

近畿大学医学部産科婦人科における 体外受精：胚移植の成績

石川 元 春 高瀬 規久也 赤 井 正 彦
三 橋 洋 治 新屋敷 康 星 合 昊
野田 起一郎

近畿大学医学部産科婦人科学教室

Clinical evaluation of results in in vitro fertilization and embryo transfer at Kinki University, Department of Obstetrics and Gynecology

Motoharu Ishikawa, Kikuya Takase, Masahiko Akai,
Yohji Mistuhashi, Koh Shin'yashiki, Hiroshi Hoshiai,
and Kiichiro Noda

Department of Obstetrics and Gynecology, Kinki University, School of Medicine,
Osaka, Japan

ABSTRACT

Clinical data of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) at Kinki University are reported. Between May 1991 and October 1992, 34 couples underwent IVF-ET program (81 cycles). Among these, 72 cycles underwent oocyte retrieval, and in 70 cycles from 33 couples oocyte(s) were collected successfully. Chemical pregnancies and ongoing pregnancies were observed in 9 cycles from 7 patients and 5 cycles from 5 couples, respectively. Fertilization rate in couples with severe male factor and those with high age wives (40 y.o. or older) was significantly lower compared to those without such factors.

Key words: in vitro fertilization, embryo transfer, male infertility, aging

緒 言

1979年に Steptoe と Edwards¹ が、また本邦では1983年に鈴木・星合らが² 体外受精一胚移植 (in vitro fertilization and embryo transfer; IVF-ET) による妊娠例をそれぞれ報告して以来、この方法は広く普及しつつある。世

界的には数万人の、本邦では数千人の生児が IVF-ET によって得られている。また、IVF-ET の適応は卵管性不妊症のみから、男性不妊症・子宮内膜症・原因不明不妊症・免疫性不妊症などに拡大され、年間数千例に施行されている³。当教室においても難治性の不妊症の対応法として1991年5月から IVF-ET による治療

法を導入しており、より充実した不妊症診療を行ってきている。今回、18カ月にわたる臨床データを解析し、この間の成績を明らかにして問題点を明確にし、若干の知見を得たのでこれを報告する。

方 法

1991年5月から1992年10月の18カ月間にIVF-ETを行った夫婦34組・81周期を対象とした。また、すべての夫婦から日本産科婦人科学会のガイドラインおよび近畿大学医学部倫理委員会の許可基準に基づいた説明を行い事前に文書による同意を得た。

IVF-ETの対象となった適応は、男性不妊症17組、卵管因子13組（1組は男性不妊症を合併）、子宮内膜症4組（2組は男性不妊症を合併）、原因不明不妊症2組、妻の抗精子抗体陽

パン、東京)-human chorionic gonadotropin (hCG; ゴナトロピン®, 持田製薬, 東京) による long または short protocol によって行った⁴。

HCG 投与後36時間で静脈麻酔下に経腔超音波ガイド下で採卵を行い、採精した精子を処理後、7.5%の非働化血清を含む HTF® (東機質, 東京) 内で媒精した。採卵の約24時間後に受精を確認し、採卵の48時間後に、卵割状態を観察後、明らかな変性卵を除外して、未分割で未受精卵と思われるものも含めて子宮腔内に移植を行った。黄体期の補充療法として、1992年1月までは採卵後3, 6, 9日にhCGを6,000 IU 筋肉内注射し、それ以降は採卵の当日からプロゲステロン(プロゲホルモン®, 持田製薬, 東京)を14日間連日50 mg 筋肉注射を行った。妊娠の判定は、採卵後14日に尿中のhCGが50 IU/1 以上を示したものを chemical pregnancy, さらに超音波断層法により胎児心拍が確認され児が正常に発育しているもの、または分娩が終了し母児ともに異常を認めなかったものを ongoing pregnancy とした。

有意差検定は Fisher 直接検定によって行った。

成 績

34名の妻に81周期の排卵誘発を行い、採卵に至った周期33名・72周期(86.8%)であり、十分な成熟卵胞の発育がみられず、排卵誘発を中止した周期は7名・9周期(12.2%)であった(6名で重複)。採卵を試みた33名・72周期中、少なくとも1個の卵が得られた採卵成功周期は33名・70周期(97.2%)であり、採卵不能であった周期は2名・2周期のみ(2.8%)と低率であった(1名で重複)。

