

ISSN 1881-9028

日本IVF学会雑誌

Vol.17 No.1

2014



論文

— 総説 —

- 卵胞発達における卵母細胞由来の増殖因子の役割 3

江森 千紘, 川崎 紅, 杉浦 幸二

東京大学大学院農学生命科学研究科応用動物科学専攻応用遺伝学研究室

— 総説 —

- アンチエイジングと妊娠力の維持 9

米井 嘉一, 八木 雅之

同志社大学大学院生命医科学研究科 アンチエイジングリサーチセンター・糖化ストレス研究センター

— 総説 —

- がん患者の主治医の立場からみた、がん・生殖医療における問題点 15

鈴木 直

聖マリアンナ医科大学産婦人科学講座

— 総説 —

- AMH (アンチミュリアンホルモン) と卵巣予備能 19

浅田 義正, 廣岡 孝, 浅田 美佐, 近藤 麻奈美, 木下 孝一, 薬師 義弘, 滝口 修司, 羽柴 良樹

浅田レディース名古屋駅前クリニック

浅田レディース勝川クリニック

— 原著 —

- ART におけるホルモン補充の現状 — 日本 IVF 学会によるアンケート調査の結果 — 25

東口 篤司

KKR 札幌医療センター斗南病院 生殖内分泌科

— 原著 —

卵巣機能予備能力消失症例に対する卵胞発育

- および卵獲得からみたホルモン基礎値の後方視的検討 34

片桐 由起子, 松江 陽一, 福田 雄介, 三枝 美智子, 宗 晶子, 北村 衛, 森田 峰人

東邦大学医療センター大森病院産婦人科

— 原著 —

子宮腺筋症の筋層肥厚と妊孕性

- 経膈超音波検査での簡易な子宮腺筋症スクリーニング評価法を用いての検討 — 38

本庄 考, 日高 直美, 西村 佳与子, 詠田 由美

医療法人アイブイエフ詠田クリニック

— 原著 —

初期胚の形態的解析により良好胚盤胞の獲得を予想できるか?

- タイムラプスシネマトグラフィーによる時間軸と細胞分裂周期の解析 — 43

堤 麻由子, 阿部 亜佳音, 稲井 仁美, 町屋 礼, 逢澤 純世, 佐藤 百合子, 鈴木 寛規,

田中 可子, 鈴木 雅美, 吉井 紀子, 武田 信好, 小田原 靖

ファティリティクリニック東京

— 原著 —

早発卵巢不全患者の卵巢刺激に対する当院のプロトコルの有用性： 採卵率と早期黄体化の検討	48
川越 雄太 ¹ ，河村 和弘 ^{1,2} ，星名 真理子 ¹ ，水町 静華 ¹ ，西島 千絵 ³ ，吉岡 伸人 ^{1,2} ， 高江 正道 ^{1,2} ，洞下 由記 ^{1,2} ，杉下 陽堂 ^{1,2} ，田中 守 ^{1,2} ，鈴木 直 ^{1,2} ，石塚 文平 ⁴ ¹ 聖マリアンナ医科大学病院 生殖医療センター ² 聖マリアンナ医科大学病院 産婦人科学教室 ³ 横浜市立西部病院 ⁴ 聖マリアンナ医科大学 高度生殖医療技術開発講座	

— 短報 —

単一胚移植における妊娠初期の血中 hCG 値に影響を与える要因についての検討	53
中山 奈央子，河野 恵美子，市橋 佳代，赤松 芳恵，佐藤 学，姫野 隆雄， 大西 洋子，井上 朋子，伊藤 啓二郎，中岡 義晴，森本 義晴 医療法人三慧会 IVF なんばクリニック 生殖技術部門	

日本 IVF 学会雑誌発行における投稿論文募集のお知らせ	56
日本 IVF 学会雑誌 投稿規定	57
日本 IVF 学会会則	58
日本 IVF 学会役員	60
編集委員会	60

卵胞発達における卵母細胞由来の増殖因子の役割

江森 千紘*, 川崎 紅*, 杉浦 幸二

東京大学大学院農学生命科学研究科応用動物科学専攻応用遺伝学研究室 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

* Equally contributed

要 旨： 哺乳類卵母細胞の発達には、その周囲に存在する卵丘細胞が重要な役割を果たす。卵丘細胞の発達には、卵母細胞が分泌する増殖因子群（卵由来シグナル）は重要である。卵母細胞はTransforming growth factor beta (TGF- β) スーパーファミリーに属する増殖因子や線維芽細胞増殖因子を分泌しており、これらの増殖因子が協調的に作用して卵由来シグナルとして働く。卵丘細胞の発達制御には、卵由来シグナルに加えて、下垂体から分泌される性腺刺激ホルモンやエストロゲンなどのステロイドホルモンが複雑に関与している。最近の研究により、卵由来シグナルはどのように他の卵胞内シグナルとかかわり、卵丘細胞の発達を制御するのか明らかになりつつある。本稿では、卵胞の発達における卵由来のシグナルの役割について、特にエストロゲンとのかかわりを中心に、最近の知見を含めて概説する。

キーワード： 卵丘細胞, 卵母細胞, 卵胞, エストロゲン

緒 言

哺乳類卵胞の発達過程において、卵母細胞とその周りの顆粒膜細胞は密接に助け合いながら発達する。例えば、顆粒膜細胞は卵母細胞の成長、減数分裂停止や再開、受精能の獲得、さらに、卵母細胞内での転写活性制御などに必要である。一方、卵母細胞は多くの増殖因子を分泌し（以下、「卵由来シグナル」）、顆粒膜細胞の増殖、分化、機能を制御する。このような卵母細胞と顆粒膜細胞の関係は「卵—顆粒膜細胞間の双方向コミュニケーション (Bi-directional communication between oocytes and granulosa cells)」と呼ばれ、卵胞が正常に発達し、機能的な卵子を産生するためには不

可欠な機構である(図1)^{1, 2)}。

卵母細胞はこの双方向コミュニケーションにおいて主導権を握り、卵胞発達に中心的な役割を果たすと考えられているが^{3, 4)}、卵母細胞がどのように周囲の顆粒膜細胞の分化・機能、さらに最終的には卵胞発達をも制御するのかについては未解明な点が多い。しかし最近の研究により、卵由来シグナルは、エストロゲンなど他の卵胞内シグナルと相互に影響を及ぼしながら顆粒膜細胞の分化・機能制御を行っていることが明らかになりつつある。以下では、卵胞や顆粒膜細胞の発達における卵由来シグナルの役割について、特にエストロゲンとのかかわりに焦点を当て紹介する。

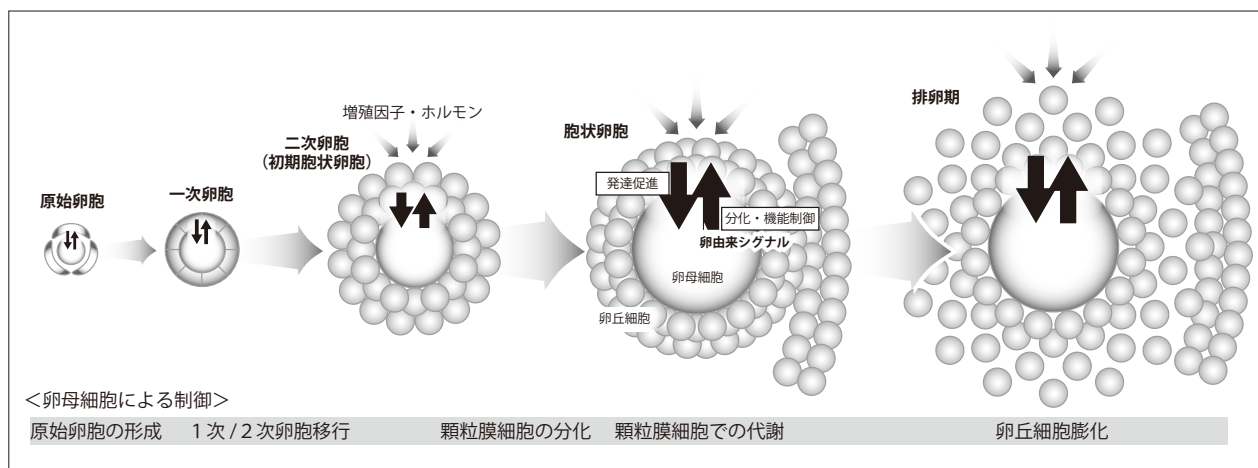


図1 各卵胞発達ステージにおける卵母細胞の役割

受付 2013年12月17日/受理 2014年2月4日

著者連絡先: 杉浦 幸二 e-mail [aks@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp]

卵由来シグナル

哺乳類の卵母細胞はトランスフォーミング増殖因子 β (Transforming growth factor β : TGF- β) スーパーファミリーに属するタンパク質を多く分泌している。中でも骨形成因子の一種Bone morphogenetic protein 15 (BMP15)や成長分化因子の一種Growth differentiation factor 9(GDF9)は、それらをコードする遺伝子に変異を持つマウスやヒツジで妊孕性異常が見られることから、広く研究されている。

例えば、BMP15遺伝子にホモ変異を持つヒツジでは、オスの妊孕性は正常なのに対して、メスでは一次卵胞期以降の発達に異常がみられ不妊となる⁵⁾。また、*Bmp15*遺伝子欠損(*Bmp15*^{-/-})マウスでは、ヒツジでみられるような顕著な卵胞発達の異常は報告されていないが、排卵数の減少による妊孕性の低下が知られる⁶⁾。さらに、卵母細胞はBMP15以外にもBMP6を分泌しており、*Bmp6*欠損マウスでは顆粒膜細胞の黄体形成ホルモン(LH)の応答性が低下することによる排卵数の減少が報告されている⁷⁾。合成タンパク質を用いた培養下での実験では、BMPシグナルがウシ顆粒膜細胞のアポトーシスを抑制し⁸⁾、ラットにおいてFSH依存的に顆粒膜細胞の増殖を促進⁹⁾、さらに、マウスでは卵丘細胞の膨化や¹⁰⁾、線維芽細胞増殖因子の一種Fibroblast growth factor 8(FGF8)と共に働いて顆粒膜細胞での解糖などの代謝活性を促進することが報告されている¹¹⁾。しかし、BMP15の合成タンパク質は、その活性に動物種ごとに大きな差があることが知られており、これらBMP15合成タンパク質により得られた知見が、実際に生体内現象を反映しているのか、また哺乳類一般に適用できるのかについては、今後の検討課題である¹²⁾。

一方、GDF9についても、*Gdf9*欠損(*Gdf9*^{-/-})マウスの卵巣では卵胞発達が正常に進行せず、一次卵胞期で発達停止してしまうため不妊となる¹³⁾。GDF9遺伝子に変異を持つヒツジでも同様の表現型を示す^{14,15)}。さらに培養実験により、GDF9合成タンパク質は顆粒膜細胞でのLH受容体の発現の抑制¹⁶⁾、卵丘細胞の膨化の促進¹⁷⁾、さらには、顆粒膜細胞の増殖促進¹⁸⁾などに関与することが明らかとなっている。これらのことから、卵母細胞の分泌するTGF- β スーパーファミリータンパク質は、卵胞の発達制御に特に重要であると考えられている¹⁹⁾。

ヒトにおいても、GDF9遺伝子のある種の変異が、双子を持つ親に有意に多いことや、BMP15やGDF9遺伝子の変異が、卵巣機能の不全に関与することが示唆されている²⁰⁻²⁷⁾。したがって、これらBMP15やGDF9は、ヒトにおいても女性の妊孕性決定に重要な役割を果た

す可能性が高い^{28,29)}。

卵母細胞の分泌するGDF9とBMP15は、卵胞発達過程において相乗的に作用することが報告されている。前述のように*Bmp15*ノックアウト(*Bmp15*^{-/-})マウス卵巣では顕著な異常は見られず、また*Gdf9*ヘテロ欠損(*Gdf9*^{+/-})マウスにおいても卵巣に異常は報告されていない。ところが、*Bmp15*遺伝子のホモ欠損に加え、*Gdf9*遺伝子のヘテロ欠損を有する(*Bmp15*^{-/-}/*Gdf9*^{+/-})マウスでは、顆粒膜細胞の分化が正常に起こらず、完全な不妊になってしまう⁶⁾。また、合成タンパク質を用いた培養実験では、BMP15とGDF9を同時に培養液に添加することで、それぞれ単独で添加した場合に比べて、顆粒膜細胞の増殖やステロイド産生に対する影響がより顕著になる³⁰⁻³²⁾。したがって、このようなBMP15とGDF9の相乗的な効果は、培養下でも再現することができる。BMP15とGDF9がどのようなにはたらいて相乗的な効果を発揮するのかについては、不明な点が多いが、最近の研究ではBMP15とGDF9が結合したBMP15/GDF9ヘテロ2量体の関与が示唆されている³³⁾。

卵由来シグナルとエストロゲンの相互作用

卵由来シグナル以外に、卵胞の発達に重要な役割を果たす要因のひとつとして、エストロゲンのシグナルが挙げられる。エストロゲンの主な受容体としてはEstrogen receptor 1 (ESR1) およびESR2(それぞれEstrogen receptor α および β としても知られている)が存在する³⁴⁾。顆粒膜細胞では主にESR2が発現しており、*Esr2*遺伝子欠損マウスでは、卵胞発達が減弱し³⁵⁾、さらに排卵数の減少によりメスの妊孕性が低下する³⁶⁾。この排卵数が減少する原因の一つとして、*Esr2*遺伝子欠損マウス卵巣における顆粒膜細胞の分化・機能の異常が報告されており³⁷⁾、エストロゲンは顆粒膜細胞の分化や機能制御に重要であることが示唆される。

顆粒膜細胞の発達に対するエストロゲンと卵由来シグナルの相互作用の重要性については、ラット顆粒膜細胞を用いた研究で初めて報告された。エストロゲンは、顆粒膜細胞に対する卵胞刺激ホルモン(FSH)の作用を増強することは古くから知られているが^{38,39)}、この研究ではラット顆粒膜細胞を用いて、エストロゲンによるFSH増強作用に卵母細胞由来の因子が必要であることを報告している⁴⁰⁾。我々も、マウス卵丘細胞を用いて、その発達と機能維持には、卵由来シグナルとエストロゲンの両方が必須であり、どちらか単体では十分ではないことを報告してきた⁴¹⁾。さらに、卵母細胞の減数分裂制御

に卵丘細胞でのnatriuretic peptide receptor 2 (NPR2) タンパク質が重要であるが⁴²⁾, 卵丘細胞での*Npr2*の発現促進には卵由来シグナルとエストロゲンの両方が必要である⁴³⁾. これらの報告は, 卵胞発達制御においてエストロゲンと卵由来シグナルの相互作用の重要性を示唆している.

卵由来シグナル・エストロゲン相互作用による 卵丘細胞遺伝子発現制御

そこで我々は, エストロゲンと卵由来シグナルがお互いに与え合う影響と, これらが共に働くことによって, 卵丘細胞内で具体的にどのような現象が制御されているのかを解明するためにマイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析および遺伝子オントロジー解析を行った⁴⁴⁾. 具体的には, 良く発達した胞状卵胞より採取した卵丘細胞および卵母細胞を用いて, 卵丘細胞を単独, または卵由来シグナルやエストロゲンの存在下で培養し卵丘細胞における遺伝子発現を解析した. また, 卵母細胞と卵丘細胞間のギャップ結合などの接触を介したコミュニケーションと, 卵由来の分泌因子を介したコミュニケーションを比較するため, 卵丘細胞を卵母細胞との複合体として培養した場合(すなわち接触と分泌の両シグナルのある場合)と, 卵丘細胞を卵母細胞より単離し, さらに卵母細胞と共培養した場合(分泌シグナルのみで接触はない場合)での卵丘細胞での遺伝子発現についても比較した.

まず, 卵母細胞との接触の有無による卵丘細胞での遺伝子発現の違いを解析したところ, 両者の遺伝子発現に有意な違いは全く認められなかった⁴⁴⁾. このことは, 十分に発達した胞状卵胞では, 卵母細胞による卵丘細胞内での遺伝子発現制御に関しては, ギャップ結合など接触を介したシグナルよりも, 卵母細胞からの分泌シグナルが重要な役割を果たしていることを示唆している. しかしながら, ギャップ結合タンパク質であるGap junction protein, alpha 4 (connexin 37としても知られている)の欠損マウスでは, 卵胞や卵母細胞が十分に発達できず, メスが不妊となる⁴⁵⁾. さらに, 卵母細胞の減数分裂停止維持にはギャップ結合を介した卵丘細胞から卵母細胞へのcGMPの移動が不可欠である^{46, 47)}. これらのことから, 卵胞や卵母細胞の発達においてギャップ結合を介したコミュニケーションの重要性は明らかである. しかし, 卵丘細胞の分化・機能制御に限定すると, 卵丘細胞が十分に発達した後は, 卵由来の分泌シグナルが主に卵丘細胞機能制御を担うと考えられる.

次に, 卵由来シグナルとエストロゲンがそれぞれ単独

で卵丘細胞での遺伝子発現に与える影響について見てみると, 両者ともそれぞれ単独で, 細胞増殖や代謝に関連した遺伝子の発現を卵丘細胞で促進した. これは, 卵由来シグナルやエストロゲンが卵丘細胞の増殖や代謝を促進することを報告した過去の知見と一致している^{11, 48-53)}. この時, エストロゲンの存在は卵由来シグナルによる卵丘細胞遺伝子発現制御に対して顕著な影響を与えなかったが, エストロゲンによる卵丘細胞遺伝子発現制御は卵由来シグナルによって顕著な影響を受けた⁴⁴⁾. すなわち, エストロゲンは上皮増殖因子 (Epidermal growth factor: EGF), 血小板由来増殖因子 (Platelet-derived growth factor: PDGF), 血管内皮増殖因子 (Vascular endothelial growth factor: VEGF) などのシグナル伝達にかかわる遺伝子群の発現を卵由来シグナル存在下でのみ促進するようになった. ブタにおいて, VEGFを強制発現させると莢膜細胞での血管新生制御が促進され卵胞発達が促進されること⁵⁴⁾, また, PDGFについては, ラット莢膜細胞の増殖促進や, 前胞状卵胞や黄体の発達にも重要な役割を果たすことが知られている⁵⁵⁻⁵⁷⁾. さらに, EGFシグナルは, 排卵期のLH刺激を卵胞内で仲介する重要なシグナルとして知られている⁵⁸⁾. このように, 卵由来シグナルとエストロゲンのシグナルによって, これらの卵胞発達に重要なシグナル伝達に関連する遺伝子発現が促進されることは非常に興味深い.

おわりに

本稿では卵由来シグナルとエストロゲンとのかかわりに焦点を当てて紹介した. 卵由来シグナルは, 他にも, 例えば顆粒膜細胞でのLHやFSH受容体の発現を制御し, それらのシグナルに影響を及ぼすことが知られている^{9, 59, 60)}. このように卵由来シグナルは, 他の多くの卵胞内シグナルとも影響を及ぼし合うことで, 卵丘細胞・顆粒膜細胞の発達や機能制御, さらには卵母細胞自体の発達制御に中心的な役割を果たす. 近年, 女性の出産年齢の高齢化に伴った「卵子老化」が社会的な問題となっているが, 加齢に伴って卵母細胞の質が低下してしまう原因については未解明な点が多い. 我々の予備研究では, 老齢マウスでは卵由来シグナルの減弱が確認され, これは老齢個体における卵由来シグナルの衰えが, 卵胞や卵丘細胞・顆粒膜細胞の正常な発達と, 発生能の高い卵子が生産されない原因の一つとなっている可能性を示唆している. 今後の, 卵由来シグナルのさらなる研究によって, 卵子老化などの問題解決につながる重要な知見が得られると期待できる.

参考文献

- Eppig, J. J.: Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction*, 122: 829-838, 2001.
- Sugiura, K., Konuma, R., Kano, K., Naito, K.: Role of oocyte-derived factors in ovarian follicular development and ovulation. *J. Mamm. Ova. Res.*, 28: 8-17, 2011.
- Matzuk, M. M., Burns, K. H., Viveiros, M. M., Eppig, J. J.: Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation. *Science*, 296: 2178-2180, 2002.
- Eppig, J. J., Wigglesworth, K., Pendola, F. L.: The mammalian oocyte orchestrates the rate of ovarian follicular development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 99: 2890-2894, 2002.
- Galloway, S. M., McNatty, K. P., Cambridge, L. M., Laitinen, M. P., Juengel, J. L., Jokiranta, T. S., McLaren, R. J., Luiro, K., Dodds, K. G., Montgomery, G. W., Beattie, A. E., Davis, G. H., Ritvos, O.: Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat. Genet.*, 25: 279-283, 2000.
- Yan, C., Wang, P., DeMayo, J., DeMayo, F. J., Elvin, J. A., Carino, C., Prasad, S. V., Skinner, S. S., Dunbar, B. S., Dube, J. L., Celeste, A. J., Matzuk, M. M.: Synergistic roles of bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 in ovarian function. *Mol. Endocrinol.*, 15: 854-866, 2001.
- Sugiura, K., Su, Y. Q., Eppig, J. J.: Does bone morphogenetic protein 6 (BMP6) affect female fertility in the mouse? *Biol. Reprod.*, 83: 997-1004, 2010.
- Hussein, T. S., Froiland, D. A., Amato, F., Thompson, J. G., Gilchrist, R. B.: Oocytes prevent cumulus cell apoptosis by maintaining a morphogenic paracrine gradient of bone morphogenetic proteins. *J. Cell. Sci.*, 118: 5257-5268, 2005.
- Otsuka, F., Yamamoto, S., Erickson, G. F., Shimasaki, S.: Bone morphogenetic protein-15 inhibits follicle-stimulating hormone (FSH) action by suppressing FSH receptor expression. *J. Biol. Chem.*, 276: 11387-11392, 2001.
- Yoshino, O., McMahon, H. E., Sharma, S., Shimasaki, S.: A unique preovulatory expression pattern plays a key role in the physiological functions of BMP-15 in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 103: 10678-10683, 2006.
- Sugiura, K., Su, Y. Q., Diaz, F. J., Pangas, S. A., Sharma, S., Wigglesworth, K., O'Brien, M. J., Matzuk, M. M., Shimasaki, S., Eppig, J. J.: Oocyte-derived BMP15 and FGFs cooperate to promote glycolysis in cumulus cells. *Development*, 134: 2593-2603, 2007.
- Pangas, S. A., Matzuk, M. M.: The art and artifact of GDF9 activity: cumulus expansion and the cumulus expansion-enabling factor. *Biol. Reprod.*, 73: 582-585, 2005.
- Dong, J., Albertini, D. F., Nishimori, K., Kumar, T. R., Lu, N., Matzuk, M. M.: Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature*, 383: 531-535, 1996.
- Hanrahan, J. P., Gregan, S. M., Mulsant, P., Mullen, M., Davis, G. H., Powell, R., Galloway, S. M.: Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*). *Biol. Reprod.*, 70: 900-909, 2004.
- Nicol, L., Bishop, S. C., Pong-Wong, R., Bendixen, C., Holm, L. E., Rhind, S. M., McNeilly, A. S.: Homozygosity for a single base-pair mutation in the oocyte-specific GDF9 gene results in sterility in Thoka sheep. *Reproduction*, 138: 921-933, 2009.
- Joyce, I. M., Clark, A. T., Pendola, F. L., Eppig, J. J.: Comparison of recombinant growth differentiation factor-9 and oocyte regulation of KIT ligand messenger ribonucleic acid expression in mouse ovarian follicles. *Biol. Reprod.*, 63: 1669-1675, 2000.
- Elvin, J. A., Clark, A. T., Wang, P., Wolfman, N. M., Matzuk, M. M.: Paracrine actions of growth differentiation factor-9 in the mammalian ovary. *Mol. Endocrinol.*, 13: 1035-1048, 1999.
- Vitt, U. A., Hayashi, M., Klein, C., Hsueh, A. J.: Growth differentiation factor-9 stimulates proliferation but suppresses the follicle-stimulating hormone-induced differentiation of cultured granulosa cells from small antral and preovulatory rat follicles. *Biol. Reprod.*, 62: 370-377, 2000.
- Edson, M. A., Nagaraja, A. K., Matzuk, M. M.: The Mammalian ovary from genesis to revelation. *Endocr. Rev.*, 30: 624-712, 2009.
- Teixeira Filho, F. L., Baracat, E. C., Lee, T. H., Suh, C. S., Matsui, M., Chang, R. J., Shimasaki, S., Erickson, G. F.: Aberrant expression of growth differentiation factor-9 in oocytes of women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 87: 1337-1344, 2002.
- Dixit, H., Rao, L. K., Padmalatha, V., Kanakavalli, M., Deenadayal, M., Gupta, N., Chakravarty, B., Singh, L.: Mutational screening of the coding region of growth differentiation factor 9 gene in Indian women with ovarian failure. *Menopause*, 12: 749-754, 2005.
- Laissue, P., Christin-Maitre, S., Touraine, P., Kuttann, F., Ritvos, O., Aittomaki, K., Bourcigaux, N., Jacquesson, L., Bouchard, P., Frydman, R., Dewailly, D., Reyss, A. C., Jeffery, L., Bachelot, A., Massin, N., Fellous, M., Veitia, R. A.: Mutations and sequence variants in GDF9 and BMP15 in patients with premature ovarian failure. *Eur. J. Endocrinol.*, 154: 739-744, 2006.
- Kovanci, E., Rohozinski, J., Simpson, J. L., Heard, M. J., Bishop, C. E., Carson, S. A.: Growth differentiating factor-9 mutations may be associated with premature ovarian failure. *Fertil. Steril.*, 87: 143-146, 2007.
- Zhao, H., Qin, Y., Kovanci, E., Simpson, J. L., Chen, Z. J., Rajkovic, A.: Analyses of GDF9 mutation in 100 Chinese women with premature ovarian failure. *Fertil. Steril.*, 88: 1474-1476, 2007.
- Dixit, H., Rao, L. K., Padmalatha, V. V., Kanakavalli, M., Deenadayal, M., Gupta, N., Chakravarty, B., Singh, L.: Missense mutations in the BMP15 gene are associated with ovarian failure. *Hum. Genet.*, 119: 408-415, 2006.
- Di Pasquale, E., Beck-Peccoz, P., Persani, L.: Hypergonadotropic ovarian failure associated with an

- inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 75: 106-111, 2004.
- 27) Di Pasquale, E., Rossetti, R., Marozzi, A., Bodega, B., Borgato, S., Cavallo, L., Einaudi, S., Radetti, G., Russo, G., Sacco, M., Wasniewska, M., Cole, T., Beck-Peccoz, P., Nelson, L. M., Persani, L.: Identification of new variants of human BMP15 gene in a large cohort of women with premature ovarian failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 91: 1976-1979, 2006.
 - 28) Montgomery, G. W., Zhao, Z. Z., Marsh, A. J., Mayne, R., Treloar, S. A., James, M., Martin, N. G., Boomsma, D. I., Duffy, D. L.: A deletion mutation in GDF9 in sisters with spontaneous DZ twins. *Twin. Res.*, 7: 548-555, 2004.
 - 29) Palmer, J. S., Zhao, Z. Z., Hoekstra, C., Hayward, N. K., Webb, P. M., Whiteman, D. C., Martin, N. G., Boomsma, D. I., Duffy, D. L., Montgomery, G. W.: Novel variants in growth differentiation factor 9 in mothers of dizygotic twins. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 91: 4713-4716, 2006.
 - 30) McNatty, K. P., Juengel, J. L., Reader, K. L., Lun, S., Myllymaa, S., Lawrence, S. B., Western, A., Meerasahib, M. F., Mottershead, D. G., Groome, N. P., Ritvos, O., Laitinen, M. P.: Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 co-operate to regulate granulosa cell function. *Reproduction*, 129: 473-480, 2005.
 - 31) McNatty, K. P., Juengel, J. L., Reader, K. L., Lun, S., Myllymaa, S., Lawrence, S. B., Western, A., Meerasahib, M. F., Mottershead, D. G., Groome, N. P., Ritvos, O., Laitinen, M. P.: Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 co-operate to regulate granulosa cell function in ruminants. *Reproduction*, 129: 481-487, 2005.
 - 32) Mottershead, D. G., Ritter, L. J., Gilchrist, R. B.: Signalling pathways mediating specific synergistic interactions between GDF9 and BMP15. *Mol. Hum. Reprod.*, 18: 121-128, 2011.
 - 33) Peng, J., Li, Q., Wigglesworth, K., Rangarajan, A., Kattamuri, C., Peterson, R. T., Eppig, J. J., Thompson, T. B., Matzuk, M. M.: Growth differentiation factor 9: bone morphogenetic protein 15 heterodimers are potent regulators of ovarian functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 110: E776-785, 2013.
 - 34) Couse, J. F., Korach, K. S.: Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us?. *Endocr. Rev.*, 20: 358-417, 1999.
 - 35) Cheng, G., Weihua, Z., Makinen, S., Makela, S., Saji, S., Warner, M., Gustafsson, J. A., Hovatta, O.: A role for the androgen receptor in follicular atresia of estrogen receptor beta knockout mouse ovary. *Biol. Reprod.*, 66: 77-84, 2002.
 - 36) Kregge, J. H., Hodgins, J. B., Couse, J. F., Enmark, E., Warner, M., Mahler, J. F., Sar, M., Korach, K. S., Gustafsson, J. A., Smithies, O.: Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor beta. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 95: 15677-15682, 1998.
 - 37) Emmen, J. M., Couse, J. F., Elmore, S. A., Yates, M. M., Kissling, G. E., Korach, K. S.: In vitro growth and ovulation of follicles from ovaries of estrogen receptor (ER) α and ER β null mice indicate a role for ER β in follicular maturation. *Endocrinology*, 146: 2817-2826, 2005.
 - 38) Adashi, E. Y., Hsueh, A. J.: Estrogens augment the stimulation of ovarian aromatase activity by follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *J. Biol. Chem.*, 257: 6077-6083, 1982.
 - 39) Zhuang, L. Z., Adashi, E. Y., Hsueh, A. J.: Direct enhancement of gonadotropin-stimulated ovarian estrogen biosynthesis by estrogen and clomiphene citrate. *Endocrinology*, 110: 2219-2221, 1982.
 - 40) Otsuka, F., Moore, R. K., Wang, X., Sharma, S., Miyoshi, T., Shimasaki, S.: Essential role of the oocyte in estrogen amplification of follicle-stimulating hormone signaling in granulosa cells. *Endocrinology*, 146: 3362-3367, 2005.
 - 41) Sugiura, K., Su, Y. Q., Li, Q., Wigglesworth, K., Matzuk, M. M., Eppig, J. J.: Estrogen Promotes the Development of Mouse Cumulus Cells in Coordination with Oocyte-Derived GDF9 and BMP15. *Mol. Endocrinol.*, 24: 2303-2314, 2010.
 - 42) Zhang, M., Su, Y. Q., Sugiura, K., Eppig, J. J.: Granulosa cell ligand NPPC and its receptor NPR2 maintain meiotic arrest in mouse oocytes. *Science*, 330: 366-369, 2010.
 - 43) Zhang, M., Su, Y. Q., Sugiura, K., Wigglesworth, K., Xia, G., Eppig, J. J.: Estradiol promotes and maintains cumulus cell expression of natriuretic peptide receptor 2 (NPR2) and meiotic arrest in mouse oocytes in vitro. *Endocrinology*, 152: 4377-4385, 2011.
 - 44) Emori, C., Wigglesworth, K., Fujii, W., Naito, K., Eppig, J. J., Sugiura, K.: Cooperative effects of 17 β -estradiol and oocyte-derived paracrine factors on the transcriptome of mouse cumulus cells. *Endocrinology*, 154: 4859-4872, 2013.
 - 45) Simon, A. M., Goodenough, D. A., Li, E., Paul, D. L.: Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature*, 385: 525-529, 1997.
 - 46) Norris, R. P., Ratzan, W. J., Freudzon, M., Mehlmann, L. M., Krall, J., Movsesian, M. A., Wang, H., Ke, H., Nikolaev, V. O., Jaffe, L. A.: Cyclic GMP from the surrounding somatic cells regulates cyclic AMP and meiosis in the mouse oocyte. *Development*, 136: 1869-1878, 2009.
 - 47) Vaccari, S., Weeks, J. L., 2nd, Hsieh, M., Menniti, F. S., Conti, M.: Cyclic GMP signaling is involved in the luteinizing hormone-dependent meiotic maturation of mouse oocytes. *Biol. Reprod.*, 81: 595-604, 2009.
 - 48) Rao, M. C., Midgley, A. R., Jr., Richards, J. S.: Hormonal regulation of ovarian cellular proliferation. *Cell*, 14: 71-78, 1978.
 - 49) Vanderhyden, B. C., Telfer, E. E., Eppig, J. J.: Mouse oocytes promote proliferation of granulosa cells from preantral and antral follicles in vitro. *Biol. Reprod.*, 46: 1196-1204, 1992.
 - 50) Lanuza, G. M., Fischman, M. L., Baranao, J. L.: Growth promoting activity of oocytes on granulosa cells is decreased upon meiotic maturation. *Dev. Biol.*, 197: 129-139, 1998.
 - 51) Li, R., Norman, R. J., Armstrong, D. T., Gilchrist, R. B.: Oocyte-secreted factor(s) determine functional differences between bovine mural granulosa cells and cumulus cells. *Biol. Reprod.*, 63: 839-845, 2000.
 - 52) Su, Y. Q., Sugiura, K., Wigglesworth, K., O'Brien, M. J., Affourtit, J. P., Pangas, S. A., Matzuk, M. M., Eppig, J. J.:

- Oocyte regulation of metabolic cooperativity between mouse cumulus cells and oocytes: BMP15 and GDF9 control cholesterol biosynthesis in cumulus cells. *Development*, 135: 111-121, 2008.
- 53) Sugiura, K., Pendola, F. L., Eppig, J. J.: Oocyte control of metabolic cooperativity between oocytes and companion granulosa cells: energy metabolism. *Dev. Biol.*, 279: 20-30, 2005.
 - 54) Shimizu, T., Jiang, J. Y., Iijima, K., Miyabayashi, K., Ogawa, Y., Sasada, H., Sato, E.: Induction of follicular development by direct single injection of vascular endothelial growth factor gene fragments into the ovary of miniature gilts. *Biol. Reprod.*, 69: 1388-1393, 2003.
 - 55) Nilsson, E. E., Detzel, C., Skinner, M. K.: Platelet-derived growth factor modulates the primordial to primary follicle transition. *Reproduction*, 131: 1007-1015, 2006.
 - 56) Sleer, L. S., Taylor, C. C.: Cell-type localization of platelet-derived growth factors and receptors in the postnatal rat ovary and follicle. *Biol. Reprod.*, 76: 379-390, 2007.
 - 57) Duleba, A. J., Spaczynski, R. Z., Arici, A., Carbone, R., Behrman, H. R.: Proliferation and differentiation of rat theca-interstitial cells: comparison of effects induced by platelet-derived growth factor and insulin-like growth factor-I. *Biol. Reprod.*, 60: 546-550, 1999.
 - 58) Park, J. Y., Su, Y. Q., Ariga, M., Law, E., Jin, S. L., Conti, M.: EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle. *Science*, 303: 682-684, 2004.
 - 59) Eppig, J. J., Wigglesworth, K., Pendola, F., Hirao, Y.: Murine oocytes suppress expression of luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acid by granulosa cells. *Biol. Reprod.*, 56: 976-984, 1997.
 - 60) Otsuka, F., Moore, R. K., Shimasaki, S.: Biological function and cellular mechanism of bone morphogenetic protein-6 in the ovary. *J. Biol. Chem.*, 276: 32889-32895, 2001.

アンチエイジングと妊娠力の維持

米井 嘉一, 八木 雅之

同志社大学大学院生命医科学研究科 アンチエイジングリサーチセンター・糖化ストレス研究センター
〒610-0394 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3

要 旨： 抗加齢（アンチエイジング）医学は健康増進と健康長寿を目的とする予防医学である。卵巣機能の劣化の背景因子として、メラトニン、成長ホルモン/インスリン様成長因子I（insulin-like growth factor-I: IGF-I）、DHEA（dehydroepiandrosterone）などのホルモン分泌の低下、酸化ストレス、糖化ストレスが挙げられる。糖化ストレスは、インスリン抵抗性が増加し高血糖状態が長く続くことにより、糖化最終生成物（advanced glycation end products: AGEs）の蓄積、RAGE（Receptor for AGE）シグナルの活性化が生じることである。卵巣機能の劣化要因は個人によって差異がある。最も大きな問題点を見つけ、それを是正することが肝要である。Poor responder症例に対しメラトニンやDHEA投与、糖化ストレス改善療法を導入した医療機関では生殖補助医療成績の向上が報告されている。卵巣機能の若返りと妊娠力の維持のために、アンチエイジング指導を行うことが有効である。

キーワード： メラトニン、インスリン様成長因子I（insulin-like growth factor-I: IGF-I）、DHEA-s（dehydroepiandrosterone-sulfate）、糖化ストレス、糖化最終生成物（advanced glycation end products: AGEs）

はじめに

抗加齢医学（アンチエイジング医学）は生活の質（QOL: Quality of Life）の改善と健康長寿を目指す学問であり、予防医学の範疇に属する¹⁾。今回、妊娠力についてアンチエイジング医学の観点から解説する。「妊娠力」の語句は生殖医療のカウンセリングで2009年頃より文献上に登場している^{2,3)}。一般向けには理解しやすい言葉だと思われる。著者自身も学生向けおよび大学院修士課程におけるアンチエイジングの系統講義のなかで、妊娠力の語句を用いて卵巣機能の老化の機序とその予防方法について解説している。アンチエイジングというと高齢者や中高年者のための学問と思われるがちであるが、若年者、特に若年女性にとって重要な課題である。

卵巣機能は全身の機能と深く関わっている。全身の機能が老化すれば卵巣も影響を被る。従って、卵巣から全身へ、全身から卵巣へと、全人的観点からの抗加齢医療を施すことは卵巣機能の劣化予防に有用である。抗加齢医療によって体外受精（*in vitro* fertilization: IVF）施行時の受精着床率の向上が期待できる^{4,5)}。

抗加齢医療の具体的な治療内容としては、食事療法、運動療法、精神療法といった生活指導が基本であるが、これに機能性食品・サプリメントの補充、抗酸化療法・

免疫強化療法・ホルモン補充療法・美容皮膚科的治療などの医学的療法が加わる。身体の中のどの部分が老化しているのか（老化度）、どのような老化危険因子があるのかを的確に判断して、指導にあたると良いだろう。

老化度と危険因子の診断

アンチエイジング療法に入る際には、老化度と危険因子を評価することを奨励している。アンチエイジングドック・健診では、老化度として骨年齢、血管年齢、筋年齢、精神神経年齢、ホルモン年齢といった機能年齢を評価し、最も衰えた部位を最重点治療対象として、全体のバランスを計るべく治療を行う（図1）¹⁾。老化を促進させる危険因子として、免疫ストレス、酸化ストレス、心身ストレス、糖化ストレス、生活習慣についても評価し、もっとも大きな危険因子を是正する。

ホルモン年齢

老化度のうちホルモン年齢が妊娠力に対し最も影響が強いと考えられる。ホルモン年齢は、加齢に伴って低下する血中ホルモン濃度により評価する¹⁾。

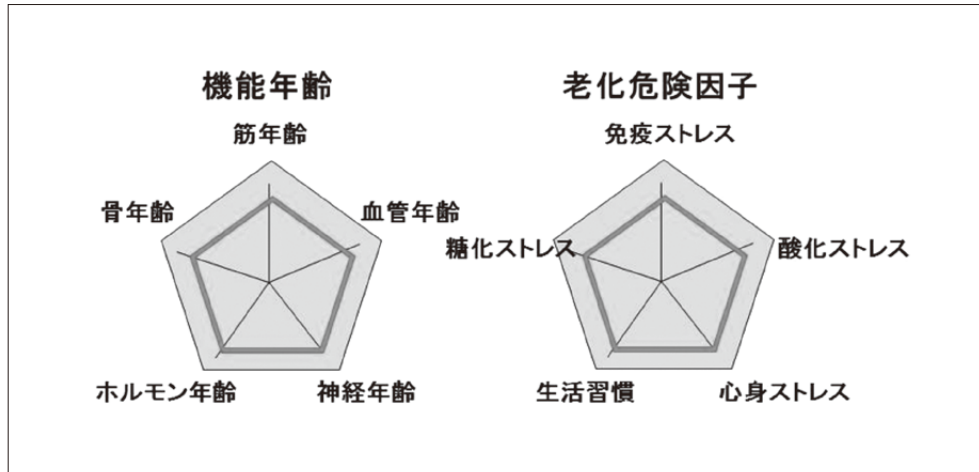


図1 老化度と老化危険因子

これらの指標を適切に評価し、老化の弱点（機能年齢の最も老化した部位）と最も大きな危険因子を重点的に是正する。アンチエイジングとは機能年齢の老化予防であり、若返りを意味する。文献 1) より改変引用。

1. 女性ホルモン

女性ホルモン(エストロゲン)のうち、卵巣から分泌され最も活性の強いエストラジオール (estradiol: E_2) は卵胞で産生される。出生時に卵巣には約200万個の原始卵胞があるが、毎月約1000個の卵胞(卵子)が消失し、初経をむかえる思春期には10～20万個まで減少する。卵巣の原始卵胞のプールが無くなると閉経となり、50歳前後で E_2 の周期性分泌が停止する。血中 E_2 値は閉経までほとんど低下しないが、閉経後は突然的に分泌が停止する。このような E_2 の急激な変化は、加齢に伴って緩徐に低下する他のホルモン変化とは大きく異なる⁵⁾。

エストロゲンは卵巣機能や卵成熟の調節、子宮内膜の増殖促進など生殖内分泌の中心的役割を担う。子宮、卵巣だけでなく、脳、血管、心臓、乳腺、腸管、骨などにエストロゲン受容体がある⁵⁾。エストロゲン欠乏は、生殖機能の低下のみならず、血管運動神経症状を中心とした更年期症状のほか、糖代謝や脂質代謝に悪影響を与え、骨塩量の減少速度を亢進させる⁵⁾。

抗加齢医療は卵巣機能の加齢に低下を予防し全身に好影響を及ぼすと考えられる。ホルモン補充療法(hormone replacement therapy: HRT)は低下、欠乏したエストロゲンを代償的に補うことが目的であるが、抗加齢療法も生殖機能を補助する。

卵胞数の減少やホルモン分泌低下が早いと閉経が早まり、40歳以前に閉経した場合、早発閉経(早発卵巣不全)と診断される。これには抗癌化学療法や放射線療法といった医原性のものや、自己免疫性疾患によるものなどがあるが、多くが原因不明である⁵⁾。

卵胞の減少速度は個人差が大きく、生活習慣、食生活、

妊娠、炎症性疾患の罹患など様々な因子が影響を及ぼす。卵胞消失を予防する有効な手段は確立されていないが、一般的な加齢のメカニズムと同様に、酸化ストレスの関与が推察される。従って酸化ストレスを抑制する抗酸化物質の使用は、卵胞の減少速度を低下させる可能性がある。

2. メラトニン

松果体ホルモンであるメラトニンは、松果体より分泌される中枢神経系ホルモンである。その分泌は明暗刺激により調節され、睡眠覚醒、体温、種々のホルモン分泌といった生体内リズムの調節に関与し、脂質代謝、糖代謝、発癌抑制や免疫調節など多様な作用を有することも明らかにされている^{6,7)}。

神経内分泌ホルモンとしての作用(受容体を介した作用)のみならず、活性酸素を消去する抗酸化作用(受容体を介さない直接作用)を有する。こうした細胞保護作用によって老化や加齢といった現象に対しても潜在効果が期待されている⁶⁾。

メラトニンは中枢を介さず、直接的に卵巣機能を調節している。以前から、卵胞液中に高濃度のメラトニンが存在することが知られていた。卵胞液中メラトニン濃度は卵胞発育に比例して増加するため排卵に向けて作用していると考えられる。卵胞は発育、成熟すると黄体形成ホルモン(luteinizing hormone: LH)サージによって排卵が誘発されるが、その過程で多量の活性酸素種が産生される⁵⁾。これらは排卵や卵成熟には必要な刺激だが、過剰な活性酸素は容易に卵胞内の卵子や顆粒膜細胞に酸化ストレスとして傷害を与え、卵の質を低下させるこ

4. DHEA-s (dehydroepiandrosterone-sulfate)

DHEA-sは体内でもっとも豊富に存在するステロイド系ホルモンで、これを源に性ホルモンや蛋白同化ホルモンなど、50種類以上のホルモンが作られる¹⁾。DHEA投与は免疫力やストレスに対する抵抗性を維持し、糖尿病、高脂血症、高血圧、骨粗鬆症などの生活習慣病に対して予防的に作用する。DHEA-s分泌は加齢により衰えることから²²⁾、DHEA-sは重要な長寿予測マーカーとなっている²³⁾。20、30歳代のDHEA-s低値女性では卵巣機能低下をきたしている可能性がある。

卵巣予備能の低下したIVF施行者25例に対し、DHEA 75mg/日(約4ヶ月)投与した結果、採卵数、受精卵数、良好胚数が有意に増加し、卵巣機能の質的改善を認めた²⁴⁾。これを契機に欧米では不妊治療にDHEAがしばしば用いられる。国内報告としては、補助生殖医療(assisted reproductive technology: ART)施行中の難治性低反応者または高齢者(38歳以上)19例に対しDHEA投与した結果、peak E₂など卵巣機能の質的改善を示した²⁵⁾。ART反復不成功の10例(42.5±2.4歳)にDHEA投与(平均4.1ヶ月)した成績では5例が妊娠に至り、それらの症例では採卵数、受精卵数、peak E₂の有意な増加を認めた²⁶⁾。

老化危険因子

老化を促進する危険因子として酸化ストレス、糖化ストレス、生活習慣について述べる。

1. 酸化ストレス

酸化ストレスは老化危険因子のなかで大きな位置を占め、卵巣機能の劣化にも深く関わる²⁷⁾。ミトコンドリア活性低下による細胞質の劣化が卵母細胞の受精能力および発育能力低下をもたらす^{28,29)}。卵巣はビタミンEやCoenzyme Q10 (CoQ10)などの抗酸化物質によって酸化ストレスより防御されている。

また、卵母細胞のミトコンドリア機能不全はARTによる着床前胚発育遅延および成長停止の一因となる。これに対し若年ドナーから高齢レシピエント卵母細胞への細胞質移植(ミトコンドリア移植)は不妊治療に応用されたことがある³⁰⁾。妊娠が成立した後も、卵巣ホルモン分泌が保たれると抗酸化酵素Cu,Zn-SODは増加し、細胞質内の活性酸素の蓄積が阻止される。従って妊娠継続に好ましい子宮内環境が保たれる³¹⁾。

酸化ストレス対策として①有酸素運動により抗酸化能を高める、②抗酸化物質の摂取がある。代表的な抗酸化物質としてビタミンA,C,E, CoQ10, αリポ酸がある。

食餌由来のものとしてカテキン、リコピン、ポリフェノール、アントシアニン、アスタキサンチンがあり、これらの成分をバランスよく摂取するためには色とりどりの野菜、果物、海草を摂取すると良い。

2. 糖化ストレス

糖化反応(glycationあるいはメイラード反応)とは蛋白質が還元糖(グルコース、フルクトースなど)やアルデヒドと反応し、Amadori化合物などの中間体形成を経て、最終的に糖化最終生成物(advanced glycation end products: AGEs)を形成する反応である³²⁾。

身体内では蛋白質の糖化やAGEs蓄積が生じ、またAGEsと結合するRAGE(Receptor for AGEs)を介して細胞障害を惹起する。細胞内では過剰なグルコースがTCA回路の反応不良を惹起しフマル酸が増加すると、蛋白質のシステインと反応してS-(2-succinyl) cysteine (2SC)を形成する。細胞骨格蛋白、ヒートショック蛋白、アディポネクチンなど様々な蛋白質が2SC化を受け、さらなる機能障害の原因となる。これらを総称して糖化ストレスと呼ぶ(図3)³³⁾。

血漿及び卵胞液AGEsを解析した結果、AGEs蓄積が卵胞発育、受精、胚発育、妊娠成否に悪影響を及ぼすことを示した。IVF治療においては年齢、day-3-FSHに加えてAGEs蓄積が独立したpoor responderの指標といえる³⁴⁾。

抗糖尿病薬として肝臓における糖新生を減らし血糖降下作用を有するmetforminを投与した成績では、糖化ストレスが減少し、IVFの成績が向上した³⁵⁾。

若年者(<35歳)と高年者(>35歳)を対象に血漿中の可溶性RAGEを比較した研究では、若年者では高年

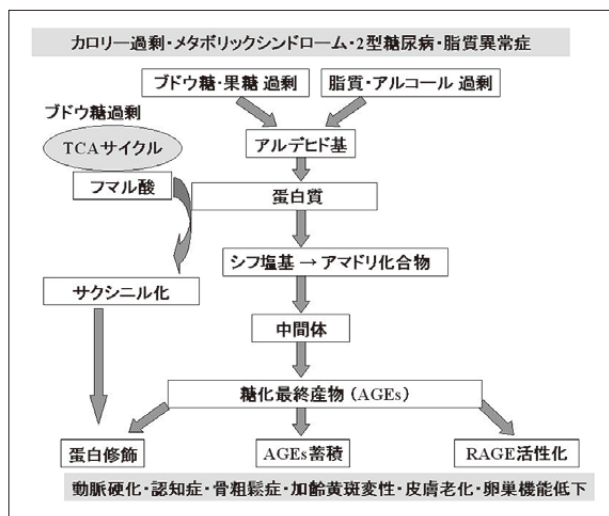


図3 糖化ストレスの概念
文献 33)より改変引用。

者に比べ有意に高いことが示された³⁶⁾。可溶性RAGEはデコイ受容体としてAGEsと結合することにより、細胞膜のRAGE活性化を阻害する³²⁾。すなわち若年者の方が糖化ストレスに対する抵抗性が高い。

糖化ストレス対策としては①急激な血糖やインスリン値上昇を避ける食習慣(ゆっくり食べる, 良くかむ, 繊維物⇒蛋白質⇒炭水化物といった食べる順序の配慮, スイーツ・ジュース・炭酸飲料を控える), ②骨格筋量を保つが挙げられる³³⁾。糖化ストレスと生活習慣との関連について解析した成績では, 喫煙, 飲酒, 睡眠不足の例でAGEs蓄積が顕著であることが示されている³⁷⁾。悪しき食習慣や糖尿病, メタボリックシンドロームにより糖化ストレスが強い者のために, 様々な抗糖化サプリメントが開発されている³⁸⁾。

3. 生活習慣

生活習慣の構成因子として, 食習慣, 運動習慣, 睡眠習慣, 喫煙, 飲酒, 水分摂取量などがあげられる。喫煙や大量飲酒は酸化ストレスを増加するため, 卵巣機能を増悪させる因子である。睡眠不足や不規則な睡眠習慣は心身ストレスによるダメージからの回復を遅らせるので, 卵巣機能に悪影響を及ぼす。悪しき食習慣による糖化ストレスの増大も同様である。運動不足も経験的に卵巣機能低下をもたらすことが知られ, 不妊治療の医療現場では, 従来から受診者に対し運動療法が奨励されてきた。

著者らは40歳前後の運動習慣の無い女性を対象にフィットネスクラブでの運動の効用を検討した³⁹⁾。軽度筋肉運動を主体とするクラス, ウォーキング主体のクラスに参加した結果, 血清IGF-I値がそれぞれ17.0%, 17.6%, DHEA-s値がそれぞれ34.2%, 22.8%上昇した。IVFの成功率は40歳ごろから低下するので, このような情報はIVFプログラムにうまく適用できるだろう。

IGF-IやDHEA-sが同世代平均より低い例では卵巣機能が劣化している可能性がある。運動によりこれらのホルモン分泌が20～30%改善されれば卵巣機能に好影響を及ぼし, 生殖補助治療を受ける者の治療成績の改善に寄与するであろう。

おわりに ～妊娠力を保つためのアンチエイジング～

本稿では, アンチエイジングが生殖医療にうまく応用できることを示した。生殖医療の領域は, 卵巣局所に専門特化するだけでなく, 全身の見地から考えるべきである。老化度や老化危険因子といった抗加齢医学的指標を用いることにより, これまで「卵巣機能の劣化」「早発性

卵巣不全」と言われてきた病態の背景因子が, 個々の患者ごとにより明瞭に評価できるだろう。poor responder例において特に問題となるのはホルモン分泌低下である。また卵巣機能を劣化させる危険因子として酸化ストレスと糖化ストレスの関与が大きい。

卵巣機能の劣化要因は個人によって差異があるので, 老化度のどの項目が弱点で, どの危険因子が最も問題となっているか見極めることが重要である。アンチエイジングの目的は機能年齢の老化予防であり, 若返りである。ARTなどの高度な医療技術を行う際には, アンチエイジングを併用することで, 卵巣機能の老化予防と若返り, そして妊娠力の維持を目指して欲しい。

本論文の要旨は第16回日本IVF学会学術集会(2013年9月横浜)にて発表した。

参考文献

- 1) 米井嘉一: 抗加齢医学入門。改定第2版, 慶應義塾大学出版会, 2011。
- 2) 矢島京子: 自然妊娠力向上支援に関する一事例: SATイメージ療法による介入支援を通して。ヘルスカウンセリング会報, 15: 69-73, 2009。
- 3) 夏莉竜子・陳志清・長崎中医薬研究会: 公開セミナー「妊娠力を考える!」参加者アンケートの分析結果より。日不妊カウンセリング会誌, 11: 169-174, 2012。
- 4) 米井嘉一: アンチエイジング医学への期待～卵巣のアンチエイジングを考える～。日受精着床会誌, 28: 1-8, 2011。
- 5) Jinno, M., Tamura, H., Yonei, Y.: Anti-aging medicine and reproductive health. *Anti-Aging Medicine*, 9: 6-13, 2012。
- 6) Yonei, Y., Hattori, A., Tsutsui, K., Okawa, M., Ishizuka, B.: Effects of melatonin: Basics studies and clinical applications. *Anti-Aging Medicine*, 7: 85-91, 2010。
- 7) Tamura, H., Nakamura, Y., Narimatsu, A., Yamagata, Y., Takasaki, A., Reiter, R.J., Sugino, N.: Melatonin treatment in peri- and postmenopausal women elevates serum high-density lipoprotein cholesterol levels without influencing total cholesterol levels. *J. Pineal Res.*, 45: 101-105, 2008。
- 8) Taketani, T., Tamura, H., Takasaki, A., Lee, L., Kizuka, F., Tamura, I., Taniguchi, K., Maekawa, R., Asada, H., Shimamura, K., Reiter, R.J., Sugino, N.: Protective role of melatonin in progesterone production by human luteal cells. *J. Pineal Res.*, 51: 207-213, 2011。
- 9) Tamura, H., Nakamura, Y., Korkmaz, A., Manchester, L.C., Tan, D.X., Norihiro, S., Reiter, R.J.: Melatonin and the ovary: physiological and pathophysiological implications. *Fertil. Steril.*, 92: 328-343, 2009。
- 10) Tamura, H., Takasaki, A., Miwa, I., Taniguchi, K., Maekawa, R., Asada, H., Taketani, T., Matsuoka, A., Yamagata, Y., Shimamura, K., Morioka, H., Ishikawa, H., Sugino, N.: Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilization rate. *J. Pineal Res.*, 44: 280-287, 2008。

- 11) Voznesenskaya, T., Makogon, N., Bryzgina, T., Sukhina, V., Grushka, N., Alexeyeva, I.: Melatonin protects against experimental immune ovarian failure in mice. *Reprod. Biol.*, 7: 207-220, 2007.
- 12) Giudice, L.C.: Insulin-like growth factors and ovarian follicular development. *Endocr. Rev.*, 13: 641-669, 1992.
- 13) Campbell, B.K., McNeilly, A.S.: Follicular dominance and oocyte maturation. *Zygote*, 4: 327-334, 1996.
- 14) Gutiérrez, C.G., Campbell, B.K., Webb, R.: Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: induction and maintenance of estradiol production, response to follicle-stimulating hormone, and morphological characteristics. *Biol. Reprod.*, 56: 608-616, 1997.
- 15) Poretsky, L., Cataldo, N.A., Rosenwaks, Z., Giudice, L.C.: The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocr. Rev.*, 20: 535-582, 1999.
- 16) Taketani, T., Yamagata, Y., Takasaki, A., Matsuoka, A., Tamura, H., Sugino, N.: Effects of growth hormone and insulin-like growth factor 1 on progesterone production in human luteinized granulosa cells. *Fertil. Steril.*, 90: 744-748, 2008.
- 17) Tesarik, J., Hazout, A., Mendoza, C.: Improvement of delivery and live birth rates after ICSI in women aged >40 years by ovarian co-stimulation with growth hormone. *Hum. Reprod.*, 20: 2536-2541, 2005.
- 18) Kucuk, T., Kozinoglu, H., Kaba, A.: Growth hormone co-treatment within a GnRH agonist long protocol in patients with poor ovarian response: a prospective, randomized, clinical trial. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 25: 123-127, 2008.
- 19) Yovich, J.L., Stanger, J.D.: Growth hormone supplementation improves implantation and pregnancy productivity rates for poor-prognosis patients undertaking IVF. *Reprod. Biomed. Online*, 21: 37-49, 2010.
- 20) 高崎彰久: ART の卵巣 poor responder. *日不妊会誌*, 47: 123, 2002.
- 21) Iwashita, M., Mimuro, T., Watanabe, M., Setoyama, T., Matsuo, A., Adachi, T., Takeda, Y., Sakamoto, S.: Plasma levels of insulin-like growth factor-I and its binding protein in polycystic ovary syndrome. *Horm. Res.*, 33: 21-26, 1990.
- 22) Nomoto, K., Arita, S., Yonei, Y.: Development of a model of functional endocrine age in Japanese people: serum dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEA-s) concentration as an index of aging. *Anti-Aging Medicine*, 8: 69-74, 2011.
- 23) Roth, G.S., Lane, M.A., Ingram, D.K., Mattison, J.A., Elahi, D., Tobin, J.D., Muller, D., Metter, E.J.: Biomarkers of caloric restriction may predict longevity in humans. *Science*, 297: 811, 2002.
- 24) Barad, D., Gleicher, N.: Effect of dehydroepiandrosterone on oocyte and embryo yields, embryo grade and cell number in IVF. *Hum. Reprod.*, 21: 2845-2849, 2006.
- 25) 吉田英宗・青野展也・岩佐由紀・加茂野倫子・成澤千春・菊地裕幸・田中孝幸・鈴木麻美・村川晴生・吉田仁秋: Dehydroepiandrosterone (DHEA) が IVF 周期において卵巣機能におよぼす影響. *日受精着床会誌*, 25: 176-179, 2008.
- 26) 白井 彰・久保春海: 卵のクオリティ改善のための薬物療法: アンチエージングのサプリメント DHEA を用いて. *産婦治療*, 96: 50-54, 2008.
- 27) Naito, Y., Lee, C.M., Kato, Y., Nagai, R., Yonei, Y.: Oxidative stress markers. *Anti-Aging Medicine*, 7: 36-44, 2010.
- 28) Nagai, S., Mabuchi, T., Hirata, S., Shoda, T., Kasai, T., Yokota, S., Shitara, H., Yonekawa, H., Hoshi, K.: Correlation of abnormal mitochondrial distribution in mouse oocytes with reduced developmental competence. *Tohoku. J. Exp. Med.*, 210: 137-144, 2006.
- 29) Kanaya, H., Hashimoto, S., Teramura, T., Morimoto, Y., Matsumoto, K., Saeki, K., Iritani, A., Hosoi, Y.: Mitochondrial dysfunction of in vitro grown rabbit oocytes: results in preimplantation embryo arrest after activation. *J. Reprod. Dev.*, 53: 631-637, 2007.
- 30) Robertson, J.A.: Ooplasmic transfer. *N. Engl. J. Med.*, 347: 147-148, 2001.
- 31) 杉野法広: 子宮内膜機能の調節機構: 着床機構の視点から, 黄体機能と子宮内膜環境, 特に黄体ホルモンと活性酸素消去系の役割. *日産婦誌*, 55: 1013-1023, 2003.
- 32) Nagai, R., Mori, T., Yamamoto, Y., Kaji, Y., Yonei, Y.: Significance of advanced glycation end products in aging-related disease. *Anti-Aging Medicine*, 7: 112-119, 2010.
- 33) Ichihashi, M., Yagi, M., Nomoto, K., Yonei, Y.: Glycation stress and photo-aging in skin. *Anti-Aging Medicine*, 8: 23-29, 2011.
- 34) Jinno, M., Takeuchi, M., Watanabe, A., Teruya, K., Hirohama, J., Eguchi, N., Miyazaki, A.: Advanced glycation end-products accumulation compromises embryonic development and achievement of pregnancy by assisted reproductive technology. *Hum. Reprod.*, 26: 604-610, 2011.
- 35) Jinno, M., Kondou, K., Teruya, K.: Low-dose metformin improves pregnancy rate in in vitro fertilization repeaters without polycystic ovary syndrome: Prediction of effectiveness by multiple parameters related to insulin resistance. *Hormones*, 9: 161-170, 2010.
- 36) Fujii, E.Y., Nakayama, M.: The measurements of RAGE, VEGF, and AGEs in the plasma and follicular fluid of reproductive women: the influence of aging. *Fertil. Steril.*, 94: 694-700, 2010.
- 37) Nomoto, K., Yagi, M., Arita, S., Ogura, M., Yonei, Y.: Skin accumulation of advanced glycation end products and lifestyle behaviors in Japanese. *Anti-Aging Medicine*, 9: 165-173, 2012.
- 38) Yonei, Y., Miyazaki, R., Takahashi, Y., Takahashi, H., Nomoto, K., Yagi, M., Kawai, H., Kubo, M., Matsuura, N.: Anti-glycation effect of mixed herbal extract in individuals with pre-diabetes mellitus: A double-blind, placebo-controlled, parallel group study. *Anti-Aging Medicine*, 7: 26-35, 2010.
- 39) Mochizuki, T., Amenomori, Y., Miyazaki, R., Hasegawa, T., Watanabe, M., Fukuike, K., Yonei, Y.: Evaluation of exercise programs at a fitness club in female exercise beginners using anti-aging medical indicators. *Anti-Aging Medicine*, 6: 66-78, 2009.

