

平成6年度 厚生省心身障害研究  
「多胎妊娠の管理及びケアに関する研究」

多胎妊娠の予防に関する研究  
分担研究：生殖補助医療技術の改善による多胎防止の研究  
分担研究者：寺尾 俊彦

研究協力者 群馬大学医学部  
伊吹令人

「体外受精胚における多胎防止のための卵胞発育モニター法および胚移植法の研究」

要約： 体外受精胚移植の多胎防止としては、確実に着床し、発生し健常生児になるための卵の育生と移植する良好胚の選択であり、理想的には、1個だけ胚を子宮に戻せば良い。

しかし、現在のところ体外受精胚移植において、胚一個当たりの着床率は低い。これは、受精した卵子の質も皆均一ではなく、胚の質にはかなりバラつきがあることを示している。また胚の質は形態学的観察のみでは診断できないためでもある。

胚移植可能となる良好卵を多く採取することが出来れば、2個以下の少数卵を胚移植する機会が増えることになり、多胎を防止するとともに妊娠の機会を増やすことが可能となる。そこで我々は良好卵を多く採取するための卵胞発育モニター法や、poor responderから良好な卵子を採取するための卵胞発育モニター法の検討および多胎妊娠の早期診断について我々が行った研究の総括と欧米ならびに日本における文献的考察を行なった。インヒビン、E2、progesterone, FSH, LHのホルモン測定は卵の質の向上、多胎防止のために役立ち、多胎の早期診断にインヒビン、hCG、E2、progesterone, FSH, LHの他胎盤蛋白の測定も有用であり今後この方面での研究が期待される。

見出し語：体外受精胚移植 (IVF-ET)、卵の質、ホルモン測定

研究方法：群馬大学において現在までに行った研究の総括とMEDLINEを中心とした1988年より1994年までの欧米ならびに日本における関連論文による分析。

結果： 群馬大学における現在までの体外受精胚治療から以下の結果がえられている。(文献1-7参照)

患者とIVF-ET治療

卵巣刺激を行った370治療周期を検討対象とした。卵巣刺激はhMG単独投与群36周期、pFSH+hMG投与群55周期、pFSH単独投与群18周期、GnRHa+hMG投与群261周期であった。pFSHまたはhMGを月経周期3日目、4日目には300IU使用した。月経周期5日目からは、pFSHまたはhMGの投与量を、超音波で計測した卵胞径と血中エストラジオール(E2)値で調節し、1日75-450IUのhMGを使用した。GnRHaはshort protocolに従い、月経周期1日目より300 $\mu$ gずつ1日2回、経鼻噴霧で投与を行った。超音波による測定で直径が16ミリ以上に2個の卵胞が発育し、血中のE2が1000pg/mlに達した時点で、hMG投与は中止し、全ての患者にhCG 10000iuを筋注した。hCG注射後34

時間から36時間後に超音波下の卵胞穿刺術を行ない採卵した。

## 卵胞期初期

### A. hMG/hCG周期

#### 1 卵胞期初期のFSH値

初期FSH値が卵巣刺激に対する低反応群を予想するのに重要な役割を果たすことは、Tonerによって報告されている（文献8参照）。我々の研究におけるhMG/hCG投与群でも、初期FSH値と採卵数には逆相関が認められた。しかし、患者個々でみると初期FSH値は月経周期ごとに変動がみられた。特に月経周期2日目の患者個々のFSH値のばらつきは大きい。

#### 2 インヒビン値とE2値の上昇

患者は月経周期の3日目からhMG300iuを筋注し、インヒビン値とE2値の濃度を投与前と投与24時間後で比較した。E2値の月経周期3日目から4日目への上昇値と採卵数の間には相関が認められた。インヒビン値の月経周期3日目から4日目への上昇値と採卵数の間にも相関が認められた。

