) が提唱された．しかし，ART全体としてIMSIの有用性は決定的ではない．本稿では，精子の質がICSIの成績に及ぼす影響，IMSIの現状や課題について概説した．

キーワード： ICSI, IMSI, MSOME, 精子のDNA fragmentation

英文要旨： ICSI entails the selection of morphologically superior sperm. Conventional sperm selection in ICSI is performed using microscopy at 400x magnification; however, this method has limitations in accurately evaluating sperm morphology. In contrast, IMSI integrates MSOME, a technique for high-magnification morphological evaluation of sperm, with ICSI. However, the utility of IMSI in the context of ART as a whole has yet to be definitive. This paper examines the impact of sperm quality on ICSI outcomes and discusses the current status and challenges associated with IMSI.

キーワード： ICSI, IMSI, MSOME, Sperm DNA fragmentation

はじめに

男性不妊症の治療法としてICSIは導入され，生殖補助医療における治療可能な適応症例の範囲が広がった．理論的には1個の卵子につき1個の精子があれば受精させることが可能となったが，精子の質が受精卵(胚)の質に大きな影響を及ぼすと考えられており，ICSIにおいては良好な精子を選別する必要がある．Bartoovらは，高倍率でより詳細に精子形態学的評価を行うための技術としてMSOMEを導入し，この技術で選別した精子を顕微授精に用いるIMSIを提唱した¹⁾．しかしながら，ART全体としてIMSIの有用性は依然決定的ではなく，コンセンサスはまだ確立されていない．これらを踏まえ，本稿では，精子DNA断片化とICSIの成績，MSOME，IMSIの有用性，IMSIに対する否定的評価，IMSIの課題について明らかにし，今後の展望を提示する．

精子DNA断片化とICSIの成績

精子DNA断片化はARTの結果を左右する重要な要因とされ，男性不妊症だけでなく原因不明の不妊患者においても，精子DNA断片化の上昇が確認されている．精子DNA断片化は，ICSI後の胚発生3日目以降における胚性ゲノム活性化に負の影響を与えることが示された²⁾．これはLate Paternal Effectと呼ばれ，胚盤胞到達率や妊娠率の低下，流産率の上昇に関連するとされている．また，精子DNA断片化が高い場合，ARTによって生まれた子供の出生時体重が有意に減少した報告もある³⁾．精子の質は受精・胚発生・着床のみならず出生児にも影響を及ぼすと考えられ，ICSIにおいては個々の精子をより詳細に評価し，最も質の高い精子を選択することが望ましいと考えられる．

MSOME

MSOMEとは運動精子を高倍率でリアルタイムに形態学的に評価する技術である。特に精子頭部の評価が重要であり、精子頭部の形状が平滑・対称・楕円であり、精子頭部の空胞(表面積4%未満)が1個以下である場合、形態学的に正常と判断される。MSOMEにおける精子頭部の空胞の評価を図1に示す。Bartoovらは、正常な精子頭部をIMSIに用いることで、受精率および着床率の有意な向上が示され、MSOMEの有用性が初めて報告された¹⁾。

精子頭部の空胞に関する研究では、その起源や性質について明確な結論が出ていない。精子頭部の空胞は、ミトコンドリア膜電位の低下、クロマチン凝縮不全、ならびに異数性発生率の増加との関連を指摘する報告がされている⁴⁾。MSOMEの基準で分類した精子をアレイCGHで検査し、コピー数多変(CNV)によって評価した研究では、深さがある空胞や、空胞が核または赤道部の位置に確認できた精子は、核損傷の疑いがあることが報告された⁵⁾。さらに、空胞がない精子(グレードI)は、小さい空胞または大きい空胞や異常な形態精子(グレードII~IV)と比較して、DNA断片化のレベルが有意に低下したことが示された⁶⁾。しかしながら、精子頭部の空胞の存在が、精子DNA断片化と関連がないとする報告もあり⁷⁾、論文間で相違がある。最近の研究では、精子頭部の空胞には、核を囲む層である核周囲膜

に由来する特定のタンパク質が含まれており、核由来でも先体由来でもないことを示唆し、異常ではなく核膜が内側にくぼんだ状態の陥入であると定義した⁸⁾。しかしながら、正確な機能は明らかにされていない。

精子頭部には大小さまざまな空胞が認められるが、必ずしも異常とみなされるわけではない。精子の質に与える影響は、空胞の大きさや位置によって異なる可能性がある。精子頭部の空胞について、完全に理解するためにはさらなる研究が必要である。

IMSIの有用性

IMSIの最適な適応については依然として議論の余地がある。IMSIの有用性を正確に評価するために、適応ごとの効果、胚の異数性、および児への影響を調査した。

反復不成功例におけるIMSIの有用性:

Bartoovらは、反復不成功例におけるIMSIの有用性を初めて報告している。2回以上のICSI不成功例を対象にIMSIを実施した結果、受精率に差は認められないものの、形態良好胚の割合が上昇し、着床率がIMSIでは有意に向上したことが示唆された⁹⁾。また、3回以上のART不成功例及び男性不妊症を対象とした検討では、IMSIでは臨床妊娠率と着床率が有意に向上し、さらに流産率が有意に減少、出生率も上昇したことを報告している¹⁰⁾。

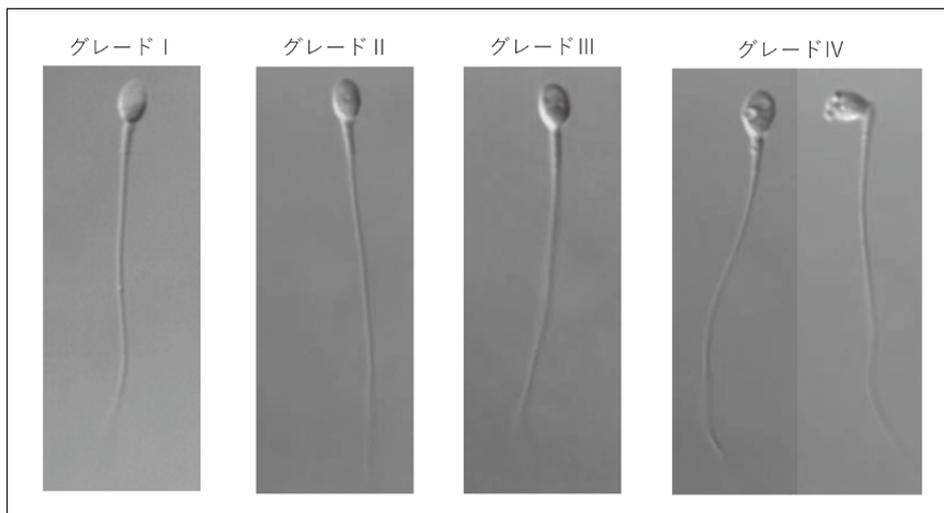


図1 MSOMEにおける精子頭部の空胞の評価

グレード I: 空胞のない形態学的に正常

グレード II: 最大2個の小さな空胞がある形態学的に正常

グレード III: 2個を超える小さな空胞または少なくとも1個の大きな空胞がある形態学的に正常

グレード IV: 大きな空胞または、その他の異常がある形態学的に異常

男性因子におけるIMSIの有用性:

乏精子症患者では、胚の動的解析においてs1, t4, s2, および t5 のタイミングが IMSI で有意に遅いものの、これは適切な分割が起こり、異常分割が起こらなかったことを示唆している。また、妊娠率と着床率が有意に向上した¹¹⁾。重度の乏精子症を対象としたランダム化比較試験では、IMSI の着床率は有意に向上した¹²⁾。奇形精子症を対象としたランダム化比較試験では、IMSI は胚盤胞発生率が向上し、胚発育停止の割合が減少、臨床妊娠率が有意に向上したことを報告している¹³⁾。

DNA 損傷におけるIMSIの有用性:

奇形精子症患者において、大きな空胞をもつ精子では、精子 DNA 断片化率が有意に上昇し、異数性や二倍体も増加することが確認されている¹⁴⁾。同一患者で異なるグレードの精子を使用した胚発育を検討し、グレード I (空胞なし) 及びグレード II (小さい空胞2個以下) の精子を選択することで、他のグレード (大きい空胞が1個以上又は他の異常を伴う大きい空胞) と比較し、3日目までの胚の質に有意な差は認められないものの、胚盤胞形成率が有意に向上したと報告している¹⁵⁾。この結果は、空胞がない、または少ない精子を使用することで、DNA 断片化のレベルが低く抑えられ、Late Paternal Effect の影響を回避できた要因の一つであると示唆された。

胚の異数性と児への影響:

IMSI は異数性の胚発生率の有意な減少を認め、周期キャンセルのリスクを抑える可能性が示唆された¹⁶⁾。また、正倍数性胚のみを分析した結果においては、IMSI において XX 胚の発生率で有意な上昇が示され、高倍率で選択された精子は、X 染色体を頻繁に保有しており、性別の転帰に影響を及ぼすことが示唆された¹⁷⁾。さらに、IMSI による、奇形率の増加は確認されず、先天的な異常や障害の発生率の低下が認められた¹⁸⁾。

IMSI に対する否定的評価

いくつかの研究では、IMSI における有用性が確認できなかったと示されており、原因不明の不妊症¹⁹⁾、男性不妊症を適応とした初回の顕微授精²⁰⁾ や、ICSI 反復不成功例のみの適応²¹⁾、さらに、男性因子と反復不成功を対象にした比較²²⁾ などにおいて有意な改善は見られなかったと報告されている。また、IMSI と ICSI を比較したメタアナリシスにおいて、ランダム化研究では結果に差は認められなかったが、観察研究では ICSI と比較して IMSI による出生率の上昇と流産率の減少が示された²³⁾。しかし、観察研究におけるバイアスの影響が大きい可能

性があるため慎重な解釈が求められる。この研究では、IMSI の特定の適応に対する有益性の明確な証拠がなければ、生殖補助医療において ICSI よりも IMSI を選択する明らかな利点はないと結論付けた。

このような現状もあり、コクランレビューでは IMSI が ICSI に対して妊娠率や生児出生率を一貫して改善するというエビデンスが不足していること、治療成績に一貫性がないことを理由に、IMSI は ICSI に代わる標準的な治療として推奨されていない²⁴⁾。

IMSI の課題

現在、IMSI の有用性にコンセンサスは得られておらず、いくつかの要因が挙げられる。

一つは、使用機器の機能的な差異であり、IMSI に使用される顕微鏡の標準化が不十分であることが示唆された。精子選択の質は、顕微鏡の倍率やデジタルズームだけでなく、使用する光学解像度 (0.5 μ m の光学分解能を推奨) が非常に重要である。そのため、適切に構築された IMSI のためのシステムが必要である。これらの技術を標準化することで、精子の質の評価において、より一貫した信頼性の高い結果が得られることが示された²⁵⁾。次に、技術的な側面として IMSI を行う際には ICSI に比べて手技にかかる時間が有意に長くなることが報告されている²⁶⁾。空胞のない精子を選択するために必要以上の時間がかかる一方で、IMSI の利点が得られなかった報告もあり²⁷⁾、実施者の技術が治療結果の再現性にも影響を与える可能性がある。また、IMSI の適応を特定することで、IMSI の効果がより明確になる可能性があるが、様々な報告があり適切な基準が確立されていないことも、議論が続いている一因である。今後、IMSI の有用性を高めるには、より質の高い大規模なプロスペクティブ・ランダム化研究が必要である。そのためには、IMSI に用いられる顕微鏡と技術の標準化、特定の適応に対する有用性の明確化、出生率や流産率などアウトカムの標準化が求められる。また、精子頭部の空胞発生機序の解明とともに精子選別のグレーディング方法を標準化することも重要である。

最後に

現在、IMSI をルーチンに使用することは推奨されていない。しかしながら、反復不成功例や男性不妊 (奇形精子症、乏精子症) に対しては、IMSI が妊娠率を向上させることが示唆された。精子頭部の空胞の起源や性質についてまだ明確な結論が出ていないが、空胞と男性

不妊症との関連を指摘する報告もある。空胞のない精子を得るのは困難であり、時間を要するだけでなく高度な熟練した技術を必要とするが、正常形態精子を使用することで Late Paternal Effect の影響を回避し、胚盤胞形成率が向上する可能性がある。質の高い精子を選ぶためには、個々の精子を詳細に評価することが重要である点において、IMSI は適格なツールであることは強調したい。今後、IMSI の技術と適応症の標準化、エビデンスの強化、および国際的に評価が進むことが望まれる。

参考文献

- 1) Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosowski A, Menezo Y, Barak Y: Real-time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl*, 23: 1-8, 2002.
- 2) Tesarik J, Greco E, Mendoza C: Late, but not early, paternal effect on human embryo development is related to sperm DNA fragmentation. *Hum Reprod*, 19: 611-615, 2004.
- 3) De Vos A, Van De Velde H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, Van Steirteghem A: Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*, 79 (1): 42-8, 2003.
- 4) Garolla A, Fortini D, Menegazzo M, De Toni L, Nicoletti V, Moretti A, Selice R, Engl B, Foresta C: High-power microscopy for selecting spermatozoa for ICSI by physiological status. *Reprod Biomed Online*, 17 (5): 610-6, 2008.
- 5) Arie Berkovitz, Yaron Dekel, Revital Goldstein, Shhadeh Bsoul, Yossy Machluf, Dani Bercovich: The significance of human spermatozoa vacuoles can be elucidated by a novel procedure of array comparative genomic hybridization. *Hum Reprod*, 33 (4): 563-571, 2018.
- 6) Pastuszek E, Kiewisz J, Skowronska P, Liss J, Lukaszuk M, Bruszczyńska A, Jakiel G, Lukaszuk K: An investigation of the potential effect of sperm nuclear vacuoles in human spermatozoa on DNA fragmentation using a neutral and alkaline Comet assay. *Andrology*, 5 (2): 392-398, 2017.
- 7) Fortunato A, Boni R, Leo R, Nacchia G, Liguori F, Casale S, Bonassisa P, Tosti E: Vacuoles in sperm head are not associated with head morphology, DNA damage and reproductive success. *Reprod Biomed Online*, 32 (2): 154-61, 2016.
- 8) Gómez-Torres MJ, Luna-Romero J, Fernández-Colom PJ, Aizpurua J, Avilés M, Romero A: Human Sperm Head Vacuoles Are Related to Nuclear-Envelope Invaginations. *Int J Mol Sci*, 24 (12): 10027, 2023.
- 9) Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosovsky A, Yagoda A, Lederman H, Artzi S, Gross M, Barak Y: Pregnancy rates are higher with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection than with conventional intracytoplasmic injection. *Fertil Steril*, 80(6): 1413-9, 2003.
- 10) Shalom-Paz E, Anabusi S, Michaeli M, Karchovsky-Shoshan E, Rothfarb N, Shavit T, Ellenbogen A: Can intra cytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI) technique improve outcome in patients with repeated IVF-ICSI failure? a comparative study. *Gynecol Endocrinol*, 31 (3): 247-51, 2015.
- 11) Mangoli E, Khalili MA, Talebi AR, Agha-Rahimi A, Soleimani M, Faramarzi A, Pouretezari M: IMSI procedure improves clinical outcomes and embryo morphokinetics in patients with different aetiologies of male infertility. *Andrologia*, 51 (8): e13340, 2019.
- 12) Balaban B, Yakın K, Alatas C, Oktem O, Isiklar A, Urman B: Clinical outcome of intracytoplasmic injection of spermatozoa morphologically selected under high magnification: a prospective randomized study. *Reprod Biomed Online*, 22 (5): 472-6, 2011.
- 13) Knez K, Tomazevic T, Zorn B, Vrtacnik-Bokal E, Virant-Klun I: Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection improves development and quality of preimplantation embryos in teratozoospermia patients. *Reprod Biomed Online*, 25 (2): 168-79, 2012.
- 14) de Almeida Ferreira Braga DP, Setti AS, Figueira RC, Nichi M, Martinhago CD, Iaconelli A Jr, Borges E Jr: Sperm organelle morphologic abnormalities: contributing factors and effects on intracytoplasmic sperm injection cycles outcomes. *Urology*, 78 (4): 786-91, 2011.
- 15) Vanderzwalmen P, Hiemer A, Rubner P, Bach M, Neyer A, Stecher A, Uher P, Zintz M, Lejeune B, Vanderzwalmen S, Cassuto G, Zech NH: Blastocyst development after sperm selection at high magnification is associated with size and number of nuclear vacuoles. *Reprod Biomed Online*, 17 (5): 617-27, 2008.
- 16) Figueira Rde C, Braga DP, Setti AS, Iaconelli A Jr, Borges E Jr: Morphological nuclear integrity of sperm cells is associated with preimplantation genetic aneuploidy screening cycle outcomes. *Fertil Steril*, 95 (3): 990-3, 2011.
- 17) Setti AS, Figueira RC, Braga DP, Iaconelli A Jr, Borges E Jr: Gender incidence of intracytoplasmic morphologically selected sperm injection-derived embryos: a prospective randomized study. *Reprod Biomed Online*, 24 (4): 420-3, 2012.
- 18) Hershko-Klement A, Sukenik-Halevy R, Biron Shental T, Miller N, Berkovitz A: Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection and congenital birth defects: a retrospective cohort study. *Andrology*, 4 (5): 887-93, 2016.
- 19) Marci R, Murisier F, Lo Monte G, Soave I, Chanson A, Urner F, Germond M: Clinical outcome after IMSI procedure in an unselected infertile population: a pilot study. *Reprod Health*, 10: 16, 2013.
- 20) Leandri RD, Gachet A, Pfeffer J, Celebi C, Rives N, Carre-Pigeon F, Kulski O, Mitchell V, Parinaud J: Is intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI) beneficial in the first ART cycle? a multicentric randomized controlled trial. *Andrology*, 1 (5): 692-7, 2013.
- 21) El Khattabi L, Dupont C, Sermondade N, Hugues JN, Poncelet C, Porcher R, Cedrin-Durnerin I, Lévy R, Sifer C: Is intracytoplasmic morphologically selected sperm injection effective in patients with infertility related to

- teratozoospermia or repeated implantation failure? *Fertil Steril*, 100 (1) : 62-8, 2013.
- 22) Orief Y, Elabd M, Said T, Ahmed N: Comparative study between intracytoplasmic morphologically selected sperm injection versus intracytoplasmic sperm injection in patients with severe male factor infertility and repeated intra cytoplasmic sperm injection failure. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol*, 5 (4) : 1102-1107, 2016.
 - 23) Duran-Retamal M, Morris G, Achilli C, Gaunt M, Theodorou E, Saab W, Serhal P, Seshadri S: Live birth and miscarriage rate following intracytoplasmic morphologically selected sperm injection vs intracytoplasmic sperm injection: An updated systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 99 (1): 24-33, 2020.
 - 24) Teixeira DM, Hadyme Miyague A, Barbosa MA, Navarro PA, Raine-Fenning N, Nastri CO, Martins WP: Regular (ICSI) versus ultra-high magnification (IMSI) sperm selection for assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev*, 2 (2) : CD010167, 2020.
 - 25) Lukaszuk K, Jakiel G, Wocławek Potocka I, Kiewisz J, Olszewska J, Sieg W, Podolak A, Pastuszek E, Wdowiak A: IMSI-Guidelines for Sperm Quality Assessment. *Diagnostics (Basel)*, 12 (1): 192, 2022.
 - 26) Balaban B, Yakin K, Alatas C, Oktem O, Isiklar A, Urman B: Clinical outcome of intracytoplasmic injection of spermatozoa morphologically selected under high magnification: a prospective randomized study. *Reprod Biomed Online*, 22 (5) : 472-6, 2011.
 - 27) Gianpiero D, Palermo, JCY, Hu, Laura, Rienzi, Roberta, Maggiulli, Takumi T, Atsumi Y, Atsushi T, Hiroshi K, Seiji W, Queenie V, Neri Zev, Rosenwaks: Thoughts on IMSI. 277-289, doi: 10.1007/978-1-4419-8456-2_20. 2011.

知っておくべき生殖補助医療前後の生殖器マイクロバイーム ～周産期領域の観点から～

Reproductive microbiome before and after assisted reproductive technology:
from a perinatal perspective

漆山 大知¹, 鍋田 基生², 宮本 新吾³, 四元 房典¹

Daichi Urushiyama¹, Nabeta Motowo², Shingo Miyamoto³, Fusanori Yotsumoto¹

¹福岡大学医学部産科婦人科学講座 〒814-0180 福岡県福岡市城南区七隈7-45-1

²つばきウイメンズクリニック 〒791-1104 愛媛県松山市北土居5-11-7

³札幌孝仁会記念病院 〒063-0052 北海道札幌市西区宮の沢2条1-16-1

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Fukuoka University

²Tsubaki Women's Clinic

³Sapporo Kojinkai Memorial Hospital

要旨: マイクロバイームとは、一定の区域に存在する微生物（細菌・ファージ・ウイルスなど）の群集全体を指す用語である。近年、次世代シーケンシング技術を用いたマイクロバイーム研究が盛んとなり、不妊生殖領域周産期領域でも、様々なことが明らかとなってきた。

中でも、腔内細菌叢は、盛んに研究が行われているヒト組織の一つであり、多種多様な細菌が宿主と共生関係にあり、環境や宿主の特性によって強く影響を受けると同時に、宿主の特性や疾患にも影響している。また、不妊治療や妊娠を経てその細菌叢の特徴は変化し、様々な周産期合併症との関連が報告されており、その一部は児にも受け継がれていく。

生殖補助医療の観点から見て、腔内細菌叢が生殖能力に重要な役割を果たしていることは疑う余地がなく、生殖補助医療が悪影響を与えている可能性についても指摘されるようになった昨今、生殖補助医療に関わるものは腔内細菌叢に関してある程度の知見をもっていなければならないだろう。

今回、周産期医療の観点から生殖補助医療(ART) 前後の生殖器マイクロバイームについて、最新の知見を含めてまとめた。

キーワード: マイクロバイーム, 細菌叢, 生殖補助医療, 早産, 子宮内感染/炎症

英文要旨: Microbiome refers to the entire community of microorganisms (bacteria, phages, and viruses) that exist in a certain area. Recently, microbiome research using next-generation sequencing technology has attracted attention, and various factors have become clear in the fields of infertility, reproduction, and perinatal care.

Vaginal flora is a human tissue that has been actively studied, and various bacteria live in a symbiotic relationship with the host. It is strongly influenced by the environment and characteristics of the host and affects the characteristics and diseases of the host. Additionally, the characteristics of floral changes after infertility treatment and pregnancy have been reported to be associated with various perinatal complications, some of which are transmitted to the child.

In assisted reproductive technology (ART), vaginal flora plays an important role in fertility. Recently, it has been highlighted that ART may have a negative effect; therefore, those involved in ART should have some knowledge on vaginal flora.

Here, we summarize the latest findings on the reproductive microbiome before and after ART in perinatal medicine.

