

ISSN 1881-9028

# 日本IVF学会雑誌

Vol.23 No.2

2020

**JSAR**  
Japan Society of Assisted Reproduction

# 論文集

## 論文

### —原著—

- 子宮腺筋症の大きさは妊娠率に負の影響を与えるが卵巣子宮内膜症性嚢胞は影響しない…………… 2  
山田 聡, 江夏 徳寿, 苔口 昭次, 塩谷 雅英  
英ウィメンズクリニック

### —原著—

- 卵巣予備能低下症例に対する同一周期2回採卵の有用性と課題…………… 7  
勝 佳奈子<sup>1</sup>, 中岡 義晴<sup>1</sup>, 森本 義晴<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>IVF なんばクリニック/<sup>2</sup>HORAC グランフロント大阪クリニック

### —原著—

- 体外受精における精液酸化還元電位を用いた受精予測…………… 14  
長谷川 久隆, 鈴木 亮祐, 塚本 佳奈, 菊本 晃代, 小林 充, 京谷 利彦, 小林 淳一  
神奈川レディースクリニック

### —原著—

- 精液の低温暴露によって起こる精子運動性の低下を防ぐ工夫  
～フードコンテナを用いた精液の保温効果と20℃での精液保存の影響について～…………… 18  
岸田 拓磨, 菊地 裕幸, 山田 健市, 菅野 弘基, 岸田 理英, 佐藤 那美, 結城 笑香, 吉津 葵, 佐々木 郁弥, 片桐 未希子, 吉田 仁秋  
仙台ARTクリニック

### —原著—

- 当院におけるDuostim法による採卵成績の検討…………… 24  
石橋 めぐみ<sup>1,2</sup>, 松山 毅彦<sup>1</sup>, 中澤 留美<sup>1</sup>, 河戸 朋子<sup>1</sup>, 勝木 康博<sup>1</sup>, 菊池 咲希<sup>1</sup>, 三宅 君香<sup>1</sup>, 横田 智<sup>1</sup>, 真鍋 有香<sup>1</sup>,  
北岡 美幸<sup>1</sup>, 新田 絵美子<sup>2</sup>, 松山 幸世<sup>1</sup>, 金西 賢治<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>厚仁病院産婦人科/<sup>2</sup>香川大学医学部母子科学講座周産期学婦人科学

### —原著—

- 凍結前の胞胚腔収縮の確認は胚盤胞選択の評価因子となる…………… 32  
柴田 美智子<sup>1</sup>, 中野 達也<sup>1</sup>, 佐藤 学<sup>1</sup>, 中岡 義晴<sup>1</sup>, 森本 義晴<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>IVF なんばクリニック/<sup>2</sup>HORAC グランフロント大阪クリニック

# 子宮腺筋症の大きさは妊娠率に負の影響を与えるが 卵巣子宮内膜症性嚢胞は影響しない

山田 聡, 江夏 徳寿, 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：** 子宮内膜症を有する不妊患者に対しては症例ごとに薬物治療や手術療法の適応を考える必要があるが、その判断基準はいまだ明確ではない。本研究は当院において凍結胚移植した子宮腺筋症と卵巣子宮内膜症性嚢胞(以下、内膜症性嚢胞)を合併する子宮内膜症1787周期について生化学的妊娠率、臨床妊娠率及び流産率に対する影響を、重症度との関連を含めて後方視的に検討した。子宮腺筋症は生化学的妊娠率、臨床妊娠率を有意に低下させ、大きさは妊娠に影響した。子宮腺筋症は大きさに関わらず流産率には影響しなかった。内膜症性嚢胞は嚢胞径に関わらず生化学的妊娠率、臨床妊娠率を低下させなかった。しかし流産率に関して、内膜症性嚢胞は腫瘍径に関係なく流産率を上昇させる可能性を否定できなかった。

**キーワード：** 子宮内膜症, 卵巣子宮内膜症性嚢胞, 子宮腺筋症, 妊娠率, 流産率

**ランニングヘッド：** 卵巣子宮内膜症性嚢胞の着床に与える影響

## 緒言

子宮内膜症の発生頻度は生殖年齢女性の10%とも言われ、不妊女性の5人に1人に発症するとされている<sup>1)</sup>。なかでも子宮腺筋症の単独発生率は25～64%前後と報告され、それに伴い妊娠率が低下し、流産率が上昇するとされており、着床不全の原因の一つとされている<sup>2-7)</sup>。しかし、一方で無症候患者の妊娠率などに影響しないという報告もみられるため<sup>8)</sup>、子宮腺筋症のART結果に対する影響については必ずしも議論の一致をみていない。さらに、子宮腺筋症の治療には外科的治療あるいは保存的治療の選択が必要になることがあるが、判断根拠となる妊娠率の低下や流産率の上昇を重症度によって解析した報告はほとんどみられない。

一方、内膜症性嚢胞の治療は子宮腺筋症同様に挙児希望がある場合は対症療法と保存手術を中心として行われている<sup>9-12)</sup>。内膜症性嚢胞が子宮腺筋症と同様に着床不全と関連するのであれば、特に難治性症例には早期の治療介入を要するため、やはり重症度による妊娠への影響を評価することが必要である。

そこで今回、本研究では2011年～2017年の間に当院で凍結胚移植を行った子宮内膜症2180周期(妊娠1118周期)を検討し、子宮腺筋症や内膜症性嚢胞の存在ならびにその大きさが着床に与える影響について検討した。

## 対象と方法

2011年～2017年に当院で凍結胚移植を行った子宮内膜症2180周期(妊娠1118周期)のなかで、転帰や超音波所見が不明なもの及び内膜症所見の無いものを除いた1787周期(妊娠901周期)に対して、子宮腺筋症の程度や内膜症性嚢胞径による生化学的妊娠率、臨床妊娠率及び流産率について、ロジスティック回帰分析を用いて後方視的に検討を行った。全患者の背景は、年齢は25-47歳(36±4.2)。37歳以上は47%を占めた。移植回数は1-13回(2.2±1.5)、流産回数は1-7回(0.8±1.0)であった。不妊原因は60%(n=532)が卵管因子で、男性因子は19%(n=166)であった(重複あり)。

婦人科手術歴は内膜症性嚢胞摘出術4.9%(n=44)、子宮筋腫核出術1.2%(n=11)、片側付属器切除術0.6%(n=5)など合計で7.2%(n=65)であった。本研究では、子宮内膜症には骨盤痛や月経困難症の自覚症状や超音波を用いた臨床的子宮内膜症も含まれている。移植前の経腔超音波所見で、筋層の不均整な肥厚、筋層内嚢胞の存在、子宮内膜と子宮筋層の明瞭な境界の消失を子宮腺筋症と診断し、最大筋層厚が5cm以上を腺筋症高度肥大とした<sup>13)</sup>。内膜症性嚢胞は腫瘍内に微細点状エコーを認める嚢胞性病変とした。すべて経腔超音波による画像で同一検者が診断した。生化学的妊娠は月経30日目(妊娠4週1日)に血清β-hCG値が1.0 ml/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。妊娠率、臨床妊娠率については症例あたりの率とした。

流産は当院で卒院まで妊娠管理を行っている妊娠10週までの初期流産とした。

数値的データについては、結果は平均値(Mean)±標準偏差(SD)または% (number)で表し、統計学的解析は対応の無いStudentのt-test または  $\chi^2$ -testを用い、3群以上の検定ではBonferroniの方法で調整を加えた。ロジスティック回帰分析の結果についてはオッズ比と95%信頼区間を示し同時にP値を記した。本研究における患者同意取得及び個人情報保護に関して、患者にはこの臨床データを匿名にて報告する旨の同意を得た。

## 結果

超音波検査等で子宮腺筋症または内膜症性嚢胞が疑われた症例1787周期の内訳を表1に示した。これら症例のうち、子宮腺筋症(+)内膜症性嚢胞(-) (A)群が427周期で、子宮腺筋症(-)内膜症性嚢胞(+) (B)群は316周期、子宮腺筋症(+)内膜症性嚢胞(+) (C)群は1044周期と最も多かった。患者背景を3群で比較すると、B群の平均年齢がA群及びC群に比べて若かった(P<0.05) (表1)。また、移植回数、流産回数、卵管因子の関与ならびに男性因子の関与については3群間の背景に差はなかった(表1)。

各群における臨床妊娠率と流産率を比較したところ、A群及びC群はB群に比較して有意に臨床妊娠率が低かった(p<0.001)。また流産率はC群がA群に比べて有意に高かった(p<0.05) (表2)。

次に子宮腺筋症を合併したA群とC群、合計1471周期の腺筋症の程度を最大筋層厚5cm未満と以上に分けて臨床妊娠率と流産率を検討した(表3)。5cm未満の腺筋症群(軽症例)が1280例と殆どであり、5cm以上の腺筋症高度肥大群(重症例)は191例であった。両群の臨床妊娠率と流産率を比較すると、有意な差は認められなかった。

内膜症性嚢胞を合併した1360例を腫瘍径4cm未満及び以上に分けて臨床妊娠率と流産率を検討した(表3)。4cm未満群が1284例と大部分を占め、4cm以上群は76例であった。4cm未満と4cm以上群では臨床妊娠率と流産率に差は認められなかった。

次に生化学的妊娠、臨床妊娠、流産の結果について、子宮腺筋症及び内膜症性嚢胞の大きさの影響をロジスティック回帰分析により検討した(表4)。子宮腺筋症の有無は腺筋症の大きさに関わらず生化学的妊娠に関連していたが(OR;0.56, 95%CI;0.45-0.70, P<0.01)、内膜症性嚢胞の有無は嚢胞の大きさにかかわらず生化学的妊娠との関わりはなかった。

臨床妊娠と子宮腺筋症の間には関連が見られ(OR;0.66, 95% CI;0.517-0.801, p<0.01)、これは子宮腺筋症5cm未満あるいは5cm以上の大きさに関わら

表1 各群ごとの患者背景

症例群	A	B	C
各群の定義	子宮腺筋症(+) 内膜症性嚢胞(-) N=427	子宮腺筋症(-) 内膜症性嚢胞(+) N=316	子宮腺筋症(+) 内膜症性嚢胞(+) N=1044
年齢(歳)	37.6 ± 4.3*	36.0 ± 4.3* **	36.7 ± 4.0**
移植回数	2.2 ± 1.6	2.1 ± 1.3	2.3 ± 1.6
流産回数	0.8 ± 0.9	0.8 ± 0.8	0.8 ± 1.0
卵管因子(%) 括弧内患者数	30.6%(131)	28.5%(90)	27.6%(288)
男性因子(%) 括弧内患者数	8.0%(34)	10.8%(34)	5.7%(60)

年齢、移植回数、流産回数は平均値±標準偏差で表記 P<0.05 (Bonferroni の調整) t-test (Bonferroni の調整) により年齢の項で、AとB間\*、及びBとC間\*\*に有意差が認められた(p<0.05)

表 2 各群における臨床妊娠率と流産率

症例群	A	B	C
各群の定義	子宮腺筋症(+) 内膜症性嚢胞(-) N=427	子宮腺筋症(-) 内膜症性嚢胞(+) N=316	子宮腺筋症(+) 内膜症性嚢胞(+) N=1044
臨床妊娠率	33.2 (142) *	45.2(143) * **	33.1(345) **
流産率	22.5(32) ***	30.8(44)	30.7(106) ***

% (number)

$\chi^2$ -test により臨床妊娠率の項で A と B 間\*、及び B と C 間\*\*に有意差が認められた (p<0.001)

流産の項で、A と C 間\*\*\*に有意差が認められた (p<0.05)

表 3 子宮腺筋症 (1471 例) は腺筋症の程度を筋層厚 5 cm 未満と以上、内膜症性卵巣腫瘍 (1360 例) は腫瘍径 4cm 未満及び以上に分けた各群の臨床妊娠率と流産率

	子宮腺筋症	<5cm	>5cm	内膜症性卵巣腫瘍	<4cm	>4cm
n	1471	1280	191	1360	1284	76
臨床妊娠率	34(500)	34.5(441)	31(59)	36.2(493)	36.6(470)	30.3(23)
流産率	27.6(138)	26.8(118)	33.9(20)	30.4(150)	30(141)	39.1(9)

% (number)

ず認められた (表 4)。一方、内膜症性嚢胞の存在は嚢胞径 4cm 未満及び以上に関わらず臨床妊娠に影響を与えていなかった (表 4)。

流産との関連に関しては、子宮腺筋症の存在は影響がなく (OR; 0.82, 95%CI; 0.58-1.14, p=0.24), また腺筋症の大きさを 5 cm 以上及び 5 cm 未満に分けたときにも、いずれの群でも関連性は低かった。一方、内膜症性嚢胞ではすべての症例、ならびに腫瘍径 4 cm 以上と未満、腫瘍径 2 cm 以上と未満 (data not shown) に分けた群でも有意差は認められなかったが、内膜症性嚢胞を認めなかった群と比較するとオッズ比は高かった (表 4)。

## 考 察

子宮内膜症は生殖年齢の 10 人に 1 人が罹患しているともいわれる発症頻度の高い疾患であり、子宮内膜症が関連する不妊症の患者も高齢化に伴い増加すると考えられている<sup>1)</sup>。子宮内膜症の治療は薬物治療と手術療法が一般的であるが、挙児希望がある場合は対症療法と保存手術が中心である。子宮内膜症の一つである子宮腺筋症の場合は、ROS (reactive oxygen species) や炎症性物質による腺筋症筋層内の穿通動脈のリモデリング異常やプロゲステンに対する抵抗性の上昇などが原因で、着床不全や流産率が上昇し、妊娠率の低下を招き、その結果胎盤形成の異常が起きるといって報告が多くみられる<sup>2-7)</sup>。しかしながら手術を考慮する場合<sup>14)</sup>もあるが、



殆どが対症療法を行っているのが現状である。

本報告では子宮腺筋症は臨床妊娠率を有意に低下させたが、どの程度の大きさが妊娠に影響を与えるかが不明なために、ロジスティック回帰分析を用いて重症度別に解析した。子宮腺筋症の程度を最大筋層厚として5cm未満と5cm以上に分けて生化学的妊娠率、臨床妊娠率との関連を検討した。その結果、筋層厚が5cm未満の軽症例と5cm以上の重症例のいずれの群においても生化学的妊娠率、臨床妊娠率を低下させると考えられるが、オッズ比を比較すると、重症例の方が生化学的妊娠率が低下する傾向がみられた。これは子宮腺筋症が重症になるほど生化学的妊娠及び臨床妊娠に強く影響するものと考えられる。一方、流産率は子宮腺筋症の影響がなく、また子宮筋層厚を5cm未満と以上に分けたときにも、いずれの群でも関連性は低く有意な差がなかった。卒院のため妊娠管理を行っている妊娠10週までを流産症例としており、胎児因子の影響が寄与しているためか腺筋症の存在と流産の関連性が低い結果になったと思われる。しかし、子宮腺筋症を有する症例群は患者背景にお

いて年齢が有意に高かったため、患者年齢が生化学的妊娠率及び臨床妊娠率に影響を及ぼした可能性は否定できなかった。

内膜症性嚢胞の治療も子宮腺筋症同様に挙児希望がある場合は対症療法と保存手術が中心となるが<sup>10-12)</sup>、30歳後半で腫瘍径が6cm<sup>11)</sup>を超えるものは破裂、感染予防、特に病理学的診断の観点から手術療法が優先される場合がある。一般不妊患者に対しては腫瘍径が4cm前後では腹腔鏡による手術かARTを用いた不妊治療のどちらかを優先させるかに対して統一した見解は無い<sup>12)</sup>。本症において着床不全や流産を繰り返す難治性不妊患者の場合は、高齢化に伴う卵巣予備能の低下や悪性化の問題<sup>10)</sup>など様々なケースが考えられ、手術を含めた治療の介入開始時期が重要である。内膜症性嚢胞が着床に与える影響があるならば、一般不妊治療からARTへ早期方針転換や移植の前に積極的な治療を行うことが望まれる。2012年度生殖・内分泌委員会の「本邦における子宮内膜症治療が妊孕能に与える影響に関する検討小委員会」で妊娠率、流産率に有意差はなく嚢

表4 ロジスティック回帰分析による妊娠に対する子宮腺筋症及び内膜症性卵巣腫瘍の影響

生化学的妊娠		odds比 (OR)	95%信頼区間(CI)	P値
	子宮腺筋症(+)	0.56	0.45-0.70	0.0000002
	<5cm	0.56	0.45-0.70	0.0000002
	>5cm	0.41	0.29-0.58	0.0000005
	内膜症性嚢胞(+)	0.91	0.75-1.11	0.34
	<4cm	1.02	0.84-1.24	0.85
	>4cm	1.07	0.66-1.73	0.78
臨床妊娠				
	子宮腺筋症(+)	0.64	0.52-0.80	0.00008
	<5cm	0.62	0.50-0.77	0.00002
	>5cm	0.55	0.39-0.79	0.0013
	内膜症性嚢胞(+)	0.90	0.74-1.11	0.39
	<4cm	1.04	0.85-1.27	0.72
	>4cm	0.81	0.48-1.35	0.41
流産				
	子宮腺筋症(+)	0.82	0.58-1.14	0.24
	<5cm	0.79	0.56-1.11	0.17
	>5cm	1.17	0.650-2.09	0.61
	内膜症性嚢胞(+)	1.30	0.92-1.84	0.13
	<4cm	1.24	0.87-1.76	0.24
	>4cm	1.37	0.61-3.08	0.44
	内膜症性嚢胞(-)	0.75	0.53-1.06	0.11

胞の存在は卵の質や着床を阻害することも無いことが示された<sup>15)</sup>。ロジスティック回帰解析の結果は内膜症性嚢胞で生化学的妊娠率、臨床妊娠率の低下は無かったが、既に着床不全の報告のある子宮腺筋症や<sup>2-7)</sup>、内膜症性嚢胞無し群に比べ、内膜症性嚢胞では有意差は無いものの腫瘍径に関係なくオッズ比は高く、流産率を上昇させる可能性も否定できなかった。

内膜症性嚢胞が着床や胚発育に関与するかどうかについての報告は殆ど無いが、嚢胞内溶液に含まれるサイトカイン、鉄、ROS、Nitrogen Oxide (NO)、凝固系関連物質などの有害物質がtoxic networkを作っており、これらは他の良性嚢胞性腫瘍よりも高濃度で、悪性腫瘍内容液と同等の濃度といわれ、嚢胞周辺の正常卵子に影響を及ぼすと報告がある<sup>16)</sup>。すなわち、内膜症性嚢胞の存在は、特に反復移植不成功患者(RIF)に対しては胚や胎児の発育障害を引き起こす可能性が考えられる。

今後、さらに症例を増やした臨床研究が必要であるが、難治性不妊患者やRIFには子宮内膜症に関わる重症度を考慮した上で、着床環境を改善するための手術や偽閉経療法などの時期も踏まえた治療介入が必要であると考えられる。

## 参考文献

- 国立社会保障・人口問題研究所編。第15回出生動向基本調査結婚と出産に関する全国調査),平成27年度版,2015。http://www.ipss.go.jp/ps-doukou/j/doukou15/doukou15\_gaiyo.asp.
- Naftalin J, Hoo W, Pateman K, Marvelos D, Foo X, Jurkovic D. Is adenomyosis associated with menorrhagia? Hum Reprod, 29: 473-479, 2014.
- Puente JM, Fabris A, Patel J, Patel A, Cerrillo M, Raquena A, Garcia-Velasco JA. Adenomyosis in infertile woman: prevalence and the role of 3D ultrasound as a marker of the disease. Reprod Biol Endocrinol, 14: 60, 2016.
- Leone Roberti Maggiore U, Ferrero S, Mangili G, Bergamini A, Inversetti A, Giorgione V, Viganò P, Candiani M: A systematic review on endometriosis during pregnancy: diagnosis, misdiagnosis, complications and outcomes. Hum Reprod Update, 22: 70-103, 2016.
- Vercellini P, Consonni D, Dridi D, Bracco B, Frattaruolo MP, Somigliana E: Uterine adenomyosis and in vitro fertilization outcome: a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod, 29: 964-977, 2014.
- Leonardi M, Papaleo E, Reschini M: Risk of miscarriage in women with endometriosis: insights from in vitro fertilization cycles. Fertil Steril, 106: 386-392, 2016.
- Kohl Schwartz AS, Wolfler MM, Mitter V, Raufuss M, Haerberlin F, Eberhard M, von Orelli S, Imthurn B, Imesch P, Fink D, Leeners B: Endometriosis, especially mild disease: a risk factor for miscarriages. Fertil Steril, 108: 806-814, 2017.
- Benaglia L, Cardellicchio L, Leonardi M, Faulisi S, Vercellini P, Paffoni A, Somigliana E, Fedele L. Asymptomatic adenomyosis and embryo implantation in IVF cycles. Reprod Biomed Online, 29: 606-611, 2014.
- 日本産婦人科学会編。産婦人科診療ガイドライン-婦人科外来編, 2017。https://www.jsar.or.jp/files/web\_provision.pdf
- 日本産婦人科学会, 生殖・内分泌委員会報告。日産婦誌, 63: 1306-1313, 2011.
- 日本産婦人科学会。子宮内膜症取り扱い規約 第2部(治療編 診療編)
- Working group of ESGE, EHSRE and WES, Saridogan E, Becker CM, Feki A, Grimbizis GF, Hummerlshoj L, Keckstein J, Nisolle M, Tanos V, Ulrich UA, Vermeulen N, Deeee Willldeeee RL: Recommendations for the Surgical Treatment of Endometriosis. Part1: Ovarian Endometrioma. Hum Reprod Open, 2017 (4) , 2017。https://doi.org/10.1093/hropen/hox016.
- 日本産婦人科医会。子宮内膜症・子宮腺筋症 研修ノート, 102: 49-86, 2019.
- 廣田泰・大須賀穰: 子宮腺筋症。産婦人科の実際, 67: 863-868, 2018.
- 日本産婦人科学会。生殖・内分泌委員会報告。日産婦誌, 65: 1355-1373, 2013.
- Sanchez AM, Viganò P, Somigliana E: The distinguishing cellular and molecular features of the endometriotic ovarian cyst: from pathophysiology to the potential endometrioma-mediated damage to the ovary. Hum Reprod, 20: 217-230, 2014.

# 卵巣予備能低下症例に対する同一周期2回採卵の有用性と課題

勝 佳奈子<sup>1</sup>, 中岡 義晴<sup>1</sup>, 森本 義晴<sup>2</sup>

<sup>1</sup>IVF なんばクリニック 〒550-0015 大阪府大阪市西区南堀江 1-17-28

<sup>2</sup>HORAC グランフロント大阪クリニック 〒530-0011 大阪府大阪市北区大深町 3-1 グランフロント大阪タワー B15F

**要 旨：** 卵巣予備能低下症例のART治療は1回の採卵で獲得できる卵子数が少なく、数周期にわたり採卵を実施している症例も多い。このような症例に対して同一周期に2回卵巣刺激および採卵をおこなうDouble Stimulation (Duo Stim)を実施し、その有用性を検討した。58周期でDuo Stimを実施し、卵胞期・黄体期ともに採卵まで至った症例は40周期であった。採卵数は黄体期で有意に多かったが、卵子成熟率や受精率は両群で差は認めなかった。卵胞期10例、黄体期8例で成熟卵の獲得に至らず、トリガーの選択や黄体期卵巣刺激の管理など課題もみられたが、65%の症例でDuo Stimにより1周期1回採卵と同等かそれ以上の卵子・胚の獲得に至っており、Duo Stimは卵巣予備能低下症例のART治療において、その成績を向上しTime-To-Live Birthを短縮するための有益な選択肢の一つになると考える。

**キーワード：** 卵巣予備能低下, Duo Stim, Double Stimulation, 黄体期卵巣刺激

**ランニングヘッド：** 卵巣予備能低下症例における同一周期2回採卵

## 緒 言

卵巣予備能はART成績に大きな影響を及ぼす。卵巣予備能は年齢とともに低下し、獲得できる染色体正常胚盤胞の数も年齢とともに低下する<sup>1)</sup>。そのため、卵巣予備能低下症例のART治療ではできるだけ短期間で多くの卵子獲得を目指す必要があるが、1回の採卵で獲得できる卵子数は少なく、数周期にわたり複数回採卵を実施している症例も多い。

2011年頃よりART治療の時間的制約のある挙児希望がん患者に対して月経周期に関係なく卵巣刺激を開始するランダムスタート法<sup>2)</sup>が登場し、従来の月経周期に合わせた卵巣刺激と同等の採卵成績が得られている。2014年にはランダムスタート法を応用し、卵巣予備能低下症例に対して2回卵巣刺激をおこなう方法が報告され<sup>3)</sup>、以降同一月経周期に2回卵巣刺激および採卵をおこなう卵巣刺激法はDuo Stim<sup>4)</sup>と呼ばれ広く認識されている。Duo Stimはがん患者のみならず、卵巣予備能低下症例に対しても有効な治療法となる可能性が示唆されている。

また、卵巣予備能低下症例では主席卵胞の発育とともに小卵胞の発育、いわゆる不均一卵胞発育を認める症例も多い。本検討では、卵胞期に認めた不均一卵胞の

うち小卵胞を、黄体期の卵巣刺激により発育させ採卵することでより多くの卵子を獲得することを目的としてDuo Stimを実施し、その有用性および課題について検討した。

## 対象と方法

卵巣予備能が低下している状態いわゆるPoor Responderの定義については、1) 高齢(40歳以上)または卵巣低反応のリスク(卵巣手術歴など)があること、2) 卵巣低反応の既往があること(以前の卵巣刺激で採卵数が3個以下)、3) 卵巣予備能の検査で異常がある(胞状卵胞数5-7個以下またはAMH 0.5-1.1 ng/ml以下)のうち少なくとも2項目当てはまる場合といわれている<sup>5)</sup>が、本検討では卵巣予備能低下症例を、1) 40歳以上、2) AMH 1.20 ng/ml未満、3) 月経期の胞状卵胞数6個以下、4) 調節卵巣刺激周期でART成績不良、のうちいずれか1つ以上を満たすものとし、FSH基礎値が20 mIU/mL以上の症例は除外した。

2019年10月から2020年4月の間に卵巣予備能低下症例で低刺激もしくは完全自然周期での採卵を予定されている患者で、卵胞期の採卵決定時に10mm前後の小卵胞を認めた症例に対してDuo Stimによる卵巣



刺激を提案し、治療についての同意を得られた52例に対して実施した。

当院での Duo Stim プロトコルを図1に示す。卵胞期の卵巣刺激法は月経期の基礎ホルモン値および胞状卵胞数と、これまでのART治療歴を考慮し個々の症例で選択した(図2)。卵胞径10mm以上でHMGを、主席卵胞径14mm以上もしくは血中LH12 mIU/mL以上でGnRHアンタゴニストの投与を開始した。主席卵胞径が17mmに到達したらGnRHアゴニストを投与し、35～36時間後に採卵を実施した。卵胞期採卵の当日は卵胞径12～14mm以上の卵胞のみ穿刺した。

卵胞期採卵から2日後に再度卵胞計測をし、主席卵胞

径が10mm未満の場合は経口排卵誘発剤の内服で、10mm以上の場合はHMG連日投与で黄体期卵巣刺激を開始した(図3)。黄体期は原則卵胞径によるGnRHアンタゴニストの投与はなしとしたが、血中LH値の上昇などホルモン値に応じて個々の症例で投与を考慮した。主席卵胞径が17mmに到達したらGnRHアゴニストとHCGを投与し、35～36時間後に採卵を実施した。

52例58周期(5例で複数周期実施あり)について後方視的に検討し、統計学的解析にはStudent-t検定および $\chi^2$ 検定を用い、 $P < 0.05$ をもって統計学的有意差ありと判定した。

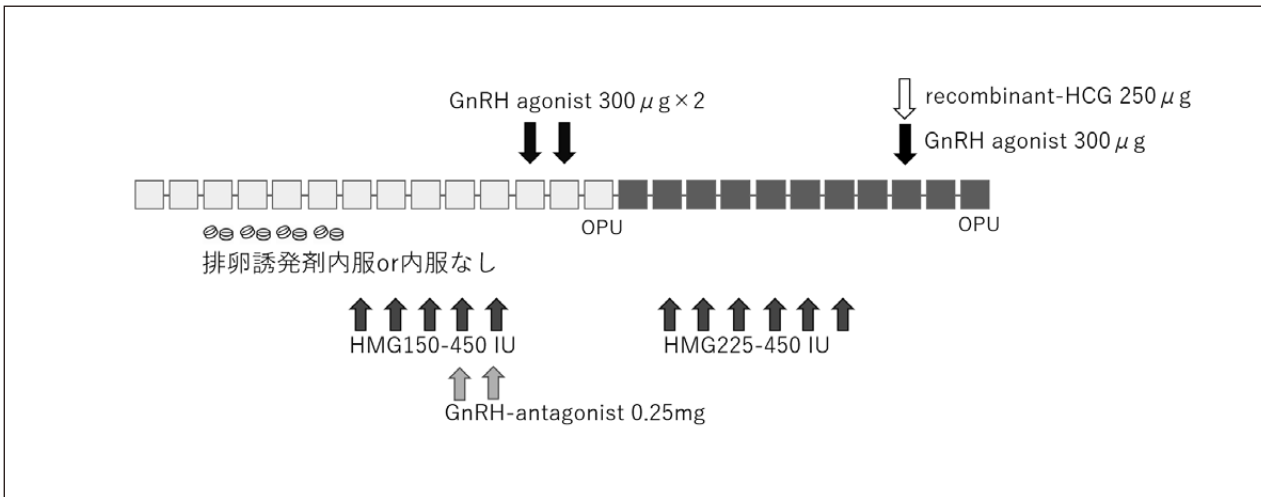


図1 当院での Duo Stim プロトコル

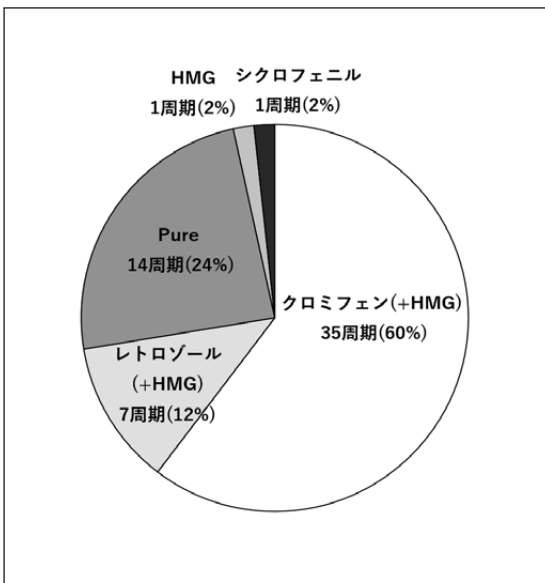


図2 卵胞期の卵巣刺激方法の内訳

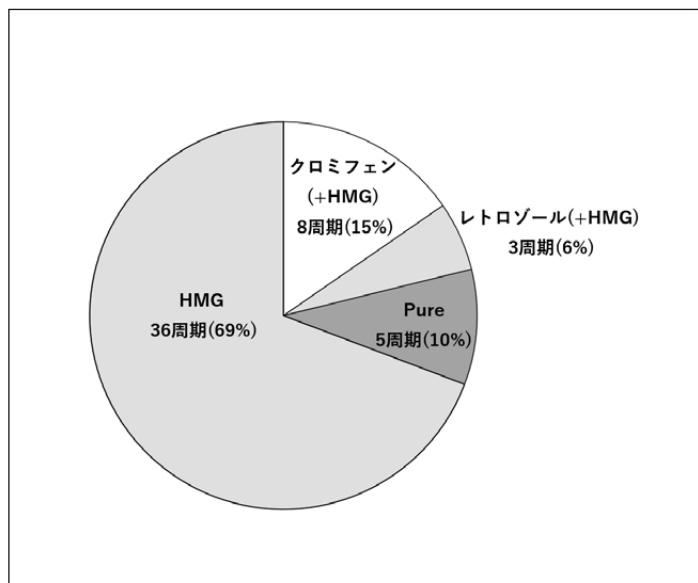


図3 黄体期の卵巣刺激方法の内訳

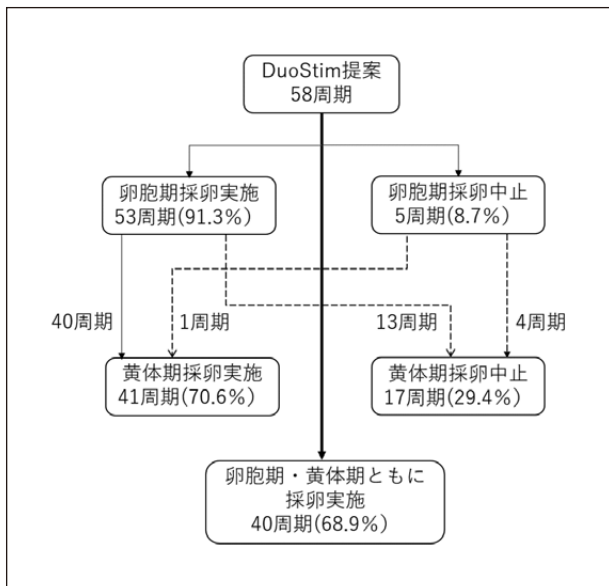


図4 Duo Stim 58 周期の採卵実施状況

## 結果

52例の平均年齢は40.3±3.4歳, AMH値は1.3±1.4 ng/mlであった. 58周期の採卵実施状況を図4に, 治療転帰を表1に示す.

卵泡期採卵が中止となったのは5例で, いずれも卵胞発育は認めたものの採卵までに排卵が起こった症例であった. 黄体期採卵が中止となったのは17例で卵泡期よりも多く, その理由として, 患者が黄体期採卵を希望しなかったのが7例, 黄体期卵巣刺激を開始したが卵胞発育停滞などにより採卵決定までに中止を希望したのが7例, 採卵決定したが採卵当日に排卵したのが3例であった.

Duo Stimを提案した58周期のうち, 卵泡期・黄体期ともに採卵まで至った症例は40周期 (68.9%) であった. 40周期の卵泡期採卵と黄体期採卵のART経過を表2に示す.

表1 Duo Stim 58 周期の治療転帰

	卵泡期採卵	黄体期採卵
採卵実施	53周期 (91.3%)	41周期 (70.6%)
採卵数0	7周期 (13.2%)	6周期 (14.6%)
採卵数≥1	46周期 (79.3%)	35周期 (60.3%)
成熟卵0	3周期 (5.1%)	2周期 (3.4%)
受精0	3周期 (5.1%)	2周期 (3.4%)
胚凍結0	5周期 (8.7%)	4周期 (6.8%)
採卵中止	5周期 (8.7%)	17例 (29.4%)
	・採卵当日に排卵 4周期 (6.8%)	・黄体期採卵希望なし 7周期 (1.2%)
	・採卵決定までに排卵 1周期 (1.7%)	・卵胞発育停滞により中止 7周期 (1.2%)
		・採卵当日に排卵 3周期 (5.1%)

表2 同一周期2回採卵を実施した40周期のART経過

	卵泡期採卵	黄体期採卵	P値
刺激日数 (日)	11.3±2.3	8.1±3.9	<0.05
HMG投与量 (IU)	936±763	1738±1280	<0.05
≥14mm卵胞数 (個)	2.1±1.0	3.4±1.9	<0.05
採卵数 (個)	1.9±1.4	3.1±2.6	<0.05
成熟卵数 (個)	1.8±1.0	3.1±2.5	<0.05
卵成熟率 (成熟卵数/採卵数)	85.2%	85.6%	0.86
受精率 (正常受精数/成熟卵数)			
total	82.4%	84.2%	0.35
	(n=34)	(n=33)	
c-IVF	82.6%	76.4%	0.31
	(n=12)	(n=11)	
ICSI	82.3%	89.6%	0.20
	(n=22)	(n=22)	
良好胚率 (良好胚数/受精卵数)	76.1%	71.2%	0.22
	(n=32)	(n=31)	

平均±標準偏差

卵巣刺激日数（採卵までに要した日数）は卵胞期採卵 11.3 ± 2.3 日, 黄体期採卵 8.1 ± 3.9 日で卵胞期採卵が有意に長かった (P < 0.05) が, HMG 投与量は卵胞期採卵 936 ± 763 IU, 黄体期採卵 1738 ± 1280 IU で黄体期採卵が有意に多かった (P < 0.05). 卵胞径 14mm 以上の卵胞数は卵胞期採卵 2.1 ± 1.0 個, 黄体期採卵 3.4 ± 1.9 個, 採卵数は卵胞期採卵 1.8 ± 1.0 個, 黄体期採卵 3.1 ± 2.5 個でともに黄体期採卵で有意に多かった (P < 0.05) が, 卵子成熟率は卵胞期採卵 85.2%, 黄体期採卵 85.6% で有意差は認めなかった. また受精率（卵胞期採卵 vs. 黄体期採卵）は, total (82.4% vs. 84.2%), c-IVF (82.6% vs. 76.4%), ICSI (82.3% vs. 89.6%) でいずれも両群に有意差は認めなかった. 受精後 3 日目において Veeck

分類グレード 1-3 の 7 細胞以上の胚を良好胚とした良好胚率 (良好胚数 / 受精卵数) は, 卵胞期採卵 76.1%, 黄体期採卵 71.2% で有意差は認めなかった.

