

平成7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」

体外受精胚移植における多胎防止のための解凍胚移植法の研究
(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 群馬大学医学部産科婦人科学教室

伊吹令人

関 守利

竹内 巧

要約：体外受精胚移植における多胎妊娠は、移植する胚を制限することにより確実に予防することが可能である。しかしながら患者の身体的、経済的負担を考慮した場合、妊娠率を低下させることなく、1回の採卵で得られた貴重な卵・胚を有効に利用しなければならない。以上の2点を満足させ得る現存する方法は、余剰卵の凍結保存およびその解凍移植である。そこで当教室での胚の凍結保存導入による多胎妊娠の予防ならびに採卵あたりの妊娠成績の改善効果を検討した。その結果、凍結保存を導入した前後で多胎妊娠率は減少し、また凍結保存導入前はみられた品胎以上の多胎妊娠が凍結保存導入後は現在まで1周期もみられていない。また余剰卵を凍結保存し得た採卵周期のうち新鮮胚移植周期に27.50%が、解凍胚移植周期に26.19%が妊娠にいたり、採卵あたり計45.85%の高い妊娠率が得られた。品胎以上の多胎妊娠が現在まで発症していない点と採卵あたりの妊娠率の改善がみられたことから、凍結保存解凍胚移植は体外受精胚移植において多胎防止のために有益であると結論できる。

見出し語：体外受精胚移植，多胎妊娠，解凍胚移植

緒言：胚の凍結保存および解凍移植には、移植する新鮮胚の個数を制限することによる多胎妊娠の防止効果があると従来より報告されているが、他に患者負担の軽減、採卵周期あたりの妊娠率の向上、卵巣刺激周期以外の周期に胚移植するために着床期の子宮環境の改善が得られること、および卵巣過剰刺激症候群の重症化の予防といった効果も合わせ持つ。そこでこの様な効果を当教室の成績と日産婦の委員会報告をもとに評価し、また当教室の研究成果である新しい解凍胚移植法の成績についても報告する。

研究方法：胚の凍結保存による多胎妊娠の予防効果について当教室における凍結保存導入以前の1984年から1992年6月までの採卵周期737例をコントロールとし、凍結保存導入以後の1992年7月から1995年3月までの採卵周期455例の成績を検討し、文献的考察もあわせて行った。

結果：

1. 胚の凍結保存導入による多胎妊娠の予防効果。

群馬大学においては平成4年7月以降、胚の凍結保存を導入した。胚の凍結保存導入以前は新鮮胚の移植数を特に制限していなかったが、導入後は形態学的に良好な胚は最大4個あるいは3個までを移植した。良好な胚が得られない場合は、やはり5個以上の胚を移植した。凍結保存の導入前後の妊娠成績は図1に示すように移植胚数の増加により凍結保存の導入に関わらず妊娠率は上昇している。凍結保存の導入前後とも5個までは移植胚の数が増加するほど妊娠成績も良好だった。凍結保存導入後は6個以上では逆に妊娠率は低下しているが、

これは良好胚が得られなかった場合には質の不良な胚を多数移植したためと考えられる。図2に凍結保存導入前後の多胎分娩率を示す。ここでも移植胚数の増加による多胎率の増加が見られ、凍結保存導入前では胚移植数が6個以上で、多胎率は35%を上回っていた。凍結保存導入後は胚移植数5個までは20%に満たなかった。多胎分娩率を凍結保存の導入前後で比較した結果が表1である。21%の多胎率が凍結保存導入後には解凍胚移植周期も含め12.3%と減少したが、統計学的有意差は認めなかった。しかし、凍結保存の導入後は品胎以上の多胎が現在まで1例も出現しておらず、統計学的に有意に品胎以上の発症率は低下した。これは多胎妊娠の予防として胚の凍結保存による新鮮胚の移植数の制限は効果があったと判断して良いといえる。

一方、全国的な傾向を見るために平成3年から3年分の日産婦の生殖・内分泌委員会による新鮮胚を用いた体外受精胚移植の臨床実施成績の報告を図3、4に示す[1-3]。グラフのように妊娠率は胚移植数が4個までは直線的に伸びているすが、4個以上ではプラトーに達しているといえる。ところが多胎率は移植胚数が増加すればするほど上昇している。全体では平成3年が21.7%、平成4年が16.6%で平成5年が20.0%の妊娠あたりの多胎分娩率で、妊娠率とともにここ3年間、ほぼ横這い状態といえる。当教室の成績と比較すると移植胚数の増加に伴う多胎率の上昇が顕著である。

2. 群馬大学の解凍胚移植法

胚の凍結保存による多胎妊娠の予防効果は、とりもなおさず新鮮胚の移植数を制限することに依る。移植胚数を制限すること自体は容易なことであるが、費用や時間および身体的苦痛など患者の負担を考慮した場合、各々の患者の貴重な卵を有効に活用することを念頭に置いた治療が必要である。そのためには凍結胚の保存は、多胎妊娠を予防し、さらに妊娠成績を改善する手段でなければならない。当教室でも当初は自然排卵周期に解凍胚移植を行っていた。全体として移植あたり16%の妊娠率は日産婦の報告からみても平均的な成績である。しかし、自然周期に行う解凍胚移植は、子宮内膜と解凍胚の同期化が必要なため、LHサージの検出などホルモンの測定や超音波断層法による排卵のモニタリングという点で、患者にとっても医療スタッフにとっても煩雑である。