キーワード: microbiome, bacterial flora, assisted reproductive technology, preterm birth, intrauterine infection or inflammation

生殖器マイクロバイームとは

女性生殖器は、一般に腔・子宮・卵管・卵巣を指すが、解剖学的に腔・子宮・卵管はいずれも管腔構造であり、腹腔内まで外界と交通している（図1）。これは女性生殖器が排卵・受精・妊娠・出産を司る臓器である点で合目的構造と言える。

腔内の常在菌は、1892年 Doderlein によって記述され、初めは Doderlein's bacillus と名付けられたが、後に自身により *Lactobacillus* に改名された¹⁾。その後、腔内から検出された様々な細菌が報告され、1980年頃より“常在細菌叢”として注目されるようになり、その多様性・不均衡と健康・疾患の関連が研究されるようになった。近年、次世代シーケンサーの登場により、培養せずにサンプル中の微生物由来核酸を網羅的に解析できるようになり、2007年から始動した Human Microbiome Project により標準情報や実験・解析法が整備された²⁾。中でも女性生殖器は、胎児への影響という特殊な状況下において、研究リソースが積極的に投資され、様々な腔マイクロバイーム研究結果が報告された。現在では対象が広がり、従来無菌的と考えられていた胎盤や羊水なども対象となっている。

ヒトの腔組織には明らかに常在細菌叢が存在している。腔組織は重層扁平上皮で構成されており、表面は腔や頸管からの分泌物で覆われている³⁾。腔粘膜は粘膜下から酸

素や栄養を獲得する必要があるため、常在細菌にとっては嫌氣的な生息地とあると言える⁴⁾。生殖年齢における腔内常在細菌叢では、通常、 10^{10} – 10^{11} 個の細菌が宿主と共生関係にあり、正常な腔内細菌叢を形成している⁵⁾。この腔内細菌叢は、人種・民族などの遺伝的背景、年齢・月経などの生理状態、様々な疾患といった内的要因と、喫煙・性生活などの生活習慣、発酵食品などに代表される食習慣、他部位の細菌叢（特に腸内細菌叢）、生活環境、処置や投薬などの医療行為といった外的要因によって強く影響を受ける⁶⁾（図1）。

特に、*Lactobacillus* 属はほとんどの女性の腔内細菌叢に存在しており、一般的に、*Lactobacillus* 属は健康なヒトの腔内で優勢な常在細菌と認知されている。実際に、250種を超える細菌種が特定されているが、特に *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri* の4種がそれらの中で優勢を占めている⁷⁾。これらの乳酸菌は、有機酸、過酸化水素、バクテリオシン、抗菌化合物を生成し、腔上皮表面に大きなバイオフィームを形成することで泌尿生殖器病原体の侵入と定着を阻止し、病原体に対する第一次防御機構を恒常的に形成していると考えられている⁸⁾。

個々の種に関する報告も多数あるが、D-乳酸を産生してより強固なバイオフィームを生成する *L. crispatus*⁹⁾ が優勢であると早産や細菌性陰症、クラミジア・HIV・淋菌などの性感染症の有病率が有意に低いことが報告されてお

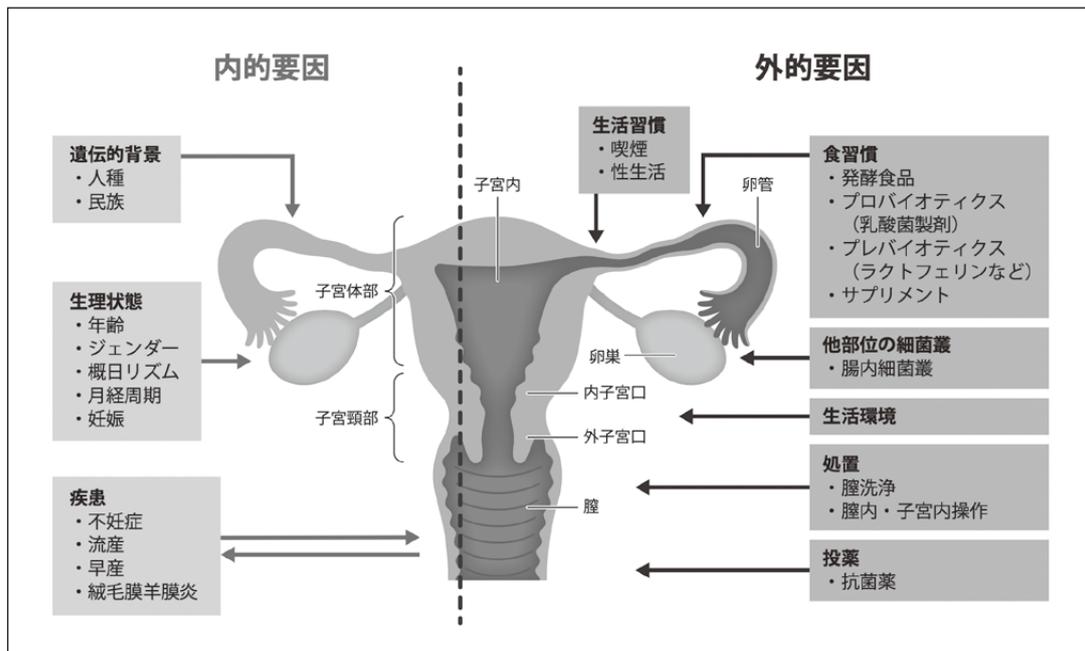


図1 女性生殖器の解剖と腔内細菌叢に影響を及ぼす様々な要因

女性生殖器である腔・子宮・卵管・卵巣のうち、腔・子宮・卵管はいずれも管腔構造であり、腹腔内まで外界と交通しており、特に腔内には明確に細菌叢が存在している。この腔内細菌叢は、様々な内的要因と外的要因によって強く影響を受ける。

り¹⁰⁻¹⁴⁾。他方、D-乳酸を産生できない*L. iners*¹⁵⁾は腔内細菌叢の異常例の腔内で最も多く存在することの多い種の1つであり、腔内の変化に対する抵抗性が強く、病原性細菌によって容易に排除されにくく、環境が乱れた後に定着しやすい種である可能性が示唆されている¹⁶⁾。

また、近年は乳酸菌飲料やヨーグルト・発酵食品などに多量の乳酸菌やその代謝産物が含まれており、前者はプロバイオティクスとして、後者もプレバイオティクスとして注目されているのだが、すでに市場にありふれている。特に乳酸菌は、病原細菌によって形成されたバイオフィルムを除去し、細菌の毒性を阻害し、腔内の感染を抑制する働きがあるプロバイオティクスと考えられている¹⁷⁾。実験では、*L. crispatus*と*L. gasseri*によって、病原菌である*Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus mulieris*, *Candida albicans*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*などが腔細胞への一次接着を有意に阻害されたという報告がある¹⁸⁾。また、腔内に留まるプロバイオティクスとして有名な*L. rhamnosus*や*L. reuteri*に関するエビデンスも数多く存在するが¹⁹⁻²³⁾、個々の疾患を抑制する効果についてはまだ不明な点が多く、今後の更なる研究報告が期待される。

生殖能力と生殖器マイクロバイオーーム

泌尿生殖器はヒトの細菌叢全体の最大9%を占めており、生殖器細菌叢が生殖能力に重要な役割を果たしていることは疑う余地がない^{2, 24)}。また、不妊女性の生殖器細菌叢は無視できない役割を果たしており、さらに腔内細菌叢の乱れや乳酸菌の不足、細菌性膣症の存在は生殖補助医療(ART)を阻害し、着床不全例(特に反復性着床不全)の一因を担っていると考えられている²⁵⁻²⁷⁾。ART治療中に使用される抗菌薬やホルモン剤でも、*Lactobacillus*属が減少するなど、腔内細菌叢を変化させる可能性が報告されている²⁸⁻³⁰⁾。

*Lactobacillus*属の種に関する報告を見ると、*L. crispatus*は必ずしも良い働きをしている訳ではなく、ARTの不良なアウトカムと相関したとの報告もある^{26, 31)}。他の種についても様々な報告があるものの、報告間のばらつきが大きく一定の見解は得られていない²⁵⁾。

また、腔内と連続する管腔臓器である子宮内にも常在細菌叢は存在すると考えられており^{32, 33)}、子宮内細菌叢において*Lactobacillus*属が90%以上の組成比を占める場合は妊娠率や生児獲得率が有意に高かったことが報告されている²⁷⁾。しかし、その後はエビデンスレベルの高い報告はなく、子宮内細菌叢の存在そのものに疑問を呈する報告もあり³⁴⁾、そもそも正常な子宮内細菌叢の状態に関

する研究が不十分だとされている³⁵⁾。したがって、子宮内細菌叢と生殖能力についてはまだ不明な点が多く、Moreroらの報告についても現段階では明確なコンセンサスが得られたとまでは言い難く、今後更なる研究報告が期待される。

このように生殖補助医療自体やARTにおける腔内・子宮内マイクロバイオーームの変化が周産期アウトカムにどのように影響しているのかについては不明な点が多く、今後の研究報告が期待される。

妊娠中の生殖器マイクロバイオーーム

妊娠中は、母体が胎児に適応するために、さまざまな生理学的変化が起こる。免疫寛容、行動変化、生殖粘膜の物理化学的変化、ホルモン変化などがあるが、これらによって妊婦のマイクロバイオーームの構造と機能が変化すると考えられている³⁶⁾。特に、胎盤によって生成されるエストロゲンと腔上皮に沈着するグリコーゲンが特徴的であり³⁷⁾、これらは*Lactobacillus*属の増殖に有利に働いており、妊娠中腔内細菌叢における α 多様性の減少に寄与しているものと考えられている³⁸⁾。

一般的に、妊娠期間中、健康な妊娠をしている女性の腔内細菌叢では、個々の細菌群集の多様性(α 多様性)が減少するが、被験者間の細菌多様性(β 多様性)は増加することが知られており³⁹⁾、詳細は後述するが、そのタイプの違い(β 多様性の増加)は不良な周産期アウトカムとの関連が複数報告されている。

妊娠中は、非妊娠時と同様に*Lactobacillus*属が最も優勢だが、クロストリジウム属やバクテロイデス属などの分類群も高頻度に存在することが特徴的である³⁹⁾。また、D-乳酸を産生することで強固なバイオフィルムを生成する*L. crispatus*が多い人種では、D-乳酸を産生できない*L. iners*が多い人種よりも周産期アウトカムが良い傾向にあるのだが、妊娠中は*L. iners*が優勢のタイプが増えることが知られている³⁹⁾。これによって、妊娠中は病原細菌の侵入を許容してしまいやすくなり、 β 多様性が増加する一因となっている可能性も指摘されている。

一般に、感染がない場合には妊娠中の腔内細菌叢は安定している³⁹⁾。しかし、*Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*などの好気性菌、*Atopobium vaginae*, *Clostridiales* BVAB 1-3, *Dialister microaerophilus*, *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Peptoniphilus timonensis*, *Ureaplasma*属などの嫌気性菌が腔内細菌叢で著しく増殖すること、それに伴うウイルス感染などが不良な周産期アウトカムのマーカーとして報告されており⁴⁰⁻⁴⁴⁾、

さらにこれらの感染症が、流産⁴⁵⁾、死産⁴⁶⁾、早産⁴⁷⁾、絨毛膜羊膜炎^{43, 44)}、子宮頸腔癌⁴⁸⁾などの母体疾患、および乳児疾患⁴⁹⁾のリスク要因となっていると報告されている。

一方、細菌性陰症は感染症ではなく正常腔内細菌叢の不均衡と言える。乳酸桿菌の減少と*Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, *Bacteroides*を含む嫌気性菌の増加がみられ、腔分泌物をグラム染色し、顕顕下でそれらの菌数をカウントしてスコアリングするNugent Score (7以上が陽性)が診断に有用とされている⁵⁰⁾。わが国全体の罹患率の年次推移は明らかでないが、妊娠可能年齢女性の約30%が細菌性陰症と報告されており、妊娠中はビタミンDの摂取不足、過剰な腔洗浄、複数のパートナー、若年妊娠、喫煙、慢性的なストレスなどが危険因子として報告されている^{51, 52)}。非妊時は性感染症や骨盤内感染症⁵³⁾、妊娠時は流産・低出生体重児・新生児合併症のリスクが増加し⁵⁴⁾、特に早産のリスクは約8倍に上昇する⁵⁵⁾。詳細は後述するが、妊婦の細菌性陰症のスクリーニングはガイドラインでも推奨されるようになり、早産や絨毛膜羊膜炎の予防にも寄与することが期待されている。

早産と生殖補助医療

日本の早産(妊娠22週以降37週未満の分娩)率は約5.5-5.8%であり⁵⁶⁾、世界的に見ても低い水準にある⁵⁷⁾。世界的には、年間約1340万人の早産児が出生しており⁵⁷⁾、早産が5歳未満の主な死因となっており、年間約90万人が早産に関連して亡くなっていると報告されている⁵⁸⁾。

早産は、様々な原因の結果起こる多因子疾患であるが、中でも、子宮内感染/炎症は最も主要な原因である⁵⁹⁻⁶⁴⁾。早産児の40%以上は子宮内感染/炎症を伴う妊婦から出生すると見積もられており、その頻度は妊娠週数が早いほど増加する^{54, 65-68)}。

子宮内感染/炎症は胎児に炎症を引き起こし、特に中枢神経系や肺および心臓に有害な障害を来たしうることが報告されている⁶⁹⁻⁸³⁾。最近では、子宮内感染などの母体感染症が、子どもの自閉症スペクトラム障害に関連したとの報告もある^{84, 85)}。

高齢妊娠は早産のリスク因子の一つだが、不妊治療が早産のリスクとまでは言い切れない。日本では、全国エコチル調査(全国規模の後ろ向きコホート研究 Japan Environment and Children's Study [JECS])の結果で、前置胎盤、癒着胎盤、帝王切開、輸血、ICU管理、早産のリスクが高まったと報告された¹⁵⁾。しかし、30歳以上の約36万人の妊婦を対象とした、周産期データベースを利用した横断研究では、不妊治療後の妊娠は早産や重症妊娠高血圧腎症のリスクは逆に低かったことが報告さ

れている⁸⁶⁾。これは、不妊治療を行う妊婦の方が栄養管理などを含めた生活習慣を見直す機会が多いことなどが影響しているのかもしれない。

娩出後の胎盤の組織学的診断である絨毛膜羊膜炎は、子宮内感染の診断法のゴールドスタンダードである。その頻度は、前期破水または早産例で40-70%、正常産で1-13%程度であり、*Ureaplasma*・*Mycoplasma*や嫌気性菌(*Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Sneathia*, *Bacteroides*, *Prevotella*など)が多く検出され、当然、早産や新生児予後との関連も多数報告されている⁸⁷⁾。また、そもそも正常な子宮内・羊水は無菌なのかという問いに対しては、2023年にNatureで胎盤に細菌叢は存在しないと考えて問題ないと報告されている⁸⁸⁾。しかし、正常の定義が曖昧であり、コンセンサスが得られたとまでは言い難い。

元来、早産例の羊水中からは属レベルで40種類を超える多種多様な細菌が検出され、在胎週数が早いほど高頻度で検出された⁸⁹⁻⁹²⁾。しかしこれまでの研究手法はクローニングバイアスやコンタミネーションの評価が困難であり、マイクロバイーム研究手法の活用が求められていた。そこで我々は、羊水試料でメタ16S解析を行い、羊水中細菌と絨毛膜羊膜炎の関連を報告した⁹³⁾。重度の絨毛膜羊膜炎例(Blanc分類Stage III)であれば高頻度で多量の細菌が羊水中に存在すること、一方、炎症性細胞の浸潤がほばない場合の羊水中にはほば無菌状態であることが分かった。また、11菌種(*Ureaplasma parvum*, *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus anginosus*, *Sneathia sanguinegens*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella bivia*, *Lactobacillus jensenii*, *Bacteroides fragilis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Mycoplasma hominis*)が羊水中でも最も高い組成比で検出される状態を「miCAM (microbiomic chorioamnionitis)」と定義したところ、miCAMは高い精度で重度の絨毛膜羊膜炎例(Stage III)を診断できる可能性を示すことができた(感度94%、特異度79%)。その後Jungらは、羊水中で検出される細菌と羊膜内炎症の関係を報告し、*Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Sneathia spp.*, *Candida albicans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Staphylococcus aureus*, *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilis influenzae*, *Streptococcus agalactiae*が病原菌と示唆されることを報告した⁹⁴⁾。

早産予防とマイクロバイーム

早産予防を目的とした介入研究には、抗菌薬投与やサプリメント投与、ホルモン療法(主にプロゲステロン)、子宮頸管ペッサリー、子宮頸管縫縮術、様々なスクリーニン

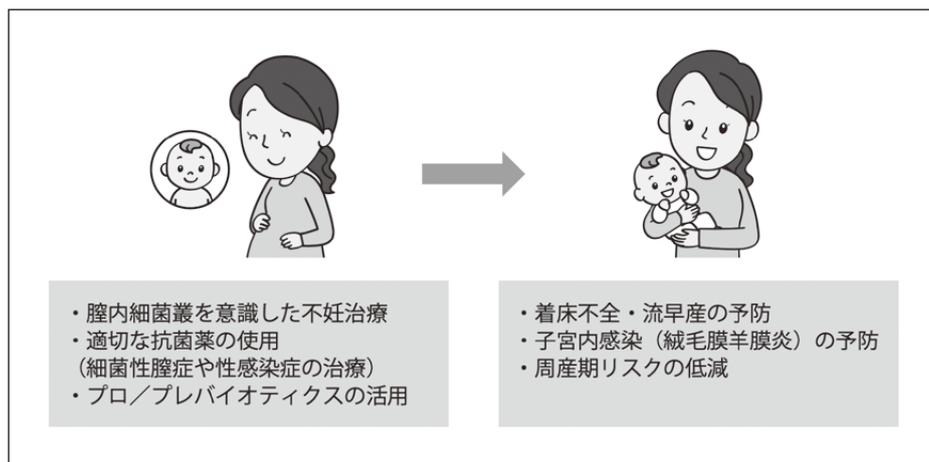


図2 概念図

不妊治療を行う医療者は、様々なマイクロバイームに関するエビデンスや検査結果を俯瞰的に捉えて、抗菌薬投与やプロ/プレバイオティクスの投与等を行うことが重要と考えられた。それは、着床不全や流産、子宮内感染（絨毛膜羊膜炎）の一部を予防し、周産期や新生児のリスクを下げることに繋がるかもしれない。

グ法や指導など、多岐に渡って様々なものがある。前述のごとく、早産は様々な交絡因子が存在する多因子疾患であるため、その効果は曖昧なものが多い。2018年のコクランレビューでこれまでの介入研究研究が評価されており、下部生殖器感染症のスクリーニングが「明らかに有益と考えられた」と報告された⁹⁵⁾。

これまで、抗菌薬投与による早産予防効果を検証する目的で複数の大規模二重盲検試験が行われた。早産を予防できる可能性があるとしたメタアナライシスもあったが⁹⁶⁾、多くの試験で早産の予防効果が示されなかった⁹⁷⁻⁹⁹⁾。しかし最近になって、対象を子宮内感染/炎症に限ると、妊娠期間の延長や短期新生児予後の改善を示唆するケースシリーズ研究も複数報告されており⁶⁸⁾、今後の更なる研究報告が期待される。

また、母乳中に多く含まれるラクトフェリンを妊娠前に投与し、細菌性膣症を改善させ、早産予防に繋がる可能性も示唆されている^{100, 101)}。また最近、腔内細菌叢自体を移植することによって細菌性膣症を治療して早産予防に繋げようとする研究結果も報告されている¹⁰²⁾。今後は、妊娠前の母体のマイクロバイームの異常を生活習慣の改善やプロ/プレバイオテクス投与などによって改善し、早産等の周産期の異常を予防しようという取り組みは盛んになるだろう。

実は、マイクロバイーム研究のような膨大な情報量を有する研究の解析には人工知能（特に機械学習）との相性が良いことが推測されていた。我々は、後方視的研究であるが腔内細菌叢解析と絨毛膜羊膜炎の関連について、Random forestという機械学習を用いることで腔内細菌叢から絨毛膜羊膜炎の発症を予測できる可能性について報

告し、その後別グループが前向き研究によって同様の研究報告を行なった^{43, 44)}。また腔マイクロバイームの組成は早産の予後指標となり、子宮収縮抑制治療のモニタリングツールとして機能する可能性があるとの報告もある¹⁰³⁾。

結 論

腔内細菌叢は生殖能力に重要な役割を果たしており、その変化や生殖補助医療自体が悪影響を与えている可能性が多数報告されている。しかし、不妊治療を経て妊娠した妊婦のアウトカムが悪いとも言い切れず、不妊治療中に改善された生活習慣や感染症などは良い影響を与えているかもしれない。不妊治療を行う医療者は、これらの状況を俯瞰的に捉えて、抗菌薬投与やプロ/プレバイオティクスの投与等を行うことが重要と考えられた（図2）。

参 考 文 献

- 1) Martin DH: The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease. *Am J Med Sci*, 343 (1) : 2-9, 2012.
- 2) Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI: The human microbiome project. *Nature*, 449 (7164) : 804-10, 2007.
- 3) Pekmezovic M, Mogavero S, Naglik JR, Hube B: Host-Pathogen Interactions during Female Genital Tract Infections. *Trends Microbiol*, 27 (12) : 982-96, 2019.
- 4) Linhares IM, Summers PR, Larsen B, Giraldo PC, Witkin SS: Contemporary perspectives on vaginal pH and lactobacilli. *Am J Obstet Gynecol*, 204 (2) : 120. e1-5, 2011.

- 5) Nakama C, Thompson B, Szybala C, McBeth A, Dobner P, Zwickey H: The Continuum of Microbial Ecosystems along the Female Reproductive Tract: Implications for Health and Fertility. *Pathogens*, 11 (11) : 1244, 2022.
- 6) Lehtoranta L, Ala-Jaakkola R, Laitila A, Maukonen J: Healthy Vaginal Microbiota and Influence of Probiotics Across the Female Life Span. *Front Microbiol*, 13: 819958, 2022.
- 7) Alonzo Martínez MC, Cazorla E, Cánovas E, Martínez-Blanch JF, Chenoll E, Climent E, Navarro-López V: Study of the Vaginal Microbiota in Healthy Women of Reproductive Age. *Microorganisms*, 9 (5) : 1069, 2021.
- 8) Petrova MI, Lievens E, Malik S, Imholz N, Lebeer S: *Lactobacillus* species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. *Front Physiol*, 6: 81, 2015.
- 9) van der Veer C, Hertzberger RY, Bruisten SM, Tytgat HLP, Swanenburg J, de Kat Angelino-Bart A: Comparative genomics of human *Lactobacillus crispatus* isolates reveals genes for glycosylation and glycogen degradation: implications for in vivo dominance of the vaginal microbiota. *Microbiome*, 7 (1) : 49, 2019.
- 10) Bayigga L, Kateete DP, Anderson DJ, Sekikubo M, Nakanjako D: Diversity of vaginal microbiota in sub-Saharan Africa and its effects on HIV transmission and prevention. *Am J Obstet Gynecol*. 220 (2) : 155-66, 2019.
- 11) Redelinghuys MJ, Geldenhuys J, Jung H, Kock MM: Bacterial Vaginosis: Current Diagnostic Avenues and Future Opportunities. *Front Cell Infect Microbiol*, 10: 354, 2020.
- 12) Chen H, Min S, Wang L, Zhao L, Luo F, Lei W, Wen Y, Luo L, Zhou Q, Peng L, Li Z: *Lactobacillus* Modulates Chlamydia Infectivity and Genital Tract Pathology in vitro and in vivo. *Front Microbiol*, 13: 877223, 2022.
- 13) Foschi C, Salvo M, Cevenini R, Parolin C, Vitali B, Marangoni A: Vaginal *Lactobacilli* Reduce *Neisseria gonorrhoeae* Viability through Multiple Strategies: An in Vitro Study. *Front Cell Infect Microbiol*, 7: 502, 2017.
- 14) Mousavi E, Makvandi M, Teimoori A, Ataei A, Ghafari S, Samarbaf-Zadeh A: Antiviral effects of *Lactobacillus crispatus* against HSV-2 in mammalian cell lines. *J Chin Med Assoc*, 81 (3) : 262-7, 2018.
- 15) Edwards VL, Smith SB, McComb EJ, Tamarelle J, Ma B, Humphrys MS, Gajer P, Gwilliam K, Schaefer AM, Lai SK, Terplan M, Mark KS, Brotman RM, Forney LJ, Bavoil PM, Ravel J: The Cervicovaginal Microbiota-Host Interaction Modulates Chlamydia trachomatis Infection. *mBio*, 10(4), 2019.
- 16) Han Y, Liu Z, Chen T: Role of Vaginal Microbiota Dysbiosis in Gynecological Diseases and the Potential Interventions. *Front Microbiol*, 12: 643422, 2021.
- 17) Chee WJY, Chew SY, Than LTL: Vaginal microbiota and the potential of *Lactobacillus* derivatives in maintaining vaginal health. *Microb Cell Fact*, 19 (1) : 203, 2020.
- 18) He Y, Niu X, Wang B, Na R, Xiao B, Yang H: Evaluation of the Inhibitory Effects of *Lactobacillus gasseri* and *Lactobacillus crispatus* on the Adhesion of Seven Common Lower Genital Tract Infection-Causing Pathogens to Vaginal Epithelial Cells. *Front Med*, 7: 284, 2020.
- 19) Gardiner GE, Heinemann C, Bruce AW, Beuerman D, Reid G: Persistence of *Lactobacillus fermentum* RC-14 and *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 but not *L. rhamnosus* GG in the human vagina as demonstrated by randomly amplified polymorphic DNA. *Clin Diagn Lab Immunol*, 9(1): 92-6, 2002.
- 20) Ho M, Chang YY, Chang WC, Lin HC, Wang MH, Lin WC, Chiu TH: Oral *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 to reduce Group B *Streptococcus* colonization in pregnant women: A randomized controlled trial. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 55 (4) : 515-8, 2016.
- 21) Anukam K, Osazuwa E, Ahonkhai I, Ngwu M, Osemene G, Bruce AW: Augmentation of antimicrobial metronidazole therapy of bacterial vaginosis with oral probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Microbes Infect*, 8 (6) : 1450-4, 2006.
- 22) Petricevic L, Unger FM, Viernstein H, Kiss H: Randomized, double-blind, placebo-controlled study of oral lactobacilli to improve the vaginal flora of postmenopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 141 (1) : 54-7, 2008.
- 23) Vujic G, Jajac Knez A, Despot Stefanovic V, Kuzmic Vrbancic V: Efficacy of orally applied probiotic capsules for bacterial vaginosis and other vaginal infections: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 168 (1) : 75-9, 2013.
- 24) Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium: The Integrative Human Microbiome Project. *Nature*, 569 (7758) : 641-8, 2019.
- 25) Vitale SG, Ferrari F, Ciebiera M, Zgliczyńska M, Rapisarda AMC, Vecchio GM, Pino A, Angelico G, Knafel A, Riemma G, Franciscis PD, Cianci S: The Role of Genital Tract Microbiome in Fertility: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*, 23 (1) : 180, 2013.
- 26) Koedooder R, Singer M, Schoenmakers S, Savelkoul PHM, Morré SA, de Jonge JD, Poort L, Cuypers W, Beckers NGM, Broekmans FJM, Cohlen BJ, den Hartog JE, Fleischer K, Lambalk CB, Smeenk JMJS, Budding AE, Laven JSE: The vaginal microbiome as a predictor for outcome of in vitro fertilization with or without intracytoplasmic sperm injection: a prospective study. *Hum Reprod*, 34 (6) : 1042-54, 2019.
- 27) Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martínez-Blanch JF, Jiménez-Almazán J: Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol*, 215(6): 684-703, 2016.
- 28) van den Tweel MM, van den Munckhof EHA, van der Zanden M, Molijn A, van Lith JMM, Boers KE: The Vaginal Microbiome Changes During Various Fertility Treatments. *Reprod Sci*, 31 (6) : 1593-600, 2024.
- 29) Hyman RW, Herndon CN, Jiang H, Palm C, Fukushima M, Bernstein D, Vo KC, Zelenko Z, Davis RW, Giudice LC: The dynamics of the vaginal microbiome during infertility

