

平成8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」

卵巣過剰刺激症候群における合併症の予防に関する研究
(分担研究 : 多胎妊娠の予防に関する研究)

分担研究報告書

分担研究者 浜松医科大学医学部産婦人科学教室
寺尾俊彦, 朝比奈俊彦, 後藤淳子

要約 : OHSSに合併する最大の合併症であり、時には致命的な結果をひきおこす血栓塞栓症に関する文献的考察、およびOHSS発症機序に関する基礎的研究を行った。

(1) 血栓塞栓症合併に関する文献的考察

1964年より現在まで約13例の報告があり、内訳は脳血栓塞栓症3例、内頸動脈1例、内頸静脈3例、肺塞栓症2例、鎖骨下静脈2例、総腸骨静脈1例、大腿動脈1例、深部下肢静脈3例であった(2個所以上の重複例含む)。血栓塞栓症発症の先天的な危険因子としては、抗凝固因子低下症とループスアンチコアグulant陽性例が報告されていた。血栓塞栓症発症の発症形態は、(先天性素因がない限り)重症以上の高ヘマトクリット性OHSSの先行があり、hCG投与後7~24日の間がcritical periodであり、OHSSの治療開始後1~2週目頃に発生していた。また妊娠、ことに多胎妊娠しているケースが多かった。血栓塞栓症の早期発見には、D-Dimerは最も簡便なマーカーであった。発症以前の予知は困難であった。転帰は、死亡1例・下肢切断1例、その他は後遺症を残さず回復していた。

(2) OHSSにおける腫大卵巣内への卵胞液貯留に関する基礎的研究

[目的] OHSSの重症度は、腫大した卵巣内の卵胞液や腹水・胸水への、血管内からの血清成分の喪失度合いに正比例する。一方、血清成分の喪失は血管透過性の亢進によっておこる。この現象はFSH製剤とそれに引き続き投与されたLH製剤の刺激により何らかのmediatorが大量に産生され、そのmediatorにより引き起こされると考えられている。われわれは、このmediatorのひとつとして血管透過性亢進サイトカインであるIL-8の存在を考え、基礎的研究を行った。[方法] ①ヒト卵巣組織中のIL-8の局在を、免疫組織学的に検索した。②ラット卵巣の莢膜・間質細胞を培養し、LH製剤添加により上清中にIL-8が出現・増加するかどうかを調べた。③未熟マウスにFSH製剤15iuを腹腔内投与、さらに48時間後IL-8のみを腹腔内投与し、卵巣腫大が起きるかどうか調べた。[結果] ①ヒト卵巣間質組織中には、IL-8陽性単核細胞が存在した。②LH製剤0.5iu/ml添加による上清中のIL-8量は580pg/ml/1×10⁶ cellsと、無添加群:240pg/ml/1×10⁶ cellsより有意に増加した。③IL-8:20μg投与により、LH製剤15iu投与群と同じく卵巣腫大が起きた。[結論] 卵巣間質組織にはIL-8を分泌する単核細胞が存在し、その分泌はLH刺激により急激に増大し、その結果大量の卵胞液貯留・卵巣腫大を引き起こしている可能性が示唆された。

見出し語 : OHSS, 血栓塞栓症, 卵胞液, IL-8

(1) 研究 : 血栓塞栓症合併に関する文献的考察

目的 : 近年の不妊治療における排卵誘発, 特に生殖医療技術を応用した体外受精の際に多胎発生が問題となるが, 同時に卵巣過剰刺激症候群 (OHSS) の発生も大きな問題である。その OHSS に合併する最大の合併症は血栓塞栓症であり, 時には致命的な結果をひきおこす。厚生省によれば, 1993 年から 1995 年の間に 14 例の発生があったと報告されている。そこで本年度は血栓塞栓症に関する文献的考察を行った。

研究方法 :

- 1) 調査期間: 排卵誘発剤が使用され始めた, 1960 年代より 1996 年までの約 30 年間。
 - 2) 調査方法: MEDLINE
 - 3) 調査対象: 欧米および日本における主たる医学雑誌。
- 以上の 3 項目を充たす論文をすべて選び出し, 分析した。

結果 : 抽出された論文は全部で 11 編, 症例数では 13 例であり, 発表年代順にすべてを要約すると以下のごとくである。

Crook, A., Butt, W.R., Carrington, S.P., Morris, R., Palmer, R.F. and Edwards, R.L.: Pregnancy in women with secondary amenorrhea treated with human gonadotropins. Lancet, i: 184, 1964.

血栓部位: 左下肢深部静脈血栓 (DVT) 先行不妊治療: hMG-hCG 療法
発症時期: 妊娠 12 週時
初発症状: 左下肢痛・腫脹 治療: 抗凝固療法 (heparin 療法)
OHSS: 有無不明 妊娠: 有, 単胎

Mozes, M., Bogowsky, H., Anteby, E., Lunenfeld, B., Rabau, E., Serr, D., David, A. and Salmony, M.: Thromboembolic phenomena after ovarian stimulation with human menopausal gonadotropins. Lancet, ii: 1213, 1965.