そのため、当教室では自然排卵周期を有する患者に対してもGnRHaによるdown regulationが得られた後に卵巣ステロイドホルモンを投与して子宮内膜を人工的に発育させた周期に胚移植を行うホルモン補充(HR)周期解凍胚移植を、新しい解凍胚移植法として研究した。

図5はHR周期解凍胚移植のプロトコールを示す。黄体期中期よりブセレリン900 μ g/dayの投与を開始し、down regulationが得られた後、結合型エストロゲン製剤であるプレマリンの投与を開始した。プレマリンは4日間ごとに増量していき、プレマリン投与開始の13日目からプロゲステロンの併用を始めた。day2の胚の場合は14日目に解凍し、1日追加培養にて発育を確認して、15日目に移植を行い、以後2週間後の妊娠判定までプレマリンおよびプロゲステロンは継続投与した。day1の前核期卵の場合は解凍及び胚移植をそれぞれ13日目、14日目とした。この方法ではプレマリンの投与開始が自由に決められるため、患者にとっても我々医療サイドにとっても解凍胚移植の予定がはっきりしていることは大きな利点である。

本法はoocyte donationのプロトコールをもとに開発したものであるが、ことにプレマリンの投与量については未だ確立したものはないため、表2の様に3群に分けて検討した。結果は59胚移植周期中18周期が妊娠にいたり、妊娠率は30.5%と良好な成績が得られた(表3)。プレマリンの投与量による各群の成績の間には有意な差は認められなかったが、これは今後も検討を続ける予定である。また自然周期との成績を比較した結果が表4である。妊娠率に有意差はないが、HR周期解凍胚移植の方が良好な成績であった。

凍結保存の導入の結果、余剰卵の凍結保存ができた120周期中33周期が新鮮胚移植周期で、加えて22周期が解凍胚移植周期で妊娠にいたり、計55周期45.8%の妊娠率が得られた(表5)。この成績は採卵周期あたりの妊娠率の向上という目標も確実に達成されたといえる。

考察：

体外受精胚移植における多胎妊娠の予防という観点から特に重要なのは、移植する新鮮胚数を制限することである。しかしながら患者の負担を考慮した場合、余剰卵を凍結保存して採卵周期とは異なる周期に解凍胚移植を行い、採卵あたりの妊娠率を改善することも同時に必要なことである。そこで当教室で行っている胚の凍結および解凍胚移植法が多胎妊娠の予防ならびに採卵あたりの妊娠率の改善という点で効果があったかどうかを検討した。当教室では凍結保存の導入後は良質の胚の採卵周期の移植は最大4個あるいは3個までとした。その結果、凍結保存を導入した前後で多胎妊娠率を比較してみると導入前に妊娠133周期中28周期、21.05%であった。多胎率では有意差は認めないが、凍結保存の導入後114周期中14周期、12.28%にまで減少した。また凍結保存導入前は品胎以上が6周期あったものが導入後は現在まで1周期もみられず、その発症頻度は有意に低下した。さらに余剰卵を凍結保存し得た採卵周期は120周期ありそのうち新鮮胚移植周期に33周期27.50%が、解凍胚移植周期に84周期中22周期26.19%が妊娠にいたり、採卵あたり計45.85%の高い妊娠率が得られた。周産期管理が特に困難な品胎以上の多胎妊娠が現在まで発症していない点と採卵あたりの妊娠率の改善がみられた当教室の成績からは、凍結保存解凍胚移植は体外受精胚移植において有益であると結論できる。

日産婦の報告によると、体外受精胚移植等の実施施設数は着実に増加してきているが、卵・胚の凍結保存の実施施設数は伸び悩んでいる(図6)[1,4-8]。この背景には未だ解凍胚移植の成績が新鮮胚移植の成績に比べ劣っている点、卵・胚の凍結保存の導入には十分な設備投資とスタッフの確保が必要である点、現在広く応用されている凍結保存法が複雑で長時間を要する点、さらに卵・胚の保存期間や管理といった多くの問題点がある。よって凍結保存の導入を見合わせている施設が多いのであろうと推測できる。では、体外受精胚移植等の配偶子治療を行う場合、卵・胚の凍結保存が必要不可欠なのだろうか？日産婦の報告によれば、新鮮胚を用いた治療の全体の妊娠率は着実に向上してきている一方、妊娠率の増加に伴った多胎妊娠率の増加が近年は見られていないことから、各施設において移植胚数の制限を加えるといった努力がなされていることも示唆される。