- therapy with in vitro fertilization-embryo transfer. *J Assist Reprod Genet*, 29 (2) : 105-15, 2012.
- 30) Carosso A, Revelli A, Gennarelli G, Canosa S, Cosma S, Borella F, Tancredi A, Pascheri C, Boatti L, Zanotto E, Sidoti F, Bottino P, Costa C, Cavallo R, Benedetto C: Controlled ovarian stimulation and progesterone supplementation affect vaginal and endometrial microbiota in IVF cycles: a pilot study. *J Assist Reprod Genet*, 37 (9) : 2315-26, 2020.
 - 31) Campisciano G, Florian F, D'Eustacchio A, Stanković D, Ricci G, De Seta F, Comar M: Subclinical alteration of the cervical-vaginal microbiome in women with idiopathic infertility. *J Cell Physiol*, 232 (7) : 1681-8, 2017.
 - 32) Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schütte UM, Zhong X, Koenig SS, Fu L, Ma ZS, Zhou X, Abdo Z, Forney LJ, Ravel J: Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Sci Transl Med*, 4 (132) : 132ra52, 2012.
 - 33) Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, Li F, Yu X, Feng Q, Wang Z, Xie H, Chen X, Zeng C, Wen B, Zeng L, Du H, Tang H, Xu C, Xia Y, Xia H, Yang H, Wang J, Wang J, Madsen L, Brix S, Kristiansen, Xu X, Li J, Wu R, Jia H: The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun*, 8 (1) : 875, 2017.
 - 34) Molina NM, Sola-Leyva A, Haahr T, Aghajanova L, Laudanski P, Castilla JA, Altmäe S: Analysing endometrial microbiome: methodological considerations and recommendations for good practice. *Hum Reprod*, 36 (4) : 859-79, 2021.
 - 35) Ravel J, Moreno I, Simón C: Bacterial vaginosis and its association with infertility, endometritis, and pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol*, 224 (3) : 251-7, 2021.
 - 36) Gupta P, Singh MP, Goyal K: Diversity of Vaginal Microbiome in Pregnancy: Deciphering the Obscurity. *Front Public Health*, 8:326, 2020.
 - 37) Amabebe E, Anumba DOC: The Vaginal Microenvironment: The Physiologic Role of Lactobacilli. *Front Med*, 5: 181, 2018.
 - 38) González-Sánchez A, Reyes-Lagos JJ, Peña-Castillo MA, Nirmalkar K, García-Mena J, Pacheco-López G: Vaginal Microbiota Is Stable and Mainly Dominated by Lactobacillus at Third Trimester of Pregnancy and Active Childbirth: A Longitudinal Study of Ten Mexican Women. *Curr Microbiol*, 79 (8) : 230, 2022.
 - 39) Giannella L, Grelloni C, Quintili D, Fiorelli A, Montironi R, Alia S, Delli Carpini G, Di Giuseppe J, Vignini A, Ciavattini A: Microbiome Changes in Pregnancy Disorders. *Antioxidants*, 12 (2) : 463, 2023.
 - 40) Nguyen ATC, Le Nguyen NT, Hoang TTA, Nguyen TT, Tran TTQ, Tran DNT, Nguyen ATK, Tran LM, Nguyen DHC, Le TM, Ho BD, Röpö T, Köljalg S, Štšepetova J, Le AV, Salumets A, Mändar R: Aerobic vaginitis in the third trimester and its impact on pregnancy outcomes. *BMC Pregnancy Childbirth*, 22 (1) : 432, 2022.
 - 41) Ma X, Wu M, Wang C, Li H, Fan A, Wang Y, Han C, Xue F: The pathogenesis of prevalent aerobic bacteria in aerobic vaginitis and adverse pregnancy outcomes: a narrative review. *Reprod Health*, 19 (1) : 21, 2022.
 - 42) Price JT, Vwalika B, Hobbs M, Nelson JAE, Stringer EM, Zou F, Rittenhouse KJ, Azcarate-Peril A, Kasaro MP, Stringer JSA: Highly diverse anaerobe-predominant vaginal microbiota among HIV-infected pregnant women in Zambia. *PLoS One*, 14 (10) : e0223128, 2019.
 - 43) Urushiyama D, Ohnishi E, Suda W, Kurakazu M, Kiyoshima C, Hirakawa T, Miyata K, Yotsumoto F, Nabeshima K, Setoue T, Nagamitsu S, Hattori H, Hata K, Miyamoto S: Vaginal microbiome as a tool for prediction of chorioamnionitis in preterm labor: a pilot study. *Sci Rep*, 11 (1) : 18971, 2021.
 - 44) Guo X, Hong X, Qian H, Qiao D, Wang B, Yu H: Relationship between vaginal microbiota and chorioamnionitis: A prospective cohort study. *Microb Pathog*, 186: 106458, 2024.
 - 45) Shahid M, Quinlivan JA, Peek M, Castaño-Rodríguez N, Mendz GL: Is there an association between the vaginal microbiome and first trimester miscarriage? A prospective observational study. *J Obstet Gynaecol Res*, 48 (1) : 119-28, 2022.
 - 46) Holliday M, Uddipto K, Castillo G, Vera LE, Quinlivan JA, Mendz GL: Insights into the Genital Microbiota of Women Who Experienced Fetal Death in Utero. *Microorganisms*, 11 (8) : 1877, 2023.
 - 47) Sun S, Serrano MG, Fettweis JM, Basta P, Rosen E, Ludwig K, Sorgen AA, Blakley IC, Wu MC, Dole N, Thorp JM, Siega-Riz AM, Buck GA, Fodor AA, Engel SM: Race, the Vaginal Microbiome, and Spontaneous Preterm Birth. *mSystems*, 7 (3) : e0001722, 2022.
 - 48) Łaniewski P, Ilhan ZE, Herbst-Kralovetz MM: The microbiome and gynaecological cancer development, prevention and therapy. *Nat Rev Urol*, 17 (4) : 232-50, 2020.
 - 49) Dos Anjos Borges LG, Pastuszek J, Heimann Y, Dawczynski K, Schleußner E, Pieper DH, Zöllkau J: Vaginal and neonatal microbiota in pregnant women with preterm premature rupture of membranes and consecutive early onset neonatal sepsis. *BMC Med*, 21 (1) : 92, 2023.
 - 50) Nugent RPR, Krohn MA, Hillier SL: Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol*, 29 (2) : 297-301, 1991.
 - 51) Hensel KJ, Randis TM, Gelber SE, Ratner AJ: Pregnancy-specific association of vitamin D deficiency and bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol*, 204 (1) : 41. e1-e9, 2011.
 - 52) Desseauve D, Chantrel J, Fruchart A, Khoshnood B, Brabant G, Ancel PY, Subtil D: Prevalence and risk factors of bacterial vaginosis during the first trimester of pregnancy in a large French population-based study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 163 (1) : 30-4, 2012.
 - 53) Sharma H, Tal R, Clark NA, Segars JH: Microbiota and pelvic inflammatory disease. *Semin Reprod Med*, 32 (1) : 043-9, 2014.
 - 54) Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R: Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*, 371

- (9606) : 75-84, 2008.
- 55) Klein LL, Gibbs RS: Use of microbial cultures and antibiotics in the prevention of infection-associated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*, 190 (6) : 1493-502, 2004.
 - 56) Shimano S, Yamada T, Cho K, Sengoku K, Mariya T, Saito T: Changes in preterm and extremely preterm birth rates in Japan after the introduction of obstetrical practice guidelines in 2008. *J Obstet Gynaecol Res*, 49 (9): 2283-94, 2023.
 - 57) Ohuma EO, Moller AB, Bradley E, Chakwera S, Hussain-Alkhateeb L, Lewin A, Okwaraji YB, Mahanani WR, Johansson EW, Lavin T, Fernandez DE, Domínguez GG , Costa A, Cresswell JA, Krasevec J, Lawn J, Blencowe H, Requejo J, Moran AC: National, regional, and global estimates of preterm birth in 2020, with trends from 2010: a systematic analysis. *Lancet*, 402 (10409) : 1261-71, 2023.
 - 58) Perin J, Mulick A, Yeung D, Villavicencio F, Lopez G, Strong KL, Prieto-Merino D, Cousens S, Black RE, Liu L: Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-19: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet Child Adolesc Health*, 6 (2) : 106-15, 2022.
 - 59) Romero R, Dey SK, Fisher SJ: Preterm labor: one syndrome, many causes. *Science*, 345 (6198) : 760-5, 2014.
 - 60) Romero R, Espinoza J, Kusanovic JP, Gotsch F, Hassan S, Erez O, Chaiworapongsa T, Mazor M: The preterm parturition syndrome. *BJOG*, 113 Suppl 3: 17-42, 2006.
 - 61) Peng C-C, Chang J-H, Lin H-Y, Cheng P-J, Su B-H: Intrauterine inflammation, infection, or both (Triple I) : A new concept for chorioamnionitis. *Pediatr Neonatol*, 59 (3) : 231-7, 2018.
 - 62) Dombroski RA, Woodard DS, Harper MJ, Gibbs RS: A rabbit model for bacteria-induced preterm pregnancy loss. *Am J Obstet Gynecol*, 163 (6) : 1938-43, 1990.
 - 63) Gravett MG, Witkin SS, Haluska GJ, Edwards JL, Cook MJ, Novy MJ: An experimental model for intraamniotic infection and preterm labor in rhesus monkeys. *American journal of obstetrics and gynecology*, 171 (6) : 1660-7, 1994.
 - 64) Gomez-Lopez N, Romero R, Arenas-Hernandez M, Panaïtescu B, Garcia-Flores V, Mial TN, Sahi A, Hassan SS: Intra-amniotic administration of lipopolysaccharide induces spontaneous preterm labor and birth in the absence of a body temperature change. *The journal of maternal-fetal, 31 (4) : 439-46, 2018.*
 - 65) Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW: Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med*, 342 (20) : 1500-7, 2000.
 - 66) Lee Y, Kim HJ, Choi SJ, Oh SY, Kim JS, Roh CR, Kim JH: Is there a stepwise increase in neonatal morbidities according to histological stage (or grade) of acute chorioamnionitis and funisitis?: effect of gestational age at delivery. *J Perinat Med*, 43 (2) : 259-67, 2015.
 - 67) Watts DH, Krohn MA, Hillier SL, Eschenbach DA: The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and neonatal outcome among women in preterm labor. *Obstet Gynecol*, 79 (3) : 351-7, 1992.
 - 68) Gravett MG: Successful treatment of intraamniotic infection/inflammation: a paradigm shift. *American journal of obstetrics and gynecology*, 221 (2) : 83-5, 2019.
 - 69) Perlman MJ, Risser R, Broyles RS: Bilateral cystic periventricular leukomalacia in the premature infant: associated risk factors. *Pediatrics*, 97 (6) : 822-7, 1996.
 - 70) Oka AA, Belliveau MJ, Rosenberg PA, Volpe JJ: Vulnerability of oligodendroglia to glutamate: pharmacology, mechanisms, and prevention. *J Neurosci*, 13 (4) : 1441-53, 1993.
 - 71) Yoon BHB, Kim CJ, Romero R, Jun JK, Park KH, Choi ST, Chi JG: Experimentally induced intrauterine infection causes fetal brain white matter lesions in rabbits. *Am J Obstet Gynecol*, 177 (4) : 797-802, 1997.
 - 72) Alexander MJ, Gilstrap LC, Cox SM, McIntire DM, Leveno KJ: Clinical chorioamnionitis and the prognosis for very low birth weight infants. *Obstet Gynecol*, 91 (5) : 725-9, 1998.
 - 73) Kannan SS, Dai H, Navath RS, Balakrishnan B, Jyoti A, Janisse J, Romero R, Kannan RM: Dendrimer-based postnatal therapy for neuroinflammation and cerebral palsy in a rabbit model. *Sci Transl Med*, 4 (130) : 130ra46, 2012.
 - 74) Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM: The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*, 179 (1) : 194-202, 1998.
 - 75) Su B-H: Histological chorioamnionitis and neonatal outcome in preterm infants. *Pediatr Neonatol*, 55 (2) : 154-5, 2014.
 - 76) Galinsky R, Polglase GR, Hooper SB, Black MJ, Moss TJM: The consequences of chorioamnionitis: preterm birth and effects on development. *J Pregnancy*, 2013: 1-11, 2013.
 - 77) Bastek JA, Weber AL, McShea MA, Ryan ME, Elovitz MA: Prenatal inflammation is associated with adverse neonatal outcomes. *Am J Obstet Gynecol*, 210 (5) : 450. e1-e10, 2014.
 - 78) Relman DA, Loutit JS, Schmidt TM, Falkow S, Tompkins LS: The agent of bacillary angiomatosis. An approach to the identification of uncultured pathogens. *N Engl J Med*, 323 (23) : 1573-80, 1990.
 - 79) Schmidt AF, Kannan PS, Chougnet CA, Danzer SC, Miller LA, Jobe AH, Kallapur SG: Intra-amniotic LPS causes acute neuroinflammation in preterm rhesus macaques. *J Neuroinflammation*, 13 (1) : 238, 2016.
 - 80) Elovitz MA, Brown AG, Breen K, Anton L, Maubert M, Burd I: Intrauterine inflammation, insufficient to induce parturition, still evokes fetal and neonatal brain injury. *Int J Dev Neurosci*, 29 (6) : 663-71, 2011.
 - 81) Adams Waldorf KM: Choriodecidual group B streptococcal inoculation induces fetal lung injury without intra-amniotic infection and preterm labor in *Macaca nemestrina*. *PLoS one*, 6 (12) : e28972, 2011.
 - 82) McAdams RM: Choriodecidual infection downregulates angiogenesis and morphogenesis pathways in fetal lungs from *Macaca nemestrina*. *PLoS one*, 7 (10) : e46863, 2012.
 - 83) Mitchell T: Evidence of cardiac involvement in the fetal inflammatory response syndrome: disruption of gene networks programming cardiac development in nonhuman primates. *Am J Obstet Gynecol*, 218 (4) : 438. e1-e16, 2018.
 - 84) Lee BK: Maternal hospitalization with infection during

- pregnancy and risk of autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun*, 44: 100-5, 2015.
- 85) Al-Haddad BJS: Long-term Risk of Neuropsychiatric Disease After Exposure to Infection In Utero. *JAMA psychiatry*, 76 (6) : 594-602, 2019.
 - 86) Ogawa K, Urayama KY, Tanigaki S, Sago H, Sato S, Saito S: Association between very advanced maternal age and adverse pregnancy outcomes: a cross sectional Japanese study. *BMC Pregnancy Childbirth*, 17 (1) : 349, 2017.
 - 87) Tita AT, Andrews WW: Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol*, 37 (2) : 339-54, 2010.
 - 88) de Goffau MC, Lager S, Sovio U, Gaccioli F, Cook E, Peacock SJ: Human placenta has no microbiome but can contain potential pathogens. *Nature*, 572 (7769) : 329-34, 2019.
 - 89) DiGiulio DB: Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PloS one*, 3 (8) : e3056, 2008.
 - 90) DiGiulio DB: Prevalence and diversity of microbes in the amniotic fluid, the fetal inflammatory response, and pregnancy outcome in women with preterm pre-labor rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol*, 64 (1) : 38-57, 2010.
 - 91) Han YW: Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *J Clin Microbiol*, 47 (1) : 38-47, 2009.
 - 92) Combs CA: Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol*, 210 (2) : 125. e1-e15, 2014.
 - 93) Urushiyama D, Suda W, Ohnishi E, Araki R, Kiyoshima C, Kurakazu M, Sanui A, Yotsumoto F, Murata M, Nabeshima K, Yasunaga S, Saito S, Nomiya M, Hattori M, Miyamoto S, Hata K: Microbiome profile of the amniotic fluid as a predictive biomarker of perinatal outcome. *Sci Rep*, 7 (1) : 12171, 2017.
 - 94) Jung E, Romero R, Yoon BH, Theis KR, Gudicha DW, Tarca AL: Bacteria in the amniotic fluid without inflammation: early colonization vs. contamination. *J Perinat Med*, 49 (9) : 1103-21, 2021.
 - 95) Medley N: Interventions during pregnancy to prevent preterm birth: an overview of Cochrane systematic reviews. *Cochrane Database Syst Rev*, 11: CD012505, 2018.
 - 96) Andrews WW: Interconceptional antibiotics to prevent spontaneous preterm birth: a randomized clinical trial. *Am J Obstet Gynecol*, 194 (3) : 617-23, 2006.
 - 97) Goldenberg RL: The HPTN 024 Study: the efficacy of antibiotics to prevent chorioamnionitis and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*, 194 (3) : 650-61, 2006.
 - 98) Romero R: Antibiotic treatment of preterm labor with intact membranes: a multicenter, randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*, 169 (4) : 764-74, 1993.
 - 99) Kenyon SL: Broad-spectrum antibiotics for spontaneous preterm labour: the ORACLE II randomised trial. ORACLE Collaborative Group. *Lancet*, 357 (9261) : 989-94, 2001.
 - 100) Giunta GG: Influence of lactoferrin in preventing preterm delivery: a pilot study. *Mol Med Rep*, 5 (1) : 162-6, 2012.
 - 101) Otsuki K: Administration of oral and vaginal prebiotic lactoferrin for a woman with a refractory vaginitis recurring preterm delivery: appearance of lactobacillus in vaginal flora followed by term delivery. *J Obstet Gynaecol Res*, 40 (2) : 583-5, 2014.
 - 102) Lev-Sagie A: Vaginal microbiome transplantation in women with intractable bacterial vaginosis. *Nat Med*, 25 (10) : 1500-4, 2019.
 - 103) Sakabe Y, Nishizawa H, Kato A, Noda Y, Ohwaki A, Yoshizawa H: Longitudinal study of the vaginal microbiome in pregnancies involving preterm labor. *Fujita Med J*, 8 (3) : 96-101, 2022.

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

Experience with Liquid Nitrogen Tank Weight Monitor (Smart Mat[®])

永廣 メイ, 久野 貴司, 上田 綾香, 干場 友美子, 小野崎 美絵, 石川 慶子, 石川 元春

Nagahiro M, Kuno T, Ueda A, Hoshiba Y, Onozaki M, Ishikawa K, Ishikawa M

いしかわクリニック 〒590-0079 大阪府堺市堺区新町 5-10 5F
Ishikawa Clinic

要旨: 生殖補助医療における凍結保存管理に必要な不可欠な液体窒素(LN₂)の残量確認は必須業務である。しかし凍結保存管理に必要なLN₂は業務時間内だけでなくLN₂タンクの開閉が無い長期休暇中にも減少する。この度当院では、在庫重量を測定することで在庫管理と自動発注を可能とするIOT(Internet of Things, 物のインターネット)機器であるスマートマット[®]SM-W34(株式会社S-Mat(エスマット), 東京, 以下スマートマット)を導入し、タンク内のLN₂量の測定にかかる時間と従来のレベルラーによる測定時間を比較した。またタンクの開閉のない長期休暇中に、LN₂タンクの口径の違いによりLN₂の減少量に差がみられたかを調査した。調査の結果、スマートマットの使用によりLN₂量の測定時間は短縮された。また長期休暇中では口径の大きなLN₂タンクの方がLN₂の減少量が多いことが確認された。

キーワード: 液体窒素, 液体窒素タンク, スマートマット, 凍結保存, IOT
ランニングヘッド: スマートマットによるLN₂タンク重量計測の経験

英文要旨: It is essential to check the remaining amount of liquid nitrogen (LN₂), which is indispensable for cryopreservation management in ART. However, the LN₂ for cryopreservation management decreases not only during working hours but also during extended vacations when the LN₂ tank is not opened and closed. In this study, we introduced SmartMat[®]SM-W34 (Smart Shopping, Inc., Tokyo, Japan, hereinafter called "SmartMat"), an IOT (Internet of Things) device that enables inventory management and automatic ordering by measuring the inventory weight, to measure the amount of LN₂. The time required to measure the amount of LN₂ in a tank by the SmartMat was compared with the time required to measure the amount of LN₂ by a conventional leveler. In addition, differences in the amount of LN₂ reduction due to the diameter of the LN₂ tank were investigated during extended vacations when the LN₂ tank was not opened and closed. As a result of the investigation, the measurement time of the LN₂ was shortened by the SmartMat. Furthermore, it was found that the LN₂ decrease was larger in the LN₂ tank with a larger bore during extended vacations when the LN₂ tank is not opened and closed.