胚凍結まで至った症例を採卵成績良好群とし, 採卵数 0 個または成熟卵 0 個であった症例を採卵成績不良群として卵胞期採卵・黄体期採卵それぞれで比較をおこなった. 両群のホルモン動態を図 5 に示す. 卵胞期採卵では卵巣刺激開始前, 採卵決定時, 採卵当日でのホルモン値すべてで両群に差は認めなかった (図 5 : A・B) が, 黄体期採卵では採卵決定時の E2 値が成績良好群 1395.6 ng/mL, 成績不良群 591.5 ng/mL で成績良好群が有意に高かった (P < 0.05). また, 両群 (成績良好群 vs. 成績不良群) の ART 経過を表 3 に示す. 卵胞期採卵で

表 3 採卵成績良好群と成績不良群の比較

	卵胞期採卵			黄体期採卵		
	良好群 n=31	不良群 n=10	P 値	良好群 n=27	不良群 n=8	P 値
刺激日数 (日)	10.8 ± 1.9	11.8 ± 2.3	0.09	9.3 ± 3.6	2.7 ± 2.0	< 0.05
HMG 投与量 (IU)	947 ± 741	750 ± 471	0.22	2013 ± 1359	450 ± 426	< 0.05
穿刺卵胞数 (個)	2.4 ± 1.0	1.5 ± 0.7	< 0.05	4.9 ± 2.9	3.1 ± 2.0	0.06

平均 ± 標準偏差

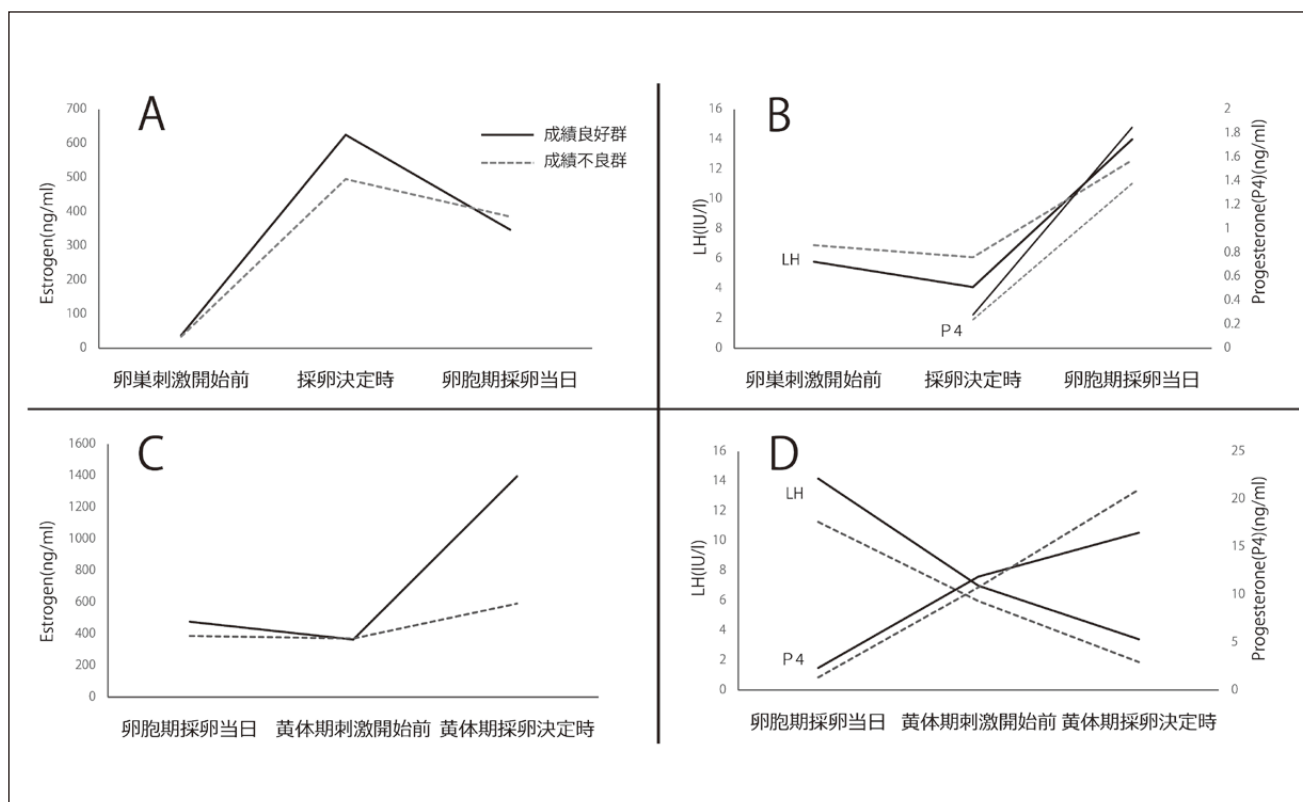


図 5 採卵成績良好群と成績不良群のホルモン動態

は刺激日数(10.8日 vs. 11.8日), HMG投与量(947 IU vs. 750 IU)は両群において差はなかったが, 穿刺卵胞数(2.4個 vs. 1.5個)は成績良好群が有意に多かった( $P < 0.05$ ). 黄体期採卵では, 穿刺卵胞数(4.9個 vs. 3.1個)は両群で差はなかったが, 刺激日数(9.3日 vs. 2.7日), HMG投与量(2013 IU vs. 450 IU)ともに成績良好群が有意に多かった( $P < 0.05$ )

## 考 察

Duo Stimは2014年に初めて提唱されて以降多くの施設で実施され治療成績について報告されているが, 卵巣刺激法や採卵決定時のトリガーなどについてDuo Stimの標準的プロトコルはなく, 個々の施設で選択しているのが現状である. 本検討では, 卵巣予備能低下症例に対してDuo Stimを実施するにあたり, まずプロトコルの作成段階で卵巣刺激法, トリガー, 穿刺卵胞径の目安について考察した.

Duo Stimの卵巣刺激については, クロミフェンやレトロゾールにHMGを併用するもの<sup>3)</sup>や, アンタゴニスト法で実施しているもの<sup>4)</sup>があったが, 本検討では卵胞期採卵の卵巣刺激に関しては卵胞径10mm以上を認めるまで排卵誘発剤の内服もしくは投薬なしでフォローし, 10mm以上の卵胞を認めた段階でHMG投与を開始した. ただし月経中の基礎ホルモン値や胞状卵胞数により卵巣刺激に対する反応が期待できると予測された症例に対しては, 連日の排卵誘発剤内服とHMGの隔日投与によりmild stimulationをおこなった.

採卵決定時のトリガーについては, 通常の1周期1回採卵の場合, 高ゴナドトロピンである卵巣予備能低下症例ではGnRHアゴニスト投与に対する感受性が低下している可能性があり<sup>6)</sup>, recombinant-HCG投与で対応していた. しかし, 卵胞期採卵ではトリガーとしてHCGを投与することにより遺残卵胞が増加し, 次周期以降の卵胞発育に影響を及ぼす可能性があり<sup>7)</sup>, Duo Stimでは黄体期の卵胞発育が停滞する可能性が示唆された. またrecombinant-HCG 250  $\mu$ g, u-HCG 5000 IU, GnRHアゴニスト600  $\mu$ g点鼻投与での三者間で成熟卵子回収率に差はなかったという報告<sup>8)</sup>もあり, 卵胞期採卵はトリガーにGnRHアゴニストを使用した.

黄体期採卵のトリガーは, 卵子成熟率の上昇を期待し<sup>9) 10)</sup> GnRHアゴニストとrecombinant-HCGによるダブルブーストをおこなった. ただし卵胞期採卵・黄体期採卵ともにGnRHアゴニストの単回投与で卵子成熟率に有意差を認めなかったという報告<sup>3) 4)</sup>もあることから, 本検討の黄体期採卵のダブルブーストはover

treatmentの可能性も示唆される. しかしながら, 黄体期採卵は高プロゲステロンにより下垂体抑制状態にあり同容量のGnRHアゴニスト投与により誘発されたLHサーージが黄体期採卵は卵胞期採卵の1/2であった<sup>3)</sup>ことから, 特に卵巣予備能低下症例では十分なブースト効果が得られない可能性が考えられ, さらにHCG投与によるOHSSリスクが高くないことから, 黄体期採卵は原則ダブルブーストが適していると考えられる.

卵胞期採卵の穿刺卵胞径については, 当初14mm以上の卵胞のみを穿刺としていたが, 卵胞期採卵当日に12mm前後であった卵胞が黄体期卵巣刺激開始時に16-18mm前後となり, 十分な卵巣刺激をしないまま採卵決定に至ったほとんどの症例で卵子獲得に至らなかった. また12mm前後の卵胞でも卵子採取と成熟卵子獲得が期待できる<sup>11)</sup>ことから, 卵胞期採卵の穿刺卵胞径は12mm以上のものとし, 黄体期採卵で十分な卵巣刺激ができるよう試みていく必要があると考える.

卵巣刺激日数については, 卵胞期採卵と黄体期採卵で差を認めなかった<sup>4)</sup>, 卵胞期採卵より黄体期採卵のほうが有意に長かった<sup>3)</sup>など報告があるが, 本検討では卵胞期採卵より黄体期採卵のほうが刺激日数が有意に短い結果となった. この理由として, 本検討ではDuo Stim実施の目的を卵胞期採卵の不均一卵胞を黄体期採卵で回収することを主とした点が挙げられる. 本検討のDuo Stimプロトコルでは卵胞期採卵は10mm以上の卵胞を認めるまでHMG投与は開始しないが, 黄体期採卵では卵胞期採卵の翌々日診察時にすでに10mm以上の卵胞を認める症例が多かったため, 結果として卵胞期採卵より黄体期採卵のほうがスケジュール開始から採卵まで至る日数が短くなったと考えられる.

黄体期採卵のHMG投与量については, 黄体期採卵で回収された卵子あたりのHMGの平均投与量(total HMG/採卵数)は, 卵胞期採卵で回収された卵子あたりのHMG平均投与量のほぼ2倍であると報告されている<sup>12)</sup>ことから, 多くの症例で卵胞期採卵よりもHMG投与量を増やし卵巣刺激を開始した. HMG投与量は卵胞期採卵より黄体期採卵が有意に多かったという報告<sup>3) 4)</sup>が多く, この原因として黄体期採卵は高プロゲステロン状態にありHMG刺激に対する卵巣の反応が卵胞期採卵に比べ低下しているためと考えられる. そのため, 黄体期卵巣刺激開始後もエストロゲン値の上昇がなくプロゲステロン値が上昇していたり, 超音波所見で黄体径の縮小がみられない場合などは卵胞発育に時間を要する可能性があり, 早い段階でプロゲステロン値と黄体退縮に留意してHMG投与量・投与期間を必要最小限にコントロールすることが今後の課題である.



採卵数については、卵胞期採卵と黄体期採卵で差を認めなかった<sup>4)</sup>、卵胞期採卵より黄体期採卵のほうが有意に多かった<sup>3)</sup>などの報告があるが、本検討では卵胞期採卵より黄体期採卵のほうが採卵数が有意に多い結果となった。この理由として、卵胞期採卵は原則12mm以上の卵胞のみを穿刺しているのに対して、黄体期採卵では穿刺しうる卵胞はすべて穿刺していること、および黄体期のトリガーをデュアルトリガーとしたことで、小卵胞からも卵子が得られ獲得卵子数が卵胞期採卵よりも多くなった可能性が考えられる。

本検討では卵胞期採卵と黄体期採卵ともに採卵に至った40周期のうち26周期(65%)でDuo Stimにより1周期1回採卵と同等かそれ以上の獲得卵子・胚の増加が認められたが、一方で卵胞期採卵または黄体期採卵で採卵数0個または成熟卵0個で卵子獲得に至らなかった採卵成績不良群も認めた。卵胞期採卵の採卵成績良好群と成績不良群のホルモン動態に有意な差はなかったものの、卵巣刺激開始前から採卵決定時および採卵当日のエストロゲン値とLH値の変化が成績不良群では緩やかであり、GnRH アゴニストによるLHサージが不十分であった可能性が考えられる。この場合は排卵のリスクを十分説明した上でトリガーから採卵までの時間を36～39時間まで延長したり<sup>13)</sup>、早期排卵が予想される症例では黄体期採卵の卵胞発育が停滞する可能性を説明した上で卵胞期採卵のトリガーにHCGを使用することを考慮しなければならない。黄体期採卵の採卵成績不良群に関しては、前述のとおり卵胞期採卵での穿刺卵胞径を工夫し黄体期採卵で十分な卵巣刺激をおこなうことで、回収卵子数の改善を期待したい。

本検討では、Duo Stim実施症例の妊娠成績および児の予後については未だ検討に至っていないが、妊娠率については卵胞期採卵と黄体期採卵で得られた卵子で統計的有意差はみられず<sup>3) 4)</sup>、また黄体期採卵で得られた卵子から生まれた児についても先天異常率は卵胞期採卵と差がないといわれている<sup>14)</sup>。今後症例の蓄積を重ね長期予後についても検討したい。

今回、卵巣予備能低下症例に対してDuo Stimを実施した結果、採卵成績不良群からみる卵胞期採卵のトリガーの選択や方法、黄体期採卵の卵胞モニターやホルモン動態の管理など課題も多く挙げられたが、多くの症例でより短期間で多くの卵子や胚を獲得することができた。Duo Stimは卵巣予備能低下症例のART治療において、その成績を向上しTime-To-Live-Birthを短縮するための有益な選択肢の一つになると考えている。

## 参考文献

- 1) Ata B, Kaplan B, Danzer H, Glassner M, Opsahl M, Tan, SL, Munné S: Array CGH analysis shows that aneuploidy is not related to the number of embryos generated. *Reprod Biomed Online*, 24: 614-620, 2012.
- 2) Cakmak H, Katz A, Cedars MI, Rosen MP.: Effective method for emergency fertility preservation. *Fertil Steril* 100: 1673-1680, 2013.
- 3) Kuang Y, Chen Q, Hong Q, Lyu Q, Ai A, Fu Y, Shoham Z. : Double stimulations during the follicular and luteal phases of poor responders in IVF/ICSI programmes (Shanghai protocol). *Reprod Biomed Online*, 29: 684-691, 2014.
- 4) Ubaldi FM, Capalbo A, Vaiarelli A, Cimadomo D, Colamaria S, Alviggi C, Trabucco E, Venturella R, Vajta G, Rienzi L.: Follicular versus luteal phase ovarian stimulation during the same menstrual cycle (Duo Stim) in a reduced ovarian reserve population results in a similar euploid blastocyst formation rate: new insight in ovarian reserve exploitation. *Fertil Steril*, 105: 1487-1495, 2016.
- 5) Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L.: ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum. Reprod.* 26 (7) : 1616-24, 2011.
- 6) Kuroda K, Kitade M, Kumakiri J, Jinushi M, Shinjo A, Ozaki R, Ikemoto Y, Katoh N, Takeda S.I.: Minimum ovarian stimulation involving combined clomiphene citrate and estradiol treatment for in vitro fertilization of Bologna-criteria poor ovarian responders. *J Obstet Gynaecol Res*, 42: 178-183, 2016.
- 7) Fukuda J, Abe T, Okuno T, Kobayashi T, Kato K.: Administering human chorionic gonadotropin injections for triggering follicle maturation could impact fertility during the subsequent menstrual cycle. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 132 (3) : 309-313, 2016.
- 8) Nakagawa K, Oba M, Ehara K, Ishigaki N, Ino N, Itakura A, Tsutsumi R, Nakao K, Ojiro Y, Sugiyama R.: Clinical outcomes of assisted reproductive technology treatment by using a self-injection of recombinant human chorionic gonadotropin as the final maturation trigger. *Reprod Med Biol*, 17: 203-208, 2018.
- 9) Griffin D, Feinn R, Engmann L, Nulsen J, Budinetz T, Benadiva C.: Dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and standard dose human chorionic gonadotropin to improve oocyte maturity rates. *Fertil Steril*, 102: 405-409, 2014.
- 10) Zhang J, Wang Y, Mao X, Chen Q, Hong Q, Cai R, Zhang S, Kuang Y.: Dual trigger of final oocyte maturation in poor ovarian responders undergoing IVF/ICSI cycles. *Reprod Biomed Online*, 35: 701-707, 2016.
- 11) 奥原彩也香・小熊惇平・加藤泰宏・佐藤渚・小川奈津・野尻由香・松浦大創・野村昌男・古井憲司: 採卵時卵胞径の違いによる胚発生能について. *日IVF会誌*, 21 (2) : 72, 2018.
- 12) Buendgen NK, Schultze-Mosgau A, Cordes T, Diedrich K, Griesinger G.: Initiation of ovarian stimulation independent of the menstrual cycle: a case-control study. *Arch Gynecol Obstet*, 288: 901-904, 2013.



- 13) 伊藤正典・加藤恵一：完全自然周期法・CC 单独法. 臨婦産, 73 (7) : 655-664, 2019.
- 14) Chen H, Wang Y, Lyu Q, Ai A, Fu Y, Tian H, Cai R, Hong Q, Chen Q, Shoham Z, Kuang Y. : Comparison of Live-Birth Defects After Luteal-Phase Ovarian Stimulation vs. Conventional Ovarian Stimulation for in Vitro Fertilization and Vitrified Embryo Transfer Cycles. *Fertil Steril*, 103 (5) : 1194-1201. e2, 2015.

# 体外受精における精液酸化還元電位を用いた受精予測

長谷川 久隆, 鈴木 亮祐, 塚本 佳奈, 菊本 晃代, 小林 充, 京谷 利彦, 小林 淳一

神奈川レディースクリニック 〒221-0822 神奈川県横浜市神奈川区西神奈川1-11-5 ARTVISTA 横浜ビル

**要旨：** 精液酸化ストレスマーカーとして酸化還元電位 (oxidation reduction potential: ORP) の有用性が報告されている。本研究ではORPによるcIVFの受精予測が可能か検討した。解析の結果, 静的ORP (static ORP: sORP) は受精に影響を及ぼす因子であった(オッズ比: 0.42, 95%CI: 0.25-0.72)。cIVFの受精において, ROCカーブのsORPカットオフは2.23であり, AUCは0.687であった。sORPカットオフ未満の症例のcIVF受精率は79.2%でカットオフ以上の症例(40.0%)に比べ有意に高く, ICSIの受精率はカットオフ前後の症例間で有意差はなかった。よってORPによる受精予測は可能であることが示唆され, sORP 2.23以上の症例ではICSIを選択することで受精率を向上させると考えられた。

**キーワード：** 酸化還元電位, 酸化ストレス, MiOXSYS, IVF, ICSI

## 緒言

酸化ストレスは, 活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) の過剰な生産または抗酸化物質の欠乏により発生する。精液中の酸化ストレスは男性不妊の指標の一つと言われており, 精液中の高いROSは, 細胞膜やDNAの損傷による精子の質の低下を引き起こし男性不妊の原因の一つとなることが報告されている<sup>1-4)</sup>。精液中の酸化ストレスの評価法はこれまで, ROS, 抗酸化能, 脂質過酸化マーカーについてそれぞれ単体を測定する方法が用いられてきた。不妊男性では精液中のROSが高く<sup>5)</sup>, 抗酸化物質の濃度が低い<sup>6,7)</sup>ことが報告されているが, 酸化ストレスは酸化物質の活性が抗酸化物質の活性を上回る酸化還元状態を指し<sup>8)</sup>, 精液中の酸化力のみではなく, 抗酸化力(還元力)とのバランスを総合的に評価することが望ましい。2016年Agarwalらにより報告されたMiOXSYS<sup>TM</sup> systemは, 酸化力と抗酸化力の関係の指標である酸化還元電位 (oxidation reduction potential: ORP) として精液中の酸化ストレスを数値化する機器である。ORPは精子濃度, 運動率, 運動速度などの精液所見のパラメータと逆相関を示し, 妊孕性に関与していることが報告された<sup>9)</sup>。これまで先行研究により, ROSと体外受精における受精の関連が報告されており, ROSの体外受精における低受精の予測因子としての可能性が示されている<sup>10)</sup>。本研究では, 新規酸化ストレスマーカーであるORPを用いて体外受精における受精予測が可能かを明らかにすることを目的とした。

## 対象と方法

### 対象

2019年4月から7月までの間に神奈川レディースクリニックにて初回採卵を行い, split媒精を施行した19症例, 成熟卵266個 (cIVF: 112個, ICSI: 154個) を対象とした。

### 精液の解析と精子調整

精液所見は精子運動解析装置SMAS (DITECT社) を用いて解析した。精液ORPはMiOXSYS (Aytu BioScience社) を用いて測定した。得られた静的ORP (static ORP: sORP) を, 既報<sup>11)</sup>に基づき精子濃度で割り, 精子数の違いを正規化した。正規化したsORPは単位をmV/10<sup>6</sup> sperm/mlとし, 解析に使用した。精子の調整にはFertilization Medium (COOK社) を用いswim up法により調整した。

### 媒精および受精確認

cIVFの媒精はFertilization Medium (COOK社) を用い, 5.0 × 10<sup>4</sup>/mlの精子濃度で行った。媒精5時間後に卵丘細胞を除去し, この時点で第一極体または第二極体を放出しており成熟が確認できた卵子のみを以降の解析の対象とした。ICSIは, 卵丘細胞裸化処理後, 紡錘体の有無をIX73/IX-3-IMSI (Olympus社) により確認し施行した。紡錘体が観察された第二減数分裂中期の成熟卵のみを以降の解析の対象とした。ICSIは, ピエゾマイクロマニピュレーター PMM4G/ドライブユニッ

受付 2020年7月6日 / 受理 2020年8月12日

責任著者: 長谷川 久隆 e-mail [h.hasegawa@klc.jp]

トMB-S (プライムテック社) を用いて行った。cIVFの卵丘細胞除去後、およびICSI後の卵子の培養にはGlobal total (LifeGlobal社) を用い、受精の確認はEmbryoscope+ (Vitrolife社) により行った。

### 統計解析

連続データは中央値 (25-75パーセンタイル値) で表した。算出したsORPおよび受精結果の関連について、以下の解析を行った。

- ① cIVFを施行した112個の卵子に関して多重ロジスティック回帰分析を行い、受精に影響する変数を特定した (説明変数: 妻年齢, 原精液精子濃度, 原精液精子運動率, 総運動精子数, sORP)。
- ② cIVFを施行した112個の卵子に関して, ROCカーブを用いて受精を最も予測するsORP基準 (カットオフ, 曲線下面積, 特異度, 感度) を同定した。
- ③ sORPのカットオフ前後のcIVFおよびICSIの受精率を解析し比較検討した, 受精率の比較はカイ二乗検定により行った。

以上の統計解析はR ver3.3.2を用いて行った。

## 結果

19症例の妻年齢の平均値±SDは36.9±5.3歳であった。原精液精子濃度の平均値±SDは58.5±60.8×10<sup>6</sup>/ml, 原精液精子運動率の平均値±SDは50.6±15.8%, 原精液総運動精子数の平均値±SDは80.9±75.6個であった。sORPの平均値±SDは2.08±2.12mV/10<sup>6</sup> sperm/mlであった。

- ① 多重ロジスティック回帰分析の結果を表1示す。年齢, 原精液精子濃度, 原精液精子運動率, 原精液総運動精子数で補正した結果, sORPはcIVFの受精に影響を及ぼす因子であり, sORPの上昇は受精を有意に減少させた (オッズ比0.421, 95%信頼区間0.252-0.71, P=0.00116)。
- ② 作成したROCカーブを図1に示す。cIVFの受精に関するsORPのカットオフを2.23 mV/10<sup>6</sup> sperm/mlとすると, AUCは0.687, 特異度0.880, 感度0.541, 95%CI 0.568-0.806であった。
- ③ 各媒精法の受精率はcIVF 67.0% (75/112), ICSI 91.6% (141/154) であり, cIVFで有意に低率であった (P<0.001)。各媒精法のsORPカットオフ前後の受精率を図2に示す。cIVFにおける受精率は, sORPカットオフ未満の症例 (79.2%) に比較し, カットオフ以上の症例 (40.0%) で有意に低率であった (P=0.000043)。ICSIにおける受精率は,

表1 ロジスティック回帰分析とcIVF受精への回帰

	オッズ比	95%信頼区間	P値
年齢	1.140	0.956-1.35	0.147
原精液精子濃度	0.989	0.971-1.01	0.260
原精液精子運動率	1.010	0.969-1.06	0.567
原精液総運動精子数	0.999	0.983-1.01	0.869
sORP	0.421	0.252-0.71	0.00116

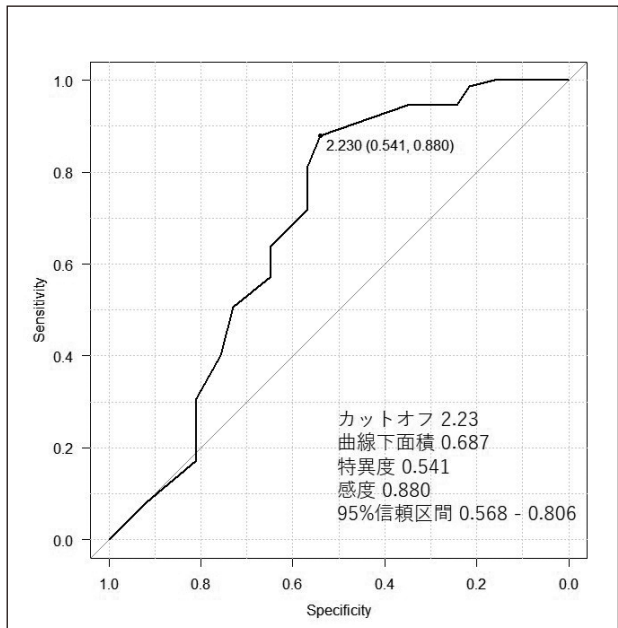


図1 sORPのROCカーブ

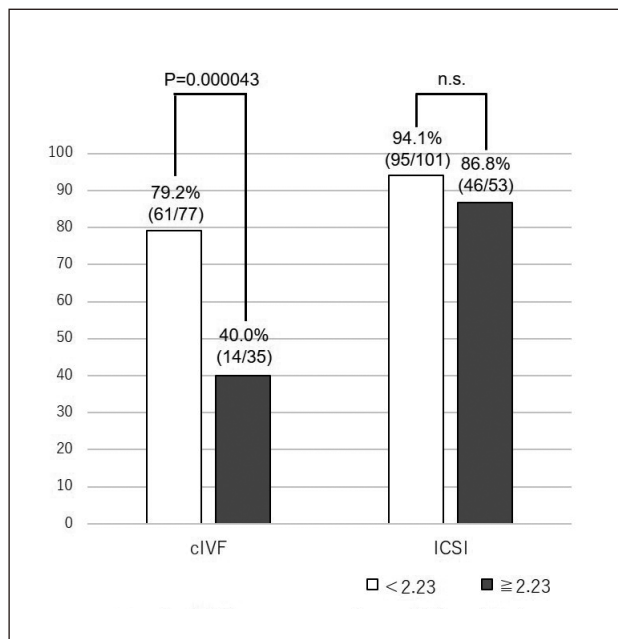


図2 各受精法のsORPカットオフ前後の受精率

カットオフ未満の症例 (94.1%)と、カットオフ値以上の症例 (86.8%)で有意な差は認められなかった。

## 考 察

体外受精における媒精法は、一般的に原精液のパラメーターにより決定されている<sup>12-14)</sup>。しかし、多重ロジスティック回帰分析の結果、本研究でsplit媒精適用とした精液所見良好な症例においては、原精液精子濃度、原精液精子運動率および原精液総運動精子数に有意差は認められず、cIVFの受精の予測因子ではなかった。一方、sORPでは有意な差が認められ、さらにROCカーブからカットオフを $2.23 \text{ mV}/10^6 \text{ sperm/ml}$ とした場合、cIVFでのみカットオフ以上の症例で受精率が有意に低下し、ICSIでは受精率に有意な差は認められなかった。これらのことから精液所見が良好な症例に対して、cIVFにおいて受精の独立した強力な予測因子であり、sORPを媒精法の決定に用いることの有用性が示唆された。

酸化還元系のバランスは、成熟精子におけるクロマチン凝縮、キャパシテーション、ハイパーアクチベーション、先体反応、精子—卵子融合などの必須生理機能の為に重要である<sup>15-17)</sup>。過剰なROSが生産される、または抗酸化活性が下がると、酸化還元系が破壊され酸化ストレス状態となり、脂質過酸化、DNA損傷、アポトーシスの誘導を引き起こす<sup>18)</sup>。また、脂質過酸化は精子の濃度および運動性に悪影響を及ぼすことが報告されている<sup>19)</sup>。ROSに関しては、cIVFにおける受精との関連があることが報告されており<sup>20)</sup>、本研究も酸化ストレスによる精子の運動性の低下がcIVFの受精率を低下させるという報告を支持するものである。

本研究では、受精後の胚発育に関する評価を行っていない。ROSについての研究では、ICSIにおいては受精については関連が認められないが、胚発育を予測する可能性が報告されており、これは酸化ストレスによる精子DNAの損傷による長期的な影響であると考えられている<sup>21)</sup>。sORPもROSと同様に精子DNAの断片化との負の相関が報告されており<sup>22)</sup>、胚発育にも関連を持つ可能性がある。

本研究では、精液ORPを用いた受精予測が可能であることが示唆された。sORPが $2.23 \text{ mV}/10^6 \text{ sperm/ml}$ を上回る症例に対しては、ICSIを施行することによって受精率が向上する可能性が示された。sORPを用いた受精予測の利点として、ROSや抗酸化物質と比較し検査が簡便かつ迅速に行える点が挙げられる。sORPの測定は少量 (30 $\mu\text{l}$ )の精液を使用し、リアルタイム (5

分未満)で結果が得られる。これは、採卵当日のIVFラボにおける酸化ストレス評価に非常に有用であり、従来の原精液のパラメーターに加え、治療に用いる原精液の酸化ストレス状態を考慮した媒精法の決定を可能にするものと考えられる。

## 謝 辞

本研究の遂行にあたり多くの御指導を頂いた、横浜市立大学附属市民総合医療センター生殖医療センター泌尿器科准教授 湯村寧先生に深謝申し上げます。

## 参 考 文 献

- 1) Guthrie H, Welch G : Effects of reactive oxygen species on sperm function. *Theriogenology*, 78: 1700-1708, 2012.
- 2) Walczak-Jedrzejowska R, Wolski JK & Slowikowska-Hilczer J : The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Cent European J Urol*, 66: 60-67, 2013.
- 3) Aitken RJ, Smith TB, Jobling MS, Baker MA, De Iulius GN : Oxidative stress and male reproductive health. *Asian J Androl*, 16: 31-38, 2014.
- 4) Aitken RJ, Gibb Z, Baker MA, Drever J, Gharagozloo P : Causes and consequences of oxidative stress in spermatozoa. *Reprod Fertil Dev*, 28: 1-10, 2016.
- 5) de Lamirande E, Gagnon C : Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum Reprod*, 10 (Suppl. 1) : 15-21, 1995.
- 6) Sharma R K, Pasqualotto F F, Nelson D R, Thomas A J Jr, Agarwal A : The reactive oxygen species-total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. *Hum Reprod*, 14: 2801-2807, 1999.
- 7) Roychoudhury S, Sharma R, Sikka S, Agarwal A : Diagnostic application of total antioxidant capacity in seminal plasma to assess oxidative stress in male factor infertility. *J Assist Reprod Genet*, 33: 627-635, 2016.
- 8) McCord J M : The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med*, 108: 652-659, 2000.
- 9) Agarwal A, Sharma R, Roychoudhury S, Du Plessis S, Sabanegh E : MiOXSYS: a novel method of measuring oxidation reduction potential in semen and seminal plasma. *Fertil Steril*, 106: 566-573, 2016.
- 10) Sukcharoen N, Keith J, Irvine DS, Aitken RJ : Prediction of the in-vitro fertilization (IVF) potential of human spermatozoa using sperm function tests: the effect of the delay between testing and IVF. *Hum Reprod*, 11 (5) : 1030-1034, 1996.
- 11) Agarwal A, Roychoudhury S, Sharma R, Gupta S, Majzoub A, Sabanegh E : Diagnostic application of oxidation-reduction potential assay for measurement of oxidative stress: clinical utility in male factor infertility. *Reprod Biomed Online*, 34: 48-57, 2017.

- 12) Borges E Jr, Setti AS, Braga DP, Figueira RC, Iaconelli A Jr : Total motile sperm count has a superior predictive value over the WHO 2010 cut-off values for the outcomes of intracytoplasmic sperm injection cycles. *Andrology*, 4: 880-886, 2016.
- 13) Babigumira JB, Sharara FI, Garrison LP Jr : Projecting the potential impact of the Cap-Score™ on clinical pregnancy, live births, and medical costs in couples with unexplained infertility. *J Assist Reprod Genet*, 35: 99-106, 2018.
- 14) Blickenstorfer K, Voelkle M, Xie M, Fröhlich A, Imthurn B, Leeners B : Are WHO recommendations to perform 2 consecutive semen analyses for reliable diagnosis of male infertility still valid? *J Urol*, 201: 783-791, 2019.
- 15) de Lamirande E, Gagnon C : Human sperm hyperactivation and capacitation as parts of an oxidative process. *Free Radic Biol Med*, 14: 157-166, 1993.
- 16) Du Plessis S S, Agarwal A, Halabi J, Tvrda E : Contemporary evidence on the physiological role of reactive oxygen species in human sperm function. *J Assist Reprod Genet*, 32: 509-520, 2015.
- 17) Wright C, Milne S, Leeson H : Sperm DNA damage caused by oxidative stress: modifiable clinical, lifestyle and nutritional factors in male infertility. *Reprod Biomed Online*, 28: 684-703, 2014.
- 18) Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA : Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*, 79 (4) : 829-843, 2003.
- 19) Zabludovsky N, Eltes F, Geva E, Berkovitz E, Amit A, Barak Y, Bartoov B : Relationship between human sperm lipid peroxidation, comprehensive quality parameters and IVF outcome. *Andrologia*, 31 (2) : 91-98, 1999.
- 20) Zorn B, Vidmar G, Meden-Vrtovec H : Seminal reactive oxygen species as predictors of fertilization, embryo quality and pregnancy rates after conventional in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Int J Androl*, 26 (5) : 279-285, 2003.
- 21) Kuroda S, Takeshima T, Takeshima K, Usui K, Yasuda K, Sanjo H, Kawahara T, Uemura H, Murase M, Yumura Y : Early and late paternal effects of reactive oxygen species in semen on embryo development after intracytoplasmic sperm injection. *Syst Biol Reprod Med*, 54 (1) : 47-54, 2020.
- 22) Homa ST, Vassiliou AM, Stone J, Killeen AP, Dawkins A, Xie J, Gould F, Ramsay JWA : A comparison between two assays for measuring seminal oxidative stress and their relationship with sperm DNA fragmentation and semen parameters. *Genes (Basel)* , 10: E236, 2019.