がん患者の主治医の立場からみた、 がん・生殖医療における問題点

鈴木 直

聖マリアンナ医科大学産婦人科学講座 〒216-8511 神奈川県川崎市宮前区菅生 2-16-1

要旨： がん治療前に、全ての若年がん患者に対して妊孕性の温存を検討する必要性はないが、しかし実際に妊孕性温存を検討する場合は、がん治療開始までの期間が短いケースが少なくないことから、十分な妊孕性温存治療が施行できない場合がある。つまり、たとえ未受精卵子凍結や胚凍結が行えたとしても1クールぐらいが限度であり、一生分の妊孕能温存としては決して満足な妊孕性温存治療とはならない。その様な中で、がん治療の主治医にとっては、がん治療と妊孕性温存に関する正確な情報をいかに的確に患者に伝えるか、またいかに早期に産婦人科医(特に生殖医療を専門とする医師)と綿密な連携を行うかが、がん・生殖医療の実践には重要である。

キーワード： がん・生殖医療, 化学療法誘発性無月経, 妊孕性温存, 若年がん患者, パクリタキセル

緒 言

若年がん患者に対する妊孕性温存に関する取り組みは、産婦人科領域においては古くから一般的に行われてきた通常診療の一つとなっている。しかしながら、がんに対する診断や治療の進歩による治療成績向上の成果として、がんの種類によってはがんを克服した患者(がんサバイバー)が近年増加し、それに伴って若年がん患者の治療前の妊孕性温存に関する重要性が再認識されている。本邦におけるがん患者の生殖医療(がん・生殖医療)に対する取り組みとして、「複数施設における血液疾患未婚女性患者における卵子採取、ならびに凍結保存の臨床研究」が不妊・生殖補助医療国際学会(A-PART)によって積極的に進められて来た経緯がある(<http://www.apartonline.info/japan/>)。2012年11月には日本がん・生殖医療研究会(<http://www.jsfp.org/index.html>)が設立された。本稿では、がん治療に携わる医師の生殖に対する認識不足に関して概説し、がん・生殖医療の解決すべき問題点の1つとして提示する。

がん・生殖医療における問題点 —生殖可能年齢に関する誤解

女性がん患者は、抗がん剤や放射線照射によって非可逆的な生殖機能障害を受ける可能性がある。その機序は、がん治療によって卵母細胞膜細胞および卵母細胞周囲の毛細血管が障害を受け、卵巣実質の線維化が引き起こされ、

さらに原始卵母細胞の発育抑制因子の減少によって原始卵母細胞のリクルートが促進され、最終的に原始卵母細胞が枯渇すると考えられている(卵巣毒性)¹⁾。全ての種類の抗がん剤が卵巣毒性を有するわけではないが、アルキル化剤は特に卵巣毒性が高い薬剤であると考えられており、妊孕性温存を考える上では患者の年齢とアルキル化剤総投与量が重要な因子となっている²⁾。抗がん剤による治療(化学療法)によって生じる無月経は化学療法誘発性無月経(CRA: chemotherapy related amenorrhea)と称され、化学療法後1年以内に生じる3カ月以上の無月経と定義され、若年がん患者は早発閉経となる場合もある。20～100%というCRAの発生頻度は、①患者の年齢、②抗がん剤の種類、③抗がん剤の投与量、④治療前の卵巣予備能に依存すると考えられている³⁾。CRAの発生が患者の年齢に最も依存する理由は、女性の年齢と卵巣内の原始卵母細胞数との関係にある。すなわち、初潮の頃には約20万個存在していた原始卵母細胞は35歳頃にはその約90%が消失し約2万個前後にまで減少し、最終的に原始卵母細胞数が約1000個を下回った際に閉経に至ると考えられている⁴⁾。一方、40歳を超えると自然妊娠率は30歳台と比べて明らかに減少しさらに流産率が上昇することから、40歳以降の生児獲得率減少の一因として、原始卵母細胞の数だけではなく卵の質も問題になってくる。さらに、日本人女性の平均の閉経年齢は49-50歳であり、これら女性の生殖ならびに生殖可能年齢に関して十分に理解した上で若年女性がん患者の妊孕性温存に対する対策を構築すべきである。しかしながら、実際に産婦

人科を除く他のがん治療医においては、女性の生殖や生殖可能年齢に関する誤解が存在している。若年女性がん患者の妊孕性温存を考慮する際に、この誤解が大きな問題となり若年女性がん患者にとって不利益となることが憂慮される。

パクリタキセルは卵巣毒性の高リスク薬剤である(?) —生殖可能年齢に関する誤解その1

タキサン系薬剤が婦人科領域のみならず乳癌領域においても鍵となる抗がん剤となつて久しいが、タキサン系薬剤の卵巣毒性の有無に関しては不明な点が多い。そこで、乳癌患者に対するタキサン系薬剤の卵巣毒性に関する報告が「乳癌の術前化学療法パクリタキセル単剤週1回投与法が閉経状況に及ぼす影響について」と題して本邦から2003年に報告された⁵⁾。本論文の結論から、パクリタキセル週1回投与法による術前化学療法は重篤な副作用が認められず、89.2%が完遂し外来通院治療で安全に行う事ができたことから、その忍容性が確認されている。また、Bines等の報告³⁾を基に半年以上月経がない場合をパクリタキセルによるCRAであると定義して検討した結果、58.8%の患者が閉経となったことから、タキサン系薬剤はアルキル化剤などと同様に卵巣毒性を有する抗がん剤である可能性が示唆されている。著者等は、「今回の検討では術後1～2ヶ月後にさらに抗がん剤治療が加わっている症例も多いため、一時的無月経症例を過小評価している可能性があると思われる」と記しているが、本研究には2つの問題点が存在している。すなわち、①生殖可能年齢に関する誤解と、②術後のアルキル化剤も含む追加化学療法に関する考察の欠如、すなわち観察期間である。本論文の検討結果から、32症例の平均年齢が42.9歳(27-51)であり、半年後の時点で無月経であり閉経となった患者が20例であったことから、前述の如く58.8%(20/32)の閉経率ということになる。対象患者の年齢の内訳は、30-39歳が2例、40-44歳が3例、45-49歳が10例そして50-59歳が5例となっている。58.8%の患者群は、抗がん剤の卵巣毒性によって閉経が惹起された可能性が十分考えられるものの、日本人の閉経の平均年齢が49-50歳であることから、自然閉経となる可能性が高い45歳以上の患者(15例)を解析対象とするには難がある。そこで、便宜的に45歳以上の患者(15例)を解析対象から外してみると、パクリタキセルによる閉経率は14.7%へと低下する。前述した女性の生殖可能年齢を考慮して40-44歳の3例も、本解析の対象から便宜的に外して検討してみると、パクリタキセルによる閉経率は5.9%へと更に

低下することになる。果たして、パクリタキセル(タキサン系薬剤)はアルキル化剤と同等の卵巣毒性を有する高リスク薬剤群に含まれると言えるのであろうか? 実際に、タキサン系薬剤単剤を用いた卵巣毒性を検討した大規模試験が存在しないことからその真偽は明らかではないが、アントラサイクリン系薬剤+アルキル化剤薬剤へのタキサン系薬剤の追加によって、月経再開率は変わらないとする2010年のCancer誌の報告などからも⁶⁾、タキサン系薬剤が高リスクの卵巣毒性を有していない薬剤である可能性が示唆される。

初期乳癌における医原性無月経(CRA)が 生存に寄与する(?) —生殖可能年齢に関する誤解その2

2010年6月にThe New England Journal of Medicineに、初期乳癌におけるCRAの期間が生存に寄与するという報告が掲載された⁷⁾。本研究は、5,351名の初期乳癌患者を3つの治療法にランダム化して比較検討したエビデンスレベルの高い論文となっている。具体的には、①4サイクルのドキソルビシン+シクロホスファミド(アルキル化剤)終了後に4サイクルのドセタキセル(タキサン系薬剤)を追加するシークエンシャルACT療法、②4サイクルのドキソルビシン+シクロホスファミド(アルキル化剤)、③4サイクルのドキソルビシン+シクロホスファミド(アルキル化剤)+ドセタキセル(タキサン系薬剤)を同時に投与するコンカレントACTの3群の効果を比較試験であり、閉経前乳癌患者における本試験のアウトカムと無月経との関連も検討する目的となっている。その結果、中央値73ヶ月の観察期間の中で、シークエンシャルACT療法において他の2群と比べて有意に全生存期間が延長したという。そして3群全てにおいて、6ヶ月以上の無月経であった患者(エストロゲン受容体陽性に関係なく)の生存期間は有意に延長したという。これらの結果から、本論文は初期乳癌患者に対する標準的chemotherapyレジメンを規定する重要な位置づけになっている。しかしながら、本論文においても前述した本邦の論文同様、対象患者の年齢に問題がある。すなわち、本研究にも生殖可能年齢に対するがん治療医の誤解が存在している。「閉経前乳癌患者における本試験のアウトカムと無月経との関連も検討する目的」と記されているが、実際には研究エントリー時の対象患者年齢の中央値が3群(①, ②, ③の順)それぞれ、51歳、50歳そして51歳と閉経期になっていることから、閉経前患者を対象とした研究にはなっていない事実がある。さらに月経の有無に関しては、閉経後患者の率が3群(①, ②, ③の

順)それぞれ、54%、51%そして54%になっており、半分以上が閉経後患者である。化学療法後の無月経が予後に寄与する事実は確かであるが、しかしながら本研究の対象者は自然に無月経(閉経)となる可能性が高い集団が半分も含まれていて、化学療法による医原性に無月経(閉経)となった訳ではないことから、CRAが予後に実際に寄与するの可否かを判断することは困難である。論文内の図3-Eに示されているよう、40歳未満、40-44歳そして45歳以上で無月経が生存に寄与するハザードリスクはそれぞれ、0.72、0.63そして0.37であるが、少なくとも40歳未満のデータを除いて信頼できるデータでは無い。

2010年6月に掲載された後、たぶん産婦人科医によるクレームであると予想されるが、本論文の信憑性に関する意見が寄せられた結果、著者等は対象患者を再度検討し解析して2010年12月に再報告している⁸⁾。2,445名の月経関連の解析対象から217名の閉経周辺期患者を除外し、12ヶ月後の月経状態を正確に把握できた対象患者で再検討した結果、閉経前初期乳癌患者において化学療法後に無月経となった群で生存期間ならびに無病生存期間が有意に延長された。幸運なことに、再検討の結果は生殖年齢に関する誤解が存在したままで検討した前の結果とほぼ同様であった。しかし、再検討の結果では、エストロゲン受容体陽性の患者で特に有意に延長される傾向があったという。医原性の無月経であるCRAが予後に寄与するの可否かを特に目的とする臨床研究を立案するのであれば、①可能な限り20歳台以降でかつ35歳未満の患者を対象とする、②無月経を確認する期間は治療終了後2-3年後とする、③ホルモン療法追加の有無に関する検討も副次的に追加すべきである。

以上のように、世界の一流雑誌に掲載された大規模研究でさえも、がん治療医の生殖ならびに生殖可能年齢に関する誤解から、質の低い議論が展開してしまい、その結果として患者に不利益が生じる可能性があるという問題点を早急にがん治療医と産婦人科医の間で共有すべきである。この他にも、最近報告されたGnRHアナログによる卵巣毒性保護に関する大規模研究⁹⁾やメタ解析の論文¹⁰⁾においても、研究を立案する段階から同様の生殖に関する誤解が存在するため、結局の所エビデンスがあるのかどうかの判断も不可能となる不幸な結果となってしまっている。

ASCO ガイドラインによる指針

2006年にAmerican Society of Clinical Oncology(米国臨床腫瘍学会:ASCO)はAmerican Society for

表1 ASCOの指針

1. 月経周期の継続あるいは再開にもかかわらず、妊孕性が保持されているとは限らない。
2. 月経周期が整であったとしても、卵巣予備能の低下によって妊娠の可能性が低下しあるいは早期閉経発来となる可能性もある。
3. がん治療の後に妊娠可能な状態となっても、妊娠可能な時期は限られている可能性がある。

Reproductive Medicine(米国生殖医学会:ASRM)との共同で、がん患者における妊孕性温存に関する指針を出している¹¹⁾。全般的な推奨は以下の3点である。①がん治療前の患者教育とICの一環として、がん治療医は患者の生殖可能年齢の間に癌治療が行われることによる不妊の可能性に関してについて情報提供し、考えられる妊孕性温存療法に関して検討を行い、あるいは適応を有し希望のある患者に対して生殖医療専門医を紹介すべきである。②可能な限り早く妊孕性温存の可能性に関して臨床的判断を行い患者と話し合う機会を持つべきである。③がん治療前では、精子凍結や胚凍結が標準的な妊孕性温存療法となる。その他の妊孕性温存療法は研究段階にあり必要時にはセンターなどで施行されるべき。表1にASCO 2006の指針のまとめを記す。

一方2013年には、ASCO 2006が改訂されASCO 2013として新たな指針が報告された²⁾。ASCO 2006以降に新たにエビデンスは存在していないことから本筋は変更されなかったが、オンコロジストの文言が削除され一括してヘルスケアプロバイダー(腫瘍内科医、放射線腫瘍医、婦人科腫瘍医、泌尿器科医、血液腫瘍医、小児腫瘍医、外科医、看護師、ソーシャルワーカー、精神科医、その他の医師以外のプロバイダー)の文言が用いられるようになった。さらに、卵子凍結はもはや試験的診療ではなく、一方アバスチン(ペバシツマブ)は卵巣毒性を有する薬剤であることなどが記されている。

結 語

生殖医療を専門とする医師の「がん治療の進歩」に関する知識不足や、がん患者の主治医の「生殖医療の進歩」に関する知識不足によって、妊孕性温存に関する適確な情報が患者に伝わっていないケースが想定される。また、がん患者の主治医と産婦人科医との間の直接的な医療連携は少なく、実際には患者を介した医療連携となってしまう現状が想定される。そして両者の医療連携不足によって、①がん治療開始の遅れや患者の治療拒否、②温存出来たかもしれない妊孕性が消失してしまうな

どの問題が生じてしまっている可能性が少ない。若年がん患者が希望を持ってがんと闘うことが出来るようになるためにも、がん治療医と産婦人科医は正確な情報と新しい知識と問題点を共有しつつ、適確な医療連携を遂行する必要がある。

参 考 文 献

- 1) Wallace, W. H.: The effect of chemotherapy and Radiotherapy on the Human Reproductive system. Principles and Practice of Fertility Preservation. Cambridge University Press, 2011.
- 2) Loren, A. W., Mangu, P. B., Beck, L. N., Brennan, L., Magdalinski, A. J., Partridge, A. H., Quinn, G., Wallace, W. H., Oktay, K.: American Society of Clinical Oncology: Fertility Preservation for patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. J. Clin. Oncol., 19: 2500-2510, 2013.
- 3) Bines, J., Oleske, D. M., Cobleigh, M. A.: Ovarian function in premenopausal women treated with adjuvant chemotherapy for breast cancer. J. Clin. Oncol., 14: 1718-1729, 1996.
- 4) Wallace, W. H., Kelsey, T. W.: Human ovarian reserve from conception to the menopause. PLoS One, 27: e8772, 2010.
- 5) 蒔田益次郎・吉本賢隆・多田敬一郎他：乳癌の術前化学療法パクリタキセル単剤週1回投与法が閉経状況に及ぼす影響について。乳癌の臨, 18: 441-445, 2003.
- 6) Sukumvanich, P., Case, L. D., Van, Zee K., Singletary, S. E., Paskett, E. D., Petrek, J. A., Naftalis, E., Naughton, M. J.: Incidence and time course of bleeding after long-term amenorrhea after breast cancer treatment: a prospective study. Cancer, 116: 3102-3111, 2010.
- 7) Swain, S. M., Jeong, J. H., Geyer, C. E. Jr., Costantino, J. P., Pajon, E. R., Fehrenbacher, L., Atkins, J. N., Polikoff, J., Vogel, V. G., Erban, J. K., Rastogi, P., Livingston, R. B., Perez, E. A., Mamounas, E. P., Land, S. R., Ganz, P. A., Wolmark, N.: Longer therapy, iatrogenic amenorrhea, and survival in early breast cancer. N. Engl. J. Med., 362: 2053-2065, 2010.
- 8) Swain, S. M., Jeong, J. H., Wolmark, N.: Amenorrhea from breast cancer therapy-not a matter of dose. N. Engl. J. Med., 362: 2268-2270, 2010.
- 9) Gerber, B., von Minckwitz, G., Stehle, H., Reimer, T., Felberbaum, R., Maass, N., Fischer, D., Sommer, H. L., Conrad, B., Ortmann, O., Fehm, T., Rezai, M., Mehta, K., Loibl, S.: German Breast Group Investigators. Effect of luteinizing hormone-releasing hormone agonist on ovarian function after modern adjuvant breast cancer chemotherapy: The GBG 37 ZORO Study. J. Clin. Oncol., 29: 2334-2341, 2011.
- 10) Bedaiwy, M. A., Abou-Setta, A. M., Desai, N., Hurd, W., Starks, D., El-Nashar, S. A., Al-Inany, H. G., Falcone, T.: Gonadotropin-releasing hormone analog cotreatment for predervation of ovarian function during gonadotoxic chemotherapy: a systematic review and meta-analysis. Fertil. Steril., 95: 906-914, 2011.
- 11) Lee, S. J., Schover, L. R., Partridge, A. H., Patrizio, P., Wallace, W. H., Hagerty, K., Beck, L. N., Brennan, L. V., Oktay, K.: American Society of Clinical Oncology: American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. J. Clin. Oncol., 24: 2917-2931, 2006.

AMH（アンチミュリアンホルモン）と卵巣予備能

浅田 義正, 廣岡 孝, 浅田 美佐, 近藤 麻奈美, 木下 孝一,
薬師 義弘, 滝口 修司, 羽柴 良樹

浅田レディース名古屋駅前クリニック 〒450-0002 愛知県名古屋市中村区名駅4-6-17 名古屋ビルディング3F
浅田レディース勝川クリニック 〒486-0931 愛知県春日井市松新町1-4 ルネック5F

要 旨： 少子高齢化, 晩婚化, 晩産化の社会的変化により不妊症患者の高齢化が急激に進んでおり, 卵巣予備能の評価が重要になってきた. 卵子在庫の目安のマーカーとして, AMH (アンチミュリアンホルモン: 抗ミュラー管ホルモン) が注目されてきた. AMHは小胞状卵胞, 前胞状卵胞から分泌され, 基本的に月経周期に左右されず, 原始卵胞から一次卵胞への発育及び成熟卵胞の発育に影響している. AMHの測定値は正規分布を示さず, 年齢と相関しない. その変動係数 (CV) が大きいので測定値の判断に注意が必要である. 今回補体の干渉で測定方法の手順により測定値が大きく変化することが判明した. AMH値の測定は, 早発卵巣不全予知, 不妊治療での臨床判断において有用なマーカーであるが, 妊孕性, 妊娠率の予想には使えない. 卵巣予備能の変化と卵子の老化について教育・啓蒙を進め, 個人の卵巣予備能を正しく評価し, 女性の人生設計に役立ててほしいと願っている.

キーワード： AMH, アンチミュリアンホルモン, 卵巣予備能, 測定値, 妊孕性

緒 言

少子高齢化, 非婚化, 晩婚化, 晩産化の急激な社会の変化は不妊治療にも大きな影響を与え, 原因究明不妊治療から原因不明加齢要因の不妊治療に変わってきた. 「結婚適齢期」, 「高年初産婦」も死語となった. 図1に当院の体外受精治療における胚移植患者の平均年齢を示すが, 2004年の33歳から2012年には37歳と上昇し, 確実に2年に1歳の割で不妊患者の高齢化が進んでいた. 当院では現在40歳以上の患者が40%以上を占めるようになった. 高齢でのハイリスクな妊娠・分娩・育児を考慮すると, 不妊治療をいつまで容認すべきか重大な課題である.

多くの患者は月経があるうちは妊娠可能, 月経が始まってから卵子はできてくる, いくつになっても妊娠率・流産率が変わらない, 妊娠は自分の努力でなんとかなる, 体外受精は万能だと思っている. 不妊治療を始める前に患者教育を徹底し, 安全な妊娠経過, 分娩, 育児等を考慮し, 不妊治療は検討されるべきと受診前説明会で説明している.

年齢とともに原始卵胞が減少することは産婦人科医にとっては周知の事実であるが, 生まれる前に500～700万個, 生まれた時点で約200万個, 初経時には30万個に減少し, 1ヶ月で約1,000個の割合で恒常的に排卵・月経・治療の有無に関わらず消滅していることを, 一般

の方に説明すると大きな衝撃を持って受け止められる. 筆者は卵子の老化・卵子の減少・妊孕性の低下・卵巣予備能の個人差の4つの衝撃を訴えてきた.

卵巣予備能という言葉は汎用されているが, 実は現在のところその定義はない. 日本産科婦人科学会の用語集に卵巣予備能についての定義は収載されていない. 石塚, 岩瀬らの日産婦誌クリニカルカンファレンス¹⁾では次のように説明されている; 「卵巣予備能 (ovarian reserve) とは, 文字通り卵巣が有する潜在的な卵巣機能の予備力を指し示す単語である. 卵巣の機能とは, 1) 受精可能な状態へ卵を成熟させる. 2) 女性ホルモンを産生する. の二点に集約できる. これらは卵そのものと顆粒膜細胞および莖膜細胞によって担われており, いずれも卵胞の構成成分である. すなわち卵巣の機能とは, 卵胞の機能の総和であると言えることができる. 加齢に伴う妊孕能低下の主たる要因は, 卵の量的・質的低下であると考えられている. 従って卵巣予備能とは卵巣における卵胞の量と卵の質を反映し, 加齢とともに低下し女性の生殖機能に影響を与える概念として定義できる. しかし, 卵子の質および妊孕能については非常に多くの複雑な要素が関係するため, 本稿では卵巣予備能を卵巣における原始卵胞の在庫として解説したい. また, 上記1) 2) に加え, 原始卵胞の保存を卵巣の機能に加えたい.