キーワード: Cryopreservation management, IOT, Liquid nitrogen, LN₂ tank, SmartMat

背景

日本産科婦人科学会の2021年の体外受精・胚移植の臨床実施成績から¹⁾, 新鮮胚移植と凍結融解胚移植の妊娠率は2002年には新鮮胚移植よりも凍結融解胚移植が上回り, 2021年の妊娠率では新鮮胚移植で21.2%, 凍結融解胚移植で36.9%となった(図1-1). 凍結融解胚移植の方が新鮮胚移植よりも妊娠率が高くなったことで, 2002年から凍結融解胚移植周期数は増加した。また治療周期数の割合も変化し, 2002年で

はIVF採卵周期数が41%, ICSI採卵周期数が41%, 凍結融解胚移植周期数が18%を占めたが, 2021年ではIVF採卵周期数が18%, ICSI採卵周期数が34%, 凍結融解胚移植周期数が48%を占めた。つまり2002年から2021年までの約20年間で凍結融解胚移植周期数は全体の治療周期数の約半分を占めるほどに増加した(図1-2)。また凍結融解胚移植の方が新鮮胚移植よりも妊娠率が高いことから, 複数個良好胚が凍結保存された場合, その周期で移植されなかった凍結胚は2人目や3人目を希望するまで液体窒素(LN₂)タンク内に

受付 2024年10月28日/受理 2024年11月5日

責任著者: 永廣 メイ, e-mail [nagahiro.mey.0516@gmail.com]

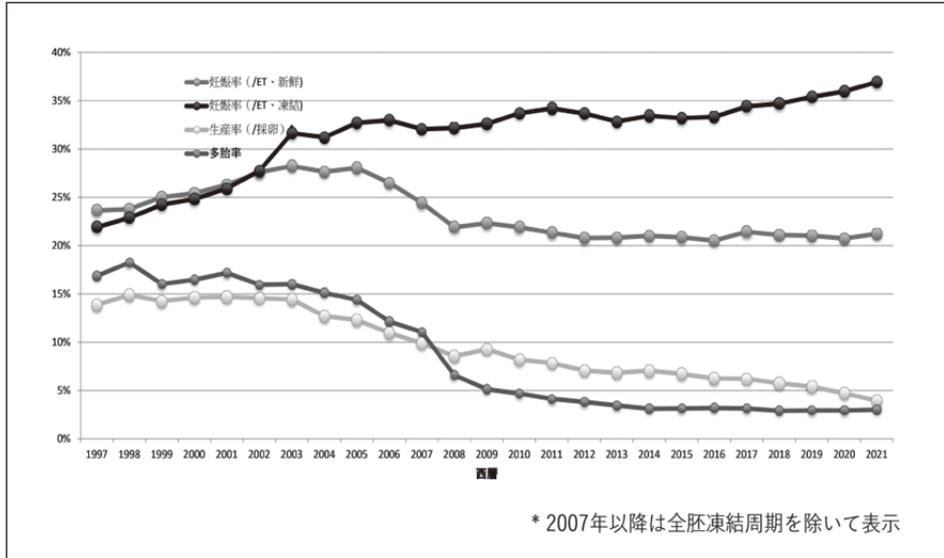


図 1-1 日本産婦人科学会 2021 年の体外受精・胚移植の臨床実施成績より、年別 妊娠率・生産率・多胎率
https://www.jsog.or.jp/activity/art/2021_JSOG-ART.pdf

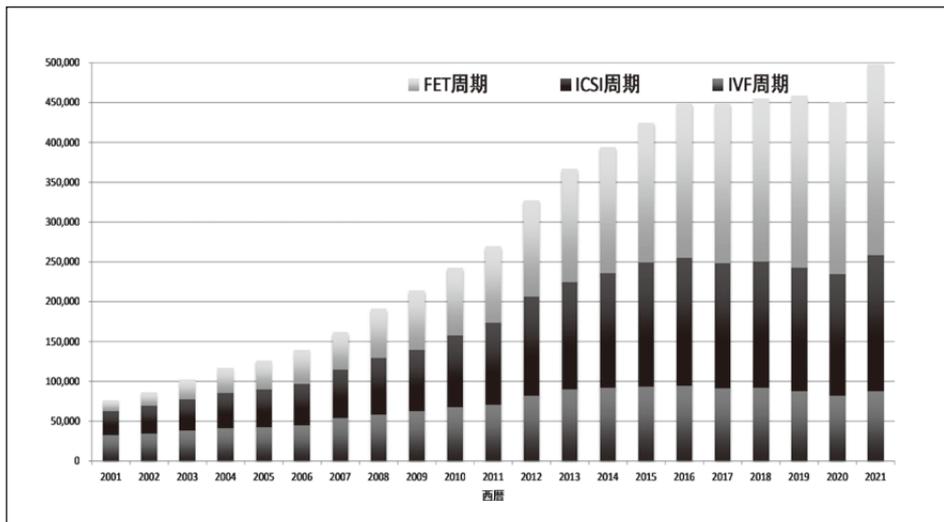


図 1-2 日本産婦人科学会 2021 年の体外受精・胚移植の臨床実施成績より、年別 治療周期数
https://www.jsog.or.jp/activity/art/2021_JSOG-ART.pdf

長期に保存される可能性がある。以上のことから、凍結融解胚移植が治療周期数全体の約半分を占めるほど増加し、凍結胚もより長期間保存される可能性が高くなったことから、凍結融解および保存に必須なLN₂の残量確認は重要な業務であると言える。

生殖補助医療における胚や精子の凍結保存管理には上記にも述べた通りLN₂を用いる。長期に凍結保存する胚の増加が予想される中、LN₂の残量確認は必須業務と

なる。この業務を怠ると、LN₂タンク内におけるLN₂の枯渇が生じLN₂タンク内の温度上昇により保存している精子や胚などに被害が及ぶ。アメリカのオハイオ州で起きたLN₂の枯渇による事故では、約4000個の卵子および受精卵が被害にあった²⁾。日本においてこのような大規模な被害は報告されていないが、LN₂タンクの数や大きさはその用途や保有する施設の規模によって異なるため、LN₂残量の確認方法はより簡便でかつ正確であることが

好ましいと言える。小橋らは、廃棄予定のLN₂タンクに直径2mmの穴をあけ外観およびLN₂タンク内の温度を掲示的に測定した³⁾。この中で、観察開始15分で外観に結露や霜が認められたと述べている。このことから業務時間中のLN₂タンク外部の損傷におけるLN₂の枯渇には、スタッフが外観の異常から異変に気付く可能性がある。これに対しスタッフのいない業務時間外やLN₂タンクの開閉が無い長期休暇中にLN₂が減少した場合、これまでの当院では次に出勤するまで確認することが困難であった。

目的

スマートマットは在庫重量を測定しクラウド上で在庫管理と自動発注を可能とするIOT (Internet of Things, 物のインターネット) 機器である。スマートマットは物流倉庫以外でも病院などに導入されている。注射器や包帯などの在庫重量を測定し、在庫が使用されることで重量の減少を感知する。これらをクラウド化し在庫管理を行う。さらに任意の重量以下になったとき、自動で発注のメールやFAXを送信させることも可能であり、業務の効率化に貢献している⁴⁾。

今回我々は液体であるLN₂をLN₂タンクに入った状態でスマートマットに重量測定させた。そしてスマートマットを用いた重量測定時間と、導入前のレベラーによるLN₂の残量測定にかかる時間の比較を行った。またLN₂タンク

の開閉が無い長期休暇中のLN₂減少量からLN₂タンクの口径の大きさの違いでLN₂の減少量がどの程度異なるのか調査した。

対象と方法

スマートマット導入前のLN₂の残量確認には、レベラーによる測定を最低週に1回以上行っていた。測定はレベラーをLN₂タンク内の中央に差し入れ3-5秒ほど静置した後取り出し、LN₂により冷えたレベラーの最上部分をLN₂タンク内のLN₂の液面であるとしてレベラーの数値を測定し記録した。レベラーによる測定にかかる時間はレベラーをLN₂タンク内に入れるところから開始し、測定値の記入が終わるまでの時間とした。

スマートマットのサイズは4種類あるが、当院はその最大シリーズであるSM-W34を導入した(図2, 表1)。サイズA3 (400mm×300mm)、厚さ30mmでLN₂タンク下に設置できる。本体には電源ボタンとランプがあり、それぞれがLN₂タンクの前面側に向くように設置した(図3)⁵⁾。計測は設定により最多で1日に288回(5分に1回)可能である。また最新測定時間とその重量、Wi-Fi接続の有無を知らせるメールと、測定結果が設定閾値を下回ったことを知らせるメールは1日1-24回で送信設定可能である。

25℃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LN₂タンクSR-36(図4-1)を2台とXC33/22(図4-2)を6台の計8台にスマー

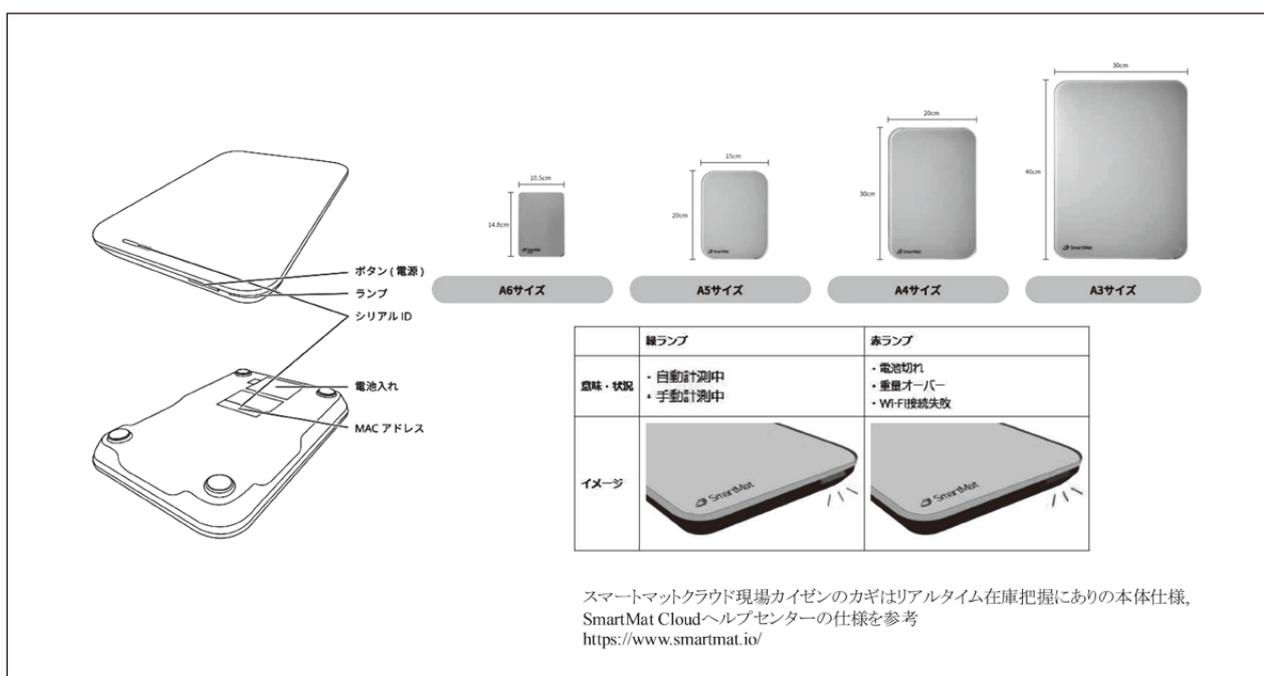


図2 スマートマットサイズと仕様紹介

表1 スマートマットのサイズと仕様紹介

項目	内容			
商品名	SM-W64 (A6サイズ)	SM-W54 (A5サイズ)	SM-W44 (A4サイズ)	SM-W34 (A3サイズ)
外形寸法	14.8 x 10.5 x 3.5 cm	20 x 15 x 3.2 cm	30 x 20 x 3 cm	40 x 30 x 3 cm
計測分解能	1 g単位	1 g単位	10 g単位	100 g単位
計測最大重量	2 kg	5 kg	30 kg	100 kg
計測最小重量	10 g	1 g	10 g	100 g
最大計測誤差	± [1 g+計測重量×0.15 %]	± [1 g+計測重量×0.15 %]	± [10 g+計測重量×0.5 %]	± [100 g+計測重量×1 %]
	1.015 g (10 g載せた時)、 100 g (1.15 kg)、 500 g (1.75 g)、 2 kg (4 kg)	1.15 g (100 g載せた時)、 1.75 g (500 g)、 4 g (2 kg)、 8.5 g (5 kg)	40 g (5 kg載せた時)、 60 g (10 kg)、 110 g (20 kg)、 160 g (30 kg)	0.3 kg (20 kg載せた時)、 0.5 kg (40 kg)、 0.7 kg (60 kg)、 1.1 kg (100 kg)
本体重量	約0.25 kg (本体のみ)	約0.7 kg (本体のみ)	約1.3 kg (本体のみ)	約2.4 kg (本体のみ)
通信方式	Wi-Fi 2.4 GHz			
電波強度	RSSI -80以上の環境で安定接続			
電源	単4乾電池4本。	単3乾電池4本、6 VのACアダプタ(別売)も可		
電池寿命	約3年間(1日1回計測時)	約5年間(1日1回計測)		
使用環境条件	※-15°C~35°C 30~85%RH			
保存環境条件	-20°C~60°C 10~95%RH			
防水性能	IPX3(鉛直±60°の噴霧水OK)			
利用可能国	日本(Japan)、 米国(US)、 欧州(EU)	日本(Japan)、米国(US)、欧州(EU)、 中国(China)、台湾(Taiwan)、韓国(Korea)、タイ(Thailand)、 シンガポール(Singapore)、ベトナム(Vietnam)、 マレーシア(Malaysia)、フィリピン(Philippine)		日本(Japan)、 米国(US)、 欧州(EU)
付属品	単3または4形乾電池(海外の場合は同封せず)、クイックスタート			

スマートマクラウド現場カイゼンのカギはリアルタイム在庫把握にあり、スマートマットの特徴より引用<https://www.smartmat.io/>



図3 スマートマット設置前(左)と設置後(右)

トマットを設置した^{6,7)}。スマートマットは1日4回(2・8・14・20時の6時間おき)にLN₂タンクおよびLN₂の重量を自動で測定する設定にした。測定値はクラウド上で確認することが可能である。さらに毎日16時と21時に最新の測定時間とその重量、Wi-Fi接続の有無を知らせるメールをスタッフに送信する設定にした。また残量通知条件として、SR-36には26kg(LN₂相当量として11kg)以下、XC33/22には25kg(LN₂相当量として

9.6kg)以下になると、重量測定後に減少通知アラームメールが送信されるように設定した。スマートマットの手動測定にかかる時間はすべてのスマートマットのボタンを連続して押すところから始め、手動測定後クラウド上ですべての測定値が確認可能となるまで(スマートマット前面の電源ボタンを押してからクラウドが確認可能なモニターの前に移動するまで)の時間とした。また任意による設定時間の自動測定ではスマートマットへ設定した時

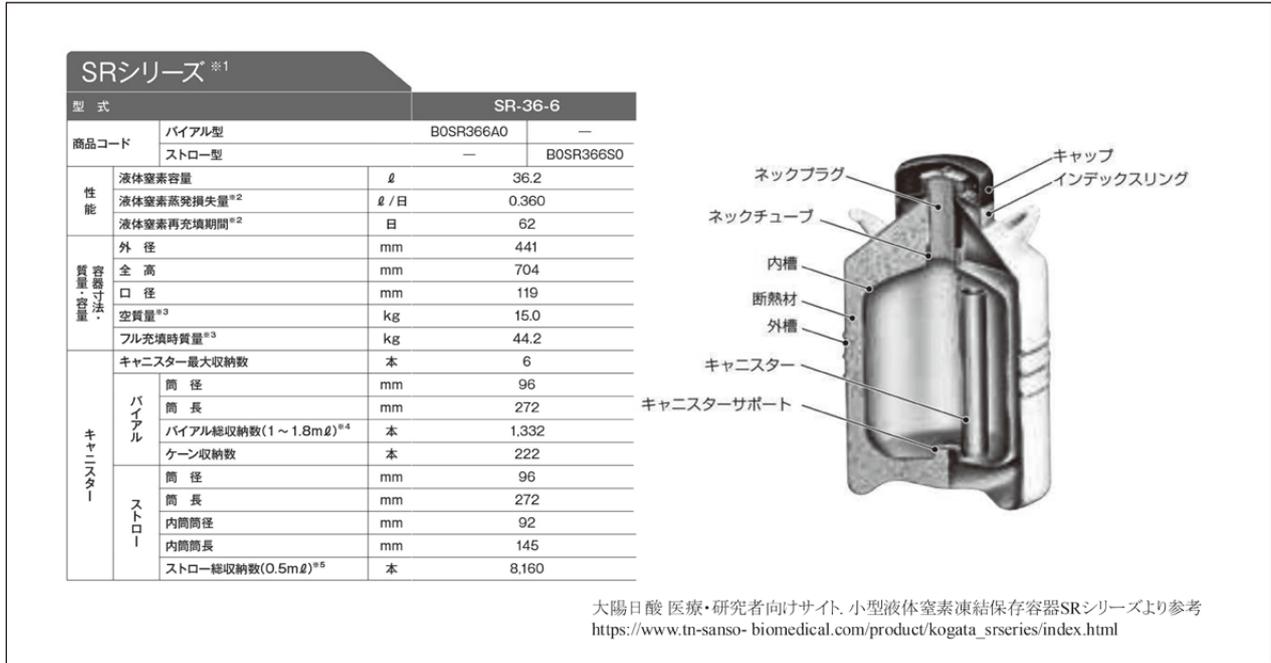


図 4-1 SR-36 の仕様紹介



図 4-2 XC33/22 の仕様紹介

間の前後15分の測定になる⁸⁾. 大量のスマートマットが同時刻に測定するとクラウドへの通信集中による通信の失敗が発生する可能性があるため測定時間に幅を持たせる仕様となっている. 当院では設定時間の3分前から測定が始まり、設定時間の4分後にすべての測定が終わるように設定されている.

結 果

レベラーによる測定とスマートマットによる手動測定の時間について比較すると、レベラーによる測定にはLN₂タンク1台につき約40秒かかったがスマートマットによる手動測定には約10秒かかった. またLN₂タンク8台すべてのレベラーでの測定には約5分かかったがスマートマットによる手動測定では約2分かかった. スマートマットの設

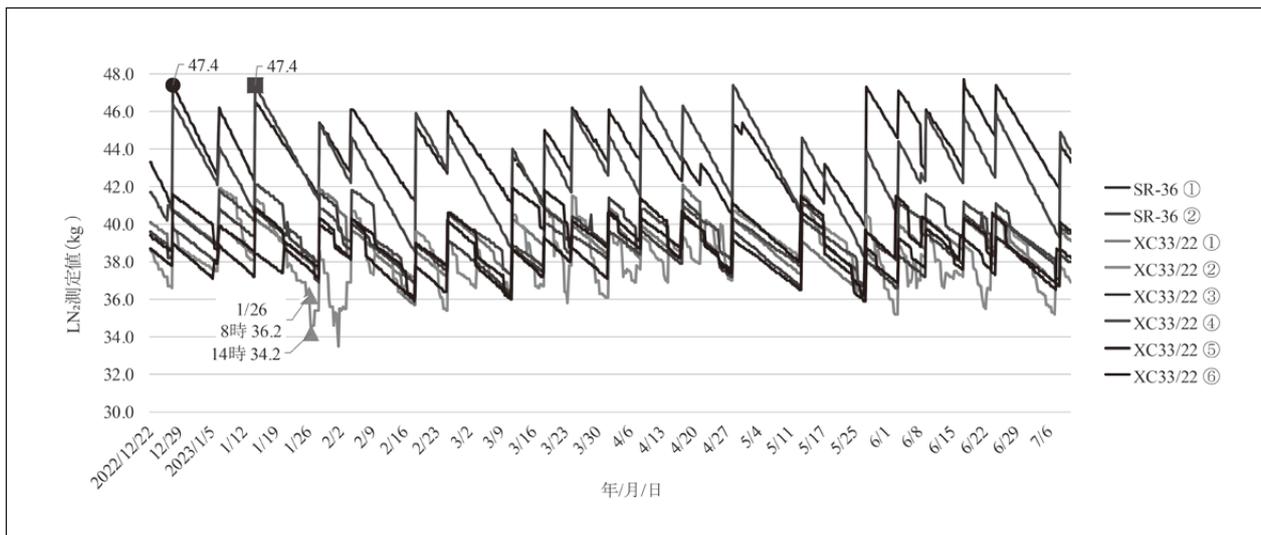


図5 2022年12月22日から2023年7月10日のLN₂計測値
 ▲ XC33/22 ②は業務中に凍結・融解用にLN₂を出し入れするタンクであり、LN₂の増減が最も激しかった。

定時間による自動測定では当院のスマートマットの場合は約1分ごとの測定となりおよそ8分かかった。

2022年12月22日から2023年7月10日のスマートマットによる測定結果から、業務時間中のLN₂減少量が最大となったのは凍結融解用にLN₂を取り出すXC33/22 ②であった。また業務時間中のLN₂減少量が最大となったのは2023年1月26日のXC33/22 ②で、8時から14時の6時間の間に2kg減少した(図5)。

LN₂タンクの開閉が無い2022年12月28日から2023年1月4日の7日間(図6-1)のスマートマットによる測定結果から、SR-36では平均して3.6kg、XC33/22では平均して1.6kgの減少(表2)が確認できた。またLN₂タンクの開閉が無い2023年4月29日から2023年5月5日の7日間(図6-2)のスマートマットによる測定結果から、SR-36では平均して2.4kg、XC33/22では平均して1.3kgの減少(表2)が確認できた。

考 察

測定時間についてはスマートマットのほうがレベラーよりも早く測定が終わることがわかった。またスマートマットでは任意の時間に自動で測定させることが可能であり、この設定の場合にはスタッフの人的コストを必要とせず測定が可能となる。さらに手動での測定ではボタンを押すだけで簡単である。より大規模な施設でLN₂タンクの数が多い場合、測定にかかる時間の短縮はさらに大きくなると考えられ、スマートマットの導入は業務の効率化に貢献すると考えられる。またレベラーによる測定で

は測定のたびにLN₂タンクを開閉することが必要である。よりLN₂の減少量を減らすにはLN₂タンクの開閉回数も減らすほうが好ましい。スマートマットでは測定にLN₂タンクを開ける必要がないため開閉回数も減少させることが可能となり、LN₂の減少する要因を減らすことに貢献したと言える。

図6-1および図6-2の結果からLN₂タンクの開閉操作がない7日間の長期休暇では1.2-3.8kg/weekの減少を間接的に確認できた。つまりLN₂タンクを開閉しない間にもLN₂は減少していると考えられる。さらに25℃に設定された室内でかつLN₂タンクの開閉操作がなくても、口径の違い(SR-36は口径119mm、XC33/22は口径70mm)によってLN₂の減少量に約2倍の差があることがわかった。またスマートマットの導入により、長期休暇においてもLN₂の異常な減少をメールにより確認が可能である。観察期間内には設定した減少通知アラームメールが送信されることはなかった。

問題点は2つあり、1つめはスマートマットが地震対策には非対応であることがあげられる。現状スマートマットは遠隔操作で手動計測させたり地震直後に自動で測定したりすることが出来ない。そのため地震直後のLN₂タンクの状態は出勤しなければ把握することができず、地震対策としては不十分である。2つめは約7か月間連続モニタリングを行っていたが、その間に5回Wi-Fiの接続切れが起こったことがあげられる。Wi-Fiの接続切れの原因はスマートマット導入時にメーカー担当者がWi-Fiルーターを床に設置し、推奨されていた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