採卵が可能であったこの33名・70周期を対象に妊娠率を算定すると、chemical pregnancy 以上の妊娠率は対周期あたり12.9%, 对患者あたり21.2%に、また ongoing pregnancy の妊娠率は対周期あたり7.1%, 对患者あたり15.2%にそれぞれ相当する(Table 2)。

Table 1 Background of patients (n=34)

| major indication | No. of couples (%) | incidence in Japan*1 |
|------------------|--------------------|----------------------|
| male factor | 17(50.0%)*2 | 22.6% |
| tubal factor | 13(38.2%)*3 | 48.2% |
| endometriosis | 4(11.8%)*4 | 15.3% |
| unexplained | 2(5.9%) | 11.1% |
| immunological | 1(2.9%) | 2.0% |

*1 incidence in Japan according to reference³⁾

*2 fourteen severe, three mild

*3 includes one couple with male factor

*4 includes two couples with male factor

*5 mean±SD age of wives; 34.3±4.8 y.o. (range; 25-43)

*6 mean±SD duration of sterility; 6.9±3.1 yrs. (range; 1-15)

性の免疫性不妊症1組であった(Table 1)。妻の平均年齢は34.3歳(標準偏差; 4.8歳, 範囲25-43歳)であり、平均不妊期間は6.9年(標準偏差; 3.1年, 範囲1-15年)であった。

排卵誘発法は酢酸ブセレリン(スプレキュア®, ヘキストジャパン, 東京)-human menopausal gonadotropin(ヒュメゴン®, 日本オルガノン, 東京)/Follicle stimulating hormone(フェルティノームP®, セローノジャ

Table 2 Pregnancy rate*1

| status of pregnancy | No. of cycles | % per cycles | % per patients |
|------------------------------|---------------|---------------|----------------|
| more than chemical pregnancy | 9 | 12.9 (14.8)*2 | 21.2 (16.9)*2 |
| ongoing pregnancy | 5 | 7.1 (9.4)*2 | 15.2 (11.8)*2 |

*1 Data were analyzed from successful oocyte retrieval cases i.e. 70 cycles from 33 couples

*2 numbers in parenthesis show corresponding pregnancy rates in Japan according to reference³⁾

妊娠例の詳細を Table 3 に示す。2名・4周期は chemical pregnancy にとどまり、以後の妊娠継続は認められなかった (case No. 1-4)。Case No. 1 には直径 8 cm の筋層内子宮筋腫を認め、流産後に筋腫核出術を施行している。また、5名・5周期は ongoing pregnancy を認め、内 2名は単胎妊娠 (case No. 5 and 6)、1名は胎嚢を 2個認めたが、1個のみ順調に発育を続け (case No. 7)、残りの 1個は退縮していく vanishing twin であった。2名は妊娠初期から双胎妊娠を認め、いずれも順調に発育中

Table 3 Clinical data of pregnant cases

| case No. | name | age (y. o.) | main indication | No. of oocytes retrieved | No. of embryos transferred | status of pregnancy | remarks |
|----------|------|-------------|-----------------|--------------------------|----------------------------|---------------------|-------------------------------|
| 1 | MY | 34 | immunological | 7 | 5(5)*1 | chemical | with intramural uterine myoma |
| 2 | MY | 34 | immunological | 12 | 2(9) | chemical | same patient as case No. 1 |
| 3 | S T | 36 | tubal factor | 4 | 4(4) | chemical | |
| 4 | S T | 37 | tubal factor | 2 | 4(4) | chemical | same patient as case No. 3 |
| 5 | Y F | 30 | male factor | 6 | 5(0) | ongoing | singleton |
| 6 | Y M | 35 | tubal factor | 5 | 5(2) | ongoing | singleton |
| 7 | K F | 38 | endometrisis | 3 | 3(2) | ongoing | vanishing twin |
| 8 | Y K | 32 | tubal factor | 4 | 4(4) | ongoing | twin |
| 9 | A N | 36 | tubal factor | 25 | 4(4) | ongoing | twin |

*1 number in parenthesis shows the No. of embryos cleaved at embryo transfer.

