ISSN 1881-9028

日本IVF学会雑誌

Vol.22 No.1 2019

JSAR
Japan Society of Assisted Reproduction

日本IVF学会雑誌 Journal of Assisted Reproduction(JAR)

論　文

－原著－
顕微授精後にカルシウムイオノフォア処理を行った症例の出生児長期予後…… 3
入江 真奈美[1]，樽井 幸与[1]，水野 里志[1]，藤岡 聡子[1]，井田 守[1]，福田 愛作[1]，森本 義晴[2]
[1]IVF 大阪クリニック／[2]HORAC グランフロント大阪クリニック

－原著－
当院における癒着胎盤の危険因子の検討 …… 9
山田 聡，塩谷 雅英
英ウィメンズクリニック

－原著－
男性不妊患者のライフスタイル（食・嗜好・運動・禁欲）が精液所見に及ぼす影響…… 14
松浦 大創，奥原 彩也香，小熊 惇平，加藤 泰宏，佐藤 渚，小川 奈津，野尻 由香，
黒田 加代子，野村 昌男，古井 憲司
クリニックママ

－原著－
近隣泌尿器科との連携による TESE-ICSI の成績と有用性の評価 …… 20
藤井 雄太[1,2]，小林 眞一郎[1]，元石 睦郎[1]，山口 耕平[3]，石川 智基[3]，柴原 浩章[2]
[1]Koba レディースクリニック／[2]兵庫医科大学 産科婦人科学講座／[3]石川病院 泌尿器科

－原著－
反復移植不成功患者に対して卵管内移植を行った 61 例の解析結果 …… 26
山田 聡，水澤 友利，松本 由紀子，苔口 昭次，塩谷 雅英
英ウィメンズクリニック

第22回 日本IVF学会学術集会 開催概要 …… 29
日本IVF学会雑誌発行における投稿論文募集のお知らせ …… 30
日本IVF学会雑誌　投稿規定 …… 31
一般社団法人 日本IVF学会 定款 …… 33
一般社団法人 日本IVF学会 役員 …… 39
編集委員会 …… 40

日本IVF学会雑誌 Vol.22, No.1, 3-8, 2019

ー原著ー

顕微授精後にカルシウムイオノフォア処理を行った症例の出生児長期予後

入江 真奈美[1]，樽井 幸与[1]，水野 里志[1]，藤岡 聡子[1]，井田 守[1]，福田 愛作[1]，森本 義晴[2]

[1]IVF 大阪クリニック　〒577-0012　大阪府東大阪市長田東 1-1-14
[2]HORAC グランフロント大阪クリニック　〒530-0011 大阪市北区大深町 3-1 グランフロント大阪タワー B 15F

要 旨： 顕微授精における受精障害症例の発生頻度は1～3%といわれている．このような症例に対して，顕微授精後に卵子に対してCaiなどの人為的活性化を付加することが有効な場合があるが，症例数は少なく，児の予後を含めた安全性の検証は十分とは言えない．今回我々は，顕微授精後にCai処理を実施し妊娠出産に至った症例の児に対して，出生から5歳児までの調査を行った．対象となる23例24児に出生時の性別，在胎週数，奇形の有無，および出生時の身長と体重を調査し，継続調査に同意の得られた症例に対して，1歳半から5歳までの身長，体重，および生育過程で出現した奇形を調査した．13.6%に出生時の低体重を認めたが，その後の発育で厚生労働省平成22年度乳幼児身体発育調査の結果によるパーセンタイル曲線内に収まっていた．よって今回の調査では出生児に対してCai処理の身体発育に対する影響は認められないと考えられた．

キーワード：カルシウムイオノフォア，出生児，受精障害，顕微授精

緒　言

2015年における我が国の出生児の19人に1人が体外受精からであるという事実が示すように[1]，生殖補助医療において体外受精は重要な治療方法の一つとなった．1978年に初めて体外受精による児が出生してから40年が経過し[2]，初期の体外受精で誕生した児が成人し自然妊娠から出産をしているという事実は[3]，体外受精技術の安全性を示す指標の一つであると考えられる．しかし，詳細な体外受精に関連する技術の安全性の検証には，より多くの児を長期で調査する必要があり，場合によっては次世代までの調査が必要になると考えられる．これまでに体外受精による出生児の予後について，様々な報告がなされている．体外受精による出生児と非ART出生児を比較して，身長，体重，先天異常の有無について差がない[4,5]という報告がある一方で，ART出生児の発育の差異について様々な報告がある．Pinborgらは，凍結融解胚移植による出生児は非ART出生児よりも体重が有意に重くなる，新鮮胚移植による出生児は非ART出生児よりも先天異常をもつ児の割合が高くなることを報告している[6]．Katoらは，凍結融解胚移植による出生児は新鮮胚移植による出生児と比較して体重が有意に重くなること，新鮮胚移植では低出生体重児の割合が凍結融解胚移植のそれと比較して高いことを報告している[7]．Zhuらは，一般体外受精による出生児では，顕微授精による出生児および非ART出生児と比較して早期産の割合が有意に高い，出生時のアプガースコアーが有意に高いことを報告している[8]．また，顕微授精による出生児の場合，インプリンティング異常症であるシルバーラッセル症候群，ベックウィズヴィーデマン症候群のリスクが非ART出生児の約10倍高いことが推測されており，ARTによる配偶子操作がゲノムインプリンティングの異常を引き起こす可能性が示唆されている[9]．

顕微授精は，1個の卵子に1匹の精子を直接注入する方法であり，その特性から，一般体外受精では受精しない患者や，重度の男性因子による不妊患者でも挙児が望めるようになった．一般的に顕微授精の受精率は70～90%といわれている[10]．しかし，稀に顕微授精を実施した症例でも受精しない場合や，極端に受精率が低い場合がある．このような受精障害症例は，顕微授精実施症例のうち1～3%にみられると報告されている[11]．受精障害の主要な原因の一つとして，卵子の活性化が起こらないことが挙げられる．そのような症例に，顕微授精後に人為的な卵子活性化法を付加することが，受精率の改善に有効な場合がある．これまでに，臨床で有効性が報告されている人為的な卵子活性化法には，カルシウムイオノフォア(Cai)[12-20]，塩化ストロンチウム[20]，電気刺激[21]などがある．我々も，顕微授精の受精障害症例に対して，Caiを用いた活性化処理をする場合がある．正常な受精では卵内でカ

受付　2018年8月9日/受理　2018年9月25日
責任著者：入江 真奈美　e-mail［irie522@ivfjapan.com］

ルシウムオシレーションといわれる一過性のカルシウムイオンの増減が前核形成までの間繰り返し起こり，卵子活性化が誘起される. 一方で, 顕微授精後のCaiの付加による細胞内のカルシウムイオン濃度の変化は，単発的なCa^{2+}の上昇のみであり，カルシウムオシレーションは誘起されない[22]. このため, この発生機序の違いが, 胚発生, 胎児の発育, さらには児の予後に及ぼす影響を調査することは重要と考えられる.

先にも述べたように顕微授精後の受精障害症例の発生頻度は3%前後と少なく，さらにその中で人為的な卵子活性化処理が有効である症例となると非常に稀であるため，活性化処理後に妊娠出産に至った児の予後についての報告は少ない[20]. このため, 一児でも多くの, この技術を用いて生まれた児の予後に関する情報を蓄積することは, 卵子活性化処理の安全性を証明するために非常に重要である. そこで我々は，Caiを用いた卵子活性化法により得られた受精卵を胚移植し，妊娠出産に至った症例の出生児について, 出生時から5歳時までの身体発育について調査を行ったので報告する.

対象及び方法

1. 対象

2004年4月から2016年5月の間に顕微授精実施後, Caiにて卵子活性化処理を行った受精卵を用いて胚移植を行い，妊娠出産に至った双胎1組を含む23症例24児を対象とした.

2. 卵子活性化処理

顕微授精実施後, 卵子を培養液で30分間培養した. 培養後, 卵子を10 μM Ca(SIGMA)を添加した培養液で15～20分間培養した. 処理後，卵子は，培養液に移し翌朝受精確認した. 正常受精が確認できた卵子は，胚移植，あるいは凍結まで培養を行った. なお，卵子および胚の培養はすべて, 37℃, 6% CO_2, 5% O_2, 89% N_2の条件下で行った. また, 一連の治療については，充分なインフォームドコンセントを実施した後，患者の同意を得て行った.

3. 出生児予後調査

妊娠成立後, 産科への転院の際, 患者に任意のアンケートを配布し，出産後に郵送にて返送を依頼した. 出生時のアンケート項目には，出生時の性別，在胎日数，先天異常の有無, 身長, 体重, 継続調査への協力の可否を含めた. さらに, 継続調査への協力の得られた患者に対しては，2歳時および5歳時にアンケートを郵送にて配布した. 継続調査では，1歳，1歳半，2歳，3歳半，5歳での身長, 体重, および出生時以降に発覚した異常について調査を行った.

4. 調査結果の解析

まず, 出生時アンケートより, 性比, 平均在胎日数, 早期産の割合, 過期産の割合, 先天異常率, 平均身長, 平均体重, 低体重児の割合を算出した. なお, 身長, 体重については，男女別に厚生労働省平成22年度乳幼児身体発育調査の結果[23]と比較した. 次に, 継続調査に同意の得られた6児(男児：5，女児：1)について，身体発育と出生時以降に発覚した異常の有無を解析した. 身体発育については, 男女別に5歳までの身長と体重の推移が，厚生労働省平成22年度乳幼児身体発育調査の結果[23]から得られた3パーセンタイルから97パーセンタイルの曲線内に収まっているか調べた.

結　果

1. 出生時調査

出生時のアンケート結果を**表1**に示した. 性別の割合は男児62.5%(15児)，女37.5%(9児)であった. 平均在胎日数は272.5±11.9日で, 2児(8.3%)が早期産, 過期産は認められなかった. 先天異常は, 1児(4.2%)に21トリソミーを認めた. 出生時の平均身長は男児47.24±1.84 cm, 女児48.0±3.54 cm, 平均体重は男児2.89±0.43 kg, 女児2.92±0.42 kgであり，5児が2.5 kgに満たない低出生体重児であった(**表1, 2**). 男児，女児の平均身長および平均体重は，厚生労働省の平成22年度乳幼児身体発育調査の値と，それぞれすべて類似する値であった(**表2**).

2. 発育調査

出生時以降のアンケート調査結果 (**表3**)，およびそのパーセンタイル曲線におけるプロットを図1に示す. 体重について出生時に1児(男児) が，3パーセンタイルを下回ったが，その後の発育ではパーセンタイル曲線内に収まった(**図1A**). 身長については男児の1児が，1歳時に3パーセンタイルを下回ったが，その後の発育ではパーセンタイル曲線内に収まった (**図1B**). その他の児はすべての調査点でパーセンタイル曲線内に収まっていた(**図1A, B, C, D**).

考　察

顕微授精は高度の男性不妊に用いられる技術であり, 顕微授精後の受精障害は非常に稀である. このような受精障害に対してCaiを用いた卵の活性化を行う場合があるが，この活性化処理が有効な症例は，顕微授精後の受

表 1　児別の出生時調査結果

	性別	母体年齢	身長 (cm)	体重 (g)	在胎日数	異常
1	男	31	-	2966	291	無
2	男	46	-	2850	266	無
3	男	36	-	3426	266	無
4	男	39	50.0	3074	267	無
5	男	27	45.6	2320*	264	無
6	男	27	47.0	2428*	264	無
7	女	39	-	2414*	272	無
8	男	40	48.0	2850	275	無
9	男	37	45.6	1994*	249**	無
10	女	43	50.5	3125	274	無
11	女	39	45.5	3010	274	無
12	男	35	-	2626	270	21 トリソミー
13	男	37	-	2854	260	無
14	男	41	49.0	2910	261	無
15	男	35	49.9	3440	275	無
16	女	40	48.0	2504	272	無
17	女	35	53.0	3644	283	無
18	男	43	48.0	3035	293	無
19	女	37	-	2445*	249**	無
20	女	32	51.0	3311	285	無
21	女	31	47.6	3032	292	無
22	女	31	48.6	2830	281	無
23	男	33	49.4	2976	274	無
24	男	43	51.0	3598	282	無

＊低出生体重児　＊＊早期産

表 2　出生時の身長・体重の厚生労働省の平成 22 年度乳幼児身体発育調査との比較

	男児		女児	
	本実験	厚生労働省	本実験	厚生労働省
身長 (cm)	48.4 ± 1.9	48.8 ± 2.4	49.2 ± 2.5	48.3 ± 2.3
体重 (kg)	2.89 ± 0.43	3.01 ± 0.43	2.92 ± 0.42	2.93 ± 0.41

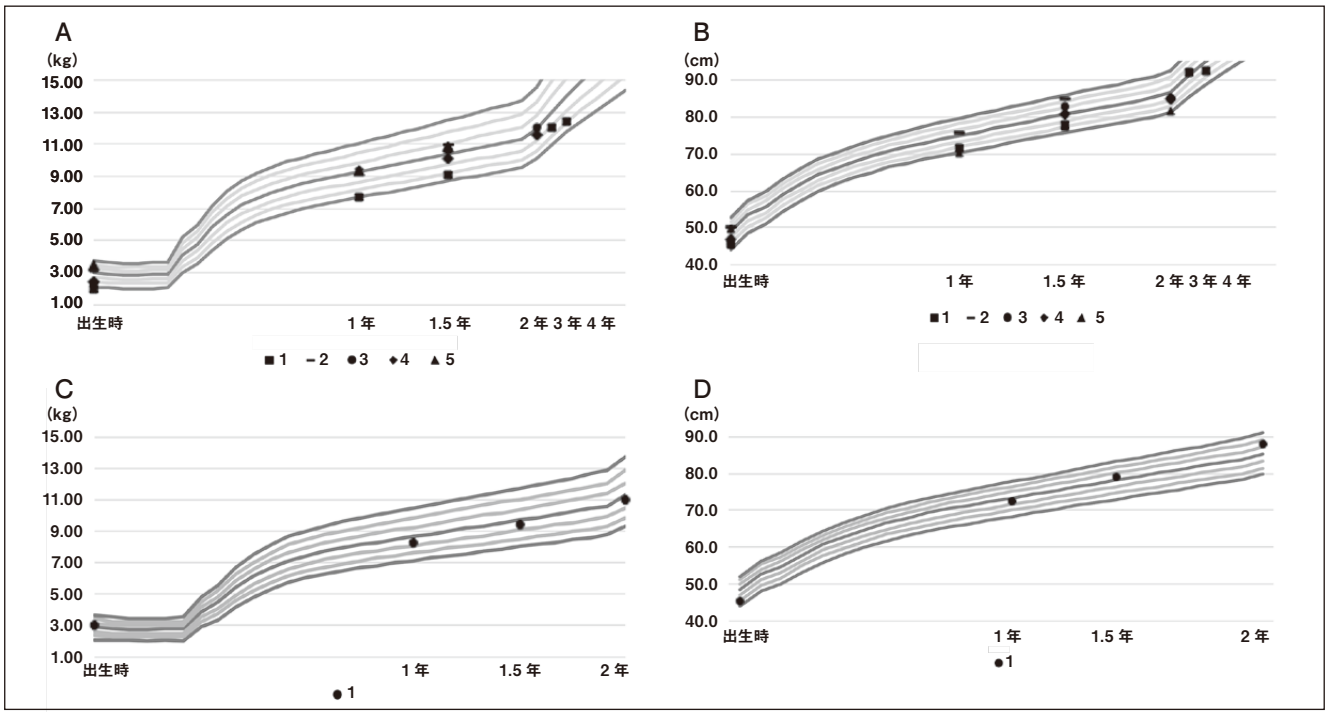
厚生労働省平成 22 年度乳幼児身体発育調査より

精障害の中でもさらに限定された症例となるため，症例数は極めて少なくなる. 実際に，当院でのCai処理実施症例は，顕微授精症例のうち2%にも満たない. このように，この技術から生まれた児の予後の大規模調査を行うことは困難であるため，一例でも多く，児の発育を調査することが，この技術の安全性を検証するうえで非常に重要であると考えられる.