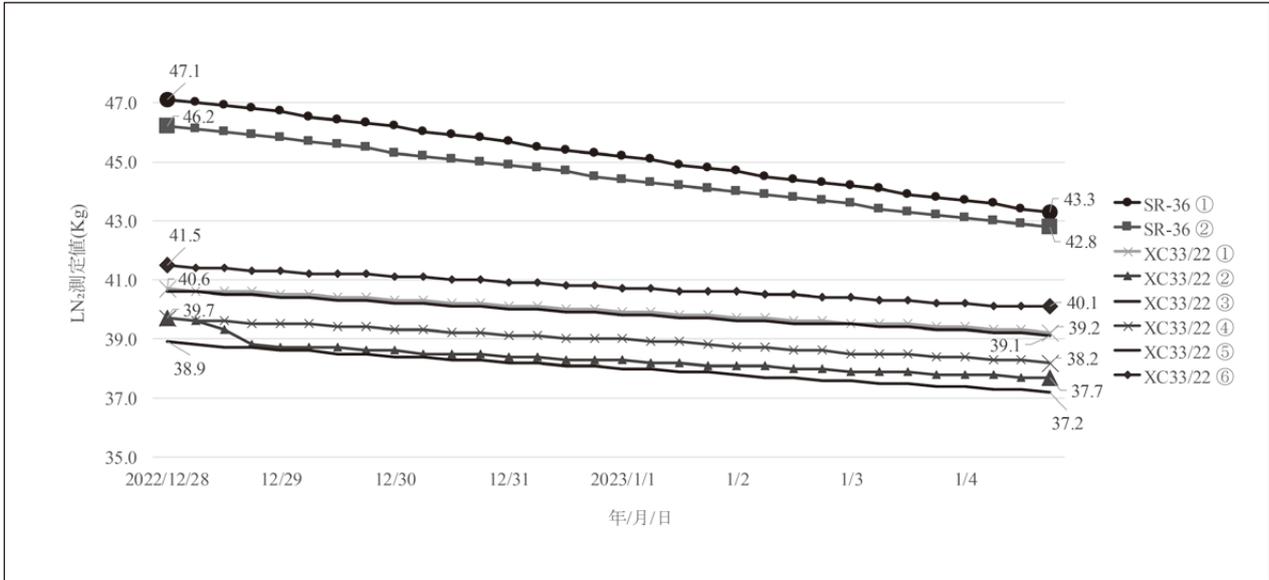


図6-1 2022年12月28日から2023年1月4日までのLN₂計測値

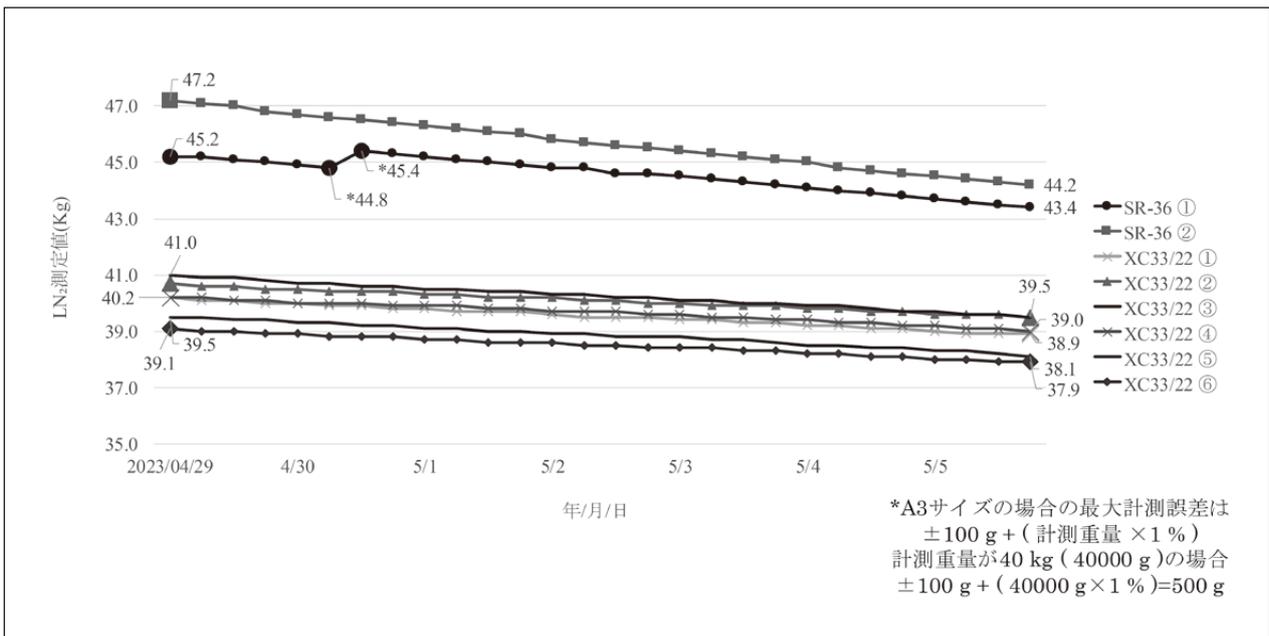


図6-2 2023年4月29日から2023年5月5日までのLN₂計測値

とが考えられる。Wi-Fi ルーターを机上に移動させるとWi-Fi 接続トラブルは改善された。また Wi-Fi ルーターの設置場所以外に Wi-Fi の接続切れの原因として、スマートマットの電源ボタンを7秒以上押したことが考えられる。スマートマットは前面にある電源ボタンを7秒以上押すとWi-Fi の接続が切られてしまう。スタッフがLN₂タンクに胚を移動させる際や、業者がLN₂を補充する際にLN₂タンク前面側に設置されたスマートマット

の電源ボタンが7秒以上押されたことでWi-Fi の接続が切れてしまったと考えられた。Wi-Fi に接続されていない場合、スマートマットが設定時間に測定を行っても測定結果をクラウド上から確認することができなくなる。そのため定期的なWi-Fi の接続確認が必要となる。Wi-Fi との接続は測定結果を確認するクラウド上から確認が可能である。また手動による測定の際のランプの色や点滅からも確認が可能であるが新たにエラーメールを

表2 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7日間のLN₂減少量

	2022/12/28測定結果(kg)	2023/1/4測定結果(kg)	7日間減少量(kg)	平均(kg)
SR-36 ①	47.1	43.3	3.8	3.6
SR-36 ②	46.2	42.8	3.4	
XC33/22 ①	40.7	39.2	1.5	1.6
XC33/22 ②	39.7	37.7	2	
XC33/22 ③	40.6	39.1	1.5	
XC33/22 ④	39.7	38.2	1.5	
XC33/22 ⑤	38.9	37.2	1.7	
XC33/22 ⑥	41.5	40.1	1.4	

	2023/4/29の測定結果(kg)	2023/5/5測定結果(kg)	7日間の減少量(kg)	平均(kg)
SR-36 ①	45.2	43.4	1.8	2.4
SR-36 ②	47.2	44.2	3.0	
XC33/22 ①	40.2	38.9	1.3	1.3
XC33/22 ②	40.7	39.5	1.2	
XC33/22 ③	39.5	38.1	1.4	
XC33/22 ④	40.2	39.0	1.2	
XC33/22 ⑤	41.0	39.5	1.5	
XC33/22 ⑥	39.1	37.9	1.2	

*SR-36は口径119 mm,
XC33/22は口径70 mm

LN₂タンクの蓋の開閉が無い状態では口径119mmのSR-36①②は、口径70mmのXC33/22①-⑥より早くLN₂が減少していた。

送信する機能が2023年11月にリリースされた。これによりWi-Fiに接続されていなかった場合には自動で接続されていない旨のメールが送信されるようになった。Wi-Fiに接続されていない場合スマートマットが設定時間に測定を行っても測定結果をクラウド上から確認することができなくなり、減少通知アラームメールも送信されなくなる。このため早期にWi-Fiの再接続が必要となる。この新機能によりWi-Fiの接続切れがより容易に確認できるようになったと言える。

上記でも述べたように当院にはLN₂タンクが合計8台ある。口径の大きさや使用頻度によりLN₂の減少量が異なるであろうことは予想出来ていたが、実際に測定結果を表やグラフ化することでより詳細に確認することができた。スマートマット導入前のレベラーによるLN₂の残量測定では、約5分間スタッフの人的コストが必要で、また測定の為にLN₂タンクの開閉が必要であった。スマートマットの導入後は手動による測定ではボタン1つで測定可能で測定時間の短縮が可能となった。また設定時間による測定では自動測定であるため、測定のためのスタッフの人的コストは削減された。手動と自動のどちらの測定方法であっても業務の効率化に貢献したと言える。またどちらの測定方法であっても測定のためのLN₂タンクの開閉操作は必要とならない。これはLN₂の減少量の削減に貢献しただけでなく、LN₂タンクの閉め忘

れの防止にも貢献していると言える。ただし問題点として挙げるように測定時間の設定は可能であっても地震直後に自動で測定したり遠隔操作で測定させたりすることが現状では不可能である。被災後、設定した測定時刻を過ぎるまでに任意で決めた重量の減少通知アラームメールの送信がない場合はLN₂タンクに異常はないと考えられるが、実際は地震直後の対応が不可欠である。このことからスマートマットに遠隔操作での測定や地震直後の自動測定ができるようになることを期待したい。またLN₂タンクの管理にはカメラモニタリングシステムなど目視による安全管理システムの併用が望ましい。

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) 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2023年第75巻第9号。 https://www.jsog.or.jp/activity/art/2021_JSOG-ART.pdf,
- 2) I. Glenn Cohen, JD, Dov Fox, JD, DPhil, LLM, and Eli Y. Adashi, MD, MS: Losing Embryos, Finding Justice: Life, Liberty, and the Pursuit of Personhood. *Annals of Internal Medicine*®, <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M18->

2483 (2024.04.10)

- 3) 小橋朱里・水野里志・入江真奈美・中西麻美・松本寛史・佐藤学・福田愛作・森本義晴：凍結保存タンク表面温度の監視は、真空不良の検知に有効である。HIVF 学会雑誌, 26(1): 49-54, 2023.
- 4) スマートマットクラウド現場カイゼンのカギはリアルタイム在庫把握にあり, SmartMatCloud. <https://www.smartmat.io/> (2023.11.1.)
- 5) スマートマット本体仕様. SmartMat Cloud ヘルプセンター. <https://smartmat.zendesk.com/hc/ja> (2023.11.1.)
- 6) 理科学研究機器・消耗品 BMS. 製品紹介. <https://www.bmsci.com/products/?id=1543314374-230160&fw=XC33%2F22> (2023.11.1)
- 7) 大陽日酸 医療・研究者向けサイト. 小型液体窒素凍結保存容器 SRシリーズ. https://www.tn-sanso-biomedical.com/product/kogata_srseries/index.html (2023.11.1.)
- 8) Q 設定した時間に測定されていない. SmartMat Cloud ヘルプセンター. <https://smartmat.zendesk.com/hc/ja/articles/14613247308953> (2024.4.10)

当院における思春期・若年者世代妊孕性温存精子凍結保存の現状

Current status of fertility-preserving sperm cryopreservation for adolescents and young adults at Kansai Medical University hospital

谷口 久哲¹, 下井 華代², 好村 正博², 島田 誠治¹, 岡田 英孝³, 木下 秀文¹

Taniguchi H¹, Shimoi K², Yoshimura M², Shimada S¹, Okada H³, Kinoshita H¹

¹関西医科大学附属病院腎泌尿器外科 〒573-1191 大阪府枚方市新町2-5-1 関西医科大学腎泌尿器外科 医局

²関西医科大学附属病院生殖医療センター

³関西医科大学附属病院産科婦人科学

¹Department of Urology and Andrology, Kansai Medical University

²Reproduction Center, Kansai Medical University

³Department of Gynecology, Kansai Medical University

要旨: 当院生殖医療センター開設後、約18年間において妊孕性温存目的で精子凍結保存を試みた思春期・若年者 (AYA) 世代男性がん患者の精子凍結保存の現状について検討を行う事を目的とした。全61例の内訳は、造血器腫瘍29例(47.5%)、精巣腫瘍21例(34.4%)、性腺外胚細胞腫4例(80.0%) その他5例(83.3%)であった。凍結保存が可能であったのは52例(85.2%)であった。精巣腫瘍患者は精巣腫瘍以外の患者に比べて凍結可能割合、凍結時の精液所見が不良であった。平均精子凍結保存期間は44.2ヶ月で、保存継続が40.4%、使用が5.8%、残りの53.8%は廃棄していた。近年においては新規凍結保存件数と廃棄件数は同等であり、全体の保存件数は一定に保たれていることが明らかとなった。

キーワード: AYA世代, 精子凍結保存, 妊孕性温存, 精巣腫瘍
ランニングヘッド: AYA世代がん患者の妊孕性温存精子凍結保存

英文要旨: This study reviewed the current status of sperm cryopreservation in adolescent and young adult (AYA) male cancer patients who have attempted sperm cryopreservation for fertility preservation during the 18 years since the establishment of our Reproductive Medicine Center. Of the 61 cases, 29 (47.5%) had hematopoietic tumors, 21 (34.4%) had testicular tumors, 4 (80.0%) had extragonadal germ cell tumors, and 5 (83.3%) had others. Cryopreservation was available in 52 patients (85.2%). Patients with testicular tumors had lower cryopreservation rate and semen concentration at the time of sperm cryopreservation than patients with other types of tumors. The average duration of sperm cryopreservation was 44.2 months, with 40.4% continuing preservation, 5.8% being used, and the remaining 53.8% were discarded. In recent years, the number of new cryopreservations and discards has been almost the same, keeping the total number of preserved cases stable.

キーワード: adolescent and young adult, fertility preservation, sperm cryopreservation, testicular tumors

緒言

近年におけるがん治療成績の向上により、患者・家族に対するがん治療中・治療後の生活の質を保持し、サポートを行う、「がんサバイバーシップ」の概念が広く認識されてきた。がんサバイバーシップには、心理・身体・社会的課

題があるが、身体的課題の1つに妊孕性温存が挙げられる。

思春期・若年者 (Adolescent and Young Adult: AYA) 世代 (15-39歳) の男性がん患者の10年相対生存率は66.0%と報告されており¹⁾、少子高齢化が進む本邦において、AYA世代がん患者の妊孕性温存はその重要性が増している。一方で、がん治療により不妊となるリス

クを抱える患者に対する確立された妊孕性温存療法は、現時点において精子凍結保存のみである。したがって、精子凍結保存の実状を把握し有効性を検証する事が必要であるが、本邦からのまとまった報告は少ない。

今回、当院生殖医療センターにおいて妊孕性温存目的に精子凍結を試みたAYA世代患者の患者背景や凍結保存後の状況を調査し、AYA世代がん患者の妊孕性温存の現状について検討した。

対象と方法

当院開院後の2006年3月から2024年6月までに、当院生殖医療センターにおいて妊孕性温存目的で精子凍結保存を試みた患者のうち、AYA世代の61例を対象とした。

当院における精子凍結保存システムは、原則当院で治療を行う患者を対象とし、2年毎の有料更新制（2022年4月以降は1年毎）としている。廃棄の基準は患者本人による希望（未成人の場合は親の同意が必要）または本人が死亡した場合とし、更新・廃棄の手続きは更新前に患

者家族へ書面を郵送する事で告知し、患者本人の来院を必須とした。

精子凍結保存は主治医から保存可否の結果を患者本人（未成年の場合は保護者も含む）に説明の上、文章による同意を得て行った。

原疾患・婚姻状況を含めた患者背景、凍結保存の有無、凍結保存時の精液所見、凍結保存後の使用状況について検討を行った。統計学的検討はMann-Whitney U testを行い、有意水準は $p < 0.05$ とした。尚、本研究はオプトアウト方式のインフォームド・コンセントとし、当院研究倫理審査委員会の承認（整理番号2024239）を得て行った。

結果

患者の平均年齢は25.2歳（15～38歳）、未婚患者が48例（78.7%）であった。原疾患の内訳は、造血器腫瘍29例（47.5%）、精巣腫瘍21例（34.4%）、性腺外胚細胞腫5例（8.2%）、その他の悪性腫瘍6例（9.8%）であった（表1）。化学療法開始前に精子凍結を試みた患

表1 原疾患の内訳と凍結可能症例数

原疾患	全体の内訳		凍結可能症例	
	n	(%)	n	(%)
造血器腫瘍	29	47.5	27	93.1
精巣腫瘍	21	34.4	16	76.2
性腺外胚細胞腫	5	8.2	4	80.0
その他	6	9.8	5	83.3

（その他の内訳）大腸がん1、直腸がん1、副腎皮質がん1、上咽頭がん1、脳神経膠腫1、髄芽腫1

表2 凍結可能症例の精液所見

(mean ± SD)	全体 (n = 52)	精巣腫瘍 (n = 16)	精巣腫瘍以外 (n = 36)	*p値
精液量 (mL)	3.2 ± 1.5	3.5 ± 1.6	3.1 ± 1.5	0.43
精子濃度 (10 ⁶ /mL)	59.6 ± 50.2	24.9 ± 31.7	75.0 ± 157.4	0.07
運動率 (%)	46.3 ± 24.3	47.6 ± 23.6	45.7 ± 25.1	0.78

* 精巣腫瘍 vs 精巣腫瘍以外

者が55例(90.1%)であった。凍結保存が可能であった症例数は52例(85.2%)で、化学療法開始前が48例(凍結可能率87.3%)、化学療法開始後が4例(凍結可能率66.6%)であった。各疾患別における凍結可能症例数は、造血器腫瘍27例(93.1%)、精巣腫瘍16例(76.2%)、性腺外胚細胞腫4例(80.0%)、その他5例(83.3%)であった(表1)。精巣腫瘍の21例のうち、4例は患側の高位精巣摘除前に精子凍結を試み、2例が凍結可能であった。凍結保存が可能であった症例は、全て自慰による精液採取であった。本コホートにおいては、自慰の経験が無く、精液採取が施行不可であった症例は無かった。凍結保存不可であった9例のうち、7例は無精子症、2例は精子死滅症であった。尚、無精子症のうち2例は精巣腫瘍患者であり、高位精巣摘除術前の射出精液中に精子を認めなかった為、患側精巣に対する高位精巣摘除術と同時に精巣内精子採取術(oncological testicular sperm extraction: Onco-TESE)を施行したが、精子採取には至らなかった。

精子凍結可能であった症例における凍結時の精液所見の平均値は患者全体で精子濃度 $59.6 \times 10^6 / \text{mL}$ 、運動率46.3%であり、精巣腫瘍患者の精子濃度は精巣腫瘍以外の患者に比べて有意差は認めないものの低い傾向($p=0.07$)であった(表2)。

精子凍結保存後の転帰を図1に示す。平均保存期間は44.2(2-120)か月であった。凍結保存を行った52例

のうち、保存継続が21例(40.4%)、他院への移送が3例(5.8%)、廃棄が28例(53.8%)であった。廃棄理由は患者死亡7例(25%)、精液所見回復またはパートナーの妊娠10例(35.7%)、自己意思8例(28.6%)、音信不通3例(10.7%)であった。他院へ移送した3例は凍結精子使用目的に行ったが、妊娠の有無は不明であった。

当院における新規凍結件数と廃棄件数の年次推移を図2に示す。興味深いことに近年における新規凍結件数と廃棄件数は同等であり、保存件数は一定に保たれていた。

考 察

本研究から、当院開院後の約18年間に於いて妊孕性温存目的に精子凍結保存を試みたAYA世代患者61例のうち、凍結保存が可能であったのは全体で85.2%、化学療法開始後の症例では66.6%であった。精巣腫瘍患者は精巣腫瘍以外の患者に比べて凍結可能割合、凍結時の精液所見が不良であった。本研究コホートの平均保存期間は44.2ヶ月で、保存を継続しているのは40.4%、使用が5.8%、残りの53.8%は廃棄していた。凍結件数と廃棄件数の年次推移において、全体の保存件数は一定に保たれていた。

本研究における原疾患の内訳は造血器腫瘍が最も多く、次に精巣腫瘍であった。これは本邦多施設研究の結果と

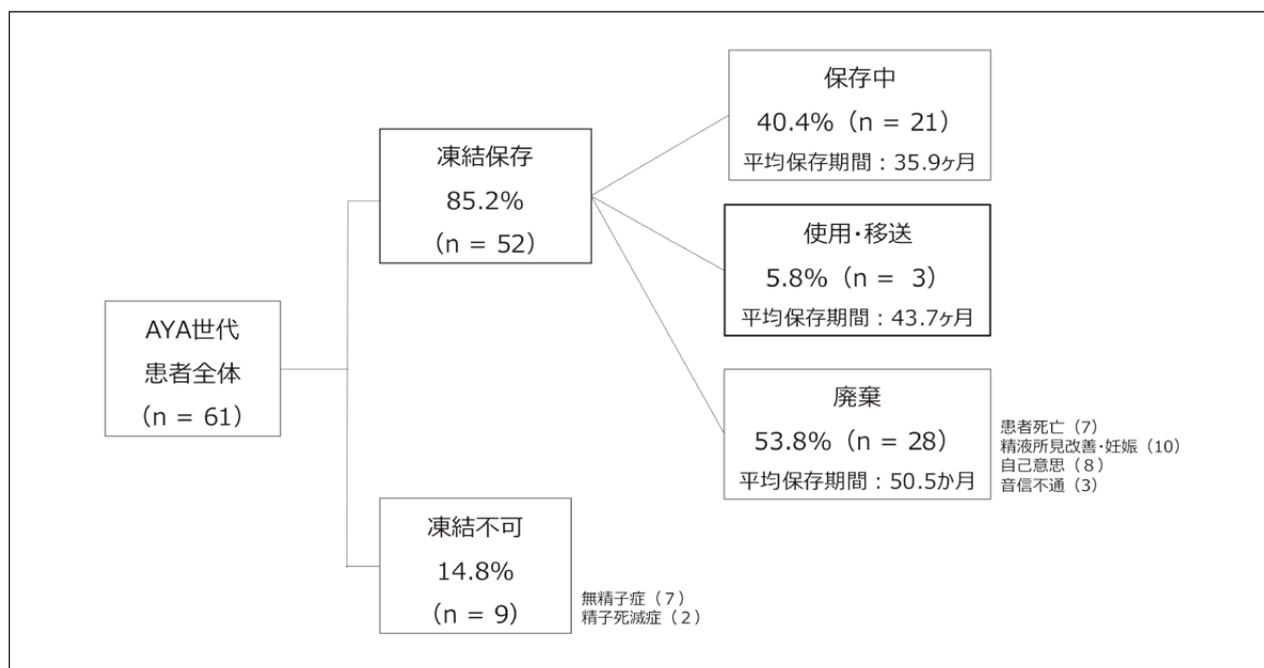


図1 精子凍結保存を試みた症例の転帰

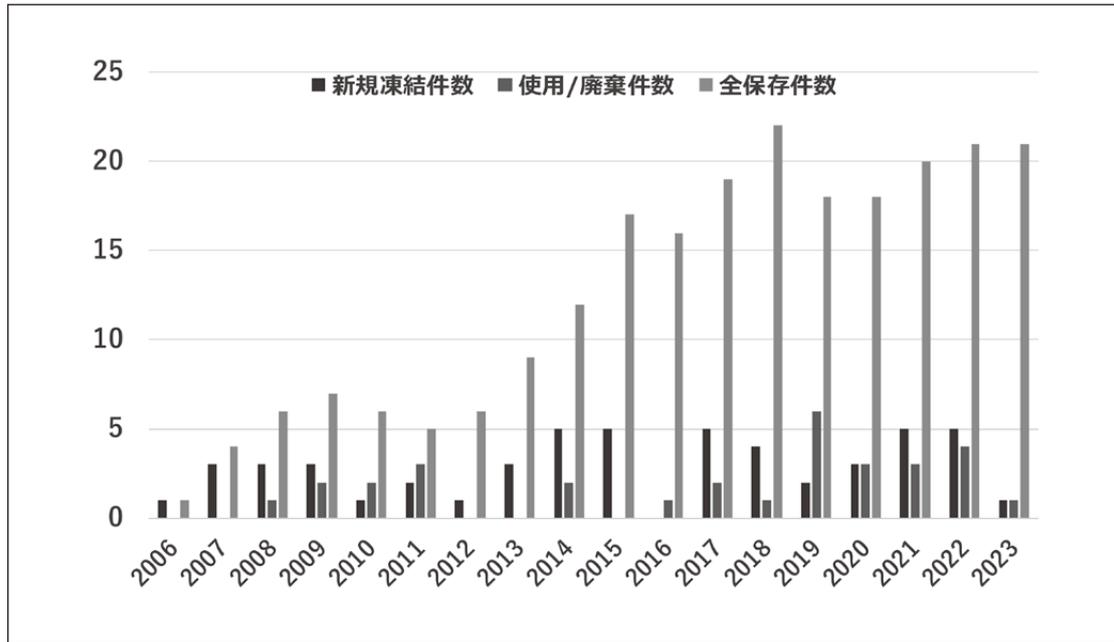


図2 新規凍結件数と廃棄件数の年次推移

同様であった²⁾。AYA世代患者においては造血器・脳・骨軟部腫瘍が他の年代と比べて多い特徴があるとされる。当院では骨軟部腫瘍症例の診療は行っておらず、脳・骨軟部腫瘍の症例は少なかったが、妊孕性温存に対しては血液内科、泌尿器科のみならず、AYA世代の男性がん患者を診療する全ての科横断的な認識の向上が必要と考えられる。本研究では化学療法開始後に精子凍結を試みた症例が存在した。2018年のAmerican Society of Clinical Oncology (ASCO) のガイドラインには、がん治療に関わる医療従事者は妊孕性温存療法の検討をがん治療開始前に行うよう推奨している³⁾。がん診療はあくまでも原疾患の治療が最優先であり、緊急を要する場合は妊孕性温存を行う前に化学療法を行わざるを得ない症例も存在する。しかしながら可能な限り、がん治療開始前に妊孕性温存について患者家族に情報提供する必要がある⁴⁾。当院では妊孕性温存に関するポスターを、AYA世代がん患者を扱う診療科の待合室に掲示することで、院内医療スタッフ・患者双方への啓発に取り組んでいる。