である (case No. 8 and 9)。

採卵可能であった周期の臨床成績を、Table 4 に示す。WHO の精子に関する診断基準⁵⁾ (精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上、運動率 50% 以上、奇形率 50% 未満) で男性不妊と診断された男性不妊群 (group A) は、14組・24周期になり、このグループでは、chemical pregnancy のみで終わったものではなく、ongoing pregnancy が 1例みられたのみで、この妊娠率は対周期あたり 4.0%、対患者あたり 7.1% と低値であった。また、このグループでは、必要な精子数が得られずに、採卵はできたものの媒精をキャンセルした症例が 3組・3周期あった。

また、採卵時の妻の年齢が 40 歳以上であった

高年齢群 (group B) は、7組・15周期あり、2組・6周期で group A と重複している。この群では、一例も妊娠にいたらなかった。

さらに、重症男性不妊症ではなく、かつ妻の年齢が 40 歳未満の群 (group C) では、8周期・6名の chemical pregnancy 以上の妊娠を認め、対周期あたり 19.5%、対患者あたり 37.5% の妊娠率であった。また、ongoing pregnancy は 4名・4周期に認め、対周期あたり 9.8%、対患者あたり 25.0% の妊娠率であった。

考 察

IVF-ET をはじめとする配偶子操作による高度な不妊症診療は広く普及しており、1991年

Table 4 Fertilization rate and pregnancy rate among subgroup

| | over all | couples with severe male factor (group A) | couples with wives 40 y. o. o or older (group B) | couples that were neither group A nor group B (group C) |
|--|-----------------------|---|--|---|
| No. of cycles with successful oocyte retrieval | 70 | 24 | 11* ¹ | 41 |
| No. of patients | 33 | 14 | 5* ² | 16 |
| No. of oocytes retrieved (mean±SD) | 525 (7.5±4.9) | 196 (8.2±5.0) | 55 (5.0±2.0) | 309 (7.5±4.9) |
| No. of oocytes fertilized (mean±SD) (fertilization rate) | 162 (2.5±3.0) (30.9%) | 9* ³ (0.4±0.7) (5.3%) | 15* ⁴ (1.4±1.9) (27.3%) | 141 (3.5±3.3) (45.6%) |
| No. of embryos transferred (mean±SD) | 360 (5.4±2.9) | 115 (5.5±2.7) | 53 (4.8±1.7) | 226 (5.5±3.1) |
| No. of cycles with more than chemical pregnancy (rate per cycle) | 9 (12.9%) | 1 (4.3%) | 0 | 8 (19.5%) |
| No. of patients with more than chemical pregnancy (rate per patient) | 7 (21.2%) | 1 (7.1%) | 0 | 6 (37.5%) |
| No. of cycles with ongoing pregnancy (rate per cycle) | 5 (7.1%) | 1 (4.3%) | 0 | 4 (9.8%) |
| No. of patients with ongoing pregnancy (rate per patient) | 5 (15.2%) | 1 (7.1%) | 0 | 4 (25.0%) |

*¹ including six cycles with severe male factor.

*² including two patients with severe male factor.

*³ p<0.001 compared to group C

*⁴ p<0.05 compared to group C

に発表された1990年度における日本産科婦人科学会の集計では、実施施設数は122施設にのぼり、同法によって出生した児の数は1990年末までの累計で1,700名を越えたことが示されている³。当教室においても1991年5月からIVF-ETによる治療法を導入しており、難治性不妊症への対応法として診療の質を向上させてきている。

1992年10月までの妊娠例は、妊娠反応陽性以上のchemical pregnancyが7名・9周期、胎児心拍を確認でき順調に経過中または正常分娩を終えたongoing pregnancyが5名・5周期に観察できている。施行期間・適応症例の頻度

などの相違があり、必ずしも正確な比較はできないが、当施設の妊娠率と日本産科婦人科学会の報告³とを対比してみると、それぞれ、chemical pregnancy以上が対周期あたり12.9%と14.8%、対患者あたり21.2%と18.9%、ongoing pregnancyが対周期あたり8.8%と9.4%、対患者あたり15.2%と11.8%となり、ほぼこれに匹敵する結果となっている (Table 2)。