これまでに，受精障害症例に対して卵の活性化を実施し出産に至った症例で，児の発育に焦点を当てた報告が2報ある. Kyonoらは，Cai処理実施症例の10児の発育調査を実施し，単胎出産児の発育は，出生時から1歳半まで，身長と体重ともに標準発育パーセンタイル曲線の10～90パーセンタイル内に収まっていたことを報告している[20]. さらに，彼らは活性化処理として塩化ストロンチウムを用いた症例の12児についても，出生時から4歳まで同様のパーセンタイル曲線の10～90パーセンタイル内に収まっていたことを報告している[20]. Millerらは，Cai処理実施症例の62児の出生時の身長，体重，在胎週数，および性比は，Cai処理を実施していない児と比較して有意な差を認めなかったことを報告している[12]. 今回の結果では，単胎の児において出生時の身長，体重，在胎週数では厚生労働省の平成22年度乳幼児身体発育調査結果[23]

表３　児別の発育調査結果

		1	2	3	4	5	6
性別		男	男	男	男	男	女
出生児	身長 (cm)	50.0	45.6	47.0	45.6	49.9	45.5
	体重 (g)	3074.0	2320.0	2428.0	1994.0	3440.0	3010.0
1 歳 0 ヶ月	身長 (cm)	75.5	-	-	71.4	70.2	72.5
	体重 (kg)	9.5	-	-	7.7	9.4	8.3
1 歳 6 ヶ月	身長 (cm)	84.7	82.7	80.6	77.7	77.5	79.1
	体重 (kg)	11.0	10.7	10.7	9.1	10.8	9.5
2 歳 0 ヶ月	身長 (cm)	-	84.7	84.7	92.0	81.7	88.0
	体重 (kg)	-	12.0	12.0	12.0	11.5	11.0
3 歳 6 ヶ月	身長 (cm)	-	-	-	92.5	-	-
	体重 (kg)	-	-	-	12.4	-	-
5 歳 0 ヶ月	身長 (cm)	-	-	-	103.0	-	-
	体重 (kg)	-	-	-	15.5	-	-
異常		無	無	無	無	無	無



厚生労働省平成 22 年度乳幼児身体発育調査より

図１　男女別身長および体重の乳幼児身体発育調査によるパーセンタイル曲線との比較
A：男児体重　B: 男児身長　C: 女児体重　D: 女児身長

との有意差はみられなかった. 低出生体重児の割合については13.6%，早期産の割合については9.1%で，H21年の厚生労働省の人口動態統計[24]のそれ（低出生体重児の割合：9.6%, 早期産の割合：4.7%）と比べても類似した値となっていた. さらに，5歳までの発育についても，出生時点の低体重児以外は，3 ～ 97パーセンタイル曲線内に収まっていた. これらの結果や，これまでの報告から，Cai処理は児の身体発育へ影響しないと考えられた.

Kyono[20]やMillerら[12]の報告では，Caiあるいは塩化ストロンチウムを用いた卵の活性化を実施し出産に至っ

た症例の児に先天異常を認めていない. 今回の研究では, 24児中1児（4.2%）に先天異常である21トリソミーが認めた. しかし, この頻度は, 自然妊娠を含むすべての出生児の先天異常発生頻度（3 ～ 5%）と同等であり, Cai処理により先天異常の増加は認められなかった. さらに, 21トリソミーは, 第一減数分裂時の染色体分配の異常に起因することが殆どといわれているため[25], 今回の先天異常（21トリソミー）の発生にCai処理が影響した可能性は低いと考えられる.

今回の報告が, Kyono[20]やMillerら[12]の報告と大きく異なる点が2点ある. 一つ目は, 身体発育の解析を男女別に行っている点である. 出生時の発育について, 同じ在胎週数であれば男児が女児に比べて体重が重く生まれてくることが知られている[26]. このため身体発育は男女で分けて解析することが重要であると考えられる. 二つ目は, 少数症例ではあるが, 児の発育を5歳児まで報告したことである. これまでのCaiを用いた卵の活性化を実施し出産に至った症例の児の調査の最長は, Kyonoら[20]が報告している1歳半までであった. 生殖補助医療に関連する技術に関する安全性の検証には, より多くの児を長期で調査する必要があるため, 今回の報告のような5年に及ぶ長期調査は非常に重要である.

これまでの報告および今回の報告では, それぞれ少ない症例ではあるが, Caiを含む卵の活性化技術を用いた顕微授精から妊娠出産に至った児に, 身体発育や先天異常についての問題は報告していない. このため, Cai処理が出生児に影響を与える可能性は低いと考えられる. しかし, 先にも述べたように極少数症例の調査であることから, さらに症例数を増やし慎重に調査を続け, 結果を見極めることが重要である. 今回の報告では, 厚生労働省の平成22年乳幼児身体発育調査との比較を行ったが, 今後はCai処理が出生児に与える影響についてART児との比較を行うことが必要である. また, 身体発育にとどまらず, 乳幼児発達スケールを用いたスクリーニング検査を行い, 運動, 言語, 社会性等についても検討したい.

参 考 文 献

1) Saito H, Jwa SC, Kuwahara A, Saito K, Ishikawa T, Ishihara O, Kugu K, Sawa R, Banno K, Irahara M: Assisted reproductive technology in Japan: a summary report for 2015 by The Ethics Committee of The Japan Society of Obstetrics and Gynecology. Reprod Med Biol, 17 (1) : 20-28, 2018.
2) Steptoe PC, Edwards RG: Birth after the reimplantation of a human embryo. Lancet. 2 (8085) : 366,1978.
3) Martin Powell: Louise Brown, Martin Powell: My Life As the World's First Test-Tube Baby, pp155-163, BRISTOL BOOKS, 2015.
4) Olivennes F, Kerbrat V, Rufat P, Blanchet V, Fanchin R, Frydman R: Follow-up of a cohort of 422 children aged 6 to 13 years conceived by in vitro fertilization. Fertil Steril, 67: 284-289, 1997.
5) Saunders K, Spensley J, Munro J, Halasz G: Growth and Physical Outcome of Children Conceived by In Vitro Fertilization. Pediatrics, 97: 688, 1996.
6) Pinborg A, Loft A, Aaris Henningsen AK, Rasmussen S, Andersen AN: Infant outcome of 957 singletons born after frozen embryo replacement: the Danish National Cohort Study 1995-2006. Fertil Steril, 94: 1320-1327, 2010.
7) Kato O, Kawasaki N, Bodri D, Kuroda T, Kawachiya S, Kato K, Takehara Y: Neonatal outcome and birth defects in 6623 singletons born following minimal ovarian stimulation and vitrified versus fresh single embryo transfer. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 161 (1) : 46-50, 2012.
8) Zhu L, Zhang Y, Liu Y, Zhang R, Wu Y, Huang Y, Liu F, Li M, Sun S, Xing L, Zhu Y, Chen Y, Xu L, Zhou L, Huang H, Zhang D: Maternal and Live-birth Outcomes of Pregnancies following Assisted Reproductive Technology: A Retrospective Cohort Study. Nature Scientific Reports, 6: 35141, 2016.
9) 有馬隆博, 岡江寛明, 樋浦仁 : 生殖補助医療由来の先天性ゲノムインプリンティング異常症 . 日本生殖内分泌学会雑誌 17: 54-58, 2012.
10) Palermo GD, Neri QV, Takeuchi T, Rosenwaks Z: ICSI: where we have been and where we are going. Semin Reprod Med, 27: 191-201, 2009.
11) Esfandiari N, Javed MH, Gotlieb L, Casper RF: Complete failed fertilization after intracytoplasmic sperm injection-analysis of 10 years' data. Int J Fertil Womens Med. 50: 187-92, 2005.
12) Miller N, Biron-Shental T, Sukenik-Halevy R, Klement AH, Sharony R, Berkovitz A: Oocyte activation by calcium ionophore and congenital birth defects: a retrospective cohort study. Fertil Steril, 106: 590-596, 2016.
13) Rybouchkin AV, Van der Straeten F, Quatacker J, De Sutter P, Dhont M: Fertilization and pregnancy after assisted oocyte activation and intracytoplasmic sperm injection in a case of round-headed sperm associated with deficient oocyte activation capacity. Fertil Steril, 68 (6) : 1144-7, 1997.
14) Murase Y, Araki Y, Mizuno S, Kawaguchi C, Naito M, Yoshizawa M, Araki Y: Pregnancy following chemical activation of oocytes in a couple with repeated failure of fertilization using ICSI: case report. Hum Reprod, 19 (7) : 1604-7, 2004.
15) Kim ST, Cha YB, Park JM, Gye MC: Successful pregnancy and delivery from frozen-thawed embryos after intracytoplasmic sperm injection using round-headed spermatozoa and assisted oocyte activation in a globozoospermic patient with mosaic Down syndrome. Fertil Steril, 75 (2) : 445-7, 2001.
16) Eldar-Geva T, Brooks B, Margalioth EJ, Zylber-Haran E, Gal M, Silber SJ: Successful pregnancy and delivery after calcium ionophore oocyte activation in a normozoospermic patient with previous repeated failed fertilization after intracytoplasmic sperm injection. 79 Suppl 3:1656-8, 2003.

17) Chi HJ, Koo JJ, Song SJ, Lee JY, Chang SS: Successful fertilization and pregnancy after intracytoplasmic sperm injection and oocyte activation with calcium ionophore in a normozoospermic patient with extremely low fertilization rates in intracytoplasmic sperm injection cycles. 82 (2) : 475-7, 2004.
18) Heindryckx B, Van der Elst J, De Sutter P, Dhont M: Treatment option for sperm- or oocyte-related fertilization failure: assisted oocyte activation following diagnostic heterologous ICSI. 20 (8) : 2237-41, 2005.
19) 玉川朝治 , 荒木泰行 , 石渡勇 , 時枝由布子 , 井口めぐみ , 石渡千恵子 , 岡根夏美 , 工藤貴正 , 荒木康久 : 当院における難治性不妊カップルに対する卵子活性化の試み 日本受精着床学会雑誌 22: 190-4, 2005.
20) Kyono K, Kumagai S, Nishinaka C, Nakajo Y, Uto H, Toya M, Sugawara J, Araki Y. :Birth and follow-up of babies born following ICSI using SrCl2 oocyte activation. Reprod Biomed Online. 17 (1) : 53-8, 2008.
21) Baltaci V, Ayvaz OU, Unsal E, Aktaş Y, Baltaci A, Turhan F, Ozcan S, Sönmezer M: The effectiveness of intracytoplasmic sperm injection combined with piezoelectric stimulation in infertile couples with total fertilization failure. Fertil Steril. 94 (3) : 900-4, 2010.
22) 沖津摂 : 卵の人為的活性化の意義 Journal of Clinical Embryologist 7: 25-9, 2004.
23) 平成 22 年乳幼児身体発育調査の概況について . 厚生労働省 . https://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000042861.html, (2018.6.1)
24) 平成 21 年 (2009) 人口動態統計 (確定数) の概況 . 厚生労働省. https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/kakutei09/index.html, (2018.6.1)
25) Kurahashi H, Tsutsumi M, Nishiyama S, Kogo H, Inagaki H, Ohye T: Molecular basis of maternal age-related increase in oocyte aneuploidy. Congenit Anom. 52 (1) : 8-15, 2012.
26) 21 世紀出生児縦断調査 (特別報告) 結果の概況 2001 年ベビーの軌跡 (未就学編) 厚生労働省 .https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/syusseiji/tokubetsu/index.html, (2018.6.1)

日本IVF学会雑誌 Vol.22, No.1, 9-13, 2019

ー原著ー

当院における癒着胎盤の危険因子の検討

山田 聡, 塩谷 雅英

英ウィメンズクリニック　〒650-0021　兵庫県神戸市中央区三宮町1-1-2　三宮セントラルビル

要 旨： 本邦では単一胚移植の普及と凍結，融解胚移植の割合が高くなったことと前後して，自然妊娠に比べ胎盤異常形成による産科合併症が増加している. 本研究では分娩前には予測困難なことが多い癒着胎盤の発生率および危険因子，予測因子を2011～2017年の当院におけるART症例の癒着胎盤症例から後方視的に検討した。癒着胎盤の発生率は1.46%と自然妊娠に比べ高く，特に新鮮胚移植より凍結胚移植で有意に高かった(p=0.013). さらにホルモン補充周期移植の発生率が自然周期移植より有意に高く危険因子と考えられた(p=0.012). 癒着群ではE_2値が移植前で高値，妊娠初期で低値を示し，P_4は移植時のみ低値と有意差を認めたため，さらに症例を積み重ね，これらの予測因子から，ホルモン補充周期でより安全な妊娠管理が出来るようE_2，P_4の“a safety window”を設定する必要があると考えられた.
キーワード：ART, 癒着胎盤, 凍結胚移植, ホルモン補充周期，E_2

緒　言

ARTでは妊娠率の向上を図るために，排卵誘発法や黄体補充療法，胚培養環境，胚凍結技術の改善や胚移植法の工夫が行われてきた. その結果，本邦におけるARTでは単一胚移植が普及し，凍結，融解胚移植の割合が高くなったことが挙げられる[1]. 一方，凍結胚移植後の妊娠で癒着胎盤発生率の上昇が報告されている[2]. 自然妊娠では0.009～0.039%とされているが，ART後の妊娠では新鮮胚移植では0.08%，凍結胚移植で0.37%と報告されている[2].