移植胚数の制限が多胎妊娠を予防する上で重要であることは、以前から報告されており、当教室の研究成績もそれを裏付けるものであった。しかし、凍結保存が実施されても胚を複数移植することには変りはないために、多胎妊娠は完全には予防することはできない。多胎妊娠の予防のために至適移植胚数を設定する上で重要なのは、胚の viability の正確な評価である。ただ単に移植胚数の上限を決定してしまった場合、viability の低い胚しか採取できない患者は常に妊娠の可能性が低いまま、逆に高い viability の胚が多数採取される患者は常に多胎妊娠の危険性から逃れられないといった問題がある。文献的には胚の個々の評価に加え、移植する胚全ての score 化 (Cumulative embryo score) が多胎妊娠を含めた妊娠予後を高い確率で予測できるという報告がある[9,10]。また着床期初期に複数の胎嚢が確認されても、妊娠経過中に自然に減数することもある[11]。当教室の成績と日産婦の委員会報告とに違いがあるように、個々の患者や個々の施設に適した移植胚数を検討することが妊娠率を犠牲にすることなく、多胎率を抑える上で最も現実的と考えられる。そのためにも胚の viability の正確、迅速で、かつ客観的な評価法の確立の必要性がある。

最後に、体外受精胚移植の成績を維持しながらも多胎妊娠を予防するために重要な手段となる胚の凍結保存の成績改善、および普及に関する今後の課題をまとめると、1) 解凍胚移植周期の子宮環境の改善、2) 凍結保存の簡素化、3) 卵巣過剰刺激症候群の重症化の予防などがあげられる。まず子宮環境の改善であるが、当教室の解凍胚移植成績が比較的良好である点からも着床に関しては子宮環境が重要であることを示しているといえる。当教室の解凍胚移植法の場合、人工的な子宮内膜の発育を促すためのエストロゲン製剤の種類、投与量、投与方法、投与期間をより適した方法で開発する必要がある。近年、着床期の子宮内膜の胚に対する受容能をカラードップラー法を用いて非侵襲的に評価する方法は、今後子宮内膜環境の改善の1つの指標となる可能性を示唆している[12,13]。次に凍結保存の簡素化であるが、最近 vitrification による妊娠成功例が報告されたが[14]、この方法によ

る安全性や妊娠成績が確立されれば、今まで必要とされた設備投資や時間が大幅に縮小され、今後は広く応用される可能性がある。卵巣過剰刺激症候群の重症化は、妊娠周期、特に多胎妊娠周期に多く見られることから多胎妊娠の予防とも密接に関連している。卵巣過剰刺激症候群の High risk 群を選択する基準は未だ確立しているとは言えないが、High risk 周期には新鮮胚を移植せずに、全て凍結保存することによって卵巣過剰刺激症候群の重症化を予防しようとする試みは、現在行いうる重要な方法の1つと考えられる[15-18]。

文献：

- (1) 日本産科婦人科学会理事会内委員会, 平成4年度生殖医学の登録に関する委員会報告(第4報)(平成3年分の臨床実施成績, 平成2年分の治療による出生児の追跡調査成績). 日産婦誌, 1993. 45: p. 397-410.
- (2) 日本産科婦人科学会生殖・内分泌委員会, 日本産科婦人科学会生殖・内分泌委員会報告〔平成5年度 生殖医学登録報告(第5報):平成4年分の臨床実施成績〕. 日産婦誌, 1994. 46: p. 1269-1277.
- (3) 日本産科婦人科学会生殖・内分泌委員会, 日本産科婦人科学会生殖・内分泌委員会報告〔平成6年度 生殖医学登録報告(第6報):平成5年(1993年)分の臨床実施成績—国際統計報告書〕. 日産婦誌, 1995. 47: p. 1199-1218.
- (4) 日本産科婦人科学会理事会内委員会, 生殖医学の登録に関する委員会報告. 日産婦誌, 1990. 42: p. 393-397.
- (5) 日本産科婦人科学会理事会内委員会, 平成2年度生殖医学の登録に関する委員会報告(平成元年分の臨床実施成績と昭和63年末までの治療により出生した児の調査成績). 日産婦誌, 1991. 43: p. 470-476.
- (6) 日本産科婦人科学会理事会内委員会, 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, 1992. 44: p. 449-511.
- (7) 日本産科婦人科学会理事会内委員会, 平成5年度診療・研究に関する倫理委員会報告(平成4年分の体外受精・胚移植等の臨床実施成績). 日産婦誌, 1994. 46: p. 929-933.
- (8) 日本産科婦人科学会理事会内委員会, 平成6年度診療・研究に関する倫理委員会報告(平成5年分の体外受精・胚移植等の臨床実施成績). 日産婦誌, 1995. 47: p. 444-448.
- (9) Steer, C.V., et al., The cumulative embryo score: a predictive embryo scoring technique to select the optimal number of embryos to transfer in an in-vitro fertilization and embryo transfer programme. Hum Reprod, 1992. 7(1): p. 117-119.
- (10) 竹内巧, et al., 判別分析による体外受精胚移植の予後予測. 日本受精着床学会雑誌, 1993. 10(1): p. 27-29.
- (11) 関守利, et al., 体外受精卵卵管内移植による四胎妊娠の一例 体外受精と多胎出現率についての考察. 日産誌, 1989. 41(3): p. 361-364.
- (12) Steer, C.V., et al., The use of transvaginal color flow imaging after in vitro fertilization to identify optimum uterine conditions before embryo transfer. Fertil Steril, 1992. 57(2): p. 372-376.
- (13) Steer, C.V., et al., Vaginal color Doppler assessment of uterine artery impedance correlates with immunohistochemical markers of endometrial receptivity required for the implantation of an embryo. Fertil Steril, 1995. 63(1): p. 101-108.
- (14) 太田信彦, et al., Vitrification 法による胚凍結を用いて妊娠に至った症例. 日本不妊学会誌, 1995. 40(4): p. 259.
- (15) Wada, I., et al., Outcome of treatment subsequent to the elective cryopreservation of all embryos from women at risk of the ovarian hyperstimulation syndrome. Hum Reprod, 1992. 7(7): p. 962-966.
- (16) Wada, I., et al., Does elective cryopreservation of all embryos from women at risk of

