

平成9年度厚生省心身障害研究  
「不妊治療の在り方に関する研究」

体外受精・胚移植における妊娠予後の検討  
(分担研究：多胎妊娠の予防に関する研究)

分担研究報告書

研究協力者：鳥取大学医学部産科婦人科学教室 寺川直樹  
原田 省

要約： 体外受精・胚移植のための卵巣刺激周期においては、卵胞期に血中プロゲステロン(P)が軽度上昇する周期が存在し、その周期では妊娠成績が低下することを見出した。血中P濃度の上昇がみられた際には、可及的速やかに採卵を行うことで卵の質と妊娠成績の低下を回避できることも明らかとなっている。本研究では、P非上昇あるいはP上昇周期について後方視的に検討を加え、統計学的解析を行って体外受精成績に最も関与する因子を同定し、妊娠率向上のための卵胞期管理に役立てることを目的とした。GnRHa-hMG-hCGを用いてIVF-ETを施行した110症例124周期を対象とした。卵胞期P上昇( $>1.0\text{ ng/ml}$ )を認めたが、従来の規準に基づいてhCGを投与を行った周期をP上昇周期、P上昇後に可及的速やかにhCG投与を行った周期を緊急採卵周期、P上昇を認めなかった周期をP非上昇周期とした。採卵前の観察項目を説明変数とし、採卵数、成熟卵数、分割卵数、4細胞胚数、移植胚数、着床数、妊娠の有無を応答変数として採卵前後における各変数の関係を重回帰分析すると、体外受精成績に影響を及ぼすのは血中E2およびP濃度と卵胞数であった。採卵後の観察項目について妊娠の有無を応答とするロジスティック単回帰分析を行うと、4細胞胚数、G1胚数、G3胚数、移植胚数が妊娠成績と関連することが示された。妊娠と関連があった複数の項目を用いたロジスティック重回帰分析を行うと、妊娠に最も関連するのはG1胚数であった。P非上昇周期、P上昇周期、緊急採卵周期の3群間において、採卵前後の観察項目をWilcoxon順位和検定によって比較検討した結果、P上昇周期では血中E2およびP濃度は高く、卵胞数、採卵数が多いにも拘わらず、成熟卵数、分割卵数、移植胚数は少なく、着床数も少ないことが明らかとなった。G1+G2+G3胚数を良質胚数とすると、分割卵の中に占める良質胚の割合が着床の有無に寄与することが判明した。妊娠率が高い周期はどのような特徴を持つかを知るために、P上昇

周期と緊急採卵周期を対象としてSearch partition analysisを行った。その結果、良質胚数の割合が高かったグループの特徴は、（緊急採卵周期かつ卵胞数 $\leq 10$ ）または（hCG日の血中E2値 $\leq 2000\text{pg/ml}$ かつ卵胞液量割合 $\leq 0.5$ ）であった。良質胚数の割合が低かったグループの特徴は、（P上昇周期かつhCG日の血中E2値 $> 2000\text{pg/ml}$ ）または（P上昇周期かつ卵胞液量割合 $> 0.5$ ）または（hCG日の血中E2値 $> 2000\text{pg/ml}$ かつ卵胞液量割合 $> 0.5$ ）または（卵胞数 $> 10$ かつ卵胞液量割合 $> 0.5$ ）であった。P上昇周期と緊急採卵周期の間で良質胚数の割合に有意な差がみられた（p値=0.0310）。今回の検討から、体外受精を行う際に発育卵胞数が多いことは有利であるが、一方で、P上昇がおりやすく妊娠率が低化する周期が存在すること、妊娠率を向上させるためには形態学的良質胚を多数得ることが重要であり、血中Pが上昇した際には発育卵胞数を10以内に抑えた方が良いことが示された。P上昇が発生した周期では、hCGの切り換えのタイミングを早めることで発育卵胞数を制御できると考えられた。