#### 3 ホルモンのAcceleration index

ホルモンのAcceleration indexとは、測定したホルモン値の最大値の半分の値を越えた刺激開始日からの日数を、最大値を示した日数で除したものである。指数が1に近ければ卵胞期後半でのホルモン値の上昇が急であることを意味する。インヒビンの指数と採卵数の間には有意の正の相関が認められ、E2の指数と採卵数の間にも正の相関が認められた。

### B. GnRHa周期

GnRHaをIVF-ETに臨床応用するに当たっては、short protocolではアナログ投与初期に起こる内因性のゴナドトロピン初期放出を利用している。続いて月経周期3日目から投与されるhMGまたはpFSHによって、さらにその血中のゴナドトロピンは高レベルに維持される。一方、アナログ投与の継続で脳下垂体のdesensitizationが起り、エストロゲンによって引き起こされるLHサージは回避される。GnRHaアゴニストによって引き起こされた内因性のゴナドトロピンの増加と、引き続いておこる脳下垂体の抑制によって、short protocolでは使用するゴナドトロピン製剤がlong protocolに比較して少なく、かつ自然排卵やpremature luteinizationを防ぐことが出来る。

GnRHa投与群での月経周期2日目の血中FSH値の平均は他の群に較べて有意に高い。これはGnRHaによる血中FSHのFlare upである。

hMG投与の始まる月経周期3日目からもGnRHa投与群で血中FSH値の平均は他の群に較べて高い。著明な血中FSH値のFlare upが認められ、高い血中FSH濃度が継続する。

#### 1 卵胞期初期のFSH値

short protocolでは初期FSH値は卵巣刺激に対する反応の指標としては使用できない。初期FSH値と月経周期3日目のFSH値にも採卵数とは有意な相関関係は認められなかった。

#### 2 インヒビン値とE2値の上昇

E2値の月経周期3日目から4日目への上昇値と10mm経以上の卵胞数、14mm以上の卵胞数、採卵数、受精卵数の間には正の相関関係が認められた。インヒビン値の月経周期3日目から4日目への上昇値と10mm以上の卵胞数、14mm以上の卵胞

数, 採卵数, 受精卵数の間には正の相関関係が認められた.

### 3 ホルモンのAcceleration index

インヒビンの指数と採卵数の間には正の相関関係が認められた. しかし, E2の指数との間には有意な相関関係はなかった.

#### 卵胞期の後期

##### E2のピークとインヒビンのピークの関係

IVF-E Tにおいて最も重要な要素のひとつは卵巣刺激周期における採卵のタイミング決定である. E2に比べインヒビンの産生および分泌はより直接的に卵巣顆粒膜細胞の機能を反映していると考えられているため, IVF-E T目的の卵巣刺激周期の卵胞期血中E2値とインヒビン値を測定し, その反応パターンとIVF-E Tの成績との関連を検討した.

卵巣刺激中のE2の反応パターンは, EH(-1): E2のピーク形成がhCG投与日の前日に認められた群, EH(0): E2のピーク形成がhCG投与日に認められた群とEH(+1): E2のピーク形成がhCG投与日の翌日に認められた群の3群に分類された. インヒビンの反応パターンは, IH(-2): インヒビンのピーク形成がhCG投与日の2日前に認められた群, IH(-1): インヒビンのピーク形成がhCG投与日の前日に認められた群, IH(0): インヒビンのピーク形成がhCG投与日に認められた群およびIH(+1): インヒビンのピーク形成がhCG投与日の翌日に認められた群の4群に分類可能であった. E2とインヒビンの相互の反応パターンはEI(-1): E2のピーク形成がインヒビンのピーク形成日の前日に認められた群, EI(0): E2のピーク形成がインヒビンのピーク形成日に認められた群, EI(+1): E2のピーク形成がインヒビンのピーク形成日の翌日に認められた群およびEI(+2): E2のピーク形成がインヒビンのピーク形成日の2日後に認められた群の4群に分類された.