ovarian hyperstimulation syndrome reduce the incidence of the condition? [published erratum appears in Br J Obstet Gynaecol 1993 Jun;100(6):535]. Br J Obstet Gynaecol, 1993. 100(3): p. 265-9.

(17) Pattinson, H.A., et al., Outcome of thaw embryo transfer after cryopreservation of all embryos in patients at risk of ovarian hyperstimulation syndrome. Fertil Steril, 1994. 62(6): p. 1192-1196.

(18) Tiitinen, A., et al., The effect of cryopreservation in prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. Br J Obstet Gynaecol, 1995. 102(4): p. 326-329.

Abstract:

A study for preventing multiple pregnancy by cryopreservation of excess embryos in an IVF-ET program.

Yoshito Ibuki, Moritoshi Seki, Takumi Takeuchi

For the purpose of preventing multiple pregnancy in IVF-ET treatment, we observed the effect of cryopreservation of excess embryos. We compared the multiple pregnancy rates between before (period I) and after (period II) the introduction of cryopreservation of excess embryos. We also investigated the efficacy of cryopreserved-thawed embryo transfer in an artificial cycle with controlled preparation of endometrium by down-regulation with GnRHagonist and exogenous hormone replacement. We transferred good quality embryos up to four in period II. The multiple pregnancies occurred in 28/133 (21.05%) and 14/114 (12.28%) cycles in period I and in period II, respectively. In period I, 5 triplets and 1 quadruplet pregnancies were occurred. We successfully reduced the incidence of high number multiple pregnancy (triplet or more) to 0% in period II. A total of 22 pregnancies were established by thawed embryo transfer. The pregnancy rates of thawed embryo transfer were 16% in natural cycles and 30.51% in our newly programmed artificial cycles. Excess embryos were cryopreserved in 120 retrieval cycles, a total of 55 pregnancies were achieved (45.83%), 33 pregnancies from fresh cycles and 22 pregnancies from thawed embryo transfer cycles. We conclude that cryopreserved-thawed embryo transfer protocol especially in our new program is useful for reducing the multiple pregnancy rate and for increasing the cumulative pregnancy rate per retrieval cycles.

Key words: IVF-ET, multiple pregnancy, cryopreserved-thawed embryo transfer.

