

厚生科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

（分担）研究報告書

わが国における生殖補助医療の実態とその在り方に関する研究

（分担：卵巣過剰刺激症候群(OHSS)発症の予測と VEGF との関連）

分担研究者 矢内原 巧 昭和大学医学部産科婦人科学教室教授

共同研究者 田原 隆三、藤間 芳郎、岩崎 信爾、丸山浩之

研究要旨：[目的] 排卵誘発は不妊治療に有用とされるが、一方では多胎妊娠や卵巣過剰刺激症候群(OHSS)などの副作用をもたらしている。OHSS は、過排卵刺激によっておこる卵巣腫大と血管透過性亢進の結果生じる third space への血漿成分の移行を主病変とする。すなわち、腹水および胸水が貯留し、循環血液量の減少と血液濃縮をきたし、重症例では肝障害、血液凝固能亢進、血栓、腎不全等の多臓器不全を起こす。一方 Vascular endothelial growth factor(VEGF) は血管新生・血管透過性の促進作用を有する cytokine の一つとされており OHSS 発症例においては黄体期血中 VEGF 濃度が高値であることが報告されている。今回排卵障害患者を対象に OHSS 発症の成因と考えられる各種因子について VEGF を含めて卵胞期後期に測定し、さらにこれらの因子を用いた多変量解析による OHSS 発症の予測を検討する。[方法] 多嚢胞性卵巣症候群を除く排卵障害症例を対象に FSH による排卵誘発を行い、hCG 投与直前の血中 estradiol 値、progesterone 値、VEGF 値、さらに卵胞数、卵巣長径および FSH 総投与量を変数として各々の群において多変量解析を行い、その結果得た判別式について検討を加えた。[結果] 今回得られた判別式では OHSS 発症群と OHSS 非発症群を明らかに判別することができ、hCG 投与前に OHSS 発症予測が 100% 可能であった。[結論] 排卵誘発に際しては OHSS の発症予防・予測に努めることが大切である。予測として OHSS 発症には多くの因子が関与しているが、判別分析によりその予測が排卵前にすでに可能であることが示された。

A. 研究目的

排卵誘発剤の使用は不妊治療において有用とされているが、その副作用として卵巣過剰刺激症候群(OHSS)や多胎妊娠の発症が問題となっている。OHSS は過排卵刺激からおこる卵巣腫大や、血管透過性亢進の結果生じる血漿成分の third space への移行を主病変とする。すなわち胸水及び腹水が貯留し、腹水中への血漿蛋白の漏出による低蛋白血症、そして血液濃縮、循環血漿量低下を起こし、また胸水貯留より ARDS などの呼吸不全を引き起こす(図1)¹⁾。OHSS の病態生理は完全に解明されていないが、hCG 投与下の卵巣から放出される血管作動性物質が発症の契機になると考えられており²⁾、なかでも近年 vascular endothelial growth factor(VEGF)が関与していることが示唆されている^{3) 4)}。VEGF は血管内皮に特異的に作用する増殖因子であり、Sengar ら⁵⁾により 1983 年に腫瘍細胞の培養上清中に血管透過性を亢進される蛋白性因子 Vascular permeability factor(VPF)として見出され、さらに Ferrara ら⁶⁾により、1989 年に下垂体濾胞細胞より血管内皮細胞に特異的に作用する増殖因子として発見された。VEGF は低酸素、低グルコース等の環境や、p53 変異、NO、IL-1、TSH、estrogen 等によっても発現調節を受けている⁷⁾。また、ヒスタミンの 1,000 倍の血管透過性亢進作用を持つ

といわれ¹⁾、OHSS の際にみられる胸腹水の原因と考えられている。OHSS 発症例においては黄体期中期に血中 VEGF の高値が報告されているが^{8) 9)}、排卵前の VEGF の動態はいまだ不明である。

そこで本研究では、FSH 投与による排卵誘発周期において OHSS の発症の成因と考えられる各種因子について VEGF を含めて卵胞期後期に測定し、さらにこれらの因子を用いた多変量解析による OHSS 発症の予測を検討する。