# 精液の低温暴露によって起こる精子運動性の低下を防ぐ工夫 ～フードコンテナを用いた精液の保温効果と 20℃での精液保存の影響について～

岸田 拓磨, 菊地 裕幸, 山田 健市, 菅野 弘基, 岸田 理英, 佐藤 那美, 結城 笑香,  
吉津 葵, 佐々木 郁弥, 片桐 未希子, 吉田 仁秋

仙台 ART クリニック 〒983-0864 宮城県仙台市宮城野区名掛丁 206-13

**要旨：** 精液を低温保存することで、精子の運動性の低下が報告されている。検討1では、精液を5℃の環境で1時間保存する際、フードコンテナによる保温が精子の運動性を改善するか検討し、検討2では、精液を20℃で1時間保存することによる精子の運動性への影響について調査した。検討1：フードコンテナを用いた群の精子運動率、前進運動率、調整後の精子濃度は、フードコンテナを用いなかった群と比較して有意に高かった。検討2：20℃群の精子運動率、前進運動率は25℃群と比較して有意に低かったが、症例の中には20℃と25℃で保存後の精子の前進運動率がほぼ同等の成績を有する症例もあった。今回、低温環境でフードコンテナによる精液の保温は精子運動性の維持に有効であることと、20℃以下の精液の保存は、精子運動性の低下を引き起こす可能性があることが判明した。

**キーワード：** 精液, 精子運動性, 低温保存, フードコンテナ

**ランニングヘッド：** 低温下での精液保存方法の改善について

## 緒言

我々は以前に、AIHを行った症例の精液検査結果を比較して、冬期に自宅採精した精液は、夏期に採取した精液や、冬期に院内採精した精液よりも精子運動率と調整後の運動精子濃度が低下することを報告<sup>1)</sup>し、これは自宅から病院へ移動中に精液が冷気に曝されることが原因ではないかと推測した。ARTにおいて調整後の運動精子濃度の低下は、コンベンショナルIVFを希望する患者であっても、ICSIを選ばざるを得なくなり、治療の選択の幅が狭まってしまう可能性がある。

精液を低温保存することにより、精子の運動性に負の影響を及ぼすことは以前から報告されている<sup>2-4)</sup>。そのため今回我々は、自宅からの移動中に精液を保温することで、精子運動率や調整後の運動精子濃度の低下が改善されるのではないかと考え、検討を行った。

本研究の予備調査として、自宅から病院までの所要時間について、患者に対しアンケート調査を行い、保温効果が何時間持続する必要があるのか調査した。その結果、平均所要時間は34.5分であり、90%の患者で1時間以内との回答が得られた(未発表データ)。この結果から、今回の研究での保存時間を1時間と設定した。

保温方法は、精液採取カップを断熱することが容易な方法であると考え、フードコンテナ(JBU-380, THERMOS, 底面内径80 mm, 容積380ml, 図1)の中に精液採取カップを入れて保温することを試みた。フードコンテナは魔法瓶構造になっており、優れた保温能力を有する<sup>5)</sup>。しかし、数ml程度のごく少量である精液の保温に有効であるかは不明である。



図1 今回使用したフードコンテナ(右, JBU-380, THERMOS, 底面内径 80 mm, 容積 380 ml)と精液採取カップ(左, 底面直径 40 mm, 容積 70 ml)

受付 2020年7月8日/受理 2020年8月6日

責任著者: 岸田 拓磨 e-mail [labo@sendai-art-cl.jp]

一方で、これまでの精液の低温保存に関する研究<sup>2-4)</sup>は、精液を4～5℃で保存しており、何℃以下であれば精子の運動性に影響を及ぼすのか報告した研究は見当たらず、精液保存の適温は明らかになっていない。仮に、冬期の一般家庭における室温と想定される20℃前後の温度でも、精子の運動性に影響を及ぼす場合、採精直後から保温するなどの対処が必要になってくる。

今回の研究は、精液保存方法の改善を目的として、(1) 精液を低温保存することで引き起こされる精子運動性への負の影響が、フードコンテナによる精液の保温で改善されるか、(2) 精液を20℃で保存することによる精子の運動性への影響、について調査した。

## 対象と方法

2018年3月から2020年1月に、当院にて採精し、液化のために20分以上25℃で保管後、精液検査を実施した症例の余剰精液を用いた。なお、本研究はインフォームドコンセントを行い、研究使用に同意が得られた22症例を対象とし、仙台ARTクリニックの倫理委員会の承認を得て行った(承認番号1903)。

精液検査について、精液量はシリンジ法を用いて測定し、精子濃度、運動精子濃度、前進運動精子濃度はISAS<sup>®</sup> disposable counting chamber (PROiSER)を用いて目視でカウントした。今回の研究において、濃度カウントは全て同一の胚培養士が実施した。

精子調整は25℃の室内環境下で密度勾配遠心法を用いて行った。精液を5mlのSepaSperm<sup>®</sup> Solution (KITAZATO)に重層し、300gで20分間遠心分離を行った。遠心分離後、上澄みを除去し、沈渣を5mlのSepaSperm<sup>®</sup> Wash Solution (KITAZATO)で懸濁し、300gで5分間遠心分離を行った。最終的に液量が0.5mlになるように上澄みを除去した。

検討1：精液を低温保存することによる精子運動性への影響と、フードコンテナによる精液保温の効果について

精液を三等分し、5mlチューブ(FALCON)に入れ、下記の条件下で1時間保存した。

25℃群：チューブを25℃で保存

5℃コンテナ群：チューブをフードコンテナに入れ、5℃で保存

5℃群：チューブを5℃で保存

保存後の精液温度と、運動率、前進運動率、調整後の精子濃度と運動率を各群間で比較した。なお、フードコンテナは25℃の室内に保管していたものを使用し、精液温度は市販のデジタル水温計(精度±1℃)を用いて測定した。

検討2：精液を20℃で保存することによる精子の運動性への影響

精液を1mlずつ精液採取カップ(底面直径40mm, 容積70ml)に分注し、下記の条件下で1時間保存した。

25℃群(対照群)：精液採取カップを25℃で保存

20℃群：精液採取カップを20℃で保存

保存後の運動率と前進運動率、調整後の精子濃度と運動率を比較した。また、症例ごとに前進運動率比(20℃で保存後の前進運動率/25℃で保存後の前進運動率)を求め、保存温度の低下によって起こる前進運動率の変化に個体差があるのか調査した。

各種の設定温度について、25℃は室内(実測24.0℃～26.0℃)で保存し、5℃、20℃は冷蔵庫で保存した。冷蔵庫内の実測温度は、開扉の影響で保存開始直後は設定温度から2℃ほど上昇したが、その後は設定温度±1.0℃を推移し安定していた。

統計解析にはフリードマン検定とボンフェローニの多重比較検定、マン・ホイットニーのU検定、ウィルコクソンの符号順位検定を用い、有意水準を5%として有意差検定を行なった。

## 結果

各検討に使用した症例の患者背景、研究使用前の精液検査結果を表1に示した。

検討1

検討1の結果を表2に示した。

それぞれの条件下で1時間保存後の精液温度の中央値は、25℃群が25.0℃、5℃コンテナ群が20.7℃、5℃群が10.9℃であり、5℃群が他の2群よりも有意に低かった(P<0.05)。5℃コンテナ群は25℃群よりも有意に低かった(P<0.05)。

各群の1時間保存後の運動率と前進運動率、調整後の精子濃度の中央値について、25℃群はそれぞれ56.6%、38.9%、 $18.8 \times 10^6$ 個/ml、5℃コンテナ群は

表 1 各検討に用いた検体の患者背景と精液検査結果

	検討 1	検討 2
使用検体数	12	10
年齢 (歳)	38.0 [27 - 44]	33.0 [27 - 39]
禁欲期間 (日)	3 [2 - 5]	3 [1 - 7]
精液量 (ml)	3.9 [3.4 - 7.8]	3.0 [2.2 - 6.0]
精子濃度 ( $\times 10^6$ 個/ml)	30.0 [20.0 - 92.0]	32.5 [16.0 - 88.0]
運動率 (%)	64.3 [37.5 - 75.0]	56.9 [42.0 - 75.5]
前進運動率 (%)	51.9 [20.8 - 62.5]	42.7 [33.3 - 65.0]

中央値 [最小値 - 最大値]

表 2 精液の冷蔵保存による精子運動性への影響とフードコンテナによる精液保温の効果 (検討 1)

	25 °C群	5 °Cコンテナ群	5 °C群	P値			
				25 °C群 vs. 5 °Cコンテナ群	25 °C群 vs. 5 °C群	5 °Cコンテナ群 vs. 5 °C群	
保存温度	25°C	5°C	5°C				
フードコンテナの使用	無し	有り	無し				
1時間 保存後	精液温度 (°C)	25.0 <sup>a</sup> [24.2 - 26.3]	20.7 <sup>b</sup> [19.0 - 22.5]	10.9 <sup>c</sup> [9.2 - 13.5]	0.008	0.002	0.008
	運動率 (%)	56.6 <sup>a</sup> [36.4 - 78.3]	52.1 <sup>a</sup> [39.2 - 72.7]	43.2 <sup>b</sup> [27.8 - 69.6]	1.000	0.004	0.002
	前進運動率 (%)	38.9 <sup>a</sup> [18.2 - 69.6]	43.7 <sup>a</sup> [16.1 - 59.1]	7.5 <sup>b</sup> [0.0 - 22.2]	1.000	0.002	0.002
精子 調整後	精子濃度 ( $\times 10^6$ 個/ml)	18.8 <sup>a</sup> [5.0 - 32.0]	16.8 <sup>a</sup> [5.0 - 35.0]	3.5 <sup>b</sup> [1.0 - 13.0]	0.453	0.002	0.002
	運動率 (%)	85.7 [66.7 - 96.7]	86.8 [66.7 - 96.3]	81.7 [71.4 - 100]	1.000	1.000	0.45

中央値 [最小値 - 最大値]

<sup>a, b, c</sup>: 同項目の異符号間に有意差あり (フリードマン検定)

52.1 %, 43.7 %,  $16.8 \times 10^6$  個/ml, 5 °C群は 43.2 %, 7.5 %,  $3.5 \times 10^6$  個/mlであり, それぞれの項目において 5 °C群が他の2群よりも有意に低かった ( $P < 0.05$ ) が, 25 °C群と 5 °Cコンテナ群の間には有意な差は認められなかった. 調整後の運動率については3群間で有意な差は認められなかった.

#### 検討 2

20 °C群の1時間保存後の運動率と前進運動率, 調整

後の精子濃度の中央値はそれぞれ 40.0 %, 22.2 %,  $2.3 \times 10^6$  個/mlであり, 対照群である 25 °C群の結果 (それぞれ 55.5 %, 46.6 %,  $6.5 \times 10^6$  個/ml) よりも有意に低かった ( $P < 0.05$ ). 調整後の運動率については, 20 °C群が 81.0 %, 25 °C群が 90.0 % であり有意な差は認められなかった (表 3). 症例ごとの前進運動率比は, 中央値が 0.52, 最小値が 0, 最大値が 1.04 であり, 保存温度を 25 °C から 20 °C に低下させることで, 前進運動率の変化に個体差が認められた (図 2).

## 考 察

今回の研究は、精液保存方法の改善を目的として、フードコンテナによる保温の効果と、精液保存温度を20℃とした場合の精子運動性への影響について調査した。

精液の低温保存に関する研究は以前から報告されており、いずれの研究でも低温保存によって運動率の低下が引き起こされることを報告している<sup>2-4)</sup>。今回の研究では運動率の低下に加え、精子調整後の精子濃度の低下

が引き起こされることも明らかとなった。当院では精子調整に密度勾配遠心法を採用しているが、密度勾配遠心法では成熟精子と未成熟精子の比重の違い（成熟精子；1.1 g/ml以上、未成熟精子；1.09 g/ml以下）を利用して、良好精子の選別を行なっている<sup>6)</sup>。そのため、今回の研究で見られた調整後の精子濃度の低下は、成熟精子の比重が軽くなったことが原因と推測される。細胞を低温保存すると、細胞内外のイオン濃度を調整しているNa,K-ATPaseの活性が低下する<sup>7)</sup>。その後Naイオンの細胞内流入が起こり、細胞外自由水が流入し、細胞の

表3 精液を20℃で1時間保存することによる精子の運動性への影響（検討2）

		25℃群	20℃群	P値
1時間 保存後	運動率 (%)	55.5 <sup>a</sup> [43.8 - 74.6]	40.0 <sup>b</sup> [15.8 - 68.5]	0.004
	前進運動率 (%)	46.6 <sup>a</sup> [29.4 - 64.4]	22.2 <sup>b</sup> [ 0 - 55.6]	0.004
精子 調整後	精子濃度 (×10 <sup>6</sup> 個/ml)	6.5 <sup>a</sup> [ 1.6 - 10.2]	2.3 <sup>b</sup> [ 0.4 - 7.8]	0.027
	運動率 (%)	90.0 [69.0 - 100]	81.0 [67.0 - 100]	0.076

中央値 [最小値 - 最大値]

a, b: 同項目の異符号間に有意差あり（ウィルコクソンの符号順位検定）

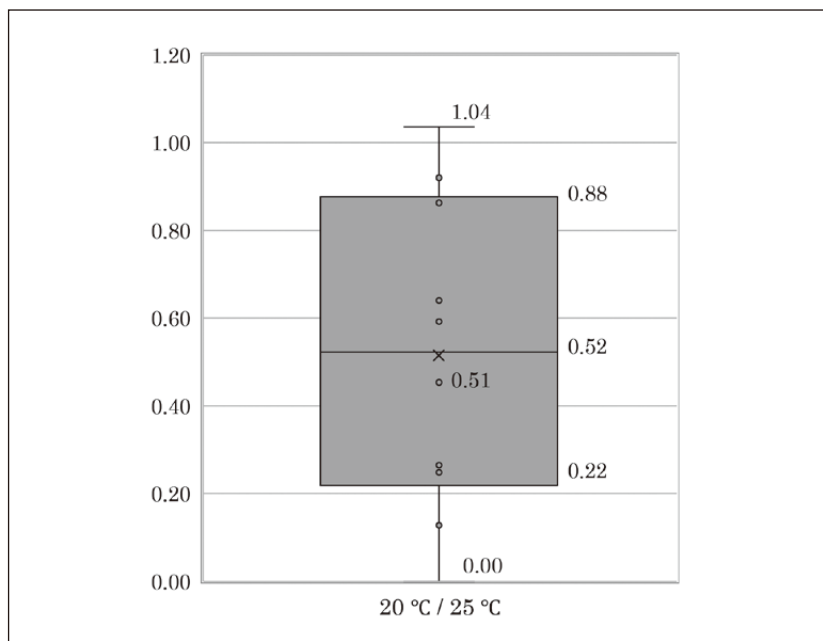


図2 各症例の1時間保存後の前進運動率比  
前進運動率比 = 20℃群の前進運動率 / 25℃群の前進運動率



膨化が起こる<sup>8)</sup>。精子でも同様の現象が起こり、精子の膨化によって比重が軽くなったのではないかと推察される。実際に、精子を数日間低温保存することで、尾部の膨化が起こることが報告されている<sup>9)</sup>。しかし、1時間程度の低温保存で尾部が膨化するのかわからず、今回の研究を通じて、尾部の膨化は観察していないため、原因の究明には今後更なる研究が必要である。

今回の研究から、5℃コンテナ群の精液温度は、25℃群よりも有意に低かったものの、保存後の運動率や前進運動率、調整後の精子濃度については有意な差は認められなかった。一方で、5℃コンテナ群と25℃群の精液温度、運動率、前進運動率、調整後の精子濃度は5℃群よりも有意に高かった。これらのことから、フードコンテナを用いた精液の保温は、1時間程度の短時間の低温保存に対して、精子の運動性の低下を防ぐことが可能であることが判明した。フードコンテナによる保温は簡便で経費が少なく、患者が取り入れやすい方法であると考えられる。

検討2では精液を20℃で保存することによる精子の運動性への影響について検討した。その結果、20℃群の精子運動率は25℃群よりも有意に低く、精液を20℃で保存することは精子の運動性に影響を及ぼす可能性が考えられた。一方で、前進運動率比が0に近く、保存温度を25℃から20℃に下げることによって前進運動率が大幅に低下した症例や、前進運動率比が1に近く、20℃で保存しても前進運動率がほとんど変わらない症例まで幅広く存在した。このことから、症例の中には20℃前後の温度でも運動性が低下することなく保存可能な症例が存在し、個々の症例で精子の低温耐性が異なることが推測された。精子の低温耐性が異なる原因は不明であるが、原因が判明することで精液保存方法の改善につながるものと考えられる。

精液の保存方法を検討する際、精子の運動性を維持することの他に、精子のDNA損傷を防ぐことも重要なポイントである。精子のDNA損傷は胚発生や妊娠、流産に影響することが報告されている<sup>10, 11)</sup>。Suzukiら<sup>4)</sup>は、5℃で保存した精液の精子DNA損傷率は、25℃で保存した精液のそれと比較して有意な差は認められなかったと報告しており、25℃以下での保存は精子のDNA損傷を増加させないと考えられる。一方で、精液を37℃で保存することによって、25℃で保存するよりもDNA損傷率が有意に高くなることが報告されており<sup>12)</sup>、体温に近い温度で精液を保存することは精子のDNA損傷を引き起こし、胚発生や妊娠能の低下を引き起こす可能性が考えられる。

今回の研究では、フードコンテナを用いた精液の保温は、精子の運動性と調整後の精子濃度の改善が期待でき

ること、精液を20℃以下で保存することは、精子の運動性の低下と調整後の精子濃度の低下を引き起こす可能性があることが判明した。一般家庭において、冬の朝の室内温度は20℃を下回ることも予想されるため、病院への移動中だけでなく室内での保管時から保温することが重要であり、患者へ啓蒙する必要がある。今後、適切な精液の保存温度を解明するため、目視による精子カウントのみではなく、精子運動解析システム(CASA)を用いた解析や、DNA損傷精子の割合、受精後の胚発生への影響など、多方面から研究を進める所存である。

## 参考文献

- 1) 岸田拓磨・菊地裕幸・山田健市・菅野弘基・岸田理英・佐藤那美・結城笑香・吉津葵・佐々木郁弥・片桐未希子・吉田仁秋: 寒冷地において自宅採取した精液が病院への移動中に冷却される影響について. 日本臨床エンブリオロジスト学会雑誌. 21: 1-5, 2019.
- 2) Appell RA, Evans PR: The effect of temperature on sperm motility and viability. *Fertil Steril*. 28: 1329-1332, 1977.
- 3) Esfandiari N, Saleh RA, Blaut AP, Sharma RK, Nelson DR, Thomas AJ Jr, Falcone T, Agarwal A: Effects of temperature on sperm motion characteristics and reactive oxygen species. *Int J Fertil*. 47: 227-233, 2002.
- 4) Suzuki K, Shin T, Shimomura Y, Iwahata T, Onota S, Kobori Y, Miyata A, Okada H: The influence of the storage temperature on the semen parameter: storage at 37℃ might not be suitable. *Hum Reprod*, 32 (Suppl 1): i141, 2017.
- 5) フードコンテナの製品情報. THERMOS ホームページ. <https://www.thermos.jp/product/list/foodcontainer.html>. (入手日 2020.4.15)
- 6) 宮本敏伸・安孫子公香・千石一雄: 精子調整法. 日本卵子学会編集. 生殖補助医療 (ART) 胚培養の理論と実際, pp 221-225, 近代出版, 2017.
- 7) Gruener N, Avi-Dor Y: Temperature-dependence of activation and inhibition of rat-brain adenosine triphosphatase activated by sodium and potassium ions. *Biochem J*, 100: 762-767, 1966.
- 8) Armstrong CM: The Na/K pump, Cl ion, and osmotic stabilization of cells. *Proc Natl Acad Sci. U. S. A*, 100: 6257-6262, 2003.
- 9) Kanno H, Saito K, Ogawa T, Takeda M, Iwasaki A, Kinoshita Y: Viability and function of human sperm in electrolyte-free cold preservation. *Fertil Steril*, 69: 127-131, 1998.
- 10) Simon L, Zini A, Dyachenko A, Ciampi A, Carrell DT: A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome. *Asian J Androl*, 19: 80-90, 2017.
- 11) Deng C, Li T, Xie Y, Guo Y, Yang QY, Liang X, Deng CH, Liu GH: Sperm DNA fragmentation index influences assisted reproductive technology outcome: A systematic review and meta-analysis combined with a retrospective cohort study. *Andrologia*, 51: e13263, 2019.



- 12) Matsuura R, Takeuchi T, Yoshida A: Preparation and incubation conditions affect the DNA integrity of ejaculated human spermatozoa. *Asian J Androl*, 12: 753-759, 2010.

## 当院における Duostim 法による採卵成績の検討

石橋 めぐみ<sup>1,2</sup>, 松山 毅彦<sup>1</sup>, 中澤 留美<sup>1</sup>, 河戸 朋子<sup>1</sup>, 勝木 康博<sup>1</sup>,  
菊池 咲希<sup>1</sup>, 三宅 君香<sup>1</sup>, 横田 智<sup>1</sup>, 真鍋 有香<sup>1</sup>, 北岡 美幸<sup>1</sup>,  
新田 絵美子<sup>2</sup>, 松山 幸世<sup>1</sup>, 金西 賢治<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 厚仁病院産婦人科 〒763-0043 香川県丸亀市通町133

<sup>2</sup> 香川大学医学部母子科学講座周産期学婦人科学 〒761-0793 香川県木田郡三木町大字池戸1750-1

**要旨:** 卵巣予備能が低下している不妊患者では、卵巣刺激により発育する卵胞数は限られ、キャンセル率も高い傾向がある。より多くの卵子を獲得するため当院ではDuostim法の実施を開始した。2019年11月から2020年5月に実施したDuostim法での採卵成績を後方視的に解析した。Duostim法を試みた例は88周期で、黄体期スタートがキャンセルとなった例は24周期あった。残りの64周期において卵胞期スタートと黄体期スタートの採卵成績を比較したところ、成熟卵数、凍結卵数は黄体期スタートで有意に少ない結果となった。AMH1.00ng/ml以下の周期についてDuostim法実施群と非実施群を比較したところ、成熟卵数、凍結卵数は実施群で多い傾向であったが、良好胚凍結数は有意に少ない結果となった。しかし、AMH0.50ng/ml以下の群に限ると有意差は出なかった。Duostim法を行うことにより、周期全体の卵子獲得数が増加し、受精卵獲得周期も増加した。さらなる成績向上のため、黄体期スタート群(特にAMH0.50～1.00ng/ml群)の対策が必要と思われた。

**キーワード:** 黄体期スタート, Duostim法, 卵巣予備能低下, 卵胞期スタート

### 緒言

Duostim法とは、若年がん患者の妊孕性温存のために行われるランダムスタート法の応用であり、卵胞期初期から卵巣刺激を行い1回目の採卵を実施後、同一周期の黄体期から同様に卵巣刺激を行い2回目の採卵を行う方法である。卵巣予備能が低下している不妊患者では、IVFのために過排卵刺激を行っても発育する卵胞数は少ないこともあり、また発育する卵胞のサイズが不均衡となることも多く、採卵そのもののキャンセル率も高い傾向がある。採卵周期のキャンセルを減らし、より多くの卵子を獲得するためには、卵巣刺激法の工夫が必要と考えられる。当院では、特に卵巣予備能低下の不妊患者において、より多くの卵子を獲得する目的でDuostim法による採卵を開始した。当院においてDuostim法を行った症例のデータを解析することによりその有効性を検証した。

### 方法

対象は、2019年11月から2020年5月までの間に医学的適応による胚凍結を目的としDuostim法による卵巣刺激周期を試みた69名、88周期のうち採卵まで

に至った64周期を対象とし、獲得卵子数、凍結胚盤胞数について後方視的に検討した。当院での卵巣刺激法は、まずClomiphene内服+HMG注射周期を選択するが、AMH値が0.10ng/mlを下回るような症例に関しては持続的エストロゲン製剤投与と周期の選択を検討した。また、Clomiphene内服+HMG注射周期を選択したところ、卵胞発育が不均衡であったり獲得卵子数が少なかった患者に関しては、個別に相談しHMG注射+アンタゴニスト周期を選択する場合もあった。1回目のClomiphene内服+HMG注射周期、持続的エストロゲン製剤投与周期、HMG注射+アンタゴニスト周期採卵開始時に、あらかじめDuostim法実施希望の有無を患者に確認し、1回目、すなわち卵胞期スタートが終わった時点で実施可能な状況であれば再度卵巣刺激を行い2回目の黄体期スタートを試みた。2回目、すなわち黄体期の卵巣刺激方法は1回目の卵胞期刺激と同様の方法で行った。Clomiphene内服+HMG注周期は、月経3日目よりClomiphene錠を1日50mgもしくは100mgで連日内服し、月経7～8日目よりHMG(HMG注射用「フェリング®」)1日150単位を2～3日ごとに筋肉注射した。持続的エストロゲン製剤投与周期は、プレマリン®1日0.625mgもしくは1.25mgを連日内服した。HMG注射+アンタゴニスト周期は、月経3日目より

受付 2020年7月29日/受理 2020年8月25日

責任著者: 石橋 めぐみ e-mail [ishibash@med.kagawa-u.ac.jp]

HMGを1日150単位連日投与し、最も大きい卵胞が15mm前後になった時点で、GnRHアンタゴニスト製剤（レルミナ<sup>®</sup>）の併用投与を開始した。いずれも卵胞径が18～20mmほどになったところで、r-hCG（オビドレル<sup>®</sup>）250 $\mu$ gを皮下注射もしくはブセレリン酢酸塩（ブセレキュア<sup>®</sup>）の点鼻投与を行い、約34時間後に採卵を行った。卵巣刺激法の選択は、採卵開始時の血中AMH値を参考に決定した。採卵された卵子が未成熟卵子であった場合は、体外成熟培養液（SK-IVMS, KITAZATO社）を使用しIVMを行った。受精卵はほぼ全例胚盤胞まで培養し、凍結を行っているが、何度も採卵を行っているにもかかわらず、受精・分割がストップし胚盤胞凍結に至らないなどの症例で、患者の強い希望があったため初期胚を凍結したケースもあった。

## 結 果

以下より、Duostim法の1回目の採卵を卵胞期スタート、2回目の採卵を黄体期スタートと記す。88周期の患者の背景として、平均年齢は39.1歳（標準偏差4.5）、中央値は40歳、BMIの平均は23.5（標準偏差3.9）、中央値は22.4であった。すべて医学的な適応で卵巣刺激、胚凍結を行った。卵巣刺激法は、Clomiphene内服+HMG注射周期が80周期、持続的エストロゲン製剤投与周期が7周期、HMG注射+アンタゴニスト周期が1

周期含まれていた。卵胞期スタート開始時のAMHの平均値は2.02ng/ml（標準偏差2.9）、中央値0.87ng/ml、血中FSHの平均値は11.6ng/ml（標準偏差8.1）、中央値9.8mIU/mlであった。

88周期のうち、黄体期スタートがキャンセルとなった例は24周期あり、Duostim法を試みた症例全体の27.3%を占めた。キャンセルの理由は、刺激を続けたが卵胞発育が無い、卵胞数が少なく患者本人の希望があった場合などであった。残りの64周期で実際にDuostim法による採卵を行った。64周期中59周期で卵子が獲得でき、37周期で受精・分割し凍結ができた（図1）。

Duostim法実施症例において、卵胞期スタートと黄体期スタートの結果を表1に示す（表1）。

卵胞期スタートのみで卵子が獲得された周期は52周期あり、総獲得卵子数の平均値は1.8個（標準偏差1.5）、中央値は1個であった。未熟卵が獲得された周期は17周期で、未熟卵数の平均値が0.3個（標準偏差0.6）、中央値は0個だった。成熟卵が獲得された周期は50周期で、成熟卵数の平均値は1.5個（標準偏差1.2）、中央値は1個であった。受精・分割し、凍結ができた周期は29周期あり、28周期は胚盤胞を凍結し、1周期においては初期胚を1個凍結した。凍結卵数の平均値は0.6個（標準偏差0.8）、中央値は0個であった。1個凍結できたのは22周期、2個凍結が5周期、3個凍結が2周期であった。

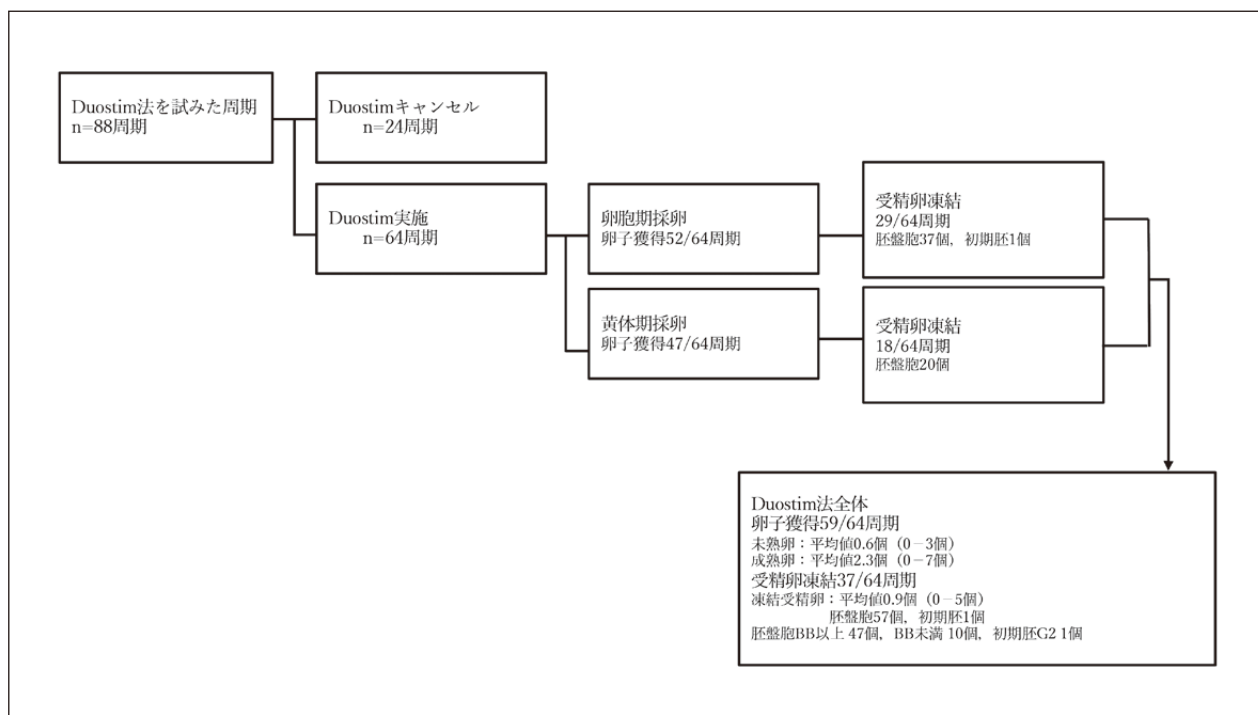


図1 Duostim法を試みた88周期の経過

表 1 Duostim 法を実施した 64 周期における周期内の卵胞期採卵と黄体期採卵の比較結果

	卵胞期採卵 (n=52周期)	黄体期採卵 (n=47周期)	P-value
総卵子獲得数 mean ± SD(range) median	1.8 ± 1.5(0-6)個 1個	1.2 ± 0.9(0-3)個 1個	p < 0.05
未熟卵数 mean ± SD(range) median	0.3 ± 0.6(0-2)個 0個	0.3 ± 0.6(0-2)個 0個	p = 0.69
成熟卵数 mean ± SD(range) median	1.5 ± 1.2(0-4) 1個	0.8 ± 0.9(0-3)個 1個	p < 0.05
凍結卵数 mean ± SD(range) median	0.6 ± 0.8(0-4)個 0個	0.3 ± 0.5(0-2)個 0個	p < 0.05
初期胚数	1個 (Veck分類 G2)	—	
全胚盤胞数	37個	20個	
良好胚盤胞数 (GARDNER分類BB以上)	34個	13個	p < 0.05

未熟卵を獲得した周期と成熟卵を獲得した周期は一部重複している。

胚盤胞は GARDNER 分類 BB 以上の良好胚が 34 個、それ以下の不良胚は 3 個あった。初期胚は Veck 分類で Grade 2 であった。

黄体期スタートで卵子が獲得された周期は 47 周期であり、Duostim 法実施例の 73.4% を占めた。特に卵胞期スタートでの獲得卵子数が 0 個であったが、黄体期スタートで獲得できた周期が 6 周期あった。総卵子獲得数の平均値は 1.2 個 (標準偏差 0.9)、中央値は 1 個であった。未熟卵を獲得したのは 7 周期、成熟卵を獲得したのは 37 周期あった。黄体期スタートのみの未熟卵獲得数の平均値は 0.3 個 (標準偏差 0.6)、中央値は 0 個であった。成熟卵獲得数の平均値は 0.8 個 (標準偏差 0.9)、中央値は 1 個であった。受精・分割し凍結ができた周期は 18 周期あり、すべて胚盤胞で凍結した。受精卵凍結数の平均値は 0.3 個 (標準偏差 0.5)、中央値は 0 個であった。1 個凍結した周期は 16 周期、2 個凍結が 2 周期であった。胚盤胞は GARDNER 分類 BB 以上の良好胚が 13 個、それ以下の不良胚が 7 個あった。

卵子が獲得できた周期数について表 2 にまとめる。上記のデータを総合すると、Duostim 法実施例全体の総卵子獲得周期は 59 周期で、Duostim 法実施例全体の 92.2% となった。卵胞期スタートでは、1 個獲得が 21 周期、2 個獲得が 12 周期、3 個獲得が 10 周期、4 個獲得が 4 周期、5 個獲得が 4 周期、6 個獲得が 1 周期あった。黄体期スタートでは、1 個獲得が 27 周期、2 個獲得が 13 周期、3 個獲得が 7 周期であった。Duostim 法全体では、1 個獲得が 7 周期、2 個獲得が 17 周期、3 個獲得が 11 周期、4 個獲得が 11 周期、5 個獲得が 7 周期、6 個獲得が 5 周期、8 個獲得が 1 周期であった (表 2)。受精・分割し凍結できた周期は 37 周期で、Duostim 法実施例全体の 57.8% となった。うちはけは、卵胞期スタートでは、1 個凍結が 22 周期、2 個凍結が 5 周期、3 個凍結が 2 周期あった。黄体期スタートでは、1 個凍結が 16 周期、2 個凍結が 2 周期あった。全体では、1 個凍結が 22 周期、2 個凍結が 11 周期、3 個凍結が 3 周期、5 個凍結が 1 周期であった (表 3)。



表 2 Duostim 法において、卵子が獲得できた周期数

	卵胞期採卵	黄体期採卵	卵胞期採卵+黄体期採卵
1個	21周期	27周期	7周期
2個	12周期	13周期	17周期
3個	10周期	7周期	11周期
4個	4周期	—	11周期
5個	4周期	—	7周期
6個	1周期	—	5周期
7個	—	—	—
8個	—	—	1周期
合計	52周期	47周期	59周期

表 3 Duostim 法において、受精・分割し凍結できた周期数

	卵胞期採卵	黄体期採卵	卵胞期採卵+黄体期採卵
1個	22周期	16周期	22周期
2個	5周期	2周期	11周期
3個	2周期	—	3周期
4個	—	—	—
5個	—	—	1周期
合計	29周期	18周期	37周期

Duostim法を実施した64周期において、卵胞期スタートの結果と黄体期スタートの結果について、二群間の比較検討を行い、表1に列記した。獲得卵子について、総卵子獲得数は黄体期スタート群で、有意をもって少ない結果となった( $p < 0.05$ )。そのうち、未熟卵獲得数については二群間で有意差を認めず( $p = 0.69$ )、成熟卵獲得数については黄体期スタート群の方が、有意をもって少ない結果であった( $p < 0.05$ )。また、受精・分割し凍結を行った受精卵の数も、黄体期スタート群が有意をもって少ない結果となった( $p < 0.05$ )。凍結した受精卵は、卵胞期スタート群で1個のみ初期胚であり、それを除くその他の胚盤胞でのGARDNER分類を比較したところ、黄体期スタート群の方がBB以上の良好胚が有

意に少ない結果となった( $p < 0.05$ )。

表4は、特にAMH値の低い症例において、Duostim法有効性についての比較検討を行った結果である(表4)。同時期に実施した採卵症例で、Duostim法を実施しなかったAMH1.00ng/ml以下の症例を無作為に抽出し、同じくAMH1.00ng/ml以下のDuostim法実施群と比較した。非実施群は42周期、実施群は42周期である。採卵開始時の平均年齢は、非実施群で40.6歳(標準偏差4.5)、実施群で40.4歳(標準偏差3.7)であり、有意差を認めなかった。BMIの平均は非実施群が22.3(標準偏差3.5)、実施群が22.9(標準偏差3.3)と有意差を認めなかった。すべて医学的な適応で卵巣刺激、胚凍結を行った。卵巣刺激法は、Clomiphene内服+HMG注射周

表4 AMH1.00ng/ml以下の患者におけるDuostim法非実施群42周期と実施群42周期の採卵結果の比較

	非実施群	実施群	P-value
周期数	n=42周期 (n=37周期)	n=42周期 (n=39周期)	
総卵子獲得数 mean±SD(range) median	1.9±(1.2)個 2個	2.7±(1.6)個 3個	p=0.07
未熟卵数 mean±SD(range) median	0.4±(0.7)個 0個	0.5±(0.7)個 0個	p=0.57
成熟卵数 mean±SD(range) median	1.5±(1.6) 1個	2.2±(1.5)個 2個	p=0.52
凍結卵数 mean±SD(range) median	0.6±(0.9)個 0個	0.8±(1.0)個 1個	p=0.92
良好胚盤胞数/全胚盤胞数 (GARDNER分類BB以上)	25個/27個	22個/32個	p<0.05

未熟卵を獲得した周期と成熟卵を獲得した周期は一部重複している。

期が34周期、持続的エストロゲン製剤投与周期が8周期含まれていた。採卵開始時の平均血中AMH値は非実施群0.41ng/ml(標準偏差0.29)、実施群0.52ng/ml(標準偏差0.29)、中FSH値は非実施群14.4 mIU/ml(標準偏差9.7)、実施群13.4 mIU/ml(標準偏差10.1)で、それぞれ有意差を認めなかった。総卵子獲得数の平均値は、非実施群で1.9個(標準偏差1.2)、実施群で2.7個(標準偏差1.6)となり実施群の方が多結果となったが、有意差は認めなかった(p=0.07)。未熟卵獲得数の平均値は非実施群では0.4個(標準偏差0.7)、実施群では0.5個(標準偏差0.7)で有意差を認めず(p=0.57)、成熟卵獲得数の平均値は非実施群では1.5個(標準偏差1.6)、実施群では2.2個(標準偏差1.5)となり有意差は認めなかった(p=0.52)。凍結に至った受精卵の個数の平均値は、非実施群で0.6個(標準偏差0.9)、実施群で0.8個(標準偏差1.0)で有意差を認めなかった(p=0.92)。Duostim法実施群では凍結卵に1個初期胚があっ

たので、それを除く胚盤胞のGARDNER分類で比較したが、Dustim法実施群の方がBB以上の良好胚が有意に少ない結果となった(p<0.05)。

さらに、上記の集団をAMH値が0.50ng/ml以下の周期、AMH値が0.50ng/mlより高く1.00ng/ml以下の周期にわけて比較した(表5)。

AMH値が0.50ng/ml以下で、Duostim法非実施群は26周期、実施群は20周期であった。採卵開始時の平均年齢は、非実施群40.3歳(標準偏差5.5)、実施群で40.4歳(標準偏差4.0)であり、有意差を認めなかった。採卵開始時の平均血中AMH値は非実施群0.21ng/ml(標準偏差0.15)、実施群0.26ng/ml(標準偏差0.13)、平均血中FSH値は非実施群16.2 mIU/ml(標準偏差11.7)、実施群15.6 mIU/ml(標準偏差13.7)で、それぞれ有意差を認めなかった。総卵子獲得数の平均値は、非実施群で1.5個(標準偏差1.1)、実施群で2.4個(標準偏差1.9)となり実施群の方が多結果となったが、有意差は認め

表5 AMH0.50ng/ml以下の患者群とAMH0.50ng/ml～1.00ng/mlの患者群におけるDuostim法非実施群と実施群の採卵結果の比較

	非実施群 (AMH0.50ng/ml以下)	実施群 (AMH0.50ng/ml以下)	P-value	非実施群 (AMH0.50～1.00ng/ml)	実施群 (AMH0.50～1.00ng/ml)	P-value
周期数	n=26周期 (n=21周期)	n=20周期 (n=17周期)		n=16周期 (n=16周期)	n=22周期 (n=22周期)	
総卵子獲得数 mean±SD(range) median	1.5±(1.1)個 1個	2.4±(1.9)個 2個	p=0.14	2.6±(1.1)個 3個	3.0±(1.3)個 3個	p=0.35
未熟卵数 mean±SD(range) median	0.4±(0.8)個 0個	0.6±(0.8)個 0個	p=0.75	0.4±(0.6)個 0個	0.5±(0.7)個 0個	p=0.46
成熟卵数 mean±SD(range) median	1.1±(1.0) 1個	1.9±(1.6)個 2個	p=0.28	2.3±(1.2)個 2個	2.5±(1.3)個 3個	p=0.65
凍結卵数 mean±SD(range) median	0.3±(0.6)個 0個	0.9±(1.2)個 1個	p=0.08	1.1±(1.1)個 1個	0.7±(0.8)個 1個	p=0.19
良好胚盤胞数/ 全胚盤胞数 (GARDNER分類BB以上)	11個/11個	14個/17個	p=0.26	14個/16個	8個/15個	p<0.05

未熟卵を獲得した周期と成熟卵を獲得した周期はそれぞれのグループで一部重複している。

なかった (p=0.14). 未熟卵獲得数の平均値は非実施群では0.4個(標準偏差0.8), 実施群では0.6個(標準偏差0.8)で有意差を認めず(p=0.75), 成熟卵獲得数の平均値は非実施群では1.1個(標準偏差1.0), 実施群では1.9個(標準偏差1.6)となり有意差は認めなかった(p=0.28). 凍結に至った受精卵の個数の平均値は, 非実施群で0.3個(標準偏差0.6), 実施群で0.9個(標準偏差1.2)で有意差を認めなかった(p=0.08). 胚盤胞のGARDNER分類で比較したが, BB以上の良好胚の獲得数はそれぞれの群で有意差を認めなかった(p=0.26).