##### 分類とIVF-E Tの結果

1. E2の反応パターン別IVF-E Tの結果. EH(0)群は他の群に比較して採卵数, 受精卵数および分割卵数が有意に多かった.

2. インヒビンの反応パターン別IVF-E Tの結果. IH(-1)群はIH(+1)群より有意に採卵数, 受精卵数および分割卵数が多かった. またIH(-1)群はIH(+1)群よりも患者の平均年齢が有意に若かった.

3. E2とインヒビンの相互の反応パターン別IVF-E Tの結果. EI(+1)群はEI(-1)群およびEI(0)群よりも有意に採卵数, 受精卵数と分割卵数が多かった.

4. E2とインヒビンの反応パターン別のLHとP値. hCG投与前日とhCG投与当日のLHはEH(-1)群がEH(+1)群よりも有意に高値を示した. PはhCG投与当日においてEH(-1)群がEH(+1)群よりも有意に高値を示した. hCG投与2日前とhCG投与前日においてIH(-1)群のLHとP値は他の群よりも有意に高値を示した.

実際の臨床への応用としては, hCG投与のタイミングはインヒビンのピーク形成を捉えるべくインヒビン値の測定を卵胞期後期に一日2回ないし3回行って決定し, より多くの成熟卵を採取するという方法が考えられる.

## 卵胞期の高齢婦人群の卵巣刺激に対するホルモンの反応

妊孕性は加齢とともに低下する。日本の女性の調査では、最も出生率の高い25-29歳の女性群の146.4から、40-45歳の女性群では2.4にまで低下する。出生率を決定する大きな二つの要素は受精率と流産率である。

自然の妊娠率の低下、ART治療の著明な治療成功率の低下が40歳以上の女性に認められることから、妊娠を望む者は早期に治療を受け対処する事が望まれる。特に40歳から50歳にかけて急激に妊孕性は低下するので高齢婦人では早急な対策と治療が望まれる。十分な不妊症検査を出来るだけ早く行い、異常が見つければ早急に治療されなければならない。そのような患者が妊娠に至らなければ、ARTによる治療を躊躇無く行う必要がある。

我々はIVF-ET治療における卵巣刺激に対する反応を年齢群別にインヒビン、E2の推移で比較した。

### 1) 月経開始日を基準とした卵巣刺激中の血中インヒビンの推移

36歳以上の年齢群では月経周期4日目から10日目にかけて有意に血中インヒビン値が低かった。血中インヒビン測定によって月経周期の早期から卵巣機能の低下を予測できる可能性がある。

### 2) hCG投与日を基準とした卵巣刺激中の血中インヒビンの推移

hCG投与日をDay0とすると、36歳以上の年齢群ではDay-4, Day-2, Day-1, Day0で有意にインヒビンが低値を示した。

### 3) 月経開始日を基準とした卵巣刺激中の血中E2の推移

36歳以上の年齢群では月経周期7日目から10日目にかけてのみ有意にE2値が低かった。

### 4) hCG投与日を基準とした卵巣刺激中の血中E2の推移

36歳以上の年齢群ではDay-1, Day0, Day+1で有意にE2値が低値を示した。

卵巣機能に対する加齢の影響を見ると、E2よりインヒビンの分泌に影響が大きい。卵巣刺激中にはE2値とインヒビン値は平行して著明に増加し、その値には相互に相関があるが、36歳以上の年齢群ではインヒビンの分泌の反応の方が有意に不良で、E2の分泌に対する影響は少なかった。この研究を基にした高年齢の卵のqualityの研究は、年齢が高い患者における、多胎を防止しながら妊娠率を低下させない移植胚数の決定に資料を提供できることが期待される。

多胎妊娠予防の主目的は母児の安全性を高めることにあり、多胎妊娠を予防することができなくても早期に診断することは周産期管理上非常に重要である。

将来わが国で品胎以上の多胎の減数手術が可能になった場合等を含め、多胎妊娠の早期診断および予後予測法の確立は重要となる。そこで我々は多胎妊娠の早期診断法につき検討した。