見出し語：体外受精・胚移植，排卵誘発，血中プロゲステロン，形態学的良質胚

## 研究方法

体外受精・胚移植を施行した110症例，124周期を対象とした．黄体期中期からのGnRHa（buserelib acetate：スプレキュア，ヘキストジャパン）の投与のもとに，hMG（ヒュメゴン：日本オルガノン）を連日投与し，血中estradiol（E2）およびprogesterone（P）濃度をRIA法（DPCコーポレーション）により測定した．主席卵胞の直径が15mm以上または経膈超音波断層法で10個以上の卵胞を認めた以降は，12時間毎に血中E2とPを測定した<sup>1)</sup>．124周期のうち，36周期においてP上昇(>1.0ng/ml)が観察された．36周期中17周期は従来のhCG投与基準に従い，すなわち血中E2値が発育卵胞あたり200pg/ml以上となり，発育卵胞の半数以上が径16mmを越えた時点でhCG5000単位を投与した（P上昇周期）．残りの19周期においては，P上昇を確認した時点でhCGを投与し，緊急採卵を行った（緊急採卵周期）．88周期ではP上昇を認めなかった（P非上昇周期）．これら124周期において，hCG日の血中E2およびP濃度，卵胞数，平均卵胞径，最大卵胞径，卵胞液量，採卵数，成熟卵数，分割卵数，4細胞胚数，移植胚のグレード，移植胚数，着床数，妊娠の有無を変数として，重回帰分析，ロジスティック回帰分析，Search partition analysis(SPAN)を用いて統計学的解析を行った．

## 成績

### 1. 採卵前後における観察項目を変数とした重回帰分析

採卵前のhCG日の血中E2およびP濃度，卵胞数，平均卵胞径，最大卵胞径の5項目を説明変数とし，採卵後の採卵数，成熟卵数，分割卵数，4細胞胚数，移植胚数，着床数，妊娠の有無を応答変数として，採卵前後における各変数の関係を重回帰分析により解析した．その結果，採卵後の体外受精成績に有意な影響を及ぼすのはhCG日の血中E2およびP濃度と卵胞数であった（表1）．

### 2. 採卵後の観察項目と妊娠成績

採卵後の10項目の各々を説明変数とし，妊娠の有無を応答とするロジスティック単重回帰分析を行った結果，4細胞胚数，G1胚数，G3胚数，移植胚数においてはp値が0.05以下であった（表2）．これらの4項目については，回帰係数がすべて正であったことから，回帰係数の値が大きいほど妊娠への関与が大きいことが示唆された．G1胚数が2.70ともっとも回帰係数が大きく，妊娠への関与が大きいと考えられた．p値が0.1以下であった分割卵数，4細胞胚数，G1胚数，G3胚数および移植胚数の5項目を説明変数としてロジスティック重回帰分析を行うと，p値が最も小さかったのはG1胚数であった（表3）．

### 3. P上昇周期，緊急採卵周期，P非上昇周期の3群間における観察項目の比較

P上昇周期, 緊急採卵周期, P非上昇周期の3群間において, 採卵前後の観察項目をWilcoxon順位和検定によって比較検討した解析結果から, 各群の特徴が明らかとなった(表4)。

1) P上昇および緊急採卵周期はP非上昇周期に比して血中E2とP濃度が高く, 卵胞数ならびに採卵数は有意に多かった。

2) 緊急採卵周期の平均卵胞径は, P上昇およびP非上昇周期に比して有意に小さかった。

3) P非上昇周期はP上昇周期に比して成熟卵数, 分割卵数および移植胚数が有意に多く, G4とG5胚数は有意に少なかった。

4) 緊急採卵周期はP非上昇およびP上昇周期に比して着床数が高い傾向を示した。

これらの成績から, P上昇周期の血中E2とP濃度は高く, 卵胞数ならびに採卵数が多いにも拘わらず, 成熟卵数, 分割卵数および移植胚数は少なく, 着床数も少なくなることが示唆された。

#### 4. 良質胚と着床との関連

良質胚が妊娠の成立に重要であることが示されたことから, 良質胚と着床との関連を検討した。G1胚数, G1+G2胚数, G1+G2+G3胚数の3通りを説明変数として, 着床の有無を応答変数とするロジスティック単回帰分析を行ったところ, p値はそれぞれ, 0.0069, 0.0032, 0.0004であった。したがって, G1+G2+G3胚数を良質胚数として取り扱う。ここで, 分割卵数における良質胚数の割合と着床の有無についてロジスティック単回帰分析を適用すると, 良質胚数の割合は着床の有無に寄与し(p値=0.0031), 良質胚数の割合が高いほど着床しやすいことが示された。