次に, AMH値が0.50ng/mlより高く1.00ng/ml以

下の, Duostim法非実施群16周期と, 実施群22周期を比較した. 採卵開始時の平均年齢は, 非実施群41.0歳(標準偏差2.3), 実施群で40.5歳(標準偏差3.6)であり, 有意差を認めなかった. 採卵開始時の平均血中AMH値は非実施群0.72ng/ml(標準偏差0.16), 実施群0.77ng/ml(標準偏差0.14), 平均血中FSH値は非実施群11.5mIU/ml(標準偏差3.4), 実施群11.4mIU/ml(標準偏差4.5)で, それぞれ有意差を認めなかった. 総卵子獲得数の平均値は, 非実施群で2.6個(標準偏差1.1), 実施群で3.0個(標準偏差1.3)となり実施群の方が多い結果となったが, 有意差は認めなかった(p=0.35). 未熟卵獲得数の平均値は非実施群では0.4個(標準偏差0.6), 実

施群では0.5個(標準偏差0.8)で有意差を認めず( $p = 0.46$ ), 成熟卵獲得数の平均値は非実施群では2.3個(標準偏差1.2), 実施群では2.5個(標準偏差1.3)となり有意差は認めなかった( $p = 0.65$ ). 凍結に至った受精卵の個数の平均値は, 非実施群で1.1個(標準偏差1.1), 実施群で0.7個(標準偏差0.8)で有意差を認めなかった( $p = 0.19$ ). 胚盤胞のGARDNER分類で比較したが, Dustim法実施群の方がBB以上の良好胚が有意に少ない結果となった( $p < 0.05$ ).

## 考 察

日本産科婦人科学会の報告によると, 2017年の全国統計で凍結胚移植の移植あたりの妊娠率は34.4%で, 生産率は23.9%であった<sup>1)</sup>. Qianqianらは, 初回IVFにおいて採卵数25個までは数に比例して出生率が上がったと報告している<sup>2)</sup>. 採卵においては, 複数卵子をより多く獲得することが出生率の上昇につながると考えられるが, 卵巣予備能が低下している不妊患者では獲得卵子数を増やすのは難しい. このような患者での体外受精で出生率を上昇させるためには, 排卵誘発および採卵方法の工夫なども必要と思われる.

以前は, 前胞状卵胞のリクルートは前周期の黄体後期に起こり, 卵胞期中期に主席卵胞が選択されるとその他は閉鎖卵胞となると考えられていた. しかし, Baerwaldらは, 近年の報告で卵胞のリクルートには複数の波があるという説が支持されると報告している<sup>3)</sup>. 卵胞期後期や黄体期に見られる前胞状卵胞がそのまま閉鎖せずにリクルートされているとすれば, 月経のどの時期に卵巣刺激を行っても卵胞発育が見られる, との原理でランダムスタート法が始まり, 数々の有効性が報告されている<sup>4, 5)</sup>. 特に若年がん女性に対する妊孕性温存目的での卵巣刺激は, 短時間で卵子獲得を目指すためランダムスタート法が有用である. Duostim法はランダムスタート法の卵巣刺激法を応用することにより, 卵巣機能低下の不妊患者に応用できると考えられる. まず卵胞期初期から卵巣刺激を行い1回目の採卵を実施後, 同一周期の黄体期から同様に卵巣刺激を行い2回目の採卵を行う. 日常臨床において, 採卵開始時にすでに排卵直前の大きな卵胞を認めたためその周期はキャンセルとなった, あるいは卵巣刺激により卵胞径にばらつきが出る, などの症例がよく見られる. そのような患者の獲得卵子を増やすことを目的として, 当院でもDuostim法の導入を決定した. ランダムスタート法, もしくはDuostim法による採卵結果の報告では, いずれの月経周期で採卵しても採卵数や凍結卵の獲得数に有意差はな

いとの結果が多い<sup>6, 7)</sup>. Daniloらは, 卵胞期スタートより黄体期スタートの方が, 獲得卵子数が有意に多かったと報告している<sup>8)</sup>. 一方, 当院の検討において, AMH1.00ng/ml以下のDuostim実施群と非実施群間の比較では, 獲得卵子数や成熟卵獲得数, 凍結受精卵数は実施群の方が多い結果となったが, 有意差は出なかった. また, 凍結胚盤胞のGARDNER分類においては実施群の方が有意をもって良好胚が少ない結果となっている. この結果は, Duostim法実施群の中で, 卵胞期スタート群と黄体期スタート群を比較した結果として, 黄体期刺激群の卵子獲得数が有意をもって少なく, 特に成熟卵獲得数において有意差が出ていることに起因していると思われる. すなわち, 黄体期スタート群において, 成熟卵獲得数が有意をもって少ないことが, 結果として胚盤胞の獲得数とグレード評価に影響していると考えられる. ランダムスタート法, もしくはDuostim法の報告は, ゴナドトロピン+GnRHアンタゴニストによる卵巣刺激が多いが, 当院ではClomiphen+HMGによる卵巣刺激を主に実施しており, Fillipoら<sup>6)</sup>, Cakmakら<sup>7)</sup>の結果との違いの要因の一つではないかと考えられた. さらにDaniloらは報告で, 黄体期スタート群での卵子獲得数が有意に多かった理由として, 黄体期に高濃度のエストロジオールにさらされるため顆粒膜細胞のFSHレセプターの発現が高まる可能性, 血管新生因子により顆粒膜細胞のFSHの感受性が高まる可能性を指摘している<sup>8)</sup>. FSHレセプターの発現が高まっている黄体期に多数の卵子を獲得するためには, 卵胞期に比較して高いゴナドトロピンの刺激が必要であると考えられる. 実際, 黄体期での卵巣刺激にはゴナドトロピン投与量が有意をもって増加するという報告は多数ある<sup>8, 9, 10)</sup>. 当院での黄体期スタートにおいて, 卵子獲得数, 特に成熟卵獲得数が有意をもって少ない結果となったのは, Clomiphenによる卵巣刺激が黄体期のゴナドトロピン刺激として弱かった可能性が考えられた.

当院でDuostim法を試みた患者は, もともと卵子獲得が難しい傾向があったため, AMH1.00ng/ml以下の症例に絞って検討を行ってみたが, GARDNER分類での良好胚獲得数の比較において有意差が出るという結果となった. そこで, 同じ症例をさらに二分しAMH0.50ng/ml以下の患者群とAMH0.50ng/ml~1.00ng/mlの患者群においてそれぞれ検討した. GARDNER分類においての良好胚獲得数がAMH0.50ng/ml以下の群では有意差が出なかったものの, AMH0.50ng/ml~1.00ng/mlの群では, Duostim法実施群で有意に少ない結果となった. 卵子獲得数, 成熟卵獲得数, 凍結受精卵数においてはいずれの



群も Duostim 法実施群と非実施群で有意差は出なかった。しかし、AMH0.50ng/ml～1.00ng/mlの群では、獲得数の平均値において、獲得卵子数、成熟卵獲得数が実施群で多いにもかかわらず、凍結した受精卵数では非実施群の方が上回るという結果となっていた。AMH値のみが基準値となるわけではないが、黄体期スタートでのゴナドトロピンの必要量に関しては、今回の結果から、AMH0.50ng/ml以上の症例で増量を検討すべきであると考えられた。また、当院では採卵開始時にAFCもカウントしているが、目視によるカウントであるため検者間で差が出やすいことが想定され、今回の検討には利用していない。今後はAMH値とFSH値およびAFCについても検討を行っていく必要があると思われる。

今回の検討では、Duostim法における黄体期スタート周期で、良好胚の凍結数が増加するという結果には結びつかなかったが、周期全体としてみた場合、表2に示すように卵子が獲得できた周期の割合は明らかに増加した。表3に示すように受精卵が凍結できた周期も増えた。今後は、特にAMH0.50～1.00ng/mlの群の黄体期における卵巣刺激法を工夫し、周期全体の成熟卵獲得数の増加および、良好胚の獲得率をあげるようにしていきたい。

## 参考文献

- 1) 登録・調査小委員会／ART オンライン登録。公益社団法人日本産科婦人科学会。http://fa.kyorin.co.jp/jsog/readPDF.php?file=71/11/071112509.pdf, (2020.6.30)
- 2) Qianqian Zhu, Qiuju Chen, Li Wang, Xuefeng Lu, Qifeng Lyu, Yun Wang, Yanping Kuang: Live birth rates in the first complete IVF cycle among 20687 women using a freeze-all strategy: Hum Reprod, Vol.33, No.5 pp.924-929, 2018.
- 3) Angela R Baerwald, Gregg P Adams, Roger A Pierson: Ovarian Antral Folliculogenesis During the Human Menstrual Cycle: A Review: Hum Reprod Update. 2012; 18 (1): 73-91.
- 4) Hakan Cakmak, Audra Katz, Mitchell P Rosen: Effective method for emergency fertility preservation: random-start controlled ovarian stimulation: Fertil Steril. 2013; 100 (6): 1673-80.
- 5) Hakan Cakmak, Mitchell P Rosen: Random-start Ovarian Stimulation in Patients With Cancer: Curr Opin Obstet Gynecol. 2015 Jun; 27 (3): 215-21.
- 6) Filippo Maria Ubaldi, Antonio Capalbo, Alberto Vaiarelli, Danilo Cimadomo, Silvia Colamaria, Carlo Alviggi, Elisabetta Trabucco, Roberta Venturella, Gábor Vajta, Laura Rienzi: Follicular Versus Luteal Phase Ovarian Stimulation During the Same Menstrual Cycle (DuoStim) in a Reduced Ovarian Reserve Population Results in a Similar Euploid Blastocyst Formation Rate: New Insight in Ovarian Reserve Exploitation: Fertil Steril. 2016; 105 (6): 1488-1495.
- 7) Hakan Cakmak, Audra Katz, Marcelle I Cedars, Mitchell P Rosen: Effective method for emergency fertility preservation: random-start controlled ovarian stimulation. Fertil Steril. 2013; 100: 1673-1680.
- 8) Danilo Cimadomo, Alberto Vaiarelli, Silvia Colamaria, Elisabetta Trabucco, Carlo Alviggi, Roberta Venturella, Erminia Alviggi, Ramona Carmelo, Laura Rienzi, Filippo Maria Ubaldi: Luteal phase anovulatory follicles result in the production of competent oocytes: intra-patient paired case-control study comparing follicular versus luteal phase stimulations in the same ovarian cycle: Hum Reprod. 2018; 33 (8): 1442-1448.
- 9) Wakimoto Y, Ukita Y, Shibahara H: Fertility preservation for adolescent and young adult women in Hyogo College of Medicine College Hospital: Acuta Med Hyogo. 2017; 42: 101-107.
- 10) Michael von Wolff, Christian J Thaler, Torsten Frambach, Cosima Zeeb, Barbara Lawrenz, Roxana M Popovici, Thomas Strowitzki: Ovarian stimulation to cryopreserve fertilized oocytes in cancer patients can be started in the luteal phase. Fertil Steril. 2009; 92: 1360-1365.

# 凍結前の胞胚腔収縮の確認は胚盤胞選択の評価因子となる

柴田 美智子<sup>1</sup>, 中野 達也<sup>1</sup>, 佐藤 学<sup>1</sup>, 中岡 義晴<sup>1</sup>, 森本 義晴<sup>2</sup>

<sup>1</sup> IVF なんばクリニック 〒550-0015 大阪府大阪市西区南堀江 1-17-28

<sup>2</sup> HORAC グランフロント大阪クリニック 〒530-0011 大阪府大阪市北区大深町 3-1 グランフロント大阪タワー B15F

**要旨：** 胚盤胞において胞胚腔の収縮回数が増えるほど凍結融解胚の着床能が低下する。収縮回数を確認するには経時的観察が必要だが、できない場合は収縮回数の評価が不可能である。そこで収縮回数の代わりとなる指標として、凍結時の観察画像のみで胞胚腔収縮の有無を確認し、移植予後を予測できるか後方視的に検討した。凍結前の胞胚腔の収縮の有無を確認し、拡張群と収縮群に分け妊娠率・流産率を比較したところ、拡張群で有意に妊娠率が高かった ( $p < 0.01$ )。さらに胚齢別、栄養外胚葉のグレード別、拡張ステージ別に分けて比較したところ5日目胚で拡張群の妊娠率が高く ( $p < 0.01$ )、BL4で拡張群の妊娠率が高かった ( $p < 0.05$ )。以上から凍結時の胞胚腔収縮の有無は胚盤胞選択の指標の一つとして有用である可能性があり、収縮が見られる場合は胚盤胞のTEグレード、拡張ステージに関わらず優先順位は下げる必要があると考えられる。

**キーワード：** 胞胚腔収縮, 凍結融解胚盤胞移植, 移植胚選択, 妊娠率, 胚凍結  
**ランニングヘッド：** 凍結前の胞胚腔収縮が臨床成績に与える影響

## 緒言

近年、不妊治療において凍結融解胚移植が一般的となり、どの胚を優先し移植するかという判断が重要である。特に胚盤胞移植は分割期胚移植と比較し、妊娠率、生産率が高く<sup>1)</sup>、良好胚選別法の一つとして普及している。良好胚盤胞を選択する指標はGardner分類が一般的に用いられ、胞胚腔拡張に伴った発育ステージ6段階に加え、内細胞塊 (inner cell mass: ICM) と栄養外胚葉 (trophectoderm: TE) をそれぞれ細胞数と細胞密度で3段階 (A, B, C) に分類して評価する<sup>2)</sup>。近年タイムラプスモニタリングシステムの普及により胚の経時的形態変化を解析することが可能となり、収縮回数が少ない胚盤胞は良好な妊娠率が得られ<sup>3,4)</sup>、また頻回の収縮は胚のクオリティを低下させる<sup>5)</sup> 報告がされている。しかし、すべての胚の収縮回数をカウントすると胚あたりの観察時間は長くなり、培養業務のスムーズな進行を妨げかねない。また、全症例でタイムラプス観察ができない施設では、経時的観察を行えず収縮回数を確認することは不可能である。そこで、凍結前の観察画像のみで収縮有無を確認することに限定し、着床能の高い胚盤胞を簡便に選別可能であるか検討を行った。

## 対象と方法

2013年1月から2016年2月にGardner分類3-5の胚盤胞を単一融解移植した24歳から39歳の1568周期を検討対象とした。

調節卵巣刺激もしくは自然周期にてHCG投与から36時間後に採卵し、回収した卵子はIVFもしくはICSIで受精させた。受精から5-6日目にGardner分類3以上かつICMのグレードB以上の胚盤胞を凍結可能胚と定義してガラス化凍結保存した。凍結操作直前に胚観察と画像撮影を行った後に凍結保存した。凍結及び融解はすべてCryotopシステム (KITAZATO Corporation, Japan) をデバイスとして用い、凍結試薬はVT507、融解試薬はVT508を使用して製品プロトコールに従いガラス化凍結と融解を実施した。

胚融解2時間後に回復観察を行い、胞胚腔拡張もしくは細胞の生存が確認できれば移植可能と判断しGardner分類5以外の胚盤胞にはレーザーで透明帯開口を実施し、融解から約3-4時間後に胚移植を実施した。胚移植は経腹超音波下で行った。胚移植後、子宮内に胎嚢を認めた症例を臨床妊娠とした。また、胎嚢確認後に胎22週まで妊娠継続できなかった場合を流産とした。

胞胚腔の拡張と収縮の分類は胚凍結直前の観察画像を用いて行った。胞胚腔が拡張し、囲卵腔のない胚盤胞

を拡張群、収縮し卵卵腔がわずかでも見られる場合は収縮群とした(図1)。

拡張群と収縮群における妊娠率及び流産率の比較を行った。また、拡張群と収縮群をそれぞれ胚齢、TEのグレード、拡張ステージ別に分け収縮胚の割合、妊娠率及び流産率を検討した。統計解析にはt-検定を用い、 $p < 0.05$ を統計学的に有意差ありと判定した。

## 結果

移植時の母体年齢は拡張群 $34.8 \pm 3.1$ 歳、収縮群 $35.0 \pm 3.3$ 歳で両群間に差はなかった。対象とした1568個の胚盤胞を拡張群と収縮群に分けたところ、拡張群が1476個(94.1%)、収縮群が92個(5.9%)であった。妊娠率は収縮群(34.8%)に比べ拡張群(52.8%)で有意に高かった( $p < 0.01$ )。流産率は両群間に差はなかった(図2)。

## 胚齢別

5日目胚、6日目胚の比較を表1に示した。移植時の母体年齢は、5日目胚と6日目胚でそれぞれ両群間に差はなかった。また、5日目胚と6日目胚で胞胚腔の収縮率に差はなかった。妊娠率は5日目胚の拡張群(57.4%)が収縮群(37.7%)に比べ有意に高く( $p < 0.01$ )、6日目胚では差はなかった。流産率は5日目胚、6日目胚ともに両群間に差はなかった。6日目胚において妊娠率、流産率ともに両群間に差がなかったため、以降の検討は5日目胚のみで行った。

## TEグレード別

TEのグレードを良好群(AもしくはB)と不良群(C)に分けて比較した。移植時の母体年齢はそれぞれ両群間に差はなかった。胞胚腔の収縮率は良好群より不良群で有意に高かった( $p < 0.01$ )。TE良好群、TE不良群において、それぞれ妊娠率、流産率とも両群間に差はなかった(表2)。

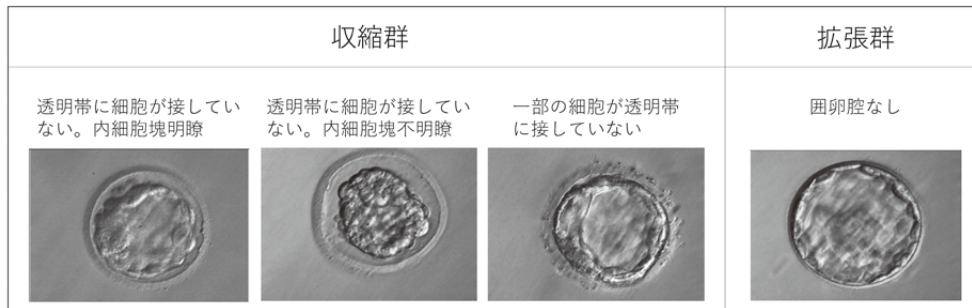


図1 胚盤胞凍結時における胞胚腔拡張の分類

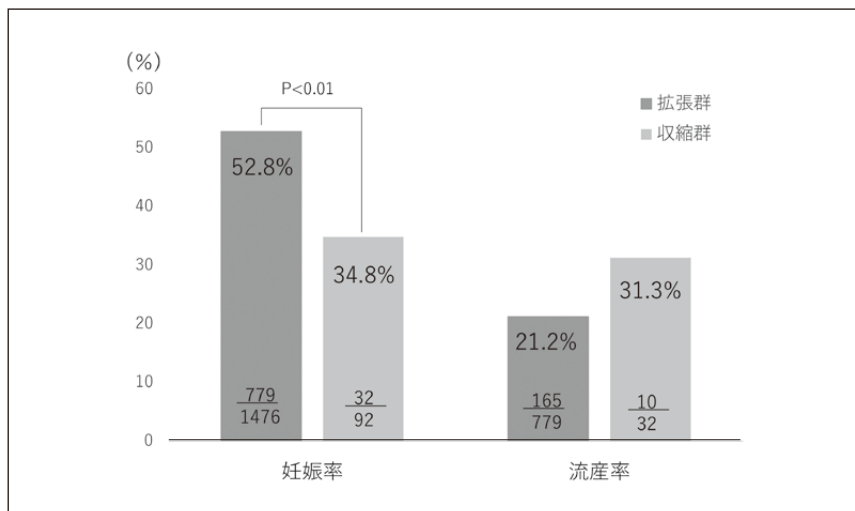


図2 拡張胚盤胞と収縮胚盤胞の妊娠率・流産率

表1 胚齢別の収縮率と妊娠率・流産率

N(%)	Day5		Day6	
	拡張群	収縮群	拡張群	収縮群
	1139 (72.6)		429 (27.4)	
移植時年齢 (Mean ± SD.)	34.7 ± 3.1	34.6 ± 3.6	35.3 ± 3.2	35.7 ± 2.4
収縮率	—	5.4% (62/1139)	—	7.2% (31/429)
妊娠率	57.4% (619/1078) <sup>a)</sup>	37.7% (23/61) <sup>b)</sup>	40.2% (160/398)	29.0% (9/31)
流産率	20.8% (129/619)	34.8% (8/23)	22.5% (36/160)	22.2% (2/9)

a-b : p<0.01

表2 TEグレード別の収縮率と妊娠率・流産率 (Day5)

N(%)	良好群		不良群	
	拡張群	収縮群	拡張群	収縮群
	893 (78.4)		246 (21.6)	
移植時年齢 (Mean ± SD.)	34.6 ± 3.1	34.5 ± 3.5	35.0 ± 3.0	34.7 ± 3.8
収縮率	—	4.1% (37/893) <sup>a)</sup>	—	9.8% (24/246) <sup>b)</sup>
妊娠率	61.7% (528/856)	48.6% (18/37)	41.0% (91/222)	20.8% (5/24)
流産率	19.9% (105/528)	33.3% (6/18)	26.4% (24/91)	40.0% (2/5)

a-b : p<0.01

表3 発育ステージ別の収縮率と妊娠率・流産率 (Day5)

N(%)	BL3		BL4		BL5	
	拡張群	収縮群	拡張群	収縮群	拡張群	収縮群
	209 (18.4)		434 (38.1)		496 (43.5)	
移植時年齢 (Mean ± SD.)	35.2 ± 2.9	35.6 ± 4.6	34.9 ± 3.0	34.8 ± 3.2	34.2 ± 3.2	33.6 ± 3.0
収縮率	—	7.7% (16/209)	—	5.8% (252/434)	—	4.0% (20/496)
妊娠率	42.5% (82/193)	31.3% (5/16)	57.0% (233/409) <sup>a)</sup>	36.0% (9/25) <sup>b)</sup>	63.9% (304/476)	45.0% (9/20)
流産率	15.9% (13/82)	40.0% (2/5)	23.6% (55/233)	33.3% (3/9)	20.1% (61/304)	33.3% (3/9)

a-b : p<0.05

#### 胞胚腔の拡張ステージ別

胞胚腔の拡張ステージをBL3, BL4, BL5に分けて比較した。移植時の母体年齢はそれぞれ両群間に差はなかった。胞胚腔の収縮率は拡張ステージ毎に差はないものの、BL5よりBL3で高い傾向にあった (p=0.051)。次に妊娠率はBL4において拡張群 (57.0%) が収縮群 (36.0%) に比べ有意に高かった (p<0.05)。また、BL5でも拡張群が収縮群に比べ妊娠

率が高い傾向にあった (p=0.087)。一方でBL3では両群の妊娠率に差はなかった。流産率は拡張ステージ毎に両群で差はなかった (表3)。

#### 考 察

胚培養のエンドポイントである胚盤胞凍結前の胞胚腔収縮の有無に着目し本研究を行った。その結果、凍結



前の観察画像での胞胚腔の収縮を確認することで移植胚盤胞選択の一つの指標となる可能性が示された。この胞胚腔収縮は患者背景（年齢や卵胞刺激など）に依存せず起こり、臨床成績を低下させる<sup>3)</sup>ことが知られているが、年齢による染色体異常増加による影響を考慮し、本検討では移植時39歳以下に条件設定した。胚齢で比較すると、5日目胚において収縮胚の妊娠率が低下した。流産率に差はないものの5日目胚では収縮群でおよそ15%上昇している。Marcosらは一度でも胞胚腔の収縮が見られた胚盤胞では妊娠率や出生率の低下を報告している<sup>4)</sup>。一方、6日目胚では妊娠率と流産率に差はなかった。凍結融解胚移植において6日目胚は5日目胚に比べ移植成績の有意な低下があることが報告されており<sup>6,7)</sup>、異常卵割に代表される胚質低下や発生遅延など、胞胚腔収縮以外にも妊娠率低下に影響を及ぼす要因を6日目胚は多く含んでいることが原因ではないかと推察された。

次に5日目胚におけるTEは不良の方が胞胚腔収縮は起こりやすかった。TE細胞数が少ない場合、胞胚腔拡張に伴ってTE一個あたりの細胞膜伸張が増大して胞胚腔拡大に耐えられなくなり、TE細胞もしくはTE細胞同士の接着部分の一部に虚脱が生じやすいからであることが考えられる。妊娠率はTE良好不良に関わらず凍結時に収縮が見られれば有意差はないものの妊娠率、流産率ともに拡張群を上回ることにはなかった。有意差がなかった原因として本検討で収縮に分類された胚盤胞の割合が約6%と少なかったことが一因と考えられる。

最後に5日目胚における拡張グレード別ではBL3で収縮率が高かった。これは収縮が生じると特にBL3の完全胚盤胞からBL4へ拡大していく際は透明帯を引き延ばす必要が生じるが、その途中で収縮が起こった場合は透明帯が元の厚さに戻ろうと弾性力が働いたため、BL3の直径に戻ってしまう胚が多く見られる可能性が考えられた。また、BL4とBL5の収縮群で妊娠率、流産率が悪化した。これは拡張胚盤胞に至り収縮が起きると、胞胚腔液の流出量が完全胚盤胞よりも多くなり、非収縮の胚盤胞との妊娠率に差が出たのではないかと考えた。見尾らは胞胚腔の収縮はTEの一部に破綻が生じ、胞胚腔液の流出に伴って虚脱したもので、明らかに虚脱を伴わない、あるいは軽度虚脱に止まった胚は孵化率が高く、高度虚脱を伴った胚では変性に至る胚が多く認められたと報告している<sup>8)</sup>。本検討ではBL4及び5の割合がBL3に比べ多いがこれはBL4及び5がBL3よりも当院の移植順位で優先されているためであると考えられる。本検討は簡便に着床能の高い胚を選別する目的で行ったため、胞胚腔収縮の度合いなどを考慮

していない。軽度の収縮を起こした胚盤胞と強度の収縮を起こした胚盤胞では、再拡張にかかる時間や所要エネルギーに違いがあることが考えられる。タイムラプス観察ができなければ分類することは難しいので、追加検討することでより有効な指標になる可能性がある。また、凍結前に収縮を確認した場合に再拡張を仮に待って凍結すれば凍結順位が下がらない状態にはなるものの、本検討の結果を踏まえると収縮を確認している胚は臨床成績が低下していることから正しい胚選択ができない可能性が考えられる。

以上より、凍結融解胚盤胞移植を行う際には、凍結前の収縮有無は胚盤胞選択の指標の一つとして有用である可能性があり、胚盤胞のTEグレード、拡張ステージに関わらず優先順位は下げると考えられる。

## 参考文献

- 1) Gardner DK, Schoolcraft WB, Wagley L, Schlenker T, Stevens J, Hesla J: A prospective randomized trial of blastocyst culture and transfer in in-vitro fertilization. *Hum Reprod*, 13: 3434-3440, 1998.
- 2) Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB: Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril*, 73: 1155-1158, 2000.
- 3) Sciorio R, Thong KJ, Pickering SJ: Spontaneous Blastocyst Collapse as an Embryo Marker of Low Pregnancy Outcome: A Time-Lapse Study. *JBRA Assist Reprod*, 30; 24 (1) : 34-40, 2020.
- 4) Marcos J, Pérez-Albalá S, Mifsud A, Molla M, Landeras J, Meseguer M. Collapse of blastocysts is strongly related to lower implantation success: a time-lapse study. *Hum Reprod*, 30: 2501-2508, 2015.
- 5) 渡辺真一・上畑みな子・永川恵介・見田渉・三浦恵・小林勇毅・宮田佳苗・田中豊美・松永利恵・山中菜保子・与那覇斉・桑波田暁子・越知正憲・堀内俊孝：ヒト胚盤胞の収縮が凍結融解胚移植成績に及ぼす影響：タイムラプス動画を用いた解析。日本受精着床学会雑誌，32（1）：45-48，2015
- 6) Romualdo Sciorio, K J Thong, Susan J Pickering: Increased Pregnancy Outcome After Day5 Versus Day6 Transfers of Human Vitrified-Warmed Blastocysts. *Zygote* Oct; 27 (5) : 279-284, 2019
- 7) Haas JigalMeriano, JimLaskin, CarlBentov, YaakovBarzilay, EranCasper Robert FCadesky Ken: Clinical pregnancy rate following frozen embryo transfer is higher with blastocysts vitrified on day5 than on day6. *J Assist Reprod Genet*, 33 (12) :1553-1557, 2016
- 8) 見尾保幸・岩田京子・湯本啓太郎・井庭裕美子：Time-lapse映像で見る体外培養中のヒト初期胚の胚盤胞期における諸問題。 *J Mamm Ova Res*, 28: 152-158, 2011.

# 第23回 日本IVF学会学術集会

共催

日本臨床エンブリオロジスト学会

メインテーマ

## 新時代のART医療とは ～ Ultimate ART for New ERA 2020 ～

会期

2020年10月31日(土)～11月1日(日)

会場

広島コンベンションホール



# 学術集会抄録集

<b>理事長挨拶</b> (一般社団法人 日本IVF学会 理事長 / 塩谷 雅英) .....	44
<b>学術集会長挨拶</b> (第23回 日本IVF学会 学術集会長 / 向田 哲規) .....	45
<b>Program</b> .....	46
<b>会場アクセス</b> .....	48
<b>フロアマップ</b> .....	49
<b>お知らせ</b> .....	50

## 生殖細胞のエネルギー代謝解析から ART へのトランスレーション

精子, 卵, 受精卵の代謝機構とその人為的制御, ART への応用 .....	52
座長: 広島大学 / 島田 昌之 広島大学 / 島田 昌之	
ミトコンドリアに着眼した加齢や肥満に伴う卵巣線維化メカニズムと代謝改善によるその治療法の構築 .....	53
広島大学 / 梅原 崇	

## 包括的な着床前診断・出生前診断の今後の展開

座長: HORACグランフロント大阪クリニック / 森本 義晴	
生殖医療に携わる者が知っておくべき出生前診断とその効率的利用法 .....	54
クリフム夫律子マタニティクリニック臨床胎児医学研究所・胎児診断センター / 夫 律子	
PGT-A 現状と今後の展開 .....	55
レディスクリニックコスモス / 桑原 章	

## 日本臨床エンブリオロジスト学会 「Piezo ICSI の今後の展開と有用性」

座長: 楠原ウィメンズクリニック / 沖津 撰 杉山産婦人科 新宿 / 渡邊 英明	
当院における Piezo-ICSI の変遷について .....	56
英ウィメンズクリニック / 古橋 孝祐	
Piezo-ICSI の当院における運用方法と手技を習得していく中で感じたこと .....	57
クリニックママ / 小熊 惇平	
当院におけるPiezo-ICSIの運用 .....	58
IVFなんばクリニック / 佐藤 学	
Piezo-ICSIの原理と有用性 (基礎分野の経験的立場から) .....	59
おち夢クリニック名古屋先端生殖医学研究所 / 堀内 俊孝	

## Evening Seminar

	座長:木場公園クリニック / 吉田 淳	
Euploid 時代の着床不全対策 .....		60
	杉山産婦人科 新宿 / 中川 浩次	

## ART 医療者が知るべき患者へのメンタルサポート

	座長:松田ウイメンズクリニック / 松田 和洋	
ART 医療者が患者からの信頼を得るための何気ないかわり .....		61
	東京 HART クリニック / 平山 史朗	

## タイムラプスシステムとAI技術の融合 (日本語解説)

	座長:広島HARTクリニック / 向田 哲規	
TLC, IT and Artificial intelligence .....		62
	IVF Australia / Simon Cooke	

## Piezo-ICSI は新時代の顕微授精法となり得るか (日本語解説)

	座長:広島HARTクリニック / 向田 哲規	
With PIEZO into the future of ICSI .....		63
	University of Veterinary Science / Csaba Pribenszky	

## Luncheon Seminar

	座長:アイブイエフ詠田クリニック / 詠田 由美	
月経困難症に対するホルモン治療～オフィスギネコロジーと不妊クリニックを繋ぐために～ .....		64
	茶屋町レディースクリニック / 奥 久人	

## 今後の日本の ART 医療の方向性

	座長:醍醐渡辺クリニック / 渡邊 浩彦	
日本の ART が目指すべき方向性 .....		65
	IVF 大阪クリニック / 福田 愛作	
	座長:クリニックママ / 古井 憲司	
日本のART医療の方向性 -10年後を見据えて- .....		66
	英ウイメンズクリニック / 塩谷 雅英	
	座長:古賀文敏ウイメンズクリニック / 古賀 文敏	
私が考えるART医療 .....		67
	木場公園クリニック / 吉田 淳	



## 一般演題 (口頭発表)

- 0-1 タイムラプスインキュベーターの導入により培養室業務の負担が減るのか ..... 68  
IVF大阪クリニック / 山田 悠太
- 0-2 KID SCORE™D5は6日目胚盤胞の妊娠率も予測する ..... 68  
高橋ウイメンズクリニック, 千葉大学大学院医学研究院生殖医学 / 塩谷 仁之
- 0-3 フラグメンテーション含有率が高い分割期胚への広範囲な透明帯開口術の試み ..... 69  
仙台ARTクリニック / 岸田 理英
- 0-4 タイムラプス観察による胚盤胞期胚の収縮と臨床成績について ..... 69  
高橋ウイメンズクリニック / 杉浦 朝治
- 0-5 3PN胚における倍数性解析の検討 ..... 70  
広島HARTクリニック / 後藤 優介
- 0-6 DuoStim法により良好な凍結成績を得られた1例 ..... 70  
HORACグランフロント大阪クリニック / 森下 みどり
- 0-7 タイムラプスを用いた受精操作直後の細胞質収縮による受精予測の試み ..... 71  
小牧市民病院生殖医療センター / 山口 桂子
- 0-8 TLCを用いて胚発達を改善させるEmbryo Plastyの臨床成績の検討 ..... 71  
広島HARTクリニック / 渡邊 華
- 0-9 AIを用いた胚画像認識と臨床データ解析の融合による妊娠予測 ..... 72  
英ウイメンズクリニック / 江夏 徳寿
- 0-10 卵管膨大部特異的に発現するLipocalin-2は精子運動性と受精を促進する ..... 72  
県立広島大院総合学術 / 李 周蓮
- 0-11 マウスにおける鉄欠乏は卵胞発育不全による雌性不妊を引き起こす ..... 73  
県立広島大院総合学術 / 藤内 慎梧
- 0-12 精子グルコース応答性に起因するRNAウイルス感作反応の動物種間差解析 ..... 73  
広島HARTクリニック / 田口 新
- 0-13 当院において透明帯欠損卵子が見られた症例の分析 ..... 74  
蔵本ウイメンズクリニック / 水本 茂利
- 0-14 凍結保存タンクの容量が大きいほど真空漏れを起こしても保存効果を長く保つことができる ..... 74  
IVF大阪クリニック / 水野 里志
- 0-15 閉鎖型胚凍結デバイスを用いた出生児予後への影響 ..... 75  
HORACグランフロント大阪クリニック / 的場 麻理
- 0-16 クラウド技術とマスキング技術を用いた臨床データの共有と匿名加工の方法—個人情報保護に重点をにおいて— ..... 75  
英ウイメンズクリニック / 犬伏 美喜