### 1 採卵後の血中インヒビン

ヒトの黄体期に分泌されるインヒビン量を知ることは、黄体機能不全を予測し、治療する上で重要である。黄体期に分泌される血中インヒビン値と多胎妊娠と単胎妊娠では、血中インヒビン量は多胎妊娠で有意に高かった。このことから初期胎芽のtrophoblast機能を示す指標として血中インヒビン値が有用であることが示唆された。

### 2 採卵後の血中βhCG

血中βhCG値は双胎妊娠では単胎妊娠に較べ、採卵日8日目から21日目に向け

て有意に高い。しかし、単胎妊娠では血中 $\beta$ hCG値が胎児が順調に発育している妊娠の方が、流産症例や子宮外妊娠例より有意に高いのは採卵後21日目だけであった。

同様な着床早期の妊娠予後診断、多胎診断が文献7-11でなされておりその他E2、progesterone,FSH,LHの他胎盤蛋白の測定も有用であるとの報告がなされている。

考察： GnRHaを用いたshort protocolでは卵胞期初期のFSH値は卵胞の発育を予測する上では役立たない。それは、Flare up効果によるFSH値の上昇があるためである。ところがインヒビンは卵胞の発育を予測する上で有用な指標となる可能性がある。

卵胞期初期にhMGを投与し始めてからのE2とインヒビンの上昇率がIVF-ETの結果を占うのに重要な要素となる。卵胞期後半のインヒビンの上昇指数はE2のそれと比べて、採卵数を予想する上でより信頼できる情報を与えてくれる。妊娠していない女性ではインヒビン分泌は顆粒膜細胞で行われる。一方、E2の産生と分泌はより複雑な機構、すなわち、LHの作用で莢膜間質細胞はアンドロゲンを分泌し、顆粒膜細胞中で、芳香化されエストロゲンになるなど、広範な要因に影響されていると考えられる。

卵巣刺激治療中のインヒビン値は患者の加齢により、卵巣機能及び妊孕性が低下することを示す有用な指標であろう。

そのほかインヒビンのIVF-ETへの応用として、卵胞液中のインヒビンと卵の成熟相関を見た研究もみられる。

卵子の成熟を、卵子に障害を与えずに予測することは、今後の体外受精-胚移植の成功率を高める上で重要である。その1つの方法として、卵胞液中のホルモンを測定する試みを行なった。卵胞液中のインヒビン、E2、プロゲステロン、を測定し、卵胞径の大きさとインヒビンの値は正の相関を示した。さらにインヒビン値はE2とプロゲステロン値と相関していた。若年婦人に比べて高年齢婦人になると卵胞液中のインヒビン、E2、プロゲステロンは低下傾向を示し、E2/Pは逆に高くなる。これはインヒビンとE2の生成は異なったメカニズムでコントロールされており、加齢により過排卵刺激によるインヒビン産生が変化することを示している。これらのことは卵胞液中のインヒビン測定が顆粒膜細胞の働きや卵胞成熟の指標となりうることを示唆するものと考えられる。

以上により卵胞期初期では、血中のインヒビン値はその後の卵胞発育を予想する上で有用な指標と成りうることを示しており、また卵巣刺激中の血中インヒビンの反応はE2に比べて、加齢による卵巣機能の低下を敏感にしかも早期に示すものである。この様にインヒビン測定は不妊症治療の結果を予測する重要な要素であり、体外受精胚移植において多胎妊娠予防にも役立つことが期待される。