B. 研究対象と方法

1. 対象

多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)を除く排卵障害患者にゴナドトロピンによる卵巣刺激をおこなった。刺激方法として月経または消退出血 5 日目より FSH 製剤 150 単位を連日投与し、主席卵胞径が 18mm 以上に達した時点で hCG 製剤 5000 単位を投与し、排卵を促した。排卵を確認した後、黄体賦活目的として hCG 製剤 5000 単位を隔日に 3 回投与とした(図2)。これらの症例のうち OHSS 発症(OHSS(+))20 例と非発症(OHSS(-))27 例の計 47 例を対象とした。OHSS(-)群 27 例は 32.4 ± 3.9 歳、OHSS(+)群 20 例は 29.6 ± 3.5 歳(mean ± SD)であり両群間において年齢に差を認めなかった。尚、OHSS の診断基準は 1995 年日本産科婦人科学会生殖内分泌委員会報告¹⁰⁾に、PCOS の診断基準は

1993年同委員会報告¹¹⁾に拠った。

2. 方法

前述の症例において hCG 投与による排卵誘発の直前に血液採取を行った。これらの検体の血清中 VEGF を Amersham 社製 VEGF human ELISA system にて測定し、また血清中 estradiol(E_2)、progesterone(P_4)を TOSOH EIA kit にて測定した。さらに採血日に超音波検査にて卵胞径、卵胞数、卵巣長径を測定し、また FSH 総投与量および FSH 投与日数を算出した(図2)。これらの変数を用いて主成分分析および判別分析を行った。

C. 研究結果

1. 卵胞期後期血清中 E_2 、VEGF 値
hCG 投与前における血中 VEGF 値を OHSS(-)群と OHSS(+群 (A 群：重症度1度、B 群：重症度2,3度)との間で検討した。OHSS(-)群は 169.7 ± 141.2 pg/ml、A 群 250.1 ± 144 pg/ml、B 群 278.2 ± 154 pg/ml であり、これらの症例で OHSS 非発症例および OHSS 発症例の各重症度間で比較すると OHSS(-)群に比し A 群では高値傾向を示し、OHSS(-)に比しさらに B 群では有意に高値を示した ($p < 0.05$)。血中 E_2 値は OHSS(-)群 243.4 ± 229.5 pg/ml、A 群 941.2 ± 1101.6 pg/ml、B 群 1609.3 ± 1213.5 pg/m であった。 E_2 値については OHSS(-)群と A 群間 ($p < 0.05$)、また OHSS(-)群と B 群の間に有意な差が認められた ($p < 0.01$) (図3)。

2. 卵胞期後期血清中 E_2 、VEGF との関係

E_2 値と VEGF 値について相関関係を検討した結果、相関係数は $r = 0.39$ ($p < 0.01$) であった (図4)。

2. OHSS 発症の予測

1) 卵胞期後期における各種測定値の比較

卵胞期後期における 10mm 以上の卵胞数、18mm 以上の卵胞数、卵巣長径、血清中 E_2 および VEGF 値が、OHSS(+群は OHSS(-)群に比し排卵前にすでに有意に増加していた (表1)。

2) 主成分分析

FSH 総投与量、10mm 以上の卵胞数、18mm 以上の卵胞数、卵巣長径、血清中 E_2 、 P_4 、VEGF 値を変数として主成分分析を行った結果を図5に示す。OHSS(+群と OHSS(-)群は概ね2群に分かれ、主成分分析の因子負荷量は、Z1 の第1主成分では卵巣長径、卵胞数、 E_2 および VEGF 値が、また Z2 の第2主成分では FSH 総投与量が大きい結果であった。

3) 判別分析

主成分分析の因子負荷量より得られた因子を変数として判別分析を行い、判別分析式を得た (図6)。本判別式に同一症例 47 例をあてはめたところ OHSS(+群と OHSS(-)群を排卵前に判別することができた。また OHSS 重症例では判別スコアはより小さい傾向がみられた。