癒着胎盤は分娩時に大量出血を引き起こし，致命的になることがあるために臨床上非常に重要であり，その危険因子として前置胎盤などの胎盤の位置異常，帝王切開，筋腫核出，子宮内操作や子宮動脈塞栓術（UAE），ARTによる妊娠が挙げられている[3,4]. その中でも，常位癒着胎盤は妊娠経過中や分娩時には正確な診断をすることはいまだに困難で予測がつかない場合が多く，分娩後に臨床的診断がなされ高次病院に搬送や輸血，UAE，子宮摘出を余儀なくされ，人的パワーを要すことになり近隣の周産期医療施設に大きな負担をかけているのが現状である[3,4]. そこで今回は，癒着胎盤の原因の一つとして示唆されているARTについて，2011～2017年の当院におけるART症例の癒着胎盤症例のリスク因子について後方視的な検討を行った.

対象と方法

2011～2017年の間に当院で行ったARTにより分娩に至った6,005例を対象に，癒着胎盤のリスク因子について後方視的に検討した. 妊娠4週1日で妊娠判定を行い，妊娠9週前後に分娩対応病院に紹介した. カルテの記録から抽出できた癒着胎盤症例は86例であった. 同時期に周産期転帰が確認できた，非癒着胎盤症例158例を対照群として両群を比較した.

検討項目は，採卵時年齢，妊娠時年齢，妊娠歴，分娩週数，児体重，受精および移植方法，移植使用カテーテル，移植前血中E_2，P_4濃度，移植時子宮内膜厚，移植時血中E_2，P_4濃度，妊娠4週における血中E_2，P_4，hCG濃度，妊娠5週における血中E_2，P_4，hCG濃度，妊娠7週における血中E_2，P_4濃度，ヘパリン製剤投与，アスピリン内服の有無，子宮鏡検査所見，子宮内手術の既往の有無およびその回数別，絨毛膜下血腫の有無について検討した. 統計学的解析は量的データについては対応のないt検定を，質的データについてはカイ二乗検定を用いた.

結　果

採卵時平均年齢は癒着あり群34.1±4.0歳，癒着なし群36.6±4.3歳(P<0.001)，および妊娠時平均年齢で癒着あり群35.2±4.1歳，癒着なし群37±4.0歳（P<0.001）と癒着あり群の年齢が高かった. 平均分娩週数では癒着あり群38.7±2.1週，癒着なし群38.0±

受付　2018年10月22日/受理　2018年11月27日
責任著者：山田　聡　e-mail［yamada@hanabusaclinic.com］

表１　癒着あり群および癒着なし群の背景比較

	癒着あり群	癒着なし群	統計解析結果
症例数	86	158	
採卵時年齢	34.1 ± 4.0	36.6 ± 4.3	p<0.001
妊娠時年齢	35.2 ± 4.14	37.0 ± 4.0	p<0.001
受精方法			NS
IVF (%)	53 (61.6)	103 (67.3)	
ICSI (%)	31 (36)	53 (33.5)	
周産期予後			
分娩週数	38.7 ± 2.06	38 ± 2	p=0.005
児体重 (g)	3,072 ± 480	2,915 ± 504	p=0.008

2.0週（p=0.005）と癒着あり群が高く，平均出生時児体重(g)で癒着あり群3,072±480g, 癒着なし群2,915±504g(p=0.008)と有意差が見られた（表1）.

癒着あり群86例のうち凍結胚移植は85例で98.7%であった. 癒着なし群では158例中141例（89.1%）が凍結胚移植であった(図１). さらに凍結胚移植による分娩例をホルモン補充周期と自然周期移植に分けて検討した結果，癒着あり群ではホルモン補充周期移植が86例中81例(94.1%)，一方，自然周期移植は4例(1.2%)であった(図２). 癒着なし群ではホルモン補充周期移植が158例中117例(74%), 自然周期移植が24例(10.7%)であった(図２).

癒着あり群, 癒着なし群の血中E_2, P_4濃度を移植前後, および妊娠初期で比較検討したところ，移植前のE_2値(pg/ml)は, 癒着あり群で521.8±260.3(pg/ml), 癒着なし群で418±299(pg/ml)で, 癒着あり群が有意に高値であった（p=0.003）（図３). 移植時のE_2は有意差がなかったが，妊娠4週で癒着あり群427±255（pg/ml)，癒着なし群511±327(pg/ml)（p=0.013)，妊娠5週で癒着あり群496±260(pg/ml)，癒着なし群604±268（pg/ml）（p=0.001)，妊娠7週で癒着あり群901±337(pg/ml)，癒着なし群1,105±434(pg/ml)（p=0.0005）と癒着なし群で有意に低値となって推移した(図３).

次にP_4(ng/ml)に関しては移植時のみ有意差を認めた. 癒着あり群12.8±6.74(ng/ml)，癒着なし群15.7±14.8（ng/ml）と癒着あり群で低値であった(p=0.021)（図４).

その他, 受精方法, 移植使用カテーテル, 血中hCG濃度, ヘパリン製剤投与，アスピリン内服の有無，子宮鏡検査所見，子宮内手術の既往の有無およびその回数別，絨毛膜下血腫の有無に関して有意差は無かった.

考　察

ARTによる周産期予後は，単一胚移植の普及により多胎が減少し，予後不良例も少なくなったが，自然妊娠にくらべ妊娠高血圧症候群や子癇前症，前置胎盤，胎盤早期剥離, 癒着胎盤など胎盤異常形成による産科合併症が増加した[5,6]. 増田ら[7]の報告でも，前置胎盤などの胎盤位置異常は自然妊娠症例が1.5%であるのに比べ, ARTによる妊娠症例では3.1%と約2倍と有意差をもって高くなり，癒着胎盤では自然妊娠症例0.6%に比べ, ARTによる妊娠症例は2.8%と4.5倍と有意差があるとしている. しかし癒着胎盤の中で，胎盤位置異常の合併は，自然妊娠症例の38.9%に比べ，ARTでは9.1%と自然妊娠の方が有意に高かったとしている. 我が国の報告[2]によると癒着胎盤発生率は新鮮胚移植では0.08%, 凍結胚移植で0.37%とされている. 一般的には癒着胎盤発生率は0.009 ～ 0.039%[8]とされていることから，ARTによる妊娠では癒着胎盤の頻度が高く，特に凍結胚移植で発生率が高くなっている.

一般的には原因不明も含め子宮内操作に伴う内膜菲薄, 帝王切開や筋腫核出などの子宮手術，ICSIやE_2, 妊娠初期の血中hCG濃度が癒着胎盤発生の危険因子と考えられている[6,7,9,10]. 本研究の結果では，子宮内操作, 内膜の菲薄や血中hCG濃度の項目では有意差はなかったが, 癒着あり群で内膜厚はやや低値の傾向であった.

E_2に関しては癒着あり群で移植前が有意に高く，妊娠初期は有意に低く, 癒着胎盤の予測因子となる可能性があると考えられた．E_2の作用は着床時期の子宮内膜のトロホブラスト(栄養膜)細胞の分化や増殖, 筋層浸潤や脱落膜の血管再構築の拡がりなどに大きな影響を持つと考えられ[11]，マウスでは移植時期に外因性のエストロゲン製剤によるE_2が高いとimplantation windowが短くなり直ちに不応期に入り，E_2が低いときには子

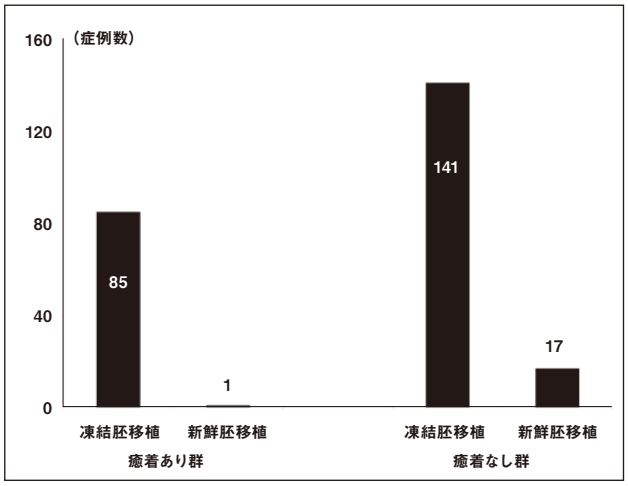


図 1　癒着あり群および癒着なし群における凍結胚移植 vs 新鮮胚移植

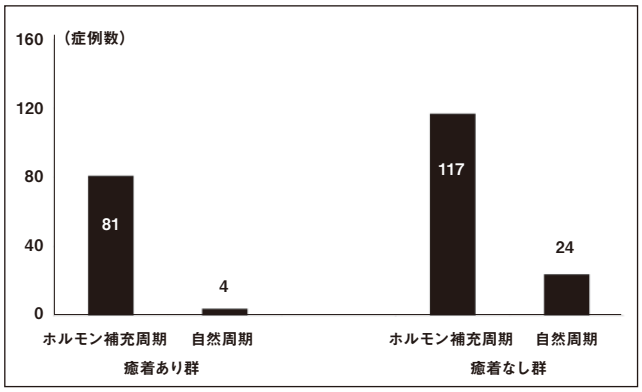


図 2　癒着あり群および癒着なし群におけるホルモン補充周期 vs 自然周期移植

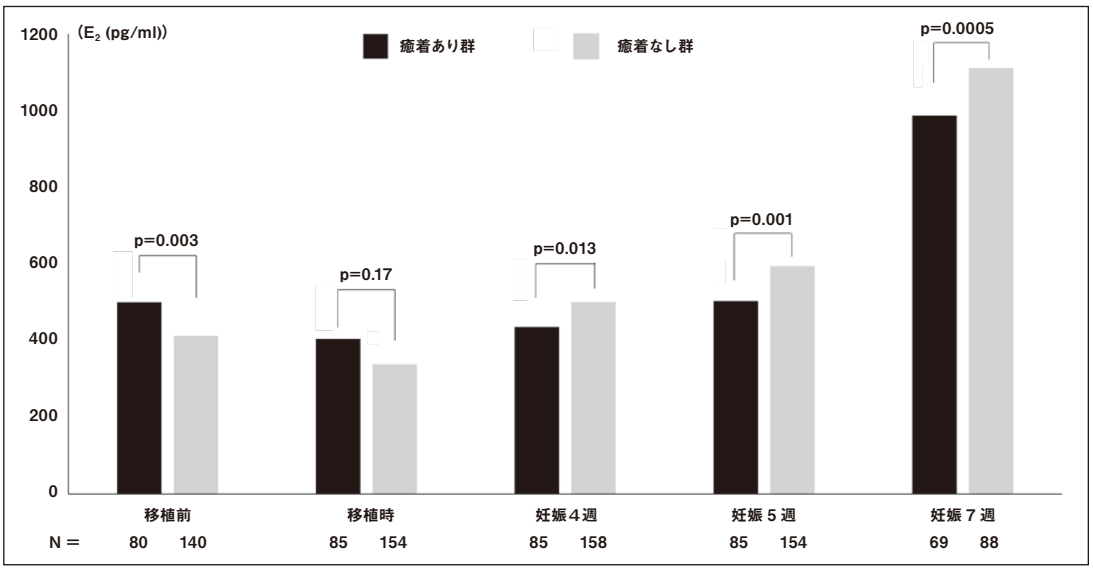


図 3　移植前後における癒着あり群と癒着なし群の E_2 平均値の推移

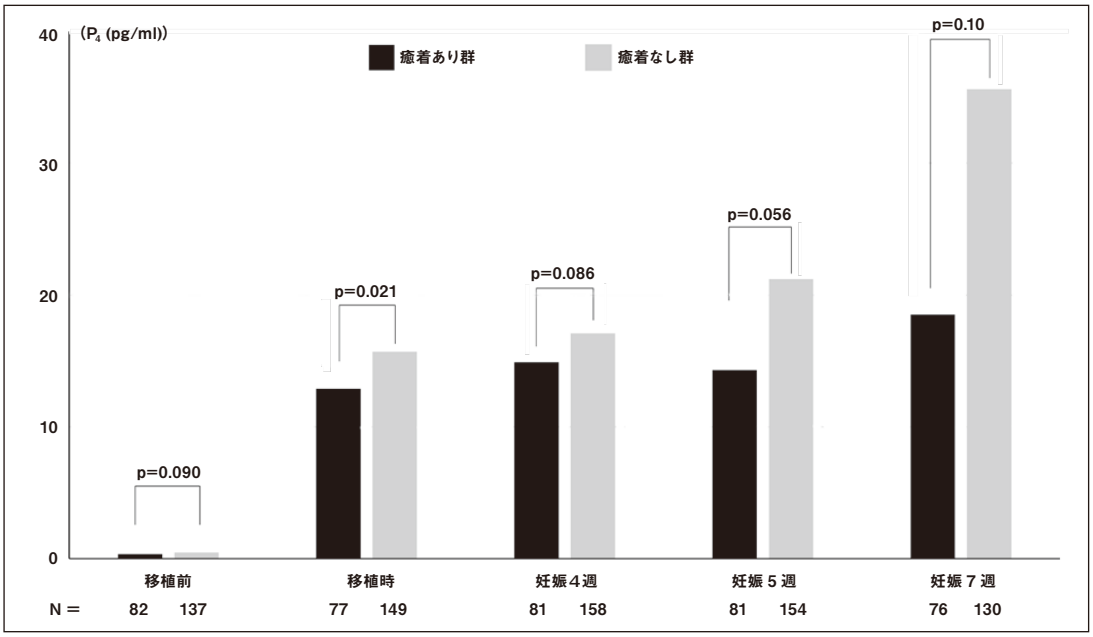


図 4　移植前後における P_4 平均値の推移

宮内膜の感受性が維持され，implantation windowが長くなるという報告もある[12]. またE_2が高いとトロホブラスト（栄養膜）細胞の分化や増殖が不十分で胎盤発育不良，形成不全が生じ妊娠高血圧症候群，子癇前症や子宮内胎児発育遅延が増加するとされる[12]. 子癇前症は凍結胚移植で5%から7～8%に増加すると報告されており，要因の一つとしてE_2の上昇が螺旋動脈や絨毛の形成を左右し子宮内膜で形成不全が生じることが原因とされている[14].