第 1 例:

血栓部位: 右内頸動脈 先行不妊治療: hMG-hCG 療法
発症時期: hCG 注射後 5 日
初発症状: 左半身麻痺, hypovolemic shock 診断: 動脈造影
血液検査: 発症当日ヘマトクリット値 (Ht) 58%
治療: 抗凝固療法 (heparin 療法), 血栓除去手術
OHSS: 最重症 予後: 死亡 (嘔吐物逆流性肺炎)

第 2 例:

血栓部位: 右大腿動脈 先行不妊治療: hMG-hCG 療法
発症時期: hCG 注射後 17 日
初発症状: 右足尖部痛 (血栓性静脈炎) 診断: 動脈造影
治療: 右下肢切断
OHSS: 重症度不明 (卵巣腫大のみ, 腹水無し)
続発血栓部位: 左下肢深部静脈血栓 (DVT), 肺動脈塞栓
発症時期: hCG 注射後 34 日
治療: 抗凝固療法 (heparin 療法), 血栓除去手術

Gemzell, C.A., Roos, P. and Loeffler, E. : Follicle stimulating hormone. In Bromhan, S.J. and Kistner, R.W. (eds.), Progress in Infertility. Little, Brown and Co., Boston : 490, 1975.

血栓部位 ; 右上腕靜脈	先行不妊治療 ; hMG-hCG 療法
発症時期 ; 不明	
初発症状 ; 上肢腫脹	治療 ; 不明
OHSS ; 有無不明	予後 ; 2 週後完全回復

Kaaja, R., Seigberg, R., Tiitinen, A. and Koskimies, A. : Severe ovarian hyperstimulation syndrome and deep venous thrombosis. Lancet, ii : 1043, 1989.

血栓部位 ; 左後腓骨靜脈	先行不妊治療 ; IVF-ET	OHSS ; 最重症
発症時期 ; hCG 注射後 24 日	初発症状 ; 左下肢痛	
血液検査 ; 発症数日後 : AT-III 59%		
診断 ; 靜脈造影	治療 ; 抗凝固療法 (heparin 療法)	
予後 ; 2 ~ 3 日後完全回復	妊娠 ; 有, 單胎	

Rizk, B., Meagher, S. and Fisher, A.M. : Severe ovarian hyperstimulation syndrome and cerebrovascular accidents. Hum.Reprod. 5 : 697, 1990.

血栓部位 ; 右中大腦動脈	先行不妊治療 ; hMG-hCG 療法	OHSS ; 最重症
発症時期 ; hCG 注射後 13 日	初発症状 ; 左半身運動麻痺・知覚麻痺	
血液検査 ; 発症 2 日前 : Ht 58%	発症当日 32.8%	
診断 ; CT スキャン	治療 ; 抗凝固療法 (low dose aspirin 療法)	
予後 ; 3 日後完全回復	妊娠 ; 有, 單胎	

Fournet, N., Surrey, E. and Kerin, J. : Internal jugular vein thrombosis after ovulation induction with gonadotropins. Fertil.Steril. 56 : 354, 1991.

血栓部位 ; 右内頸靜脈	先行不妊治療 ; IVF-ET	OHSS ; 重症
発症時期 ; hCG 注射後 28 日	初発症状 ; 頸部痛, 呼吸困難	
血液検査 ; 発症 18 日前 : Ht 52.7%, WBC 27000,		
発症当日 : Ht 39.4%, WBC 198000, PT 10.1sec. [正常 10-12.5],		
APTT 26sec. [正常 22-37],		
診断 ; Duplex echography	治療 ; 抗凝固療法 (heparin 療法)	
予後 ; 5 日後完全回復	妊娠 ; 有, 双胎	

Ong, A.C.M., Eisen, V., Rennie, D.P., Homburg, R., Lachelin, G.C.L., Jacobs, H.S. and Slater, J.D.H. : The pathogenesis of the ovarian hyperstimulation syndrome (OHS) : a possible role for ovarian renin. Clin.Endocrinol. 34 : 43, 1991.

血栓部位 ; 肺塞栓	先行不妊治療 ; hMG-hCG 療法	OHSS ; 重症
発症時期 ; hCG 注射後 24 日	初発症状 ; 胸痛	
血液検査 ; 発症 8 日前 : Ht 50.2%,	発症当日 ; Ht 36.0%,	
治療 ; 抗凝固療法 (heparin 療法)		
続発血栓部位 ; 左内頸靜脈	発症時期 ; hCG 注射後 46 日	
初発症状 ; 不詳		
血液検査 ; 発症 6 日前 : Ht 34.0%		
治療 ; 抗凝固療法 (heparin 療法)	妊娠 ; 有, 單胎	

Mills, M. S., Eddowes, H. A., Robert, F. and Wardle P. G. : Subclavian vein thrombosis : a late complication of ovarian hyperstimulation syndrome. Hum. Reprod. 7 : 370, 1992.

症例 1)

血栓部位 ; 右鎖骨下静脈	先行不妊治療 ; IVF-ET	OHSS ; 重症
発症時期 ; hCG 注射後 49 日	初発症状 ; 右上肢痛・腫脹, 鎖骨下窩圧痛	
血液検査 ; 発症 36 日前 : Ht 50%		
診断 ; CT スキャン	治療 ; 抗凝固療法 (heparin-warfarin 療法)	
予後 ; 2~3 日後完全回復	妊娠 ; 有, 単胎	

症例 2)

血栓部位 ; 左鎖骨下静脈	先行不妊治療 ; IVF-ET	OHSS ; 重症
発症時期 ; hCG 注射後 49 日	初発症状 ; 左腋窩・上肢圧痛, 腫脹	
血液検査 ; 発症 41 日前 : Ht 45%		
診断 ; CT スキャン	治療 ; 抗凝固療法 (heparin 療法)	
予後 ; 7 日後完全回復	妊娠 ; 有, 双胎	

Kligman, I., Noyes, N., Benadiva, C. A. and Rosenwaks, Z. : Massive deep vein thrombosis in a patient with antithrombin III deficiency undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. Fertil. Steril. 63 : 673, 1995.