0-17 SMASを用いた質の高い精子の運動パラメーターによる指標の検討 .....	76
絹谷産婦人科 / 久田 尚人	
0-18 精液の温度低下による精子の運動率及びSMIの低下があった場合の加温の有用性 .....	76
IVFなんばクリニック / 阪本 なつき	
0-19 精液の酸化還元電位とストレス因子との関係性 .....	77
HORACグランフロント大阪クリニック / 金子 眞弓	
0-20 AIを用いたスマートフォン精液検査の精度向上への試み .....	77
英ウィメンズクリニック / 中川 奈緒子	
0-21 PGT-Aの処分胚の検討 .....	78
西山産婦人科 / 西山 幸江	
0-22 子宮内フローラの結果とART成績の関連—複数の臨床パラメータとの比較検討— .....	78
つばきウイメンズクリニック / 坂井 和貴	
0-23 NeurotensinはERK1/2系の持続的リン酸化を促進し排卵を誘起する .....	79
県立広島大院総合学術研究科, 倉敷芸術科学大生命科学部 / 岡本 麻子	
0-24 顆粒膜細胞で発現上昇するSREBPは, 排卵期のプロゲステロン産生に必須である .....	79
県立広島大院総合学術 / 中西 寛弥	
0-25 ニュートリションサポートセンターにおける栄養指導の不妊治療への効果 .....	80
英ウィメンズクリニック / 植田 歩唯	
0-26 レルゴリクスはARTにおいてセトロレリクスの代替薬となり得るか .....	80
IVF大阪クリニック / 矢野 未来	
0-27 男性不妊治療患者の睡眠に関する検討 .....	81
英ウィメンズクリニック / 藤井 美喜	

<b>学術集会 共催・協賛企業・後援一覧</b> .....	82
<b>日本IVF学会雑誌発行における投稿論文募集のお知らせ</b> .....	83
<b>日本IVF学会雑誌 投稿規定</b> .....	84
<b>一般社団法人 日本IVF学会 定款</b> .....	86
<b>一般社団法人 日本IVF学会 役員</b> .....	92
<b>編集委員会</b> .....	93

## ごあいさつ

第 23 回日本 IVF 学会学術集会は、広島にて開催されます。向田哲規会長は学術集会のテーマを、「New ERA の ART 医療を考える」とされました。期せずして、新型コロナウイルス感染症に対して緊急事態宣言が発令されるなど、我々生殖医療に従事する医療者は、「With コロナ」や「Post コロナ」時代における ART を模索する必要に迫られています。

さて、1978 年に英国にて ART による最初の出産が報告されて以来、すでに 40 年以上の歳月が経過しました。この間、現在に至るまで様々な進歩、工夫、技術革新がありました。40 年前の ART と昨今の ART とは隔世の感があるといっても良いでしょう。マイルストーンとなる例をあげるなら、経膈超音波下採卵法の導入、排卵誘発における GnRH アナログの使用、受精障害に対する ICSI (Piezo も含め)、培養液の改良に伴う胚盤胞培養・移植、ガラス化凍結・融解技術、タイムラプス培養、着床のウインドウを考慮した移植、そして、着床前遺伝診断技術の開発などでしょう。ART の現場で働く私たちにとりましては、これらの進歩を治療に取り入れるのに精一杯という感もぬぐえません。またややもすると現状に満足して進歩の歩みを止めがちになります。しかしながら、向田大会長はもっと ART の質を高めるべき、歩みを止めるな、と日々我々を叱咤激励してくれる存在です。今大会のテーマはまさにそのような向田先生の思いが込められたものだと思います。

いつの時代においても現状に満足しない良い意味での異端者が現れて、科学の進歩が導かれるものだと思います。「New ERA の ART 医療を考えなさい」と言われてももう何も捻りだせないよ、と感じた方もいらっしゃるのではないのでしょうか。それなのに敢えてこのようなテーマを掲げて我々に勇気と希望を与えてくださるのが向田先生です。この向田先生の思惑が第 23 回日本 IVF 学会学術集会を通じてどのように実現するのか、今から楽しみです。

それでは皆様、秋たけなわの広島にてお会いしましょう。多くの皆様のご参加をお待ちしております。宜しく願いいたします。

令和 2 年秋

一般社団法人 日本 IVF 学会  
理事長 塩谷 雅英

## ごあいさつ

このたび第23回日本IVF学会学術集会を2020年10月31日～11月1日、広島において「新時代のART医療とは～Ultimate ART for New ERA 2020～」というテーマで開催する運びとなり、今回大会長を務めさせていただくことは大変光栄に思い身を引き締めて鋭意努力しております。2020年4月に新型コロナウイルス感染症（COVID-19）に対して日本で初めて緊急事態宣言が発令され、現在も第2波、第3波を警戒しながら、感染予防と経済回復に向けた新たな日常を確立すべく日本だけでなく世界中が日々模索している状況です。将に今回の学会の表題に掲げました新たな時代（New ERA）のART医療を考える必要に迫られています。

日本IVF学会の総会・学術講演会は生殖医学会や受精着床学会などの日本産婦人科傘下の学会とは違い、ART医療に携わるすべての医療関係者や研究者がそれぞれの知識や医療レベルを高めるべく真摯な情報交換の場として考えています。23年前に大阪兵庫生殖医療懇話会として、会員同士が顔を合わせて忌憚ない意見交換を目的としてスタートした会ですので、Web開催などではなく、On Siteでの開催を目指すべく準備をし、この抄録集に掲載されているようなProgramを用意いたしました。ART医療に関する基礎的な知識から臨床的な情報に、日本産婦人科の臨床研究として開始された着床前胚染色体診断、そこから発展して出生前診断の現状から未来に関する講演を予定しております。

また今回の大会の結びには、お互いの意思疎通がSmoothに行えること、「思いを伝える」ことの重要性について、ジャパネットたかた創業者である高田明氏より、「伝わるコミュニケーション」、「伝わらなければ、ないのと同じ」という観点から、「夢持ち続け日々精進」というテーマで、なぜ高田明が語ると伝わるのか？の極意について、90分の講演を準備しております。ARTに携わる医療関係者にとって明日から役に立つ情報と将来へ向けての活力を得る学会になると思いますので、実際に広島にお越しいただき、コロナ禍の経験をもとに新たな日々のART医療を語り合う機会になればと思います。

令和2年秋

第23回 日本IVF学会  
学術集会長 向田 哲規

## 2020年10月31日(土)

### 第1会場 2階

時間	区分/テーマ	演題	演者
11:45~	レジストレーション		
12:55~13:00	開会の辞		塩谷 雅英 (英ウィメンズクリニック)
13:00~13:10	学術集会長挨拶	新時代のART医療とは~Ultimate ART for New ERA 2020~	向田 哲規 (広島HARTクリニック)
13:10~14:10	生殖細胞のエネルギー代謝解析からARTへのトランスレーション	精子, 卵, 受精卵の代謝機構とその人為的制御, ARTへの応用	島田 昌之 (広島大学)
		ミトコンドリアに着眼した加齢や肥満に伴う卵巣線維化メカニズムと代謝改善によるその治療法の構築	梅原 崇 (広島大学)
14:10~14:30	Coffee break		
14:30~15:00	包括的な着床前診断・出生前診断の今後の展開	生殖医療に携わる者が知っておくべき出生前診断とその効率的利用法	夫 律子 (クリフム夫律子マタニティクリニック)
15:00~15:45		PGT-A 現状と今後の展開	桑原 章 (レディスクリニックコスモス)
15:45~16:00	Coffee break		
16:00~17:30	日本臨床エンブリオロジスト学会「Piezo ICSIの今後の展開と有用性」	当院におけるPiezo-ICSIの変遷について	古橋 孝祐 (英ウィメンズクリニック)
		Piezo-ICSIの当院における運用方法と手技を習得していく中で感じたこと	小熊 惇平 (クリニックママ)
		当院におけるPiezo-ICSIの運用	佐藤 学 (IVFなんばクリニック)
		Piezo-ICSIの原理と有用性(基礎分野の経験的立場から)	堀内 俊孝 (おち夢クリニック名古屋 先端生殖医学研究所)
17:30~17:40	Coffee break		
17:40~18:20	Evening Seminar	Euploid 時代の着床不全対策	中川 浩次 (杉山産婦人科 新宿)
19:00~20:30	懇親会 (意見交換会)	ホテルグランヴィア広島「悠久」	

## 2020年11月1日(日)

### 第1会場 2階

時間	区分/テーマ	演題	演者
9:30~10:00	ART医療者が知るべき患者へのメンタルサポート	ART医療者が患者からの信頼を得るための何気ないかわり	平山 史朗 (東京HARTクリニック)
10:00~10:10	Coffee break		
10:10~10:40	タイムラプスシステムとAI技術の融合 (日本語解説)	TLC, IT and Artificial intelligence	Simon Cooke (IVF Australia)
10:40~11:10	Piezo-ICSIは新時代の顕微授精法となり得るか (日本語解説)	With PIEZO into the future of ICSI	Csaba Pribenszky (University of Veterinary Science)
11:20~12:20	Luncheon Seminar	月経困難症に対するホルモン治療 ~オフィスギネコロジーと不妊クリニックを繋ぐために~	奥 久人 (茶屋町レディースクリニック)
12:20~12:35	Coffee break		
12:35~13:05	年次総会および優秀演題表彰		
13:05~14:20	今後の日本のART医療の方向性	日本のARTが目指すべき方向性	福田 愛作 (IVF大阪クリニック)
		日本のART医療の方向性 —10年後を見据えて—	塩谷 雅英 (英ウィメンズクリニック)
		私が考える日本のART医療	吉田 淳 (木場公園クリニック)
14:20~14:30	Coffee break		
14:30~16:00	特別講演	夢持ち続け日々精進	高田 明 (株式会社A and Live)
16:00~16:05	閉会の辞/次期会長挨拶		村上 節 (滋賀医科大学)



座長	専門医機構 領域講習受講単位
島田 昌之 (広島大学)	○
森本 義晴 (HORACグランフロント大阪クリニック)	○
沖津 摂 (楠原ウイメンズクリニック) 渡邊 英明 (杉山産婦人科 新宿)	
吉田 淳 (木場公園クリニック)	

## 第2会場 3階

時間	区分/演者	座長
13:30~14:06	口頭演題発表 A 4題 (O-1 ~ 4)	浅田 義正 (浅田レディースクリニック)
14:06~14:42	口頭演題発表 B 4題 (O-5 ~ 8)	吉田 仁秋 (仙台 ART クリニック)
14:42~15:18	口頭演題発表 C 4題 (O-9 ~ 12)	三谷 匡 (近畿大学)
15:18~15:54	口頭演題発表 D 4題 (O-13 ~ 16)	高見澤 聡 (杉山産婦人科 新宿)
16:00~17:00	理事会 (3階 会議室 3A・3B)	

座長	専門医機構 領域講習受講単位
松田 和洋 (松田ウイメンズクリニック)	
向田 哲規 (広島HARTクリニック)	
詠田 由美 (アイブイエフ詠田クリニック)	○
渡邊 浩彦 (醍醐渡辺クリニック) 古井 憲司 (クリニックママ) 古賀 文敏 (古賀文敏ウイメンズクリニック)	○
堤 治 (山王病院)	

## 第2会場 3階

時間	区分/演者	座長
9:30~10:06	口頭演題発表 E 4題 (O-17 ~ 20)	村上 節 (滋賀医科大学)
10:06~10:42	口頭演題発表 F 4題 (O-21 ~ 24)	中岡 義晴 (IVF なんばクリニック)
10:42~11:09	口頭演題発表 G 3題 (O-25 ~ 27)	和田 龍 (広島 HART クリニック)

# 会場アクセス

## 交通アクセス・周辺地図



※広島駅から会場までの詳しい道のりについては、学会ウェブサイトをご確認ください  
(<https://23th.ivf-et.net/>)

広島コンベンションホール（JR広島駅新幹線口北口より徒歩4分）  
住所：〒732-8575 広島県広島市東区二葉の里3丁目5番4号 広テレビビル  
TEL：082-567-2300

### ■JR広島駅（在来線・新幹線）

#### ●飛行機をご利用の場合

【広島空港リムジンバス】広島空港からJR広島駅新幹線口行き  
所要時間約50分

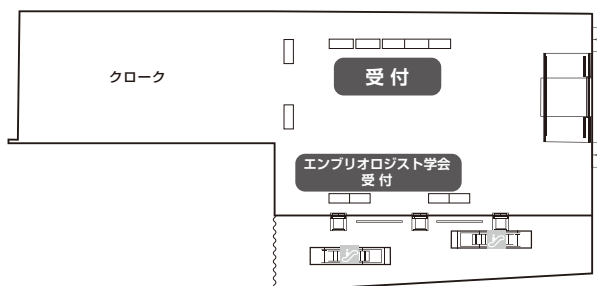
### ■学会受付

- 会場内1階エントランスにて受付を行っております

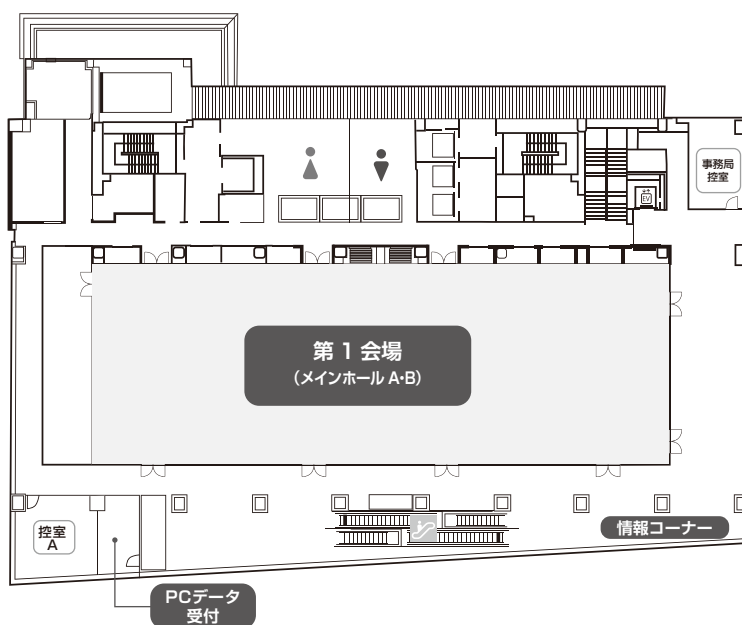
# フロアマップ

## 広島コンベンションホール 1階 / 2階 / 3階

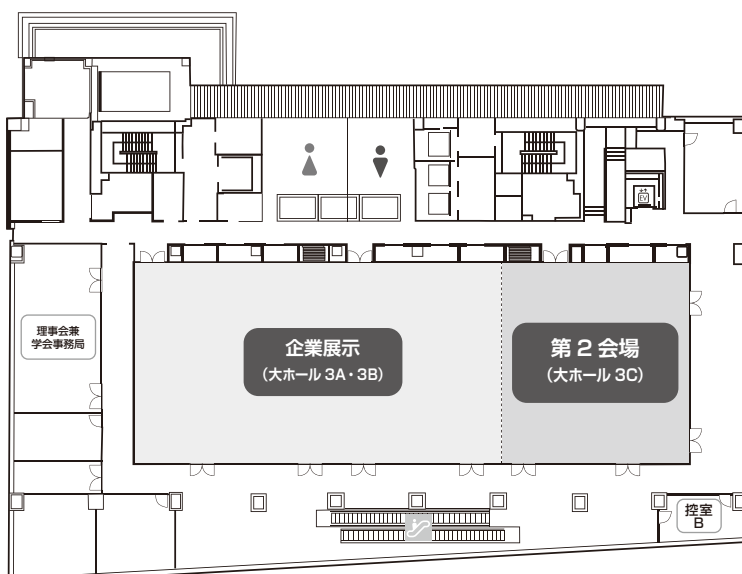
1階



2階



3階



# お知らせ

## 第23回 日本IVF学会 学術集会

共催：日本臨床エンブリオロジスト学会

### ●概要

会期：2020年10月31日(土) 11:45～11月1日(日) 16:05

会場：広島コンベンションホール

〒732-8575 広島県広島市東区二葉の里3丁目5番4号 広テレビビル

TEL: 082-567-2300

## 学術集会参加者へのお知らせ

### ●参加証

参加受付時に領収証兼用の参加証を受付窓口にてお渡しいたします。

会場内ではホルダーに入れて必ずご着用ください。

### ●参加費

			事前参加登録割引 (2,000円割引)	当日
大会参加費	会員	医師	20,000円	22,000円
		医師以外	10,000円	12,000円
	非会員	医師	23,000円	25,000円
		医師以外	13,000円	15,000円
懇親会	一律 3,000円 (事前登録のみ)			

※事前参加登録割引は2020年10月12日(月)12:00までのお申込みに適用されます。

※懇親会で参加の受付は事前登録のみとなります。当日参加は原則受け付けておりません。なお、席数に限りがございますので、期日前に受付を終了させていただく場合がございます。何卒ご了承ください。

### ●プログラム抄録集

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

●専門医などの出席証明について

- 1) 日本産科婦人科学会専門医研修出席証明  
「e 医学会カード」による専門医研修出席証明を行いますので、会員の皆様は「e 医学会カード」をご持参ください。
- 2) 日本産婦人科医会研修参加証  
研修参加証シールを発行いたします（1 日 1 枚）。
- 3) 日本生殖医学会生殖医療専門医  
日本生殖医学会生殖医療専門医更新ポイント 5 点が加算されます。当日受付にて芳名帳を用意いたします。会員カードをご提示のうえご記名をお願いいたします。
- 4) 日本専門医機構単位付与講習  
「e 医学会カード」による講習受講証明を行いますので、「e 医学会カード」をご持参ください。日本専門医機構学術集会参加単位 3 ポイントが付与されます。また、プログラム「専門医機構領域講習受講単位」に○印がついているセッション（2 日間合計 4 セッション）については、それぞれ 1 セッションごとに 1 ポイントの日本専門医機構産婦人科領域講習受講単位が付与されます。

●懇親会

日時：10月31日（土）19：00 より

会場：ホテルグランヴィア広島（4 階「悠久」）

アクセス：学会会場向かい 徒歩 2 分



## 精子, 卵, 受精卵の代謝機構とその人為的制御, ART への応用



島田 昌之

広島大学  
大学院統合生命科学研究科  
教授

略 歴

1998年 広島大学大学院生物圏科学研究科 博士課程前期修了修士(農学)  
1999年 広島大学生物生産学部助手  
2003年 山口大学連合大学院獣医学研究科博士(獣医学)  
2004～2005年 米国Baylor College of Medicine 客員研究員  
2006年 広島大学大学院生物圏科学研究科准教授  
2017年 広島大学大学院生物圏科学研究科教授  
2019年～ 広島大学大学院統合生命科学研究科教授

子宮内の精子は、ミトコンドリアで合成したATPにより直進運動し、卵管では嫌氣的解糖系を活性化させzig-zag運動を行う。また、卵は受精までは解糖系を利用していないが、受精後に解糖系が活性化される、といったように精子、卵、受精卵は時期特異的にエネルギー生産機構を変えていくと考えられている。私達は、それぞれの代謝機構を活性化させるスイッチのON/OFF制御メカニズムや、そのON/OFFの時期が狂うことがどのような影響を与えるのか、について検討を行ってきた。

細胞質の嫌氣的解糖系(グルコースからピルビン酸への変換)とミトコンドリアにおける呼吸代謝(TCAサイクルから電子伝達系)のON/OFF制御について、精子をモデルに解析した。精子は、ミトコンドリアの呼吸代謝が活性化されると嫌氣的解糖系が不活性化されることが分かった。そこで、ミトコンドリアから細胞質への代謝制御因子を探索した結果、TCAサイクルの副産物であるイタコン酸が、嫌氣的解糖系の酵素活性を抑制することを明らかとした。さらに、高濃度グルコース存在下において、イタコン酸添加が精子の代謝機構をミトコンドリアへとシフトさせたことから、イタコン酸はミトコンドリアの代謝スイッチをONにする因子であることが明確化された。この結果から、イタコン酸添加培養液により、精子の直進運動を持続させることに成功した。

卵成熟には、減数分裂再開後にミトコンドリア数が増加し、多量のATPが合成される必要がある。裸化卵を成熟培養した時、ミトコンドリア数が増えないため、数少ない・機能の低いミトコンドリアが一過的に著しく活性化する。しかし、活性酸素を除去できない結果、代謝活性が持続せず、成熟卵に必要なATP量を合成できない。このような現象は、卵丘

細胞を早期に除去した時だけでなく、加齢化卵でも認められた。そして、ミトコンドリア機能低下により、成熟卵の紡錘体が維持されない、あるいは放出された極体と卵との分離を保持できなくなり、単為発生や異常受精が引き起こされた。ミトコンドリアの機能が低いならば、細胞質の嫌氣的解糖系を活性化できる(イタコン酸が合成されていない)と仮説立て、このような低ATP産生卵を高濃度グルコース添加培養液で培養した。その結果、ATP量が増加し、第二減数分裂中期で維持されたことから、卵の加齢化の防止、あるいは裸化卵の培養に応用できると考えられた。

しかし、高濃度グルコース添加培養液で成熟卵や受精卵を培養した時、グルコースから合成されたピルビン酸はアセチルCoAではなく乳酸へと変換される。乳酸は、乳酸トランスポーターにより排出されれば細胞質内に影響を与えないが、成熟卵や受精直後では乳酸トランスポーターの発現が低値である。その結果、乳酸の蓄積により細胞質内のpHが低下し、受精卵の発生率の低下、特にマウスでは2 cell blockを引き起こすことが明らかとなった。これらの研究結果は、目先のATP合成が、後に活性酸素や乳酸による発生異常を引き起こす可能性を示しており、未成熟卵、成熟卵、受精卵の最適培養環境を構築するため、内因性抗酸化因子(グルタチオン)の合成機構、外因性抗酸化因子の効果検証、乳酸トランスポーターの発現機構の探索を行っている。

# ミトコンドリアに着眼した加齢や肥満に伴う卵巣線維化メカニズムと代謝改善によるその治療法の構築



## 梅原 崇

広島大学  
大学院統合生命科学研究所

### 略 歴

2015年 広島大学大学院生物圏科学研究科 博士課程前期修了修士(農学)  
2015～2018年 日本学術振興会特別研究員(DC1)  
2018年 広島大学大学院生物圏科学研究科 博士課程後期修了博士(農学)  
2018～2019年 広島大学グローバルキャリアデザインセンター特別研究員  
2019年～ 広島大学大学院統合生命科学研究所助教  
2019～2020年 豪州The University of Adelaide 客員研究員

加齢に伴う妊孕性の低下は、雌のほ乳類における普遍的な現象である。我々のグループでは、早期に妊孕性が低下する早期加齢化マウスにおいて、卵巣の間質細胞にコラーゲンが沈着し、卵巣間質が線維化すること、それが卵胞発育の停滞を誘導し、妊孕性を著しく低下させることを見出した。近年、卵巣間質の線維化は、卵胞発育だけでなく卵胞破裂も抑制すること、ヒトや霊長類においても加齢に伴い認められていることが報告されており、卵巣線維化は、ほ乳類に共通して加齢に伴って発生し、卵胞発育から排卵に渡るすべての卵巣機能を低下させるキーファクターであると示唆される。このような線維化であるが、これは肝臓や腎臓の機能疾患でよく認められる症状(肝硬変や慢性腎臓病)であり、肥満や糖尿病のような代謝疾患と強く関連している。具体的に、代謝疾患では、細胞内小器官であるミトコンドリアの機能不全や酸化ストレスの上昇といった細胞ストレスに伴って炎症が起こる。そして、炎症が常態化(慢性炎症)すると、過剰にコラーゲンが組織内に蓄積した結果、組織線維化が導かれる。しかしながら、卵巣線維化と代謝異常や細胞ストレス、炎症との関係は全く明らかとなっていない。

そこで我々は、代謝異常と卵巣線維化の関係性を検討するため、細胞代謝に重要な役割を果たす *Alms1* 遺伝子に変異を加えることで肥満を呈する Blobby 系統マウス(肥満マウス)を用いて解析を行った。その結果、予想通り加齢マウスと同様に肥満マウスでも、重篤な卵巣線維化が認められると共に、妊孕性が低下することを突き止めた。興味深いことに、これら卵巣線維化が生じた卵巣間質細胞では、ATP産生に必須であるミトコンドリアの酸素消費量や解糖系の活性が著しく低下していた。また、ATP産生に関わ

る酵素類をコードする遺伝子の発現や、ミトコンドリア活性が有意に低下していた。そして、このような代謝異常が生じる肥満マウスや加齢マウスの卵巣間質では共通して、細胞ストレスの上昇や炎症の亢進が認められた。このような表現型は、ミトコンドリアにおけるATP代謝異常を導くロテノン<sup>3</sup>を3週間に渡って給餌したマウスでも同様に認められたことから、ミトコンドリアにおけるATP産生異常を中枢として、細胞ストレスの上昇や炎症が誘起され、卵巣線維化が生じていることが明らかとなった。このようなミトコンドリアATP産生異常に起因して卵巣線維化が起こるという知見に基づいて、加齢マウスと肥満マウスにミトコンドリア特異的な機能改善薬(BGP15)の投与試験を行った。その結果、驚くべきことに、わずか4日間の投与で、卵巣間質のエネルギー代謝が改善するだけでなく、卵巣間質の脱線維化が起こり、外因性ホルモン投与による排卵数が上昇した。

以上のことから、卵胞発育や排卵を担保する卵巣間質が加齢や病態(肥満)によって線維化し、妊孕性を低下させること、卵巣線維化はミトコンドリア機能低下に起因しており、薬剤投与による機能改善によって回復し得ることが明らかとなった。これら成果より、ミトコンドリア改善薬の投与が、加齢に伴って低下する女性の卵巣機能を改善させる可能性を有すると考えられた。

# 生殖医療に携わる者が知っておくべき出生前診断とその効率的利用法



## 夫 律子

クリフム夫律子マタニティクリニック  
院長

### 略 歴

1983年3月 慶應義塾大学法学部法律学科卒業  
1990年3月 徳島大学医学部卒業  
4月 徳島大学医学部産婦人科学教室入局  
2003年4月 香川小児病院総合周産期母子医療センター産婦人科医長  
2006年6月 クリフム夫律子マタニティクリニック臨床胎児医学研究所院長  
Cornell大学(米国) 産婦人科客員教授  
2011年 国際Dubrovnik大学(クロアチア) Human Science 教授  
2013年 Pirogov国立研究医科大学(ロシア) 名誉教授  
2015年 International Academy of Perinatal Medicine (国際周産期医学アカデミー) 副会長  
2017年 Cornell大学, Johns Hopkins大学(米国) 産婦人科客員教授  
NIH Perinatal Research Branch, Wayne州立大学(米国) 産婦人科客員教授  
Baylor 医科大学(米国) 産婦人科客員教授  
Wayne州立大学(米国) 産婦人科特命客員教授

### 専門領域

周産期医学・出生前診断・胎児超音波医学(超音波発生学・超音波遺伝学)・胎児神経学

産科領域におけるNIPT、生殖医療におけるPGTの導入、さらに分子遺伝学の急速な発展により出生前診断においても遺伝学的知識が要求されるようになってきた。PGT、NIPTはあくまでスクリーニング検査であり、PGT、NIPTで正常結果でも多くの先天異常が確認されている。できる限り胎児期に正確な胎児情報を得て適切なマネジメントにつなげることが必要である。以下の形態診断・遺伝学的診断、問題点、解決法などを理解し、いかに合理的に効率的に利用するかを考えなければならない。

### 妊娠7-10週で発見できる形態異常

生殖医療に関わる施設では妊娠10週あたりまで管理することが多い。この時期に見つかる形態異常はそれほど多くはないが胎芽期早期の発達異常はこの時期に発見可能である。クリフムではこの時期のアーリースキャンを推奨している。

### 妊娠11週以降のトリソミースクリーニング検査

1. NIPT (10週から可能)
2. 初期超音波検査(11<sup>+</sup>0-13<sup>+</sup>6週スキャン) NT, NTプラス
3. 初期血清マーカー組み合わせ (NT+PAPP-A, free  $\beta$  hCG) 検査 (11-13週)
4. 母体血清トリプル・クワトロマーカーテスト (15週から)

### 妊娠初期から中期の形態学的診断

妊娠初期から中期において多くの形態異常が超音波検査にて診断される。形態異常がある場合には絨毛検査・羊水検査などで遺伝学的要因がないか確認することも必要となる。

### 遺伝学的診断検査(確定検査): 絨毛検査・羊水検査

絨毛検査の利点は週数が早いことため妊婦の精神的負担が少なく、羊膜破綻や児への接触がないことが挙

げられる。絨毛検査リスクは0.20%、羊水穿刺リスク0.30%、リスクプロファイル類似患者での検討では絨毛検査リスク0.11%、羊水穿刺リスク0.12%と非常に低く、実際にはほとんど無侵襲検査と言えるが、NIPTに比べはるかに得られる情報が多いため、見直されている。

### 遺伝学的診断検査の問題点とクリフムでの解決法

1. 従来の出生前検体でのGバンドの弱点とそれを補う新法

出生前検体でのGバンドでは微小染色体異常の判定が困難で出生後に染色体異常と診断されるケースがある。これを補うため筆者の施設では全例においてGバンドの補填検査としてNGSを用いたD-Karyo(デジタル染色体)検査を新法として2020年3月より行っている。これにより多くの微小染色体異常が検出され、不要なマイクロアレイを減らせるようになった。

2. PGT-Aモザイク卵移植例の取り扱い

PGT-Aモザイク卵移植後、胎児期の遺伝学的検査を行う場合には羊水の未培養細胞からのDNAによるマイクロアレイを選択している。

合理的かつ効率的な出生前診断を行うためには、超音波所見が決め手になることも多く、遺伝学的検査の選択もPGT結果や胎児の超音波検査結果などにより考慮し、これらの検査について十分熟知した上で遺伝カウンセリングを行わなければならない。



## PGT-A 現状と今後の展開



### 桑原 章

レディースクリニックコスモス  
院長

#### 略 歴

1990年3月 徳島大学医学部卒業  
1995年3月 徳島大学大学院修了  
1998年5月 米国ユタ大学研究員  
2006年4月 徳島大学病院講師  
2013年7月 徳島大学病院准教授  
2020年4月 レディースクリニックコスモス院長

#### 専門領域

日本産科婦人科学会倫理委員会登録・調査小委員会委員(ART登録)  
日本生殖医学会生殖医療専門医、日本人類遺伝学会臨床遺伝専門医  
日本産婦人科内視鏡学会技術認定医

着床前胚異数性検査(PGT-A)は、ARTにおける妊娠率を高め、流産率を減少させる画期的な技術として、生殖補助医療に携わる多くの専門家から期待されている。

一方で、日本産科婦人科学会「着床前診断に関する見解」は、着床前診断は「重篤な遺伝性疾患を診断する以外の目的に使用しない」と定義し、将来予想される遺伝子スクリーニングを防止すると解説している(2019年6月改訂)。

### 「5. 診断情報および遺伝子情報の管理

診断する遺伝学的情報は、疾患の発症に関わる遺伝子・染色体に限られる。遺伝情報の網羅的なスクリーニングを目的としない。目的以外の診断情報については原則として解析または開示しない。また、遺伝学的情報は重大な個人情報であり、その管理に関しては「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」および遺伝医学関連学会によるガイドラインに基づき、厳重な管理が要求される。」

遺伝学的解析手法の発展の結果、現在、着床前診断は遺伝子情報を解析するPGT-Mと、染色体の量を解析するPGT-A/SRに大きく区別されている。PGT-Mは、遺伝医学、医療倫理の両面から高度なプロフェッショナリズムが求められ、そのあり方を改めて見直す時期となっている。一方、PGT-Aは流産防止や一定期間内の生児獲得率に寄与することが期待される生殖医療の新しい技術として、科学的検討が今も尚、必要とされている。日本産科婦人科学会倫理委員会は2017年から2019年にかけてPGT-Aに関する探索的パイロット試験を行い、2020年からは現行見解および細則(下記参照)を守りながら、徳島

大学病院において研究倫理審査およびゲノム倫理審査を行った上で、臨床研究として多施設共同研究を進めており、現在、データの蓄積が行われているところである。

PGT-A/SRの実施には生殖医療と遺伝、両方の知識を兼ね備えた専門職によるカウンセリング、ARTと遺伝学的解析の両面での精度管理が必須となる。今回の講演では、倫理的検討課題にも触れつつ、特に日本産科婦人科学会倫理委員会が実施しているPGT-A臨床研究と諸外国の現状、そして今後の課題に関する議論を深めたい。

## 当院における Piezo-ICSI の変遷について



### 古橋 孝祐

英ウィメンズクリニック  
培養部門 統括部長

#### 略 歴

2005年3月 北里大学獣医学産学部卒業(現:北里大学獣医学部)  
4月 英ウィメンズクリニック入職  
2011年4月 英ウィメンズクリニック培養部門主任  
2016年4月 英ウィメンズクリニック培養部門部長  
2019年4月 英ウィメンズクリニック培養部門統括部長

日本卵子学会認定胚培養士, 日本臨床エンブリオロジスト学会認定臨床エンブリオロジスト,  
日本不妊カウンセリング学会認定体外受精コーディネーター, 医療福祉検定協会認定医療環境  
管理士, 医療福祉検定協会認定医療福祉環境アドバイザー, 第一種衛生管理者

胚培養士が習得すべき技術のなかで、顕微授精手技は最も高度な技術の一つであることは議論の余地の無いことであろう。顕微授精手技の巧拙によって患者は得られる受精卵の数が減ることもあれば、増えることもあるため、その技術の習得は非常に重要である。当院では安定した高い受精率かつ、低い変性率を達成できる顕微授精手技を習得できるよう教育プログラムを構築しており、このプログラムに基づいてトレーニングを行っている。2000年の開院以来、当院において顕微授精操作は、Conventional ICSIを第一選択としてきたが、1995年に Yanagimachiらによってマウスにおける Piezo-ICSI の有用性が報告され、また、1998年には、Yanagidaらによって Piezo-ICSI の有用性がヒトにおいても報告された。その後、2013年に平岡らによって Ultra-thin Micropipette を用いた Piezo-ICSI の有用性が報告されたことを受けて、当院でも Piezo-ICSI の有用性を検討した。その結果、42歳以上の高齢患者においては Piezo-ICSI で有意に高い胚盤胞発生率を認め、この結果は学会等でも発表してきた。この検討以降、当院では老化した卵子において Piezo-ICSI がより有効であろうと考え、2016年7月より、40歳以上の患者における顕微授精は全例 Piezo-ICSI を行うという治療方針としたが、期待したほどの受精率及び胚盤胞発生率の向上が認められず、2017年からは再び Conventional ICSI を第一選択に戻したという経緯がある。この原因として、当ラボでは Conventional ICSI を迅速に行う技術を習得することを第一の目標にしていたため、Piezo-ICSI に必要な精緻で時間のかかるセッティングに違和感のある施行者もあり、その結果施行者間に技術のバラツキが生じたため、結果的に成績に負の影響があったと考えられた。

その後、Piezo-ICSI の再評価を行う際に技術の見直しをゼロから行い、技術のバラツキが影響しないようにするため、手技者は熟練技術者一人に固定し検討した結果、35歳以上症例において、有意な培養成績の向上を認めたため、各手技者に Piezo-ICSI の技術を再教育し、2019年1月より40歳以上患者の顕微授精は全例 Piezo-ICSI を行うという治療方針に再び変更した結果、前年(2018年)と比較し受精率・胚盤胞発生率などが有意に上昇した。このように Piezo-ICSI といってもその技術が未熟であれば、良好な成績に繋げることは出来ないが、安定した Piezo-ICSI 技術を確立さえすれば、胚发育の向上に寄与することが示唆された。本講演では当院における Piezo-ICSI の変遷について言及していきたい。



## Piezo-ICSIの当院における運用方法と手技を習得していく中で感じたこと



小熊 惇平  
クリニックママ

略歴  
2016年3月 日本獣医生命科学大学卒業  
4月 クリニックママ入職(現在に至る)

Piezo-ICSIは従来の方法に比べて、受精率、胚盤胞発生率の向上が数多く報告されている。また、習得までに比較的時間がかからないことや手技の統一が容易であり、複数の培養士でICSIを施行しても安定した培養成績を維持することができる。これらの理由からPiezo-ICSIを導入している施設が増えてきている。

当院のPiezo-ICSIの導入は2015年12月であり、当初から全てのICSI症例に対してPiezo-ICSIを施行している。2台のPiezoを設置することで、機器に不具合が起きた場合は早急に対処できるよう準備を整えている。私は2016年に入職し、2年後に初めてICSIを施行した。よって私はPiezoしかICSIを行ったことがない。日本臨床エンブリオロジスト学会で初めて参加したワークショップはConventional-ICSI初級ではなくPiezo-ICSI初級から参加させていただいた。しかし、当時はConventional-ICSIを習得してからのPiezo-ICSIという流れが一般的であったため、マニピレーターが上手く扱えない私に講師の先生は困惑されていた。その後手技を習得し、日本臨床エンブリオロジストの認定資格試験はPiezo-ICSIの手技動画で合格させていただいた。

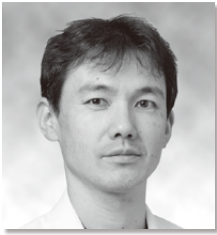
幸運だったのは2016～2019年は多くの学会でPiezo-ICSIのワークショップを行っており、Piezo-ICSIの第一線で活躍される先生方の技術と知識を学べたことである。施設毎に少しずつ異なる精子不動化から精子注入までの方法を知ることによってPiezo-ICSIの発展と可能性を肌で感じることもできた。

今後、私のようなPiezo-ICSIのみを行う世代(Piezo-ICSI世代)はPiezo-ICSIの発展に伴い増加すると考える。Piezo-ICSI世代がどのようにトレーニングを積み、どのような課題をクリアできたら臨床へと進

むことができるのか、ステップアップのためのマニュアル作りが重要と考える。

当院におけるPiezo-ICSIの運用方法と一緒に、私が手技を習得していく中で感じたことを発表したい。

## 当院における Piezo-ICSI の運用



### 佐藤 学

IVF なんばクリニック  
生殖技術部門技師長

#### 略 歴

2003年 弘前大学大学院農学研究科修士(農学)  
IVF大阪クリニック入職  
2006年 近畿大学生物理工学研究科入学(博士課程)  
2007年 生殖補助医療胚培養士資格取得  
2009年 近畿大学大学院生物理工学部研究科修士(工学)  
2012年 生殖補助医療管理胚培養士資格取得  
2020年現在 IVFなんばクリニック生殖技術部門技師長

顕微授精 (ICSI) は生殖補助医療において今や必須の技術であり, ICSIの技術や成績は医療施設のレベルを示すインジケータの一つとも言える. ICSIの手法は Conventional-ICSIと Piezo-ICSIに大きく分けられる. 以前から Piezo-ICSIは生殖補助医療の現場で活用されてきていたが2010年代から国内で広く普及した印象が強い. 当院でも2011年に Piezo-ICSIを導入して9年ほど経過している. 国内のその当時の状況は団塊ジュニア世代が治療を受ける中心となり, 体外受精件数は増加の一途をたどるとともに治療を受ける患者の平均年齢も上昇し, 高齢卵子の品質低下への対処が必要であった. そこでダメージの少ない Piezoパルスを用いて「優しいICSI」を行うことで成績の低下を防ぐ一手とならないか, というモチベーションで Piezo-ICSIを導入した. また, 全面的に Piezo-ICSIに変更するのではなくオプションとしてスタートし, 現在では Conventional-ICSIと Piezo-ICSIの実施比率はほぼ1:1である. Piezo-ICSIと Conventional-ICSIでの受精率にほぼ差はなく, どちらかが適正と判断される症例の場合は医師と相談のもとでICSIの方法を選択する場合があるが, 指定がない場合はランダムに選択して実施している.