一方，胎盤形成時期にE_2が低いと，トロホブラスト（栄養膜）細胞は子宮内膜に広範囲に深く高度に増殖，分化すると考えられる. その結果，癒着胎盤や大きい児が生まれると考えられている[15]. 本研究の結果も癒着あり群で児体重が有意に大きかった. さらに癒着あり群で分娩週数が遅いのは，癒着なし群より若い胚盤胞が着床し，絨毛が子宮内膜に広く深く増殖，分化したため良い子宮内環境が維持されたと推察される. 胎盤異常形成による産科合併症のリスクを軽減させるためには“a safety window”としてはE_2のピーク値を700～3,450 pg/mlとする報告がある[9].

またP_4に関しては，本研究の結果から移植時に癒着あり群で有意に低値であったことから癒着胎盤の予測因子の一つである可能性がある．P_4の着床時期における役割はE_2がもつ子宮内膜増殖能の作用を調節し，着床を成功させて妊娠継続に導くと報告されている[16,17].

Kaserら[8]は凍結胚移植が癒着胎盤の唯一の危険因子であると報告しているが，本研究でも同様に凍結胚移植で癒着胎盤が多かった. さらに凍結胚移植をホルモン補充周期と自然周期の異なる移植方法で検討したところ，ホルモン補充周期で移植した方が癒着胎盤が多い結果となった.

今回の研究では，転帰が確認可能であった癒着胎盤症例86例と非癒着胎盤症例158例の計244例で検討を行ったところ，E_2やP_4は癒着胎盤の予測因子に，凍結胚移植は特にホルモン補充周期移植が危険因子となる可能性が推察された. 今後，さらに症例を重ねて検討することが必要だと思われる.

参考文献

1) 杉山隆：ART 妊娠による周産期合併症～周産期医療の立場から～．日産婦誌，68: 3045-3051, 2016.
2) Takeshima K, Jwa SC, Saito H, Nakaza A, Kuwahara A, Ishihara O, Irahara M, Hirahara F, Yoshimura Y, Sakumoto T: Impact of single embryo transfer policy on perinatal outcomes in fresh and frozen cycles analysis of the Japanese Assisted Reproduction Technology registry between 2007 and 2012. Fertil Steril, 105: 337-346, 2016.
3) 藤岡泉・市川義一・片倉慧美 ・根本泰子 ・ 笠原正男 ・服部政博：常位部分癒着胎盤・胎盤遺残に対し，動脈塞栓術，methotrexate 療法および子宮鏡手術を施行し次回妊娠時に常位部分癒着胎盤・胎盤遺残を反復した1例. 静岡産婦会誌，5: 4-11, 2016.
4) 釣谷充弘・島岡昌生・水野吉章：前置胎盤を伴わない初産婦癒着胎盤：UAE・Methotrexate・子宮鏡有効例. 日周産期・新生児会誌，47: 145-148, 2011.
5) Hayashi M, Nakai A, Satoh S. Matsuda Y: Adverse obstetric and perinatal outcomes of singleton pregnancies may be related to maternal factors associated with infertility rather than the type of assisted reproductive technology procedure used. Fertil Steril, 98: 922-928, 2012.
6) Royster GD 4th, Krishnamoorthy K, CsokmayJM, Yauger BJ, Chason RJ, DeCherney AH, Wolff EF, Hill MJ: Are intracytoplasmic sperm injection and high serum estradiol compounding risk factors for adverse obstetric outcomes in assisted reproductive technology? Fertil Steril, 106: 363-370, 2016.
7) 増田望穂・吉岡信也・柳川真澄・前田裕斗・山添紗恵子・崎山明香・中北 麦・松林 彩・林 信孝・小山瑠梨子・大竹紀子・上松和彦：当院で分娩管理を行った不妊治療後妊娠と胎盤異常に関しての検討．日周産期・新生児会誌，53: 693, 2017.
8) 板倉敦夫：癒着胎盤．日産婦誌，61：62-66, 2009.
9) Kaser DJ, Melamed A, Bormann CL, Myers DE, Missmer SA, Walsh BW, Racowsky C, Carusi DA: Cryopreserved embryo transfer is an independent risk factor for placenta accrete. Fertil Steril, 103: 1176-1184, 2015.
10) Erdem M, Najafaliyeva A, Guler I, Erdem A, Bozkurt N, Oktem M, Mutlu MF: The relationship between initial HCG levels and development of preeclampsia in pregnancies following in vitro fertilization. Fertil Steril, 104: e351, 2015.
11) Albrecht ED, Bonagura TW, Burleigh DW, Enders AC, Aberdeen GW, Pepe GJ: Suppression of extravillous trophoblast invasion of uterine spiral arteries by estrogen during early baboon pregnancy. Placenta, 27: 483–490, 2006.
12) Simon C, Dominguez F, Valbuena D, Pellicer A: The role of estrogen in uterine receptivity and blastocyst implantation. Trends Endocrinol Metab, 14: 197–199, 2003.
13) Imudia AN, Awonuga AO, Doyle JO, Kaimal AJ, Wright DL, Toth TL, Styer AK: Peak serum estradiol level during controlled ovarian hyperstimulation is associated with increased risk of small for gestational age and preeclampsia in singleton pregnancies after in vitro fertilization. Fertil Steril, 97: 1374-1379, 2012.
14) Sites CK, Wilson D, Barsky M, Bernson D, Bernstein IM, Boulet S, Zhang Y: Embryo cryopreservation and preeclampsia risk. Fertil Steril, 108: 784-790, 2017.
15) Wennerholm UB, Henningsen AK, Romundstad LB, Bergh C, Pinborg A, Skjaerven R, Forman J, Gissler M, Nygren KG, Titinen A: Perinatal outcomes of children born after frozen-thawed embryo transfer: a Nordic cohort study from the CoNARTaS group. Hum Reprod, 28: 2545–2553, 2013.

16) Li Q, Kannan A, DeMayo FJ, Lydon JP, Cooke PS, Yamagishi H, Srivastava D, Bagchi MK, Bagchi IC: The antiproliferative action of progesterone in uterine epithelium is mediated by Hand2. Science, 331: 912-916, 2011.
17) 廣田 泰・藤田 知子・大須賀 穣・藤井 知行：着床期子宮におけるプロゲステロンの作用機構. Reprod Immunol Biol, 29: 6-11, 2014.

日本IVF学会雑誌 Vol.22, No.1, 14-19, 2019

ー原著ー

男性不妊患者のライフスタイル(食・嗜好・運動・禁欲)が精液所見に及ぼす影響

松浦 大創，奥原 彩也香，小熊 惇平，加藤 泰宏，佐藤 渚，小川 奈津，野尻 由香，
黒田 加代子，野村 昌男，古井 憲司

クリニックママ　〒503-0807　岐阜県大垣市今宿 3-34-1

要 旨： 体外受精が適応される男性患者（非男性不妊群，男性不妊群）を対象に加曽利の食行動尺度を用いて「抑制的摂食因子」,「食の安全に関する知識・態度因子」,「情動的摂食因子」,「健康を考えた食品摂食因子」を分析した. また独自の質問紙と食物摂取頻度調査票(FFQ)を用いて, 食事, 喫煙, 飲酒, 年齢, 運動, BMIについて調査した. さらに2, 3日に1度の射精を行う禁欲期間の指導が, その後の精液所見改善に及ぼす効果を検討した. その結果, 食行動における「食の安全に関する知識・態度因子」では, 20代男性不妊群は20代非男性不妊群と比較して有意に高得点であった. FFQでは牛乳, 菓子パン, また年齢, 運動時間においてそれぞれ有意差が認められた（$p<0.05$）. さらに禁欲期間の指導により改善(28.0%; 14/50)が認められた.

キーワード：男性不妊, 食行動, 嗜好性, 運動, 禁欲期間

緒　言

不妊カップルの中には, 精液検査により男性不妊と診断される場合がある. 男性不妊は, WHOの基準を基に, 精子濃度15×10^6/ml未満は乏精子症, 精子運動率40%未満は精子無力症, 形態正常精子4%未満は奇形精子症, 精液が射出されない無精液症, そして精液を遠心分離した後に沈査中に精子が存在しない状態は無精子症とされ, 精液所見により分類されている[1]. 我々の先行研究では, 精液検査により精液所見が不良である男性不妊患者は, 精液所見が良好である非男性不妊患者と比較して, ストレス要因として「自責の念」が強いことを報告した[2]. 男性不妊患者を対象としたカウンセリングの蓄語録の中には,「ショックでよく覚えていない」,「今後どうすればよいのか, 混乱した」,「結果を受け入れられなかった」,「本当に自分の精液の検査結果なのか, 他の患者の結果と間違えているのでは」など, 精神的なダメージと治療の方向性を見失う喪失感, 悲観的な感情が表出していた[3].

このように男性不妊患者は, 自身が男性不妊患者であることに対しストレスを抱える傾向があるが, 自覚したストレスレベルPSS(The Perceived Stress Scale)得点が高いほど, 精子濃度や精子運動率, 正常精子形態率が低い傾向を示す報告がある[4]. つまり, ストレス自体がさらに精液所見に悪影響を及ぼすことが懸念される. そのため, 男性不妊患者がライフスタイルの中で精液所見を改善する自助努力を行い精液所見が改善できれば, 男性不妊であることに対する「自責の念」などのストレス要因の軽減につながることが期待できる. ライフスタイルの中には, 食生活, 嗜好性(喫煙, 飲酒), 運動が含まれる. 男性不妊患者に対し適切な情報を与えることにより, ライフスタイルにおける自助努力の支援を推進することが必要である. 食生活では, β－カロテン, ルテインの適切な摂取が精子運動率向上に有効であり, リコピンの適切な摂取が精子正常形態率の向上に有効とされ, さらにビタミンCの適切な摂取が精子濃度の向上に有効である可能性があること[5], また嗜好性(喫煙, 飲酒)では, タバコ(喫煙)は精液所見(全検査項目)に悪影響を及ぼし, 加齢とアルコールは精液量を減少させ, ストレスは精液濃度, 運動率, 奇形率の危険因子になる可能性があることが報告されている[6]. 喫煙者は, 非喫煙者と比較して射出精液量が低下すること[7], 運動が精子濃度, 精子運動率を向上させることが報告されている[8]. このように, 食, 嗜好(喫煙・飲酒), 運動が男性不妊と関連することが報告されている. さらに, 禁欲期間の管理が挙げられる. 禁欲期間(無射精期間)が妊娠率に及ぼす影響について, 無射精期間2日以下では妊娠率は11.3%, 3～5日以下では6.1%, 6日以上では7.3%と報告されている[9]. つまり, 禁欲期間が長い場合, 妊娠率の低下につながることが報告されている.

受付　2018年12月22日/受理　2019年2月28日

責任著者：松浦 大創　e-mail［daizouclimama@chorus.ocn.ne.jp］

そこで本研究では, 男性不妊患者が自身の症状を自覚し, 日常生活で自身の健康管理を意識し自助努力を遂行する意欲があるか否かを検討する必要がある. 男性不妊患者における食生活, 嗜好性(喫煙・飲酒), 運動実施の現状を把握し, さらに禁欲期間の管理指導が精液所見改善に及ぼす影響について, 男性不妊改善策の自助努力の在り方を検討した.

対象および方法

2012年4月から2016年3月まで, 体外受精が適応される前の男性患者 (n=193, 年齢：35.8±5.3) を対象に, 加曽利の食行動尺度[10]を用いて「抑制的摂食因子 (42点満点)」, 「食の安全に関する知識・態度因子 (49点満点)」, 「情動的摂食因子 (28点満点)」, 「健康を考えた食品摂食因子(42点満点)」を比較検討した(検討1). なお, 加曽利の食行動尺度は質問項目23項目から構成されており, 質問項目1 ～ 6「抑制的摂食因子 (42点満点)」とは肥満に気を付けた食生活, 質問項目7 ～ 13「食の安全に関する知識・態度因子 (49点満点)」とは発がん物質および食品添加物などに注意した食生活, 質問項目14 ～ 17「情動的摂食因子(28点満点)」とはやけ食いなどによるストレス発散, 質問項目18 ～ 23「健康を考えた食品摂食因子 (42点満点)」とは栄養バランスに配慮した食生活である.

また, 2016年10月から2018年11月まで, 体外受精が適応される前の男性患者(n=68, 年齢:36.4±6.2)を対象に, 嗜好性(喫煙・飲酒), 運動(1週間当たりの運動時間), 肥満指数 [BMI＝体重kg÷(身長m×身長m)], 食物摂取頻度調査票(FFQ)[11]を用いて24食品目(牛乳, キャベツ, 豆腐, 小松菜, インスタントラーメン, 油揚げ, 食パン, 卵, 魚肉ソーセージ, チーズ, ごはん, ごま, ヨーグルト, わかめ, コーヒー, ジャガイモ, リンゴ, 小魚, ちくわ, うどん, 菓子パン, 納豆, 焼き豆腐, ケーキ類)の摂取頻度を調査し, 非男性不妊群(n=38) と男性不妊群 (n=28) について比較検討した (検討2). なお, FFQの質問項目[11]は, 「食品リストの食品をどのくらいの頻度で食べましたか」の質問に対し, 1: まったくない, 2: 月1回以下, 3: 月3回以下, 4: 週2回以下, 5: 週4回以下, 6: 週6回程度, 7: 1日1回程度, 8:1日3回程度, 9: 1日6回程度から回答するものである.