血栓部位 ; 左深部大腿静脈, 総腸骨静脈	先行不妊治療 ; IVF-ET	
OHSS ; 不明		
発症時期 ; hCG 注射後 11 日	初発症状 ; left calf pain, 微熱, Homans sign(+)	
血液検査 ; 発症当日 : Ht 36.5%, APTT 26.6sec. [正常 23-38], AT-III 59%		
診断 ; Duplex Scan	治療 ; 抗凝固療法 (heparin 療法)	
予後 ; 完全回復	妊娠 ; 有, 双胎	
背景 ; congenital AT-III deficiency		

Kodama, H., Matsui, T., Fukuda, J., Shimizu, Y., Karube, H. and Tanaka, T. : Characteristics of blood hemostatic markers in a patient with ovarian hyperstimulation syndrome who actually developed thromboembolism. Fertil. Steril. 64 : 1207, 1995.

血栓部位 ; 右中大脳動脈	先行不妊治療 ; IVF-ET	OHSS ; 最重症
発症時期 ; hCG 注射後 11+ α 日	初発症状 ; 左半身麻痺, hypovolemic shock	
血液検査 ; 発症 14 時間前 : Ht 48%, WBC 22000, Fg 480mg/dl, PT 11.3sec. [正常 10.0-12.5], APTT 24.7sec. [正常 30-40], AT-III 83%, D-dimer 1000ng/ml, TAT 6.8ng/ml, α 2-PI 65%, PIC 4.0ng/ml, prekallikrein 69%		
診断 ; CT スキャン	治療 ; 抗凝固療法 (low dose aspirin 療法)	
予後 ; 3 週後完全回復	妊娠 ; 有, 双胎	

小林隆夫 : OHSS 妊娠. 周産期医学, 26 : 1531, 1996.

血栓部位 ; 左中大脳動脈	先行不妊治療 ; hMG-hCG 療法	OHSS ; 最重症
発症時期 ; hCG 注射後 14 日	初発症状 ; 左顔面痛・頭痛	
血液検査 ; 発症 2 日後 : Ht 44.6%, WBC 9800, Fg 516mg/dl, PT 80%, APTT 106%, AT-III 83%, D-dimer 1383ng/ml, TAT 11.9ng/ml, PIC 3.6ng/ml,		
診断 ; CT スキャン	治療 ; 抗凝固療法 (low dose aspirin 療法)	
予後 ; 4 週後完全回復	妊娠 ; 有, 双胎	
患者背景 ; SLE, ループスアンチコアグラント陽性, 腎移植後		

考察 : OHSS の重症度分類については国際的に統一されたものは現在のところ存在しない。これが OHSS の報告の際の障害となっている。本症の重症度および血栓形成リスクは、血管内からの血清成分の喪失度合いに正比例する。本症が“Serum Steal Syndrome”とも言える所以である。血清成分の喪失により血管内に残る血球成分と凝固線溶因子の濃度は上昇し、向血栓傾向となる。以上を踏まえ今回の調査で我々は、下表のごとき重症度分類を採用した(日母医報引用一部改変)。腫大した卵巣の容積は喪失血清と考えた。卵巣を球として考えると、容積は、 $V=4/3 \pi r^3$ より、直径 8cm の場合は両側で $V \times 2 \cong 540\text{ml}$ 、直径 12cm では $V \times 2 \cong 1814\text{ml}$ になる。両側卵巣腫大が直径 8cm 以上に達すればそれだけで中等症、12cm 以上は重症とするのが妥当である。

The classification of severity in ovarian hyperstimulation syndrome

	軽症	中等症	重症	最重症
卵巣平均径	6~8cm	8~12cm	>12cm	
腹水	—	少量~中等量	多量	非常に多量
胸水	—	—	—~+	—~+
ヘマトクリット	軽度上昇	40~45%	>45%	>55%
白血球数	正常	軽度増加	>15,000	>25,000
低蛋白血症	—	軽度	高度	高度
血清クレアチニン	正常	正常	1.0~1.5mg/dl	>1.5mg/dl
クレアチニンクリアランス	正常	正常	> 50ml/min	<50ml/min
尿量	正常	軽度減少	乏尿 肝機能障害 全身浮腫	高度乏尿 腎不全 血栓塞栓症 呼吸不全

OHSS の合併症としての血栓塞栓症は、1964 年より現在まで約 13 例の報告があり、内訳は脳血栓塞栓症 3 例、内頸動脈 1 例、内頸静脈 3 例、肺塞栓症 2 例、鎖骨下静脈 2 例、総腸骨静脈 1 例、大腿動脈 1 例、深部下肢静脈 3 例であった(2 個所以上の重複例含む)。その中には、Crook や Mills の例のように妊娠週数の進んでから発症した例もあり、OHSS との関連付けが難しいものもあった。全体としてまとめてみると、本症における血栓塞栓症発症の危険因子は、易凝固性素因・線溶能低下素因・ループスアンチコアグラント陽性・血管内脱水が主なものであるといえる。血栓塞栓症発症の発症形態は、重症以上かつ 45~58% という高 Ht 性の OHSS (ただし LAC 例では 44.6%, AT-III 低下症例では 36.5%) の先行があり、hCG 投与後 7~24 日の間が critical period であり、OHSS の治療開始後 1~2 週目頃の、Ht はむしろ改善傾向にある時期に発生していた。また妊娠、ことに多胎妊娠しているケースが多かった。凝固線溶系因子を検索したという報告は少なく、さらに発症以前の予知に関するこれらの検索はわずか 1 例のみであった。(Kodama, 91) 血栓塞栓症の早期発見には、D-Dimer は最も簡便なマーカーであった。発症以前の予知は困難であった。ただ 1 例、Kodama ら(91)の報告によれば、比較的簡便に測定できる D-Dimer