当院の Piezo-ICSIの受精成績は Conventional-ICSIと同等であった. 培養成績も同様である. Piezo-ICSIの利点は確実な精子不動化と透明帯と細胞膜の穿破ができること, そのステップが機械化され設定が数値化されていることであると考えている. Conventional-ICSIが Piezo-ICSIに比べ劣っているとは考えておらず, 成績に違いがあれば何かしら課題が残っていると判断することも一つの考え方ではないだろうか. ただし, その課題を克服するために Piezo-ICSIが糸口になるのであれば, Piezo-ICSIへの変更が解決法の一つであることは

言うまでもない. 当然のことではあるが Piezo-ICSIのシステムと特性を十分に理解して運用することが必要で, 不十分であると成績の低下を引き起こすことになりかねない. 特にパルスの設定, パルスの「効き」, セッティングは重要であって単純に Piezo-ICSIはとりあえず「やればできる, 簡単」というものではないことは念頭においておくべきであると考えている. 発表ではこれまでの運用の経緯と結果, 注意点について述べたい.

## Piezo-ICSIの原理と有用性(基礎分野の経験的立場から)



### 堀内 俊孝

おち夢クリニック名古屋  
先端生殖医学研究所  
所長

### 略 歴

1977年 広島大学水畜産学部卒業  
1982年 東北大学大学院農学研究科博士課程修了、農学博士  
1983年 宮城県畜産試験場技師(1988年3月まで)  
1984年 ハワイ大学医学部生殖生物学(柳町研究室)留学(1年)  
1988年 広島農業短期大学講師(2002年3月まで)  
2005年 県立広島大学生命環境学部教授(2020年3月まで)  
2020年 県立広島大学名誉教授  
2020年 おち夢クリニック名古屋先端生殖医学研究所所長(現在に至る)

これまでに、ウシのPiezo-ICSIによる受精と胚発生の研究を行い、ピエゾ・マニピュレータシステムの構築、フロリナートシステムへの移行を経験し、その過程において多くのことを学んだ。本講演では、基礎分野の経験的立場からPiezo-ICSIの原理と有用性について、話題を提供する。

1992年Palermoらがヒト精子の卵細胞質内精子注入法(ICSI)による初めての妊娠、出産の成功を報告した。ICSIは、男性不妊症のみならず、IVFの受精障害の症例等に適応が広がり、不妊治療では基幹技術となっている。

ヒト卵子のICSIでは、先端にスパイクの付いたインジェクションピペットを卵子に突き刺し、卵細胞膜を吸引によって破り精子を注入する方法(Conventional-ICSI: C-ICSI)が広く普及している。近年、ピエゾ圧電素子を用いたPiezo-ICSIがヒト不妊治療分野でも普及しはじめ、C-ICSIと比べ受精率が高く、変性率が低いことが報告されている。さらに、技術的にも簡易で再現性があり、技術者の養成も容易である。

ピエゾはギリシャ語で圧力を加えるという意味で、電圧が加えられると伸縮する構成要素が圧電素子である。これは、入力されたエネルギーを物理的運動に変換し能動的に駆動するアクチュエータに利用されている。当初は、マイクロマニプレータの自動化システム開発の一環として圧電素子を用いた細胞操作用マニプレータの開発が行われた。

現在のPiezo-ICSIは、1995年のKimura&YanagimachiによるマウスICSIの報告からはじまり、多くの動物種で使用されている。Piezo-ICSIは、C-ICSIと異なり、インジェクションピペットの先端は平坦である。なぜピペット先端が平坦でありながら透明帯をくり抜き、

卵細胞膜を破ることができるのか？ ピペット先端を透明帯表面に接触あるいは少し隙間をあけてピエゾをかけることで透明帯にスリットが入る。ピエゾパルスをかけながら手で少しずつ前にピペットを進めることで、透明帯を円筒状にくり抜くことができ、くり抜かれた透明帯チップはインジェクションピペット内に吸引される。このことはピペット側壁における先端の液流が鋭く動くことを示している。

ピエゾ振動に影響する要因の理解は、Piezo-ICSIでトラブルが生じるリスクを低下させる。ピエゾ端子(発振体)からピペット先端部の距離が短いほど、ピエゾ振動は強くなる。また、PVP濃度が薄いほどピエゾ振動は強くなるが、PVP濃度が薄くなると精子の操作性は低下する。ピペット内のフロリナート量、インジェクションピペットの形状やガラスの厚さも影響する。

Piezo-ICSIは、そのシステムの構築に少し時間がかかるが、ヒトの不妊治療分野において有用な技術であり、さらに普及していくことが期待される。

# Euploid 時代の着床不全対策



## 中川 浩次

杉山産婦人科 院長

### 略 歴

1990年3月 自治医科大学卒業  
5月 徳島大学医学部産婦人科にて研修開始  
1996年4月 徳島大学医学部産婦人科医員  
2000年4月 徳島大学医学部付属病院助手  
2001年4月 愛媛県立中央病院産婦人科医長  
2002年5月 国立成育医療センター不妊診療科医員  
2008年4月 杉山産婦人科生殖医療科  
2018年1月 杉山産婦人科院長  
現在に至る

### 資格

医師免許(1990年), 学位取得(2000年), 生殖医療専門医(2007年),  
産婦人科内視鏡技術認定医(2008年)

移植可能な胚を3回以上移植しても着床しない場合は、体外受精反復着床不全(repeated implantation failure; RIF)と定義され、その原因は多岐にわたると考えられる。明らかな原因が見つからなかった際には、我々は通常、胚の染色体異常が原因と、胚因子をRIFの原因としてきた。

2020年に日本産科婦人科学会のPGT-A臨床研究が開始され、RIF症例に対してeuploid胚を移植することが可能になった。このことは、医療者や患者自身に“ほぼ着床する胚を移植している”つもりにさせる。しかし、日本産科婦人科学会のPGT-Aパイロット研究のデータからは、日本人の場合でも約30%の症例は着床しないことが明らかとなった(Euploid胚の妊娠率は70.8%)。つまり、この3割の症例に対して、説得力のある説明が求められるようになった。このような時代だからこそ、RIFの原因としての胚以外の因子の抽出、正しい評価と対策が求められる。本講演では、好ましい着床環境を作るためのプロゲステロンの役割、RIFの原因として注目されている慢性子宮内膜炎(CE)の管理と対策、免疫学的着床不全の対策について当院での取り組みを中心に述べる。

受精卵は移植免疫学的には“semi-allograft”であるため、移植される側(女性)の免疫担当細胞から攻撃を受ける(拒絶反応を惹起する)可能性があることは容易に想像がつく。しかし、通常はプロゲステロンの免疫抑制作用(免疫寛容)により、これらの拒絶反応は減弱され、受精卵は子宮内膜に着床することができる。黄体補充にプロゲステロン製剤を使用することで理想的な免疫寛容状態を惹起できると考える。

慢性子宮内膜炎(CE)も、確認しておくべき原因の

一つである。我々の施設では、RIFの場合は子宮内膜組織検査でCEの有無をチェックしている。CD138陽性細胞が10視野で5個以上認めれば、「陽性」と判断し、5個以下になるまで、徹底的に抗生剤による治療を実施する。

免疫学的拒絶のチェックは、以前から使用している1型ヘルパーT(Th1)細胞と2型ヘルパーT(Th2)細胞の比(Th1/Th2比)を用いて行っており、Th1/Th2比が基準値以上を示す症例に対して免疫抑制剤であるタクロリムスを用いて治療を行っている。最近までの成績では、症例あたりの妊娠率は47.2%であった。投与するタクロリムスの量に関しては、既報(AJRI 2015)の基準に従って1~4mg/日の範囲で行っているが、最近ではタクロリムスの血中濃度を測定し管理している。タクロリムスは服用後速やかに最高血中濃度に達し、さらに半減期が24時間を超えているため、1日1回の投与で効果は十分に期待できると考えている。

上記以外は、VitDの低値、潜在性甲状腺機能低下、等を比較的頻度の多いRIFの原因として挙げることで、これらを補正することで多くのRIF症例を解決することが可能と考える。現在進行中の日本産科婦人科学会のPGT-A臨床研究が終了した後は、「Euploid胚の移植」が当たり前時代の到来する。妊娠しない理由を胚のせいにはできなくなることにより、我々臨床医にとっては、益々厳しい(いや燃える!)時代がもう目の前に迫っている。



## ART 医療者が患者からの信頼を得るための 何気ないかかわり



### 平山 史朗

東京 HART クリニック  
生殖心理カウンセラー  
(公認心理師・臨床心理士)

#### 略 歴

1993年 広島大学教育学部心理学科卒業  
1997年 広島 HART クリニック常勤心理カウンセラー  
1998年 Center for Reproductive Psychology (San Diego, CA)にて生殖心理カウンセリングの研修を受ける  
2001年 厚生科学審議会生殖補助医療部会委員(～2003年)  
2002年 東京 HART クリニック生殖心理カウンセラー (現職)  
2013年 厚生労働省不妊に悩む方への特定治療支援事業等のあり方に関する検討会委員

資 格 生殖心理カウンセラー, 公認心理師, 臨床心理士, 家族心理士 他

所属学会 日本生殖心理学会(副理事長), 日本家族心理学会(代議員), 日本心理臨床学会, 日本受精着床学会, 日本生殖医学会, アメリカ生殖医学会(メンタルヘルス専門家グループ), 欧州生殖医学会(心理学&カウンセリンググループ) 他

著 書 「妊活に疲れたら, 開く本」(主婦の友社) 他

「こころのケア」というと専門的な心理支援を想像する医療者も多いと思うが、実は日常的なかかわりの中にこそ患者からの信頼を得、この施設に通ってよかったという患者満足を上向きさせるポイントがある。ESHREの心理学・カウンセリング専門グループが発表した「不妊とMAR(医療的に補助される生殖)における日常的な心理社会的ケア—生殖医療スタッフのためのガイド」(2015)は、心理支援の専門家でない生殖医療スタッフが日常臨床で留意すべき患者への心理支援についてエビデンスベースでまとめられた世界初のガイドラインである。ここで推奨されている心理社会的ケアには、待ち時間を短くすることなどの環境的配慮等に加え、スタッフのコミュニケーションスキルの重要性が記されている。日常における何気ないかかわりこそが医療者が行うべき心理支援の大きな柱であることを自覚すべきである。

しかしながら、現実的に忙しい日々の診療の中で個々の患者とかかわることは容易ではない。まず患者との間に関係を結び、患者の訴えを聴取し、その中から必要な情報を分析し、的確な診断のもとに治療法の選択肢を提示し、患者治療の同意を得てその治療のために必要な医療行為を指示し実施する、これらを効率よく短時間のうちに行わなければならない。また、生殖医療は成功よりも不成功の機会が多く、治療期間の予測も最終的な目標である妊娠の保証もできないという医療不信を招きやすい性質を本質的に内包している。しかも悪性腫瘍のように致死性でない疾患ゆえに患者の治療への動機づけを保つことも難しく、治療のドロップアウトや患者側からの転院などが起こりやすく、患者と良好な信頼関係を保ち妊娠まで治療を継続させることには医療者側の不

断の努力を要する。

生殖医療を利用する患者が望む医療者のかかわりとして、患者と「向き合って」「親身になって」「話を聞いてくれ」「安心させてくれる」ということがよく言われる。しかし具体的に“どうすれば”患者がそのように感じるができるのかについては言及されることは少ない。ともすればお題目のように「受容と共感が大事」と言われてしまい、これでよいのかと悩みながら日々の診療で患者に接している医療者も多いと思われる。本講演では、心理支援の専門家でない医療者が、負担なく日常臨床に取り入れることで患者との関係の質を上向きさせるかかわりについて、できるだけ実践的に解説したい。



## TLC, IT and Artificial intelligence



**Simon Cooke**

IVF Australia, Sydney,  
Australia,

Simon is the Scientific Director of IVFAustralia, and is responsible for 7 Embryology and 11 diagnostic Andrology laboratories.

Working in and overseeing the management of embryo and sperm laboratories since 1992, Simon has also driven multiple automation projects within the IVFAustralia labs, from Automated Semen Analysis, to the new Artificial Intelligence technology allowing the best embryo to be selected from the patient's cohort, with the aim to shorten the time to pregnancy.

For two decades, almost all clinics in the world have used a variation of the original Gardner alpha-numeric blastocyst grading methodology<sup>1)</sup>, to try and determine which blastocyst should be ranked higher than the rest of the cohort, and be selected for embryo transfer. Some manufacturers have tried to improve on this with inbuilt annotated algorithms<sup>2)</sup>, with other independent authors demonstrating their own *in-house* algorithms have limited use<sup>3)</sup>. The time taken for lab staff to perform these annotation processes (particularly in large labs), whilst reducing the intra-observer errors during annotation is a major drawback, and has fueled the desire for full automation.

As systems move away from using 2D static images, and into 3D and 4D decision making, and with the advent of timelapse incubators with operating software that captures huge amounts of data, the next challenge is “how to manage and analyse” these mountains of new data. This has pushed researchers into the area of complex mathematics and computer modelling, and into the world of Artificial Intelligence (AI) to build accurate models that are independent of labs, countries, patient age and culture medium used.

Indeed, the world's first automated timelapse AI analysis system that can accurately predict the fetal heart potential in a cohort of blastocysts with an AUC of 0.93 has recently been published<sup>4)</sup>.

Deep learning has also been used in other

systems, which mostly revolve around the ability for AI to differentiate between embryos of differing morphology<sup>5)</sup>. Laboratory methods, and most importantly the usage and degree of automation of AI will be discussed, and the differences explained, and compared to published accuracies. An exciting new era of embryo assessment based on pure mathematics and proof has already begun.

1) Gardner *et. al.* (2000) . *Fertil Steril* 73: 1155-1158.

2) Petersen *et. al.* (2016) . *Hum Reprod* 31: 2231-2244

3) Storr *et. al.* (2015) . *J Assist Reprod Genet* 32: 1151-1160

4) Tran *et. al.* (2019) . *Hum Reprod* 34: 1011-1018

5) Khosravi *et. al.* (2019) . *Npj Digital Medicine* 21: 1-8

## With PIEZO into the future of ICSI



### Csaba Pribenszky

Associate professor,  
principal investigator and  
senior lecturer at  
University of Veterinary  
Science, Hungary

Csaba Pribenszky obtained his PhD at the University of Veterinary Science, Budapest, Hungary and worked as senior researcher and lecturer in different ART research institutes in Brasil, USA, France, Denmark and at numerous ART labs worldwide. He published the birth of the first baby where a single embryo was selected via time-lapse. His research led to the development of the first commercially available time-lapse system for the routine. His team has published the first protocols for the stress-preconditioning of gametes, embryos and stem cells. His main research areas include time-lapse imaging, embryo selection, cell stress, cryopreservation and new technologies for ART. He is an assoc prof at the University of Veterinary Science, Budapest and a senior researcher at Vitrolife AB Sweden.

---

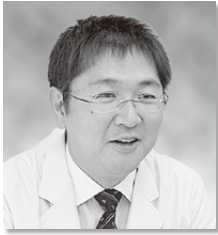
A recent meta-analysis has summarised the data from 9 studies and compared the laboratory results of ICSI with or without piezo. The data of 17584 fertilisations showed a significant increase of 2PN and blastocyst rates and a decrease in oocyte degeneration if piezo-ICSI was used for fertilisation. Nevertheless, the studies are mainly retrospective ones so proper randomised trials are needed to support these findings. The major teaching of the studies however is that the piezo technique lays the foundations of standardising the ICSI procedure by significantly simplifying the movements and by eliminating the need for oolemma aspiration.

The preparations for piezo-ICSI include the backfilling of an operation liquid into the injecting microcapillary. The application of the operating liquid is fundamentally important as it ensures the safe and effective piercing procedure and minimizes oocyte degeneration. It stabilizes the lateral vibrations of the pipette tip, intensifies axial vibrations and generates a slight vacuum inside of the capillary. First mercury then fluorocarbons and fluoroethers (from the Fluorinert and Novec families by 3M, USA) have been used for piezo-ICSI. They contain a mixture of fully fluorinated compounds together with a fraction of underfluorinated impurities. The unidentified constituents of Fluorinert and Novec and the impurities coming essentially from their manufacturing process poses a risk for the safe operation as these substances are severely

cytotoxic and is an obstacle for the safe use, further registration and widespread of the technique.

A new operating liquid have been developed that is completely free of toxic impurities and constituents. The studies show zero cytotoxicity and an improved efficacy in the piezo ICSI procedure. The standardised piezo-ICSI procedure together with the use of the medical operating liquid ensures a significant leap in the ICSI technique benefiting both patients and clinics.

# 月経困難症に対するホルモン治療 ～オフィスギネコロジーと不妊クリニックを繋ぐために～



奥 久人

茶屋町レディースクリニック  
院長

略 歴

1999年 兵庫医科大学卒業  
2002年 兵庫医科大学大学院卒業  
宝塚市立病院  
2004年 パルモア病院  
2005年 倉敷成人病センター  
2006年 健康保険組合連合会 大阪中央病院  
2014年 現職

日本産科婦人科学会専門医, 日本産科婦人科内視鏡学会技術認定医・技術認定医審査委員

近年、女性のヘルスケアへの注目とともに女性医療は急速に進歩している。

当クリニックは、大阪の交通的要所となる梅田から徒歩圏内にあり、更年期や月経困難症、性感染症、低用量経口避妊薬等の扱いなどに特化した、オフィスギネコロジーといわれている領域にあたる。患者層は13-60歳と幅は広く、婦人科領域の窓口になるクリニックと考える。中でも、この数年急増しているのが月経困難症やPMS、不順等、月経にまつわるトラブルの受診である。これらの症状には子宮内膜症や子宮筋腫等の疾患が背景に潜んでいることも多く、医療介入初期の診断が非常に重要である。当クリニックは4名の内視鏡外科医を有し、それら妊孕性にかかわる疾患の薬物療法及び手術時期の相談に強みがあるのが特徴となる。

月経困難症や子宮内膜症・子宮筋腫に対する治療は急速に進歩し、LEP製剤、ジエノゲスト2mg投与(1mg錠×2/日)、GnRH製剤、レルゴニクス錠、レボノルゲストレルキット等の様々な治療薬が使用されるようになった。一番大きな変化は、器質性月経困難症に対する、『婦人科特定疾患治療管理料』の加算が可能になったことである。我々は、患者年齢や生活背景などを考慮しつつ薬剤選択(OC/LEPの種類選択等)を行う。しかし、月経困難症に対するこれまでの薬剤には、薬物の禁忌・年齢や使用期間の制限等多くの制約があり、薬物選択に悩む症例も存在した。

今回、ジエノゲスト1mg投与(0.5mg錠×2/日)の認可(2020年5月)で、さらに月経困難症に対する治療の幅が広がった。薬剤の特徴として、従来のジエノゲスト2mg投与と比べ血中のエストラジオール濃度が80-100pg/ml程度維持され、若年者に使用し

やすくなったことがある。また、高血圧や片頭痛・50歳以上等OC/LEP製剤の禁忌であった多くの症例に対し治療が可能になった。価格的にもLEP先発製剤と大差はなく使えることもメリットと思われる。当院では、2020年8月15日現在69名に処方(平均35.6歳:20-55歳)し、①前兆を伴う片頭痛26名、②年齢を考慮した者20名がLEP製剤を使用しなかった理由として多く、その他にも高血圧や血栓素因保因者などLEP禁忌症例への投与を認めた。投与期間が数か月のため薬効への効果の報告は難しいものの、使用している印象としては治験データと概ね差異はない。

しかし、我々は疾患コントロールに関しては経験を有するが、不妊治療に関する経験は乏しい。その為、妊娠を考える際には適切な時期に専門施設への紹介を要することが多くなり、我々クリニックと不妊専門機関とのより密な連携が必要と考える。子宮内膜症や子宮筋腫の手術相談に関しては不妊治療の進捗状況を踏まえ適切に相談できる環境を築き、手術施設とも連携をできればと考えている。

何よりも、子宮内膜症や子宮筋腫は妊娠・出産後も継続管理が必要であり、産後の管理を含めた医療施設間の連携を築けることを願う。

# 日本の ART が目指すべき方向性



### 福田 愛作

IVF 大阪クリニック  
院長

#### 略 歴

1978年 関西医科大学卒業  
1978年 京都大学産婦人科研修医  
1984～1988年 京都大学大学院  
1989年 京都大学医学博士  
1990年 米国東テネシー州立大学医学部産婦人科准教授  
1996年 米国バイオアナリスト協会(ABB)資格(HCLD)取得(日本人唯一)  
1998年 IVF大阪クリニック勤務

産婦人科専門医, 生殖医療専門医, 日本産婦人科学会倫理委員会PGT-Aに関する小委員会委員, 日本産婦人科学会生殖内分泌委員会POIに関する小委員会委員, 関西医科大学非常勤講師  
受 賞

米国不妊学会賞(ASRM,1992年), 関西医科大学同窓会賞(1993年), SIGMA科学写真賞(1998年), 日本受精着床学会世界体外受精会議記念賞(2000年)

所属学会, 研究会(役職)

日本受精着床学会理事, 日本臨床エンブリオロジスト学会顧問, 日本IVF学会常務理事,

日本レーザーリプロダクション学会名誉理事長, JAPCO(日本PGDコンソーシアム)世話人

昭和53年(1978年)に体外受精はRobert Edwards博士(生物学者)とPatrick Steptoe博士(医師)の二人の力で誕生したというのが定説である。しかし、その他にもJean Purdy女史やBarry Bavister博士の存在が無ければ起こりえなかった。顕微鏡下に世界で初めて2前核期受精卵(2PN)を観察したのはPurdyである。Purdyが実体顕微鏡下に2PNを見て驚き「Edwards博士!受精してますよ、見てください!」とEdwardsに声を掛けEdwardsが2PNを確認した。Edwardsは1968年にヒトの胚盤胞培養に成功しているが、Bavisterの協力を得て初めて成功している。1990年にイギリスで行われた世界で最初のPGD成功例は、伴性劣性遺伝性疾患(男児の発症率50%)の児をもつ可能性のあるカップルに対して、発症率の低い女児の受精胚を選別する方法であった。この方法を提案したのが当時培養士であったAlan Handyside博士である。即ち、体外受精には多くの人々の協力が必要であるとともに胚培養士の力が不可欠である。体外受精の生みの親Edwardsは「胚は病気や異常の発見や治療にとって、医療・医学の対象そのものである」と述べている。現在この言葉通りのことが生殖医療の中で起こりつつある。

日本では1983年に初めての体外受精成功例が報告され、奇しくも平成元年(1989年)から日本産婦人科学会のART統計グラフが公表されるようになり、同じく令和元年(2019年)から条件付きではあるがPGT-A(従来PGSと呼ばれていた着床前スクリーニング)が可能となった。昭和から平成を経て令和時代に突入し、日本でも世界標準の生殖医療が可能となったと言える。

日本で開始されたばかりのPGT-Aについて、世界では既に多くの知見が集積されている。IVF開始当初はIVFが夢

の治療であり、すべての不妊症はこれで解決されると期待された。ところが、男性因子に対しては無力であった。ICSIの登場で男性因子の部分は補完された。しかし、高齢不妊患者の増加も相まって、やはり妊娠に至らない症例が依然として多数出現している。そこに救世主として現れたのがPGS(PGT-A)であった。PGT-Aの知見が海外で蓄積されることにより、PGT-Aがオールマイティーでないこと、それと同時に現在のARTの弱点が浮き彫りにされた。

この事実を踏まえ日本のARTの目指すべき方向性を私の経験をもとに考えてみた。卵巣刺激には標準的なプロトコールは存在するが、ゴナドトロピンの日々の投与量調節やアンタゴニスト開始のタイミング、採卵決定のタイミングなどすべて担当医の腕にかかっている。採卵や胚移植の技術は医師により大きく異なる。培養室においても、卵子の皮むきの技術、媒精、ICSIによる受精率、胚の発育率。タイムラプスで自動化が普及しても培養士の感性によりその成績は大きく異なる。即ち、人的要因がARTではその成績を大きく左右することになる。

第三者を介する医療については日本では禁止されているが、解禁されたとしても日本人の国民性から海外ほどの増加はないと考えられる。この事実が困難症例に対する克服方法を探求する要因ともなっている。

私は、ART(生殖補助医療)はART(芸術)だと考えている。医師、培養士一人一人が感性を磨き、日々神経を研ぎ澄ませて、生殖医療に勤しむことが、日本のARTの目指すべき方向性だと考えている。AIを用いた様々な機器が開発されても、結局はヒトの手で行われる部分が、ART臨床成績のボトルネックとなっている。生殖においても最高の職人技を可能とするのが、日本人の生まれ持った特性ではないかと考えている。



## 日本の ART 医療の方向性 -10 年後を見据えて-



### 塩谷 雅英

英ウィメンズクリニック  
理事長

#### 略 歴

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

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

日本IVF学会理事長、生殖バイオロジー東京シンポジウム世話人、日本受精着床学会評議員、日本卵子学会理事、日本生殖心理学会理事、日本生殖発生医学会理事、日本レーザーリプロダクション学会副理事長、日本生殖医療支援システム研究会副理事長、JISART副理事長、日本生殖医学会代議員、近畿産婦人科学会内分泌・生殖研究部会委員、兵庫県産婦人科学会学術委員

新たな時代(New ERA)のART医療を予測することは簡単ではない。我々は、急速な進化を遂げてきたART医療の足跡を過去に遡って振り返ることで、未来へのヒントを見出せるのでは無いかと考えた。今回の講演では、胚培養室(技術)、妊孕能温存治療、男性不妊治療、調節卵巣刺激法、そしてARTの負の側面としての一卵性双胎や癒着胎盤の予防などについて、過去と現在を比較し、この対比を通して10年後のART医療を予測してみた。

「胚培養室(技術)」10年前、加湿型培養庫がところ狭しと並べられていた培養室には、いまやタイムラプス型培養器が整然とならび、胚培養士のワークフローは一変した。精液検査はカウンターを用いて目視をしていたが、CASAによる自動検査となっている。精液調整は遠心分離を必要としない方法にシフトしつつある。Conventional ICSIはPIEZO ICSIにとって代われつつあり、取り違い防止はマンパワーを活用したダブルチェックからバーコード認証システムになった。この10年の進化には目を見張るものがある。

「一卵性双胎や癒着胎盤の予防」過去10年における当院の一卵性双胎発生率は1.5%と自然妊娠に比べおよそ2倍の頻度であった。一卵性双胎は早産やTTTSのリスクファクターとなり、周産期予後に悪影響を及ぼす。10年後のARTには一卵性双胎を無くす工夫が求められる。ARTで発症率が高まると懸念される癒着胎盤も周産期予後を左右する重要な疾患である。当院における過去10年間の凍結胚融解移植後妊娠の癒着胎盤発症率は1.9%であり、自然妊娠よりも高いものであった。癒着胎盤のリスク因子を解析することで、10年後のARTではその発症率を下げるこ

できないかどうか考察したい。

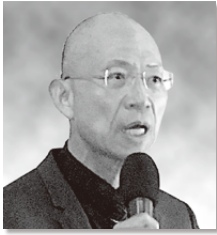
「調節卵巣刺激法」10年前、当院ではショート法を選択するケースが最も多かった。しかし2年前から調節卵巣刺激法は一変し、今やショート法やロング法を選択するケースは非常に少なくなり、主流はPPOS法となった。このように過去10年で様変わりした調節卵巣刺激法であるが、さらに10年後のあり方について予測してみたい。

「妊孕能温存治療」卵子凍結による出産は1986年に、そして卵巣組織凍結による出産は2004年に報告された。今や卵子凍結は確立された治療として認められている。2012年には日本がん生殖医療学会設立、そして2017年には日本がん治療学会がガイドラインを発行するなど、がん患者の妊孕能温存治療は確立しつつあるように思える。この間には、Random-StartやDuo-Stimuなどの卵巣刺激法の工夫もあった。10年後のあり方についても予測してみたい。

「男性不妊治療」精子の発見は1677年に遡る。1993年には精巣精子による出産が報告された。今や1個でも精子があれば挙児の可能性が開けている。今後はより良い精子を確保、あるいは選別することの重要性が増して行くことであろう。10年後の男性不妊治療のあり方についても予測してみたい。



## 私が考える ART 医療



### 吉田 淳

木場公園クリニック  
院長  
つくば木場公園クリニック  
CEO

#### 略 歴

愛媛県松山市生まれ 59歳 男性  
1986年 3月 愛媛大学医学部卒業  
1986年 5月 東京警察病院産婦人科  
1991年 8月 池下レディースチャイルドクリニック  
1992年 4月 日本産科婦人科学会専門医  
1993年 10月 高度医療研究所・中央クリニック非常勤医師  
1994年 7月 東邦大学医学部第一泌尿器科学講座特別大学院研究生  
1997年 11月 医学博士(男性不妊症と染色体異常)  
11月 日本不妊学会賞受賞  
1999年 1月 木場公園クリニック院長(不妊センター)

生殖医療専門医(2007年4月), 臨床遺伝専門医(2009年10月)  
産婦人科医, 生殖医療専門医, 臨床遺伝専門医, MBA

私は、今回の日本IVF学会開催地である広島市の瀬戸内海を挟んで対岸の愛媛県松山市の出身で、父親の源流を辿ると、村上水軍の末裔で、小さい頃は、瀬戸内の海や島々を眺めるのが大好きでした。

女性・男性不妊症の両方を一人の医師が診察・治療できる施設として、1999年に都市型のビル診察の木場公園クリニックを東京都江東区で開業して、約22年が経過しました。

ARTは生き物だとよく言われますが、ARTに関する技術は日進月歩で進化を続けています。

開業当時は2日目や3日目の初期胚移植が主流でしたが、培養液が進化し胚盤胞到達率が高くなったため、5日目や6日目の胚盤胞まで培養することが多くなりました。

また、胚凍結の方法もプログラムフリーザーを使用した緩慢凍結法を行っていましたが、現在は超急速ガラス化法が主流となりました。

胚はインキュベーター(培養器)で培養され、胚を観察するときは培養器から外に出して顕微鏡で観察していましたが、現在ではカメラ付きの培養器(タイムラプスシステム)が開発され、器械が10分毎に胚を自動で観察するため、胚を培養器から外に出さなくてよくなりました。

このように医療技術は進化しましたが、不妊症の患者さんが受けているストレスは以前と変わっていません。

昨年12月に郊外型の不妊治療専門施設として、茨城県つくば市につくば木場公園クリニックを二か所目のクリニックとしてオープンしました。

メインコンセプトは、ART RESORT® 構想です。

建物や木などのランドスケープ全体で、高いストレスを受けている不妊症の患者様が来院された時にほっ

とできるような、リゾートに来ているような癒しの空間作りを心がけました。

私の頭の中のトータルイメージは、外はサンフランシスコ近郊にあるワインで有名なナババレー、中はシリコンバレーです。

建物はワイナリーの中にあるイメージで、一人目不妊治療側の階段とテラスは、国際空港の駐機場が見えるラウンジのイメージです。

一人目不妊治療と二人目不妊治療の入り口を建物のみでなく、駐車場の入り口からセパレートしました。

また、セキュリティ度を高めるために、駐車場と建物の入口は患者様のスマホに表示した開錠用QRコードを使用した電子Keyを採用しました。

患者様に安心して体外受精や顕微授精の治療を受けていただくために、患者様がガラスを通して培養室内が見える、オープンな培養室を作りました。

日本で、ARTを受けている患者様の約半数は40歳代です。

卵子や精子は、患者さん自身の体から作られているため、いい体づくりは必修です。

レーザー療法、鍼灸治療、整体など多方面から患者様にアプローチをする必要があります。

また、食事、睡眠、運動などの生活習慣の見直しも大切です。

すべての患者様に妊娠していただき、子供を家に連れて帰って欲しいと考えて医療を行っていますが、すべての患者様が妊娠できないのが現実です。

妊娠が出来ずに不妊治療を卒業する時に、患者様が納得できる不妊治療を受けることが出来てよかったと感じられる生殖医療を我々は提供し続けなければならないと思います。

## 0-1 タイムラプスインキュベーターの導入により培養室業務の負担が減るのか

山田 悠太<sup>1)</sup>, 樽井 幸与<sup>1)</sup>, 入江 真奈美<sup>1)</sup>, 水野 里志<sup>1)</sup>, 福田 愛作<sup>1)</sup>, 森本義晴<sup>2)</sup>

1) IVF 大阪クリニック

2) HORAC グランフロント大阪クリニック

### 【目的】

近年、タイムラプス付インキュベーターが広く導入され、その有用性が報告されている。インキュベーターの性能を評価するうえで、培養成績や臨床成績だけではなく、胚の培養や観察に必要な労力やランニングコストを評価することも重要である。胚培養や観察に関するポリシーは施設によってさまざまであり、同じインキュベーターを使用しているも、労力やコストの評価は施設によって異なると考えられる。今回我々は、タイムラプス付インキュベーターの性能を評価するため、当院の一般的な胚培養法であるドライインキュベーターを用いた場合と胚培養・観察に要する労力とランニングコストを比較した。

### 【方法】

今回の検討では、ドライインキュベーター (ASTEC) で培養した群

をD群、自動化タイムラプスインキュベーター Geri+/Geri Assess®2.0 (メルクバイオファーマ社、以下Geriとする) で培養した群をT群と定義し、両群間で下記のデータを比較した。まず、受精確認あるいはDay 5において、卵あるいは胚1個当たりの観察からデータベースに登録するまでの時間をそれぞれD群とT群で比較した。次に、両群の1周期当たりのランニングコスト(培養液を含む培養に必要な消耗品と点検費を含めた維持費の合計)を比較した。なお、ランニングコストは、周期当たりの培養ディッシュの使用は1枚、年間稼働率80%の条件で算出した。

### 【結果】

受精確認に要する時間は、胚1個あたりD群が72.4±6.9秒、T群が88.4±23.9秒とT群が16秒ほど多くの時間がかかった。観察時間の検討については、胚1個あたり総処理時間においてD群が40.8±2.2秒、T群が35.7±3.6秒とT群のほうが5秒ほど多くの時間がかかった。一方、1周期あたりのランニングコストはD群が5196.4円、T群が1965.4円であり、T群が3231円高くなった。

### 【考察】

T群の方が1症例あたりの点検費とランニングコストは高くなり、受精確認の時間で16秒、観察時の総処理時間で5秒と差はあったが有意な差ではなかった。このように今回Geriが培養室業務の負担を減らす結果には至らなかった。そのため、反復不成功例などの継続的な観察が必要と考えられる症例を選び、Geriで培養することが望ましいと考えられた。

## 0-2 KID SCORE™D5は6日目胚盤胞の妊娠率も予測する

塩谷 仁之<sup>1,2)</sup>, 小林 達也<sup>2,3)</sup>, 杉浦 朝治<sup>1)</sup>, 明石 佐奈子<sup>1)</sup>, 岡部 美紀<sup>1)</sup>, 中野 俊<sup>1)</sup>, 山内 久美子<sup>1)</sup>, 小島 勝志<sup>1)</sup>, 藤田 真紀<sup>1)</sup>, 高橋 敬一<sup>1)</sup>