凍結保存時の精液所見は精巣腫瘍患者の精子濃度が、精巣腫瘍以外の患者に比べて不良であった。精巣腫瘍患者は治療開始前から健康男性と比較して精子濃度が低値であるとされている⁵⁾。欧州泌尿器科学会のガイドラインでは、精巣腫瘍の治療開始前、患側の精巣摘除前に精子凍結保存について情報提供する事を推奨しており⁶⁾、初診時から転移があり化学療法が必須であると予想されるような

症例では、可能であれば精巣摘除前に精子凍結保存を考慮し、無精子症・射精困難な場合は高位精巣摘除術と同時行う精巣内精子採取術 (Onco-TESE) が考慮される。

本研究において、精子凍結保存を行った52例のうち、使用・移送を行ったのは3例 (5.8%) であった。堀内らは、精子凍結保存250例のうち融解使用は11例 (4.4%)⁷⁾、堀らは121例中12例 (9.9%) であったと報告している⁸⁾。他の報告においても保存精子の使用率は10%未満であり、実際に凍結精子を使用する機会は稀である⁹⁻¹¹⁾。しかし、Ragniらは長期に及ぶほど使用率が増加し、12年では11.8%の患者が使用したと報告しており、長期的な保存システムの有用性を述べている⁹⁾。

当センターでの総保存件数は、18年が経過した現在において新規凍結保存件数と廃棄件数がほぼ等程度で一定に保たれていた。岩井らは3年間9カ月における108例の検討で凍結保存更新症例 (52.8%)、更新なし症例 (47.2%) と報告し¹²⁾、堀内らは14年間における215例の精子凍結症例のうち廃棄49.2%、他院への移送が0.8%であったと報告している⁷⁾。これらの結果から、ある程度の期間を置くと新規保存症例だけでなく、使用・移送・廃棄症例が増加し、保存症例数は一定に保たれるようである。したがって、少数例であっても凍結保存精子を使用する症例があれば、精子凍結保存は意義ある事である。当科では現在、更新の案内状と同意書を更新期日前に郵送し、再診のうえ更新手続きを行っているが、AYA世代が

んサバイバーは転居・仕事等で来院が難しいこともあり、タイムパフォーマンスを考慮した保存システムの構築が今後必要であると考えている。

少子高齢化が進む本邦において、妊孕性温存を希望されるAYA世代男性がん患者に対する精子凍結保存は、今後ますます重要性が増していくと考えられる。本邦においては、2018年に日本がん・生殖医療登録システム（Japan Oncofertility Registry: JOFR）が構築され、妊孕性温存療法を受けた患者さんの妊孕性保持と治療成績について、集計・分析・管理が可能となった¹³⁾。JOFRは患者家族の経済的負担を軽減する事にも役立っている。地域医療においては、妊孕性温存療法をスムーズに進められるよう、がん診療施設と生殖医療施設による医療連携ネットワークの構築が進められている¹⁴⁾。妊孕性温存に携わるスタッフは抗がん剤治療による性腺毒性のリスクについて理解すると共に、精子凍結保存システムの現状を理解し、患者・家族への情報提供を行っていく必要がある。

参考文献

- 1) Ito Y, Miyashiro I, Ito H, Hosono S, Chihara D, Nakata-Yamada K, Nakayama M, Matsuzaka M, Hattori M, Sugiyama H, Oze I, Tanaka R, Nomura E, Nishino Y, Matsuda T, Ioka A, Tsukuma H, Nakayama T: Long-term survival and conditional survival of cancer patients in Japan using population-based cancer registry data. *Cancer Sci*, 105 (11): 1480-1486, 2014.
- 2) Yumura Y, Tsujimura A, Okada H, Ota K, Kitazawa M, Suzuki T, Kakinuma T, Takae S, Suzuki N, Iwamoto T: Current status of sperm banking for young cancer patients in Japanese nationwide survey. *Asian J Androl*, 20 (4): 336-341, 2018.
- 3) Oktay K, Harvey B E, Partridge A H, Quinn G P, Reinecke J, Taylor H S, Wallace W H, Wang E T, Loren A W: Fertility Preservation in Patients With Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol*, 36(19): 1994-2001, 2018.
- 4) Lambertini M, Del Mastro L, Pescio M C, Andersen C Y, Azim H A Jr, Peccatori F A, Costa M, Revelli A, Salvagno F, Gennari A, Ubaldi F M, La Sala G B, De Stefano C, Wallace W H, Partridge A H, Anserini P: Cancer and fertility preservation: international recommendations from an expert meeting. *BMC Med*, 14: 1, 2016.
- 5) Petersen P M, Skakkebaek N E, Vistisen K, Rørth M, Giwercman A: Semen quality and reproductive hormones before orchiectomy in men with testicular cancer. *J Clin Oncol*, 17 (3): 941-947, 1999.
- 6) Patrikidou A, Cazzaniga W, Berney D, Boormans J, de Angst I, Di Nardo D, Fankhauser C, Fischer S, Gravina C, Gremmels H, Heidenreich A, Janisch F, Leão R, Nicolai N, Oing C, Oldenburg J, Shepherd R, Tandstad T, Nicol D: European Association of Urology Guidelines on Testicular Cancer: 2023 Update. *Eur Urol*, 84 (3): 289-301, 2023.
- 7) 堀内洋子, 秋谷文, 大垣洋子, 栗田絵里加, 小松雅博, 塩田恭子, 百枝幹雄: 担がん患者における妊孕性温存のための精子凍結保存の有用性. *日本精着床会誌*, 34 (2): 304-308, 2017.
- 8) 堀俊介, 小林秀行, 永尾光一: 東邦大学医療センター大森病院における10年間の精子凍結から見えた現状とこれからの課題. *日本がん・生殖医療学会誌*, 3 (1): 21-25, 2020.
- 9) Ragni G, Somigliana E, Restelli L, Salvi R, Arnoldi M, Paffoni A: Sperm banking and rate of assisted reproduction treatment: insights from a 15-year cryopreservation program for male cancer patients. *Cancer*, 97(7): 1624-1629, 2003.
- 10) van Casteren N J, van Santbrink E J, van Inzen W, Romijn J C, Dohle G R: Use rate and assisted reproduction technologies outcome of cryopreserved semen from 629 cancer patients. *Fertil Steril*, 90(6): 2245-2250, 2008.
- 11) Chen T, Hamilton S, Liu K E: Twenty-year oncology sperm banking experience at a Canadian academic fertility centre: a retrospective study examining the usage and reproductive outcomes from oncology patients. *BMJ Open*, 14 (8): e088112, 2024.
- 12) 岩井秀憲, 一倉晴彦, 岡部彩美, 永川祥平, 魚住友治, 三好邦和, 田中祥子, 眞崎拓朗, 志賀健一郎, 相島真奈美, 野村博之, 宮崎薫, 武井実根雄, 山口秋人, 横溝晃, 内藤誠二: 男性がん患者の妊孕性温存を目的とした精子凍結保存の現状調査 九州・山口地方の動向. *日本精着床会誌*, 38(2): 281-285, 2021.
- 13) オンライン登録事業(JOFR). 一般社団法人 日本がん・生殖医療学会, <https://www.j-sfp.org/jofr/>, (2025.03.12)
- 14) がん治療と妊娠 地域医療連携. 一般社団法人 日本がん・生殖医療学会, <https://j-sfp.org/cooperation/about>, (2025.03.12)

凍結融解胚盤胞移植を受ける不妊女性における 子宮内膜ポリープ切除術の切除方法の違いが妊娠率に与える 影響：組織回収型硬性子宮鏡と子宮内膜搔爬の比較

Impact of Endometrial Polypectomy Techniques on Pregnancy Rates in Infertile Women Undergoing Frozen-Thawed Blastocyst Transfer: A Comparison Between Hysteroscopic Resection Using a Tissue Retrieval System and Endometrial Curettage

藤原 奨¹, 辻 尚也¹, 小西 晴久¹, 北山 利江¹, 門上 大祐¹, 森本 真晴¹, 勝 佳奈子¹,
中岡 義晴¹, 森本 義晴^{1,2}

Fujiwara S¹, Tuji N¹, Konishi H¹, Kitayama R¹, Kadogami D¹, Morimoto N¹, Katsu K¹, Nakaoka Y¹, Morimoto Y^{1,2}

¹IVF なんばクリニック 〒556-0011 大阪市浪速区難波中2丁目11-18 パークスサウススクエア12・13・14階

²HORAC グランフロント大阪クリニック 〒530-0011 大阪市北区大深町3-1 グランフロント大阪タワー B 15F

¹IVF Namba Clinic

²HORAC Grand Front Osaka Clinic

要旨： 本研究は、初回の凍結融解胚盤胞移植を受ける不妊女性において、子宮内膜ポリープ切除術が臨床妊娠率に与える影響を、切除方法別に検討することを目的とした。2020年1月から2023年12月の間にIVFなんばクリニックで子宮内膜ポリープ切除術を施行され、その後、初回の凍結融解胚盤胞移植を施行した82例を対象とし、後方視的検討を行った。対象を組織回収型硬性子宮鏡下ポリープ切除群(以下子宮鏡下ポリープ切除群) (n=39) と従来の子宮内膜搔爬による子宮内膜ポリープ切除群(以下子宮内膜搔爬群) (n=43) の2群に分類した。その結果、妊娠率に有意差は認められなかったものの(子宮鏡下ポリープ切除群 56.4% vs 子宮内膜搔爬群 39.5%), 男性因子を有さない症例においては、子宮鏡下ポリープ切除群で有意に高い臨床妊娠率が示された(60.9% vs 31.8%, p=0.049)。本研究の結果から、子宮内膜ポリープを有する不妊女性、特に男性因子を有さない症例において従来の搔爬術より臨床妊娠率の向上が期待される。

キーワード： 子宮内膜ポリープ, 凍結融解胚盤胞移植, 組織回収型硬性子宮鏡, 子宮内膜搔爬, 妊娠率

ランニングヘッド： 子宮内膜ポリープ切除術と妊娠率

英文要旨： Purpose: This study aimed to investigate the impact of endometrial polypectomy techniques on pregnancy rates in infertile women undergoing their first frozen-thawed blastocyst transfer.

Methods: We retrospectively analyzed 82 patients who underwent endometrial polypectomy followed by their first frozen-thawed blastocyst transfer at IVF Namba Clinic between January 2020 and December 2023. Patients were categorized into two groups based on the surgical technique used: hysteroscopic resection using a tissue retrieval system (hysteroscopy group, n=39) and conventional endometrial curettage (curettage group, n=43).

Results: Although there was no significant difference in overall pregnancy rates between the two groups (hysteroscopy group 56.4% vs curettage group 39.5%), the hysteroscopy group showed a significantly higher pregnancy rate in cases without male factor infertility (60.9% vs 31.8%, p=0.049).

Conclusion: Our findings suggest that hysteroscopic resection using a tissue retrieval system may offer a potential advantage in improving pregnancy rates among infertile women without male factor infertility undergoing frozen-thawed blastocyst transfer. These results provide important insights for developing treatment strategies for infertile women with endometrial polyps, especially those without male factor infertility.

キーワード： Endometrial Polyp, Frozen-Thawed Blastocyst Transfer, Hysteroscopic Resection, Endometrial Curettage, Pregnancy Rate

緒言 (目的, 背景)

不妊に悩む女性にとって, 子宮内環境は妊娠成立に重要な役割を果たす. 近年, 子宮内膜ポリープ(endometrial polyps) が不妊と関連することが報告されており^{1,2)} その治療が生殖補助医療 (ART) の成功率向上につながる可能性が指摘されている³⁾. 子宮内膜ポリープは, 子宮内膜の腺組織, 間質, 血管の過剰増殖により形成される良性病変であり, エストロゲンの過剰分泌がその発生に関与するとされる⁴⁾. 不妊女性では, 診察の中で偶発的に子宮内膜ポリープが見つかることが多く, 体外受精 (IVF) 前に子宮鏡検査を行った不妊女性の32%にポリープが確認されたとの報告がある⁵⁾. 子宮内膜ポリープが妊娠に与える影響として, 物理的に着床を阻害する, 慢性的な炎症を誘発し内膜受容能を低下させる, 着床関連因子の発現に影響を与えるなどのメカニズムが考えられている^{1,6,7)}. そのため, 不妊治療の一環として子宮内膜ポリープ切除術が行われることがある. 過去の研究では, 凍結融解胚移植前にポリープ切除により妊娠率が向上する可能性が示唆されている⁸⁾. 一方で, 子宮内膜ポリープ切除が不妊治療における妊娠率に有意な影響を与えなかったとの報告もある⁹⁾. 子宮内膜ポリープの切除方法は子宮内膜掻爬術, 電気メスを用いた硬性子宮鏡や, 近年登場した組織回収型硬性子宮鏡を用いた切除といった方法があるが, 子宮内膜ポリープの切除方法による妊娠成績への影響についての報告は限られている. 今回, 当院における初回胚盤胞凍結融解胚移植患者の中から, 子宮内膜ポリープ切除を受けた症例を対象に, 組織回収型硬性子宮鏡下子宮内膜ポリープ切除術と子宮内膜掻爬術による子宮内膜ポリープ切除術という異なった子宮内膜ポリープの切除方法が妊娠成績へ与える影響を後方視的に検討した.

対象と方法

2020年1月から2023年12月の間にIVFなんばクリニックで行われた251例の子宮内膜ポリープ切除を受けた症例のうち, 初診時または治療経過中に子宮内膜ポリープと診断され, その後初回の凍結融解胚移植を施行した82例を対象に, 妊娠率に与える影響について組織回収型硬性子宮鏡下子宮内膜ポリープ切除群 (以下子宮鏡下内膜ポリープ切除群) と子宮内膜掻爬術による子宮内膜ポリープ切除群 (以下子宮内膜掻爬群) に分けて後方視的検討を行った. 当院では原則, 不妊精査中もしくは不妊治療中に発見された子宮内膜ポリープに対し, 速やかに子宮内膜ポリープ切除術を行う方針としている.

術前診断は, 経腔超音波断層法を用いて行った. 手術

は全例, 手術室にて静脈麻酔下で施行され, 2022年8月以前は軟性子宮鏡を用い, 子宮内腔を確認後, 胎盤鉗子および掻爬鉗子で子宮内膜ポリープを除去した (子宮内膜掻爬群). その後, 再度子宮鏡を用いて内腔を観察し, ポリープの切除を確認した. 一方, 2022年8月以降は, 組織回収型硬性子宮鏡 (Hologic MyoSure MANUAL™) を導入し, 切除と同時に子宮内腔を観察する手法を採用した (子宮鏡下内膜ポリープ切除群). いずれの手法においても, 電気メスを用いた子宮内膜アブレーションは行わなかった.

臨床妊娠率 (妊娠5週で子宮内に胎嚢を確認) を主要評価項目とした. またポリープの数 (単発性・多発性), 移植胚の質 (良好胚盤胞・非良好胚盤胞), 移植周期 (ホルモン補充周期・自然周期), 男性因子 (あり・なし) といった項目別に臨床妊娠率を比較した. 良好胚盤胞の定義は, ガードナー分類に基づき, Day 5の胚盤胞で3BB以上のものとした. 男性因子の有無の定義は採卵時の調整後の運動精子濃度が $5 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の場合を男性因子ありと定義した.

統計学的解析には, 数値データの比較には unpaired Student's t-test を, カテゴリーデータの比較には χ^2 検定および Fisher's exact test を用い, $p < 0.05$ を統計学的有意とした.

本研究は, IVF なんばクリニックの施設内倫理委員会の承認を得て実施し, すべての患者から書面によるインフォームドコンセントを取得した.

結果

患者背景を表1に示す. 平均年齢は 35.9 ± 3.5 歳 (子宮鏡下内膜ポリープ切除群) および 35.7 ± 4.0 歳 (子宮内膜掻爬群), 平均AMH値は $3.54 \pm 3.0 \text{ng/mL}$ および $3.46 \pm 2.5 \text{ng/mL}$ であった. 胚移植時の子宮内膜厚は $11.6 \pm 3.9 \text{mm}$ および $11.3 \pm 4.0 \text{mm}$ であった. 両群間に, 年齢およびAMH値, 胚移植時の子宮内膜厚に有意差は認められなかった. さらに, ポリープの数, 移植胚の質, 移植周期, 男性因子の項目別でも, 両群間で患者数に有意差は認めなかった (表1). また, 全例, 病理組織学的検査にて悪性所見は認めず, 子宮内膜ポリープ (Endometrial polyp) の診断であった. なお, 両群とも全例, 術中術後合併症はなく終了していた.

子宮内膜ポリープ切除術後の臨床妊娠率及び流産率 (胎嚢確認後から妊娠8週時点までに児心拍を認めなかったまたは消失した割合) を表2に示す. 臨床妊娠率は子宮鏡下内膜ポリープ切除群では56.4%, 子宮内膜掻爬群では39.5%であり, 子宮鏡下内膜ポリープ切除群で臨床妊娠率が高かったが, 両群間に有意差は認め

表1 患者背景

	子宮鏡下内膜ポリープ切除群	子宮内膜掻爬群	p value
年齢(歳), ±meanSD	35.9±3.5	35.7±4.0	n.s.
AMH(ng/ml), meanSD	3.54±3.0	3.46±2.5	n.s.
内膜厚(mm), ±meanSD	11.6±3.9	11.3±4.0	n.s.
ポリープの数			
多発	20	25	n.s.
単発	19	18	
移植周期			
ホルモン補充周期	30	36	n.s.
自然周期	9	7	
移植胚の質			
良好胚盤胞	32	32	n.s.
非良好胚盤胞	7	11	
男性因子			
あり	23	22	n.s.
なし	13	21	
病理結果			
良性	39	43	n.s.
悪性	0	0	

AMH:Anti-Müllerian Hormone

表2 臨床妊娠率と流産率

	子宮鏡下内膜ポリープ切除群	子宮内膜掻爬群	p value
臨床妊娠率(%)	56.4	39.5	n.s.
流産率(%)	9.1	11.8	n.s.

られなかった。また流産率についても同様に有意差は認めなかった。子宮鏡下内膜ポリープ切除群と子宮内膜掻爬群におけるポリープの数(単発性・多発性)、移植胚の質(良好胚盤胞・非良好胚盤胞)、移植周期(ホルモン補充周期・自然周期)、男性因子のある症例それぞれで妊娠率を比較した。全ての項目で子宮鏡下子宮内膜ポリープ切除群の妊娠率は子宮内膜掻爬群よりも高かったが有意差は認めなかった。一方、男性因子がない症例における妊娠率は、子宮鏡下内膜ポリープ切除群で60.9%、子宮内膜掻爬群で31.8%であり、子宮鏡下内膜ポリープ切除群で有意に高かった(p=0.049)(表3)。

考 察

不妊治療中の子宮内膜ポリープが認められた場合、近年外来での処置が可能となったこともあり、速やかに治療を行うことが多い。Triantafyllidouら¹⁰⁾は、原因不明

不妊で過去に体外受精が失敗した女性を対象とした研究において、子宮鏡下ポリープ切除群で臨床妊娠率および生児出産率が有意に高かったと報告している。また、Pundirら¹¹⁾によるメタアナリシスでは、体外受精治療を受けている女性において、子宮鏡によるポリープ切除が臨床妊娠率を有意に向上させると結論づけている。今回、当院での検討でも不妊女性に対する子宮鏡下内膜ポリープ切除群で妊娠率56.4%と良好な臨床妊娠率を認めていた。従来、クリニックなど入院設備がない医療機関では簡易的な子宮内膜ポリープの治療には子宮内膜掻爬術が用いられてきた。しかし、掻爬術は盲目的な操作であるため、ポリープの摘出が不十分である可能性がある。近年では、子宮鏡を用いたポリープ摘出術が導入されており、視認性の向上により確実な摘出が可能となり、低侵襲性の点でも利点があるとされる。子宮内膜掻爬群の臨床妊娠率39.5%に比べて高い傾向にあることからの子宮鏡下での子宮内膜ポリープ切除そのも

表3 項目別妊娠率 (%)

	子宮鏡下ポリープ切除群	子宮内膜掻爬群	p value
ポリープの数			
単発性	57.9	44.4	n.s.
多発性	55	36	n.s.
移植胚の質			
良好胚盤胞	59.4	43.8	n.s.
非良好胚盤胞	42.9	33.3	n.s.
移植周期			
ホルモン補充周期	53.3	33.3	n.s.
自然周期	66.7	71.2	n.s.
男性因子			
あり	50	47.6	n.s.
なし	60.9	31.8	0.049

のが臨床妊娠率の改善に寄与していると考えられる。

子宮内膜ポリープの切除方法が妊娠率に影響を与えるかについては、様々な報告がある。van Gemertら¹²⁾とHamerlynckら¹³⁾の研究では、組織回収型硬性子宮鏡と従来のバイポーラを用いた硬性子宮鏡を用いたポリープ切除術後の妊娠率に有意差は認められなかったと報告されている。これらの研究からは、硬性子宮鏡を用いた子宮内膜ポリープの切除方法の違いが妊娠率に与える影響は限定的である可能性がある。しかし、組織回収型硬性子宮鏡は、電気メスを用いた硬性子宮鏡下子宮内膜ポリープ切除と比較して手術時間が短縮され、施行が容易とされる¹⁴⁾。バイポーラを用いた硬性子宮鏡を用いたポリープ切除は入院管理が望ましい処置であるため、外来管理の多い不妊クリニックにて、入院設備の不要な組織回収型硬性子宮鏡下子宮内膜ポリープ切除は非常に有効であると考えている。

今回、組織回収型硬性子宮鏡を用いた子宮内膜ポリープ切除術が、特に男性因子を有さない症例において従来の子宮内膜掻爬術による子宮内膜ポリープ切除と比較して高い臨床妊娠率を認めた。男性因子がある場合、受精や胚発育に対する影響があり、ポリープ切除による子宮内膜の状態改善効果が相対的に小さく改善が顕在化しにくくなったと考えられる。男性因子のない症例では精密に子宮内膜ポリープを切除し子宮内の着床環境を改善することが特に重要であると考えられた。一方で男性因子のある症例に関しては、Tirasら¹⁵⁾は顕微授精周期前または周期中に診断された子宮内膜ポリープ切除が妊娠率や生児出生率に与える影響は明確では

なく、子宮内膜ポリープ切除が妊娠成績を改善するかどうかについての結論は得られなかったとしており、引き続き治療効果の検討が必要であると考えられる。

本研究の限界として、後方視的検討であること、対象症例数が少ないこと、異なる時期に異なる方法でポリープ切除が行われたことが挙げられる。また、ポリープの大きさや位置、数が妊娠転帰に関与する可能性が指摘されているが^{16,17,18)}本研究ではポリープの大きさや位置など、妊娠率に影響を与える可能性のある因子について十分に検討できていない。子宮内膜ポリープは経過観察自体が少なくなってきており、治療群と経過観察群との比較は難しいが、今後の研究で前向き研究デザインを用い、より多くの症例を対象とし、これらの因子を詳細に検討することが必要である。

組織回収型硬性子宮鏡下子宮内膜ポリープ切除術は、子宮内膜掻爬術や他の子宮鏡を用いた子宮内膜ポリープ切除と比較して、術野の視認性、処置の容易さ、処置時間の短縮など多くの利点があり、有用性・安全性の側面を考慮しても外来診療を主とするクリニックにおいて今後普及させていくべき方法であると考えられる。