に発症14時間前にすでに有意なる増加(1,000ng/ml)が認められていた。転帰は、死亡1例・下肢切断1例、その他は後遺症を残さず回復していた。

(2) 研究 ; OHSSにおける腫大卵巣内への卵胞液貯留に関する基礎的研究

目的 :

OHSSの重症度は、腫大した卵巣内の卵胞液や腹水・胸水への、血管内からの血清成分の喪失度合いに正比例する。一方OHSSは通常、FSH製剤を投与してもLH製剤を引き続き投与しなければ発生しないことが経験的に知られている。このことより、LHはなんらかのmediatorを介して卵胞血管の透過性を大幅に増大させ、それによりOHSSを重症化させていると思われる。つまりOHSSの重症度は、このmediatorと大いに関係がある。われわれは、このmediatorのひとつとして血管透過性亢進サイトカインであるIL-8の存在を考え、基礎的研究を行った。

方法 :

①ヒト卵巣組織中のIL-8の局在を、免疫組織学的に検索した。(図1) ②ラット卵巣の莢膜・間質細胞を培養し、LH製剤添加により上清中にIL-8が出現・増加するかどうかを調べた。(図2, 3) ③未熟マウスにFSH製剤15iuを腹腔内投与、さらに48時間後IL-8のみを腹腔内投与し、卵巣腫大が起きるかどうかをコントロール群、hCG群と比較した。(図4)

結果 :

①ヒト卵巣間質組織中には、IL-8陽性単核細胞が存在した。(写真1) ②LH製剤0.5iu/ml添加による上清中のIL-8量は580pg/ml/1×10⁶ cellsと、無添加群: 240pg/ml/1×10⁶ cellsより有意に増加した。(表1) ③IL-8: 20 μg投与により、LH製剤15iu投与群と同じく卵巣腫大が起きた。(表2)

考察 :

LHサーージ周辺期およびOHSS発生期には卵巣血管の急激な透過性増大による、大量の卵胞液貯留現象が起きている。現在までのところこの卵胞液貯留現象に関わる因子として、ヒスタミン、プロスタグランジン、レニン・アンギオテンシン系、キニン・カリクレイン系、VEGF等が報告されているが、どれも決定的証明はされていない。OHSS発症の二次的発現因子との印象も免れないものもある。今回われわれは血管透過性亢進、好中球・単球遊走能促進等の作用をもつサイトカイン; IL-8もこの現象に関与しているのではないかと考え、実験を行った。

その結果、卵巣間質組織にはIL-8染色陽性の単核細胞が存在することが判明した。そして、その培養細胞からのIL-8分泌はLH刺激により急激に増大することが判明した。またIL-8は、大量の卵胞液貯留・卵巣腫大現象を引き起こす作用があることも判明した。

以上より、OHSSの際には、LHあるいはhCGの刺激により、間質組織の単核細胞より大量のIL-8が分泌され、これが大量の卵胞液や腹水・胸水の貯留に関与している可能性が示唆された。

方法

免疫組織学的検索

手術時摘出検体・増殖期卵巣 2例
・分泌期卵巣 2例

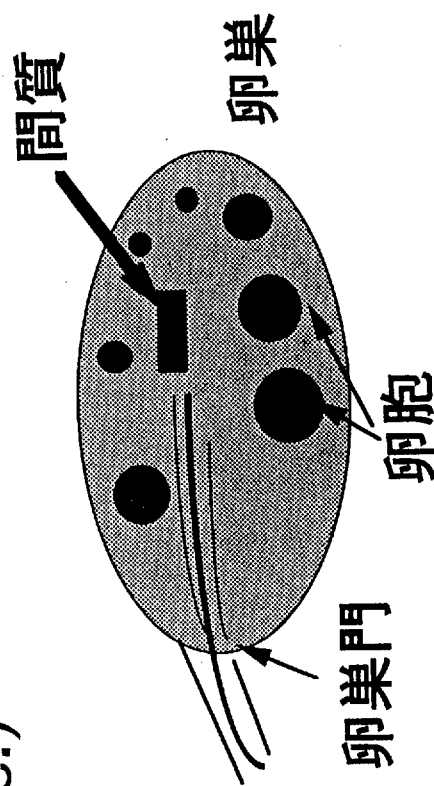
10%ホルマリン固定，パラフィン包埋切片

抗体 抗ヒトIL-8抗体 (rabbit IgG)
(Peprro Tech INC.)