従来, 卵巣予備能の評価には, 年齢, 血中FSH基礎値, 胞状卵胞数等が用いられてきた²⁾. 年齢からは平均的なこと

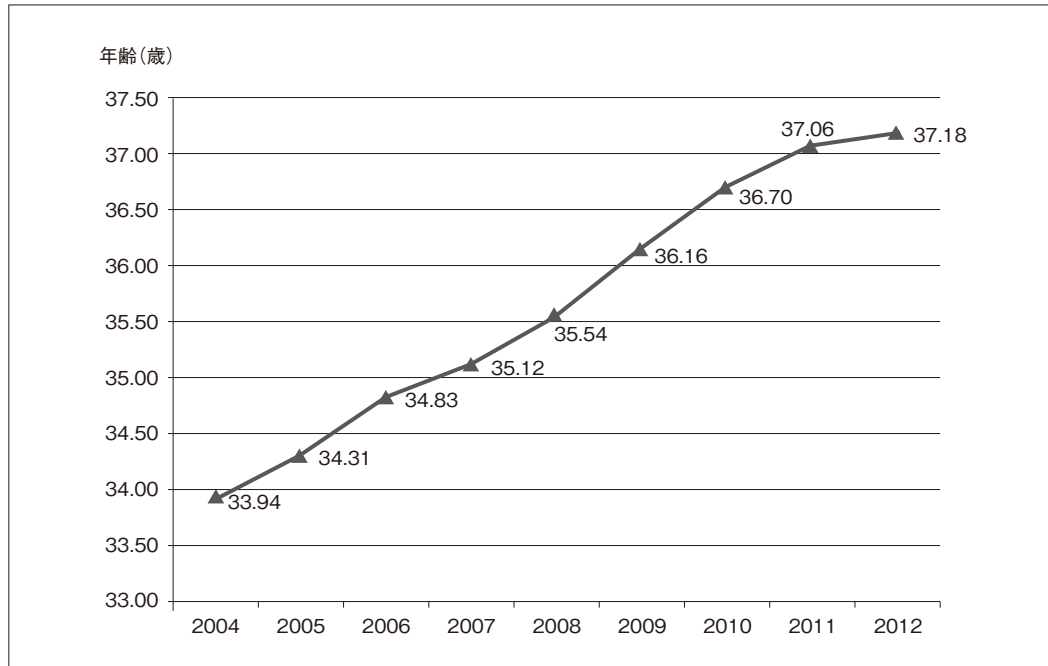


図1 当院における胚移植患者の平均年齢の推移

しか言えず、血中FSH基礎値は不安定でしかもほとんど治療不可能になってからしか変化しない。また、胞状卵胞数は超音波検査で小さな卵胞をカウントするのが難しく熟練を要し、いずれも卵巣予備能判定法としては不十分であった。数年前より卵巣予備能マーカーとして、AMH（アンチミュリアンホルモン：抗ミュラー管ホルモン）とインヒビンBが注目されてきた。AMHは前胞状卵胞から多く分泌され、卵胞発育に従ってその分泌は減少する。そのため基本的に月経周期に左右されない。一方、インヒビンBは卵胞発育とともに分泌が一度増加し、その後減少する複雑な変化を示す³⁾。このような両者の特性の違いから卵巣予備能のマーカーとしてAMHが普及してきた。

現在までに分かっているAMHに関する知見について詳述する。性腺の発生に際して、胎生腎から前腎・中腎・後腎が発生し、前腎・中腎は退化し、後腎は永久腎となる。前腎輸管と中腎の一部が変化して中腎細管がウォルフ管として残る。前腎が退化し中腎が発生してくる頃にウォルフ管と並行して中腎の上端より縦にミュラー管が発生してくる。左右のミュラー管は胎生7～8週頃よりその下部が癒合し、やがて1つの管を形成する。その上部は左右の卵管になり、下部は子宮となる。AMHはこの胎生期の男児の精巣に発現し、ミュラー管の退行を促し、男児の生殖器を形成する。AMHは19番染色体上の遺伝子にコードされ、TGF (transforming growth factor)- β スーパーファミリーに属する2つの72kDaモノマーが結合した糖蛋白ダイマーである。AMHは胎児の卵巣においても妊娠32週頃に発現が認められ、前胞状卵胞と小胞状

卵胞の顆粒膜細胞から分泌され、原始卵胞から一次卵胞への発育及び成熟卵胞の発育にも影響していると報告されている⁴⁾。AMHは子宮奇形の成因に深く関与していると思われる⁵⁾。血中のAMH値と比較し、卵胞液中のAMH値は約3倍であると報告されている。

本稿では最近卵巣予備能のマーカーとして注目されてきたAMHと卵巣予備能について最新知見も交え、その特性を理解したうえで、いかに有効に臨床に生かしていくかについて報告する。

方法と対象

2007年から院内で測定を開始し、当院受診の全不妊症患者を対象とした。現在までに1万例以上のデータを集積してきた。AMHの測定はELISA法により測定キット (AMH Gen II ELISA KIT: MBL社) を使用し測定した。不安定であるため2検体測定し、差が大きいときは再検した。2013年7月測定手順の違いが大きく測定値に影響することが判明した。そこで次に測定手順の違いにより測定値がどれだけ変化するかについて検討した。(実験1) 当院に受診した不妊患者から同意を得られた267検体をGen IIを用いて測定用ウェルに検体を先に入れた群(以下A群)、検体とbufferをmixした後に注入した群(以下B群)について同一検体で測定した。(実験2) 39検体で、A群、B群に加えbufferを先に入れた群(以下C群)の3種類の測定手順で同一検体を測定した。

結 果

当院での測定では20歳代前半の約5ng/mlから40歳代後半の0までの平均直線は引けるが、どの年代においてもほとんどAMHが0の人が存在し、測定値は正規分布を示さず、特に30歳代では年齢とAMH測定値は統計的に相関しなかった(図2)。その標準偏差は非常に

大きく、中央値は平均値より小さい。海外からの報告でもほとんど同じ結果が示されている(図3)⁶⁾。

実験1では標準物質を用いたControlにおいては、測定手順の違いによる数値の変化は見られなかった。A群に比しB群では測定値が1.75倍($R^2=0.90$)になった。実験2ではA群に比べB群1.77倍($R^2=0.94$)、C群1.36倍($R^2=0.99$)となった(図4)。

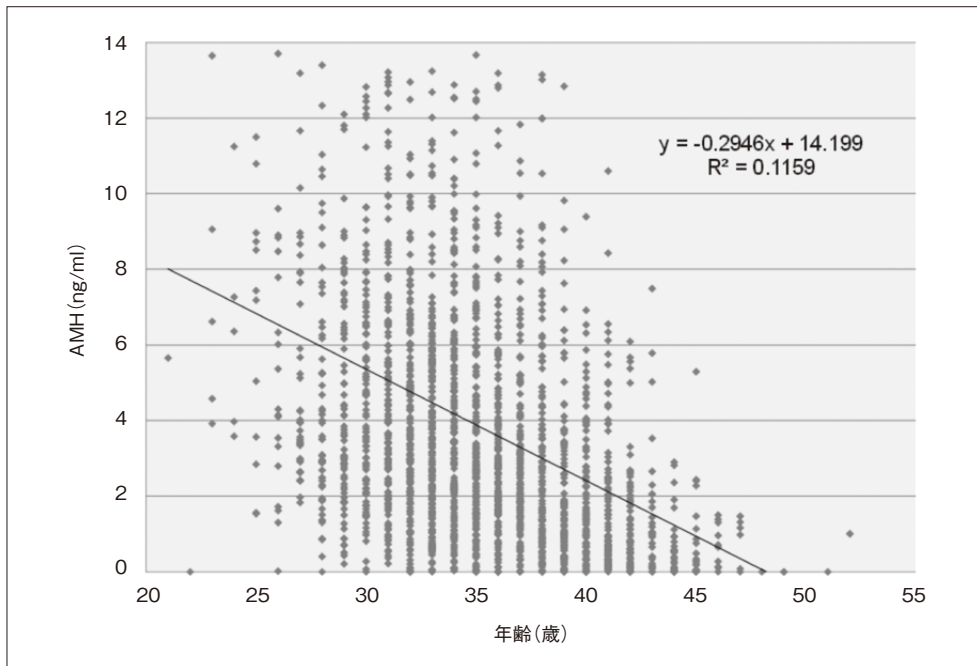


図2 年齢と AMH 値 AMH=14.0ng/ml 以下 n=2,077

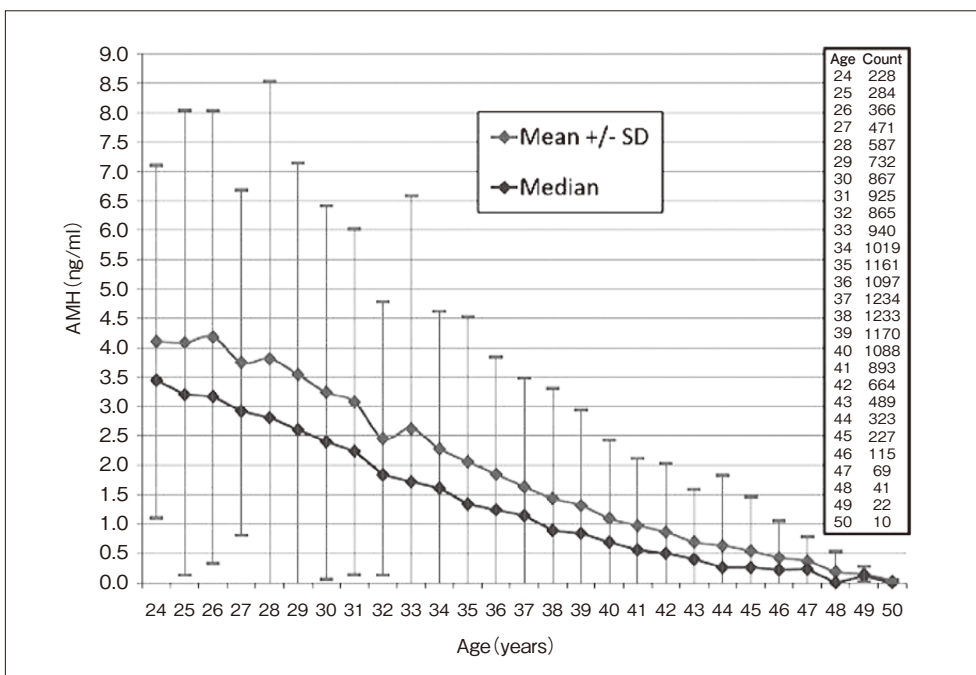


図3 米国における不妊患者の AMH の変化

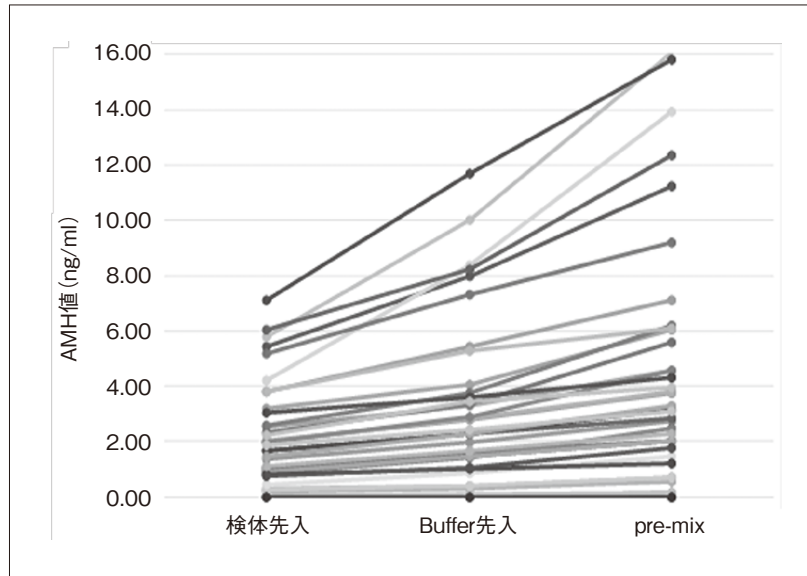


図4 測定方法の違いによるAMH値の変化 n=39

考 察

上記の結果からAMHに平均値、中央値はあるものの正常値は設定できない事が分かった。また、不妊患者だけでなく、妊娠した人、不妊症でない人のAMH測定値も同様の分布を示すことも分かった。従って、AMHの測定結果については正常、異常と評価すべきものでなく、卵巢年齢という説明は適さない。

AMH値は年齢とともに減少する。しかし、一個体で実際何年でのどのくらい減少するかはまだよくわかっていない。Almogらの報告⁷⁾ではAMH値と年齢をパーセンタイルで示しており、当院データでも同様の変化が認められた。受胎から閉経までの期間に認められた非発育卵胞の数の予測値と血中AMHレベルが報告されている(図5, 6)⁸⁾。新生児、思春期にもAMHの上昇がみられるが、非発育卵胞数とAMHが相関するのは成人になってからであり、個人差が最初からあることが推測される。動物実験ではAMHをノックアウトしたマウスで早期に原始卵胞がなくなると報告されている⁹⁾。AMHが低いために原始卵胞が早く消費され低くなっているのか、もともと低いのかはまだよくわかっていない。AMHの値から閉経を予想した論文では、AMH値の高い人が低い人よりも低下の割合が大きく、結果的に、閉経の時期の差は小さい¹⁰⁾。

多嚢胞性卵巢症候群の女性ではAMHは高値を示す。AMHは体外受精における調節卵巢刺激時の採卵数と非常によく相関する。刺激法の決定、卵巢過剰刺激症候群予防、低反応予測に極めて有効な判断材料になる。子宮内膜症女性においては低い傾向がある。卵巢腫瘍、子宮内膜症

等で附属器摘出あるいは卵巢部分切除を受けた女性ではAMHは大きく低下する。とりわけチョコレート嚢腫の摘出術で低下が大きい。今後、手術だけでなく悪性腫瘍の化学療法や放射線療法においても、妊孕性温存に関してAMHがその定量的評価の中心になると思われる。AMHが0であっても妊娠・出産例はある。測定感度の問題から、AMH 0は原始卵胞が全くないことを意味している訳ではない。残り少ない卵子からでも受精卵ができれば、年齢に応じた妊娠率が得られる。男性の場合、AMHはセルトリ細胞で作られているため、無精子症患者でも測定でき、精子があるかないかの指標にはならない。

AMH測定で注意すべきことはその変動係数(CV)が大きい事である。通常ホルモン測定では数%が一般的であるが、AMHの測定では15%のCVを示し、30%ぐらいの変動が生じる事を念頭に置いてAMHの測定値を判断しなければならない。妊娠中の変動、日内変動、卵胞期と黄体期の変動等短期的な変化についていろいろな報告はあるが、本来あまり臨床的意義はない。

今回測定方法の手順を変えるだけで、AMHの測定値は大きく変化することが判明した。今回の実験で、その現象を確認したが、補体の干渉が原因と考えられる。しかし、各群間には非常に良い相関があり、数値は変化するもののAMHの臨床的意義が損なわれるものではないと思われる。また、今回検査会社、検査センターにより測定手順が異なることも判明した。もともとAMHはCV(変動係数)の大きい検査法であるが、測定値が測定手順によって異なるということは、AMHを評価し有効に利用するために、早急に精査検討しなければならない問題となった。

AMH値の測定は、将来早発卵巢不全(早発閉経)と

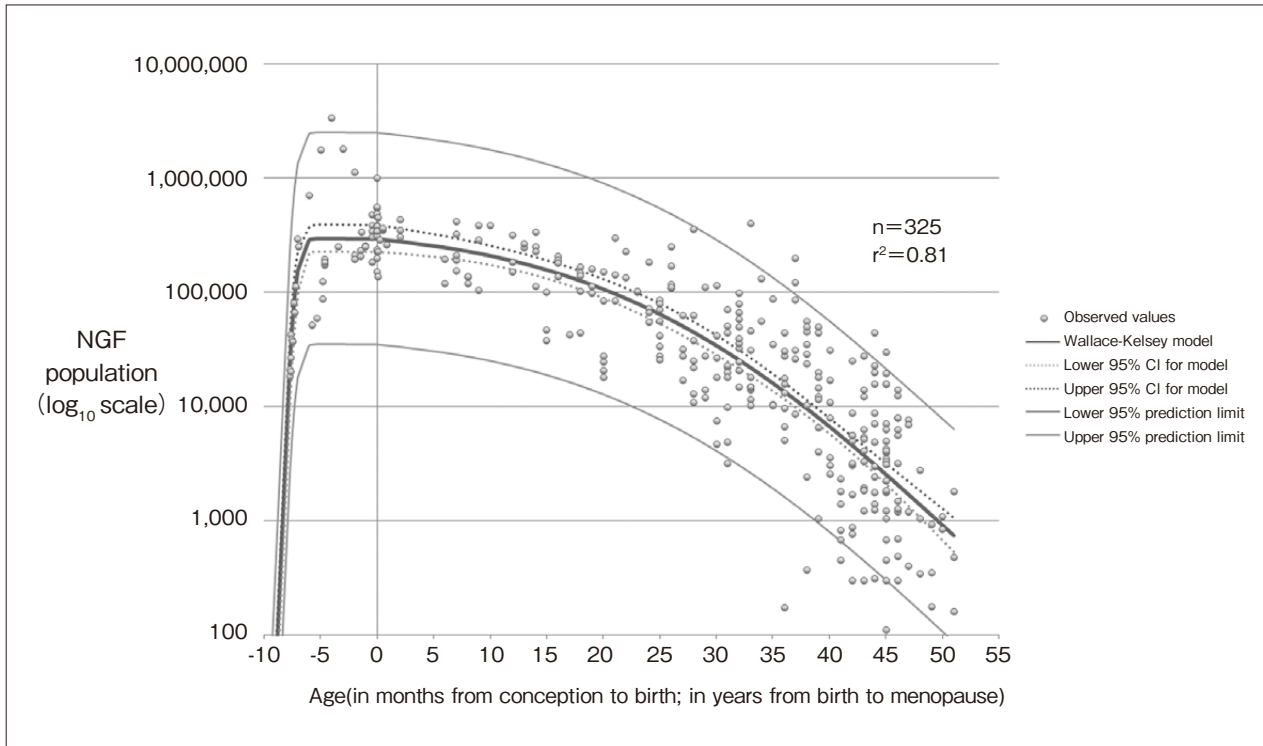


図5 受胎から閉経までの期間に認められた非発育卵胞の数の予測値

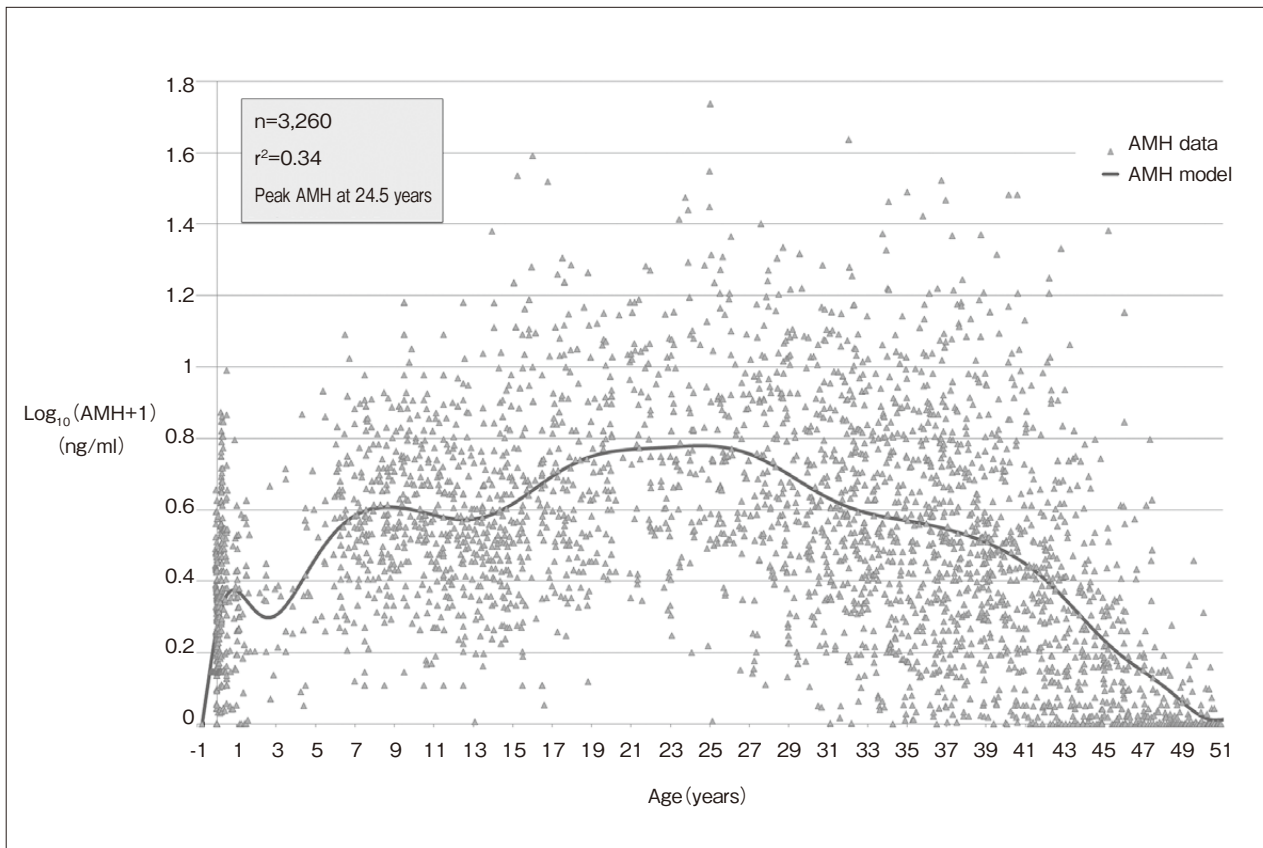


図6 受胎から閉経までの血中AMHのレベル

る女性の早期発見に有効である。不妊治療においては臨床大変有用なマーカーである。AMHはあくまで卵巣に残っている卵子の数の目安であり、卵子の質、妊孕性、妊娠率の予想には使えない。

2003年に「Age=egg quality, FSH level=egg quantity」¹¹⁾というタイトルで論文を発表していたJames P. Tonerは2013年にはAMHを使うことで、FSHの基礎値の測定をやめてよい理由を報告している¹²⁾。AMHが世界的にも広く普及し認知されてきたことを物語っている。

卵巣予備能の変化と卵子の老化について教育・啓蒙を進め、個人の卵巣予備能を正しく評価し、女性の人生設計に役立ててほしいと願っている。

参 考 文 献

- 1) 岩瀬明・石塚文平：クリニカルカンファレンス5 不妊症診療上の問題点. 日産婦誌, 61: 9: N-330-334, 2009.
- 2) La, Marca, A., et al.: Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). Hum. Reprod. Update, 16: 113-130, 2010.
- 3) C. Y. Andersen, et al.: Concentrations of AMH and inhibin-B in relation to follicular diameter in normal human small antral follicles. Hum. Reprod., 25: 1282-1287, 2010.
- 4) La, Marca, A., et al.: Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know?. Hum. Reprod., 24: 2264-2275, 2009.
- 5) N. Bogdanova, et al.: Blood chimerism in a girl with Down syndrome and possible freemartin effect leading to aplasia of the Mullerian derivatives. Hum. Reprod., 25: 1339-1343, 2010.
- 6) Seifer, D., et al.: Age-specific serum anti-Mullerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. Fertil. Steril., 95: 747-750, 2011.
- 7) Almog, B., et al.: Age-related normograms of serum antimullerian hormone levels in a population of infertile women: a multicenter study. Fertil. Steril., 98: 2359-2363, 2011.
- 8) Kelsey, T. W., Wright, P., Nelson, S. M., Anderson, R. A., et al.: A Validated Model of Serum Anti-Müllerian Hormone from Conception to Menopause. PLoS ONE, 6: 1-5, 2011.
- 9) Michelle, Myers, Brooke, S., Middlebrook, Martin M. Matzuk, Stephanie A. Pangas: Loss of inhibin alpha uncouples oocyte-granulosa cell dynamics and disrupts postnatal folliculogenesis. Dev. Biol., 334: 458-467, 2009.
- 10) S. L. Broer, M. J. C. Eijkemans, G. J. Scheffer, I. A. J. van Rooij, A. de Vet, A. P. N. Themmen, J. S. E. Laven, F. H. de Jong, E. R. te Velde, B. C. Fauser, and F. J. M. Broekmans: Anti-Müllerian hormone Predicts Menopause: A Long-Term Follow-Up Study in Normoovulatory Women. J. Clin. Endocrinol. Metab., 96: 2532-2539, 2011.
- 11) James, P. Toner: Age = egg quality, FSH level = egg quantity. Fertil. Steril., 79: 491, 2003.
- 12) James, P. Toner, David, B. Seifer.: Why we may abandon basal follicle-stimulating hormone testing: a sea change in determining ovarian reserve using antimüllerian hormone. Fertil. Steril., 99: 1825-1830, 2013.

ARTにおけるホルモン補充の現状 —日本IVF学会によるアンケート調査の結果—

東口 篤司

KKR 札幌医療センター斗南病院 生殖内分泌科 〒060-0001 北海道札幌市中央区北1条西6丁目

要 旨： 平成25年2月日本IVF学会は国内のARTにおけるホルモン補充の現状を調査するため全国のART実施施設にアンケート調査をおこなった。卵胞ホルモンの世界的標準は天然型のEstradiolだが国内ではEstradiolに加えてConjugated estrogenが比較的多く使用されていた。また黄体ホルモンの世界的標準は天然型のProgesteroneだが国内では合成の黄体ホルモンが50%以上を占めていた。また世界では全く使用されない避妊用ピルも使用されていた。今回のアンケート調査によってARTで補充されるホルモン製剤の世界における日本の位置を窺うことができた。今後、この位置からどの方向に向かえば良いのか、この位置を変える必要はないのか、を模索する必要があると考えられた。

キーワード： 新鮮胚移植, 凍結胚移植, 卵胞ホルモン補充, 黄体ホルモン補充, 全国アンケート調査

はじめに

平成24年9月29～30日に開催された第15回日本IVF学会学術講演会におけるシンポジウム「黄体期管理」では、国内で入手できるホルモン製剤には制限があり、現在国内で使用されている卵胞ホルモン製剤、黄体ホルモン製剤は世界標準からかなり偏っているのではないかという可能性が指摘された。そこでARTにおけるホルモン補充のあり方を確立するため、まず国内における薬剤使用の現状を把握すべく、日本IVF学会は全国のART施設へのアンケート調査を企画した。

方 法

平成25年2月、日本産科婦人科学会ART登録施設568施設に図1-1～4の4つの質問を郵送し、無記名の返信を依頼した。

結 果

212施設 (37.3%) から回答が得られた。結果を図2, 3, 4に示した。図3に示した薬剤以外を使用している施設はなかった。

図2は新鮮胚移植、凍結胚移植において卵胞ホルモン、黄体ホルモンを使うか、使わないかの結果である。53%の施設で新鮮胚移植の採卵後に卵胞ホルモンが補充されていた。

図3は新鮮胚移植、凍結胚移植における卵胞ホルモン補充についての結果である。conjugated estrogenが新鮮胚移植で14%、凍結胚移植で19%の施設で使用されていた。また避妊用ピル（卵胞ホルモン成分はethynilestradiol）が新鮮胚移植で13%、凍結胚移植で6%の施設で使用されていた。いつまで続けるかについては、妊娠7～8週と妊娠が判明した時点の2点にピークがあり、避妊用ピルは妊娠が判明した時点で止める施設が多かった。

図4は新鮮胚移植、凍結胚移植における黄体ホルモン補充の結果である。ヒスロンhなど高容量のmedroxyprogesterone acetateを使用している施設はなかった。clormadinone acetate, dydrogesterone, hydroxyprogesterone caproate, medroxyprogesterone acetateの合成黄体ホルモンが新鮮胚移植でも凍結胚移植でも52%の施設で使用されていた。また避妊用ピル（黄体ホルモン成分はNorgestrel）が新鮮胚移植で6%、凍結胚移植で5%の施設で使用されていた。いつまで続けるかについては、卵胞ホルモンと同様で妊娠7～8週と妊娠が判明した時期の2点にピークがあり、避妊用ピルは妊娠が判明したら止める施設が多かった。

考 察

新鮮胚移植においては、黄体期早期からの大量のステロイドホルモンによる内因性のLHの抑制、GnRHagonistあるいはGnRHantagonistによる下垂体の抑制、採卵による顆粒膜細胞の減少などのため、しばしば血中エストラジ

質問1 自然周期、過排卵周期にかかわらず新鮮胚移植において採卵後、卵胞ホルモンを使う場合、現在どのような卵胞ホルモンを、いつまでお使いでしょうか？ピルは黄体ホルモンとの合剤ですが、ピルも含めてお答えください。複数選択可です。

- ☐ 卵胞ホルモンは使わない
- ☐ プレマリンを使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ Progynova などエステル型 Estradiol の経口剤を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ ジュリナ、Estrace など Micronized estradiol の経口剤を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ エストラーナなど貼付剤を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ ディビゲルなどのゲル剤を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ デボンシなどの mestranol を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ プラノバールなどの経口避妊薬を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ オバホルモндеポー、ペラニンデポーなどエステル型 Estradiol の注射を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ 他にお使いの卵胞ホルモンがある場合、記載してください
- ☐ _____を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ _____を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ _____を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ その他の方法あるいはご意見がありましたらご記載ください
-

図 1-1 新鮮胚移植でどのような卵胞ホルモンを補充するか

質問2 凍結胚移植において自然周期、過排卵周期、ホルモン補充周期にかかわらず、卵胞ホルモンを使う場合、現在どのような卵胞ホルモンを、いつまでお使いでしょうか？ピルは黄体ホルモンとの合剤ですが、ピルも含めてお答えください。複数選択可です。

- ☐ 卵胞ホルモンは使わない
- ☐ プレマリンを使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ Progynova などエステル型 Estradiol の経口剤を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ ジュリナ、Estrace など Micronized estradiol の経口剤を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ エストラーナなど貼付剤を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ ディビゲルなどのゲル剤を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ デボンシなどの mestranol を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ プラノバールなどの経口避妊薬を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ オバホルモндеポー、ペラニンデポーなどエステル型 Estradiol の注射を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ 他にお使いの卵胞ホルモンがある場合、記載してください
- ☐ _____を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ _____を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ _____を使うことがある。その場合
☐ 妊娠_____週まで使う ☐ 妊娠が判明した時点でやめる ☐ その他_____まで使う
- ☐ その他の方法あるいはご意見がありましたらご記載ください
-

図 1-2 凍結胚移植でどのような卵胞ホルモンを補充するか

質問3 自然周期、過排卵周期にかかわらず新鮮胚移植において採卵後、黄体ホルモンを使う場合、現在どのような黄体ホルモンを、いつまでお使いでしょうか？ピルは卵胞ホルモンとの合剤ですが、ピルも含めてお答えください。複数選択可です。

- ☐黄体ホルモンは使わない
- ☐自家製プロゲステロン腔剤を使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐ウトロゲスタン、クリノンなど micromized progesterone を腔剤で使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐ウトロゲスタンなど micromized progesterone を経口で使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐デュファストンなど Dydrogesterone を使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐ルトラールなど Chlormadinone acetate を使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐プロベラ、ヒスロンなど Medroxyprogesterone acetate を使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐ヒスロンhなど Medroxyprogesterone acetate（高容量）を使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐プラノバールなど経口避妊薬を使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐プロゲホルモンなどプロゲステロンの筋注を使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐プロゲデポー、オオホルミンルテウムデポーなど Hydroxyprogesterone caproate を使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- 他にお使いの黄体ホルモンがある場合、記載してください
- ☐_____を使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐_____を使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐_____を使うことがある。その場合
☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う
- ☐その他の方法あるいはご意見がありましたらご記載ください
-

図 1-3 新鮮胚移植でどのような黄体ホルモンを補充するか

質問4 凍結胚移植において自然周期、過排卵周期、ホルモン補充周期にかかわらず、黄体ホルモンを使う場合、現在どのような黄体ホルモンを、いつまでお使いでしょうか？ピルは卵胞ホルモンとの合剤ですが、ピルも含めてお答えください。複数選択可です。

☐黄体ホルモンは使わない

☐自家製プロゲステロン腔剤を使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐ウトログestan、クリノンなど micromized progesterone を腔剤で使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐ウトログestanなど micromized progesterone を経口で使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐デュファストンなど Dydrogesterone を使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐ルトラールなど Chlormadinone acetate を使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐プロベラ、ヒスロンなど Medroxyprogesterone acetate を使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐ヒスロンhなど Medroxyprogesterone acetate の高容量を使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐プラノバールなど経口避妊薬を使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐プロゲホルモンなどプロゲステロンの筋注を使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐プロゲデポー、オオホルミンルテウムデポーなど Hydroxyprogesterone caproate を使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

他にお使いの黄体ホルモンがある場合、記載してください

☐_____を使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐_____を使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐_____を使うことがある。その場合