さらに, 2017年1月から2017年11月までの期間に, 1回目の精液検査による精液所見が不良であった男性不妊群(n=50, 年齢：35.6±6.1)を対象に, 禁欲期間を2, 3日として射精を推奨する禁欲期間の管理指導を施し, その後の精液所見改善に及ぼす影響について検討した(検討3). なお, WHOの基準を基に, 精液量1.5ml以上, 精子濃度15×10^6/ml未満, 精子運動率40%以上, これらすべて満たしていない患者を男性不妊群とした. また, 精液検査は, Sperm Motility Analysis system (SMAS: ディテクト社製)を用いた.

本研究は倫理的な配慮として, 患者に全ての治療, 調査において同意書 (「回答内容を学会などに報告することがある」趣旨を記載)を配布し, 予め口頭および書面により伝達し, 同意の有無を確認した. 統計処理は一次元ANOVA解析を行い, 結果をJMP IN software program (SAS Institute Inc.,Cary, NC) を用いて統計分析した. 平均値の有意差検定にはカイ2乗検定, あるいはt検定を用い, P＜0.05を有意とした.

結　果

検討1では, 加曽利の食行動尺度(2008)[10]の「食の安全に関する知識・態度因子 (49点満点)」の得点において, 29歳以下では, 男性不妊群(21.6±7.3)は非男性不妊群(13.3±7.7)と比較して, 有意に高得点であった(**表1**).

検討2では, 非男性不妊群 (n=38) と男性不妊群(n=28)における食物摂取頻度調査票 (FFQ)[11]24食品目に基づく摂取量のうち, 牛乳 (非男性不妊群：2.9±1.9, 男性不妊群：4.0±2.2), 菓子パン(非男性不妊群：1.5±0.7, 男性不妊群：1.9±1.0)において, 非男性不

表1　加曽利の食行動尺度[10]による非男性不妊群と男性不妊群との比較 (n=193)

年代	29歳以下		30歳—34歳		35歳－39歳		40歳以上	
食行動因子	非男性不妊 (n=11)	男性不妊 (n=9)	非男性不妊 (n=32)	男性不妊 (n=23)	非男性不妊 (n=47)	男性不妊 (n=28)	非男性不妊 (n=27)	男性不妊 (n=16)
抑制的摂食因子	14.5 ± 9.1[a]	14.6 ± 6.9[a]	19.5 ± 7.3[a]	19.7 ± 9.1[a]	21.0 ± 7.1[a]	18.4 ± 7.7[a]	20.6 ± 8.0[a]	20.8 ± 7.3[a]
食の安全に関する知識・態度因子	13.3 ± 7.3[a]	21.6 ± 7.7[b]	25.9 ± 7.5[b]	24.7 ± 9.7[b]	24.4 ± 8.2[b]	27.6 ± 8.3[b]	29.0 ± 7.2[b]	25.7 ± 9.1[b]
情動的摂食因子	8.7 ± 8.1[a]	12.3 ± 8.1[a]	10.3 ± 5.6[a]	13.0 ± 7.2[a]	11.5 ± 7.2[a]	10.1 ± 6.1[a]	11.5 ± 7.2[a]	10.1 ± 6.1[a]
健康を考えた食品摂食因子	17.8 ± 10.3[a]	19.6 ± 7.7[a]	23.5 ± 7.1[a]	23.1 ± 8.3[a]	25.6 ± 9.3[a]	22.7 ± 78.2[a]	25.6 ± 9.3[a]	22.7 ± 8.2[a]

表 2-1　非男性不妊患者と男性不妊患者の食物摂取頻度調査票 (FFQ) [11] 24 食品目に基づく摂取量の比較

摂取食品	非男性不妊 (n=38, 年齢：35.0 ± 6.0)	男性不妊 (n=28, 年齢：38.3 ± 5.9)
牛乳	2.9 ± 1.9[a]	4.0 ± 2.2[b]
キャベツ	3.9 ± 1.0[a]	4.4 ± 1.5[a]
豆腐	3.7 ± 1.2[a]	3.9 ± 1.2[a]
小松菜	2.5 ± 1.2[a]	2.9 ± 1.3[a]
インスタントラーメン	2.7 ± 1.1[a]	2.5 ± 1.2[a]
油揚げ	2.8 ± 1.0[a]	2.9 ± 1.1[a]
食パン	3.1 ± 1.4[a]	3.9 ± 2.0[a]
卵	5.2 ± 1.2[a]	5.6 ± 1.6[a]
魚肉ソーセージ	2.0 ± 1.0[a]	2.0 ± 1.2[a]
チーズ	3.1 ± 1.1[a]	3.3 ± 1.3[a]
ごはん	6.9 ± 1.2[a]	7.3 ± 0.7[a]
ごま	3.3 ± 1.4[a]	3.5 ± 1.0[a]
ヨーグルト	3.0 ± 1.9[a]	3.6 ± 2.0[a]
わかめ	3.2 ± 1.3[a]	3.2 ± 1.0[a]
コーヒー	2.4 ± 1.6[a]	3.4 ± 2.4[a]
ジャガイモ	3.4 ± 1.0[a]	3.7 ± 1.0[a]
リンゴ	2.1 ± 0.9[a]	2.5 ± 1.4[a]
小魚	2.3 ± 1.2[a]	2.8 ± 1.3[a]
ちくわ	2.6 ± 0.7[a]	2.8 ± 1.1[a]
うどん	3.1 ± 0.8[a]	2.9 ± 0.5[a]
菓子パン	1.5 ± 0.7[a]	1.9 ± 1.0[b]
納豆	3.6 ± 1.7[a]	3.4 ± 1.9[a]
焼き豆腐	1.6 ± 0.9[a]	1.9 ± 1.1[a]
ケーキ類	1.5 ± 0.7[a]	1.7 ± 0.9[a]

a-b 異文字間に有意差あり (p<0.05)

表 2-2　非男性不妊患者と男性不妊患者の嗜好・運動・BMI に基づく摂取量の比較

	非男性不妊	男性不妊
年齢	35.0 ± 6.0[a]	38.3 ± 5.9[b]
喫煙率 (%)	29.7%[a] (7/37)	30.0%[a] (9/30)
飲酒率 (%)	35.1%[a] (13/37)	36.7%[a] (11/30)
運動時間 (時間 h /1 週間)	2.6 ± 3.5[a]	0.8 ± 1.6[b]
BMI	22.7 ± 5.1[a]	25.3 ± 5.5[a]

a-b 異文字間に有意差 (p<0.05) あり

妊群と男性不妊群に有意差が認められた (P<0.05). また, 年齢 (非男性不妊群：35.0±6.0, 男性不妊群：38.3±5.9)では有意差が認められた(P<0.05)(表2-1). さらに, 嗜好性・運動・BMIの比較においては, 運動実施率は32.4% (22/68) であり, 非男性不妊群40.0% (14/35) は男性不妊群24.2% (8/33) と比較して有意差は認められなかった. しかし, 運動時間 (非男性不妊群：2.6±3.5, 男性不妊群：0.8±1.6) では有意差が認められた(P<0.05). 運動の内容は, ランニング, 筋トレ, テニス, ゴルフ, サッカー, バスケットボール, 空手, ウォーキングなどであった. 一方, BMI (非男性不妊群：22.7±5.0, 男性不妊群：25.3±5.5) では有意差は認められなかった. 喫煙率 [非男性不妊群:29.7% (11/37), 男性不妊群：30.0% (9/30)], 飲酒率 [非男性不妊群：35.1% (13/37), 男性不妊群：36.7% (11/30)] では有意差は認められなかった(表2-2).

表３　禁欲期間指導が男性不妊患者の精液所見に及ぼす影響

	年齢	禁欲指導後の再検査までの期間（日）
非改善群（n=36）	36.3 ± 6.4	30.6 ± 25.8
改善群　（n=14）	34.3 ± 5.3	44.9 ± 49.8

各群間に有意差なし

検討３では，禁欲期間指導（禁欲2，３日に１回射精する指導）により，28.0%（14/50）の男性不妊患者の精液所見が正常精液所見（精液量：1.5 ml以上，精子濃度：15×10^6/ml，精子運率：40%以上）の改善が認められた．２回目の精液検査で正常精液所見に改善された14名のうち，１回目の精液検査で精液量が不良であった患者は２名，精子濃度が不良であった患者は５名，精子運動率が不良であった患者は９名であった．精子運運動率は最大で72.9%（患者Iの精子運動率：16.3%から89.2%）の改善が認められた．なお，改善された14名（改善群）の１回目精液検査から禁欲期間管理指導後，２回目の精液検査（再検査）までの期間は44.9±49.8日，年齢は34.3±5.3歳であった．一方，改善されなかった36名（非改善群）の１回目精液検査から禁欲期間の管理指導後，２回目の精液検査（再検査）までの期間は30.6±25.8日，年齢は36.3±6.4歳であった．両群間に有意差は認められなかった（**表3**）．

考　察

検討１では，食に関する意識調査として食行動について検討したが，20代男性不妊群は，20代非男性不妊群と比較して，「食の安全に関する知識・態度因子」が，有意に高く，両群間に相違が認められた．自身が男性不妊であることを自覚し，食の安全に関心を持ち，食生活に心掛ける自助努力の１つとして捉えることが確認された．他の年代（30歳以上34歳以下，35歳以上39歳以下，40歳以上）では，非男性不妊群と男性不妊群との間に相違は認められなかったが，男性不妊に関わらず，加齢に伴い，日常の健康管理として，食行動に配慮した食生活を送る傾向があると考えられた．

検討２では，嗜好性（喫煙，飲酒）において非男性不妊群と男性不妊群に有意差は認められず，これらの嗜好性が精液所見に著しい影響を及ぼしている可能性は認められなかった．しかし，有意差はないものの，喫煙率，飲酒率は男性不妊群では非男性不妊群と比較して，ともに高い傾向が認められた．また，喫煙，飲酒が精子に悪影響を及ぼすことを示す他の研究報告[6]を考えあわせ，さらなるデータ集積が必要である．男性不妊患者に対し喫煙，飲酒を推奨することを差し控えることが賢明であると考えられた．

FFQの検討では，男性不妊群は非男性不妊群よりも牛乳摂取量が有意に多いことが明らかとなった．乳製品の過剰摂取が精子所見に悪影響を及ぼす先行研究が散在する．チーズを良く食べる男性ほど精子濃度，精子運動率が低い傾向が見られ，また，低脂肪乳製品（低脂肪牛乳，ヨーグルト，カッテージチーズ）を良く食べる男性ほど，精子濃度や精子運動率が高いことが報告されている[12]．乳製品摂取により，妊娠した乳牛中のエストロゲンを過剰に摂取する可能性がある．過剰のエストロゲン（エストロン：E_1，エストラジオール：E_2，エストリオール：E_3）は生理過程の中で，男性生殖器官の発達を阻害すると同時に，セルトリ細胞の増殖を抑制することによって精子形成を阻害すること，雄ラットの腹腔内に10ngのエストラジオールを与えると，性腺刺激分泌ホルモンに影響を与えることなく，精子が形成されなくなることが報告されている[13]．その一方で，エストラジオールの経口投与の場合は吸収率が低いため，経口的に雄ラットにエストラジオールを与えた場合，不妊ラットにするためには，多量のエストラジオールの経口投与が必要であるとされている[14]．これらの報告から，牛乳を毎日多量に飲み続けると，許容範囲を超える可能性もあり，牛乳の過剰摂取を控えることが望ましいと考えられた．また，食品24品目のうち菓子パンの摂取量が男性不妊群では，非男性不妊群と比較して多いことが明らかとなった．菓子パンにはトランス脂肪酸が含まれている．トランス脂肪酸を過剰に摂取すると，オメガ３系脂肪酸がDHAなどに変換するのに必要な酵素の働きを阻害し，精子をつくる働きを低下させる．また，飽和脂肪酸の摂取量が多いほど精子の数が減少し，不飽和脂肪酸であるオメガ３多価不飽和脂肪酸の摂取量が多いほど，精子奇形率が減少する報告もある[15]．そして，オメガ３多価不飽和脂肪酸の摂取は，精子無力症のリスク低下につながる[16]．これらと本研究との因果関係は明確ではないが，菓子パンの過剰摂取に注意することも必要である．ソーセージ（加工肉）の摂取量については，非男性不妊群と男性不妊群との間に有意差は

認められなかった. しかし, 男性における鶏肉の摂取は受精率と正の相関を示すが, 加工肉の摂取は受精率と負の相関を示した報告[17]もあるため, ソーセージなどの加工肉の過剰な摂取は控えることが賢明である. 男性不妊患者に対し, 医師, 看護師, 栄養士などが食生活の見直しを指導していくことが求められる.

食生活以外の他の要因 (年齢、BMI、運動) について検討したところ, 年齢においては、男性不妊群(38.3±5.9)は非男性不妊群 (35.0±6.0) よりも有意に年齢が高く, 加齢が男性不妊の要因であることが明らかとなった. BMIについては, 男性不妊群は非男性不妊群と比較して, BMIが高値 (肥満傾向) であったが, 有意差は認められなかった. Bandel Iら[18] による 精液所見がBMIによって影響を受けなかった報告と類似していた. その一方でBMIが25.0から29.9(肥満度1)では, 精子の直進運動率に有意な負の相関が認められ, BMIが30.0以上(肥満度2)では, 精液量, 精子濃度, 運動精子数と有意な負の相関を認めた報告[19]もある. そのため, さらに精液所見とBMIについてはデータの蓄積に努めることが賢明である. 今回の我々の運動時間の検討では, 非男性不妊群 (2.6±3.5) は男性不妊群 (0.8±1.6) よりも運動時間が有意に長いことが明らかとなった. 一方, 運動は運動強度に応じ3段階 (metabolic equivalents=METs<3.3 ～ 6.6<) に分類し, 1週間の運動を評価し, 精液所見を検討した場合, いかなるパラメータ(総精子数, 濃度, 運動率, 奇形率)とも関連を認めない報告もある[20]. 今後も, 運動と精液所見との関連性についてデータを集積していく必要がある.