文献：

(1) 関 守利, 土屋清志, 伊藤 理廣, 竹内 巧, 伊藤 郁朗, 篠崎 博光, 山田清彦, 伊吹 令人, 五十嵐 正雄

妊娠率向上のための各種卵巣刺激法の検討

日本受精着床学会雑誌 Vol.7 No.1 PP84-87 1990

(2) 関 守利, 土屋清志, 伊藤理廣, 竹内 巧, 五十嵐正雄

体外受精の進歩-卵胞発育刺激法

日本外科系連合学会誌 第19号 P152-154,1988

- (3) 関 守利, 土屋清志, 伊藤 理廣, 竹内 巧, 伊藤 郁朗, 篠崎 博光, 山田清彦, 伊吹 令人, 五十嵐 正雄  
妊娠(採卵)不良群における卵胞発育刺激法の妊娠率向上のための工夫  
-とくにPOOR RESPONDERを中心として-  
日本受精着床学会雑誌 Vol.8 No.1 PP38-43 1991
- (4) 関 守利, 土屋清志, 伊藤 理廣, 竹内 巧, 伊吹 令人, 五十嵐 正雄  
IVF-ETと卵の発育  
第23回 日本医学会総会誌 P.333, 1991
- (5) Takeuchi, T., Seki, M., Hasegawa, Y. Tsuchiya, K., Itoh, M. Itoh, I., Shinozaki, H., Ibuki, Y. and Igarashi, M.  
Role of serum inhibin assay in hyperstimulation for in vitro fertilization and embryo transfer.  
Fertilitat 8: pp.216-222. 1992
- (6) Takeuchi, T., Seki, M., Hasegawa, Y., Tsuchiya, K., Itoh, M., Itoh, I., Shinozaki, H., Jujo, T., Ibuki, Y. and Igarashi, M.  
Further observations on serial serum immunoreactive inhibin levels in the luteal phase and early gestation after ovarian stimulation for in vitro fertilization and embryo transfer.  
Hormone Research 37(suppl 1): 69-74 1992
- (7) M. Seki, K. Tsuchiya, M. Ito, et al:  
Role of inhibin assay during follicular stimulation for in vitro fertilization.  
Sero Symposia Reviews, Perspectives on assisted reproduction. Ed. T Mori et al. pp449-455 1994
- (8) Toner-JP  
The significance of elevated FSH for reproductive function.  
Baillieres-Clin-Obstet-Gynaecol. Jun; 7(2): 283-95. 1993
- (9) Yokkaichiya-T; Polson-DW; Hughes-EG; MacLachlan-V; Robertson-DM; Healy-DL; de-Kretser-DM  
Serum immunoactive inhibin levels in early pregnancy after in vitro fertilization and embryo transfer.  
Fertil-Steril. May; 59(5): 1081-9. 1993
- (10) Johnson-MR; Riddle-AF; Grudzinskas-JG; Sharma-V; Campbell-S; Collins-WP; Lightman-SL; Mason-B; Nicolaidis-KH  
Endocrinology of in-vitro fertilization pregnancies during the first trimester.  
Hum-Reprod. Feb; 8(2): 316-22. 1993
- (11) Norman-RJ; Warnes-GM; Segal-S; McLoughlin-J; Matthews-CD  
Decrease in luteal gonadotropin concentration in conception cycles after in vitro fertilization/gamete intrafallopian transfer.  
Fertil-Steril. Jan; 55(1): 125-30. 1991



## 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:体外受精胚移植の多胎防止としては、確実に着床し、発生し健常生児になるための卵の育生と移植する良好胚の選択であり、理想的には、1個だけ胚を子宮に戻せば良い。しかし、現在のところ体外受精胚移植において、胚一個当たりの着床率は低い。これは、受精した卵子の質も皆均一ではなく、胚の質にはかなりバラつきがあることを示している。また胚の質は形態学的観察のみでは診断できないためでもある。

胚移植可能となる良好卵を多く採取することが出来れば、2個以下の少数卵を胚移植する機会が増えることになり、多胎を防止するとともに妊娠の機会を増やすことが可能となる。そこで我々は良好卵を多く採取するための卵胞発育モニター法や、poor responder から良好な卵子を採取するための卵胞発育モニター法の検討および多胎妊娠の早期診断について我々が行った研究の総括と欧米ならびに日本における文献的考察を行なった。インヒビン、E2、progesterone, FSH, LH のホルモン測定は卵の質の向上、多胎防止のために役立ち、多胎の早期診断にインヒビン、hCG、E2、progesterone, FSH, LH の他胎盤蛋白の測定も有用であり今後この方面での研究が期待される。