D. 考察および E. 結論

日本産科婦人科学会生殖内分泌委員会報告によると平成7年の1年間行われたIVF-ET等による排卵誘発6,369周期のうち、2.2%にあたる139周期に入院を要するOHSS2度、3度が認められている¹¹⁾。このようにOHSSの発症とその予防は、生殖補助医療技術の普及に伴い重要な課題となっている。現在までにOHSS発症の危険因子は若年、虚弱体型、PCOS、黄体賦活療法としてのhCG投与、血中E₂の高値、35個以上の卵胞、超音波上のnecklace signなどが挙げられており¹²⁾、なかでも血中E₂値と卵胞数による発症の予測が試みられている。Navotら¹²⁾はE₂値>4,000pg/ml、卵胞数35個以上で、Formanら¹³⁾はE₂値>2,000pg/ml、12mm以上の卵胞が15個で発症の危険が高いとしている。他にも卵巣径や卵胞液中のサイトカイン濃度による発症予測が試みられているが確実な予測は困難である。本研究においてhCG投与前の血中VEGFを測定したところ、OHSSの発症例では発症前にすでに血中VEGF値が高値であることが明らかとなり、VEGFがOHSS発症予測の一因となる可能性が示された。一方、VEGFの産生促進因子の一つにE₂が報告されているが¹⁴⁾、Ludwigらは黄体期血中VEGF濃度と血中E₂値の間には相関関係はないとしている(r=0.39,p<0.01)¹⁵⁾。本研究においては、卵胞期の血中VEGF濃度と血中E₂値の相関を検討したが、両者の相関は弱いものであった(r=0.39,p<0.01)。この

結果より、OHSS発症に関してVEGFの産生はE₂により一元的に調節を受けているのではなく、他の因子が関与していることが推察された。そこで、本研究においてFSH総投与量、10mm以上の卵胞数、18mm以上の卵胞数、卵巣長径、血清中E₂、P₄、VEGF値を変数として主成分分析を行った結果、その因子負荷量より、卵巣長径、卵胞数、FSH総投与量、血中E₂値およびVEGF値が関与していることが示され、判別分析によりその予測が排卵前に可能であることは臨床上有用であると考えられた。

参考文献

- 1) Elchalal, U. and Schenker, G.J. Hum. Reprod., 12 : 1129, 1997.
- 2) Rizk, B. *et al* : Hum. Reprod. Update, 3 : 225, 1997.
- 3) McClure, N. *et al* : Lancet, 344 : 235, 1994.
- 4) Neulen, J. *et al* : J. Clin. Endocrinol. Metab. 80 : 1967, 1995.
- 5) Senger, D.R. *et al* : Science 219 : 983, 1983.
- 6) Ferrara, N. and Henzel, W.J. : Biochem. Biophys. Res. Commun. 161 : 851, 1989.
- 7) Shibuya, M. : Adv. Cancer Res. 67 : 281, 1995.
- 8) Krasnow, J.S. *et al* : Fertil. Steril. 65 : 552, 1996.
- 9) Abramov, Y. *et al* : Fertil. Steril.

- 67 : 261, 1997.
- 10) 広井正彦 : 日産婦誌 48 : 857,
1996.
 - 11) 杉本 修ら : 日産婦誌 45 : 1359,
1993.
 - 12) Navot, D et al : Fertil. Steril. 58 :
249, 1992.
 - 13) Forman, R.G. et al : Fertil. Steril.
53 : 502, 1990.
 - 14) Garrido, C. et al : Growth
Factors 8: 109, 1993.
 - 15) Ludiwig, M. et al : Hum. Reprod.
13 : 30, 1998.