良質胚数の割合に採卵前のどの項目が関与しているかを知るために, 良質胚数の割合を応答変数としてhCG日の血中E2およびP濃度, 卵胞数, 平均卵胞径, 平均卵胞液量を説明変数とする重回帰分析を行ったが, これらの観察項目と良質胚数との関連は見い出せなかった。次いで, P上昇周期, 緊急採卵周期, P非上昇周期の3群間の良質胚数の割合について, Wilcoxon順位和検定によって比較検討した。その結果, P上昇周期とP非上昇周期間の比較でのp値は0.0679であり, 群間に差があることがうかがわれた。

#### 5. P上昇周期と緊急採卵周期の特徴の比較

P上昇周期と緊急採卵周期の特徴を比較検討することで, 良質胚数の割合が高い周期はどのような特徴を持つかを検討した。良質胚数の割合を応答変数として, 群(P上昇周期か緊急採卵周期), hCG日の血中E2およびP濃度, 卵胞数, 平均卵胞径, 平均卵胞液量, 卵胞液量が4ml以上であった卵胞の割合(卵胞液量割合)を説明変数としてSPANを行った。SPANは標本を良質胚の割合の高いグループと低いグループの2グループに分割する方法である。すなわち, 良質胚数の割合について2グループ間の差をできるだけ大きく

するような分割を探索し、得られたグループの特徴を説明変数に基づいて記述する方法である。SPANを行った結果、良質胚数の割合が高かったグループの特徴は、（緊急採卵周期かつ卵胞数 $\leq 10$ ）または（hCG日の血中E2値 $\leq 2000\text{pg/ml}$ かつ卵胞液量割合 $\leq 0.5$ ）であった。良質胚数の割合が低かったグループの特徴は、（P上昇周期かつhCG日の血中E2値 $> 2000\text{pg/ml}$ ）または（P上昇周期かつ卵胞液量割合 $> 0.5$ ）または（hCG日の血中E2値 $> 2000\text{pg/ml}$ かつ卵胞液量割合 $> 0.5$ ）または（卵胞数 $> 10$ かつ卵胞液量割合 $> 0.5$ ）であった（図1）。これら2群間の良質胚数の割合には有意な差がみられた（ $p$ 値=0.0310）。この成績から、P上昇がみられた場合は緊急採卵を行い、卵胞数は10個以内、hCG日の血中E2値は $2000\text{pg/ml}$ 以下、卵胞液量割合は0.5以下にすることが良質胚の割合を増加させ、ひいては妊娠率の向上に繋がることが示唆された。

### 考察

体外受精・胚移植の卵巣刺激周期においては、卵胞期に血中Pが軽度上昇する周期が存在し、その周期では妊娠成績が低下することを見出した<sup>2)</sup>。血中P濃度の上昇は受精卵の形態学的スコアリングの低下と関連することから、卵胞の早期黄体化にともなう卵子の質低下を反映するものと考えられる<sup>3)</sup>。また、血中P濃度の上昇は子宮内膜の胚受容能にも影響を及ぼすことが示唆されている<sup>4)</sup>。血中P濃度の上昇がみられた周期では、可及的速やかに採卵をすることで卵の質と妊娠成績の低下を回避できることを報告した<sup>1)</sup>。本研究では、P上昇あるいはP非上昇周期における採卵前後の観察項目を用いて統計学的解析を行い、いずれの因子が体外受精成績に最も寄与するかを知ることを目的とした。その結果、発育卵胞数が多いことは有利であるが、一方で、P上昇がおりやすく妊娠率が低化する周期が存在すること、妊娠率の向上には形態学的良質胚を得ることが重要であり、血中Pが上昇した際には発育卵胞数を10以内に抑えた方が良質胚の割合が高くなることが示された。

体外受精・胚移植の妊娠率は移植胚数が多くなるに伴って上昇することが知られており、従来、体外受精周期の卵巣刺激はできるだけ多数の卵子を得ることを目的として行われてきた。採卵数が多くなると分割卵数は増加し、結果として移植可能胚数も増加することが本研究結果からも示されている。しかしながら、P上昇周期においては採卵数が多いにも拘わらず、成熟卵数、分割卵数ならびに移植胚数は少なくなることが明らかとなり、ただ単に卵胞数を増加させるだけでは妊娠率の向上に結びつかないことが示された。発育卵胞数の多い刺激周期では血中Pを測定し、P濃度が $1.0\text{ ng/ml}$ を越えて上昇する際には、従来の卵胞径を基準としたhCGの投与の時期よりも早めにhCG注射を行うことで、発育卵胞数を最も適切な10個以内に調節することが可能となるものと考えられた。