☐妊娠_____週まで使う ☐妊娠が判明した時点でやめる ☐その他_____まで使う

☐その他の方法あるいはご意見がありましたらご記載ください

図 1-4 凍結胚移植でどのような黄体ホルモンを補充するか

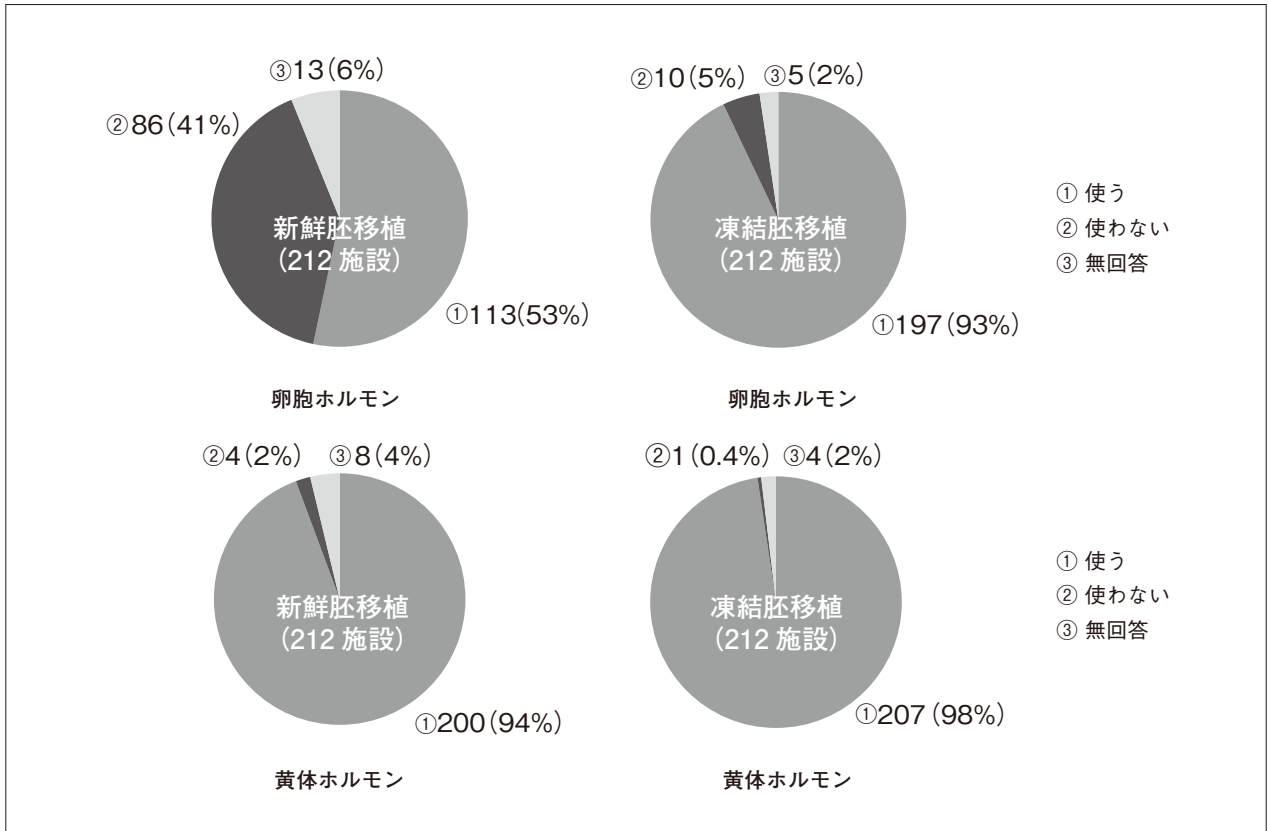


図2 ホルモン製剤を使うか、使わないか

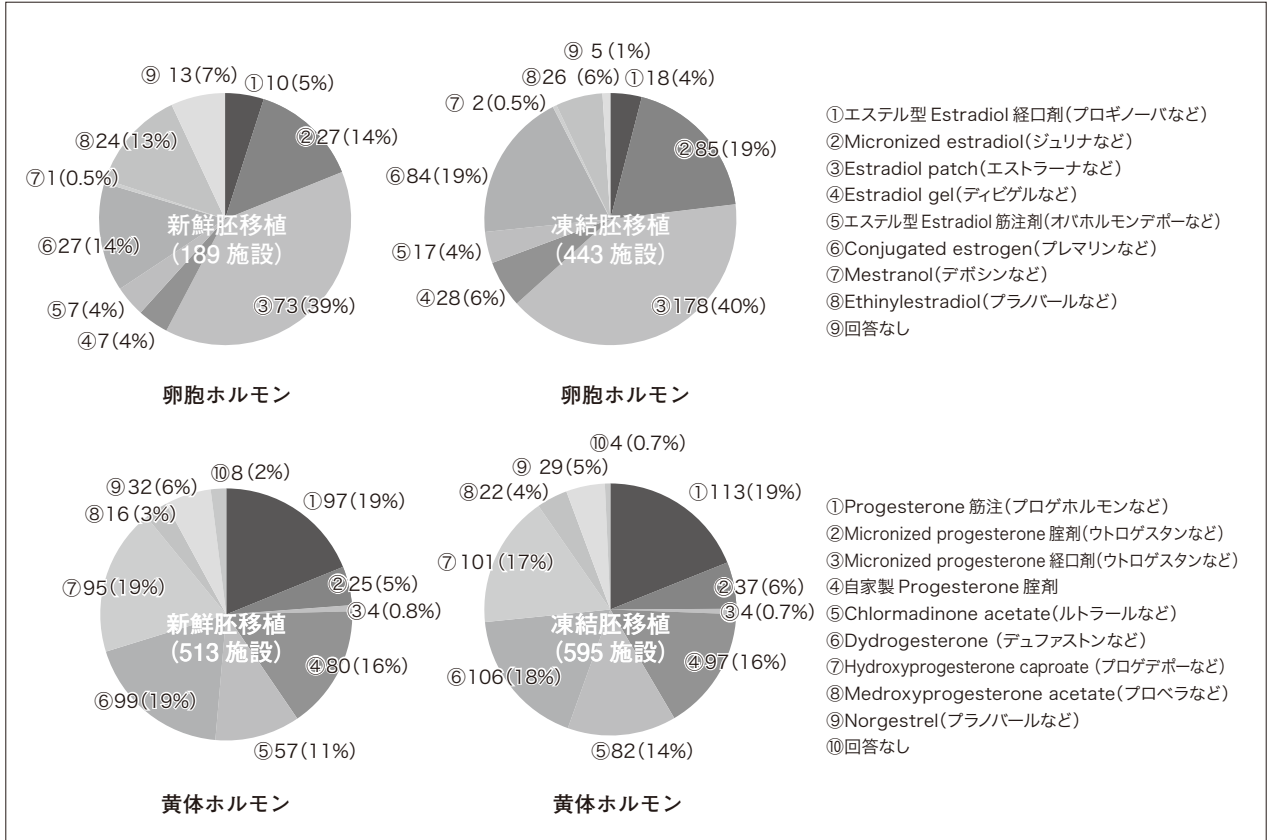


図3 どのようなホルモン製剤を使うか？

	新鮮胚移植						凍結胚移植					
	妊娠判明-4	5-6	7-8	9-10	11-12	その他	妊娠判明-4	5-6	7-8	9-10	11-12	その他
卵胞ホルモン												
エステル型Estradiol経口剤（プロギノーバなど）	2	0	5	2	0	1	2	0	8	8	0	0
Micronized estradiol（ジュリナなど）	8	2	10	4	0	2	5	3	42	27	2	6
Estradiol patch（エストラーナなど）	28	7	22	8	0	8	10	7	89	53	5	14
Estradiol gel（ディビゲルなど）	3	0	2	0	0	2	0	2	15	9	1	1
エステル型Estradiol筋注剤（オバホルモンのデポーなど）	3	1	2	0	0	1	3	3	7	2	0	2
Conjugated estrogen（プレマリンなど）	13	4	5	1	0	4	18	1	33	19	3	10
Mestranol（デボシンなど）	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Ethinylestradiol（プラノバルなど）	10	7	3	0	0	4	13	7	3	0	1	2
黄体ホルモン												
	新鮮胚移植						凍結胚移植					
	妊娠判明-4	5-6	7-8	9-10	11-12	その他	妊娠判明-4	5-6	7-8	9-10	11-12	その他
Progesterone筋注剤（プロゲホルモンなど）	22	17	33	14	1	10	8	11	51	28	5	7
Micronized progesterone腔剤（ウトログスタンなど）	2	4	13	5	0	1	1	1	16	17	1	0
Micronized progesterone経口剤（ウトログスタンなど）	1	0	2	1	0	0	0	0	2	2	0	0
Progesterone腔剤（自家製プロゲステロン）	21	12	25	14	1	7	6	4	37	36	6	4
Chlormadinone acetate（ルトラールなど）	20	8	23	4	0	2	18	3	36	19	2	3
Dydrogesterone（デュファストンなど）	25	13	36	18	0	7	8	4	54	26	5	7
Hydroxyprogesterone caproate（プロゲデポーなど）	19	15	34	19	2	6	8	9	41	29	4	7
Medroxyprogesterone acetate（プロベラなど）	5	4	3	1	0	3	3	1	8	5	3	2
Norgestrel（プラノバルなど）	17	5	6	0	1	3	15	7	2	0	2	3

図4 いつまで使うか？（数値は施設数）

オール、プロゲステロンが採卵後に急激に低下する。そのため新鮮胚移植における黄体ホルモン補充の必要性はすでに定説であり世界的に広く実施されている¹⁾。一方、着床における卵胞ホルモンの意義には諸説あり、新鮮胚移植における採卵後の卵胞ホルモンの補充には賛否両論ある。2000年Farhiらは対象としたprospective randomized studyをおこない採卵後7日目からestradiol (Estrophem) 4mg/日を経口投与すると有意に妊娠率が上昇すると報告した²⁾。また2002年に採卵後の卵胞ホルモン補充の有効性を示唆するmeta-analysisが発表された³⁾。しかし2007年⁴⁾、2010年⁵⁾のmeta-analysisでは有効性が見いだせなかったと報告されている。IVFに関する世界的なアンケート調査のウェブサイトであるIVF-worldwide.comでは、この問題に関する十分な検討がなく世界的には採卵後の卵胞ホルモン補充がどのくらいの施設で採用されているのかは不明だが、本アンケート調査では過半数の施設が採卵後の卵胞ホルモン補充を採用している結果だった。

ARTにおいて補充する卵胞ホルモン製剤の種類に関してはIVF-worldwide.comの調査からは読み取れないため、PubMedの文献を検索した結果によると新鮮胚移植でも凍結胚移植でも天然型のestradiolがグローバルスタンダードである⁶⁾。北米、欧州では1940年から1971

年におけるdiethylstilbestrol (DES) による腫瘍発生の苦い経験があり、また、このDESの作用はDESが合成ホルモンだからではなく卵胞ホルモン活性が強いためであることが動物実験で証明されているため^{7,8)}、ARTにおける卵胞ホルモン製剤の選択には極めて慎重である。月経中から卵胞ホルモンを補充し胚移植に合わせて黄体ホルモンを追加する方法は1984年Lutjenらによるegg donationの報告⁹⁾が最初で、その後の世界の報告はほとんどが彼らの方法に準じている。彼らはその論文の中で、卵胞ホルモンとして天然型のProgynovaを選択し、できるだけ自然月経周期におけるestradiol動態に似るように処方計画を立てたと述べている。つまり現在のグローバルスタンダードはDES事件の経験に踏まえて卵胞ホルモン補充を自然月経周期に似せるという考え方の結果ではないかと考えられる。

世界的にconjugated estrogenはまれに報告が見られるが例外的である。また胚移植周期の卵胞ホルモン補充として避妊用ピルが用いられることは国外では全くない⁶⁾。それに対して本アンケート調査では1～2割の施設がconjugated estrogenを、1割前後の施設が避妊用ピルに含まれるethinylestradiolを採用している結果だった。

ARTにおける黄体ホルモン補充のグローバルスタンダードは新鮮胚移植でも凍結胚移植でも天然型のprogesteroneである。IVF-worldwide.comの82か国408施設284,600周期のアンケート調査によると新鮮胚移植では天然型のprogesteroneが99.5%を占めていた。前記1984年Lutjenらによるegg donationの報告では、黄体ホルモンとして天然型のmicronized progesterone腔剤

を選択し卵胞ホルモンと同様に黄体ホルモン補充を自然月経周期のprogesterone動態に似るように処方計画を立てている。凍結胚移植でもPubMedの文献を検索した結果は、ほぼ100%が天然型のprogesteroneでありdydrogesterone, hydroxyprogesterone caproateの報告はみられるが例外的である。また胚移植周期の黄体ホルモン補充として避妊用ピルが用いられることは国外では全

表1 卵胞ホルモン製剤、黄体ホルモン製剤の特徴

卵胞ホルモン	投与経路	妊娠中の取り扱い (添付文書)	妊娠中の取り扱い (FDA)	体内で作用する時の 構造
エステル型 Estradiol (プロギノーバなど)	経口	添付文書に存在しない	カテゴリー X	Estradiol
Micronized estradiol (ジュリナ エストレースなど)	経口	禁忌	カテゴリー X	Estradiol
Estradiol patch (エストラーナなど)	経皮	禁忌	カテゴリー X	Estradiol
Estradiol gel (ディビゲルなど)	経皮	禁忌	カテゴリー X	Estradiol
エステル型 Estradiol (オパホルモンドポーなど)	筋注	禁忌または妊娠中の取扱いの記載なし	カテゴリー X	Estradiol
Conjugated estrogen (プレマリンなど)	経口	禁忌	カテゴリー X	Estrone Equilin など 10 種類以上
Mestranol (デボシンなど)	経口	妊娠中の取扱いの記載なし	カテゴリー X	Ethinylestradiol
Ethinylestradiol (プラノバルなどの一部)	経口	妊娠中の取扱いの記載なし	カテゴリー X	Ethinylestradiol

黄体ホルモン	投与経路	妊娠中の取り扱い (添付文書)	妊娠中の取り扱い (FDA)	体内で作用する時の 構造
Progesterone (プロゲホルモンなど)	筋注	禁忌 (切迫流産に適応あり)	カテゴリー B	Progesterone
Micronized Progesterone (ウトロゲスタンなど)	経腔	添付文書に存在しない	カテゴリー B	Progesterone
Micronized Progesterone (ウトロゲスタンなど)	経口	添付文書に存在しない	カテゴリー B	Progesterone
自家製 Progesterone	経腔	添付文書に存在しない	カテゴリー B	Progesterone
Chlormadinone (ルトラルなど)	経口	妊娠中の取扱いの記載なし	妊娠中の取扱いの記載なし	Chlormadinone
Dydrogesterone (デュファストンなど)	経口	切迫流産に適応あり	妊娠中の取扱いの記載なし	Dydrogesterone
エステル型 Hydroxyprogesterone (プロゲデポーなど)	筋注	禁忌 (切迫流産に適応あり)	カテゴリー D	Hydroxyprogesterone
エステル型 Medroxyprogesterone (プロベラなど)	経口	切迫流産に適応あり	カテゴリー D	Medroxyprogesterone
Norgestrel (プラノバルなどの一部)	経口	禁忌	カテゴリー X	Norgestrel (Levonorgestrel)

Conjugated estrogen は妊馬尿から精製されるので天然型ホルモンではあるが estrone の他ヒトには存在しない equilin など少なくとも 10 種類の馬独特の卵胞ホルモンが含まれる。これら馬独特の卵胞ホルモンはヒトにも卵胞ホルモン活性を示すため estrone から転換された estradiol を測定しても conjugated estrogen の薬物活性を正確に測ることはならない。自家製プロゲステロン腔剤に用いられるプロゲステロンは通常医薬品プロゲステロンではなく実験用プロゲステロンであり実験用プロゲステロンをヒトに用いることには議論があるところである。

くない⁶⁾。それに対して本アンケート調査では国内の過半数の施設が合成黄体ホルモンを、5～6%の施設がNorgestrelなど避妊用ピルの合成黄体ホルモンを採用している結果だった。

新鮮胚移植におけるprogesteroneをいつまで続けるかについてのIVF-worldwide.comの前記284,600周期のアンケート結果では妊娠8～10週までが44%と最も多く、妊娠12週以後までが28%と続いている。凍結胚移植におけるホルモン補充はIVF-worldwide.comの56か国179施設39,152周期の調査によると妊娠12週以後までが41%で最も多く、妊娠10週までが35%と続いている。本アンケート調査では世界標準に比べると早めに止めている傾向が認められた。また避妊用ピルは他の薬剤と異なり、妊娠が判明した時点で中止している施設が多い結果だったが、このことは妊娠中には避妊用ピルを使いたくないと考えている施設が多いことを示していると思われる。

図4からも分かるようにARTで補充されるホルモン製剤は、ほとんどの薬剤が妊娠中にも補充される。各ホルモン製剤の特徴を表1に示した。表1から、ARTでは禁忌の薬剤を使用せざるを得ないことが分かる。どのような条件下で禁忌の薬剤を処方することができるのか、適応外の薬剤、添付文書に存在しない薬剤を処方する場合はどうか、progesteroneのように禁忌だが切迫流産に適用があるということをどのように理解すればいいのか、についてさらに深い議論が必要ではないかと思われる。

国内では本アンケート調査までARTにおけるホルモン補充の大規模な現状調査はなかった。今回の調査によってARTで補充されるホルモン製剤の世界における日本の位置を窺うことができた。今後、この位置からどの方向に向かえば良いのか、この位置を変える必要はないのか、を模索する必要がある。現在、国内ではmicronized progesteroneは入手できない。経口estradiol剤はmicronized estradiol（ジュリナ）が入手可能だが1錠中の含有量が少なくARTにおけるホルモン補充としては実用上難がある。薬剤を海外から購入する場合は倫理委員会の承認が必要であり、価格の問題がある。グローバルスタンダードと国内の事情の違いを考える時、今後国内では各方面の協力を得て、適切な薬剤が適切に入手できる環境を作り出すことが必要ではないかと思われた。

pregnancy in the treatment of infertility: an educational bulletin. Fertil. Steril., 90 Suppl 3: S150-153, 2008.

- 2) Farhi, J., Weissman, A., Steinfeld, Z., Shorer, M., Nahum, H., Levrant, D.: Estradiol supplementation during the luteal phase may improve the pregnancy rate in patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer cycles. Fertil. Steril., 73: 761-766, 2000.
- 3) Pritts, E. A., Atwood, A. K.: Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. Hum. Reprod., 17: 2287-2299, 2002.
- 4) Gelbaya, T. A., Kyrgiou, M., Tsoumpou, I., Nardo, L.: The use of estradiol for luteal phase support in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a systematic review and meta-analysis. Fertil. Steril., 90: 2116-2125, 2007.
- 5) Jee, B. C., Suh, C. S., Kim, S. K., Moon, S. Y.: Effects of estradiol supplementation during the luteal phase of in vitro fertilization cycles: meta-analysis. Fertil. Steril., 93: 428-436, 2010.
- 6) 東口篤司：凍結胚移植におけるホルモン補充—世界の標準—。日IVF会誌, 16: 46-53, 2013.
- 7) Kimura, T.: Persistent vaginal cornification in mice treated with estrogen prenatally. Endocrinol. Jpn., 22: 497-502, 1975.
- 8) Nomura, T., Kanzaki, T.: Induction of urogenital anomalies and some tumors in the progeny of mice receiving diethylstilbestrol during pregnancy. Cancer Res., 37: 1099-1104, 1977.
- 9) Lütjen, P. J., Leeton, J. F., Findlay, J. K.: Oocyte and embryo donation in IVF programmes. Clin. Obstet. Gynaecol., 12: 799-813, 1985.

参考文献

- 1) The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine in collaboration with the Society for Reproductive Endocrinology and Infertility: Progesterone supplementation during the luteal phase and in early

卵巣機能予備能力消失症例に対する卵胞発育 および卵獲得からみたホルモン基礎値の後方視的検討

片桐 由起子, 松江 陽一, 福田 雄介, 三枝 美智子, 宗 晶子, 北村 衛, 森田 峰人

東邦大学医療センター大森病院産婦人科 〒143-8541 東京都大田区大森西 6-11-1

要 旨： 卵巣機能予備能力消失 (Diminished Ovarian Reserve: DOR) をきたしている挙児希望症例が存在し, 従来の卵巣機能評価方法は生殖補助医療 (Assisted Reproductive Technology: ART) 開始時のマーカーとして十分ではない. DORのART成績を推測する指標を明らかにすることを目的として, 40歳以上のART周期Day3ホルモン値を後方視的に検討した. 卵獲得周期と卵非獲得周期の比較でFSH値およびLH値に有意差を認めず, E_2 値は卵獲得周期で有意に高値であった. さらにFSH値が10mIU/mlを超える周期の卵獲得率は, E_2 値が20pg/ml以上で93.9%, 25pg/ml以上で96.6%であり, 卵獲得時の胚移植率は60.0%で, 5.3%に妊娠成立をみた. DORのART結果予測マーカーとして, Day3 E_2 値が有用であることが示唆された.

キーワード： 卵巣機能予備能力消失 (DOR), 抗ミュラー管ホルモン (AMH), エストラジオール (E_2), 生殖補助医療 (ART), 高齢不妊

緒 言

挙児希望年齢の高齢化や不妊治療の長期化により, ART開始にあたり, 既に卵巣機能予備能力消失 (Diminished Ovarian Reserve: DOR) をきたしている症例は少なくない. DORの中にも, 月経周期は保たれ卵胞発育を認める症例も存在するが, 多くは自然な卵胞発育は稀であり, それらの不妊治療には苦慮する. 卵巣予備能のマーカーとして抗ミュラー管ホルモン (Anti-Müllerian Hormone: AMH) が注目され測定されているが¹⁾, これらの症例ではAMHは感度以下で測定不能であり, 従来マーカーとされていたFSHもすでに高値を呈しており, マーカーにはなりえない²⁾. またantral follicle count (AFC) も卵巣予備能の指標として有用であるが³⁾, これらの症例ではantral follicleを認めないことが多い. そのためDOR症例がART周期を開始するにあたり, 当該周期の卵胞発育や卵回収の可能性について卵巣機能の評価する指標としては, AMHやFSH, AFCは必ずしも有用とは言えず, DORのためのART周期開始時マーカーが必要である.

今回我々は, DOR患者へのART周期開始基準を明確にすることを目的として, 高齢ART周期における卵胞発育および卵獲得からホルモン基礎値と臨床成績を後方視的に検討した.

対 象 と 方 法

2009年～2011年に当院で実施した総採卵周期1,941周期のうち, 40歳以上の998周期 (51.4%) を対象とし, 卵獲得周期 (Group I) と卵非獲得周期 (Group II) とに分け, ホルモン基礎値を後方視的に検討した. さらにDay3 FSH が10mIU/mlを超える症例について卵獲得周期 (Group I') と卵非獲得周期 (Group II') に分け, FSH値と E_2 値を比較検討した. 本研究が当該周期の卵胞発育の可能性を知る指標を明らかにすることを目的としたことから, E_2 分泌が認められる卵巣機能が比較的保たれている患者がGroup I' に偏在する可能性を回避する目的で, 調査対象期間中に卵獲得周期と卵非獲得周期の双方を経験した患者を対象として, さらに卵獲得周期 (Group I'') と卵非獲得周期 (Group II'') に分け, ホルモン基礎値を比較した. 卵巣刺激の有無や, 卵巣刺激を実施した場合の方法による違いは, 今回は分析対象としなかった. 検定はMann-Whitney U検定を用いた.

結 果

40歳以上の988周期のうち, 卵獲得周期 (Group I) は837周期 (83.9%), 卵非獲得周期 (Group II) は161周期 (16.1%) で, それぞれの平均年齢は40.6 ± 5.1歳, 41.3 ± 4.7歳で有意差を認めなかった. 採卵周期にお

けるDay3のFSH, LH, E₂を2群間で比較したところ、FSH 14.0 ± 4.2mIU/ml vs. 16.5 ± 11.5mIU/ml, LH 7.0 ± 4.4 mIU/ml vs. 7.3 ± 5.7 mIU/ml, E₂ 30.2 ± 9.0pg/ml vs. 24.0 ± 17.0pg/mlで、FSHとLHには両群間に有意差を認めなかったが、E₂値では、Group IにおいてGroup IIに比較して有意に高値であった($p < 0.05$) (図1)。

次に、988周期のうちFSH 10mIU/mlを超える633周期 (63.4%)を対象として、卵獲得周期 (Group I': n=506)と卵非獲得周期 (Group II': n=127)とでFSH値とE₂値の比較を行った。平均年齢は、Group I' vs. Group II'で、43.1 ± 2.4歳 vs. 43.3 ± 2.2歳で有意差を認めず、FSH値は14.2 ± 3.4mIU/ml vs. 16.7 ± 8.5mIU/mlで有意差を認めなかったのに対し、

E₂値は38.9 ± 20.7pg/ml vs. 22.7 ± 7.2pg/mlで、Group I'で有意に高値であった($p < 0.05$) (表1)。

E₂分泌が認められる卵巢機能が比較的に良好な患者がGroup I'に偏在している可能性が考えられ、症例偏在による解析結果への影響を回避するために、調査対象期間中に卵獲得周期と卵非獲得周期の双方を経験した75症例、314周期を対象として卵獲得周期 (Group I'': n=251)と卵非獲得周期 (Group II'': n=63)とに分けてさらにFSH値とE₂値の解析を行った。FSH値はGroup I'' 16.3 ± 5.7mIU/ml, Group II'' 20.4 ± 10.2mIU/mlで有意差を認めず、それに対してE₂値はGroup I'' 43.7 ± 14.5 pg/ml, Group II'' 24.9 ± 9.5 pg/mlとGroup I''で有意に高値であった (表1)。以上の結果からDay3 E₂値が卵獲得の指標となることが示唆された。E₂カットオフ値について検

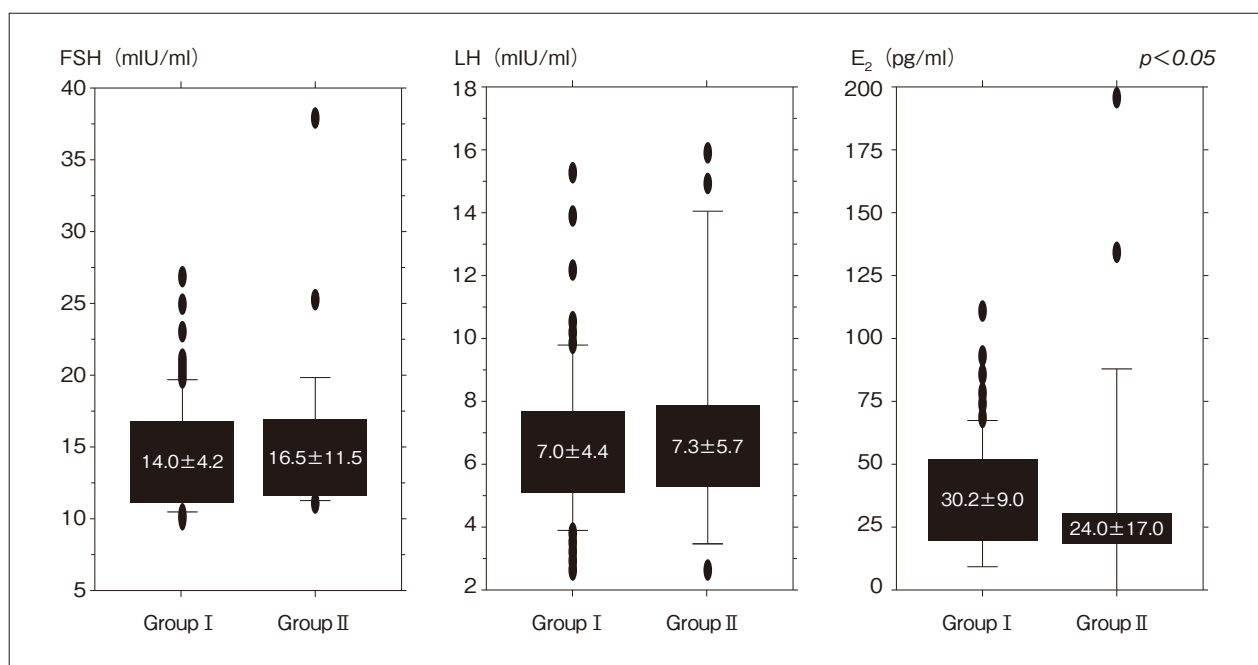


図1 高齢 ART 周期における Day3 FSH, LH, E₂ の検討

Group I : 卵獲得周期 n=837

Group II : 卵非獲得周期 n=161

表1 40歳以上かつDay3 FSH10mIU/ml以上における、卵獲得周期と卵非獲得周期における年齢、Day3 FSH, E₂の比較

	Group I' n=506	Group II' n=127	Group I'' n=251	Group II'' n=63
年齢 (歳)	43.1 ± 2.4	43.3 ± 2.2	42.6 ± 2.3	43.7 ± 4.0
FSH (mIU/ml)	14.2 ± 3.4	16.7 ± 8.5	16.3 ± 5.7	20.4 ± 10.2
E ₂ (pg/ml)	38.9 ± 20.7*	22.7 ± 7.2*	43.7 ± 14.5**	24.9 ± 9.5**

Mann Whitney U: * $p < 0.05$, ** $p < 0.05$.