検討3では, 禁欲期間の管理指導 (2, 3日に1回の射精を推奨する) について検討した. 我々の先行研究では, 3日に1回の夫婦生活を満たしている割合は, 12.5% (13/104)であった[21]. つまり, 通院以前では, 禁欲期間4日以上と禁欲期間が長いカップルが多いことを報告した. 本研究では禁欲期間の管理指導により, 精液所見が不良であるため1度は男性不妊と診断された患者の中には, 2回目の再検査では, 28.0% (14/50) が精液所見の改善が認められたことから, 禁欲期間の管理指導は, 男性不妊患者に対する自助努力としての改善策になると考えられた. また, 1回目の精液検査が不良の場合, 2回目の精液検査(再検査)を行う場合, このような禁欲期間の管理指導を男性不妊患者に行った後に, 再検査を実施することが検査の段階で精液所見が改善される可能性も考えられる.

今回の検討と他の先行研究を比較すると, 喫煙, 飲酒, 食生活, BMI (肥満), 運動が精液所見に及ぼす影響については, 必ずしも一致した結論に至っておらず, 今後も検討を重ねる必要がある. しかし本研究では, 男性不妊患者は非男性不妊患者と比較して, 食生活において牛乳, 菓子パンを過剰に摂取する傾向が認められ, 精子に悪影響を及ぼす可能性が懸念された. 一方, 運動, 禁欲期間の管理指導は精液所見の改善策になる可能性が示唆された. カウンセリングの中で, 男性不妊患者から「精液所見を良くするために何かできることはないか」と質問を受けることがある. このような男性不妊患者に対し, 食生活の改善と適度な運動の推進, そして禁欲期間の管理を施すライフスタイルの見直しを指導し, 患者自身が自助努力としてこれらの指導に従い実践することが, 男性不妊の改善, 予防に繋がる自助努力のあり方である.

参 考 文 献

1) WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen: 2010.
2) 松浦大創・黒田加代子・西田明美・川地美穂・井上万規子・林奈津・小早菜月・野尻由香・藤田智久・野村昌男・北川武司・古井憲司：男性不妊患者において妻の就労がワーク・ファミリー・コンフリクト（WFC）に及ぼす影響. 日不妊カウンセリング会誌, 11 (2) : 151-156, 2012.
3) 松浦大創・奥原彩也香・小熊惇平・加藤泰宏・佐藤渚・小川奈津・野尻由香・黒田加代子・野村昌男・古井憲司：無精子症患者の悲観的自己感情の把握と治療転帰～無精子症患者へのカウンセリングの在り方～. 日IVF学会誌, 21 (2) : 9-13, 2018.
4) Janevic T, Kahn LG, Landsbergis P, Cirillo PM, Cohn BA, LiuX, Factor-Litvak P.: Effects of work and life stress on semen quality. Fertil Steril, 102 (2) : 530-538, 2014.
5) Zareba P, Colaci DS, Afeiche M, Gaskins AJ, Jorgensen N, Mendiola J, Swan SH, Chavarro JE.: Semen quality in relation to antioxidant intake in a healthy male population. Fertil Steril, 100 (6) : 1572-1579, 2013.
6) Ying L, Hui L, Yafei Li, Jia C. Association between sociopsycho-behavioral factors and male semen quality; systematic review and meta-analysises. Fertil Stelril, 95 (1) : 116-123, 2011.
7) Lotti F, Corona G, Vitale P, maseroli E, Rossi M, Fino MG, Maggi M.: Current smoking is associated with lower seminal vescicles and ejaculate volume, despite higher testosterone levels, in male subjects of infertile couples. Hum Reprod, 30 (2) : 590-602, 2015.
8) Jozkow P, Rossato M.: The impact of intense exercise on semen quality. Am J Mens Health, 11 (3) : 654-662, 2017.
9) Marshbum PB, Alanis M, Matthews ML, Usadi R, Papadakis MH, Kullstam S, Hurst BS.: A short period of ejaculatory abstinence before intrauterine insemination is associated with higher pregnancy rates. Fertil Steril, 93 (1) : 286-288, 2010.
10) 加曽利岳美：大学生の食行動が学習意欲に及ぼす影響. 心理臨床学研究, 25 (6) : 629-702, 2008.
11) 金田雅代・郡俊之・酒井徹・山本茂：栄養科学シリーズNEXT 公衆栄養学実習, ワークシート 9-1 食物摂取頻度調査票 (FFQ), 講談社サイエンティフィク, 2011.

12) Afeiche MC, Bridges ND, Williams PL, Gaskins AJ, Tanrikut C, Petrozza JC, Hauser R, Chavarro JE.: Dairy intake and semen quality among attending a fertility clinic. Fertil Steril, 101 (5) : 1280-1287, 2014.
13) Seegers JC, van Aswegen CH, Nieuwoudt BL, Joubert WS.: Morphological effects of the catecholestrogens on cells of the seminiferous tubules of spragu-dawley rats. Andrologia, 23 (5) : 339-345, 1991.
14) Biegel LB, Flaws JA, Hirshfield AN, O' Connor JC, Elliott GS, Ladics GS, Silbergeld EK, Van Pelt CS, Hurrt ME, Cook JC, Frame SR.: 90-day feeding and one-generation reproduction study in Crl: CD BR rats with 17 beta-estradiol. Toxicol Sci, 44 (2) : 116-142, 1998.
15) Attaman JA, Toth TL, Futado J, Campos H, Hauser R, Chavarro JE.: Dietary fat and semen quality among men attending a fertility clinic. Hum reprod, 27 (5) : 1466-1474, 2012.
16) Eslamian G, Amirjannati N, Rashidkhani B, Sadeghi MR, Baghestani AR, Hekmatdoost A.: Dietary fatty acid intakes and asthenozoospermia: a case-control study. Fertil Steril, 103 (1) : 190-198, 2015.
17) Xia W, Chiu YH, Williams PL, Gaskins AJ, Toth TL, Tanrikut C, Hauser R, Chavarro JE.: Men's meat intake and treatment outcomes among couples undergoing assisted reproduction. Fertil Steril, 104 (4) : 972-979, 2015.
18) Bandel I, Bungum M, Richtoff J, Malm J, Axelsson J, Pedersen HS, Ludwicki JK, Czaja K, Hemik A, Toft G, Bonde JP, Spano M, Malm G, Haugen TB, Giwercman A.: No association between body mass indew and sperm DNA integrity. Hum reprod, 30 (7) : 1704-1713, 2015.
19) Hammiche F, Laven JS, Twigh JM, Boellaard WP, Steegers EA, Steegers-Theunissen RP.: Body mass index and central adiposity are associated with sperm quality in men of subfertile couples. Hum reprod, 27 (8) : 2365-2372, 2012.
20) Minguez-Alarcon L, Chavarro JE, Mendiola J, Gaskins AJ, torres-Cantero AM.: Physical activity is not related to semen quality in young health men. Fertil Steril, 102 (4) : 1103-1109, 2014.
21) 松浦大創・黒田加代子・野尻由香・坪井文菜・野村昌男・古井憲司：セックスレス患者の夫婦関係満足度と不妊治療後の転帰～セックスレスカウンセリングの在り方と展望～．日不妊カウンセリング会誌，16 (2) : 147-150, 2017.

日本IVF学会雑誌 Vol.22, No.1, 20-25, 2019

ー原著ー

近隣泌尿器科との連携による TESE-ICSIの成績と有用性の評価

藤井 雄太[1,2]，小林 眞一郎[1]，元石 睦郎[1]，山口 耕平[3]，石川 智基[3]，柴原 浩章[2]

[1] Kobaレディースクリニック　〒670-0935　兵庫県姫路市表情口2-18宮本ビル1F
[2] 兵庫医科大学 産科婦人科学講座　〒663-8501　兵庫県西宮市武庫川町1-1
[3] 石川病院 泌尿器科　〒671-0221　兵庫県姫路市別所町別所2-150

要 旨： 本研究は近隣泌尿器科との連携によるTESE-ICSIの有用性の評価を目的とした. 無精子症の男性79人を対象とした. 受精率は，NOA群58.2%，OA群82.2%，その他群78.0%であり，NOA群が低い傾向にあった. 累積生児獲得率も，NOA群 40.0%，OA群 81.8%，その他群 70%と，NOA群が低い傾向にあった. また，TESE-ICSIの各群と比較し，TESEで得た精子の凍結融解処置, 精巣組織の搬送の影響を評価する対照群として，新鮮射出精子を用いたICSI症例（fresh-ICSI群）を選択した．MⅡ卵子あたりの受精率は，fresh-ICSI群で83.1%であった．TESE-ICSI各群と比較して，NOA群の受精率のみが有意に低かった. 臨床的妊娠率，分娩率においては有意差を認めなかった．TESE-ICSIを施行できた42組のカップルのうち30組（71.4%）が生児を獲得していた.

キーワード： TESE-ICSI, 閉塞性無精子症, 非閉塞性無精子症, 凍結融解精子, 新鮮射出精子

緒　言

男性不妊症の専門外来を受診する患者の約20%は無精子症であり，現在では無精子症患者に対してのTESE-ICSI（testicular sperm extraction-intracytoplasmic sperm injection）は標準的な治療となっている. 日本のART（assisted reproductive technology）件数は世界有数であり，ICSIを行うことができる施設は年々増加傾向にあるが，TESEを実施できる施設はそう多くない. そのため，大半の施設では自施設内だけではTESE-ICSIを完遂できず，近隣泌尿器科と連携してTESE-ICSIを行っているのが実情と考えられる.

当クリニックでも，近隣泌尿器科と連携してTESE-ICSIに取り組んできた. その成績を後方視的に検討することで, 近隣泌尿器科との連携によるTESE-ICSIを再評価し，TESEで得た精子の凍結融解処置や精巣組織の搬送の影響を明らかにすることを目的とした.

対　象

2003年12月～2017年12月の15年間に, 当クリニックで無精子症と診断した男性のうち，インフォームドコンセントの得られた79人を対象とした.

方　法

無精子症患者を連携泌尿器科に診察依頼し，TESE当日は当クリニックの胚培養士を連携泌尿器科に派遣した. なお，確定診断のついた閉塞性無精子症（OA: obstructive azoospermia）患者にはconventional TESEを，それ以外の症例には，精液所見も加味し，micro TESEかconventional TESEかを個別に判断した. 当院の胚培養士が手術室で精子の有無を確認した. 精巣組織を培養液（Quinn's sperm washing medium）に浸して，当クリニックに持ち帰り，精細管を裁断して混濁液を作成し，検出できる運動精子数によって1本～数本のセラムチューブに分けて，液体窒素で蒸気冷却した後に凍結保存した. 後日, 採卵を施行し, 凍結精子を融解しICSIを施行した.

TESEの適応を非閉塞性無精子症（NOA: non-obstructive azoospermia）群，OA群，その他群の3群に分けて, 精子回収率，ICSIによる受精率, 新鮮胚移植と凍結融解胚移植それぞれの臨床的妊娠件数・分娩件数, 生児獲得率を比較した.

また，TESEで得た精子の凍結融解処置, 精巣組織の搬送の影響を評価する対照群として，2016年1月～12月の1年間に当クリニックで施行した新鮮射出精子を用いたICSI症例（fresh-ICSI群：fresh ejaculatory

受付　2019年1月25日/受理　2019年2月9日
責任著者：藤井 雄太　e-mail［deepspiritoverthetop@yahoo.co.jp］

sperm - ICSI）を選択し，受精率，臨床的妊娠率，分娩率を比較した. 統計学的検討には，Mann-Whitney U 検定，χ^2検定を用い，p値<0.05 を有意差ありとした.

結　果

1）TESE適応原因の内訳と精子回収率（**表1, 表2**）

無精子症79例に対してTESEを施行した．TESE適応原因の内訳は，NOA群44例，OA群23例, その他群12例であった．TESEを複数回施行した症例もあったため，延べ症例数はNOA群45例，OA群23例，その他群14例であった. 各々の精子回収率は，NOA群26.7%（12/45），OA群100%（23/23），その他群71.4%（10/14）であり，NOA群はOA群，その他群と比較して有意に低かった.

2）ICSI時の妻年齢と採卵, 受精結果（**表3**）

TESEの結果を受けて，採卵を施行した患者数は，NOA群10人，OA群22人, その他群10人であり, 採卵件数は, NOA群20件, OA群53件, その他群21件であった. 平均年齢は，NOA群35.7±5.2歳，OA群31.8±4.0歳, その他群37.2±4.8歳で，OA群が有意に低かった. 1回採卵あたりの平均採卵数は，NOA群7.75個，OA群7.75個，その他群5.38個であり，各群に有意差は認めなかった. また1回採卵あたりの平均MⅡ卵子数も，NOA群6.50個, OA群6.15個, その他群4.71個であり，各群に有意差は認めなかった.

受精率は，NOA群58.2%（71/122），OA群82.2%（249/302），その他群78.0%（71/91）であり，年齢に有意差があるもののNOA群が有意に低かった.

3）妊娠・分娩結果（**表4**）

新鮮胚移植周期において，臨床的妊娠率は，NOA群23.5%（4/17），OA群31.1%（14/45），その他群29.4%（5/17）であった. 生産率は，NOA群17.6%（3/17），OA群26.7%（12/45），その他群29.4%（5/17）であった.