文 献

- 1) Rackow BW, Jorgensen E, Taylor HS: Endometrial polyps affect uterine receptivity. *Fertil Steril*, 95(8): 2690-2692, 2011.
- 2) Taylor E, Gomel V: The uterus and fertility. *Fertil Steril*, 89(1): 1-16, 2008.
- 3) Varasteh NN, Neuwirth RS, Levin B, Keltz MD: Pregnancy

- rates after hysteroscopic polypectomy and myomectomy in infertile women. *Obstet Gynecol*, 94: 168-171, 1999.
- 4) Lopes RG, Baracat EC, de Albuquerque Neto LC, Ramos JF, Yatabe S, Depesr DB, Lippi UG: Analysis of estrogen- and progesterone-receptor expression in endometrial polyps. *Minim Invasive Gynecol*, 14: 300-303, 2007.
 - 5) Hinckley MD, Milki AA: 1000 office-based hysteroscopies prior to in vitro fertilization: feasibility and findings. *JLSLS*, 8: 103-107, 2004.
 - 6) Hasegawa E, Ito H, Hasegawa F, Hatano K, Kazuka M, Usuda S, Isaka K: Expression of leukemia inhibitory factor in the endometrium in abnormal uterine cavities during the implantation window. *Fertil Steril*, 97 (4): 953-958, 2012.
 - 7) Ben-Nagi J, Miell J, Yazbek J, Holland T, Jurkovic D: The effect of hysteroscopic polypectomy on the concentrations of endometrial implantation factors in uterine flushings. *Reprod Biomed Online*, 19 (5): 737-744, 2009.
 - 8) Lass A, Williams G, Abusheikha N, Brinsden P: The effect of endometrial polyps on outcomes of in vitro fertilization (IVF) cycles. *J Assist Reprod Genet*, 16 (8): 410-415, 1999.
 - 9) Ghaffari F, Arabipoor A, Bagheri Lankarani N, Hosseini F, Bahmanabadi A: Hysteroscopic polypectomy without cycle cancellation in IVF/ICSI cycles: a cross-sectional study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 205: 37-42, 2016.
 - 10) Triantafyllidou O, Korompokis I, Chasiakou S, Bakas P, Kalampokas T, Simopoulou M, Tzanakaki D, Kalampokas E, Panagodimou E, Xepapadaki M, Christopoulos P, Valsamakis G, Vlahos NF: Impact of Hysteroscopic Polypectomy on IVF Outcomes in Women with Unexplained Infertility. *J Clin Med*. 13: 4755, 2024.
 - 11) Pundir J, Pundir V, Omanwa K, Khalaf Y, El-Toukhy T: Hysteroscopy prior to the first IVF cycle: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*, 28(2): 151-161, 2014.
 - 12) van Gemert J, Herman MC, Beelen P, Geomini PM, Bongers MY: Endometrial polypectomy using tissue removal device or electrosurgical snare: a randomised controlled trial. *Facts Views Vis Obgyn*. 14: 235-243, 2022.
 - 13) Hamerlynck TW, Schoot BC, van Vliet HA, Weyers S: Removal of endometrial polyps: Hysteroscopic Morcellation versus Bipolar Resectoscopy, A Randomized Trial. *J Minim Invasive Gynecol*, 22 (7): 1237-1243, 2015.
 - 14) Emanuel MH, Wamsteker K: The Intra Uterine Morcellator: a new hysteroscopic operating technique to remove intrauterine polyps and myomas. *J Minim Invasive Gynecol*. 12 (1): 62-66, 2005.
 - 15) Tiras B, Korucuoglu U, Polat M, Zeyneloglu HB, Saltik A, Yarali H: Management of endometrial polyps diagnosed before or during ICSI cycles. *Reprod Biomed Online*, 24: 123-8, 2012.
 - 16) Tamatellos I, Apostolides A, Stamatopoulos P, Bontis J: Pregnancy rates after hysteroscopic polypectomy depending on the size or number of the polyps. *Arch Gynecol Obstet*, 277: 395-399, 2008.
 - 17) Spiewankiewicz B, Stelmachów J, Sawicki W, Cendrowski K, Wypych P, Swiderska K: The effectiveness of hysteroscopic polypectomy in cases of female infertility. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 30: 23-25, 2003.
 - 18) 一般社団法人日本生殖医学会：子宮筋腫・子宮内膜ポリープ合併不妊症に対する治療。一般社団法人日本生殖医学会編，生殖医療の必修知識，pp208-211，杏林舎，2017。

両側卵管留血腫に対して両側卵管切除術を施行し、凍結融解胚移植で残存卵管間質部妊娠をきたした一例

A case of residual interstitial tubal pregnancy after freeze-thawed embryo transfer, despite status of performing bilateral hematosalpinx

浮田 美里^{1,2}, 浮田 祐司¹, 山口 奈津子², 浮田 恵², 浮田 真吾²,
浮田 徹也², 大西 佑実³, 藤田 浩平³

Misato Ukita^{1,2}, Yuji Ukita¹, Natsuko Yamaguchi², Megumi Ukita², Shingo Ukita²,
Tetsuya Ukita², Yumi Onishi³, Kohei Fujita³

¹ リプロダクション浮田クリニック 〒520-0232 滋賀県大津市真野一丁目45番8号

² 浮田クリニック 〒520-0242 滋賀県大津市本堅田6丁目36番1号

³ 大津赤十字病院 産婦人科 〒520-0242 滋賀県大津市長等一丁目1番35号

¹Reproduction UKITA clinic

²UKITA clinic

³Japanese Red Cross Otsu Hospital

要旨： 卵管留水症の存在は生殖補助医療において悪影響を及ぼすため、卵管切除が妊娠率の改善に繋がると言われている。今回我々は、両側卵管切除後に凍結融解胚移植を施行し残存卵管間質部に妊娠した症例を経験したので報告する。

症例は33歳、2妊1産。機能性不妊症に対して体外受精を施行し、4回の凍結融解胚移植で妊娠成立せず、両側卵管留血腫に対して両側卵管切除後、再度凍結融解胚移植を施行したが卵管間質部妊娠となった。

卵管切除後も残存卵管間質部に妊娠する可能性があるため、卵管切除後でも異所性妊娠の可能性を考慮する必要がある。

キーワード： 卵管留血腫, 卵管切除術, 卵管間質部妊娠

ランニングヘッド： 卵管留血腫に対して卵管切除後の残存卵管間質部妊娠

英文要旨： Since the presence of hydrosalpinx has a negative impact on assisted reproduction, salpingectomy is reported to improve pregnancy rates. Here we report a case in which perform bilateral salpingectomy for bilateral hematosalpinx, an example of residual interstitial tubal pregnancy due to frozen-thawed embryo transfer.

The patient was 33 years old and had two pregnancies and one birth. In vitro fertilization was performed for unexplained infertility, but pregnancy did not occur after four frozen-thawed embryo transfers. After bilateral salpingectomy for bilateral hematosalpinx, another frozen-thawed embryo transfer was performed, but the result was an interstitial tubal pregnancy. Because pregnancy can occur in the residual interstitial tube after salpingectomy, the possibility of ectopic pregnancy must be considered even after salpingectomy.

キーワード： hematosalpinx, salpingectomy, interstitial tubal pregnancy

緒言

卵管留水症や卵管留血腫は、生殖補助医療において悪影響を及ぼすことが報告されている¹⁾。特に胚の着床に悪影響を及ぼし、妊娠率の低下や流産率の上昇が指摘されている²⁾。卵管留水症を有する患者は有しない患者と比較し

て妊娠率が約50%低下するとも報告されている³⁾。そのため外科的治療としては、卵管結紮や卵管切除がその後の胚移植における妊娠率の改善に繋がると言われている⁴⁾。

一方で、生殖補助医療は異所性妊娠のリスク因子にあげられていた⁴⁾。現在は凍結技術の発展により凍結融解胚移植が多くなったこともあり、凍結融解胚移植後の異所性

受付 2024年9月18日 / 受理 2024年11月4日

責任著者：浮田 美里, e-mail [coco.misato.0309@gmail.com]

妊娠率は0.53%と低く⁵⁾、さらに卵管切除後の卵管間質部妊娠に限れば極めて稀とされている。

今回我々は、両側卵管留血腫に対して両側卵管切除後に凍結融解胚移植を施行し、残存卵管間質部に妊娠した症例を経験したので報告する。

症 例

33歳、2妊1産（流産歴1回）。第一子は自然妊娠で、分娩方式は前置胎盤のため、帝王切開術であった。既往歴に、25歳時に両側の子宮内膜症性嚢胞に対して腹腔鏡下卵巣嚢腫摘出術施行がある。家族歴に特記事項無し。来院時のホルモン基礎値は、FSH:9.1mIU/ml・LH:7.4 mIU/ml・E2:32.3mIU/ml・PRL:6.7mIU/mlで、AMH値は1.22ng/mlであった。

第2子希望のため、夫婦で8カ月間自己タイミング法を行うも妊娠に至らないため当院を受診された。当院受診後、超音波検査で左卵巣に約2.5cmの子宮内膜症性嚢胞を疑う所見を認めた。月経周期は整で、自然排卵を認め、子宮卵管造影検査でも異常を認めず（図1）。精液検査で男性因子も認めなかった。タイミング療法を3周期及び人工授精を4周期施行したが妊娠に至らず、1年3カ月におよぶ長期不妊及び機能性不妊症に対して体外受精を施行することとした。

卵巣刺激はPPOS法で施行し、FSH製剤300単位連日投与で採卵数11個、男性因子を認めなかったためIVFを施行し10個受精（受精率は91%）し、Gardner分類における良好胚盤胞を4個（胚のグレード:4AA, 4AA, 3AA, 4BA）凍結保存した。胚移植1回目として、ホルモン補充周期で4AAの胚盤胞を凍結融解胚移植したが妊娠成立しなかった。胚移植2回目に、ホルモン補充周期で4AAの胚盤胞を凍結融解胚移植し、妊娠成立したが妊娠8週で稽留流産となった。その後、胚移植3回目に3AA、胚移植4回目に4BAの胚盤胞を、ホルモン補充周期で凍結融解胚移植したが妊娠に至らなかった。

そこで反復着床不全の原因検索として慢性子宮内膜炎と血栓性素因の有無を調べたが、いずれも異常を認めなかった。

来院時の子宮卵管造影検査では両側の卵管疎通性に問題なく、積極的に卵管留水症を疑う所見は認めなかったが、卵胞期・排卵期の茶褐色の帯下や超音波で子宮内腔のeffusionを認めるようになったため、卵管留水症の有無及び左子宮内膜症性嚢胞の評価を兼ねてMRI検査を施行した。MRI検査で、両側子宮内膜症性嚢胞及び両側の卵管留血腫を認め、放射線科医師の読影でも同所見であった（図2）。両側の卵管留血腫に対して両側卵管切除術を考慮したが、卵管切除による卵巣

への血流低下に伴う卵巣機能の低下を考慮し、卵管切除前に採卵を計画することとした。

卵巣刺激はPPOS法で施行し、良好胚盤胞を3個（3AA, 4BA, 3BA）凍結保存した。良好胚盤胞を獲得できたため、A病院に腹腔鏡下両側卵管切除術の施行を依頼した。術施行後は、超音波で子宮内腔にeffusionは認めず（図3）、卵胞期・排卵期の茶褐色の帯下も認めなかった。

その後、ホルモン補充周期による凍結融解胚移植を施行し、移植後10日目（妊娠4週1日）の血中HCG値は27.6mIU/mlであった。17日目（妊娠5週1日）の血中HCG値は1542.3mIU/mlと上昇を認め、超音波検査で子宮内腔とは離れた部位にwhite ring様構造物を認めたが、その時点では異所性妊娠と断定することはできなかった。移植後25日目（妊娠6週2日）に再度超音波検査を施行したところ、子宮内腔とは離れた部位に胎児心拍を伴うwhite ring様構造物を確認した（図4）。

子宮角部、または卵管間質部妊娠を疑いB病院に紹介した。B病院受診後MRI検査を施行し、左子宮角部または左卵管間質部妊娠を疑う所見を認めたため、腹腔鏡を施行し、左子宮角部楔状切除術を施行された（図5）。術後経過は良好で、第5病日に退院となった。術後の病理所見において絨毛成分に加えて卵管組織を認め、子宮平滑筋組織は認めなかった（図6）。以上から左卵管間質部妊娠と診断した。子宮角部の楔状切除を施行しているため術後は6か月の避妊期間を要し、現在は避妊期間中である。

考 察

今回我々は反復着床不全の原因として考えられた両側卵管留血腫に対して、両側卵管切除術を施行後に凍結融解胚移植を施行し、残存卵管間質部に妊娠した症例を経験した。

生殖補助医療において、卵管留水症は胚移植後の成績に悪影響をもたらす要因となる。卵管留水症が移植胚に悪影響を及ぼす要因として、次の3つが考えられる⁶⁾。一つ目は、貯留した卵管内容液が胚に対して直接毒性を示す可能性。二つ目は、卵管内容液が子宮内膜の着床能を低下させる可能性。三つ目は、卵管内容液が胚を子宮外へ押し流す可能性である。実際、今回の症例でも超音波検査で子宮内腔に液体貯留を疑う所見を認めていたため、卵管内容液による影響を認めていたと推察している。

片側の卵管留水症を有する不妊患者は卵管留水症がない症例と比べ、体外受精治療における妊娠率は約50%にまで減少し、両側の卵管留水症を有する場合には、33%以下にまで減少すると言われている⁷⁾。また卵管留水症の存在は妊娠率の低下だけでなく、流産率も増加すると言わ

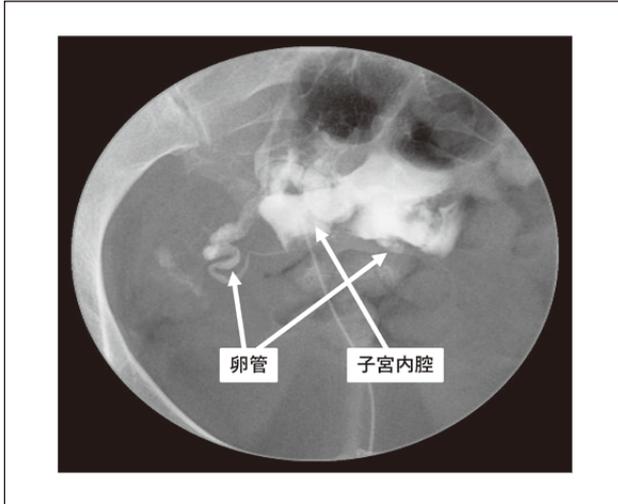


図1 子宮卵管造影検査

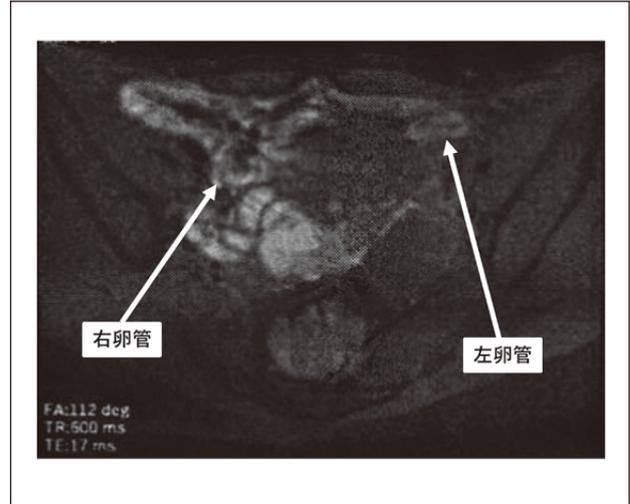


図2 MRI:T2 強調画像

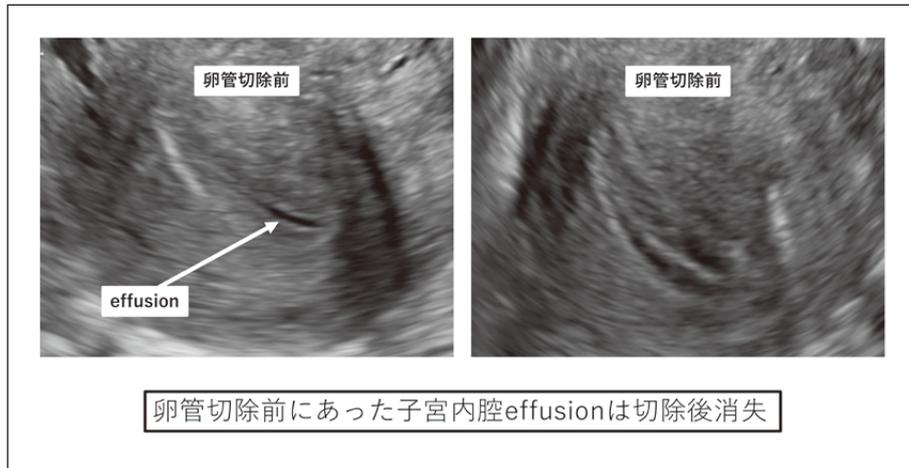


図3 卵管切除前・後の子宮内腔貯留の比較

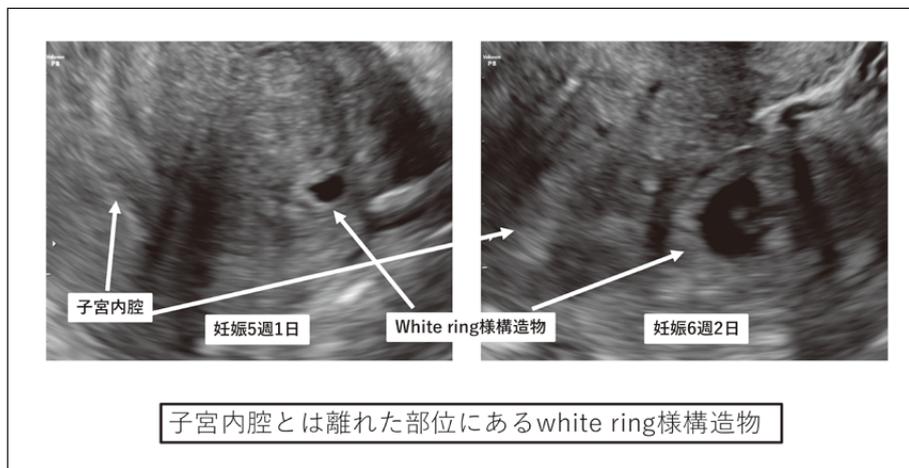


図4 妊娠5週と妊娠6週の超音波画像

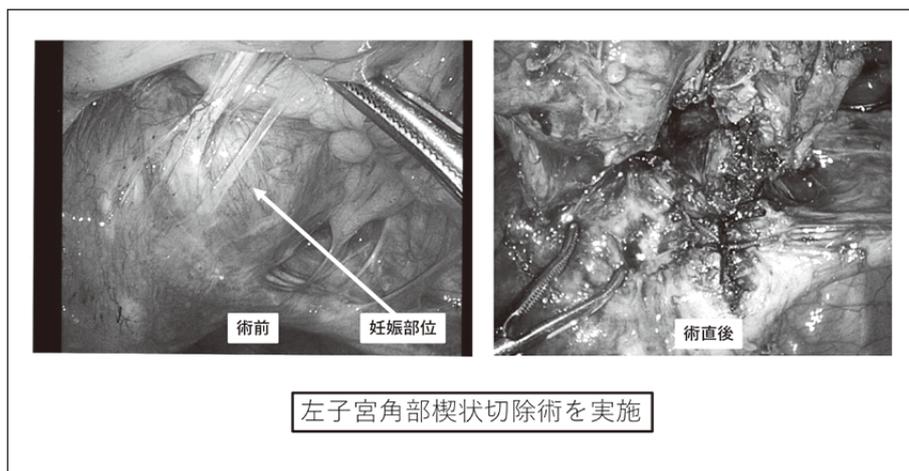


図5 手術前後の腹腔内所見

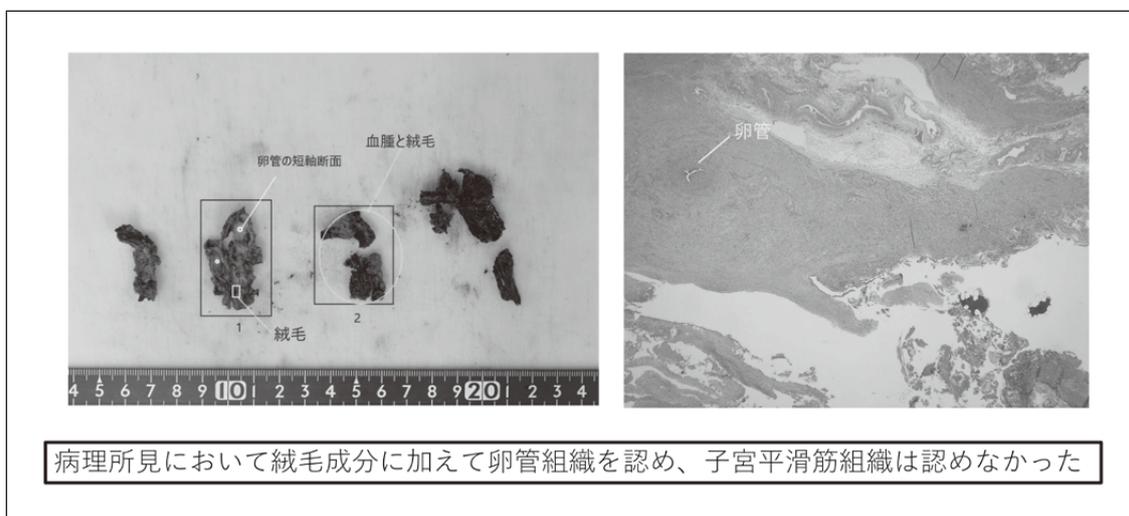


図6 病理所見

れている。流産率は2倍以上で、異所性妊娠率も2倍以上になるという報告もある⁷⁾。本症例では、3回の着床不全と1回の流産を認めていた。これらから、今回の両側卵管留血腫に対しては何らかの治療介入が必要であったと言える。

卵管留水症に対する治療介入としては、卵管開口術、卵管切除術、卵管閉塞術、卵管内容液穿刺吸引術等がある。卵管開口術や卵管内容液穿刺吸引術は卵管を残存させるため、自然妊娠を望む場合には施行も考慮されるが、本症例では反復着床不全のため、卵管切除術や卵管閉塞術の適応と判断した。

両側卵管留水症に関する Kontoravdis らの報告では、ART 反復不成功の患者を卵管閉塞（パイポラによる焼灼）後に ART を行った A 群、卵管摘出後に ART を行っ

た B 群、手術せずさらに ART を継続した C 群に分類し、各治療成績を比較したところ、C 群の妊娠率が 14.3% に対し、A 群 44.4%、B 群 55.3% と有意に妊娠率が高く、ART 反復不成功例では卵管摘出及び閉塞術が有効であることを報告している⁸⁾。これらより、今回の症例では両側の卵管摘出術を選択した。

本症例では卵管間質部妊娠であったが、自然妊娠における異所性妊娠の割合は 1-2% であり、生殖補助医療における異所性妊娠率は、新鮮胚移植で 1.48%、凍結融解胚移植では 0.53% である⁵⁾。また異所性妊娠における卵管間質部妊娠は 2-4% と報告されている^{9,10)}。生殖補助医療において、新鮮初期胚移植、新鮮胚盤胞移植、凍結初期胚移植、凍結融解胚盤胞移植による異所性妊娠

率は、新鮮初期胚移植が1.9%と一番高く、凍結融解胚盤胞移植が0.8%と一番低いとする報告がある¹¹⁾。また単一胚移植と二個移植の異所性妊娠率を比較すると、二個移植の方が1.8%と単一胚移植の1.2%と比較して高率であった¹¹⁾。以上より異所性妊娠の発症確率を低下させる目的として、凍結融解胚盤胞移植を選択するべきであるが、今回は単一の凍結融解胚盤胞移植であったにもかかわらず、卵管切除後の残存卵管間質部妊娠を来した。従って極めて稀ではあるが、両側卵管切除後であっても残存卵管間質部妊娠を念頭に置いて診察を行う必要がある。