図1：移植胚数別妊娠率

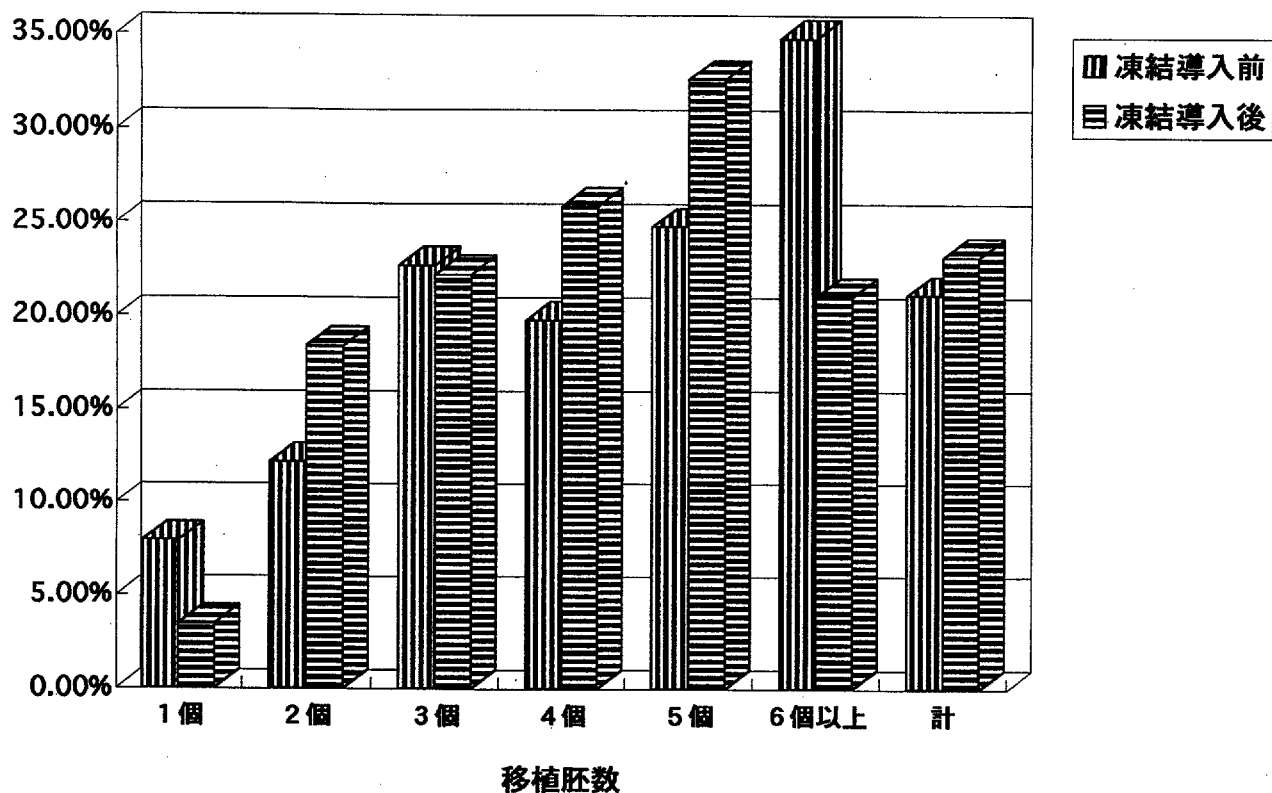


図2：移植胚数別多胎率

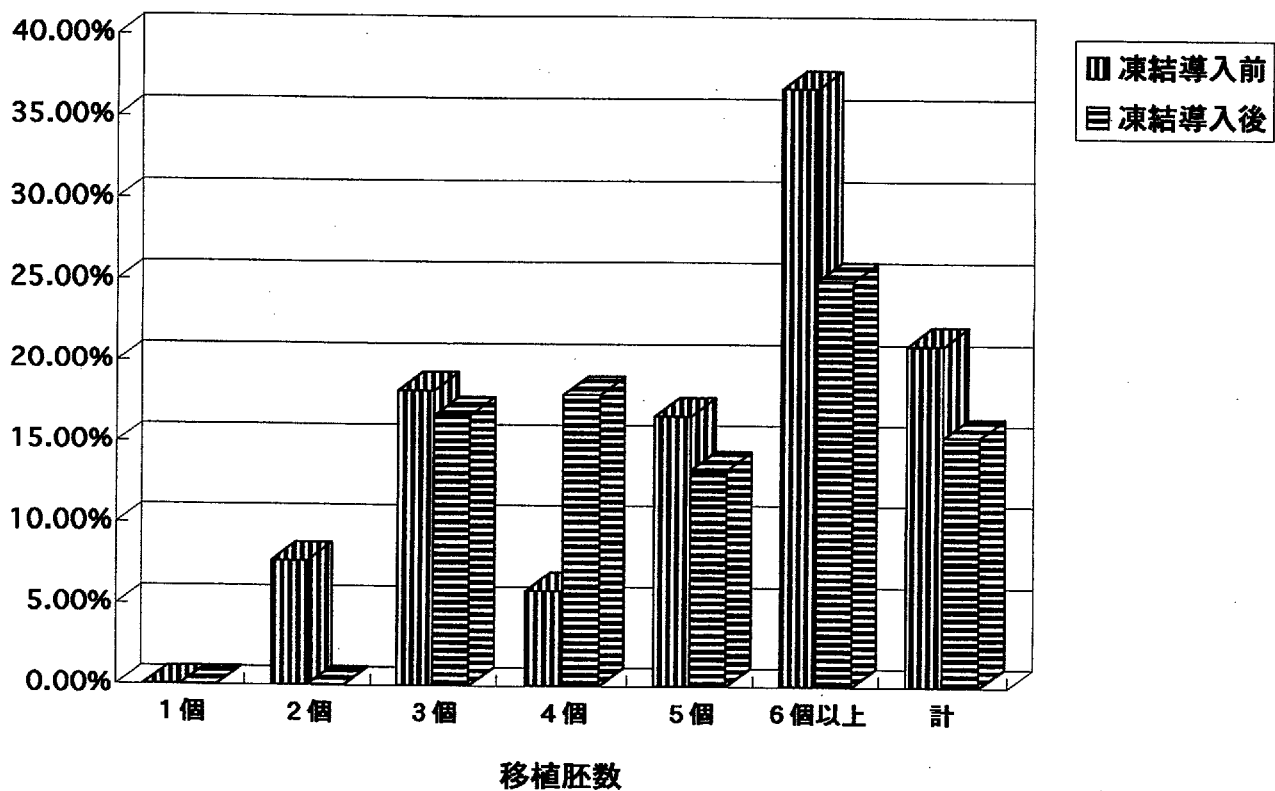


図3：移植胚数別妊娠率の年次推移

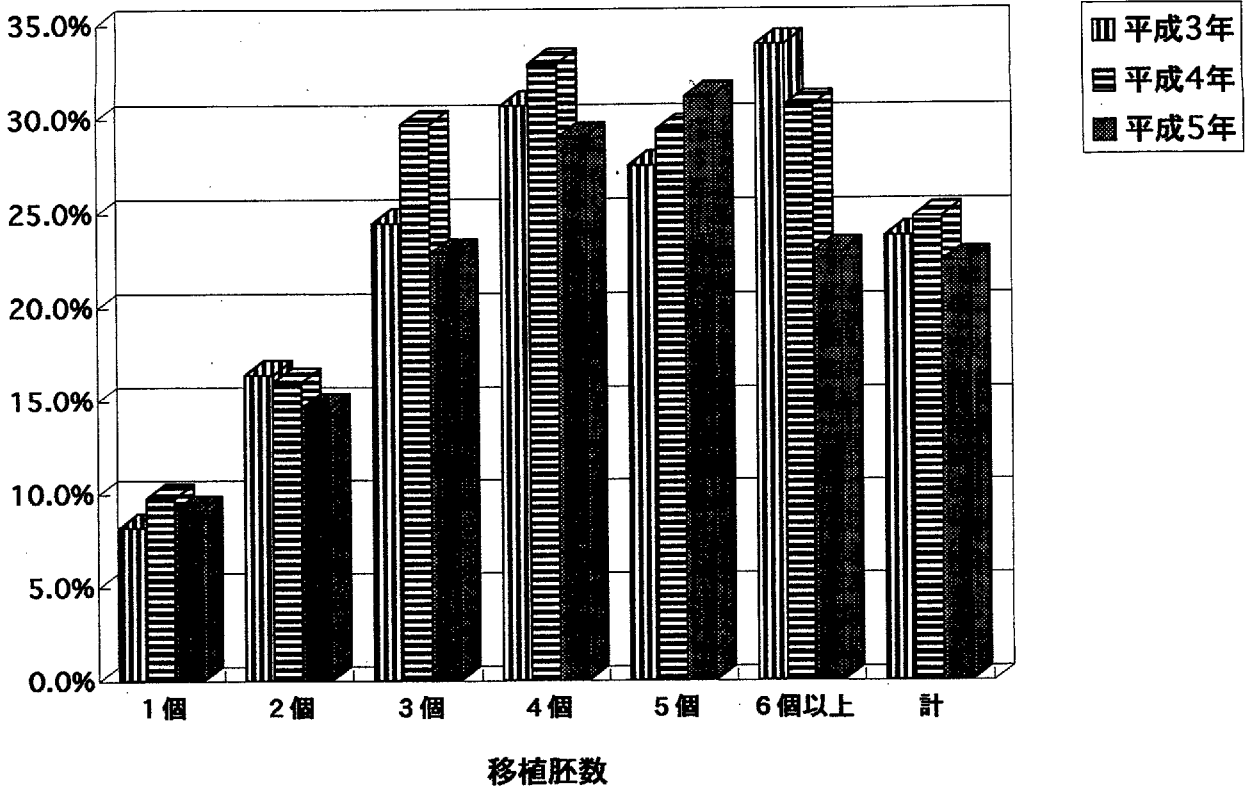


図4：移植胚数別多胎分娩率の年次推移