Group I' : 40歳以上かつDay3 FSH10mIU/ml以上における卵獲得周期

Group II' : 40歳以上かつDay3 FSH10mIU/ml以上における卵非獲得周期

Group I'' : 同一症例において卵獲得周期・非獲得周期双方の既往がある40歳以上かつDay3 FSH10mIU/ml以上の卵獲得周期

Group II'' : 同一症例において卵獲得周期・非獲得周期双方の既往がある40歳以上かつDay3 FSH10mIU/ml以上の卵非獲得周期

討すると、E₂ 20.0 pg/ml以上での卵獲得率は93.9%、E₂ 25.0 pg/ml以上では96.6%であった(図2)。

卵獲得後にET胚を得ることができたのは304周期(60.0%)で、ET群と非ET群の平均年齢は、42.6 ± 2.0歳と43.8 ± 2.7歳で、非ET群において有意に高齢であった($p < 0.001$)。Day3 FSH値は14.5 ± 4.1mIU/ml vs. 14.4 ± 18.2mIU/mlで有意差を認めず、その一方でE₂値は45.1 ± 19.0pg/ml vs. 34.8 ± 17.5pg/mlで、ET可能周期で有意に高値であった($p < 0.05$) (表2)。40歳以上かつFSH > 10mIU/ml周期における妊娠率は、胚移植あたり5.3%、卵獲得あたり3.2%、周期あたり2.5%で、40歳以上かつFSH ≤ 10mIU/ml周期の13.2%、7.6%、6.1%と比較して低率であった($p < 0.001$) (表3)。

考 察

ART開始に先立ち卵巣機能評価を行うことは重要であり、Day3 FSH値およびLH値がその指標とされてきた^{4,5)}。しかし挙児希望年齢の高年齢化などを背景として、卵巣機能低下症例がART症例の多くを占めるようになり、従来の卵巣機能評価マーカーでの卵巣機能評価には限界がある²⁾。また、新しい卵巣予備能マーカーとしてAMHが用いられるようになったが¹⁾、多嚢胞性卵巣症候群や、卵巣機能低下の過渡期にある症例ではAMHは有用であるが^{6,7)}、DORではAMHは一様に低値であり、卵胞発育の有無を推察する指標としては適当とは言えない。E₂値による評価を見てみると、hCG投与前あるいはピーク時のE₂値が低値であると、卵巣機

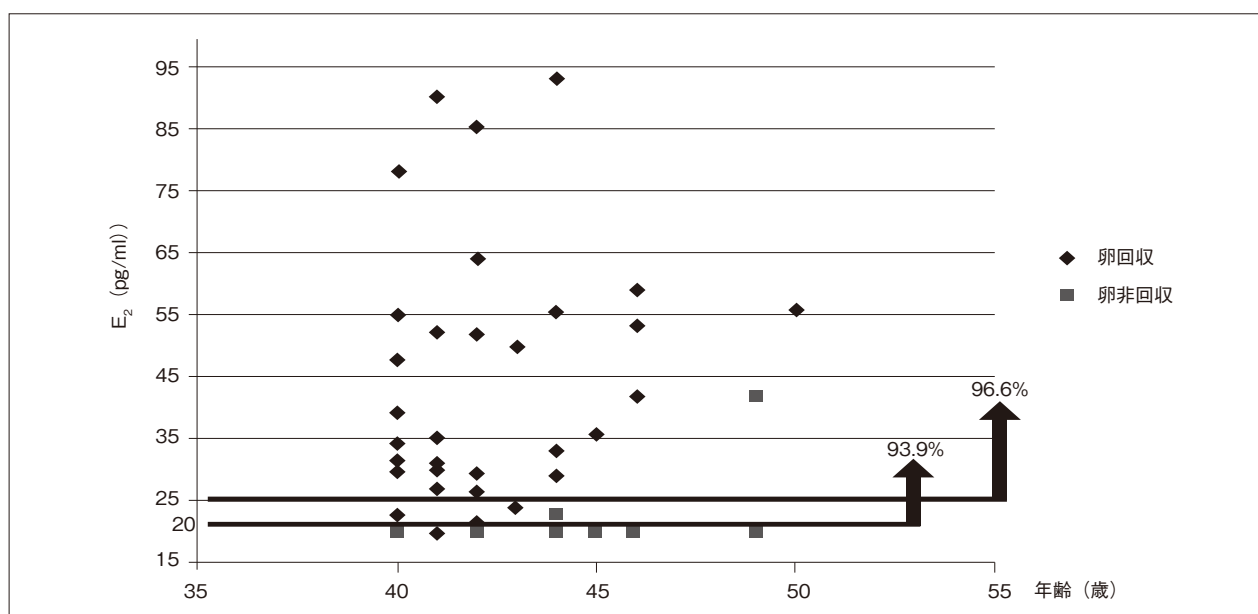


図2 Day3 E₂ 値と卵回収率

表2 40歳以上、FSH > 10mIU/ml 卵獲得周期におけるET胚獲得周期とET胚非獲得周期の比較

	胚あり n=304	胚なし n=202	
年齢(歳)	42.6 ± 2.0	43.8 ± 2.7	$p < 0.001$
FSH (mIU/ml)	14.5 ± 4.1	14.4 ± 18.2	NS
E ₂ (pg/ml)	45.1 ± 19.0	34.8 ± 17.5	$p < 0.05$

ET: embryo transfer

表3 40歳以上の妊娠率

	当 院			日産婦データブック 2011 ¹¹⁾
	FSH > 10mIU/ml	FSH ≤ 10mIU/ml	全体	
／胚移植	5.3%	13.2%	10.1%	16.7%
／卵獲得	3.2%	7.6%	6.1%	—
／周期	2.5%	6.1%	3.8%	7.9%

能やART成績が不良であるという poor responder に関する報告があるが^{8,9)}、それらの対象は卵胞発育を認め卵が獲得できている例であり、本検討の対象とは異なった集団に対するデータであると言える。Day2あるいはDay3のE₂値が>30pg/mlあるいは>75pg/mlであるE₂高値症例を poor responder とした報告もあるが¹⁰⁾、そこでいう poor responder とは、GnRH agonist protocolによる卵巣刺激に対して卵胞発育数および成熟卵胞数が対照群と比較して少なかったとするものである。言い換えれば卵胞発育をきたした例を取り上げていることになり、すなわち、本検討において40歳以上FSH高値周期の卵獲得周期におけるDay3 E₂値が高値であったことと矛盾しない。DOR症例にDay3 E₂値は当該周期における卵胞発育や採卵率を知る指標として有用であることが本研究により示唆されたが、FSH上昇を認めない症例に比較して妊娠率は低値であり、ART開始前の臨床成績の提示には、年齢だけではなく卵巣機能評価も考慮した症例毎の提示が重要であると思われる。

結 論

卵胞発育が稀となった進行したDORにおいて、Day3 E₂値は卵胞発育を推察するマーカーとして有用であり、Day3 E₂値が25pg/ml以上である周期では高率に卵を獲得可能であることが示唆された。

参 考 文 献

- 1) Visser, J. A., de Jong, F. H., Laven, J. S., Themmen, A. P.: Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction*, 131: 1-9, 2006.
- 2) Yang, Y. S., Hur, M. H., Kim, S. Y., Young, K.: Correlation between sonographic and endocrine markers of ovarian aging as predictors for late menopausal transition. *Menopause*, 18: 138-145, 2011.
- 3) Broer, S. L., Mol, B. W., Hendriks, D., Broekmans, F. J.: The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil. Steril.*, 91: 705-714, 2009.
- 4) Broekmans, F. J., Kwee, J., Hendriks, D. J., Mol, B. W., Lambalk, C. B.: A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum. Reprod. Update*, 12: 685-718, 2006.
- 5) Sills, E. S., Alper, M. M., Walsh, A. P.: Ovarian reserve screening in infertility: practical applications and theoretical directions for research. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 146: 30-36, 2009.
- 6) La Marca, A., Volpe, A.: Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool?. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 64: 603-610, 2006.
- 7) Hart, R., Doherty, D. A., Norman, R. J., Franks, S., Dickinson,

- J. E., Hickey, M., Sloboda, D. M.: Serum antimüllerian hormone (AMH) levels are elevated in adolescent girls with polycystic ovaries and the polycystic ovarian syndrome (PCOS). *Fertil. Steril.*, 94: 1118-1121, 2010.
- 8) Tarlatzis, B. C., Zepiridis, L., Grimbizis, G., Bontis, J.: Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. *Hum. Reprod. Update*, 9: 61-76, 2003.
- 9) Kondapalli, L. A., Molinaro, T. A., Sammel, M. D., Dokras, A.: A decrease in serum estradiol levels after human chorionic gonadotrophin administration predicts significantly lower clinical pregnancy and live birth rates in in vitro fertilization cycles. *Hum. Reprod.*, 27: 2690-2697, 2012.
- 10) Ozdegirmenci, O., Dilbaz, S., Cinar, O., Aydin, S., Beydilli, G., Cakir, L., Guven, E. S., Akyol, M., Haberal, A.: Can serum oestradiol be a predictor of quality of oocytes and embryos, maturation of oocytes and pregnancy rate in ICSI cycles?. *Gynecol. Endocrinol.*, 27: 279-285, 2011.
- 11) ART データブック 2011. 日本産科婦人科学会.
<http://plaza.umin.ac.jp/~jsog-art/data.htm>

子宮腺筋症の筋層肥厚と妊孕性 —経腔超音波検査での簡易な 子宮腺筋症スクリーニング評価法を用いての検討—

本庄 考, 日高 直美, 西村 佳与子, 詠田 由美

医療法人アイブイエフ詠田クリニック 〒801-0001 福岡県福岡市中央区天神1-12-1 日の出福岡ビル6階

要 旨： 子宮腺筋症は晩婚化、不妊女性の高齢化により遭遇する機会の増加した疾患である。しかしながらその妊孕能及び対応は一定の見解を得ていない。今回、経腔超音波検査での簡易な子宮腺筋症スクリーニング評価法を用い子宮筋層後壁厚と妊孕性の検討を行った。その結果、早期妊娠例よりART非妊娠例では、子宮筋層後壁厚は肥厚していた。またART症例での検討では妊娠例に比べ非妊娠例で子宮筋層後壁厚の肥厚傾向を認めた。またARTで妊娠に至らずジェノゲスト療法後に再度ARTを施行した症例での検討で、全体の44.0%に子宮筋層後壁厚の改善を認め、対採卵周期妊娠率は40.0%であった。以上より、子宮筋層後壁の肥厚は何らかの着床障害との関与が推測され、その早期発見に簡易な子宮腺筋症スクリーニング評価法は有用であると考えられた。またジェノゲスト療法による着床障害改善効果も期待できると推測された。
キーワード： 子宮腺筋症, 子宮筋層厚, 超音波検査, 妊孕性, ジェノゲスト

緒 言

子宮内膜症は生殖年齢の約5%に存在し、近年、初経年齢の低下、その一方で晩婚化、出産年齢の高齢化という女性のライフスタイルの変化に伴い罹患率は増加傾向にある。またその約半数に不妊症を合併すると言われており、生殖医療の分野でも大きな問題となっている。

同様に子宮腺筋症も近年増加傾向にあるとされ¹⁾、その妊孕性への影響として、種々のサイトカインや増殖因子などを含めた局所免疫異常による着床障害や²⁻⁴⁾、卵の成熟度や胚盤胞発生能の低下などが報告されているが⁵⁾、その詳細は不明の点が多い。

子宮腺筋症の診断には画像診断としてMRIや超音波検査が用いられる。MRIは有用ではあるが、その費用や簡便性から超音波検査の方が日常診療で用いるのに適している。超音波検査による子宮腺筋症所見には辺縁不鮮明な異常筋層エコー像や変形した濃淡のある筋層エコー像などを認めるが⁶⁾、逸見らはより簡易な子宮筋層前壁と後壁の厚さから推定する子宮腺筋症の超音波診断を報告した。それによると日本人の正常子宮の筋層厚の中央値は前壁13.2mm、後壁14.0mmで、正常子宮前壁筋層厚は11.2～15.1mm、後壁筋層厚は11.9～16.3mmに含まれ、腺筋症子宮の筋層厚の中央値は前壁14.2mm、後壁23.0mmで、腺筋症子宮前壁筋層厚は11.2～

19.2mm、後壁筋層厚は18.0～28.0mmに含まれ、子宮筋層は後壁で著明に肥厚しており、子宮腺筋症のスクリーニング値を後壁17.0mm以上であると提唱した⁷⁾。

今回このスクリーニング値を用いて初診時における子宮筋層後壁厚と妊孕性、ジェノゲスト投与による子宮筋層後壁厚改善に関し検討したので報告する。

対 象 と 方 法

検 討 1

2009年1月から2010年2月の期間に当院を挙児希望にて初診した40歳以上を除いた234例を対象とした。これらを初診後3か月以内の妊娠転帰から排卵誘発やAIHといった待期療法で早期に妊娠に至った誘発妊娠群112例とART施行し妊娠に至ったART妊娠群61例、ART施行するも妊娠に至らなかったART非妊娠群61例に分類した。この3群において初診時の子宮筋層後壁厚を検討し、スクリーニングで異常を示した頻度と妊娠との関連を検討した。更に、当院での初回採卵術の際に施行し、子宮筋層厚を測定しえた症例のうち、胚による差をなくすため当院での初期胚2段階評価法において⁸⁾、良好胚の移植が可能であった74例をその妊娠の有無で妊娠群44例、非妊娠群33例に分け、採卵数、受精率、分割率、子宮筋層後壁厚を検討した。

受付 2014年1月6日/受理 2014年2月17日

著者連絡先：本庄 考 e-mail [jimuchou-ngtcl@cube.ocn.ne.jp]

検 討 2

2008年3月から2011年8月の期間に40歳以上と子宮及び卵巣手術既往症例を除いた、卵巣癒着を有する子宮内膜症患者で、複数回のARTで妊娠に至らずジェノゲスト療法後に再度ARTを行った前後同一症例50症例を対象に子宮筋層厚の改善を検討した。逸見らの腺筋症子宮は後壁厚が著明に厚いとの報告に基づき⁷⁾、子宮後壁厚の改善率を検討した。超音波検査による子宮後壁厚の測定は全例静脈麻酔下の採卵時に施行し、2mm以上縮小が認められたものを改善と判定した。

子宮筋層厚の測定は超音波診断装置アロカ SSD 3500を用い、内子宮口から子宮底部まで子宮内膜を描出し、子宮体部後壁筋層の最大径を測定した。尚、今回子宮筋腫や子宮腺筋症腫瘍例は対象から除外した。統計学的検定は χ^2 乗検定及び t 検定で $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

結 果

初診時の子宮筋層厚と妊娠の検討では、誘発妊娠群とART妊娠群、ART非妊娠群の平均年齢はそれぞれ

33.3 $\pm$ 3.3歳、34.3 $\pm$ 3.2歳、35.6 $\pm$ 3.1歳とART非妊娠群で誘発妊娠群に比較し有意に高い結果であった($P < 0.05$)。子宮後壁厚は15.6 $\pm$ 3.6mm、15.6 $\pm$ 3.7mm、17.4 $\pm$ 6.3mmとART非妊娠群で誘発妊娠群に比較し有意に肥厚していた($P < 0.05$) (表1)。次に初診時超音波検査による子宮腺筋症スクリーニング異常頻度を検討すると、後壁に異常を認めた頻度は誘発妊娠群33.9%、ART妊娠群37.7%、ART非妊娠群45.9%とART非妊娠群で誘発妊娠群に比較し有意差はないものの異常頻度が高い傾向を示した (図1)。更に、初回採卵で良好胚を移植可能だった症例での妊娠群と非妊娠群での検討では、年齢、採卵数、受精率、分割率、良好新鮮ET数、子宮内膜厚はそれぞれ、34.4 $\pm$ 3.2 vs 34.7 $\pm$ 2.8歳、10.6 $\pm$ 5.5 vs 12.8 $\pm$ 6.3個、74.9 $\pm$ 17.9 vs 77.1 $\pm$ 21.0%、91.8 $\pm$ 14.1 vs 90.4 $\pm$ 14.5%、1.3 $\pm$ 0.4 vs 1.3 $\pm$ 0.5個、10.9 $\pm$ 2.3 vs 10.0 $\pm$ 2.1mmと差は認めなかった。一方子宮後壁筋層厚は妊娠群と非妊娠群で15.7 $\pm$ 3.8 vs 18.2 $\pm$ 6.2mmと有意差はないものの子宮後壁厚が肥厚している傾向を認めた (表2)。

次にジェノゲスト療法後の子宮筋層後壁厚の改善結

表1 初診後3か月以内の妊娠転帰と初診時子宮筋層厚との関連

	排卵誘発妊娠 (N=112)	ART 妊娠 (N=61)	ART 非妊娠 (N=61)	
初診時年齢(歳)	33.3 $\pm$ 3.3*	34.3 $\pm$ 3.2	35.6 $\pm$ 3.1*	* $p < 0.05$
子宮後壁厚(mm)	15.6 $\pm$ 3.6*	15.6 $\pm$ 3.7	17.4 $\pm$ 6.3*	* $p < 0.05$

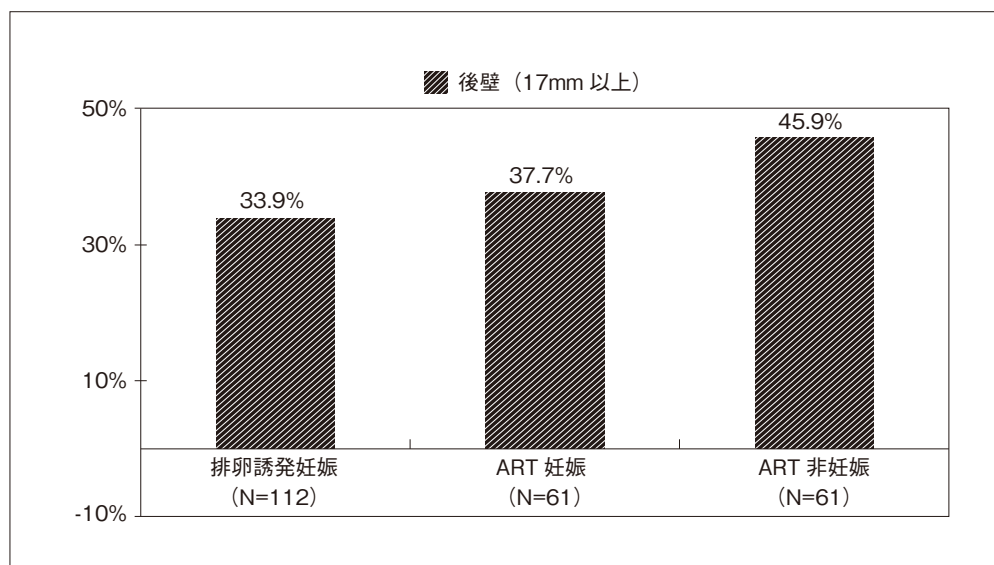


図1 初診時 UST における子宮腺筋症スクリーニング異常値の頻度と妊娠

表2 妊娠転帰と初回 ART 採卵術施行日の子宮筋層厚を含めた各種パラメーター

	妊娠 (N=44)	非妊娠 (N=30)	
年齢	34.4 ± 3.2	34.7 ± 2.8	NS
採卵数 (個)	10.6 ± 5.5	12.8 ± 6.3	NS
受精率 (%)	74.9 ± 17.9	77.1 ± 21.0	NS
胚分割率 (%)	91.8 ± 14.1	90.4 ± 14.5	NS
良好新鮮 ET 数(個)	1.3 ± 0.4	1.3 ± 0.5	NS
ET 時子宮内膜 (mm)	10.9 ± 2.3	10.0 ± 2.1	NS
子宮後壁厚 (mm)	15.7 ± 3.8	18.2 ± 6.2	NS

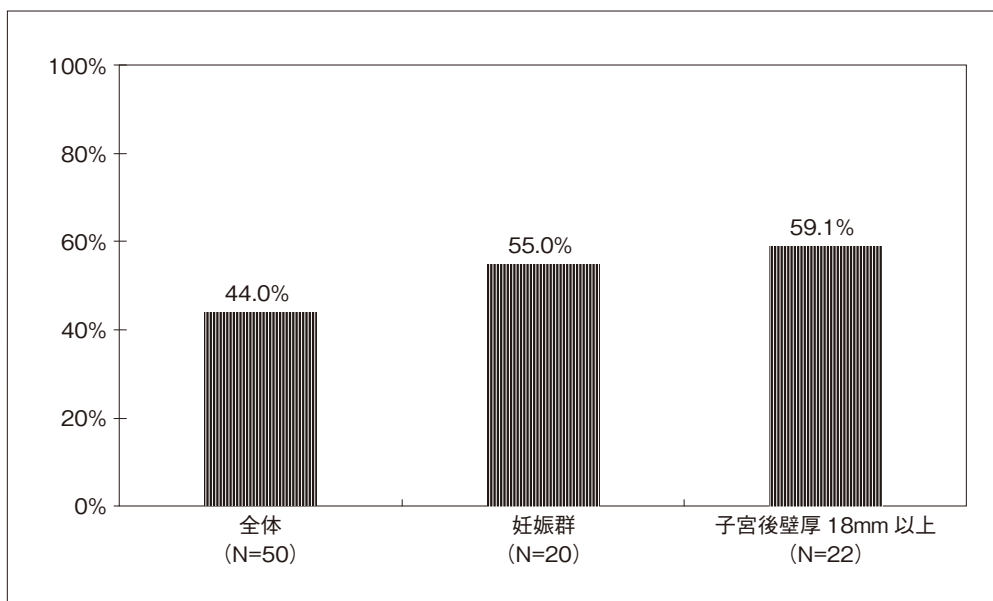


図2 同一症例におけるジェノゲスト療法後の子宮後壁厚改善率

果を示す。50例の年齢は 35.4 ± 2.7 歳、ジェノゲスト療法前の採卵回数は 2.6 ± 0.7 回で妊娠に至らず、ジェノゲスト4か月投与後再度採卵を施行した。ジェノゲスト療法後の採卵で20例に妊娠を認め対採卵妊娠率は40.0% (20/50)であった。ジェノゲスト療法前の子宮筋層後壁厚は 17.4 ± 5.5 mmで子宮筋層後壁が18mm以上の著明な肥厚を認めたのは44.0% (22/50)であった。ジェノゲスト療法後に全体の44.0% (22/50)、妊娠群の55.0% (11/20)、子宮筋層後壁が18mm以上の著明な肥厚を認めた群の59.1% (13/22)に子宮筋層後壁厚の改善を認めた。ジェノゲスト療法後に子宮筋層後壁の改善を認めた症例22例で、うち12例に妊娠を認め、対採卵周期妊娠率は54.5% (12/22)であった(図2)。年齢別に検討すると、30歳未満は2例、30～35歳は15例、35～40歳が33例で、子宮後壁厚改善率はそれ

ぞれ100% (2/2)、53.3% (8/15)、36.4% (12/33)で、対採卵周期妊娠率は50% (1/2)、66.7% (10/15)、27.3% (9/33)であった(図3)。

考 察

子宮腺筋症は好発年齢が高く子宮内膜症に比べ不妊症で遭遇する機会は少なかったが、近年の晩婚化に伴い、以前に比べ不妊治療に遭遇する機会が増加しているのが現状である。

しかしながら、その妊孕性に関する報告は様々であり、必ずしも一定していない。その問題点の一つに子宮腺筋症の診断が挙げられる。厳密に言えば子宮腺筋症の確定診断は病理学診断であることより、臨床的には困難である。画像診断としてMRIが有用であるが、簡便性から超

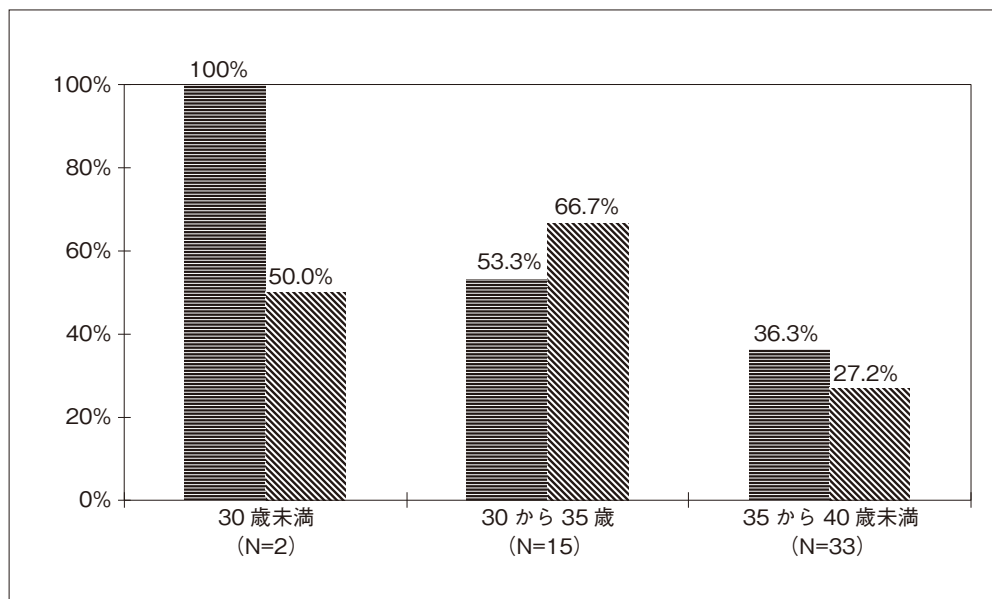


図3 同一症例における年齢別ジェノゲスト療法後の子宮後壁厚改善率と対採卵周期妊娠率

音波診断が選択されることが多い。しかしながら、超音波検査でも様々な所見を呈する場合がある。逸見らは子宮筋層後壁の肥厚を見ることが子宮腺筋症のスクリーニングが可能であると報告した⁷⁾。この方法は簡便に日常診療で施行でき、有用であるとする。今回、この子宮筋層後壁厚の見地から妊娠との関連を検討した。その結果、早期に排卵誘発で妊娠した症例に比較し、ARTで妊娠しなかった症例で、有意に子宮筋層後壁厚が肥厚していた。また子宮腺筋症のARTでの検討では広田らは採卵数、受精率、着床率、流産率に差はなかったと報告しているが⁹⁾、Leyendeckerらは子宮内膜基底層の微弱的な収縮異常などが、妊娠の低下につながると報告し⁵⁾、Salimらも妊娠率の低下を報告している¹⁰⁾。今回の我々の検討では、ARTでの妊娠例と非妊娠例を比較した結果、採卵数、受精率、分割率、良好新鮮ET数、子宮内膜厚などに差は認めなかったが、子宮筋層後壁厚が有意差はないものの肥厚していた事より、筋層肥厚が何らかの着床障害に関与している可能性が示唆された。

次にジェノゲストの子宮腺筋症に対する効果に関しては、柳瀬はジェノゲスト投与前に比較し投与後に腺筋症病巣サイズが約10%縮小したと報告している¹¹⁾。今回我々の検討ではジェノゲスト療法後に全体の44.0%、妊娠群の55.0%に改善をみとめたことより、一定の効果が期待できると考えられた。しかしながら、35～40歳での子宮後壁厚改善率は36.3%と低く、これは罹病期間が長期に渡った為とも推測される。

子宮腺筋症合併不妊症に関して、日本産科婦人科学会の子宮腺筋症合併不妊症に対する治療成績および妊

娠予後についての検討小委員会報告によると、妊娠率は41.7%、流産率は29.8%で、妊娠予後で流産を含む何らかの異常が72.1%に認め、びまん型で腫瘤形成型より妊娠高血圧症候群や子宮感染の合併が多かったとしている¹²⁾。

今後晩婚化に伴う不妊患者の高齢化に伴い、さらに子宮腺筋症合併不妊患者に遭遇する機会が増えることが予想される。早期発見し、個々の症例に応じARTや薬物療法、手術療法などを行い、早く妊娠に至るように努める為にも、経腔超音波検査での簡易な子宮腺筋症スクリーニング評価法は有用であり、着床障害に対しジェノゲストの効果も期待される。

参考文献

- 1) Devlieger, R., D. Hooghe, T., Timmerman, D.: Uterine adenomyosis in infertility clinic. Hum. Reprod. Update, 9: 139-147, 2003.
- 2) 太田博孝・田中俊誠・五十嵐信一：子宮腺筋症の妊孕能に関わる諸因子の検討。エンドメトリオーシス研究会誌, 22: 104-109, 2001.
- 3) Xiao, Y., Li, T., Xia, E., Yang, X., Sun, X., Zhou, Y.: Expression of integrin $\beta 3$ and osteopontin in the eutopic endometrium of adenomyosis during the implantation window. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 170: 419-422, 2013.
- 4) Campo, S., Campo, V., Benagiano, G.: Adenomyosis and infertility. Reprod. Biomed. Online, 24: 35-46, 2012.
- 5) Leyendecker, G., Kunz, G., Kissler, S., Wildt, L.: Adenomyosis and reproduction. Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol., 20: 523-546, 2006.
- 6) Fedele, L., Bianchi, S., Dorta, M., Arcani, L., Zanotti, F., Carinelli, S.: Transvaginal ultrasonography in the diagnosis

of diffuse adenomyosis. Fertil. Steril., 58: 94-97, 1992.