当施設における適応を日本産科婦人科学会の報告³と比較すると、男性因子の占める割合が50%に達していることが大きな特徴といえる (Table 1)。さらに、この中でWHOの診断基準⁵に該当する重症男性因子を持つ症例は14組

にも達しており、採卵をしても媒精に必要な精子数が確保できなかった症例が3組あったことも、問題点として挙げられる。また、男性因子を持つ症例の受精率は有意に低く ($p < 0.001$)、したがって妊娠率の低下につながっている。IVF-ET は、人為的に受精時の精子濃度をあげることができるので、男性因子の救済法として導入されてきているが、この妊娠率は概して低値であり、特に重症の症例では通常の IVF-ET で妊娠する例は少ない。近年、マイクロマニピュレーターを用いた顕微授精法が開発され、透明帯開口術⁶、囲卵腔精子注入法⁷、卵細胞質内精子注入法⁸ による妊娠・分娩成功例が報告されてきている。本邦でも、1992年に日本産科婦人科学会が一定の条件下での臨床応用を認可しており、透明帯開口術と囲卵腔精子注入法による成功例のみが現在までに報告されている⁹。顕微授精法は、臨床応用の歴史が浅く、低い妊娠率・児の長期予後などの今後解明すべき問題点を残すものの、重症男性因子を持つ症例の救済法として今後急速に普及していくことは間違いない。

妻の年齢が高齢になるに従って、一般的に妊娠性は低下してゆき、この点 IVF-ET も例外ではない。今回のデータでも、40歳以上の症例の受精率は、男性因子を持たない若年症例に比べて有意 ($p < 0.05$) に低値であり、妊娠例は一例も見られなかった (Table 4)。高齢者に対する根本的な救済法はなく、施設によっては年齢制限を設けて IVF-ET の対象外としていることもある。的確な原因検索を行わずに、安易に IVF-ET を行うことは避けなければならないが、IVF-ET の適応となる症例を早期に診断し、妊娠性が保たれているより若年の時期にこれを施行することも重要であると考えられる。また、未だ実験的段階ではあるが、高齢者において見られる受精卵の厚い透明帯をマイクロマニピュレーターを使用して小孔を開け、着床を促進するような新しい試みも報告されており¹⁰、

高齢者への新しい対策として注目を集めている。

以上、当科における18カ月間の臨床成績を示した。現段階である程度満足すべき水準に達しているものと考えられるが、妊娠率の低い男性因子群や高齢者群では、顕微授精などの新しい観点からの対応が必要である。また、積極的に凍結保存を併用し、余剰胚を有効利用して、累積妊娠率を向上させることも必要であると考えられる。

文 献

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after reimplantation of human embryo. *Lancet* II 1979; 366.
2. 鈴木雅洲, 星 和彦, 星和 昊ら. 体外受精・胚移植により受精・着床に成功した卵管性不妊症の1例. *日本不妊学会雑誌*. 1983; 28: 439-443.
3. 森 高英ら. 平成3年度生殖医学の登録に関する委員会報告 (第3報) (平成2年分の臨床実施成績, 平成元年分の治療による出生児の追跡調査成績) *日産婦誌* 1991; 499-511.
4. 石川元春, 星合 昊, 野田起一郎. 体外受精: 基礎から臨床まで. 鈴木秋悦編. GnRHa の併用.
5. WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucous interaction. WHO; 1987: Cambridge, University Press.
6. Cohen J, Malter H, Fehilly C, et al. Implantation of embryos after partial opening of oocyte zona pellucida to facilitate sperm penetration. *Lancet* 1988; 162.
7. Ng SC, Bongso A, Ratnum SS, et al. Pregnancy after transfer of sperm under zona pellucida. *Lancet*: 1988; 790.
8. Palermo G, Joris H, Devroey P, et al. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 1992; 340: 17-18.
9. 永吉 基, 田中 温, 塩見秀明ら, *日本不妊学会雑誌*, 1992; 37: 750.
10. Cohen J. personal communication, 1992.

注) “Recent advances in micromanipulation” で講演。