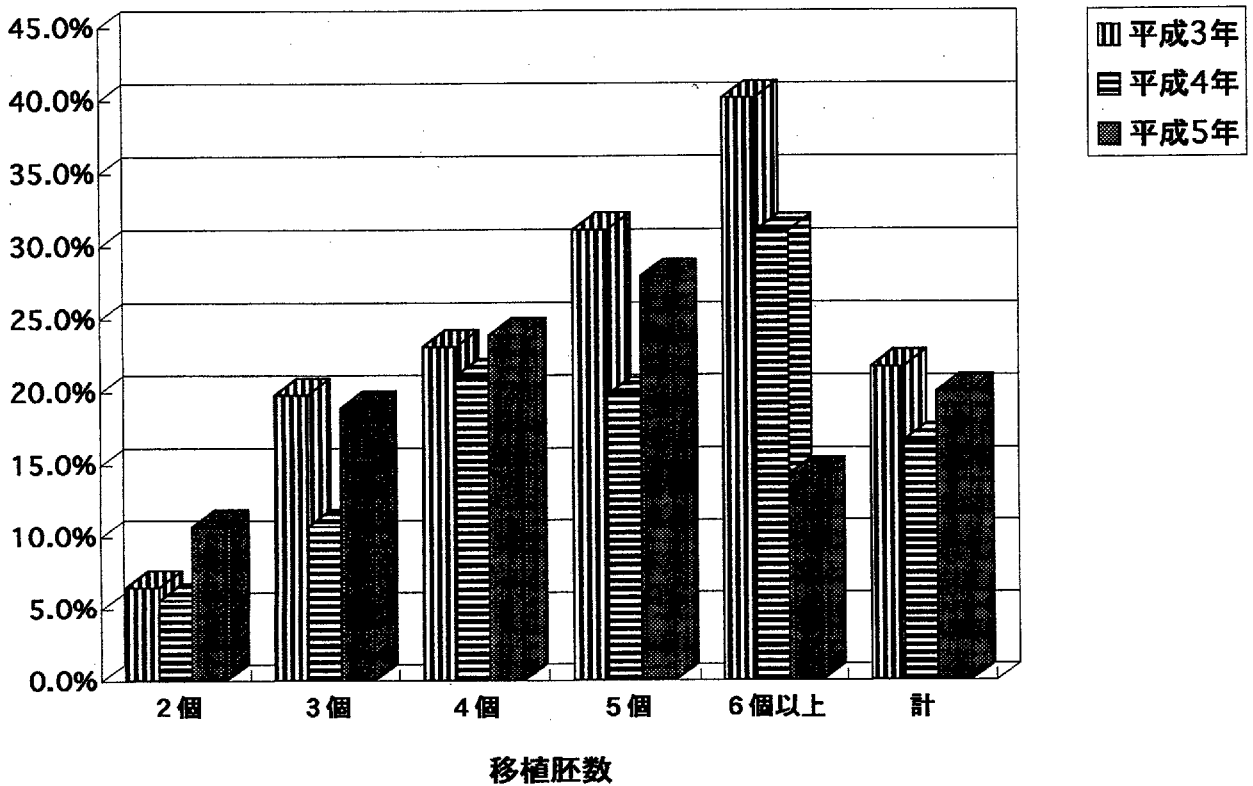
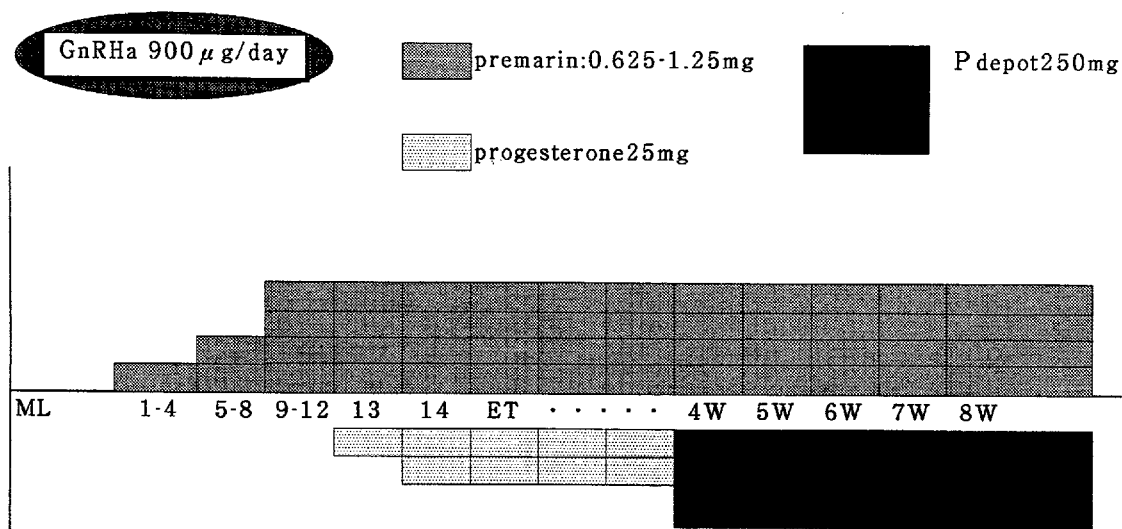


図5 : Down Regulation + HR周期 Protocol



premarin dose1	0.625	1.25	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5 mg/day
premarin dose2	0.625	1.25	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75 mg/day
premarin dose3	1.25	2.5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5 mg/day