凍結融解胚移植周期において，臨床的妊娠率は，NOA群37.5%（3/8），OA群47.1%（16/34），その他群50.0%（5/10）であった. 生産率も，NOA群37.5%

表1　TESE 適応原因の内訳

	原　因	症例数	精子確認数
NOA 44 例	原因不明	35	7
	Klinefelter 症候群	8	4
	AZFc 欠損	1	0
OA 23 例	詳細不明	15	15
	先天性精管欠損症	6	6
	精管結紮術後	2	2
その他 12 例	乏精子症	4	4
	精索静脈瘤	2	2
	逆行性射精	2	2
	精子死滅症	1	1
	射精障害	1	1
	抗がん剤治療後	1	0
	脊髄損傷	1	0

表2　精子回収率

	NOA	OA	その他	p 値
TESE 施行人数	44	23	12	
TESE 施行件数	45	23	14	
精子確認件数	12	23	10	
精子回収率	26.7%[a)]	100%[b)]	71.4%[c)]	a.c-b<0.05 a-c<0.05

表3　ICSI 時の妻年齢と採卵、受精結果

	NOA	OA	その他	p 値
女性年齢	35.7 ± 1.2[d)]	31.8 ± 0.6[e)]	37.2 ± 1.0[f)]	d.f-e<0.05
採卵個数／回	7.75	7.75	5.38	ns
MⅡ卵数／回	6.50	6.15	4.71	ns
受精率	58.2%[g)] (71/122)	82.2%[h)] (249/302)	78.0%[i)] (71/91)	g-h.i<0.05

表4　妊娠・分娩結果

	NOA	OA	その他
新鮮胚移植件数	17	45	17
⇒臨床的妊娠件数	4	14	5
⇒分娩件数	3	12	5
凍結胚移植件数	8	34	10
⇒臨床的妊娠件数	3	16	5
⇒分娩件数	3	12	5
TESE 施行男性数	44	23	12
OPU-ICSI 患者数	10	22	10
生児獲得女性数	4	18	7
生児獲得率／患者	40%	81.8%	70%

表 5　TESE-ICSI 全体と fresh-ICSI（38 歳以下）の比較

	TESE-ICSI	fresh-ICSI	p 値
女性年齢	33.9 ± 5.0	34.5 ± 3.1	ns
採卵周期数	94	133	
平均採卵個数／回	7.22	6.21	ns
平均 MⅡ卵数／回	5.90	5.48	ns
受精率	75.9%（391/515）	83.1%（549/661）	<0.05
臨床的妊娠率	38.5%（47/122）	43.2%（79/183）	ns
分娩率	38.5%（47/122）	35.6%（65/183）	ns

表 6　NOA-ICSI 全体と fresh-ICSI（38 歳以下）の比較

	NOA-ICSI	fresh-ICSI	p 値
女性年齢	35.7 ± 5.0	34.5 ± 3.1	ns
採卵周期数	20	133	
平均採卵個数／回	7.74	6.21	ns
平均 MⅡ卵数／回	6.50	5.48	ns
受精率	58.2%（71/122）	83.1%（549/661）	<0.05
臨床的妊娠率	28.0%（7/25）	43.2%（79/183）	ns
分娩率	24.0%（6/25）	35.6%（65/183）	ns

(3/8)，OA群35.2%（12/34），その他群50.0%(5/10)であった.

一連のTESEで得た凍結融解精巣精子を用いたICSI（以下，TESE-ICSIと表記）を受けた女性の累計生児獲得率は，NOA群40%（4/10），OA群81.8%（18/22），その他群70%(7/10)であり，NOA群はOA群，その他群に比して低い傾向にあった.

NOA群は生児獲得率も低い可能性が示唆された.

4)TESE-ICSI，NOA-ICSI，OA-ICSI，その他-ICSIと，マスタベーション法で得た新鮮射出精子を用いたICSI（以下，fresh-ICSIと表記）との比較

採卵時の妻年齢は，TESE-ICSI群33.9±5.0歳，NOA-ICSI群35.7±5.0歳，OA-ICSI群31.8±4.0歳，その他-ICSI群37.2±4.8歳であった．fresh-ICSI群と比較するにあたり各群の年齢が離れており，fresh-ICSI群が1つの年齢設定では全群を比較対象にできる年齢条件を整えることができなかった. そのため，それぞれの比較年齢設定を，TESE-ICSI群38歳以下，NOA-ICSI群38歳以下，OA-ICSI群35歳以下，その他-ICSI群31～38歳とすることで，各群において妻年齢の有意差をなくした上で，比較することとした.

5)TESE- ICSIとfresh-ICSI（38歳以下）の比較（**表5**）

採卵周期数は，TESE-ICSI群94周期，fresh-ICSI群133周期であった．TESE-ICSI，fresh-ICSIの順に，妻年齢は，33.9±5.0歳，34.5±3.1歳. 平均採卵個数／回は，7.22個, 6.21個. 平均MⅡ卵数／回は，5.90個, 5.48個. 受精率は，75.9%（391/515），83.1%（549/661）. 臨床的妊娠率は，38.5%（47/122），43.2%（79/183）. 分娩率は，32.8%(40/122)，35.6%(65/183)であった. 受精率において，TESE-ICSI群が有意に低かった（$p<0.05$）. その他は有意差を認めなかった.

6)TESE- ICSIとfresh-ICSI（38歳以下）の比較（**表6**）

採卵周期数は，NOA-ICSI群20周期，fresh-ICSI群133周期であった．NOA-ICSI，fresh-ICSIの順に，妻年齢は，35.7±5.0歳，34.5±3.1歳. 平均採卵個数／回は，7.75個，6.21個. 平均MⅡ卵数／回は，6.50個，5.48個. 受精率は，58.2%（71/122），83.1%（549/661）. 臨床的妊娠率は，28.0%（7/25），43.2%（79/183）. 分娩率は，24.0%（6/25），35.6%（65/183）であった. 受精率において，NOA-ICSI群が有意に低かった（$p<0.05$）. その他は有意差を認めなかった.

表 7　OA-ICSI 全体と fresh-ICSI（35 歳以下）の比較

	OA-ICSI	fresh-ICSI	p 値
女性年齢	31.8 ± 4.0	32.5 ± 2.5	ns
採卵周期数	53	75	
平均採卵個数／回	7.75	6.77	ns
平均 MⅡ卵数／回	6.15	5.81	ns
受精率	82.2%（249/302）	85.4%（339/397）	ns
臨床的妊娠率	42.9%（30/70）	41.1%（46/122）	ns
分娩率	34.2%（24/70）	24.1%（27/112）	ns

表 8　その他 -ICSI 全体と fresh-ICSI（31 ～ 38 歳）の比較

	その他-ICSI	fresh-ICSI	p 値
女性年齢	37.2 ± 4.8	35.3 ± 2.0	ns
採卵周期数	21	115	
平均採卵個数／回	5.38	6.06	ns
平均 MⅡ卵数／回	4.71	5.38	ns
受精率	78.0%（71/91）	81.7%（456/558）	ns
臨床的妊娠率	37.3%（10/27）	38.2%（58/152）	ns
分娩率	37.3%（10/27）	3.0%（35/152）	ns

7）OA- ICSI と fresh-ICSI（35歳以下）の比較（表7）

採卵周期数は，OA-ICSI群53周期，fresh-ICSI群75周期であった．OA-ICSI，fresh-ICSIの順に，妻年齢は，31.8±4.0歳，32.5±2.5歳．平均採卵個数／回は，7.75個，6.77個．平均MⅡ卵数／回は，6.15個，5.81個．受精率は，82.2%（249/302），85.4%（339/397）．臨床的妊娠率は，42.9%（30/70），41.1%（46/112）．分娩率は，34.2%（24/70），24.1%（27/112）であった．全てにおいて有意差を認めなかった．

8）その他 - ICSI と fresh-ICSI（31～38歳以下）の比較（表8）

採卵周期数は，その他 -ICSI 群21周期，fresh-ICSI群115周期であった．その他 -ICSI，fresh-ICSIの順に，妻年齢は，37.2±4.8歳，35.3±2.0歳．平均採卵個数／回は，5.38個，6.06個．平均MⅡ卵数／回は，4.71個，5.38個．受精率は，78.0%（71/91），81.7%（456/558）．臨床的妊娠率は，37.3%（10/27），38.2%（58/152）．分娩率は，37.3%（10/27），23.0%（35/152）であった．全てにおいて有意差を認めなかった．

考　察

現在，無精子症患者に対してTESE-ICSIは標準治療となっているが，TESEを実施できる施設はARTを実施できる施設に比して少ない[1)]．2018年4月時点で，生殖医療専門医725人のうち泌尿器領域の専攻者は58人の登録となっている．また，2015年の湯村らの報告[1)]では「泌尿器生殖医療専門医所属施設の半数で自施設の婦人科とは連携がなく，患者診察が有効に機能していないと考えられた」とされている．もちろん泌尿器生殖医療専門医のみがTESEを行っているわけではないが，自施設内でTESE-ICSIを完遂している施設は多くないと予想され，近隣泌尿器科との連携は非常に重要であると考えられる．

近隣泌尿器科との連携での懸念事項は主に2つある．1つは，TESE-ICSIに凍結融解精子を使用することが多くなる点である．TESEを他施設に依頼するため，TESE同日に採卵を調整できたとしてもTESEの手術時間，採卵時間，精巣組織の輸送時間などの兼ね合いで，新鮮精巣精子を用いた同日のICSIが困難な状況となることがある．当クリニックでのTESE-ICSIはそれらの理由のため全例で凍結融解精子を用いた．もう1つは，近隣泌尿器科での精巣組織採取後に自施設までにかか

る培養液中での輸送時間の影響である.

これまでTESEによる精子凍結に関しては, 様々な報告がある. 一般的にTESEによって採取した精巣精子は, 運動精子数が少なく, 運動率も低く, それは非閉塞性無精子症で顕著であり, そこに凍結融解操作が加わることは受精率の低下などが懸念されてきた[2)3)].

しかし, Waldら[4)] は, TESEで回収した凍結融解精巣精子, 新鮮精巣精子を用いたICSIにおいて, 受精率, 妊娠率に有意差は認めなかったとしている. また, Habermannら[5)]は, 凍結融解精巣精子, 新鮮精巣精子を用いたICSIにおいて, 妊娠率, 胚分割率, 着床率, 臨床的妊娠率, 妊娠率, 分娩率, 自然流産率の全てにおいて, 有意差を認めなかったとしている.

一方で, 凍結融解精巣精子では受精率が低いとする報告[6)-8)] もある. しかし, これらの報告も分娩率には有意差を認めなかったとしている. 少なくとも, 凍結融解精巣精子は分娩率には影響しないことが示唆されてきた. ただし, これらの報告は全てOA, NOAなどの原因については論じられていない.

OAに限ると以下のような報告がある.

Wuら[9)] は, OAにおいて新鮮精巣精子を使用したICSI群と凍結融解精巣精子を使用したICSI群とを比較したところ, 受精率, 良好胚率, 妊娠率において有意差を認めなかったと報告している.

小山ら[10)] は, 凍結融解精巣精子を使用したICSI群と新鮮精巣精子を使用したICSI群を比較すると, 凍結融解精巣精子を使用したICSI群において, 5日目の胚盤胞到達率が有意に高かった以外は, 受精率, 良好胚率, 臨床妊娠率, 分娩率などに有意差を認めなかったと報告している.

NOAに限ると, Hauserらの報告[11)]があり, 凍結融解操作によって運動性は低下するものの, 受精率, 着床率, 妊娠率には有意差は認めなったとしている.

今回, 我々はTESEによって採取した凍結融解精巣精子と新鮮射出精子を比較した. それは近隣泌尿器科との連携に使用する凍結融解精巣精子が, 新鮮射出精子と成績が遜色なければ, TESE, 精巣組織の輸送, 精子の凍結融解操作に関する懸念を解消できると考えたからである.

結果は, NOA群の受精率が有意に低いことを認めたのみであった. NOA群は精子の質という点でどうしても受精率が低下してしまうことが示唆された.

それを除くOA群とその他群において, 受精率, 臨床的妊娠率, 分娩率に悪影響がないことを示せたのは, 近隣泌尿器科との連携における悪影響がないことを確認できたと考える.

一方で, 近隣泌尿器科での精巣組織採取後に自施設までにかかる培養液中での輸送時間の影響に関しては検討できなかった. 当クリニックでは, 現在まで3施設との連携をとってきたものの, 最長の輸送時間でも約90分と恵まれた立地であった. 90分程度なら問題ないことは示唆できるが, 逆にどの程度の輸送時間まで許容可能かということは不明である. しかし, TESEで得た精子は貴重であり, 処理までの時間を延長することは許容出来ず, それを検証することは困難とも考えられた.

結　語

TESE-ICSIを施行できた42組のうち, 30組 (71.4%) が生児を獲得していた.

同施設内でなくても, 近隣の泌尿器科と連携することで, 女性を転院させずとも, 男性不妊カップルへの治療が十分可能であることが再確認された.

参 考 文 献

1) 厚生労働省：子ども・子育て支援推進調査研究事業 我が国における男性不妊に対する検査・治療に関する調査研究
2) Thompson-Cree, M.E., McClure, N., Donnelly, E.T., Steele, K.E., Lewis, S.E.: Effects of cryopreservation on testicular sperm nuclear DNA fragmentation and its relationship with assisted conception outcome following ICSI with testicular spermatozoa. Repord. Biomed. Online, 7: 449-455, 2003.
3) Vernaeve, V., Tournaye, H., Osmanagaoglu, K., Verheyen, G., Van, Steirteghem, A., Devroey, P.: Intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa is less successful in men with nonobstructive azoospermia than in men with obstructive azoospermia. Fertil Steril 79: 529-533, 2003.
4) Wald, M., Ross, L., Prins, G., Cieslak-Janzen, J., Wolf, G., Neiderberger, C.: Analysis of outcomes of cryopreserved surgically retrived sperm for IVF/ICSI. J. Androl., 27: 60-65, 2006.
5) Habermann, H., Seo, R., Cieslak, J., Niederberger, C., Prins, G.S., Ross, L.: In vitro fertilization outcomes after intracytoplasmic sperm injection with fresh or frozen-thawed testicular spermatozoa. Fertil. Steril., 73: 955-960, 2000.
6) Nicopoullos, J.D.M., Gilling-Smith, C., Almeida, P.A., Ramdayy, J.W.A.: The results of 154 ICSI cycles using surgically retrieved sperm from azoospermic men. Hum. Reprod., 19: 579-585, 2004.
7) Wood, S., Thomas, K., Schnauffer, K., Troup, S., Kingsland, C., Lewis-Jones, I.: Reproductive potential of fresh and cryopreserved epididymal and testicular spermatozoa in consecutive intracytoplasmic sperm injection cycles in the same patients. Fertil. Steril., 77: 1162-1166, 2002.