1) 高橋ウイメンズクリニック

2) 千葉大学大学院医学研究科生殖医学

3) 千葉大学医学部附属病院婦人科

### 【緒言】

KID SCORE™D5(KIDS D5)は、胚盤胞の形態学的評価に加え人工知能による解析補助を行うことで、妊娠胚の予測が可能であり、効果を予測するarea under the curve(AUC)の値は0.6と報告されている(Reignier *et al.*, 2019)。しかし、KIDS D5の開発は、培養5日目胚盤胞を基にしているため、培養6日目胚盤胞の妊娠予測に適しているか不明である。今回、培養6日目胚盤胞においてもKIDS D5による胚選択が有効であるという知見を得たため報告する。

### 【方法】

2019年1月～12月に高橋ウイメンズクリニックにてICSIを施行した146症例234個の移植済み胚盤胞を後方視的に解析した。体外培養、タイムラプス観察にはEmbryo Scope+(Vitrolife)を用いた。胚盤胞はすべてクライオトップ法(Kitazato)を用いたガラス化凍結にて凍結し

た。KIDS D5(ver.3)はEmbryoviewer™(Vitrolife)により算出し、各胚盤胞に最小値1～最大値9.9のスコアをつけた。臨床妊娠は超音波検査による、胎嚢確認により評価した。KIDS D5によるROC曲線をAUCで評価し、臨床妊娠に対するcut off値を求めた。統計解析はJMP Pro 15.00(SAS)にて行った。

### 【結果】

培養5日目(D5)と培養6日目(D6)の胚盤胞のKIDS D5平均値はそれぞれ7.06±1.7(n=162)、3.7±1.47(n=72)であり、D6胚盤胞のKIDS D5はD5胚盤胞と比較して有意に低下した(p<0.0001, willcoxon test)。ROC解析の結果、KIDS D5の臨床妊娠に対するAUCはD5胚盤胞で0.62(cut off値は5.6)、D6胚盤胞で0.72(cut off値は4.9)であった。D5胚盤胞における臨床妊娠率はcut off値(5.6)以上の胚で60.9%(78/128)、cut off値未満の胚で35.3%(12/34)であった。また、D6胚盤胞における臨床妊娠率はcut off値(4.9)以上の胚で47.4%(9/19)、cut off値未満の胚で7.55%(4/53)であり、D5、D6の両方でcut off値以上の胚盤胞の妊娠率が有意に高値であった(p=0.0075, 0.0001)。また、採卵時年齢を考慮した多変量解析の結果においても、KIDS D5はD5胚盤胞、D6胚盤胞ともに臨床妊娠率に影響を与えた(p=0.0239, 0.0127)。

### 【結論】

KIDS D5はD5胚盤胞の妊娠予測に寄与し、さらにD6胚盤胞への応用も可能であることが示唆された。KIDS D5を導入することで、移植成績の向上、効率的な着床前診断候補胚の選択に寄与することが期待される。

## 0-3 フラグメンテーション含有率が高い分割期胚への広範囲な透明帯開口術の試み

岸田 理英, 菊地 裕幸, 山田 健市, 岸田 拓磨, 菅野 弘基, 眞山 那美, 結城 笑香, 吉津 葵, 佐々木 郁弥, 吉田 仁秋  
仙台 ART クリニック

### 【目的】

胚のフラグメンテーション(frag)発生は、培養環境や染色体異常など様々な要因が関与していることが知られている。fragは正常割球に悪影響を及ぼし、胚発育を阻害していることが報告されており、frag含有率の高い胚では妊娠率が低下する。一方で、frag含有率の高い分割期胚から、細いピペットを利用し、fragを吸引除去して培養、移植を行うことで胚盤胞発生率の向上や、妊娠率の上昇が報告されている。しかし、frag除去は高度な技術が必要となる。そこで、レーザーシステムを使用し、透明帯を広範囲に開口することでfragが排出され、同様の効果が得られないかを検証した。

### 【方法】

患者から同意が得られた培養3日目凍結廃棄胚を用いた。対象は4cell以上かつfragを10%以上有する62個の胚とした。融解後に透明帯の約半分にレーザーを照射、開口した群を開口群、コントロール群を非開口群とした。両群ともに、frag含有率が10-29%が15個、30-

49%が15個、50%以上が1個とし、4～10cellまでの胚を発育状態に差が出ないように配分した。培養はタイムラプスインキュベーター(TL)を用い、fragの動向や胚の発育過程を観察した。培養開始から72時間目に胚盤胞発生率、Gardner分類で3BB以上の良好胚盤胞率、Hatching率を比較検討した。

### 【結果】

TL観察において、開口群の正常発育細胞が開口部から透明帯外へ脱出しながら発育していく様子を確認できた。fragは透明帯内に残存するもの、外に排出されるもの、正常割球に付着したままのものなど様々であった。胚盤胞発生率は非開口群で38.7% (12/31)、開口群で32.3% (10/31)となり、有意差は認められなかった。良好胚盤胞率は非開口群で16.7% (2/12)、開口群で70.0% (7/10)となり、開口群で有意に高くなった( $p<0.05$ )。Hatching率は非開口群で0.0%、開口群で100%となり、開口群で有意に高くなった( $p<0.01$ )。

### 【考察】

frag含有率の高い胚において、培養3日目に広範囲で透明帯を開口するという簡便な方法で、70.0%の良好胚盤胞率を得ることができた。培養3日目以降、開口群と非開口群での胚盤胞発生率は変わらず、D3以降の胚発育に透明帯の欠損は影響しないと考えられる。今回、開口群において良好胚盤胞発生率が高くなった。発育細胞が開口部から透明帯外へ移動していく様子が観察されたことから、fragの存在が胚発育を阻害している可能性とともに、胚の発育環境が物理的に広がったことが良好胚の作出に寄与している可能性も考えられた。さらに、非開口群でHatchingしてきた胚が一つもなかったことから、fragがHatchingを阻害していることが示唆された。

## 0-4 タイムラプス観察による胚盤胞期胚の収縮と臨床成績について

杉浦 朝治<sup>1)</sup>, 小林 達也<sup>1,2)</sup>, 明石 佐奈子<sup>1)</sup>, 岡部 美紀<sup>1)</sup>, 中野 俊<sup>1)</sup>, 塩谷 仁之<sup>1,2)</sup>, 小島 勝志<sup>1)</sup>, 山内 久美子<sup>1)</sup>, 藤田 真紀<sup>1)</sup>, 高橋 敬一<sup>1)</sup>

1) 高橋ウイメンズクリニック

2) 千葉大学大学院医学研究院生殖医学講座

### 【緒言】

タイムラプス観察(以後ES観察)を行うと、ヒト胚盤胞では胚の収縮が頻回に観察される。収縮胚では非収縮胚と比較して正倍数性胚が少なく、妊娠能が低下するとされている。本研究では当院の収縮胚率や妊娠能を検討するために、良好胚と不良胚での収縮胚率と収縮胚の収縮様式を解析した。さらに単一胚盤胞胚移植における妊娠転機との関連を検討した。

### 【方法】

ES観察は2019年1月～12月に高橋ウイメンズクリニック(千葉市)にてICSIを施行した734個を対象とした。単一凍結融胚移植の臨床妊娠の検討は96症例128周期を対象とした。胚盤胞収縮の観察はEmbryo Scope+<sup>TM</sup>(Vitrolife)によるES観察で行い、Embryoviewer<sup>TM</sup>により胚盤胞面積を測定し収縮率(収縮后面積/収縮前面積)を算出した。対象として実体顕微鏡観察(定点観察)はIVFまたはICSIを施行した2418個を対象とした。

【検討1】定点観察とES観察での胚盤胞期胚の、収縮胚率とES観察

での収縮様式について比較検討した。収縮様式は収縮率20-50%をcontraction(収縮)、50.1%以上をcollapse(虚脱)とした。

【検討2】ES観察でのgardner分類による形態評価および形態動的評価をKIDSCORE<sup>TM</sup>D5(以後KID)(Ver.3)によりスコア化し、良好胚と不良胚の収縮胚率と収縮様式との関連を検討した。

【検討3】良好胚盤胞(BB以上)による単一凍結融胚移植を行った、39歳以下、96症例128周期における胚収縮と妊娠転機について検討した。

【検討4】Gardner分類AAに絞って、収縮の影響を94周期の妊娠転機について検討した。

### 【結果】

①胚収縮の頻度は定点観察群8.3%、ES観察群41%であり、ES観察により胚収縮の検出率が有意に上昇した( $p<0.001$ )。

②良好胚と不良胚の収縮胚率は33%、60%で、不良胚では収縮胚の割合が高かった( $p<0.001$ )。収縮胚のKIDは4.9、非収縮胚で6.7であり、収縮胚のKIDは有意に低値であった( $p<0.001$ )。

③臨床妊娠率は、収縮群44%、非収縮群69%で、収縮群で有意に低下した( $p<0.01$ )。流産率は収縮群25%、非収縮群10%で差が認めなかった( $p=0.09$ )。

④AA胚に絞った臨床妊娠率は収縮群45%、非収縮群69%で、収縮群で有意に臨床妊娠率が低下した( $p<0.05$ )。流産率は収縮群33%、非収縮群8%で、収縮群で有意に高かった( $p<0.05$ )。

### 【結論】

ES観察を行うことで収縮胚の検出感度が上昇した。また、胚盤胞形態、KIDは胚収縮と関連する結果であった。また胚収縮は妊娠率、流産率に影響を与えており、移植胚の選別の際は胚収縮も考慮することで妊娠率を向上させることが示唆された。



## O-5 3PN胚における倍数性解析の検討

後藤 優介<sup>1)</sup>, 寄田 朋子<sup>1)</sup>, 渡邊 華<sup>1)</sup>, 田口 新<sup>1)</sup>,  
原田 祐紀<sup>1)</sup>, 芦川 享大<sup>2)</sup>, 長井 陽子<sup>2)</sup>, 桜庭 善行<sup>2)</sup>,  
向田 哲規<sup>1)</sup>

1) 広島 HART クリニック  
2) Varinos 株式会社

### 【目的】

受精判定時に前核が3個以上確認できる多前核胚については倍数性異常と判断し廃棄となることが一般的である。しかしながら、異常受精の胚においても培養を継続した場合、一定の割合で胚盤胞への発生を認めることがあり、これらの胚においては2倍体の胚が存在するとの報告もある。当院でも過去に本学会(2018)において3PN胚を含む多前核胚についてNGSを用いて解析し2倍体の胚が存在する可能性を報告した。しかしながら、一般的なPGT-Aに用いられるNGSの解析では正確な倍数性の判定は困難である。そのため今回廃棄予定となった3PN由来胚盤胞に対して、NGSに加えてSNVジェノタイプピング法も併用して倍数性解析を行い3PN由来胚盤胞の臨床的有用性の検討をおこ

なったので報告する。

### 【対象と方法】

患者から本研究に同意の得られた3PN由来胚盤胞のうち、過去にNGSのみの解析で異常性異常と判断されなかった胚6個(A群)、および新たにbiopsyを行った胚5個(B群)についてSNVを加えた倍数性解析を行い正確な診断を施行した。本検討の倍数性解析はVarinos社においてSNVジェノタイプピング法により行った。

### 【結果】

倍数性解析の結果A群では2倍体が50%(3/6)、3倍体が33.3%(2/6)、判定不能が16.7%(1/6)だった。B群では2倍体が40%(2/5)、3倍体が60%(3/5)であり両群において2倍体の胚が存在した。

### 【考察】

今回解析した3PN由来胚盤胞において2倍体の胚が存在することが示された。今後3PN胚も倍数性解析を行うことで移植の対象になりうることを示唆された。倍数性異常は流産に繋がる可能性が高いだけに、今後PGT-Aによる染色体異常性の解析には、倍数性解析を併用することはとても有用であると考えられる。

## O-6 DuoStim法により良好な凍結成績を得られた1例

森下 みどり, 貫井 李沙, 小宮 慎之介, 浅井 淑子,  
姫野 隆雄, 井上 朋子, 森本 義晴

HORAC グランフロント大阪クリニック

### 【背景】

近年、不妊治療患者の高齢化に伴い、卵巣機能低下や胚質不良などの要因で採卵するも凍結できない反復不成功患者が増加している。若年癌患者の妊孕性温存を対象としたランダムスタート法では、採卵数・良好胚数、染色体異常率など、通常の体外授精と変わらない結果となっている。近年、通常体外授精でも同様に黄体期に卵巣刺激・採卵を行うことで採卵数や凍結胚数が増加すると報告されている。今回、当院にてDuo Stim法での採卵を行い、良好胚盤胞を凍結できた症例を経験したため報告する。

### 【症例】

44歳女性。4経妊1経産。43歳時に当院初診、初診後自然妊娠する

が流産となり、その後より体外受精を開始した。AMH1.73ng/ml 採卵5回施行するが良好胚盤胞は凍結できず、凍結融解分割期胚移植を2回施行したが妊娠成立せず。6回目の卵巣刺激中に、17mmまで発育した卵胞を認めたが他に10mm以下の小卵胞を多数認めたため、Duo Stim法での採卵を提案し希望された。hCG注射を行い、36時間後に主席卵胞1個を採卵。M II卵1個、体外受精で受精、Day3胚1個(Mo)を凍結した。1回目の採卵2日後に診察を行い、HMG注射とGnRHアンタゴニスト経口薬を卵胞径が18mmになるまで投与し、1回目の採卵と同様に採卵を行った。採卵数6個、M II卵6個、体外受精で4個受精、Day3胚1個(G1b9)、胚盤胞2個(BL4AB,BL4BB)を凍結した。2回目の採卵で良好胚盤胞を凍結できたため、次周期も同様の方法で採卵を希望された。1回目の採卵で採卵3個、M II卵3個、体外受精で3個受精、胚盤胞3個(BL3AA,BL5BB,BL4BB)を凍結。2回目の採卵で採卵5個、M II卵5個、体外受精で3個受精、胚盤胞2個(BL4BB,BL4BB)を凍結した。今後凍結融解胚移植を行っていく予定である。

### 【考察】

高齢女性での不妊治療では、良好な胚を獲得するのに時間がかかり治療期間が長引く可能性が高い。今回、DuoStim法を使用することで1回の月経周期での採卵回数・凍結個数を以前の周期と比較して増やすことができた。また、良好胚を凍結できたことにより、治療期間を短くできる可能性もあると思われる。

## 0-7 タイムラプスを用いた受精操作直後の細胞質収縮による受精予測の試み

山口 桂子, 糸井 史陽, 藤田 京子, 関 友望, 藤井 詩子,  
池田 沙矢子, 佐野 美保  
小牧市民病院生殖医療センター

### 【目的】

顕微授精当日にレスキュー活性化処理(ROA)をすることで翌日ROAを実施するよりも、受精率が向上するとの報告がある。受精操作当日に第二極体放出の有無を観察し受精予測を行い、ROAを実施することがあるが、第二極体の放出が確認出来ない場合、受精予測に時間を要することがある。

これまでに、顕微授精において精子注入後から細胞質が収縮することが報告されており、早期にROAを実施するための受精予測の基準の一つとして、この現象を応用できないか後方視的に検討した。

### 【方法】

2018年7月から2020年4月に当院において採卵し、顕微授精を実施した成熟卵のうち受精操作後0.5時間以内にタイムラプスにて観察を開始した67症例97周期を対象とした。受精確認にて、第二極体を放出せず受精であった卵を0PN群(25個)、正常受精卵を2PN群(126個)とし、観察を開始した時点を基準として細胞質面積および平均直径の収縮率を比較検討した。タイムラプスの観察は20分間隔に設定してお

## 0-8 TLCを用いて胚発達を改善させるEmbryo Plastyの臨床成績の検討

渡邊 華, 寄田 朋子, 後藤 優介, 田口 新, 戸水 桐子,  
近藤 希衣, 原田 祐紀, 井上 果咲, 飯田 ちひろ,  
向田 哲規  
広島HARTクリニック

### 【目的】

近年、ART Laboの現場において胚の培養観察にTLCが多く用いられるようになってきたが、TLCでは基本的に培養観察であり、胚発達の経過を細かく観察し詳細な情報を胚発達の予測、胚選択に用いるという受動的な使用が中心である。我々は経時的観察の中で胞胚腔形成に関係しない遊離割球や細胞割球間のfragmentation(frag)が多く存在する場合、胞胚腔形成時の細胞割球同士の融合阻害現象や胞胚腔の拡大が阻害される現象を確認した。これを改善する目的で遊離割球やfragが接する部分の透明帯をLAH(Laser Assisted Hatching)により大きく開口することをEmbryoPlasty(EP)と定義し、EPの施行により胞胚腔拡大に伴って遊離割球やfragが胚外に押し出されることによる胚盤胞発達に対する改善効果を本学会でも報告してきた。今回EPの臨床的有用性について更に検討したので報告する。

### 【対象と方法】

2019年6月から2020年8月までにIVFもしくはICSIを施行し2PNが

り、受精操作後0.6時間から0.4時間おきに3.3時間までを7区画に区切り比較検討した。

また、2PN群のうち、第一極体が細胞質の円周上に位置するか否かでの比較や、第二極体放出時間の違いにより収縮率に差がみられるかを検討した。

### 【結果】

2PN群における第二極体放出の平均時間は2.8時間であった。受精操作後0.6時間から3.3時間までの細胞質面積の収縮率は、0PN群で99.8, 99.0, 98.8, 98.3, 98.1, 98.1, 98.0(%)、2PN群で98.8, 97.8, 96.8, 95.7, 94.8, 94.0, 93.3(%)であり、すべての時間において有意差がみられた。2PN群では、時間経過とともに有意に細胞質面積の収縮がみられた。各区間におけるROC曲線を求めた結果、3.0-3.3時間においてカットオフ値:97.1%、感度:0.880、特異度:0.952、AUC:0.94となった。

また、第一極体の位置については、細胞質の円周上に認めた卵の方がより収縮が観られたものの有意差は認めなかった。第二極体放出時間の違いにおいても、2.9時間以内の卵は3.0時間以上の卵に比べ収縮が観られたものの有意差は認めなかった。

平均直径を用いた収縮率でも同様の結果が得られたが、細胞質面積での検討に比較し、収縮度合いは少なかった。

### 【考察】

受精操作後、3.0-3.3時間以内に明らかな収縮の見られない卵は、翌日受精していない可能性が高く、ROA実施の判断基準の一つとして、細胞質面積の収縮率を応用できる可能性が示唆された。

解析数が少ないことから今後も継続的に測定し、収縮の見られない卵に対しては、早期にROA実施の判断をしていきたい。

確認できた胚のうち胚盤胞まで培養を行った4831個を対象とした。

検討①: EP施行の割合とEP施行胚のうち凍結もしくは移植ができた胚の割合を調べた。

検討②: EP施行胚1個を移植した47周期について妊娠成績を後方視的に検討した。妊娠判定は胎囊(GS)の確認で臨床的妊娠とした。

### 【結果】

検討①: 2PN胚におけるEP施行の割合は20.1%(969/4831)であり、EP施行胚のうち凍結または移植に供することができたのは51.9%(503/969)だった。

検討②: 移植の内訳はホルモン補充周期(E+P群)が16周期(平均年齢39.9歳)、排卵周期(OV群)が17周期(平均年齢36.9歳)、新鮮胚移植周期(Fresh群)が14周期(平均年齢36.4歳)だった。各群における妊娠率はE+P群31.3%(5/16)、OV群41.2%(7/17)、Fresh群7.1%(1/14)、流産率はE+P群20.0%(1/5)、OV群14.3%(1/7)、Fresh群0.0%(0/1)だった。

### 【考察】

EPは全2PN胚の20.1%に施行しており、EP施行胚のうち51.9%の胚が凍結もしくは移植に供されていた。これより胚発達不良のため移植も凍結保存も難しいと判断された胚にEPを施行することで、胚発達を改善し、着床に繋げることは臨床成績の向上に大きく寄与すること示された。またEP施行の可否はTLCを用いた細かい胚観察が不可欠であり、TLCを用いた胚質改善の試みという能動的利用法である。



## 0-9 AIを用いた胚画像認識と臨床データ解析の融合による妊娠予測

江夏 徳寿<sup>1)</sup>, 宮塚 功<sup>2)</sup>, 犬伏 美喜<sup>1)</sup>, 古橋 孝祐<sup>1)</sup>, 山上一樹<sup>1)</sup>, 大月 純子<sup>1)</sup>, 松本 由紀子<sup>1)</sup>, 苔口 昭次<sup>1)</sup>, 塩谷 雅英<sup>1)</sup>

1) 英ウィメンズクリニック  
2) ネクスジェン株式会社

### 【目的】

体外受精において、良好胚を選別して移植することは临床上重要な意味を持つ。胚の評価としては初期胚の評価法であるVeeck分類や胚盤胞の評価法であるGardner分類が広く用いられているが、必ずしも結果と一致しないことも多く改善の余地がある。本研究では大量の胚画像データおよび臨床データを用いて、受精卵ごとの妊娠率を人工知能(artificial intelligence; AI)によって自動判定するシステムの構築を目指す。

### 【方法】

英ウィメンズクリニックにて2011年～2019年に採卵、移植を行った9,961人の臨床データおよび548,855枚の画像データに匿名加工を施しネクスジェン株式会社とデータ共有を行った。そのうち単一胚盤胞移植を行った症例において、臨床妊娠(心拍確認)をエンドポイントとして機械学習を行った。学習の正確度は10-分割交差検証を用いて判定した。また、予測の因子解析として妊娠と関連の強かった特徴量について分析を行った。

### 【結果】

胚盤胞画像19,342枚のうち17,984枚を教師データとして用いて機械学習を行った後、1,358枚のデータを用いて正確度判定を行ったところ、正確度62.7%であった。続いて、胚盤胞画像データに年齢、採卵回数、AMH等の臨床データを加えて同様に検討を行ったところ、正確度65.2%と改善を認めた。一方、初期胚移植のデータを用いた分類学習においては、妊娠陽性、陰性を予測できる有効な画像の特徴をつかめなかった。次に、臨床妊娠と関連の強かった因子について相関度を基に順位付けを行ったところ、胚盤胞画像(31.0%)、年齢(19.7%)、妊娠歴(8.6%)、AMH(7.7%)の順になった。さらに、胚盤胞画像においてどの部位が妊娠と関連する特徴量を有する可視化したところ、inner cell massとtrophectodermそれぞれにhot spotを認めていることが確認された。

### 【考察】

AIを用いた胚盤胞画像判定は、従来のGardner分類による妊娠予測のベンチマークとされている59.8%を上回っており、現時点で臨床上有用なツールになり得ると考えられた。臨床データを組み合わせて予測することにより更に正確度が増すことが確認されており、今後のデータの蓄積により更に精度の向上が見込まれる。また、AIがとらえた特徴量を可視化できたということは、臨床での使用を想定した際に、結果の解釈や説明が容易に行える様になることを示しており、意義深いと考えられた。今後はタイムラプス動画の情報も解析することにより、膨大な情報量をもとに、より正確な妊娠予測が得られる様になると考えている。また、妊娠後の経過も解析に加えることによって、生産率や流産率も算出可能になることが見込まれ、将来的には現在の着床前診断に相当する診断を非侵襲的に行うことを目標としている。

## 0-10 卵管膨大部特異的に発現するLipocalin-2は精子運動性と受精を促進する

李 周蓮<sup>1)</sup>, 岡本 麻子<sup>1,2)</sup>, 島田 昌之<sup>3)</sup>, 山下 泰尚<sup>1)</sup>

1) 県立広島大院総合学術  
2) 倉敷芸術科学大生命科  
3) 広島大院統合生命科学

### 【目的】

哺乳動物の受精過程の解明には、卵子と精子のみならず卵管の3方向のコミュニケーションを解明する必要がある。当グループでは、卵巣内で卵成熟を誘導する因子として同定したNeurotensin(NTS)とその受容体(NTSR1)が卵管にも発現することを見出し、NTS依存的に卵管で発現する受精促進候補因子をトランスクリプトーム解析により探索した結果、分泌型糖タンパク質のLipocalin-2(LCN2)の発現を見出した。本研究では、卵管で発現するLCN2の発現変化および局在、またLCN2がマウス精子の運動性および受精に及ぼす影響を調べた。

### 【方法】

実験1. 無刺激(NS)およびPMSGとhCGを投与したC57BL/6雌マウスの各時間の卵管を回収し、Lcn2 mRNA発現およびLCN2タンパク質発現を調べた。また、NSおよびhCG刺激16時間(h)後の卵管のLCN2量を定量した。さらにNSおよびhCG刺激16h後の卵管峡部、

卵管膨大部でのLCN2の局在を調べた。実験2. 精巣上体から回収した精子をHTF培地(Control区)とLCN2を添加した区(LCN2区)で0, 30, 60分間培養し、受精能獲得の指標であるチロシンリン酸化を検出した。実験3. Control区とLCN2区で0, 15, 30, 60, 90分間培養した精子を精子運動解析システム(CASA)により運動解析を行った。実験4. Control区とLCN2区で60分間培養した精子を用いて体外受精を行った。

### 【結果】

実験1. Lcn2 mRNA発現はNSと比べhCG刺激12, 16, 20h後の卵管で有意に上昇しており、LCN2タンパク質発現はhCG刺激16h後に上昇した。またこの時のLCN2量はNSと比べ有意に増加していた。さらにNSおよびhCG刺激16h後の卵管峡部ではLCN2の発現はほぼ認められなかった。一方、hCG刺激16h後の卵管膨大部の卵管上皮細胞においてLCN2を示す強いシグナルを検出した。実験2. Control区と比べLCN2区で30分間培養した精子においてチロシン残基のリン酸化を示すバンドが強く検出された。実験3. Control区と比べLCN2区で培養した精子において、精子の運動率(90min)および良好な運動精子率(60min)が有意に上昇し、培養90分後においてもLCN2区の精子は活発に運動していた。実験4. LCN2区の精子を用いて体外受精したときの卵割率が有意に上昇した。

### 【考察】

卵管において発現するLCN2は、排卵・受精期に卵管膨大部の卵管上皮細胞特異的に発現することが明らかになった。LCN2は精子の運動性と受精率を向上させたことから、卵管膨大部特異的に発現するLCN2は精子に作用し受精を誘導する因子であると考えられた。

## O-11 マウスにおける鉄欠乏は卵胞発育不全による雌性不妊を引き起こす

藤内 慎悟<sup>1)</sup>, 河端 茜<sup>1)</sup>, 島田 昌之<sup>2)</sup>, 山下 泰尚<sup>1)</sup>

1) 県立広島大学院総合学術  
2) 広島大院統合生命科学

### 【目的】

鉄欠乏は妊娠期の胎児の発育や正常な出産に影響を与えると知られているが、卵胞発育期、排卵期への影響は明らかになっていない。当グループでは卵胞発育期のブタ卵胞液に、鉄の輸送タンパク質のトランスフェリンが血中の4倍以上もの高濃度で蓄積することを見出した。本研究では、卵巣における鉄の役割を調べる目的で、低鉄飼料を給仕した鉄欠乏モデルマウスを用いて、鉄が卵巣機能へ果たす役割を検討した。

### 【方法】

実験1, 3週齢のC57BL/6雌マウスに、3週間通常飼料を給餌したNormalマウス、低鉄飼料を3週間給餌したLow Fe(LF)マウスを作製し、血清および卵巣中の鉄量、性周期変動、妊娠率を調べた。実験2, 鉄欠乏による卵胞発育への影響を調べる目的で、発情休止期またはPMSG刺激後48時間(h)の卵巣切片をHE染色し、卵胞数を調べた。さらにNormalおよびLFにおける卵巣の卵胞発育マーカー(Fshr, Cyp19a1, Ccnd2)のmRNA発現および卵胞発育を誘導するエストロゲン(E2)量を測定した。実験3, NormalおよびLFから排卵卵子を回

収し、排卵数、受精率および胚盤胞率を調べた。実験4, 離乳後6週間飼育したNormalマウス、6週間飼育したLFマウスおよび、3週間飼育したLFに通常飼料をさらに3週間給餌したLF Rescue(LFR)マウスを作製し、Normal, LF, LFRから回収した血清中の鉄量、性周期変動、妊娠率が鉄の補給により回復するか調べた。

### 【結果】

実験1, 血清と卵巣中の鉄量はLFで有意に低い値を示し、低鉄飼料給餌により鉄欠乏が誘導されることが明らかになった。Normalでは発情休止期、発情前期、発情期、発情後期と6日平均で規則的な性周期が認められたが、LFの性周期は発情休止期から全く進行しなかった。また、Normalではすべての個体が妊娠したが、LFでは全く妊娠に至らなかった。実験2, 発情休止期のLFの卵巣ではNormalと比較して二次卵胞数は高い値を示したが、胞状卵胞数は低い値を示した。さらにPMSG刺激48h後の後期胞状卵胞数もLFにおいて有意に低い値を示した。卵巣のFshr, Cyp19a1, Ccnd2 mRNA発現とE2量はLFにおいて有意に低い値を示した。実験3, Normalと比べLFでは、排卵数、受精率、胚盤胞率は有意に低い値を示した。実験4, 血清中の鉄量がLFRでNormalと同程度まで回復し、LFRの性周期、妊娠率は、Normalと同レベルまで回復した。

### 【考察】

本研究により、鉄欠乏条件は卵胞発育不全を呈し、卵成熟を著しく低下させることが明らかになった。鉄を含む飼料で3週間飼育すると鉄欠乏による性周期の停止や妊娠率の低下が回復したことから、貧血により損なわれる卵巣機能は、患者への鉄剤の補完により回復すると考えられた。

## O-12 精子グルコース応答性に起因するRNAウイルス感作反応の動物種間差解析

田口 新<sup>1)</sup>, 近藤 希衣<sup>1)</sup>, 辻田 菜摘<sup>2)</sup>, 梅原 崇<sup>2)</sup>, 島田 昌之<sup>2)</sup>, 向田 哲規<sup>1)</sup>

1) 広島 HART クリニック  
2) 広島大院統合生命科学

### 【目的】

マウスやブタ精子は、高グルコース環境で嫌氣的解糖系により尾部を激しく振幅させ受精能獲得状態となる。この嫌氣的解糖系は、RNAウイルスに対する受容体であるTLR7/8を活性化させることで抑制され、精子は不動化する。RNAウイルスであるコロナウイルスやジカウイルスなどが、精液中や子宮、卵管でも検出されるという報告があることから、ウイルス感染および培養液への混雑が精子の受精能獲得を抑制し、受精障害を引き起こす可能性がある。しかし、ヒトの射出精子においてはグルコース濃度の違いが精子運動性に及ぼす影響は不明であり、TLR7/8の役割も全くわかっていない。そこで本研究では、ブタ、ウシおよびヒト精子を用いて、グルコース応答性の違いを運動パターンから解析し、その応答性の違いがRNAウイルス疑似感作反応に及ぼす影響について検討した。

### 【方法】

ブタ、ウシおよびヒト射出精液を遠心分離し、HTF培地で2回洗浄した。培養液は通常のHTF(グルコース濃度2.8mM)をコントロールと

して、浸透圧を変化させずにグルコース濃度を5mM, 10mM, 15mMに調整した。この培養液で精子を培養し、運動パターンを解析した。また、TLR7/8のリガンドであるR848を3nM, 30nM添加し、その精子運動パターンに及ぼす影響を解析した。

### 【結果】

ブタとウシ精子は、グルコース濃度依存的に直進速度が低下し、頭部振幅幅と曲線速度が有意に増加するzig-zag運動を示した。高グルコース環境では、ミトコンドリアの電位活性低下と嫌氣的解糖系の活性上昇が認められたこと、嫌氣的解糖系は尾部に強局在していたことから、グルコース濃度依存的に代謝機構とATP産生部位がシフトし、運動パターンが変化することが示された。一方、ヒト精子では、1検体はグルコース濃度依存的に運動パターンの変化が認められたが、他の13検体では、グルコース濃度の増加による影響は認められなかった。ブタ、ウシと一部のヒト精子では、TLR7/8の刺激により精子運動パターンが、頭部振幅が減少し、曲線速度が低下する結果、直進運動へと変化した。しかし、多くの症例ではTLR7/8による運動パターンの顕著な影響は認められなかった。

### 【考察】

ブタ精子は子宮内に直接射出されるが、ヒトやウシ精子は腔内に射出され、子宮頸管を通過する必要がある。ウシとヒトの違いとして、子宮頸管粘液のグルコース濃度は、ヒトでは排卵期に低値であり、ウシでは高値である。この違いと低グルコース反応性により、射出直後のヒト精子は直進運動を維持するようプログラムされており、zig-zag運動を誘導するのが難しい可能性がある。この抑制機構の解明と効率的なグルコース反応性獲得法の考案により、IVFの成功率向上に寄与すると期待される。

## O-13 当院において透明帯欠損卵子が見られた症例の分析

水本 茂利, 渡辺 瞳, 長尾 洋三, 田中 啓子, 大塚 未砂子,  
吉岡 尚美, 蔵本 武志  
蔵本ウイメンズクリニック

### 【目的】

透明帯の形態異常や脆弱性により、稀に透明帯を欠損する卵子(以下ZF卵子)が見られる。ZF卵子は正常な受精・発生能を有しており、胚盤胞移植による生児獲得例が報告されている(Ueno et.al. Fertil Steril. 2014; 101: 1001-7)。また、我々はZF卵子のICSI成績および発生速度が正常卵子と同様である事を報告している(第74回九州・沖縄生殖医学会)。

しかしながら、ZF卵子は正常卵子と比較して操作が困難であるため、透明帯の剥離を未然に防ぐ事が望ましい。そこで本演題では、ZF卵子が生じる要因を明らかにするため症例の分析を行うと共に、ZF卵子のICSI成績を再集計したもので報告する。

### 【対象・方法】

2013年7月～2020年8月に当院で採卵を行い、卵丘細胞除去後にZF卵子が確認された39症例(ZF症例)を対象とし、その患者背景について同一期間の他の症例(対照症例)と比較した。検討項目は、不妊期間、

不妊原因、患者年齢、BMI、AHM値、治療回数、卵巣刺激法、採卵数とした。ZF卵子は、紡錘体観察によりMII期と判断出来た場合にICSIを施行し、同一周期の正常卵子と2PN率、Day3良好胚率、胚盤胞到達率、良好胚盤胞率の比較を行った。

### 【結果】

ZF症例の不妊期間(2.67年)、BMI(20.94kg/m<sup>2</sup>)、AMH値(2.91ng/ml)、治療回数(3.68回)、採卵数(9.02個)に対照症例との差は見られなかったが、妻年齢は有意に若かった(37.4 vs 38.8; P<0.05)。ZF症例における不妊原因の内訳は、男性因子:27.4%、卵管因子:6.0%、PCOS:9.5%、子宮内膜症:14.3%、卵巣機能不全:1.2%、卵巣予備能低下:23.8%、受精障害:4.8%、原因不明:13.1%であった。PCOSの割合は対照症例(4.1%)より有意に高く(P<0.05)、ZF症例の20.5%(8/39症例)に見られた。また、E2高値にて全胚凍結した割合も有意に高かった(19.4 vs 26.0%; P<0.01)。卵巣刺激法の内訳に差は見られなかった。

症例あたりのZF卵子の割合は12.5%(41/327個; 1-2個/症例)、成熟率は78.0%(32/41個)であった。ZF卵子と正常卵子における、2PN率(68.8 vs 74.5%)、Day3良好胚率(54.5 vs 48.0%)、胚盤胞到達率(45.5 vs 65.2%; P=0.07)、良好胚盤胞率(50.0 vs 44.3%)に差は見られず、対照症例とも同等であった。

### 【展望】

本検討の結果、ZF卵子が見られる症例の特徴が一部明らかとなった。今後更に検討を重ねる事で、ZF卵子の発生を防ぐ方法に繋げていきたい。

## O-14 凍結保存タンクの容量が大きいほど真空漏れを起こしても保存効果を長く保つことができる

水野 里志<sup>1)</sup>, 入江 真奈美<sup>1)</sup>, 小橋 朱里<sup>1)</sup>, 明角 一平<sup>2)</sup>,  
福田 愛作<sup>1)</sup>, 森本義晴<sup>3)</sup>,

1) IVF 大阪クリニック  
2) アステック株式会社  
3) HORAC グランフロント大阪クリニック

### 【目的】

ART施設にとって凍結保存タンクの管理は極めて重要である。海外でのタンク事故が示すように、タンクに事故が起きた場合の被害は深刻である。しかし、タンクが破損した場合の対応について詳細な情報はない。これまでに、我々は、重大なタンク事故につながる真空漏れを起こしたタンクであっても、一定以上のLN<sub>2</sub>残量があれば、凍結検体の保存効果が数時間維持されることを明らかにした。今回、我々は容量の異なる3つのタンクを意図的に破損させ(真空漏れを誘起)、タンクに起きる変化を経時的に観察することで、容量の違いが保存効果継続時間に与える影響を解析した。

### 【材料と方法】

10、20及び35 LタンクにLN<sub>2</sub>を満タンまで充填し、真空弁に直径2

mmの穴をあけることで真空漏れを誘起した。真空漏れ後のLN<sub>2</sub>残量及びタンク内の温度を1時間毎に測定することで、LN<sub>2</sub>の減少速度、温度が上昇するタイミングと-80℃に達する時間を比較した。なお、最初の1時間及び温度上昇が始まってからは15分毎に測定し、測定は温度が-80℃に達するまで行った。また、真空漏れ前のデータとして、それぞれのタンクで7日間、24時間毎に同項目を測定した。