- 7) 逸見博文・東口篤司・斎藤学・坂内文男・長澤邦彦・馬場剛・木谷保・遠藤俊明・斎藤豪：子宮筋層前壁と後壁の厚さから推定する簡易な子宮腺筋症の超音波診断. 日受精着床会誌, 26: 262-265, 2009.
- 8) 詠田由美：良好胚選択のための検鏡タイムスケジュールの組み方. 吉村泰典編, 生殖医療のコツと落とし穴, pp.100-101, 中山書店, 2004.
- 9) 広田泰・大須賀譲・和田修・藤原敏博・大井なぎさ・矢野哲・竹田雄二：子宮腺筋症によって ART 成績が低下するか. エンドメトリオーシス研会誌, 26: 36-39, 2005.
- 10) Salin, R., Rins, S., Saab, W., Abramov, B., Khadum, I., Serhal, P.: Adenomyosis reduces pregnancy rates in infertile women undergoing IVF. Reprod. Biomed. Online, 25: 273-277, 2012.
- 11) 柳瀬徹：子宮腺筋症を合併した子宮内膜症に対するジェノゲスト周期投与法の有用性の検討. HORM. FRONT. GYNECOL., 17: 292-297, 2010.
- 12) 杉野法広・浅田弘法・北出真理・佐藤美紀子・田中温・村上節・岸裕司・田村博史：子宮腺筋症合併不妊症に対する治療成績および妊娠予後についての検討小委員会報告. 日産婦誌, 65: 1359-1361, 2013.

初期胚の形態的解析により 良好胚盤胞の獲得を予想できるか？ —タイムラプスシネマトグラフィーによる 時間軸と細胞分裂周期の解析—

堤 麻由子, 阿部 亜佳音, 稲井 仁美, 町屋 礼, 逢澤 純世, 佐藤 百合子, 鈴木 寛規,
田中 可子, 鈴木 雅美, 吉井 紀子, 武田 信好, 小田原 靖

ファティリティクリニック東京 〒150-0011 東京都渋谷区東3-13-11

要 旨： ARTにおいて分割胚の時期までに良好胚盤胞作出の予測ができれば胚利用率の向上に繋がると考え、タイムラプスシネマトグラフィーを用いて初期胚の発育動態を解析した。ICSI施行胚における良好胚盤胞とその他の胚盤胞のPN出現から8細胞期までの分割時間に差はなかったが、良好胚盤胞はcompaction開始時間が有意に早かった。また、初期分割時の割球大小不同に対する胚盤胞到達率は2・4・8細胞期それぞれにおいて等分割胚は中等度不等分割胚に比し有意に高く、不等分割胚からは得られなかった。また、胚盤胞まで発育した胚は6割以上良好胚盤胞に発育する傾向が見られた。2細胞期にフラグメント量の影響を検討した結果、等分割でフラグメントが少ない胚程、良好胚盤胞に到達する可能性が高いことが示唆された。以上より、初期胚の発育時間では良好胚の発育予想は難しいが割球大小不同への着目とフラグメント量が有用な因子と考えられた。

キーワード： タイムラプスシネマトグラフィー, 良好胚盤胞, 等分割胚, フラグメント量, 分割時間

緒 言

ARTにおける卵子・胚の観察は、採卵時・媒精時・培養液交換時などの限られた回数のみであり、胚の分割成育過程を詳細に観察するには困難な現状がある。さらに分割胚または胚盤胞を胚利用（移植または凍結保存）する際の胚評価は、インキュベーターから大気中に取り出した短期間の観察のみであり、その時点における形態が良好か否かの判定が最も重視されている。

近年導入され総合倍率200倍程度の光学顕微鏡とコマ撮り機能が組み込まれたマルチガスインキュベーター（タイムラプスシネマトグラフィー用いてー：以下タイムラプス）は、従来の時間的に点での観察に対し、培養しながら胚の発育状況を連続的に撮影することによる線での観察（動画再生）を可能にした。これにより従来の観察方法ではわからなかった様々な発育過程を動画としてとらえることが可能になったことで新たな胚評価法が考案されると期待されている。

ARTにおける受精卵のうち胚盤胞に発育する胚は4割程度であるが、そのすべてが形態良好な胚盤胞に発育するわけではない。また、体外における長期培養環境は

体内環境に比べて劣ると考えられるのでなるべく短期間の体外培養にとどめて分割胚の時期に胚を利用してしまった方が良いとの報告がある¹⁾。一方で長期培養による負荷をかけることによって発育能力が低い胚の選別に有利であるとの報告もある²⁾。これらの培養期間の選択は受精卵が少なければ分割胚の時期に利用し、多ければ胚盤胞培養を試みてより良い胚を選別するという考えに繋がっている。しかし、受精卵が多いにもかかわらず良好胚盤胞が得られない症例が発生することもある。そこで長期体外培養のリスクを考慮し、Day3分割胚の時期までに形態良好胚盤胞の作出を予測することが可能になれば、その予測に従って初期胚凍結保存を行うことにより胚利用率の向上に繋がるのではと考えた。

本研究では形態良好に発育した胚盤胞とその他の胚盤胞を抽出して動画を後方視的に解析することにより胚の評価に有益な指標となる因子を明確にすることを目的とした。

対象と方法

2012年10月から2013年4月までにART治療, ICSIを施行した35症例を対象とした。ただし, 加齢の影響による胚の質の低下を考慮して40歳未満・平均年齢35.8歳, 異常分裂の可能性のある多前核胚および多核発生胚を除いた胚盤胞81個と胚盤胞まで発育しなかった分割不良胚29個の計110個を用いた。

胚盤胞に到達した胚は, Gardner分類²⁾のstage 3以上かつAA, AB, BAを良好群, stage 1, 2および3以上のAC, CA, BB, BC, CB, CCをその他群に分類した。

ICSI施行後, 全ての胚をEmbryo Scope(タイムラプス, Unisence社, DENMARK)を用いて観察を行った。タイムラプス内での顕微鏡はLeicaの20×0.40のレンズを使用しHoffman Modulation contrastにて胚の撮影状況は分割撮影面が6断面, 20min毎に一回の撮影とした。また培養時の大気への曝露は培養液交換時のみとし, 画面のみで観察を行った。

培養液はQuinn's Advantage Medium社(SAGE社)とCOOK組織培養液(COOK MEDICAL社)の2種類を用いて培養を行い, 採卵からICSI時までFertilization Medium, ICSI後3日目までCleavage Mediumを用い, 3日目から5日目まではBlastosyst mediumを用いて培養を行った。

検討 1

胚盤胞における良好群とその他群について, 前核(以下PN)の出現と消失および2細胞期・4細胞期・8細胞期の分割終了時間とcompaction開始時間について比較した。統計解析の手法はt-検定を用いた。

検討 2

初期胚における分裂様式の違いによって胚盤胞到達率, 良好胚盤胞到達率に差が生じるかどうかについて検討した。方法は2細胞期・4細胞期・8細胞期の割球大小不同割合について, 均一に分裂している胚を等分割胚(Good), 割球の直径に1/3程度の差が見られる胚を中等度不等分割胚(Moderate), 同様に2/3程度の大小不同が見られる胚を不等分割胚(Poor)と分類し, それぞれの良好胚盤胞到達率を比較した。統計解析の手法は χ^2 検定を用いた。

検討 3

良好群を対象として2細胞期に出現するフラグメントの量が胚盤胞への発育に影響を及ぼすかについて検討した。

Good・Moderate・Poorのそれぞれについてフラグメント量を-(0%), $\pm$ (5%), +(10%), ++(20%以上)に分類し, 良好胚盤胞到達率を比較した。統計解析の手法は χ^2 検定を用いた。

結果

検討 1

良好群とその他群ともにPN出現, PN消失, 2cell分割終了, 4cell分割終了, 8cell分割のそれぞれについて有意差は認められなかった。しかし, compaction開始時間では良好群, その他群の比較で有意差が認められた(図1)。

胚盤胞のグレード別にcompaction開始時間を計測してみると早い胚ほど良好な胚盤胞に発育する傾向がみられ, 平均時間は良好胚盤胞群78.6h, その他群は84.7hであった(図2)。

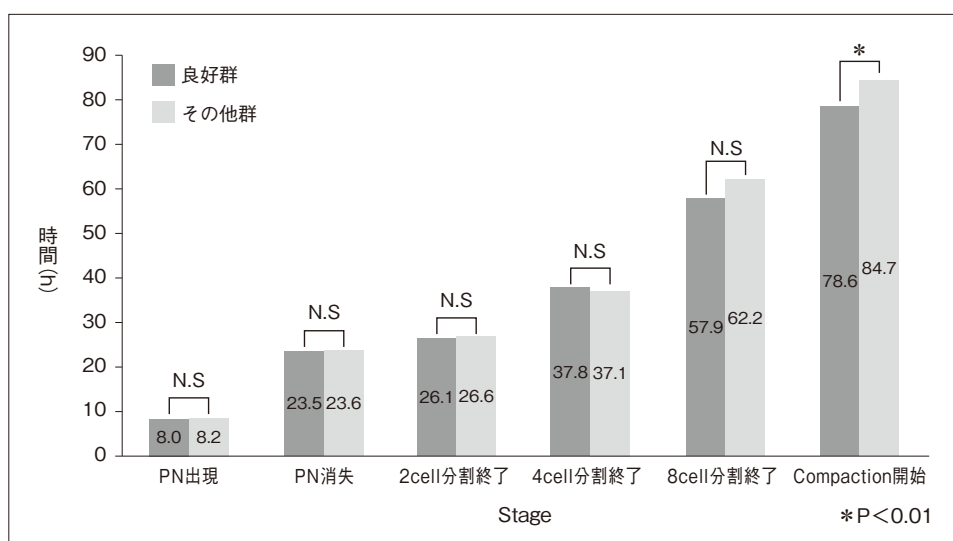


図1 胚盤胞における分割終了時間の比較

検 討 2

胚盤胞到達率について、各分割胚における割球大小不同別について検討した結果、2細胞期のGoodとModerateの間に有意差が認められた ($P<0.001$)。4細胞期でもGoodとModerateの間に有意差が認められた ($P<0.0001$)。また、ModerateとPoorの間にも有意差が認められた ($P<0.05$)。8細胞期ではGoodとModerateの間に有意差が認められた ($P<0.0001$)。次に、良好胚盤胞到達率について検討した結果、4細胞期のGoodと

Moderateの間に有意差が認められた ($P<0.0001$)。2細胞期・8細胞期では有意差は認められなかったが、同じ傾向が見られた。

次に、該当割球数が確認出来なかった胚は、2細胞期に4個、4細胞期に6個、8細胞期に17個が発生し、不明胚に分類した。そして、2細胞期の不明胚はすべてcompactionにも到達しなかった。しかし4細胞期の1個および8細胞期に2個が良好胚盤胞に発育した。(図3)

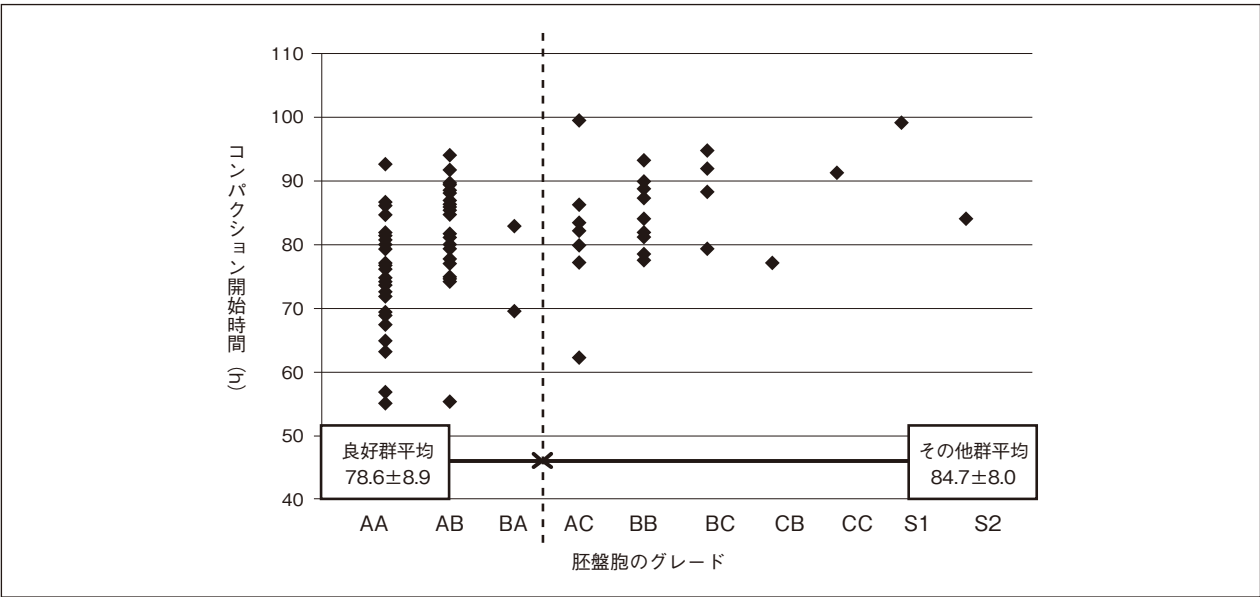


図 2 Compaction 平均開始時間と胚盤胞のグレード

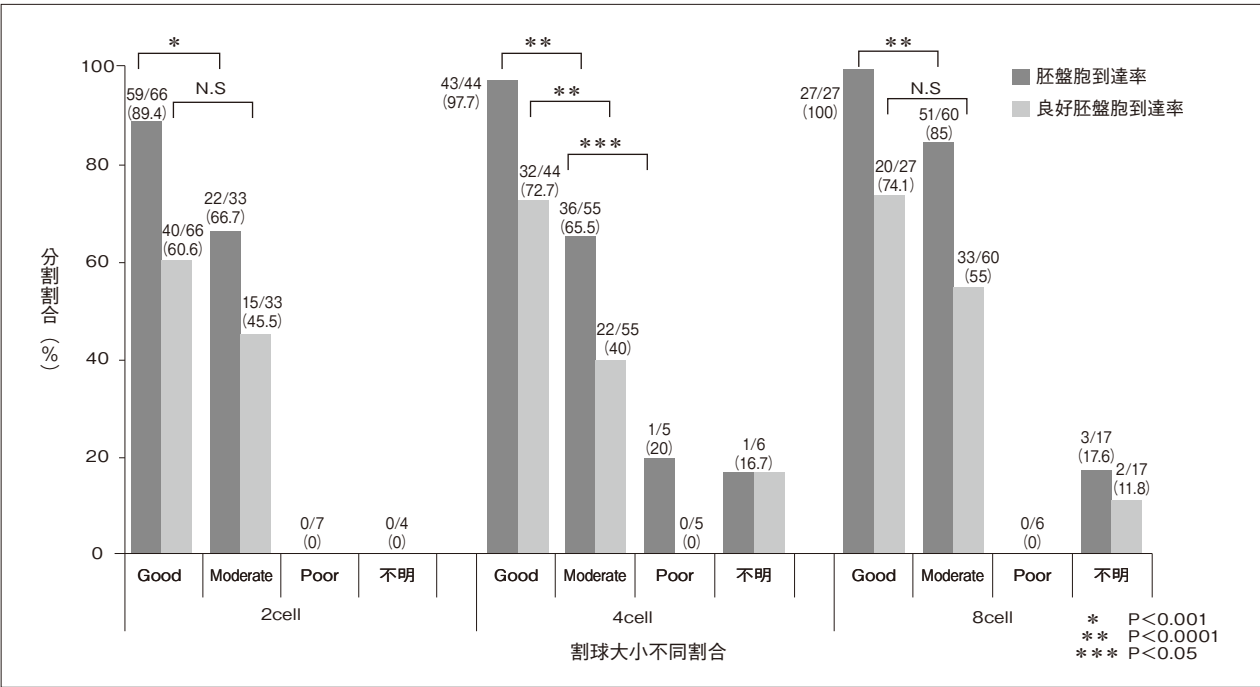


図 3 各分割期における割球大小不同別の良好胚盤胞到達率

表 1 2細胞期における、割球大小不同別のフラグメント量からみた良好群の胚盤胞到達率

	－	±	＋	＋＋以上
Good	30/48	7/11	3/7	0/0
良好胚盤胞到達率	62.5%	63.6%	42.9%	0%
Moderate	13/16	1/5	1/8	0/4
良好胚盤胞到達率	81.3%	20.0%	12.5%	0.0%
total	13/16 ^a		2/17 ^b	
Poor	0/0	0/0	0/3	0/4
良好胚盤胞到達率	0%	0%	0%	0%

ab 間 :P<0.001

検 討 3

2細胞期における Good・Moderate・Poorのフラグメント量からみた良好群の胚盤胞到達率は、Goodはどの比較でも有意差は認められなかった。Moderateでは、－(0%)と±(5%)以上の間に有意差が認められた(P<0.001)。Poorでは該当胚がなかったため比較は行っていない(表1)。

考 察

PN出現から8cellまでの分割終了時間は、良好群とその他群に有意差はなかったが、compaction開始時間において有意差が確認された。しかし、PN消失時間が20.45hより早い胚は発育不良胚になるとの報告³⁾もあるが、本研究は胚盤胞のみに着目したために、PN消失時間に差が生じなかったものと考えられた。また、Day4でcompactionが起こることが多いが、Day5時にcompactionが認められる場合は、胚盤胞まで発育しても内部細胞塊が小さくなるとの報告⁴⁾がある。そして、今回の検討におけるcompaction開始時間も良好群がその他群に比べ、早かったことから良好胚盤胞獲得を予測するうえで有用な指標になる事が示唆された。

各分割期において割球の大小不同がGoodであれば、その後の胚盤胞到達率も高くなることが示唆され、GoodはModerateに比べ有意に胚盤胞到達率が高いことが示された。同様に、良好胚盤胞到達率は4細胞期においてGoodがModerateに比し、有意に高く2細胞期・4細胞期も同様の傾向が見られた。よって、割球の大小不同が少ないほど良い結果につながる可能性が示唆された。しかし、Poorはどの分割期においても胚盤胞の獲得が難しいことが示唆された。次に、各細胞期に生じ

た分割不明胚について考察すると、2細胞期は初回の分裂に多極分裂などの異常が生じたために分割が止まったと考えられ、もっとも初期に判定できる重要な事象と考えられた。しかし、4細胞期・8細胞期については良好胚盤胞になったものもあり、割球とフラグメントの鑑別が出来なかったものが含まれている可能性が考えられた。

フラグメントが多数出現する胚は、細胞質や核に何らかの異常があり、胚の発育を阻害していると考えられるが^{5,6)}、2細胞期を対象に、割球が均一に分割している胚(Good)の多くはフラグメント量が＋(10%)程度までとなり、それぞれの良好胚盤胞到達率は差がなかった。しかし、中等度の大小不同がある胚(Moderate)はフラグメントが少量でも発生してくると胚質に大きく影響することが示唆された。

今回の結果をふまえ、①初期胚の発育時間での良好胚盤胞の予測は難しい。②Goodは良好胚盤胞到達率が高い。③Moderateはフラグメント発生により良好胚盤胞到達率が低下する。④初期分裂の際に不等分割の胚(Poor)は胚盤胞に発育しない可能性が高い。⑤割球の大小不同が少ないほど胚盤胞到達率が高く、良好胚盤胞到達率も高い可能性が示唆される。⑥細胞分裂のごく初期にあたる2細胞期にはすでに、均等に分割していれば良好な胚に発育する可能性が高い。⑦初期にフラグメント量が多い胚ほどその後の発育にも影響を及ぼす可能性がある。

これらのことから、分裂様式とフラグメント量は良好胚を見極める上で有効な指標になることが示唆された。

今回のタイムラプスシネマトグラフィーを用いた観察から、通常の胚評価にフィードバックできるポイントとして、分裂初期段階の分割時間では良好胚の発育予想

は難しいこと,そして初期分割の際の分裂様式への着目,また,その際に出現するフラグメントの有無を挙げる事ができ,胚を選択するにあたり有用な因子を明確にすることができた.

今後更に胚の動的観察により胚利用率向上に有用な指標を見出していきたい.

参 考 文 献

- 1) Herrero, J., Meseguer, M.: Selection of high potential embryos using time-lapse imaging: the era of morphokinetics. *Fertil. Steril.*, 99: 1030-1034, 2013.
- 2) Gardner, D. K., Schoolcraft, W. B., Jansen, R., et. al (eds) :In vitro culture of 16 human blastocysts. Towards reproductive certainty; infertility and genetics beyond, pp. 378-388, Parthenon Publishing, 1999.
- 3) A. Azzarello., T. Hoest., A. L. Mikkelsen.: The impact of pronuclei morphology and dynamicity on live birth outcome after time-lapse culture. *Hum. Reprod.*, 27: 2649-2657, 2012.
- 4) Ivec, M. Kovacic, B., Vlaisavljevic, V.: Prediction of human blastocyst development from morulas with delayed and/or incomplete compaction. *Fertil. Steril.*, 96: 1473-1578, 2011.
- 5) Fujimoto, V. Y., Browne, R. W., Bloom, M. S., Sakkas, D., Alikani, M.: Pathogenesis, developmental consequences, and clinical correlations of human embryo fragmentation. *Fertil. Steril.*, 95: 1197-1204, 2011.
- 6) Chi, H. J., Koo, J. J., Choi, S. Y., Jeong, H. J., Roh SI.: Fragmentation of embryos is associated with both necrosis and apoptosis. *Fertil. Steril.*, 96: 187-192, 2011.

早発卵巢不全患者の卵巢刺激に対する 当院のプロトコルの有用性：採卵率と早期黄体化の検討

川越 雄太¹, 河村 和弘^{1,2}, 星名 真理子¹, 水町 静華¹, 西島 千絵³, 吉岡 伸人^{1,2},
高江 正道^{1,2}, 洞下 由記^{1,2}, 杉下 陽堂^{1,2}, 田中 守^{1,2}, 鈴木 直^{1,2}, 石塚 文平⁴

¹ 聖マリアンナ医科大学病院 生殖医療センター 〒216-8511 神奈川県川崎市宮前区 2-16-1

² 聖マリアンナ医科大学病院 産婦人科学教室 〒216-8511 神奈川県川崎市宮前区 2-16-1

³ 横浜市立西部病院 〒241-0811 神奈川県横浜市旭区矢指町 1197-1

⁴ 聖マリアンナ医科大学 高度生殖医療技術開発講座 〒216-8511 神奈川県川崎市宮前区 2-16-1

要 旨： 早発卵巢不全 (POI) は卵巢性無月経による無排卵のため自己の卵子で妊娠することは非常に困難である。当院ではエストロゲン補充下の卵巢刺激+体外受精により一定の成績を得ているが、卵胞発育が確認されても卵子が回収できない症例をしばしば経験する。そこで、当院のプロトコルの有用性についてPOI患者とそれ以外の患者の採卵率を比較し、その要因解析のため各種血中ホルモン値を測定した。2012年1月から2013年5月までに体外受精を行った患者を対象に、採卵率、血中LH、P₄、E₂値について比較、検討した。卵胞あたりの採卵率はPOIとそれ以外の患者で同等の結果が得られた。血中LHおよびP₄値は卵子が回収できた場合はPOIとそれ以外の患者で有意な差は認めなかった。卵子が回収できない場合は、POIの患者で血中LH、P₄値が高値を示し、卵胞の早期黄体化が主因と考えられた。今後は早期黄体化を示した患者を個別に解析して更なるプロトコルの改善を図りたい。

キーワード： 早発卵巢不全, POI, 早期黄体化

はじめに

早発卵巢不全 (primarily ovarian insufficiency : POI) は、40歳未満の女性の約1%に自然発生し¹⁾、卵巢手術、癌治療のための化学療法、放射線治療などに起因する医原性のPOIも含めるとさらに高い頻度で発生していると考えられる。自然発生のPOIでは自己抗体の保有やX染色体の異常、特定の遺伝子の変異などが原因となりうるが²⁻⁴⁾、原因不明のものも含めると発生原因は多岐にわたる。そのほとんどで卵巢が萎縮し、残存卵胞数も急激に減少する。

残存卵胞が減少すると原始卵胞の活性化がおこらなくなり、卵胞のリクルートメントが停止する。その結果、卵胞発育がみられなくなり排卵することができず、自己の卵子で妊娠することが非常に難しい難治性の不妊をきたす。しかし、POIと診断された後も稀に妊娠する例は報告されており⁵⁾、月経ごとに定期的な原始卵胞の活性化がおこらなくなっても、偶発的な活性化がおこり排卵することが実際に確認されている。

当院では以前より、エストロゲン補充療法下の卵巢刺激と体外受精を行うことにより、POIと診断された患者に対して一定の成績を得ることができている。しかし、卵胞の発育が確認され、採卵まで至った患者でも卵子が

回収できないことをしばしば経験する。そこで、我々が現在行っている卵巢刺激プロトコルがPOI患者に対して有効であるか否かを、POI患者とPOI以外の患者の採卵率を比較し、その要因解析を行うために各種血中ホルモン値を測定した。

対象と方法

・対象

2012年1月から2013年12月までの期間に、当院にて体外受精を行い採卵まで至った807周期を対象とした。採卵周期785周期の内、POI患者374周期をPOI群、それ以外の患者433周期をcontrol群とした。

・方法

対象症例の穿刺卵胞数あたりの採卵率、卵子成熟率、正常受精率をPOI群とcontrol群で比較した。血中ホルモン濃度は採卵決定時に測定した。測定項目は黄体形成ホルモン(LH)、黄体ホルモン(P₄)、エストラジオール(E₂)とした。control群、POI群それぞれの群で卵子が回収できた場合と回収できなかった場合に分けて、各ホルモンの血中濃度を比較した。LHは採卵周期あたりの

値を比較した。P₄、E₂はそれぞれの患者で穿刺した卵胞数あたりの値を比較した。また、POI群において各卵巣刺激プロトコールをGnRHアゴニストを使用した場合と使用していない場合に分け、それぞれで卵子が回収できた場合とできなかった場合の血中ホルモン濃度(LH, P₄, E₂)を比較した。有意差検定にはt検定を用い、P<0.05をもって有意とした。

結 果

それぞれの群の平均年齢はcontrol群で39.5±4.4歳、POI群で37.3±3.9歳であった。採卵周期あたりの穿刺卵胞数はcontrol群で7.2±0.3個/周期、POI群で1.3±0.1個/周期であった(表1)。卵胞あたりの採卵率はcontrol群で62.4%(1951/3129)、POI群では58.1%(292/503)で同等の値を示した。また、卵子成熟率はcontrol群で85.3%(1664/1951)、POI群では83.9%(245/292)、正常受精率はcontrol群で72.6%(1208/1664)、POI群では75.1%(184/245)で両群間で差は認められなかった(表2)。

黄体形成ホルモン(LH)の血中濃度は、control群の卵子が回収できた場合は4.6±0.4mIU/ml、卵子が回収できなかった場合は7.6±1.7mIU/ml、POI群の卵子が回収できた場合は7.9±0.6mIU/ml、卵子が回収できなかった場合は10.9±1.2mIU/mlであった。control群では卵子が回収できなかった場合に、回収できた場合と比較して高い傾向を示したが有意な差は認められなかった。POI群では卵子が回収できなかった場合に高値を示した。

黄体ホルモン(P₄)の血中濃度は、control群の卵子が回収できた場合は0.08±0.01pg/ml、卵子が回収できなかった場合は0.20±0.03pg/ml、POI群では卵子が回収できた場合は0.39±0.02pg/ml、卵子が回収できなかった場合は0.82±0.11pg/mlであった。control群では卵子が回収できた場合とできなかった場合で有意な差は認められなかった。POI群では卵子が回収できなかった場合に高値を示した。

エストラジオール(E₂)の血中濃度は、control群の卵子が回収できた場合は178.3±21.5pg/ml、卵子が回収できなかった場合は229.5±69.1pg/ml、POI群では卵子が回収できた場合は256.4±12.4pg/ml、回収できなかった場合は267.3±21.1pg/mlであった。各群間で有意な差は認められなかった。各群のホルモン値と周期数、穿刺卵胞数を図1、表3に示す。

POI群の卵子が回収できた場合とできなかった場合で卵巣刺激プロトコールごとに血中ホルモン濃度を比較した。POI群の卵巣刺激プロトコールの割合を図2に示す。各刺激プロトコールをGnRHアゴニストを使用した場合と、GnRHアゴニストを使用していない場合に分けてホルモン濃度を比較した。卵子が回収できた場合のLHの血中濃度は、GnRHアゴニスト使用群で3.0±0.3mIU/ml、アゴニスト未使用群で10.3±0.9mIU/ml、卵子が回収できなかった場合はGnRHアゴニスト使用群で5.6±1.4mIU/ml、アゴニスト未使用群で13.7±1.1mIU/mlであった。卵子が回収できなかった場合にどちらの刺激プロトコールでも高値を示した。

P₄の血中濃度は、GnRHアゴニスト使用群で0.42±

表1 対象患者の背景

	Control 群	POI 群
対象周期数	433 周期	374 周期
平均年齢 (range)	39.5 ± 4.4 (25 ~ 48)	37.3 ± 3.9 (24 ~ 45)
不妊原因	卵管因子 : 14 男性因子 : 90 子宮内膜症 : 58 原因不明 : 249 その他 : 22	POI : 374
平均穿刺卵胞数	7.2 ± 0.3	1.3 ± 0.1
平均獲得卵子数	4.5 ± 0.2	0.78 ± 0.03

表2 POI 群と Control 群の採卵率、卵子成熟率、受精率の比較

	採卵率 (/ 卵胞)	卵子成熟率	正常受精率
Control 群	62.4% (1951/3129)	85.3% (1664/1951)	72.6% (1208/1664)
POI 群	58.1% (292/503)	83.9% (245/292)	75.1% (184/245)