## 提言

体外受精を行う際に発育卵胞数が多いことは有利であるが、一方で、血中P上昇がおりやすく妊娠率が低化する周期が存在すること、妊娠率を向上させるためには形態学的良質胚を多数得ることが重要であり、Pが上昇した際には発育卵胞数を10以内に抑える方がよいことが明らかとなった。P上昇が発生した周期においては、hCGの切り換えのタイミングを早めることで発育卵胞数を制御できると考えられた。

## 文献

- 1) T. Harada, C. Katagiri, N. Takao, T. Toda, Y. Mio, N. Terakawa. Altering the timing of human chorionic gonadotropin injection according to serum progesterone (P) concentrations improves embryo quality in cycles with subtle P rise. *Fertil Steril* 65:594-7, 1996.
- 2) Y. Mio, A. Sekijima, T. Iwabe, Y. Onohara, T. Harada, N. Terakawa. Subtle rise in serum progesterone during the follicular phase as a predictor of the outcome of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 58:159-166, 1992.
- 3) Harada T, Yoshida S, Katagiri C, Takao N, Ikenari T, Toda T, Terakawa N. Reduced implantation rate with subtle rise in serum progesterone concentration during the follicular phase of cycles stimulated with a combination of a gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropin. *Hum Reprod* 10:1060-1064, 1995.
- 4) Silverberg KM, Martin M, Olive DL, Burns WN, Schenken RS. Elevated serum progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin administration in in vitro fertilization cycles do not adversely affect embryo quality. *Fertil Steril* 61:508-13, 1994.

表1. 採卵前後の項目による重回帰分析

	採卵数	成熟卵数	分割胚数	4細胞胚数	胚数			移植胚数	妊娠
					G 1	G 2	G 3		
血中E2	0.0054	0.0675	0.0224	NS	NS	NS	NS	NS	0.0025
血中P	0.0294	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
卵胞数	0.0010	0.0004	0.0001	0.0008	NS	0.0015	NS	0.0001	NS
平均卵胞径	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
最大卵胞径	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS : not significant

表2. 採卵後の観察項目と妊娠成績（1）

	規準化回帰係数	p値
採卵数	1.3479	0.1771
成熟卵数	0.6856	0.4933
分割卵数	1.8232	0.0683
4細胞胚数	2.4728	0.0135
G 1 胚数	2.7014	0.0069
G 2 胚数	1.3856	0.1660
G 3 胚数	2.6342	0.0113
G 4 胚数	-1.5049	0.1321
G 5 胚数	-0.9464	0.3439
移植胚数	2.2683	0.0233

単一変量のロジスティック単回帰分析

表3. 採卵後の観察項目と妊娠成績（2）

	回帰係数	カイ 2 乗統計量	標準誤差	p 値
切片	-2.579			
分割卵数	-0.112	0.145	0.596	0.440
4 細胞胚数	0.134	0.149	0.808	0.369
G 1 胚数	0.286	0.160	3.194	0.074
G 3 胚数	0.362	0.235	2.369	0.124
移植胚数	0.175	0.216	0.656	0.418

ロジスティック重回帰分析

表4. P 上昇, 緊急採卵, P 非上昇周期間での比較検討

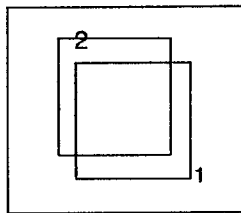
	P 非上昇 vs 緊急採卵	P 非上昇 vs P 上昇	緊急採卵 vs P 上昇
血中E2	0.020	0.001	NS
血中P	0.000	0.000	NS
卵胞数	0.016	0.002	NS
平均卵胞径	0.000	NS	0.000
採卵数	0.039	0.008	NS
成熟卵数	NS	0.050	NS
分割卵数	NS	0.016	NS
4 細胞胚数	NS	NS	NS
G 1 胚数	NS	NS	NS
G 2 胚数	NS	NS	NS
G 3 胚数	NS	NS	NS
G 4 胚数	NS	0.009	0.095
G 5 胚数	NS	0.004	0.068
移植胚数	NS	0.023	NS
着床数	0.0726	NS	0.0879