### 【結果】

LN<sub>2</sub>の減少速度は10、20、35 Lタンクで、それぞれ4.6、4.5、2.8 cm/hであった。全てのタンクで測定開始時の温度は-196℃であった。温度上昇は、10 LタンクでLN<sub>2</sub>残量が1 cm、20と35 Lでは0 cmになったときに始まった。10、20、35 Lタンクで温度上昇が始まった時間は6時間45分、8時間00分、11時間45分、温度が-80℃に達した時間は7時間54分、8時間41分、14時間14分であった。真空漏れを起こしていないタンクにおいて、10 Lでは2 cm、20と35 Lタンクでは4 cm、7日間でLN<sub>2</sub>が減少した。温度は全てのタンクで-196℃を維持していた。

### 【考察】

今回の検討で、真空漏れ後のLN<sub>2</sub>減少速度は、10、20 Lタンクと比べて35 Lタンクのほうが緩やかであった。容量が大きくなるにつれて真空漏れ後からタンク内の温度上昇が始まる時間、さらに-80℃に到達するまでの時間が長くなり、タンク間で最大5時間40分の差が生じた。このように、タンクが真空漏れを起こした場合の保存効果継続時間は、容量が大きくなるほど長くなり、胚の救出可能な時間に猶予が与えられることが示された。



## O-15 閉鎖型胚凍結デバイスを用いた 出生児予後への影響

的場 麻理<sup>1)</sup>, 幸池 明希子<sup>1)</sup>, 柴田 美智子<sup>2)</sup>, 佐藤 学<sup>2)</sup>,  
森本 義晴<sup>1)</sup>

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

### 【目的】

胚及び卵子凍結では現在、国内では開放型デバイスCryotop(TOP)が広く使用されている。しかし、昨今の感染症対策の観点から、開放型デバイスでは胚及び卵子の液体窒素を介した感染の可能性が危惧されている。この為、国内でも今後閉鎖型デバイスの需要がより高まると予想される。既に、閉鎖型デバイスと開放型デバイスの違いによる胚の生存率や臨床妊娠率において、両法間で差がないことが報告されているが、出生児の予後に関する報告はほとんどない。本研究では、閉鎖型デバイスCryotop CL(CL)由来の出生児予後について後方視的検討を行った。

### 【対象と方法】

2015年8月から2017年12月の間に凍結融解胚移植を施行し、単児出生に至ったCL由来の47児、TOP由来の234児を対象とした。まず、それぞれの在胎週数、性比、出生時及び1歳半時の体重・身長、出生

時の先天異常率を比較した。次にKIDS乳幼児発達スケール(KIDS)を用いて1歳半での発達について比較検討した。なお、今回の対象患者は、児の発育に関する任意の調査に同意を得ている。

### 【結果】

CL由来児とTOP由来児にて、在胎週数(mean±SD; 39.2±1.6 vs 39.3±2.0週)、性比(男児/女児; 1.04 vs 0.97)、出生時の体重・身長(3116.0±421.2 vs 3051.1±488.0g, 49.5±2.3 vs 48.9±2.5cm)、及び1歳半時の体重・身長(10.5±1.1 vs 10.7±3.7kg, 80.5±3.0 vs 80.2±4.3cm)では有意差は認められなかったが、出生時の先天異常率では有意差を認めた(4.2% vs 0.9%)。また、KIDSアンケート項目である運動発達、操作発達、理解言語発達、表出言語発達、概念発達、対子ども社会性発達、対成人社会性発達、しつけ発達、食事発達、総合発達においても、有意差は認められなかった。

### 【考察】

閉鎖型デバイスと開放型デバイスにおける胚凍結において、出生時及び1歳半時の身体発育に加えて、1歳半時の精神発達においても差がなかった。今回の検討で差が認められた先天異常については、ヒトでは3~5%の頻度で発生すると言われており、CL由来児の先天異常率はこの範囲にある。だが、今後も長期的な調査を継続する必要がある。凍結融解時の胚生存率に差がないという過去の報告も踏まえると、今後の感染症対策のひとつとして、ヒト胚の凍結保存には閉鎖型デバイスが非常に有用である。

## O-16 クラウド技術とマスキング技術を用いた臨床データの共有と匿名加工の方法—個人情報保護に重点をおいて—

犬伏 美喜, 江夏 徳寿, 古橋 孝祐, 中川 奈緒子, 魏 興強,  
松本 由紀子, 苔口 昭次, 塩谷 雅英  
英ウィメンズクリニック

### 【目的】

昨今、多分野でAI(artificial intelligence; 人工知能)の開発及び導入が急速に進んでおり、生殖医療分野においてもその取り組みは加速している。AI開発は膨大な情報を基にプログラム作成を行うため、豊富な臨床件数を持つ施設と解析技術を持った専門機関との連携が重要となる。当院では、ネクスジェン社とAIの共同開発を行っており、臨床データをクラウド上で共有しながらプログラムの開発を行っている。本検討における、個人情報保護と迅速な情報共有の両立手法を、法的側面と技術的側面から紹介したい。

### 【方法】

改正個人情報保護法によると、個人情報を加工して匿名加工情報にすれば、第三者へのデータ提供も可能とされている。そのため臨床データの様な要配慮個人情報が含まれている場合でも適切な匿名加工を行うことによりAI開発業者に情報提供することが可能である。本研究で

は、臨床データを匿名加工した後、クラウド(Dropbox business)を用いてネクスジェン社と共有する方法をとった。本研究は当院及び社外倫理委員会の承認を得て始められた。

当院では電子カルテ(RACCO:システムロード社)とデータ管理システム(FileMaker Pro)を併用し診療を行っている。また、培養業務においてはタイムラプスシステム(iBIS:アステック社)を導入している。匿名化の方法として臨床で使用する患者番号とは別に、AI開発用として暗号化識別コードを付与した。また、提供するデータであるART関連情報、iBISから抽出した培養動画に対する匿名加工法として、全ての情報において提供前にマスキング処理を行うこととした。一括マスキング処理(患者番号の変更、動画の個人情報表示場所のマスキング)を行うため、汎用プログラミング言語であるpython(パイソン)を使用した。まず、臨床上の患者番号とAI開発用の暗号化識別コードをCSVファイル内で紐づけし、対象フォルダにiBIS動画を格納する。その後、コマンドプロンプトにて実行することにより、一括マスキング処理が可能となった。このマスキング作業をクリニック内で行うことにより、要配慮個人情報が匿名加工情報に変換されることとなり、匿名加工後のデータのみをクラウドに上げることによってネクスジェン社と迅速なデータの共有を行うことができる。クラウドは共同開発者のみがアクセスできるよう設定し、データをアップロードする際は、Zipファイルに変換及びパスワード保護処理を施し、個人情報の保護に細心の注意を払っている。

### 【結語】

要配慮個人情報であっても仮想IDを用いた匿名化とpythonを用いたマスキング処理によって匿名加工情報として共同研究者と共有可能である。また、クラウドを用いることにより、安全かつ効率的にデータの共有ができることが確認された。

## 0-17 SMASを用いた質の高い精子の運動パラメーターによる指標の検討

久田 尚人, 原田 義久, 福永 恵美, 前田 智世, 笹川 ひより, 池田 真妃, 芝 令子, 岡野 真一郎, 絹谷 正之  
絹谷産婦人科

### 【背景】

体外受精（IVF）に用いる精子の評価は顕微鏡下でマクラー計算盤などを用い、算出した精子濃度や運動率を指標に行うことが一般的である。しかし、IVFにおいて高い受精率を予測するためには、精子濃度や運動率だけでなく、正確に精子の運動の質を評価する必要があると考えられ、それらの指標を明らかにすることは臨床上有用である。精子運動解析装置（Sperm Motility Analysis System: SMAS, ディテクト社）は精子の運動パラメーターを客観的に評価できる機器である。本研究ではSMASを用いてIVFにおける受精率と精子の運動パラメーターの関連性を評価することにより、質の高い精子の特徴とその指標を探索することを目的とした。

### 【対象と方法】

2018年1月から2020年2月までの間に当院で3個以上の卵子に対しIVFを行った301症例（夫平均年齢37.2歳，妻平均年齢35.8歳）を対象とした。SMASにより各症例の精子の運動パラメーター（直線速度，直線性，曲線速度，曲線性，頭部振幅，平均速度）を密度勾配法による遠心処理後とIVF直前の2回測定した。遠心処理した精子は

Sperm Washing Medium（Irvine）中で約3時間室温で静置した後、IVFに用いた。

検討1では301症例を高受精率（60%以上）の229症例と低受精率（60%未満）の72症例に分け、遠心処理後からIVF直前までの精子運動パラメーターの経時的変化をそれぞれ解析した。検討2では、高受精率群および低受精率群のIVF直前の各運動パラメーターを比較することにより、質の高い精子の運動パラメーターの指標を探索した。

### 【結果】

高受精率群の精子は遠心処理後と比べIVF直前において直線速度，直線性が有意に減少し，平均速度，曲線性が有意に増加した。一方，低受精率群では遠心処理後と比べIVF直前において直線性が減少し，平均速度が増加したものの，高受精率群で見られた直線速度の減少および曲線性の増加は見られなかった。また，高受精率群と低受精率群のIVF直前における運動パラメーターを比較したところ，高受精率群の曲線性は低受精率群と比べ有意に高かった（0.589 vs. 0.572;  $P < 0.01$ ）。

### 【結論】

高受精率群においてIVF直前の精子の曲線性が低受精率群と比べ有意に高かったことから，精子の曲線性が質の高い精子の指標になることが明らかとなった。さらに，高受精率群における精子の運動性は，時間の経過に伴い直線運動性から曲線運動性に推移するが，低受精率群では曲線運動性が高まらず，直進運動性を有したままであることが明らかとなった。以上のことから，上記のような精子運動パラメーターの変化が，良好な精子の新たな基準となることが示唆された。

## 0-18 精液の温度低下による精子の運動率及びSMIの低下があった場合の加温の有用性

阪本 なつき<sup>1)</sup>，佐藤 学<sup>1)</sup>，中岡 義晴<sup>1)</sup>，森本 義晴<sup>2)</sup>

1) IVF なんばクリニック

2) HORAC グランフロント大阪クリニック

### 【目的】

人工授精や体外受精などを行う場合，夫の都合により自宅から精液を持参することも多い。また新型コロナウイルス感染症の蔓延により極力来院を減らすために自宅から精液を持参するケースが増加していると思われる。日本は季節ごとに外気温の変動が大きく，特に冬季には低温になるため精液を入れた容器に何らかの対処をしていない場合は低温に曝され精子の運動率は低下する。しかし，低温暴露後の精子運動性の復元ができれば治療キャンセルや受精法変更などのリスクを回避できる可能性があるため，今回は低温暴露による精子の運動性低下のリカバリー方法として低温精液への加温の有用性を検討した。

### 【方法】

患者同意のもと，2019年10月～2020年3月に当院で精液検査のためにクリニックで精液を採取した余剰精子（精液量2.0 ml以上，総精子

濃度1500万以上及び運動率40%以上）を対象とした。総精子数，運動率，SMI及びエオジン染色による生存率の計測を行った。（検討1）まず精液を3等分し，1つはコントロールとして3時間室温静置した。残り2つは4℃の条件下に2時間静置し総精子数，運動率及びSMI及びエオジン染色による生存率の計測を行った。その後37℃のインキュベータ内にて1時間加温した加温群と室温（26℃）にて静置した室温群に分けた。1時間後，加温群と室温群の総精子濃度，運動率，及びSMIの計測を行い，加温で状態が復元するか検討した。（検討2）検討1終了後に加温群，室温群，コントロールを15分300Gで密度勾配遠心（DGC）後，回収ペレットを培養液で遠心洗浄し，総精子数と運動率を比較した。

### 【結果】

（検討1）4℃暴露後の運動率，SMIならびに生存率はそれぞれ有意に低下した（ $P < 0.01$ ）。加温群の運動率とSMIは4℃暴露後に比べ，有意に回復した（ $P < 0.01$ ）。一方で，室温群の運動率は有意に回復しなかったものの，SMIは有意に回復した（ $P < 0.05$ ）。（検討2）DGC後の運動率は，コントロールに比べ室温群で低下した（52.1% vs. 72.2%； $P < 0.01$ ）。加温群とコントロールで差はなかった（58.2% vs. 72.2%）。

### 【考察】

低温精液への37℃加温は室温よりも有用である可能性が示唆された。しかし，完全に復元することは難しく生存率も低下していることから精液の低温暴露を少なくする工夫が好ましいと考えられた。



## 0-19 精液の酸化還元電位とストレス因子との関係性

金子 眞弓<sup>1)</sup>, 富田 和尚<sup>1)</sup>, 井崎 顕太<sup>1)</sup>, 幸池 明希子<sup>1)</sup>, 佐藤 学<sup>1, 2)</sup>, 森本 義晴<sup>1)</sup>

1) HORAC グランフロント大阪クリニック

2) IVF なんばクリニック

### 【目的】

男性不妊症の原因の1つに精液中の酸化ストレスがある。精液中の酸化ストレスは精子細胞膜やDNA断片化の要因として知られており、男性側の妊孕力を間接的に反映する。酸化ストレスを測定する際は酸化力と抗酸化力を同時に評価する必要がある。MiOXSYS<sup>®</sup> (AYTU Bioscience 社, USA) により原精液中の酸化力と抗酸化力の総和を標準酸化還元電位 (static oxidative reduction potential : sORP) として測定することができる。これまでにsORPと原精液所見の相関性についての報告は多くされているが、血中酸化ストレス度や喫煙量などとの関係性は明らかになっていない。本研究はsORPとこれらストレス因子との関係性を調べることを目的とした。

### 【方法】

2018年5月から2019年5月に当院で精液検査を行い、sORPを測定した483症例を対象とした。sORPの測定はMiOXSYS<sup>®</sup>の使用手順に

従って行った。夫の平均年齢は38.0歳、禁欲期間3.9日、総精子濃度 $72.7 \times 10^6$  sperm/mL、運動率56.2%、Sperm motility index (SMI) 174.1であった。sORP値と夫の年齢、原精液所見、血中酸化ストレス (d-ROM, BAP)、血中LH、FSH、テストステロンの値、及び喫煙との関係を示すブリンクマン指数との関係を単回帰分析を用いて調べた。

### 【結果】

平均sORP値は $8.8 \pm 129.2$  mV/10<sup>6</sup> sperm/mLであった。sORP値と夫の年齢 (r:0.179)、禁欲期間 (r:0.146)、LH (r:0.2)、FSH (r:0.156) との間に有意な正の相関が、SMI (r:0.184) との間には負の相関が認められた。一方、総精子濃度 (r:0.077)、運動率 (r:0.072)、精液量 (r:0.089)、WBC (r:0.004)、採精してから検査までの経過時間 (r:0.014)、d-ROM (r:0.012)、BAP (r:0.017)、テストステロン (r:0.022)、ブリンクマン指数 (r:0.046) との間に相関は認められなかった。

### 【考察】

sORPが低いほど、精子は酸化されておらず正常な状態である。加えてSMIとsORPが負の相関を示したことから、ORP値を改善することによって精子運動性を改善できる可能性が示唆された。sORPと血中酸化ストレスとの間に相関性がみられなかったため、血中酸化ストレスよりむしろ精液中の酸化ストレスの程度を直接測定する必要があると考えられた。また、ブリンクマン指数とsORPとの間に相関性はみられなかった。ブリンクマン指数より喫煙量との関係性が強い尿中コチニンとの関係性をみる必要が考えられた。

## 0-20 AIを用いたスマートフォン精液検査の精度向上への試み

中川 奈緒子, 江夏 徳寿, 片田 雄也, 古橋 孝祐, 岩崎 利郎, 松本 由紀子, 苔口 昭次, 塩谷 雅英  
英ウィメンズクリニック

### 【目的】

近年男性不妊に対する世間的な認識、ニーズが高まってきている。スマートフォンアプリを用いた、自宅での精液検査は簡易で時間がかからないため、男性の治療の第一歩として注目されている。現行のスマートフォンアプリプログラムでは、iPhone<sup>®</sup>にて、精子濃度、運動率の測定が可能であるが、専門病院での検査と比較し検査項目が少なく精度も十分ではないという問題があった。今回、①精子濃度・運動率測定の精度の向上、②検査項目に前進運動率と運動速度を追加すること、③iPhone<sup>®</sup>のみでなくGalaxy<sup>®</sup>、Pixel<sup>®</sup>、Xperia<sup>®</sup>においても同様の測定結果を得ること、を目的としプログラムの共同開発を目指した。

### 【方法】

2019年1～5月にかけて当院で精液検査を行った検体のうちSMAS<sup>®</sup>にて計測可能であった100症例を対象とした。SMAS<sup>®</sup>での検査結果と、リクルートライフスタイル株式会社の開発したスマートフォン精液検査

デバイスを用いた測定結果を照合し、精子濃度、運動率、前進運動率、運動速度について相関を調べた。スマートフォン検査は市販のiPhone<sup>®</sup> Galaxy<sup>®</sup>、Pixel<sup>®</sup>、Xperia<sup>®</sup>の4機種で行った。データのばらつきを評価するために、測定はそれぞれ3回ずつ行った。

### 【結果】

SMASとスマートフォン精液検査の結果をそれぞれ比較した場合、相関係数は精子濃度、運動率において0.62、0.55と一定の相関を認めた。一方で、前進運動率と運動速度に関しては0.25、0.01とほとんど相関を認めず、標準偏差もSMASの10倍以上認めたことからデータの再現性が乏しいと考えられた。そこでデータ動画の再解析をリクルート社に依頼し、AIを用いた精子認識力の向上と認識精度の調整を行った。調整後のプログラムを用いて再度同じ精子動画を解析したところ、精子濃度、運動率、前進運動率、速度において相関係数0.79、0.59、0.58、0.40と相関の改善を認め、データのばらつきも軽減した。スマートフォン4機種間で、得られた数値は同程度であった。

### 【考察】

AIを用いて、精子認識力の向上と認識精度の調整を行うことで、各検査項目の精度向上を認めた。またスマートフォンの使用機種の違いに関わらず精子濃度や運動率を正確に測定できた。前進運動率と運動速度については、観察視野が狭いためデータにばらつきが出る傾向を認めたが、AIを用いたプログラムの改良により補完可能である可能性が示唆された。今後さらにデータを蓄積し、より正確な測定ができるシステムを目指していく。

## 0-21 PGT-Aの処分胚の検討

西山 幸江<sup>1)</sup>, 朝日 啓司<sup>1)</sup>, 清水 勇輔<sup>1)</sup>, 北村 智志<sup>1)</sup>,  
青木 淳子<sup>1)</sup>, 倉橋 浩樹<sup>2)</sup>, 西山 幸男<sup>1)</sup>

1) 西山産婦人科

2) 藤田医科大学総合医科学研究所分子遺伝学研究部門

### 【背景】

PGT-Aは染色体の正二倍体胚と異数性胚を区別し、正二倍体胚を移植することで、ARTの成功率向上が期待される技術である。PGT-Aの解析の多くは胚盤胞の栄養外胚葉細胞（TE）の一部を用いるが、体細胞モザイクが存在しうするため、TE生検の採取部位による結果の不一致や、内細胞塊（ICM）の結果との不一致が起こりえる。このことはモザイク胚を移植胚か処分胚とすべきかに大きく影響する現象である。

### 【目的】

本研究では次世代シーケンサーを用いて、生検の採取部位による結果の不一致や、内細胞塊（ICM）の結果との不一致が起こりえるかについて検討を行うことを目的とした。

### 【対象】

日本産婦人科学会より2019年12月26日に承認された「反復ART不成功症例および反復流産症例および染色体構造異常例を対象とする継続妊娠率向上を目的としたPGT-Aの有用性を検討する多施設共同研究」

に参加同意された3例（40-43歳）の処分胚4つを対象とした。

### 【方法】

顕微授精にて得られた胚盤胞のTEを5から8細胞生検し、PGT-A解析施設で染色体解析を行った。解析結果にて異数性胚又はモザイク胚の結果にて処分胚の同意を得た凍結胚を同様にTEの再生検したものと残った胚全体にわけ、再度染色体解析を行い、初回生検と再生検と胚全体との結果を比較した。

### 【結果】

症例1の初回生検は16モノソミーの50%モザイク、再生検では16モノソミーの20%モザイク、胚全体は正二倍体。症例2の初回生検は15トリソミーに加えて11モノソミーの40%モザイク、再生検では15トリソミー、胚全体は15トリソミー。症例3の初回生検は19モノソミーの50%モザイク、再生検は初回生検同様の50%モザイク、胚全体では19モノソミーの60%モザイク。症例4の初回生検は21テトラソミー、再生検は21テトラソミーに加えて18モノソミーの80%モザイク、胚全体では21テトラソミーがあり、初回生検との結果が一致しないものが多かった。

### 【結語】

配偶子形成過程でできた異数性は生検部位の違いによる影響を受けないが、受精後の体細胞分裂で生じた染色体分配の異常であるモザイクは生検部位によって影響を受け、ICMの結果を反映しない可能性が示唆された。モザイク胚の移植に関しては十分な遺伝カウンセリングを行うことが重要であると思われた。

## 0-22 子宮内フローラの結果とART成績の関連—複数の臨床パラメータとの比較検討—

坂井 和貴<sup>1)</sup>, 田中 克<sup>2)</sup>, 田中 志穂<sup>1)</sup>, 大西 弘法<sup>1)</sup>,  
野手 健造<sup>1)</sup>, 長谷川 麻理<sup>1)</sup>, 伊木 朱有美<sup>1)</sup>, 荒井 渉<sup>2)</sup>,  
長井 陽子<sup>2)</sup>, 鍋田 基生<sup>1)</sup>

1) つばきウイメンズクリニック

2) Varinos株式会社

### 【目的】

凍結融解胚移植（FET）の妊娠成否には複数の要因が関わっており、近年、子宮内フローラ等の子宮内環境も妊娠に関与することが明らかとなってきた。FETの妊娠成否にどのような臨床パラメータが影響を及ぼすのかを明らかにするため、それらの関連性について後方視的に検討した。

### 【対象と方法】

患者同意を得て2018年10月から2019年12月までに当院にてFETを行い、臨床妊娠の成否が得られている1,126周期を対象とした。FET以前に子宮内フローラ、BMI、酸化ストレス度等の複数の臨床

パラメータを測定した。得られたデータを用いて、FETの妊娠成否との関連性を検討した。2018年10月以降に初めてFETを施行した症例に限定して解析を行った。

### 【結果】

複数の臨床パラメータからFETの妊娠成否を予測するロジスティック回帰モデルを構築した結果、*Lactobacillus*属占有率と胚グレードが説明変数として選択された。このモデルを用いてROC解析を実施したところ、高精度でFETの妊娠成否を予測でき（AUC=0.839）、成否を分ける上で最適な線形予測子のカットオフ値を発見した（ $p=0.007$ ）。該当のカットオフ値を満たす胚グレードと*Lactobacillus*属占有率の条件は、胚グレードAB以上かつ*Lactobacillus*属占有率5.3%以上（条件1）、あるいは胚グレードBB以上かつ*Lactobacillus*属占有率49.1%以上（条件2）であった。検証の結果、条件1を満たす群と逸脱する群ではFETの妊娠率はそれぞれ89.5%と40.0%で、有意差が得られた（ $p=0.042$ ）。また、条件2を満たす群と逸脱する群ではFET妊娠率はそれぞれ81.0%と50.0%で、有意差は得られなかった（ $p=0.290$ ）。

### 【考察】

ロジスティック回帰モデルからFETの成否を予測する上で、*Lactobacillus*属占有率と胚グレードが大きく寄与していることが明らかとなった。また、胚グレードAB以上かつ*Lactobacillus*属占有率5.3%以上、あるいは胚グレードBB以上かつ*Lactobacillus*属占有率49.1%以上であれば、FETにて妊娠成立する可能性が高いことが示唆された。

## 0-23 Neurotensin は ERK1/2 系の持続的リン酸化を促進し排卵を誘起する

岡本 麻子<sup>1,2)</sup>, 島田 昌之<sup>3)</sup>, 山下 泰尚<sup>1)</sup>,

- 1) 県立広島大院総合学術研究科
- 2) 倉敷芸術科学大生命科学部
- 3) 広島大院統合生命科学研究科

### 【目的】

LH サージ刺激後の顆粒膜細胞が放出する EGF-like factor は卵丘細胞の EGF 受容体を介して ERK1/2 を活性化し排卵を誘導する。本研究グループでは、野生型マウスと卵巣特異的 *Erk1/2* 欠損マウスの排卵期顆粒膜細胞におけるアレイデータベースの比較解析から、ERK1/2 依存的に発現する分泌因子の探索を行った。その結果、神経ペプチドの Neurotensin (NTS) を見出したことから、本研究では NTS とその受容体 (NTSR1) の発現と機能解析を行った。

### 【方法】

実験1: PMSG/hCG を投与した3週齢の C57BL/6 雌マウスから卵巣、顆粒膜細胞 (GC)、卵丘細胞 (CC) を各時間に回収し、NTS および NTSR1 の遺伝子とタンパク質発現、局在を調べた。実験2: マウスに PMSG/hCG または hCG+SR (NTSR1 阻害剤) 投与し、排卵数、産仔数、

黄体数を調べた。実験3: PMSG/hCG または PMSG/hCG+SR を投与したマウスから CC を回収し、経時的 ERK1/2 リン酸化パターンを比較した。実験4: PMSG/hCG および PMSG/hCG+SR を投与したマウスから GC および CC を回収し、GC の EGF-like factors (*Areg*, *Btc*, *Ereg*, *Nrg1*) と CC の ErBbs (*ErbB1*, *ErbB2*, *ErbB3*, *ErbB4*) の発現を比較した。

### 【結果】

実験1: *Nts* mRNA は hCG 刺激前までは GC と CC で低値であったが、hCG 刺激4h 後に両細胞で有意に上昇したが、*Ntsr1* mRNA は GC と CC で恒常的に発現していた。NTS 量は排卵刺激後に増加し、NTS、NTSR1 タンパク質も排卵刺激後の GC、CC に局在していた。実験2: 排卵数、産仔数、黄体数は SR 投与により減少した。実験3: hCG 投与した CC では排卵時まで継続的に ERK1/2 のリン酸化が認められたが、hCG+SR では継続的な ERK1/2 リン酸化は認められなかった。実験4: GC での *Ereg* と *Nrg1*, CC の *ErbB2* と *ErbB3* mRNA 発現は SR により完全に抑制された。

### 【考察】

本研究の結果、NTS は GC の EGF-like factor のうち EREG と NRG1, CC の EGF 受容体のうち ErBb2 と ErBb3 の発現をそれぞれ亢進し、排卵期間の継続した ERK1/2 のリン酸化を誘導する因子であることが明らかになった。さらに、この結果、受精能を有する卵の成熟と排卵が誘導されると考えられた。

## 0-24 顆粒膜細胞で発現上昇する SREBP は、排卵期のプロゲステロン産生に必須である

中西 寛弥<sup>1)</sup>, 田中 里沙<sup>2)</sup>, 島田 昌之<sup>3)</sup>, 山下 泰尚<sup>1,2)</sup>

- 1) 県立広島大院総合学術
- 2) 県立広島大生命環境
- 3) 広島大院統合生命科学

### 【目的】

後期卵状卵胞の顆粒膜細胞に LH が作用すると EGF-like factor の発現を介してプロゲステロン (P4) を産生し、排卵が誘導される。P4 は、肝臓で新規合成されるコレステロール (Cho) を基質とすると考えられてきたが、hCG 刺激後の卵巣のトランスクリプトーム解析結果から、肝臓の Cho 合成経路に必須の転写因子 (*Srebp*) の発現を見出した。本研究では、hCG 刺激前後の顆粒膜細胞における SREBP とその制御因子 (SCAP) の発現とそれらの役割を検討した。

### 【方法】

実験1, 3週齢の C57BL/6 雌マウスに PMSG 投与48時間 (h) 後に hCG を投与し顆粒膜細胞 (GC) を回収した。GC の *Srebp-1*, *Srebp-2*, *Scap* および Cho 合成酵素 (*Hmgcr*, *Cyp51*, *Dhcr7*) の経時的発現を調べた。また SREBP-1, SREBP-2, SCAP タンパク質の発現と局在を調べた。実験2, PMSG 投与 42h 後に SREBP-SCAP 複合体形成阻害

剤 (Fatostatin; Fato) を投与し、6h 後に hCG を投与した。hCG 投与2h 後と12h 後の卵巣を回収し、GC の Cho 合成酵素発現 (2h), Cho 量 (2h), P4 量 (12h) を調べた。実験3, PMSG 投与48h 後の GC を回収し、*Scap* siRNA を導入後、EGF-like factor (AREG) 添加培地で12h, 16h 培養した。GC の Cho 合成酵素群の mRNA 発現 (12h) と Cho 局在の蛍光像 (12h), P4 量 (16h) を検出した。実験4, 実験2と同様に Fato 処理した6h 後に hCG あるいは hCG と P4 を投与し、16h 後の卵管の排卵数と48h 後の黄体数とその形態を調べた。

### 【結果】

実験1, *Srebp-1*, *Srebp-2*, *Scap* mRNA 発現、SREBP-1, SREBP-2 発現は PMSG 投与48h 後から hCG 投与後に高い発現量を示し、GC に局在していた。Cho 合成酵素発現は hCG 投与後に有意に増加した。実験2, Fato 処理により Cho 合成酵素発現、Cho 量、P4 量は有意に低下した。実験3, *Scap* siRNA 処理により Cho 合成酵素発現、Cho 量、P4 量は有意に減少した。実験4, Fato 処理により排卵数、黄体数は減少し、排卵不全を呈したが、この低下は P4 投与により回復した。

### 【考察】

Fato 処理と *Scap* siRNA 処理により Cho 酵素群の mRNA 発現、Cho 量、P4 量が低下したことから、SREBP と SCAP は、排卵刺激後の速やかな Cho 合成と P4 産生に重要であることが明らかになった。さらに Fato 処理は排卵不全を呈したことから、SREBP と SCAP により誘導される Cho 合成経路は排卵に必須であり、この経路の破綻は排卵不全の要因となると考えられた。

## 0-25 ニュートリションサポートセンターにおける栄養指導の不妊治療への効果

植田 歩唯, 土井 麻莉子, 山本 健児, 藤井 美喜,  
荻口 昭次, 塩谷 雅英  
英ウィメンズクリニック

### 【目的】

当院では妊娠するための健康的な体づくりをサポートするために2015年8月よりニュートリションサポートセンター（以下NSC）を開設し、管理栄養士による栄養指導（以下NS）を行っている。中でもNSCで指導を行うケースの67%は体重管理が目的となっている。

そこでBMI25以上の肥満傾向の方へのNSを通じて、妊娠しやすい体づくりのサポートを行った結果、不妊治療の成績にどのような効果があったかを検証したので報告する。

### 【方法】

NSCでは、患者が作成した食事記録をもとに栄養価計算を行い、食事の傾向や問題点を把握し、適切な栄養摂取となるようNSを行っている。2015年8月～2019年12月までにNSを行ったBMI25以上の患者124例のうちNSの前後でBMIの測定が行われていた43例について

BMIの改善、不妊治療の種類および妊娠の有無について後方視的に調べた。

### 【結果】

対象患者43例の平均年齢は35.6歳、NS開始時のBMIの平均値は30.8であった。NS後にBMIが減少したのは35例（81.3%）で、そのBMI平均値は27.9であった。そのうち5例がBMI25未満まで改善した。NS後BMI<25となるまでに要した期間は平均139.6日であった。また、対象患者43例の不妊治療の内容と妊娠の有無について調べた結果、NS後に妊娠した症例は、タイミング14例中6例（42.8%）、AIH4例中2例（50%）、ART25例中16例（64.0%）であった。BMIが25未満まで改善した5例で妊娠したのは3例（60.0%）（タイミング1例 AIH1例 ART1例）であった。一方でBMIの改善が見られなかった8例で妊娠したのは4例（50.0%）（タイミング1例 ART3例）であった。

### 【考察】

NSの前後で81.3%の症例でBMIの改善が見られたこと、目標であるBMI<25まで改善できた症例の60.0%が妊娠に至ったことは、NSに一定の効果があったと考える。一方でBMI<25を達成できた症例の割合が43例中5例（11.6%）と少なかったのは、定期的に継続してNSでフォローできた症例が少なかったことが一因と考えられる。また、診察時に体重を測定する機会が少なく、評価対象となった症例が少なかったことが課題としてあげられる。今後はできる限り定期的にNSを受けるよう指導し、体重測定を毎回行うなどBMIの目標到達度を患者とともに確認しながらサポートを行っていきたい。

## 0-26 レルゴリクスはARTにおいてセトロレキシスの代替薬となり得るか

矢野 未来<sup>1)</sup>, 辻 勲<sup>1)</sup>, 前田 優磨<sup>1)</sup>, 大垣 彩<sup>1)</sup>,  
水野 里志<sup>1)</sup>, 菊川 忠之<sup>1)</sup>, 福田 愛作<sup>1)</sup>, 森本義晴<sup>2)</sup>  
1) IVF 大阪クリニック  
2) HORAC グランフロント大阪クリニック

### 【目的】

生殖補助医療（ART）における調節卵巣刺激において、従来からGnRHアゴニスト製剤であるセトロレキシスが用いられている。近年、子宮筋腫の治療薬として、新たなGnRHアゴニスト製剤であるレルゴリクスが開発された。レルゴリクスは経口薬で利便性が高く、安価であることから、セトロレキシスの代替薬となる可能性がある。本研究では、レルゴリクスがARTに応用できるかを検討することを目的とする。

### 【対象と方法】

当院で2019年6月から2020年7月の期間に、GnRHアンタゴニスト法による調節卵巣刺激を用いて採卵し、顕微授精を施行した患者148症例162周期を対象とした。セトロレキシスを皮下注射した72症例76周期

（セトロレキシス群）と、レルゴリクスを経口投与した81症例86周期（レルゴリクス群）のART治療成績を後方視的に比較検討した。レルゴリクスとセトロレキシスは、主席卵胞が14mmに達した時点から排卵誘起の当日または前日まで連日投与した。本研究は当院倫理委員会の承認を得て行った。

### 【結果】

採卵直前のLH値は、レルゴリクス群がセトロレキシス群より有意に低値であった（ $2.1 \pm 2.0$  mIU/mL vs  $3.3 \pm 5.0$  mIU/mL,  $P < 0.05$ ）。なお、排卵後のため採卵がキャンセルになった周期は両群ともなかった。受精率は、レルゴリクス群がセトロレキシス群より有意に高率であった（83.9% vs 80.2%,  $P < 0.05$ ）。レルゴリクス群とセトロレキシス群において、採卵数（ $11.1 \pm 7.8$ 個 vs  $14.2 \pm 9.0$ 個）、成熟卵数（ $9.0 \pm 6.3$ 個 vs  $11.0 \pm 7.4$ 個）、胚盤胞到達率（64.7% vs 63.2%）、良好胚盤胞到達率（54.7% vs 50.2%）、新鮮胚移植の臨床的妊娠率（63.5% vs 56.9%）は有意差を認めなかった。

### 【結論】

レルゴリクスを用いたGnRHアンタゴニスト法によるART治療成績はセトロレキシスとほぼ同等であったことから、レルゴリクスはARTに応用できる可能性が示唆された。ただし、本研究は症例数が少なく、後方視的検討であるため、さらなる検討が必要である。



## 0-27 男性不妊治療患者の睡眠に関する検討

藤井 美喜, 江夏 徳寿, 苔口 昭次, 塩谷 雅英  
英ウィメンズクリニック

### 【目的】

睡眠は身体の回復を促し、ホルモンバランスを整える役割がある。妊孕性向上のためには睡眠を良好に保つことが大切とされている。そこで、睡眠状態が精液所見に与える影響、男性の睡眠に与える影響因子を調査した。

### 【方法】

2019年5月～2019年6月に、男性不妊外来を受診した患者を対象にアンケートを実施した。アンケートは、睡眠障害の評価項目7要素にて内容が構成されている「ピッツバーグ質問票 (SQI) 日本版」、および「睡眠に影響する因子 (高年齢・アルコール摂取・喫煙・就寝前にPC・足の冷え・夜勤ありの仕事)」を含めた内容とした。

### 【考察】

対象はアンケートを回収できた187名とした(回収率89.0%)。平均年齢は36.5歳。睡眠障害の程度は、睡眠障害なし76.5%、軽度睡眠障害21.4%、高度睡眠障害2.1%であった。睡眠時間は平均6時間が最も多く、6時間以内が51.9%であった。睡眠時間と精液所見の相関を検討すると、精液量・精子運動指数において6-7時間をピークとして逆U字型の緩やかな相関を認めた。睡眠時間6-7時間、6時間< および >7時間の2群間の比較をすると、精子運動率はそれぞれ45.4%、38.7%と睡眠時間6-7時間の群で有意に良好だった( $P>0.05$ )。精子濃度とPSQI評価、および精子運動率とPSQI評価の間には有意な相関を認めなかった。PSQI評価と各因子の関連解析結果は、“喫煙あり”(オッズ比2.34, 95%CL 1.07-5.12,  $P$ 値0.032)で有意差を認めたが、他の睡眠影響因子との関連は認めなかった

### 【考察】

精液所見と睡眠時間の間には、6-7時間をピークとして逆U字型の緩やかな相関を認め、6-7時間の睡眠時間が精液所見に最も良いという結果が得られた。その一方で睡眠障害と精子濃度、精子運動率との関連は確認できなかった。ただ喫煙が、男性の睡眠障害のリスク因子となることから、禁煙指導の必要性が改めて認識された。





# 日本IVF学会雑誌

Vol.23 No.2

---

[www.jsar.or.jp](http://www.jsar.or.jp)

---