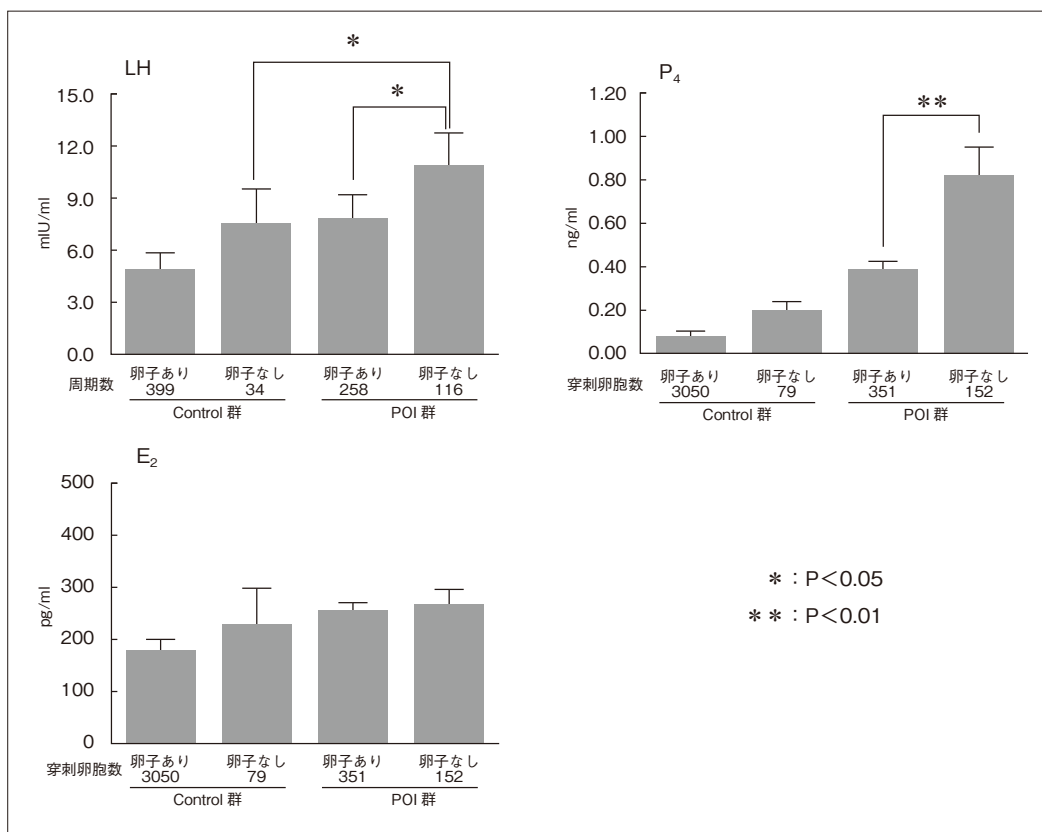


図 1 各群の血中ホルモン濃度の比較

表 3 各群の血中ホルモン濃度の比較

	Control		POI	
	卵子あり	卵子なし	卵子あり	卵子なし
LH (mIU/ml)	4.6 ± 0.4	7.6 ± 1.7	7.9 ± 0.6	10.9 ± 1.2
P ₄ (ng/ml)	0.08 ± 0.01	0.20 ± 0.03	0.39 ± 0.02	0.82 ± 0.11
E ₂ (pg/ml)	178.3 ± 21.5	229.5 ± 69.1	256.4 ± 12.4	267.3 ± 21.1

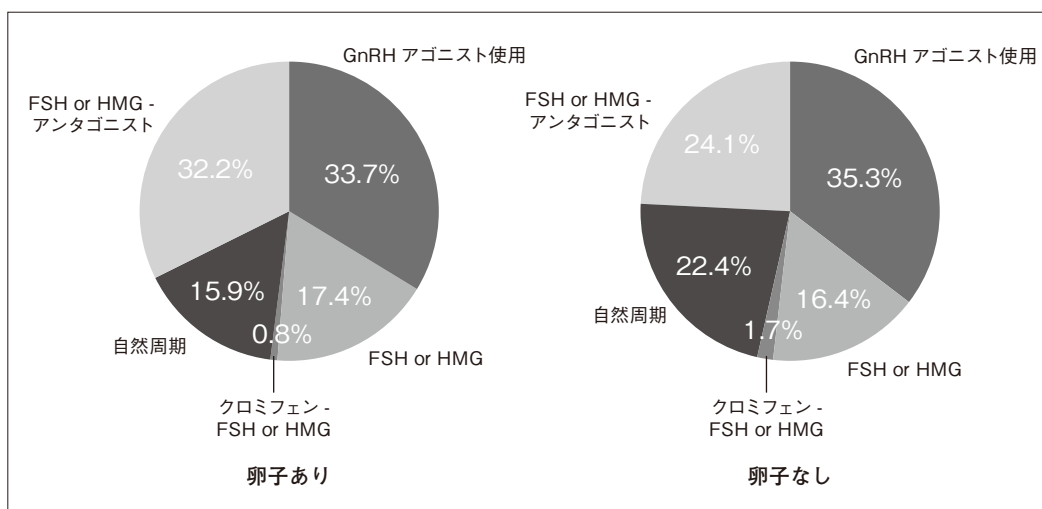


図 2 POI 群の卵巣刺激プロトコルの割合

0.05mIU/ml, アゴニスト未使用群で 0.38 ± 0.03 mIU/ml, 卵子が回収できなかった場合はGnRHアゴニスト使用群で 0.58 ± 0.09 mIU/ml, アゴニスト未使用群で 0.95 ± 0.16 mIU/mlであった。卵子がない場合, GnRHアゴニストを使用していない群が有意に高い値を示した。また, アゴニスト使用群でも卵子がない場合は卵子がとれた場合と比較して高値を示した。

E₂の血中濃度は, GnRHアゴニスト使用群で 363.1 ± 26.1 mIU/ml, アゴニスト未使用群で 251.7 ± 13.3 mIU/ml, 卵子が回収できなかった場合はGnRHアゴニスト使用群で 315.3 ± 52.4 mIU/ml, アゴニスト未使用群で 240.8 ± 14.8 mIU/mlであった。それぞれの群で有意な差は認められなかった。刺激プロトコールごとの血中ホルモン値, 周期数, 穿刺卵胞数を図3, 表4に示す。

考 察

当院では現在, 年間採卵周期のおよそ3割がPOI患者であるが, エストロゲン補充下の卵胞刺激と体外受精により, POIでも採卵まで到達できる患者がいることは報告してきた。しかし, 卵胞発育を予測することは難しく, また発育した卵胞でも卵子が回収できないことが見受けられるなど, 未だにPOIに対する効果的な刺激方法が確率できたとは言い難い。POI患者では急激に残存卵胞数が減少するため, 卵胞発育が確認された場合, いかに高い確率で卵子を回収できるようにするかは重要であると考えられる。

今回の比較検討により, POI患者とそれ以外の患者の採卵率は卵胞あたりで比較した場合は同等の結果が

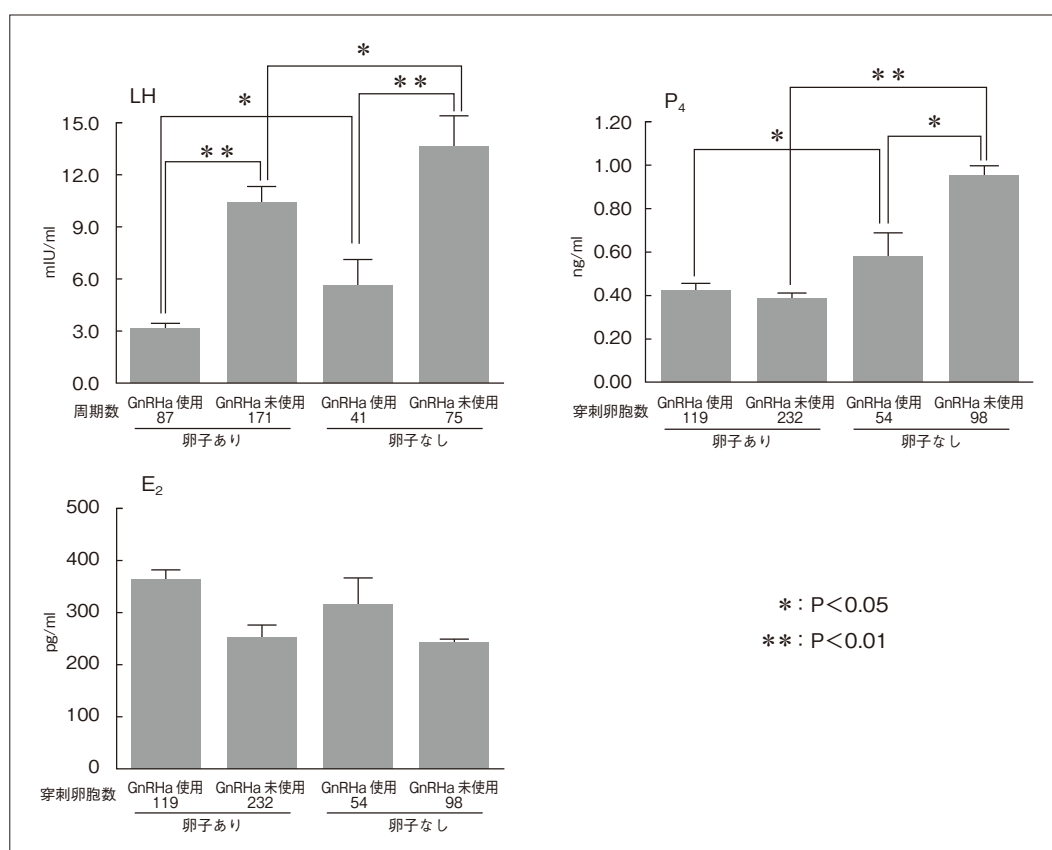


図3 POI 群の卵巣刺激プロトコールごとの血中ホルモン濃度の比較

表4 POI 群の卵巣刺激プロトコールごとの血中ホルモン濃度の比較

	卵子あり		卵子なし	
	GnRH アゴニスト使用	アゴニスト未使用	GnRH アゴニスト使用	アゴニスト未使用
LH (mIU/ml)	3.0 ± 0.3	10.3 ± 0.9	5.6 ± 1.4	13.7 ± 1.1
P ₄ (ng/ml)	0.42 ± 0.05	0.38 ± 0.03	0.58 ± 0.09	0.95 ± 0.16
E ₂ (pg/ml)	363.1 ± 26.1	251.7 ± 13.3	315.3 ± 52.4	240.8 ± 14.8

得られたと考えられる。また、卵子の成熟率、正常受精率もPOI患者とそれ以外の患者で差は認められず、採卵まで至った場合は一般的な不妊症と同程度に卵子を得ることは可能であることが示唆された。

血中の各種ホルモン濃度を比較してみると、POI患者では卵子が回収できない場合にLH、 P_4 ともに高値を示した。また、GnRHアゴニストを使用して卵巣刺激を行った場合でも、卵子が回収できない場合はLH、 P_4 が有意に高い値であった。この結果を鑑みると、POI患者では卵巣刺激の際にLH、 P_4 を十分に抑制する必要がある、抑制がうまく行われなかった場合に卵胞の早期黄体化が主因となり卵子が回収できない可能性が示唆された。それ以外の患者では卵子が回収できない場合にLHの値が高い傾向を示したが、LH、 P_4 ともに卵子が回収できた場合と比較して有意な差は認められなかった。当院の施設の都合上、採卵に適切ではない時期に採卵を行わざるを得ない状況があった可能性が考えられ、そのような採卵時期のバイアスという卵胞の早期黄体化以外の要因がLHの上昇、採卵率に関与している可能性が示唆された。

早期黄体化は妊娠率を低下させるという報告と^{6,7)}、妊娠率には影響しないという報告があり^{9,10)}、また、卵子や胚の質に関する報告も意見が分かれる^{7,10-12)}。本検討においても、卵子が回収できない場合の主因である可能性が示唆されたが、卵子が回収できたPOI患者の中にもホルモン値が早期黄体化の傾向を示した患者も見受けられた。早期黄体化を示すことが、卵子、胚の質に関与しているか否かは今後の結論を待つところであるが、質の低下を招くのであればホルモン値のコントロールが重要である。また、poor responderや卵子由来の成長因子であるgrowth differentiation factor-9 (GDF9)、bone morphogenetic protein-15 (BMP15)に変異のある場合に早期黄体化を示すという報告もある^{12,13)}。POIがこのような遺伝子の変異で発症する場合があることを考えると、POIでは発育した卵胞が、常に早期黄体化を示す可能性がある患者も存在していると予想される。今後は早期黄体化を示す患者を個別に解析し、POIに対する卵巣刺激プロトコルを最適化することで、POI患者でも自身の卵子により妊娠できる可能性が広がるのではないかと考えられる。

参 考 文 献

- 1) Skillern, A., Rajkovic, A.: Recent developments in identifying genetic determinants of premature ovarian failure. *Sex. Dev.*, 2: 228-243, 2008.
- 2) Bachelot, A., Rouxel, A., Massin, N., Dulon, J., Matuchansky,

- C., Badachi, Y., Fortin, A., Paniel, B., Lecuru, F., Lefrere-Belda, M. A., Constancis, E., Thibault, E., Meduri, G., Guiochon-Mantel, A., Misrahi, M., Kuttann, F., Touraine, P.: Phenotyping and genetic study of 357 consecutive patients presenting with premature ovarian failure. *Eur. J. Endocrinol.*, 161: 179-187, 2009.
- 3) Chand, A. L., Ponnampalam, A. P., Harris, S. E., Winship, I. M., Shelling, A. N.: Mutation analysis of BMP15 and GDF9 as candidate genes for premature ovarian failure. *Fertil. Steril.*, 86: 1009-1012, 2006.
- 4) Di Pasquale, E., Rossetti, R., Marozzi, A., Bodega, B., Borgato, S., Cavallo, L., Einaudi, S., Radetti, G., Russo, G., Sacco, M., Wasniewska, M., Cole, T., Beck-Peccoz, P., Nelson, L. M., Persani, L.: Identification of new variants of human BMP15 gene in a large cohort of women with premature ovarian failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 91: 1976-1979, 2006.
- 5) Kasteren, Y. M., Schoemaker, J.: Premature ovarian failure : a systematic review on therapeutic interventions to restore ovarian function and pregnancy. *Hum. Reprod. Update*, 5: 483-492, 1999.
- 6) Bosch, E., Valencis, I., Escudero, E., Crespo, J., Simon, C., Remohi, J., Pellicer, A.: Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycle and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil. Steril.*, 80: 1444-1449, 2003.
- 7) Harada, T., Yoshida, S., Katagiri, C., Takao, N., Ikenari, T., Toda, T., Mio, O., Terakawa, N.: Reduced implantation rate associated with a subtle rise in serum progesterone concentration during the follicular phase of cycles stimulated with a combination of a gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotrophin. *Hum. Reprod.*, 10: 1060-1064, 1995.
- 8) Urman, B., Alatas, C., Aksoy, S., Mercan, R., Isiklar, A., Balaban, B.: Elevated serum progesterone level on the day of human chorionic gonadotropin administration does not adversely affect implantation rates after intracytoplasmic sperm injection and embryo transfer. *Fertil. Steril.*, 72: 975-979, 1999.
- 9) Check, J. H., Chase, J. S., Nowroozi, K., Dietterich, C. J.: Premature luteinization : treatment and incidence in natural cycle. *Hum. Reprod.*, 6: 190-193, 1991.
- 10) Hofmann, G. E., Bentzien, F., Bergh, P. A., Garrisi, G. J., Williams, M. C., Guzman, I., Navot, D.: Premature luteinization in controlled ovarian hyperstimulation has no adverse effect on oocyte and embryo quality. *Fertil. Steril.*, 60: 675-679, 1993.
- 11) Fanchin, R., Righini, C., Olivennes, F., de, Ziegler, D., Selva, J., Frydman, R.: Premature progesterone elevation does not alter oocyte quality in in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 65: 1178-1183, 1996.
- 12) Younis, J. S., Matilcky, M., Radin, O., Ben-ami, M.: Increased progesterone/estradiol ratio in the late phase could be related to low ovarian reserve in in vitro fertilization-embryo transfer cycles with a long gonadotropin releasing hormone agonist. *Fertil. Steril.*, 76: 294-299, 2001.
- 13) Pangas, S., Li, X., Robertson, E., Matzuk, M.: Premature luteinization and cumulus cell defects in ovarian-specific Smad4 knockout mice. *Mol. Endocrinol.*, 20: 1406-1422, 2006.

単一胚移植における妊娠初期の血中hCG値に 影響を与える要因についての検討

中山 奈央子, 河野 恵美子, 市橋 佳代, 赤松 芳恵, 佐藤 学, 姫野 隆雄,
大西 洋子, 井上 朋子, 伊藤 啓二郎, 中岡 義晴, 森本 義晴

医療法人三慧会 IVFなんばクリニック 生殖技術部門 〒550-0015 大阪府大阪市西区南堀江 1-17-28

要 旨： 胚移植後の血中hCG値は妊娠成立を示す指標の一つで、hCG値と妊娠予後との関連が示唆されている。一方、出産に至った個々の症例の妊娠判定時のhCG値には大きな差が見られることがある。そこで、妊娠初期の血中hCG値に影響を与える要因について検討した。単一胚移植で子宮内に胎嚢を確認した周期のうち、妊娠4週3日目に血中hCG値を測定した842周期を対象とした。対象周期を出産群と流産群に分類し、出産群を新鮮胚移植群と凍結融解胚移植群に、さらに移植時期により分割期胚移植群と胚盤胞期胚移植群に分類し、それぞれのhCG値を比較検討した。出産群は流産群より有意に高値を示し、妊娠初期の血中hCG値が妊娠予後を予測する指標となり得ることが示された。また、凍結融解胚移植群は新鮮胚移植群より、分割期胚移植群は胚盤胞期胚移植群より有意に高値を示し、移植周期や移植時期の違いによりhCG値が異なることが示唆された。

キーワード： hCG, 新鮮胚移植, 凍結融解胚移植, 分割期胚移植, 胚盤胞期胚移植

緒 言

当クリニックでは、胚移植の約2週間後に血中hCG濃度を測定して妊娠判定を行っている。胚移植後の血中hCG値は妊娠成立を示す指標の一つであり、hCG値と妊娠予後との関連が示唆されている¹⁾。一方、出産に至った個々の症例の妊娠判定時のhCG値には大きな差が見られることがある。着床の過程において、胚盤胞が子宮内膜上皮に接着すると、胚盤胞の栄養膜は急速に増殖を始めて2層に分化する。このうち外側の栄養膜合体層が子宮内膜組織を侵蝕し、胚盤胞は子宮内膜内に埋没していく²⁾。hCGはこの栄養膜合体層から産生され、その値は着床後より上昇する。そのため、着床後の日数や着床した胚の個数によりhCG値は異なる。今回我々は、単一胚移植後の妊娠4週3日目に血中hCG値を測定した症例で、血中hCG値と妊娠予後との関係、ならびに移植周期や移植時期が血中hCG値に与える影響について検討した。

対 象 と 方 法

2007年～2011年に当院で分割期胚 (Day3胚) 及び胚盤胞期胚 (Day5及びDay6胚) の単一胚移植を実施し、子宮内に胎嚢を確認した周期のうち、妊娠判定のた

め妊娠4週3日目に血中hCG値を測定した842周期を対象とした。ただし、多胎12周期および予後不明105周期は除外した。

新鮮胚移植では、採卵決定当日にmaturation triggerとしてhCG 5000単位を投与した。分割期胚移植の場合は採卵の翌日に、胚盤胞期胚移植の場合は採卵の翌々日に、hCG 5000単位とプロゲステロン製剤による黄体賦活および補充を行った。自然周期での凍結融解胚移植では、分割期胚移植の場合は胚移植の5日前に、胚盤胞期胚移植の場合は胚移植の7日前に、maturation triggerとしてhCG 5000単位を投与した。いずれのプロトコールにおいても、胚移植後はプロゲステロン製剤による黄体補充のみ行った。用いたhCG製剤は30～32時間の半減期で血中より消失するため、妊娠判定時のhCG値には影響しないと考えた。

検討① 対象周期を出産群 (n=621) と流産群 (n=221) に分類し、それぞれのhCG値の中央値を比較した。

検討② 検討①で分類した出産群を新鮮胚移植群 (n=119) と凍結融解胚移植群 (n=502) に分類し、それぞれのhCG値の中央値を比較した。

検討③ 検討②で分類した新鮮胚移植群と凍結融解胚移植群を、さらに分割期胚移植群 (新鮮胚移植群：n=81, 凍結融解胚移植群：n=107) と胚盤胞期胚移植群 (新鮮胚移植群：n=38, 凍結

融解胚移植群：n=395)に分類し、それぞれのhCG値の中央値を比較した。

なお、血中hCGの測定はロシュ・ダイアグノスティックスのcobas e411を用いてECLIA法で行った。統計学的解析にはMann-Whitney's U testを用い、危険率5%未満をもって有意差ありと判定した。

結 果

検討① 出産群と流産群の血中hCG値の中央値の比較を図1に示した。出産群(658.5 IU/L)は流産群(397.6 IU/L)よりも有意に高値を示した($P<0.001$)。出産群のhCG値の最小値は39.2 IU/L、最大値は2788 IU/Lであり、大きな差が見られた。

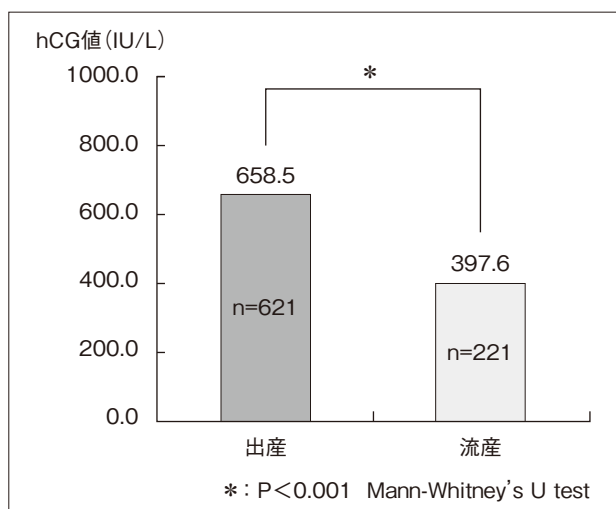


図1 出産群と流産群の血中hCG値の中央値の比較

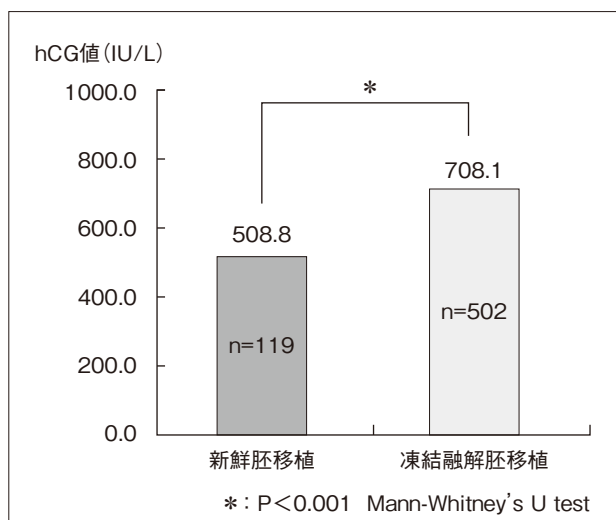


図2 出産群における新鮮胚移植群と凍結融解胚移植群の血中hCG値の中央値の比較

検討② 出産群における凍結融解胚移植群と新鮮胚移植群の血中hCG値の中央値の比較を図2に示した。凍結融解胚移植群(708.1 IU/L)は新鮮胚移植群(508.8 IU/L)よりも有意に高値を示した($P<0.001$)。

検討③ 出産群における分割期胚移植群と胚盤胞期胚移植群の血中hCG値の中央値の比較を図3に示した。新鮮胚移植、凍結融解胚移植のいずれにおいても、分割期胚移植群は胚盤胞期胚移植群よりも有意に高値を示した(新鮮胚移植群: 567.0 IU/L vs. 364.3 IU/L; $P<0.001$, 凍結融解胚移植群: 805.1 IU/L vs. 658.9 IU/L; $P=0.003$)。

考 察

妊娠4週3日目の血中hCG値の比較検討において、出産群は流産群よりも有意に高値を示したことから、妊娠4週3日目の血中hCG値が妊娠予後を予測する指標となり得ることが示された。一方、出産群の個々の症例のhCG値には大きな差が認められ、hCGが100 IU/L未満の低値であるにもかかわらず出産に至っているケースが数例あった。

hCGは着床の過程において、栄養膜合胞体層から産生されて着床後より上昇するため、hCG値は着床してからの期間を反映していると予想される。分割期胚移植群のhCG値が胚盤胞期胚移植群に比べて有意に高値を示したことより、移植時期が分割期か胚盤胞期かの違いがhCG値に影響を与えていることが示唆された。体外

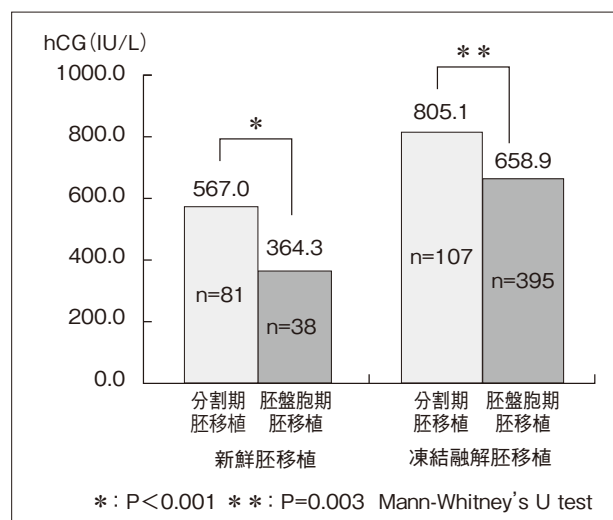


図3 出産群における分割期胚移植群と胚盤胞期胚移植群の血中hCG値の中央値の比較

表1 出産群と流産群の患者背景

	出産群	流産群
周期数	621	221
平均年齢	34.1 ± 3.8	35.6 ± 4.0
新鮮胚移植の割合	19.2% (119/621)	20.8% (46/221)
凍結融解胚移植の割合	80.8% (502/621)	79.2% (175/221)
凍結融解胚移植のうち		
ホルモン補充周期	98.6% (495/502)	98.3% (172/175)
自然周期	1.4% (7/502)	1.7% (3/175)

での培養液中に比べて子宮内の方が胚の発育速度が速いことが予想され、より良好な培養液や培養条件が開発されてもやはり実際の子宮内での胚の発育環境とは異なると考えられる。また、胚と子宮内膜のクロストークの点から考えると、卵管内の胚の存在が子宮内膜の胚に対する受容能に影響することが知られている。一方、胚にも多種多様のレセプターがあり卵管内膜や子宮内膜から多くの因子が胚に作用している³⁾。よって、胚盤胞期胚移植より早く子宮内に移植する分割期胚移植の方が、より早く着床に適した環境が整い、より早期のhCG値上昇に繋がっている可能性が一因として考えられた。

また、凍結融解胚移植群のhCG値が新鮮胚移植群に比べて有意に高値を示した。hCG値が着床してからの期間を反映しているとすれば、表1に示したように凍結融解胚移植群のほとんど(98.6%)がホルモン補充周期であったことから、採卵周期と同じ周期に胚移植を行う新鮮胚移植は、別周期で黄体補充療法により子宮内膜の着床環境を整えてから行う凍結融解胚移植に比べ、着床遅延を起こしている可能性を考えた。しかし、胚受容能を有する子宮内膜の分化状態を示すpinopodesの形成が自然周期に比べて刺激周期で早く、ホルモン補充周期で遅いというNikasの報告⁴⁾があり、先に述べた考えはこの報告に矛盾する。胚盤胞期胚での新鮮胚移植群と凍結融解胚移植群とのhCG値比較において有意差はなかったという堀内らの報告⁵⁾もあり、我々の結果に合致する現象や報告は現在見当たらない。しかし、今回検討した新鮮胚移植と凍結融解胚移植以外に別の要因が存在しており、それがhCG分泌量の違いを生じさせた可能性がある。あるいは、新鮮胚移植と凍結融解胚移植でまだ明らかになっていないhCG分泌の差異が存在する可能性も考えられる。それぞれの患者背景についてさらに細かく検討を重ねる必要がある。

参考文献

- 1) Urbancsek, J., Hauzman, E., Fedorcsák, P., Halmos, A., Dévényi, N., Papp, Z.: Serum human chorionic gonadotropin measurements may predict pregnancy outcome and multiple gestation after in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 78: 540-542, 2002.
- 2) Keith, L., Moore, T. V. N. Persaud: 第4章ヒトの発生第2週. 瀬口春道・小林俊博・Eva Garcia del Saz, 受精卵からヒトになるまで原著第6版-基礎的発生学と先天異常-, pp.42-50, 医歯薬出版, 2007.
- 3) 東口篤司・逸見博文・斎藤学・板橋詠子: VII着床1 着床機構. 日本哺乳動物卵子学会, 生命の誕生に向けて(第二版) 生殖補助医療(ART) 胚培養の理論と実際, pp.195-201, 近代出版, 2011.
- 4) Nikas, G.: Endometrial receptivity: changes in cell-surface morphology. *Semin. Reprod. Med.*, 18: 229-235, 2000.
- 5) 堀内理菜・宮地志織・水野里志・森梨沙・藤岡聡子・杉原研吾・井田守・春木篤・福田愛作・森本義晴: 単一胚盤胞移植後12日目の血中hCG値からみた妊娠後の予測と血中hCG値に影響を与える因子についての検討. 日受精着床会誌, 29: 62-65, 2012.