染色法 LSAB法

発色剤 DAB(brown)

標本部位 右図



細胞培養

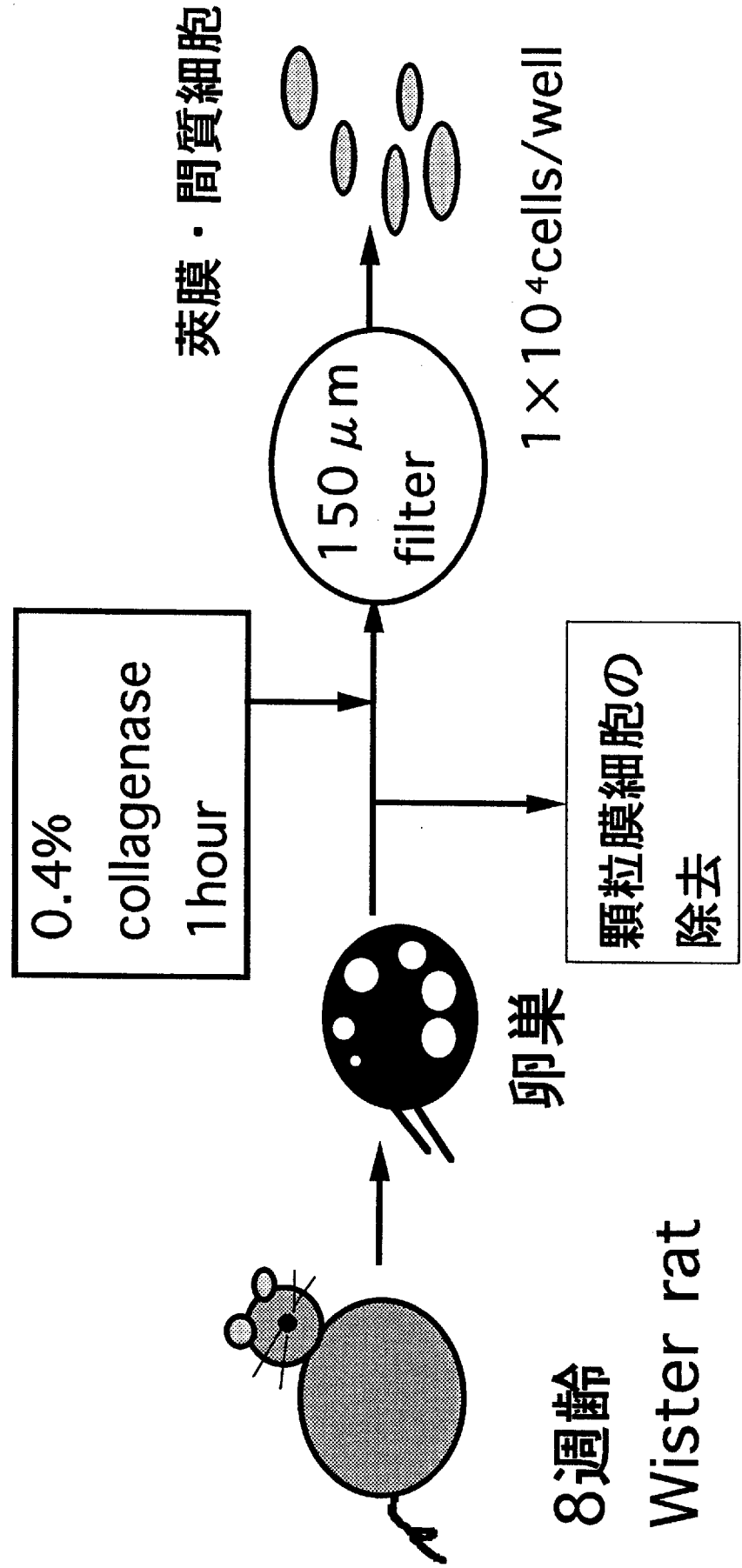


図3

培養細胞上清中のIL-8 ELISA測定

卵巣莖膜・間質細胞 1×10^4 cells/well

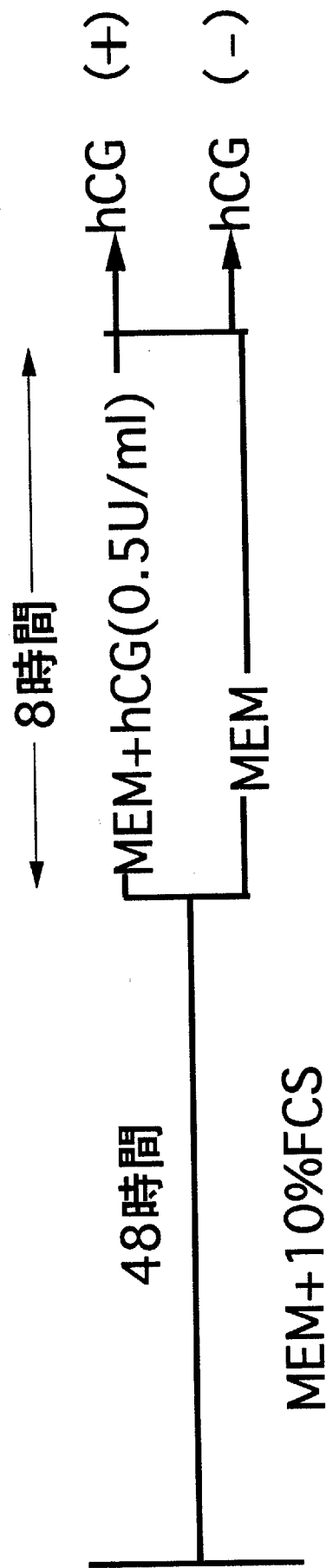