8) De, Croo, I., Van, der, Elst, J., Everaert, K., De, Sutter, P., Dhont, M.: Fertilization, pregnancy and embryo implantation rates after ICSI with fresh or frozen-thawed testicular spermatozoa. Hum. Repord., 13: 1893-1897, 1998.
9) Wu, B., Wong, D., Lu, S., Dickstein, S., Silva, M., Gelety, T.J.: Optimal use of fresh and frozen-thawed testicular sperm for intracytoplasmic sperm injection in azoospermic patients. J. Assist. Reprod. Genet., 22: 389-394, 2005.
10) 小山寿美江・小林正和・佐野憲一・山田幸香・榊原圭子・吉田淳： 閉塞性無精子症における新鮮精巣精子と凍結精巣精子を使用したICSIの成績の比較. 受精着床学会雑誌, 32: 49-53, 2015.
11) Hauser, R., Yogev, L., Amit, A., Yavetz, H., Botchan, A., Azem, F.,Lessing, J., Ben-Yosef D.: Severe hypospermatogenesis in cases of nonobstructive azoospermia: should we use fresh or frozen testicular spermatozoa?. J Androl., 26: 772-778, 2005.

日本IVF学会雑誌 Vol.22, No.1, 26-28, 2019

ー原著ー

反復移植不成功患者に対して卵管内移植を行った61例の解析結果

山田 聡, 水澤 友利, 松本 由紀子, 苔口 昭次, 塩谷 雅英

英ウィメンズクリニック　〒650-0021　兵庫県神戸市中央区三宮町1-1-2　三宮セントラルビル

要 旨： 卵管内移植は反復移植不成功患者（RIF）に対して有効な治療であると報告されているが，通常の分割胚，胚盤胞移植，二段階胚移植に比べて優れているという見解はまだ十分ではない. 著者らは配偶子を移植する方法（GIFT）7例, 接合子を移植する方法（ZIFT）42例, 初期胚を移植する方法（EIFT）7例ならびに胚盤胞を移植する方法（BIFT）5例を行い，着床率ならびに臨床妊娠率を調べた. その結果，GIFTの着床率は14.2%，ZIFTは28.6%，BIFTは80%およびEIFTは57.1%であった. 一方 GIFTの妊娠率は14.2%，ZIFTでは19%，BIFTでは40%およびEIFTでは28.6%であった. 双胎は2例に認めたが異所性の妊娠はなかった. これらの結果から接合子を用いるだけではなく分割期ならびに胚盤胞期の胚を卵管に移植可能であり, 胚を使った卵管内移植はRIFに対し有効な治療の一つであると考えられた.

キーワード： IVF，卵管内移植，ZIFT，BIFT，反復移植不成功

緒　言

接合子を用いた卵管内移植（ZIFT）が1998年に最初にLevran[1]により報告され, これにより反復移植不成功（RIF）患者の妊娠率は向上した．ZIFTでは, 胚と子宮内膜での発生に適した相互作用が起きると考えられる卵管に移植するために, 妊娠率が向上するものと考えられる[2]. ZIFTによる妊娠率の改善が報告されてはいるが, 手技に関する議論あるいはプロトコールの検討に関してはまだ十分行われていない[3-5].

ZIFTでは全身麻酔下で腹腔鏡手術が必要であり，術後の回復に時間がかかるという側面がある. ランダム化された比較試験のメタアナリシスの結果[3] から，ZIFTと胚盤胞移植の間に着床率と妊娠率の差が見られないことから, 近年になり子宮内への胚盤胞移植がRIF患者に対する治療として一般的になってきている. またZIFTでは卵管への異所性妊娠のリスク上昇の可能性が考えられる[6]. 以上のような理由からZIFTを行う機会は徐々に減少している. しかしながら，ZIFTの手技も胚盤胞を用いる手技が提案され, それに伴い卵管移植に関わる有効性および安全性が改善しつつある.

著者らは卵管内移植に接合子（前核期胚），初期胚，胚盤胞の3種類の胚を用いた手技を，反復移植不成功の患者に実施した結果を後方視的に検討し, 卵管内移植の有用性および安全性を主にZIFTと比較したので報告する.

対象と方法

本研究は2000年から2013年の間に当院に来院した患者の記録を後方視的に検討したものである. 本研究で検討した患者は, 少なくとも直近の過去3回の周期で初期胚および胚盤胞を計3～5個の胚を子宮内移植し, すべてのIVF-ET周期で移植不成功であり，子宮鏡検査により子宮腔は正常と判断された症例であった.

採卵は超音波ガイド下で経腟的に卵巣から吸引により行った．ICSIとIVF用の精子の調整にはswim-up法を用いた．ZIFT，EIFT，BIFTはホルモン補充周期で凍結胚を用いて行なった. ホルモン補充周期は月経2日目からエストロゲン製剤を開始し月経15日目にプロゲステロン膣錠を併用した．ZIFTは月経周期16日目に，EIFTおよびBIFTは月経17日目または月経18日目に実施した. 卵管内移植はGOSおよびプロポフォール静脈投与による全身麻酔下で腹腔鏡を用いて行なった. 全例, 標準的なZIFTと同様に卵管采から2cmのところにa Potter Gift catheter（Cook Ob/Gyn）を用いて接合子および胚を卵管内に移植した. 着床の判定は月経30日目(妊娠4週1日)に血清β-hCG値が1.0ml/L以上を陽性とした. 臨床妊娠は超音波検査で胎嚢が認められたことで判断した.

数値的データについては，結果は平均値（Mean）±標準偏差（SD）で表し, 統計学的解析は対応のないStudentの*t-test*を用いた.

受付　2019年2月24日/受理　2019年4月30日

責任著者：山田　聡　e-mail［yamada@hanabusaclinic.com］

結　果

本研究では61例が検討対象であった. 本研究では61例のうち7例にGIFTを，42例にZIFTを，5例にBIFTを，7例にEIFTを当クリニックで実施した(**表1**). すべての患者の平均年齢は41.4±4.0(30～50) 歳であり，過去のART回数は15.0±11.6（3～71）回であった. 直近の過去3回の周期で初期胚および胚盤胞を子宮内移植した胚の数の平均値は5.3±1.2個であった(**表2**). EIFTおよび BIFT症例の計12例で卵管内移植の平均個数3.6個. 1回の移植最大個数はEIFTで8個，BIFTで6個であった.

61例全体の着床率は34.3%であり，GIFTでは14.2%，ZIFTでは28.6%，BIFTでは 80% およびEIFTでは57.1%であった（**表1**). 胚を用いた方法(ZIFT+BIFT+EIFT) では着床率を平均すると37.0%であった. 一方で，卵管内移植を実施した61例全体の臨床妊娠率 (PR) は21.3% (13例) であったが，GIFT ではPRは14.2%，ZIFTでは PR は19%，初期胚を移植した症例(EIFT) では28.6%，および胚盤胞を卵管内に移植した（BIFT）5例ではPRは40%であった(**表1**).

61例のうち出生したものは8例(13.1%) であり，その内訳は7例がZIFT を実施した症例であり，1例がBIFT実施症例であった. ZIFTを実施した症例で2例に双胎児が認められたが（1.6%）異所性妊娠は61例すべてで見られなかった. またすべての症例で卵管内妊娠はなかった.

次に全ての症例を妊娠群と非妊娠群の2群に分け，妊娠率に関連する患者背景を調査した. 妊娠群の患者は13例であり，非妊娠群は48例であった. 妊娠群の平均年齢は39.5±3.0 歳であったが, 非妊娠群は41.8±4.5歳であり，非妊娠群の平均年齢が有意に高かった(p=0.037)（**表2**). 過去のART回数は妊娠群では10.4±6.0回であり，非妊娠群の16.5±13.0回と比べて有意に少なかったが(**表2**)，移植した胚の数は両群に差がなかった.

考　察

過去に計3～5個の胚を3回以上移植しても妊娠不成功であった61症例に，卵子／精子（GIFT)，接合子(ZIFT)，初期胚(EIFT)あるいは胚盤胞(BIFT)による卵管内移植を行った結果を後方視的に調査した. 本研究ではすべての症例の着床率は 34.3%であり臨床妊娠率(PR)は21.3%であった. 胚(ZIFT+BIFT+EIFT) を用いた着床率は37.0%であったが，BIFT単独の着床率は80%であった. これらの結果からは，卵管内移植は今まで行われてきた接合子だけではなく, 分割期にある胚および胚盤胞でも同様に実施可能であると考えられた. 胚

Table 1

Type of intervention	Number of patient	Implantation rate (%)	Clinical pregnancy (%)	Production rate (%)
GIFT	7	1*(14.2)	1*(14.2)	0*(0)
ZIFT	42	12 (28.6)	8 (19.0)	7 (16.7)
BIFT	5	4 (80)	2 (40.0)	1 (0.2)
EIFT	7	4 (57.1)	2 (28.6)	0 (0)
Total	61	21 (34.3)	13 (21.3)	8 (14.8)
ZIFT+EIFT+BIFT	54	20 (37)	12 (22.2)	8 (14.8)
BIFT+EIFT	12	8 (66.7)	4 (33.3)	1 (0.2)

GIFT : gamate intrafallopian transfer, ZIFT : zygote intrafallopian transfer, BIFT : blastocyst intrafallopian transfer,
EIFT : embryo intrafallopian transfer; * : number of patients

Table 2

	Number of patients	Average age of patients	Number of previous ART	Number of embryos transfer
Pregnant group	13	39.5 ± 3.0*	10.4 ± 6.0	5.7 ± 1.0
Non-pregnant group	48	41.8 ± 4.5	16.5 ± 13.0	5.2 ± 1.4
Total	61	41.4 ± 4.0	15.0 ± 11.6	5.3 ± 1.2
P value**		0.037	0.025	0.154

*: Mean ± SD, **: Non-paired Student's t-test

の子宮腔内でdormant stateを考慮し[8]，通常の胚盤胞の子宮内移植日と異なり，BIFTは胚のグレードにより月経17日目または月経18日目に実施した. 全症例で卵管妊娠症例は無かった.

Weissmanらは平均年齢34.2歳の患者らにZIFTを行い34.3%に臨床妊娠を得ており[5]，Gatらは平均年齢33.6歳の患者群にZIFTを実施し，25.5%の臨床妊娠が得られたと報告している[4]. 翻って本研究ではPRは平均年齢39.5歳の患者群が対象で，これまでの報告と比べて年齢が5歳以上高いにもかかわらずPRは同等あるいはそれ以上であった. これには本研究にはZIFTの他に初期胚移植あるいは胚盤胞移植でもPRが好成績であったことが関係している可能性がある. 卵管内移植は安全で有効なARTの移植方法であると考えられているが，今回の調査で非妊娠群の平均年齢が41.8歳と妊娠群（39.5歳）と比べて有意に高かったこと，ならびに非妊娠群では有意にART回数が多かったことから，40歳以上の高齢および10回以上の反復不成功例への胚を用いた卵管内移植は推奨できないと考えられた.

ARTにおける接合子を用いた卵管内移植[6][7]ならびに初期胚を用いた卵管内移植は，遠位の卵管が初期胚にとって子宮内より環境が優れているという考え方に基づいている[9]. 現在ではIVF における胚培養法の著しい進歩ならびに経頸管的な移植法が改善されたことにより卵管内移植法は以前に比べてあまり用いられなくなってきた. しかし，Murrayらは妊娠前に腹腔鏡による子宮頸管縫縮術を受けた患者に，IVFを実施した後に胚盤胞を用いた卵管内移植を行い，妊娠・分娩に成功したことを報告しており，卵管内への胚盤胞移植の有効性も示唆されている[10].

以上，3～5回以上反復不成功の患者61例に，4種類の方法（GIFT法，ZIFT法，EIFT法，BIFT法）を用いて卵管内移植を試みたところ，胚を用いた方法でもGIFT法と同様あるいは同等以上に卵管妊娠を起こさず，安全で良好な妊娠成績を得ることが出来た. 今回の研究においても症例数は十分ではないために，これらの方法を必要とする症例にさらに応用し，エビデンスを高めることが必要である.

参考文献

1) Levran D, Mashiach S, Dor J, Levron J, Farhi J. Zygote intrafallopian transfer may improve pregnancy rate in patients with repeated failure of implantation. Fertil Steril, 69: 26-30, 1998.

2) Gardner DK, Lane M, Calderon I, Leeton J. Environment of the preimplantation human embryo in vivo: metabolite analysis of oviduct and uterine fluids and metabolism of cumulus cell. Fertil Steril, 65: 349–353, 1996.

3) Habana AE, Palter SF. Is tubal embryo transfer of any value? Is tubal embryo transfer of any value? A meta-analysis and comparison with the Society for Assisted Reproductive Technology database. Fertil Steril, 76: 286-293, 2001.

4) Gat I, Levron J, Terushalmi G, Dor J, Brengauz M, Orvieto R. Should zygote intrafallopian transfer be offered to all patients with unexplained repeated in-vitro fertilization cycle failures? J Ova Res, 7: 7-11, 2014.

5) Weissman A, Eldar I, Harhi J, Ravhon A, Biran G, Levran D. Zygote intrafallopian transfer (ZIFT) in patients with repeated implantation failure: Ten years experience of a single center. Fertil Steril, 84: S358-359, 2005.

6) Devroey P, Staessen C, Camus C, De Grauwe E, Wisanto A, Van Steirrteghem AC. Zygote intrafallopian transfer as a successful treatment for unexplained infertility. Fertil Steril, 5: 79–84, 1989.

7) Asch RH, Ellsworth LR, Balmaceda JP, Wong PC. Pregnancy after translaparoscopic gamete intrafallopian transfer. Lancet, 324: 1034–1035, 1984.

8) Yu LL, Zhang,JH, He YP, Huang P, Yue LM. Fast action of estrogen on intracellular calcium in dormant mouse blastocyst and its possible mechanism. Fertil Steril, 91: 611-615, 2009.

9) Bulletti C. Debating tubal transfer in assisted reproductive technology. Hum Reprod, 11: 1820–1822. 1996.

10) Murray A, Hutton J. Successful tubal blastocyst transfer after laparoscopic cervical cerclage: cesarean delivery of a live very low-birth- weight infant and later hysterectomy for uterine rupture. Fertil Steril, 96: 895-897, 2011.