NS: not significant



図 1. P上昇周期と緊急採卵周期における  
Search Partition Analysis

良質胚の割合が高かったグループ

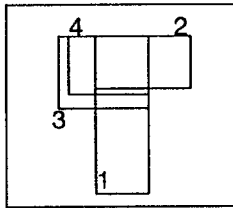


14例

良質胚数の割合の平均 : 0.755

- 1 : 緊急採卵周期かつ卵胞数  $\leq 10$
- 2 : hCG日のE2  $\leq 2000$ pg/mlかつ 卵胞液量が  
4ml以上の卵胞の割合(卵胞液量割合)  $\leq 0.5$

良質胚の割合が低かったグループ



18例

良質胚数の割合の平均 : 0.486

- 1 : P上昇周期かつhCG日のE2  $> 2000$ pg/ml
- 2 : P上昇周期かつ卵胞液量割合  $> 0.5$
- 3 : hCG日のE2  $> 2000$ pg/mlかつ卵胞液量割合  $> 0.5$
- 4 : 卵胞数  $> 10$ かつ 卵胞液量  $> 0.5$

2グループ間の良質胚数の割合の比較  $p=0.0310$



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約: 体外受精・胚移植のための卵巣刺激周期においては、卵胞期に血中プロゲステロン(P)が軽度上昇する周期が存在し、その周期では妊娠成績が低下することを見出した。血中P濃度の上昇がみられた際には、可及的速やかに採卵を行うことで卵の質と妊娠成績の低下を回避できることも明らかとなっている。本研究では、P非上昇あるいはP上昇周期について後方視的に検討を加え、統計学的解析を行って体外受精成績に最も関与する因子を同定し、妊娠率向上のための卵胞期管理に役立てることを目的とした。GnRHa-hMG-hCGを用いてIVF-ETを施行した110症例124周期を対象とした。卵胞期P上昇(>1.0ng/ml)を認めたが、従来の規準に基づいてhCGを投与を行った周期をP上昇周期、P上昇後に可及的速やかにhCG投与を行った周期を緊急採卵周期、P上昇を認めなかった周期をP非上昇周期とした。採卵前の観察項目を説明変数とし、採卵数、成熟卵数、分割卵数、4細胞胚数、移植胚数、着床数、妊娠の有無を応答変数として採卵前後における各変数の関係を重回帰分析すると、体外受精成績に影響を及ぼすのは血中E2およびP濃度と卵胞数であった。採卵後の観察項目について妊娠の有無を応答とするロジスティック単回帰分析を行うと、4細胞胚数、G1胚数、G3胚数、移植胚数が妊娠成績と関連することが示された。妊娠と関連があった複数の項目を用いたロジスティック重回帰分析を行うと、妊娠に最も関連するのはG1胚数であった。P非上昇周期、P上昇周期、緊急採卵周期の3群間において、採卵前後の観察項目をWilcoxon順位検定によって比較検討した結果、P上昇周期では血中E2およびP濃度は高く、卵胞数、採卵数が多いにも拘わらず、成熟卵数、分割卵数、移植胚数は少なく、着床数も少ないことが明らかとなった。G1+G2+G3胚数を良質胚数とすると、分割卵の中に占める良質胚の割合が着床の有無に寄与することが判明した。妊娠率が高い周期はどのような特徴を持つかを知るために、P上昇周期と緊急採卵周期を対象としてSearch partition analysisを行った。その結果、良質胚数の割合が高かったグループの特徴は、(緊急採卵周期かつ卵胞数 $\leq 10$ )または(hCG日の血中E2値 $\leq 2000$ pg/mlかつ卵胞液量割合 $\leq 0.5$ )であった。良質胚数の割合が低かったグループの特徴は、(P上昇周期かつhCG日の血中E2値 $>2000$ pg/ml)または(P上昇周期かつ卵胞液量割合 $>0.5$ )または(hCG日の血中E2値 $>2000$ pg/mlかつ卵胞液量割合 $>0.5$ )または(卵胞数 $>10$ かつ卵胞液量割合 $>0.5$ )であった。P上昇周期と緊急採卵周期の間で良質胚数の割合に有意な差がみられた(p値=0.0310)。今回の検討から、体外受精を行う際に発育卵胞数が多いことは有利であるが、一方で、P上昇がおりやすく妊娠率が低化する周期が存在すること、妊娠率を向上させるためには形態学的良質胚を多数得ることが重要であり、血中Pが上昇した際には発育卵胞数を10以内に抑えた方が良いことが示された。P上昇が発生した周期では、hCGの切り換えのタイミングを早めることで発育卵胞数を制御できると考えられた。