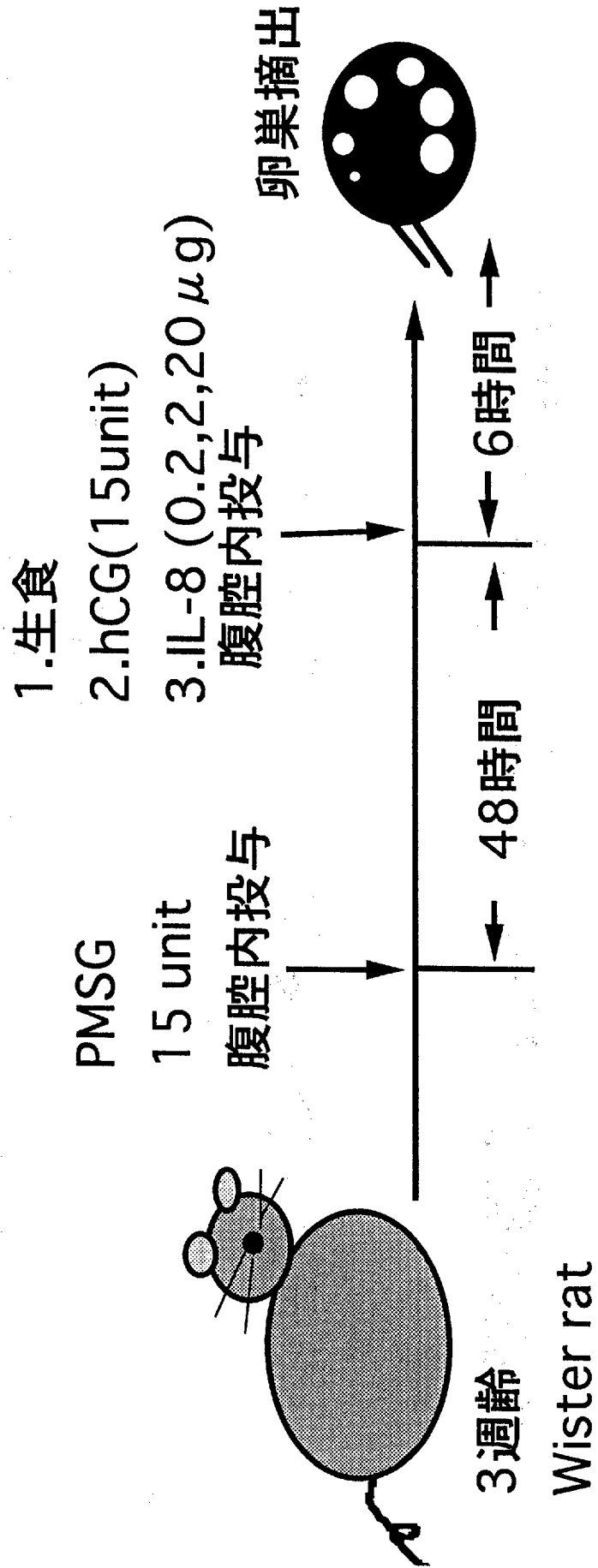


图4

方法



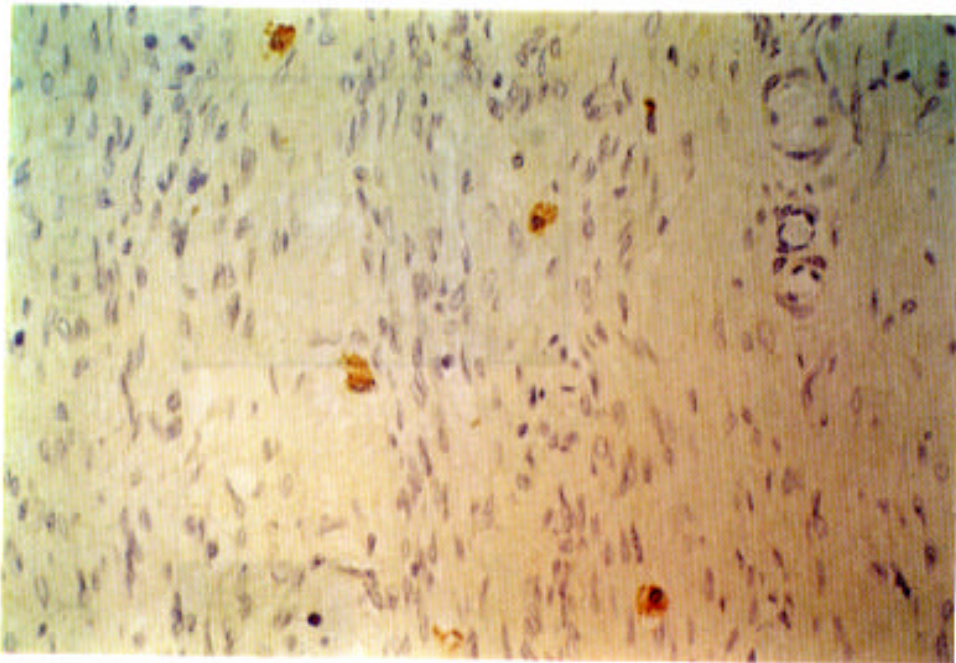


写真1

ヒト卵巣間質組織の免疫染色

[抗ヒト IL-8 抗体 ; LSAB 法 ×100]