図6 : 体外受精等実施施設数年次推移

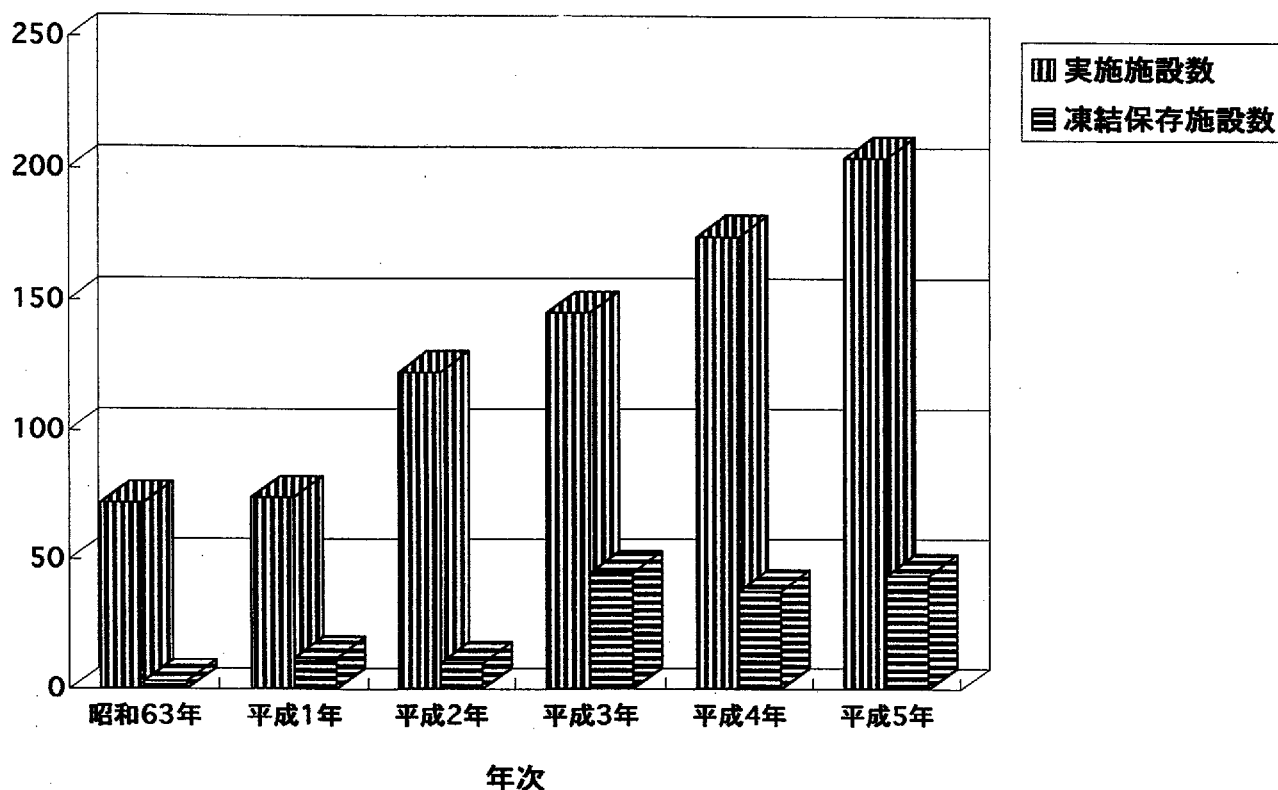


表1：胚の凍結保存による多胎妊娠の予防効果

	妊娠周期	多胎妊娠	多胎率	品胎以上
凍結保存導入前	133	28	21.05%	6* · **
凍結保存導入後	92	12	13.04%	0*
解凍胚移植	22	2	9.09%	0
凍結保存導入後計	114	14	12.28%	0**

***:P<0.05

表2：プレマリンの投与量による分類

	プレマリン投与量(mg/day)			患者数	移植周期数
	day1-4	day5-8	day9以降		
dose1	0.625	1.25	2.5	11	11
dose2	0.625	1.25	3.75	19	21
dose3	1.25	2.5	5	25	27

表3：HR周期解凍胚移植の成績

	患者数	移植周期数	年齢	解凍胚数	発育胚数	移植胚数	妊娠周期	妊娠率
全体	45	59	32.8	5.12	2.95	4.39	18	30.51%
dose1	11	11	32.8	5.82	3.45	4.73	4	36.36%
dose2	19	21	33.3	4.48	2.96	4.14	9	42.86%
dose3	25	27	32.3	5.53	2.96	4.77	5	18.52%

表4：自然周期とHR周期の成績比較

	移植周期数	解凍胚数	発育胚数	移植胚数	妊娠周期	妊娠率
自然周期	25	5.24	2.80	4.20	4	16.00%
HR周期全体	59	5.12	2.95	4.39	18	30.51%

表5：余剰卵を凍結し得た採卵周期の胚移植成績

	多胎妊娠周期	多胎率
採卵周期	120	-
新鮮胚移植妊娠周期	33	7
新鮮胚移植妊娠率	27.50%	-
解凍胚移植周期	84	-
解凍胚移植妊娠周期	22	2
解凍胚移植妊娠率	26.19%	-
総妊娠周期	55	9
採卵周期あたりの妊娠率	45.83%	-

(全て双胎)



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:体外受精胚移植における多胎妊娠は,移植する胚を制限することにより確実に予防することが可能である.しかしながら患者の身体的,経済的負担を考慮した場合,妊娠率を低下させることなく,1回の採卵で得られた貴重な卵・胚を有効に利用しなければならない.以上の2点を満足させ得る現存する方法は,余剰卵の凍結保存およびその解凍移植である.そこで当教室での胚の凍結保存導入による多胎妊娠の予防ならびに採卵あたりの妊娠成績の改善効果を検討した.その結果,凍結保存を導入した前後で多胎妊娠率は減少し,また凍結保存導入前はみられた品胎以上の多胎妊娠が凍結保存導入後は現在まで1周期もみられていない.また余剰卵を凍結保存し得た採卵周期のうち新鮮胚移植周期に27.50%が,解凍胚移植周期に26.19%が妊娠にいたり,採卵あたり計45.85%の高い妊娠率が得られた.品胎以上の多胎妊娠が現在まで発症していない点と採卵あたりの妊娠率の改善がみられたことから,凍結保存解凍胚移植は体外受精胚移植において多胎防止のために有益であると結論できる.