卵管間質部妊娠の診断において Timor-Tritsch らは¹²⁾、①子宮内腔に胎嚢がない ②胎嚢が子宮内腔より1cm以上離れて認められる ③胎嚢を薄い子宮筋層が覆っている。という3つの項目を満たす場合に間質部妊娠が示唆されると述べている。また、Ackerman らは¹³⁾、子宮内膜から間質部の腫瘍や胎嚢に向かって延びている線状のエコー像 (interstitial line sign) が間質部妊娠の超音波検査所見で特徴的であることを報告している。今回の症例では子宮内腔には胎嚢を認めず、子宮内腔より1cm以上離れて胎嚢を認めた。また後日確認すると、胎嚢を薄い子宮筋層で覆っている所見も認めた。しかし、interstitial line sign の存在は不明であった。これらをふまえ、今後の間質部妊娠の診断では超音波検査の際、子宮内外の胎嚢の確認はもちろんであるが、胎嚢を覆う筋層の確認や interstitial line sign の有無も詳細に観察することが重要であると思われる。

卵管切除後の卵管間質部妊娠の発生予防に関する報告は少なく、卵管切除を施行する際、卵管角切除術を同時に行うことで卵管間質部妊娠が減少するという報告もある¹⁴⁾。しかしエビデンスに乏しく、子宮破裂や癒着胎盤等の周産期合併症のリスクが上昇するという報告もあるため、現時点では明らかな予防方法はないと言える¹⁵⁾。

最後に、今回我々は両側卵管切除術を施行後に凍結融解胚移植を施行し、残存卵管間質部に妊娠した症例を経験した。卵管切除後であっても、残存卵管間質部妊娠を念頭に置いて診察を行う必要があると考える。

参考文献

- Andersen AN, Yue Z, Meng FJ, Petersen K: Low implantation rate after in-vitro fertilization in patients with hydrosalpinges diagnosed by ultrasonography. *Hum Reprod*, 9: 1935-1938, 1994.
- Strandell A, Waldenström U, Nilsson L, Hamberger L: Hydrosalpinx reduces in-vitro fertilization/embryo transfer pregnancy rates. *Hum Reprod*, 9: 861-863, 1994.
- Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL: Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*, 70: 492-499, 1998.
- The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine: Role of tubal surgery in the era of assisted reproductive technology: a committee opinion. *Fertil Steril*, 115 (5) : 1143-1150, 2021.
- 2022年体外受精登録. 日本産科婦人科学会, https://www.jsog.or.jp/activity/art/2022_JSOG-ART.pdf.
- Salpingectomy for Hydrosalpinx Prior to in Vitro Fertilization. *Fertil Steril*, 90, 2008.
- Camus E, Poncelet C, Goffinet F, Wainer B, Merlet F, Nisand, Philippe HJ: Pregnancy rates after in-vitro fertilization in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx: a meta analysis of published comparative studies. *Hum Reprod*, 14: 1243-1249, 1999.
- Kontoravdis A, Makrakis E, Pantos K, Botsis D, Deligeoroglou E, Creatsas G: Proximal tubal occlusion and salpingectomy result in similar improvement in in vitro fertilization outcome in patients with hydrosalpinx. *Fertil Steril*, 86: 1642-1649, 2006.
- ACOG Practice Bulletin, No. 193: Tubal ectopic pregnancy. *Obstet Gynecol*, 131: e91-e103, 2018.
- 瀧内剛: 異所性妊娠の発生機序・病院・疫学について. 産婦人科の実際, 68: 983-988, 金原出版, 2019.
- Rombauts L, McMaster R, Motteram C, Fernando S: Risk of ectopic pregnancy is linked to endometrial thickness in a retrospective cohort study of 8120 assisted reproduction technology cycles. *Hum Reprod*, 30 (12): 2846-52, 2015.
- Timor-Tritsch IE, Monteagudo A, Matera C, Veit CR: Sonographic evolution of cornual pregnancies treated without surgery. *Obstet Gynecol*, 79 (6) : 1044-9, 1992.
- Ackerman TE, Levi CS, Dashefsky SM, Holt SC, Lindsay DJ: Interstitial line: sonographic finding in interstitial (cornua) ectopic pregnancy. *Radiology*, 189 (1): 83-87, 1993.
- Gray CL: Interstitial Pregnancy. *South Med J*, 73 (9): 1278-1280, 1980.
- 岩間真人. 卵管切除後に発生した同側卵管間質部妊娠の1例. 産科と婦人科: 53 (3), 389-392, 金原出版, 1986.

第2回アジア生殖免疫学会 (The 2nd Asian Congress for Reproductive Immunology: ACRI2024) 参加報告

福井 淳史

兵庫医科大学医学部産科婦人科

2024年9月7日(土)～9月8日(日)に、ソウル南方のPangyo(板橋)にあるBHA Bio Complexで開催された第2回アジア生殖免疫学会(ACRI2024)にて、講演の機会をいただき、参加してまいりました。本学会は、昨年、柴原浩章先生を大会長として神戸市で開催された第1回アジア生殖免疫学会に続くもので、日本・韓国・中国の三カ国を中心に、アジアの生殖免疫学者が集い、生殖免疫学について議論を深める場となっています。

本年はChan Woo Park大会長のもと、韓国生殖免疫学会との合同開催となり、参加者は約300名にのぼる盛況ぶりでした。日本からは、日本生殖免疫学会理事長の永松健先生、常任理事の中島彰俊先生と私、理事の根岸靖幸先生、幹事の山谷文乃先生をはじめ、約20名が出席しました。日本生殖免疫学会では本年度より、アジア生殖免疫学会に参加する若手研究者を対象としたYoung Investigator's Awardが設立され、多くの若手研究者が参加してくれました。

特別講演では、日本・中国・韓国からそれぞれ1名が登壇し、日本からは永松先生が講演されました。さらに、米国のJoanne Kwak-Kim先生、ドイツのPetra Arck先生といった世界のトップランナーの先生方による講演もあり、大変貴重な機会となりました。また、「子宮内膜症」「反復着床不全」

「早産と妊娠高血圧腎症」「免疫細胞」「生殖医学の未来」と題したシンポジウムが企画され、それぞれのテーマについて日本・中国・韓国の演者が講演し、活発なディスカッションが行われました。私も「生殖医学の未来」のシンポジウムにおいて、子宮内膜免疫担当細胞のコマーシャルベースでの測定展開について講演いたしました。一般演題では、口演・ポスター合わせて7題が採択され、発表が行われました。その中から日本医科大学の井野先生がBest Oral Presentation、兵庫医科大学の山谷先生がBest Poster Presentationに選出されました。おめでとうございます。また、休憩時間や懇親会では、日本の先生方はもちろん、各国の研究者とも交流を深めることができ、大変有意義な時間を過ごすことができました。こうした交流を通じて、アジアの生殖免疫学が発展し、米国生殖免疫学会(ASRI)、欧州生殖免疫学会(ESRI)、国際生殖免疫学会(ISIR)に肩を並べる学会へと成長していくことを願っております。

第3回ACRIは、Da Jin Li大会長のもと、2025年10月に中国・深圳市で開催予定です。また、第4回ACRIは、2026年に国際生殖免疫学会との合同開催として韓国・釜山で行われる予定です。免疫学的治療は、生殖補助医療においても欠かせない治療となりつつあります。日本IVF学会からも、多くの皆様のご参加をお待ちしております。



写真1 Invited speakers



受付 2025年2月2日 / 受理 2025年2月4日



写真2 懇親会にて



写真3 永松先生特別講演



写真4 シンポジウムでの筆者



写真5 山谷先生ベストポスター賞



写真6 伊野先生ベスト口演賞

FSANZ 2024 (パース) 参加報告：学びと気づきの旅

小宮 慎之介

HORAC グランフロント大阪クリニック 関西医科大学大学院 産科学婦人科学講座

参加のきっかけと目的

今回、FSANZ2024に参加する機会をいただいたのは、JSRM(日本生殖医学会)のジョイントセッションでの発表に声をかけていただいたことがきっかけでした。関西医大大学院で取り組んでいた細菌叢解析に関する研究を、国際的な舞台で発表する貴重な機会となりました。自分の研究が海外の専門家たちにどう受け止められるのか、期待と緊張が入り混じる中、オーストラリア・パースへの旅が始まりました。

パースの街と会場の雰囲気

パースは、落ち着いた雰囲気の過ごしやすい街でした。学会会場と宿泊ホテルが同じだったため、移動の手間が少なく、時間を有効に使えたのがありがたかったです。ホテルにはカジノもあり、夜のひとときを楽しむ人々の姿も見られました。ただ、到着が深夜だったせいか、予約していた部屋が他のゲストに提供されてしまい、部屋がダウングレードされるというハプニングも。それでも、広々とした部屋で快適に過ごせました。ただ、部屋のアイロンを使ったら水垢が大量に出てきて、「オーストラリアの人はアイロンを使わないのかな?」と思ったりもしました。

印象に残った講演とディスカッション

学会では、数多くの興味深い講演が行われましたが、特に心に残ったのは、Christophe Blockeel氏 (Brussels IVF) による「The impact of war on the provision of IVF in Ukraine」という講演でした。2020年には32,664周期もあったウクライナのIVF治療が、戦争によってどのような影響を受けたのか。戦禍に巻き込まれた胚の管理や、医療インフラの崩壊がもたらす深刻な状況について、考えさせられる内容でした。日本では本土が戦地になる可能性は低いかもしれませんが、大規模地震などで広範囲にわたって日常診療が停止するリスクはあります。ウクライナやイスラエルのIVFの動向を注視し、積極的に情報を取りに行く姿勢の重要性を強く感じました。

また、全体を通じて、ESHRE(欧州生殖医学会)を意識した内容の講演が多く見られました。ガイドラインやadd-ons(追加治療)への対応、システマティックレビューやメタアナリシスに関する発表が目立ち、日本の学会との違いを実感しました。国際的な視点で生殖医療を捉えることの重要性を改めて認識しました。



写真1 学会受付はシンプル



写真2 非常に広い学会会場

受付 2025年2月2日 / 受理 2025年2月5日

現地での交流とネットワーキング

学会のパーティーは、パースの高台にあるおしゃれなレストラン「Fraser's Restaurant Kings Park」で開催されました。会場までの移動は各自で行う必要があり、バスと電車を乗り継ぎながらGoogle Mapを頼りに到着。スワン川のほとりに広がる緑豊かな公園の中にあるレストランで、シティの夜景を眺めながらワインを楽しみ、参加者たちと歓談しました。「シドニーと違ってこのチルい雰囲気がいいでしょ!」と信じられない量のワインを飲んでいた現地の方に言われましたが、初めてのオーストラリア、初めてのパースだったので、比較のしようがなく、あいまいな返事をしてしまったのが悔やまれます。

パーティーでは、アデレード大学やモナシュ大学の医師や培養士の方々と情報交換を行いました。特に、オーストラリアと日本の保険制度の違いについて話が盛り上がりました。後半は皆さんが踊り狂っていたので、私は早めに退散。Uberがなかなか捕まらず、最終的には電動キックボードで深夜のパース市街を滑走しながらホテルに戻りました。街中には浮浪者がおらず、公園では街灯が煌々と照らされ、定期的にスプリンクラーから放水される仕組みが整っていて、清潔で安全な印象を受けました。夜11時頃なのに、中学生くらいの団体がバスケット

ボールの練習をしている光景も印象的でした。

また、偶然にも到着してすぐのモーニングセッションでRobert Norman先生(Adelaide Medical School)と同じテーブルに着席し、色々とお話できたのは貴重な経験でした。先生の温かい人柄と、研究に対する情熱に触れ、自分自身のモチベーションも高まりました。Norman先生は、ジョイントセッションの座長も担当いただきまして、本当にお世話になりました。

今後の活動と展望

現在は大学院を修了し、HORACグランフロント大阪クリニックでの臨床業務に従事していますが、今回の学会を通じて、学術的視点を持ち続けることの重要性を改めて実感しました。日々の臨床の有効性や質について振り返り、国内外の学会で発表を行うことで、自分自身の成長につなげていきたいと思います。また、細菌叢解析に関連した研究も引き続き進め、新しい知見を発信していくことができればと考えています。

FSANZ 2024への参加は、学びと気づきに満ちた貴重な経験でした。このような機会をいただいたことに心から感謝し、今後の活動に活かしていきたいと思っています。



写真3 バスにも乗りました



写真4 想像できる一番密な会場



写真5 ものすごい勢いの放水



写真6 相棒(電動スクーター)



写真7 Norman先生と私

お知らせ

第28回 日本IVF学会学術集会のご案内

共催：日本臨床エンブリオロジスト学会
日本生殖看護学会

ご挨拶

この度第28回日本IVF学会学術集会の大会長を仰せつかりました、空の森クリニックの徳永義光と申します。今回は新たに日本IVF学会理事長に就任された古井憲司先生のもと新体制で臨む初めての学術集会です。このような記念すべき大会を沖縄で開催できることを大変光栄に存じます。

例年日本臨床エンブリオロジスト学会と併催していますが、今年は2日目午後は日本生殖看護学会とも併催することになりました。

沖縄は地理的に台湾や中国そして東南アジアの国々と近く、そのため歴史的にもこれらの国々と深い関係をもってきました。沖縄の民謡に「唐ぬ世から大和ぬ世、大和ぬ世からアメリカ世、みじらさ変わたる比ぬ沖縄」という一節があります。中国への朝貢にて成立した琉球王国、中継貿易で栄えた時代、明治政府による日本国への編入、戦後のアメリカ統治時代、そして日本復帰とめまぐるしく変わる沖縄の様を歌っています。時代の局面で沖縄は生存をかけて選択を行なってきました。大国のパワーバランスの変化に伴い沖縄は新たな大波にさらされ、今重大な選択を迫られつつあります。

生殖医療もこの半世紀の間にめまぐるしく変化してきました。ヒトでのIVFの成功から始まりICSIと男性因子に対する治療の発展、胚凍結融解移植の確立、OHSSの無い安全な治療の確立、そしてついに不妊治療保険診療化が実現しました。しかしながら治療年齢の上昇や卵巣機能低下への対処、婦人科疾患合併患者への治療戦略、がんサバイバーの妊孕性温存と治療の難しさ、そして子供を持たないカップルへの対応など課題は山積みです。

また昨今世界の生殖補助医療は莫大な資本によるグローバルグループ化という大波にさらされつつあります。日本も例外ではなく、まさに今重大な選択を迫られていると言えるでしょう。

今学術集会では新しいARTの技術、世界のART・日本のART、1日目後半は日本臨床エンブリオロジスト学会セッション、2日目後半は日本生殖看護学会との合同セッションを予定しております。さらにグラフィックデザイナーの佐藤卓氏と文化人類学者の竹村眞一氏を迎え特別対談も予定しております。

多くの方々がここ沖縄に集い、日本の生殖医療の未来について語り合ってくださいと存じます。皆様のご支援を心からお願い申し上げます。



日本IVF学会 理事長 古井憲司
第28回 日本IVF学会学術集会 会長 徳永義光

第28回 日本IVF学会学術集会 in 沖縄

境界と選択

2025年

10月11日(土)・12日(日)

2日目午後は

日本生殖看護学会との共同開催です。

【会場】

ホテルコレクティブ

那覇市・国際通り沿い

【共催】

日本生殖看護学会

日本臨床エンブリオロジスト学会

【大会長】

徳永義光

医療法人杏月会 空の森クリニック理事長

日本IVF学会インスタグラム



作画 黒塚藍子

JSAR

「生殖医療センター開設後 10 年間からみた当科の臨床成績 (佐伯 信一朗, 他)」
著者の申し出により, 本論文の掲載を取り下げました。

日本 IVF 学会雑誌発行における 投稿論文募集のお知らせ

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

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

次号の発行は 2025 年 9 月を予定いたしております。因みに原稿の締め切りは 2025 年 8 月 1 日 (金) とさせていただきます。

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

取り扱いテーマ

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

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

1. 本誌の目的と対象読者

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

2. 投稿資格

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

3. 投稿内容と種類

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

4. 倫理的配慮

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

5. 利益相反

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

6. 投稿論文の採否

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

7. 著作権

本誌掲載論文の著作権は本学会に帰属する。

8. 執筆要項

- 1) 原稿は、原則としてパーソナルコンピュータ上のWordで作成する。
- 2) 原稿は原則として日本語とし、A4版横書き、11ポイント、1ページに約1,200字(40字×30行)とする。
- 3) 投稿原稿の1編は、本文、文献、図表を含めて以下の枚数以内とする。
原著論文 8枚(約9,600字以内)
総説 8枚(約9,600字以内)
研究報告 8枚(約9,600字以内)
短報 4枚(約4,800字以内)
症例報告 4枚(約4,800字以内)
レター 2枚(約2,400字以内)
その他 8枚(約9,600字以内)

<原著論文/研究報告>

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

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

①雑誌

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

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

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

②書籍

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

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

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

③ウェブサイト

そのページの題名. ウェブサイト名. 入手先URL,
(入手日付)

〈例1〉倫理に関する見解. 公益社団法人日本産科婦人科学会.

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

④ウェブサイトから入手した文献

著者名. 文献名. 版表示, 出版年. 入手先URL,
(入手日付)

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

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

⑤学会ガイドライン

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

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

<総説>

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

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

<短報/症例報告>

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

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

<レター>

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

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

9. 原稿の送付方法

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

詳細はウェブサイト

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

10. 別刷申し込み

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

一般社団法人 日本IVF学会 定款

第1章 総 則

(名 称)

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

(目 的)

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

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

(主たる事務所の所在地)

第3条 当法人は、主たる事務所を横浜市に置く。

(公告方法)

第4条 当法人の公告は、官報に掲載して行う。

(機 関)

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

第2章 社員及び会員

(会員の資格及び種別)

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

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

(社 員)

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

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

(入 会)

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

(会 費)

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

(正会員の権利)

第10条 正会員は次の権利を有する。

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

(退社又は退会)

第11条 社員は、次に掲げる事由によって退社する。

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

2 会員は、次に掲げる事由によって退会する。

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

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

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

(社員名簿及び会員名簿)

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

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

第3章 社員総会

(招 集)

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

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

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

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

(招集手続の省略)

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

(議長)

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

(決議の方法)

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

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

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

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

(社員総会の決議の省略)

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

(議決権の代理行使)

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

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

(社員総会議事録)

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

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

第4章 役員

(役員等)

第20条 当法人に次の役員を置く。

- | | |
|----------|-----------|
| (1) 理事長 | 1名 |
| (2) 副理事長 | 若干名 |
| (3) 常務理事 | 20名以内 |
| (4) 理事 | 3名以上37名以内 |
| (5) 監事 | 3名以内 |

(役員等の職務)

第21条 当法人の役員等の職務は次のとおりとする。

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

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

(理事の資格)

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

(理事及び監事の選任の方法)

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

2 副理事長及び常務理事の選任規程は別に定める。

(代表理事)

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

2 理事長は、法人法上の代表理事とする。

3 理事長は、当法人を代表し会務を総理する。

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

(理事及び監事の任期)

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

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

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

(報酬等)

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

(監事の職務及び権限)

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

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

第5章 理事会

(招集)

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

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

3 理事長に事故若しくは支障があるときは、副理事長がこれを招集する。

(招集手続の省略)

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

(議長)

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

(理事会の決議)

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

(理事会の決議の省略)

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

(職務の執行状況の報告)

第33条 理事長は、自己の職務の執行の状況を理事会に報告するものとする。

(理事会議事録)

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

第6章 会 計

(事業年度)

第35条 当法人の事業年度は、毎年8月1日から翌年7月31日までとする。

(計算書類等の定時社員総会への提出等)

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

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

(計算書類等の備置き)

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

(剰余金の不配当)

第38条 当法人は、剰余金の配当はしないものとする。

第7章 解散及び清算

(解散の事由)

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

(残余財産の帰属)

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

第8章 附 則

(設立時社員の氏名及び住所)

第41条 当法人の設立時社員の氏名及び住所は、次のとおりである。

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

(設立時役員)

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

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

(最初の事業年度)

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

(定款に定めのない事項)

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

上記は当法人の定款に相違ありません。

一般社団法人日本 IVF 学会
代表理事 古 井 憲 司

令和6年10月6日 改訂

一般社団法人 日本IVF学会 役員

Japan Society of Assisted Reproduction

- 理事長 古井 憲司 (クリニックママ 理事)
- 副理事長 大須賀 稔 (帝京大学臨床研究センター センター長, 教授)
徳永 義光 (空の森クリニック 理事長)
- 常務理事 石川 元春 (つかさクリニック堺東 顧問)
岩瀬 明 (群馬大学大学院 医学系研究科 産科・婦人科学 教授)
岡田 英孝 (関西医科大学 産婦人科学 主任教授)
沖津 摂 (楠原ウイメンズクリニック 培養室長)
梶山 広明 (名古屋大学大学院 医学系研究科 産婦人科学 教授)
加藤 恵一 (加藤レディースクリニック 院長)
甲賀かをり (千葉大学大学院 医学系研究科 産婦人科学 教授)
柴原 浩章 (英ウイメンズクリニック 生殖免疫医療研究所 所長, 理事長補佐)
杉山 カー (杉山産婦人科 理事長)
鈴木 直 (聖マリアンナ医科大学 産婦人科学 主任教授)
高見澤 聡 (杉山産婦人科 新宿 副院長)
竹内 一浩 (竹内レディースクリニック 理事長・院長)
中岡 義晴 (IVFなんばクリニック 院長)
詠田 由美 (アイブイエフ詠田クリニック 院長)
廣田 泰 (東京大学大学院 医学研究科 産婦人科学 教授)
細井 美彦 (近畿大学 特任教授)
三谷 匡 (近畿大学生物理工学部 遺伝子工学科学科 科長・教授)
向田 哲規 (広島HARTクリニック 院長)
吉田 淳 (木場公園クリニック 理事長)
- 理事 安藤 寿夫 (豊橋市民病院総合生殖医療センター センター長)
岩佐 武 (徳島大学大学院 医学研究科 産婦人科学 教授)
小野 政徳 (東京医科大学 産婦人科学 准教授)
片桐由起子 (東邦大学 医学部 産婦人科学 講座 教授)
河村 寿宏 (田園都市レディースクリニック 理事長・院長)
古賀 文敏 (古賀 文敏レディースクリニック 理事長・院長)
島田 昌之 (広島大学大学院 統合生命科学研究科 教授)
杉本 公平 (獨協医科大学 埼玉医療センター リプロダクションセンター 教授)
中山 貴弘 (足立病院 生殖内分泌医療センター 長)
藤原 浩 (越智夢クリニック 名古屋 常勤顧問)
松田 和洋 (松田ウイメンズクリニック 院長)
三宅 貴仁 (三宅医院 院長)
森本 真晴 (IVFなんばクリニック 副院長)
矢野 浩史 (矢野産婦人科 院長)
- 監事 塩谷 雅英 (英ウイメンズクリニック 理事長)
森本 義晴 (HORAC グランフロントクリニック 院長 / IVF JAPAN CEO)
山下 正紀 (山下レディースクリニック 院長)

(50音順)

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

(2025年4月14日現在)

編集委員会

- 編集委員長 柴原 浩章 (英ウイメンズクリニック)
- 副編集委員長 岩佐 武 (徳島大学医学部産婦人科)
沖津 摂 (楠原ウイメンズクリニック)
- 編集委員 木村 直子 (山形大学農学部)
熊谷 仁 (京野アートクリニック盛岡)
黒田 恵司 (杉山産婦人科 丸の内)
竹内 一浩 (竹内レディースクリニック)
千葉 公嗣 (神戸大学泌尿器科)
鍋田 基生 (つばきウイメンズクリニック)
平山 史朗 (東京リプロダクティブカウンセリングセンター)
藤ノ木 政勝 (獨協医科大学 実験動物センター)
古橋 孝祐 (英ウイメンズクリニック)
山谷 文乃 (兵庫医科大学医学部産科婦人科)
脇本 裕 (兵庫医科大学医学部産科婦人科)

(50音順)

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

(2025年4月1日改訂)

-
- 発行責任者 理事長 古井 憲司

発行日：2025年4月25日 制作：株式会社デュナミス

発行者：一般社団法人 日本IVF学会 印刷所：有限会社長谷川印刷



日本IVF学会雑誌

Vol.28 No.1

www.jsar.or.jp