brown に着色した陽性単核細胞が認められる。

表1

培養上清中のIL-8量

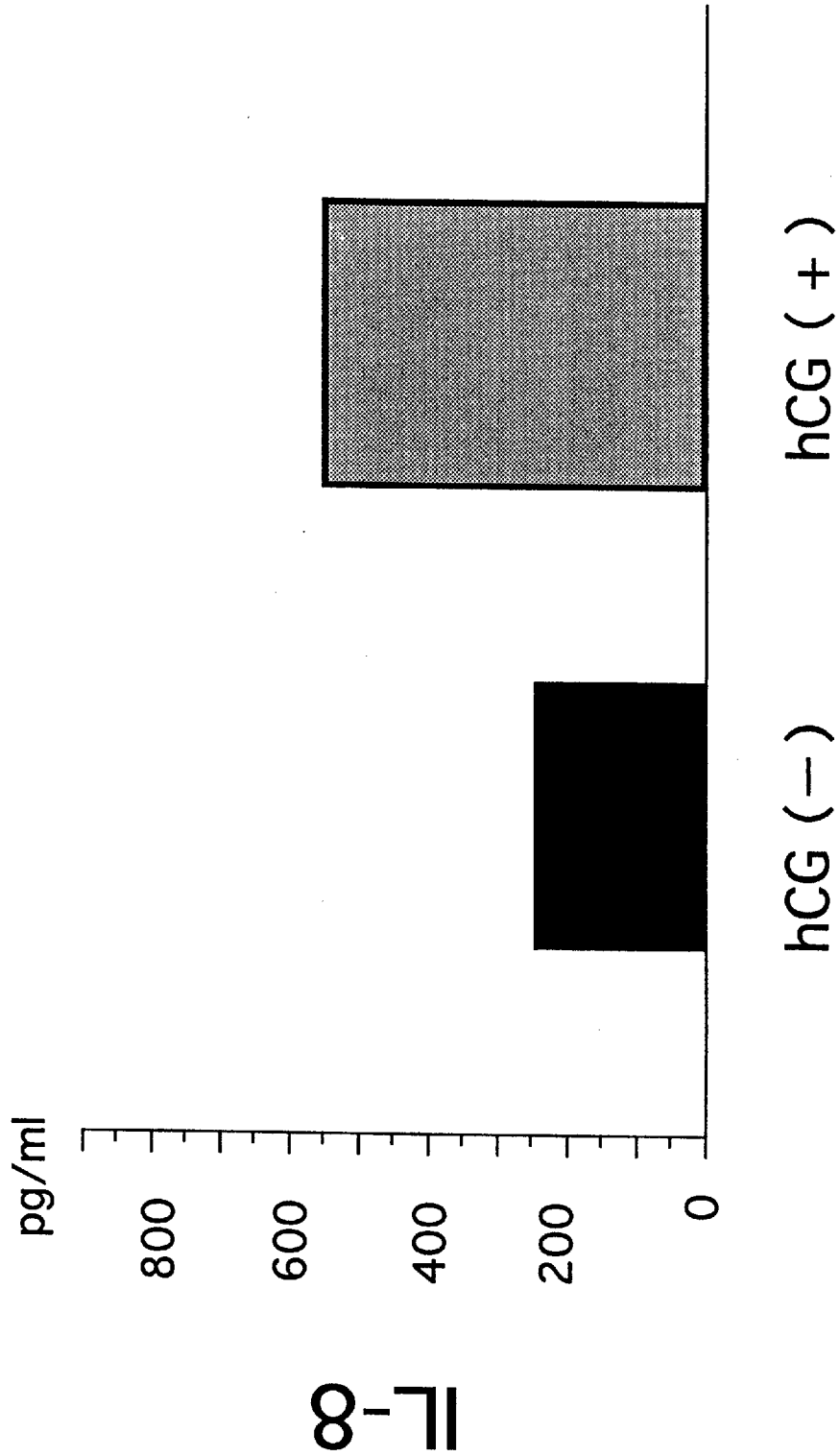
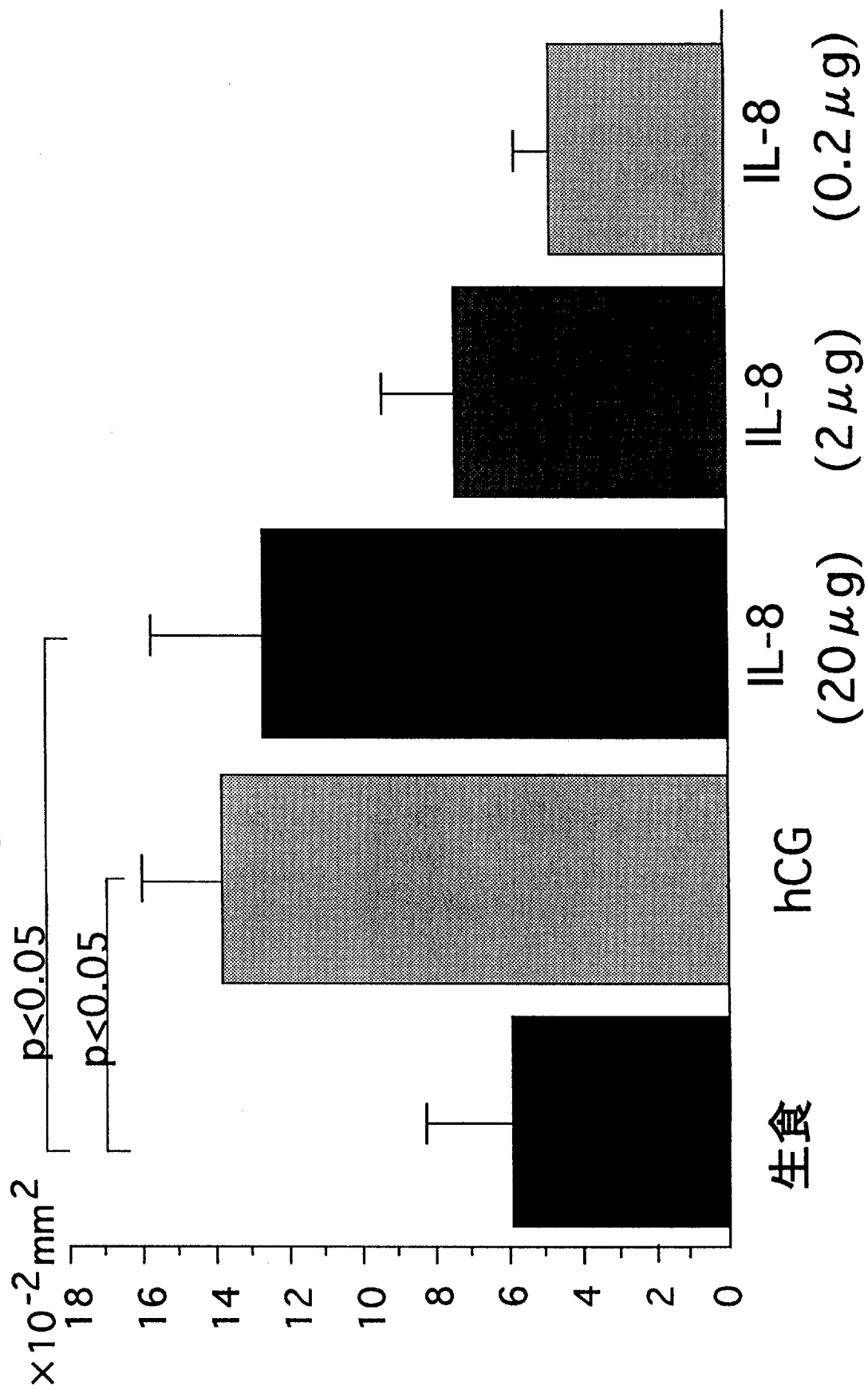


表2

平均卵细胞面积





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 : OHSS に合併する最大の合併症であり、時仁は致命的な結果をひきおこす血栓塞栓症に関する文献的考察、および OHSS 発症機序に関する基礎的研究を行った。

(1) 血栓塞栓症合併に関する文献的考察

1964 年より現在まで約 13 例の報告があり、内訳は脳血栓塞栓症 3 例、内頸動脈 1 例、内頸静脈 3 例、肺塞栓症 2 例、鎖骨下静脈 2 例、総腸骨静脈 1 例、大腿動脈 1 例、深部下肢静脈 3 例であった(2 個以上の重複例含む)。血栓塞栓症発症の先天的な危険因子としては、抗凝固因子低下症とループスアンチコアグulant陽性例が報告されていた。血栓塞栓症発症の発症形態は、(先天性素因がない限り)重症以上の高ヘマトクリット性 OHSS の先行があり、hCG 投与後 7~24 日の間が critical period であり、OHSS の治療開始後 1~2 週目頃に発生していた。また妊娠、ことに多胎妊娠しているケースが多かった。血栓塞栓症の早期発見には、D-Dimer は最も簡便なマーカーであった。発症以前の予知は困難であった。転帰は、死亡 1 例・下肢切断 1 例、その他は後遺症を残さず回復していた。

(2) OHSS における腫大卵巣内への卵胞液貯留に関する基礎的研究

[目的] OHSS の重症度は、腫大した卵巣内の卵胞液や腹水・胸水への、血管内からの血清成分の喪失度合いに正比例する。一方、血清成分の喪失は血管透過性の亢進によっておこる。この現象は FSH 製剤とそれに引き続き投与された LH 製剤の刺激により何らかの mediator が大量に産生され、その mediator により引き起こされると考えられている。われわれは、この mediator のひとつとして血管透過性亢進サイトカインである IL-8 の存在を考え、基礎的研究を行った。[方法](1)ヒト卵巣組織中の IL-8 の局在を、免疫組織学的に検索した。(2)ラット卵巣の莢膜・間質細胞を培養し、LH 製剤添加により上清中に IL-8 が出現・増加するかどうかを調べた。(3)未熟マウスに FSH 製剤 15iu を腹腔内投与、さらに 48 時間後 IL-8 のみを腹腔内投与し、卵巣腫大が起きるかどうか調べた。[結果](1)ヒト卵巣間質組織中には、IL-8 陽性単核細胞が存在した。(2)LH 製剤 0.5iu/ml 添加による上清中の IL-8 量は 580pg/ml/1x10⁶ cells と、無添加群:240pg/ml/1x10⁶ cells より有意に増加した。(3)IL-8:20µg 投与により、LH 製剤 15iu 投与群と同じく卵巣腫大が起きた。[結論]卵巣間質組織には IL-8 を分泌する単核細胞が存在し、その分泌は LH 刺激により急激に増大し、その結果大量の卵胞液貯留・卵巣腫大を引き起こしている可能性が示唆された。