図1 卵巣過剰刺激症候群発症の病態

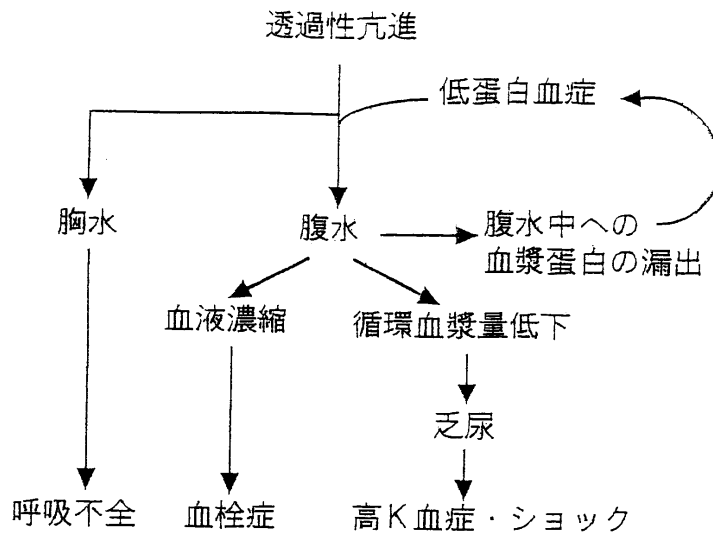


図2 方法

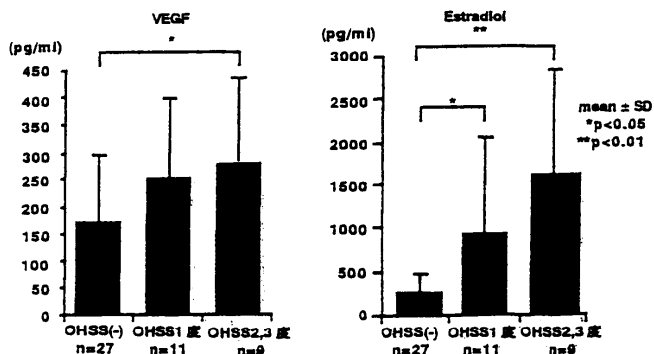
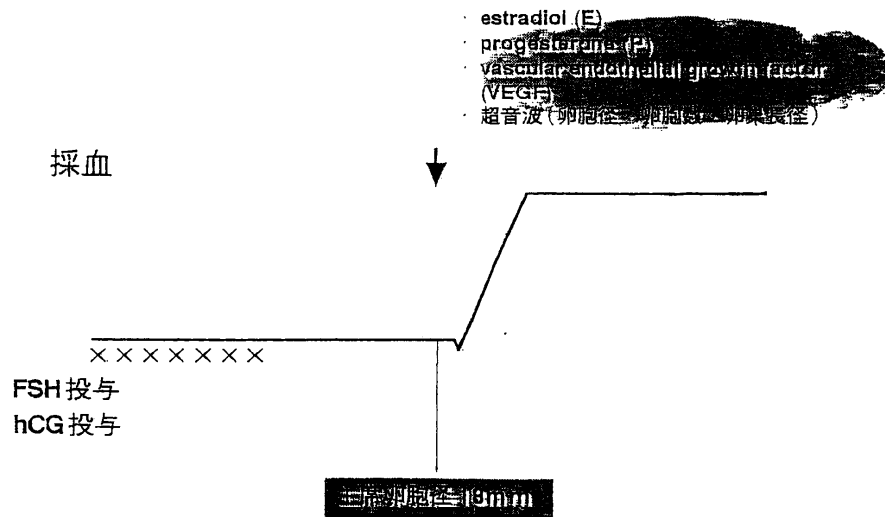


図3: hCG投与日における血中 VEGF 値 および estradiol 値

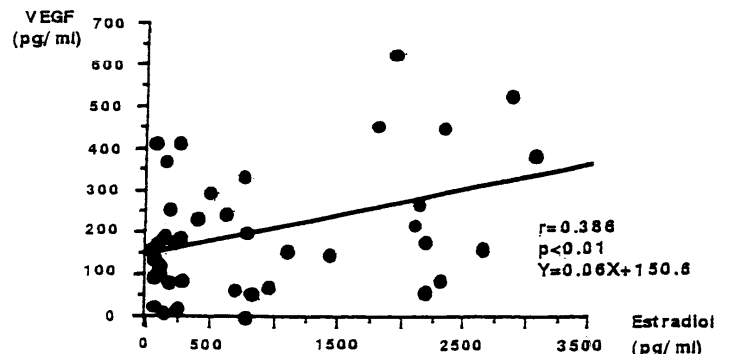


図4: 卵胞期後期血中 estradiol 値と VEGF 値との関係

図 5

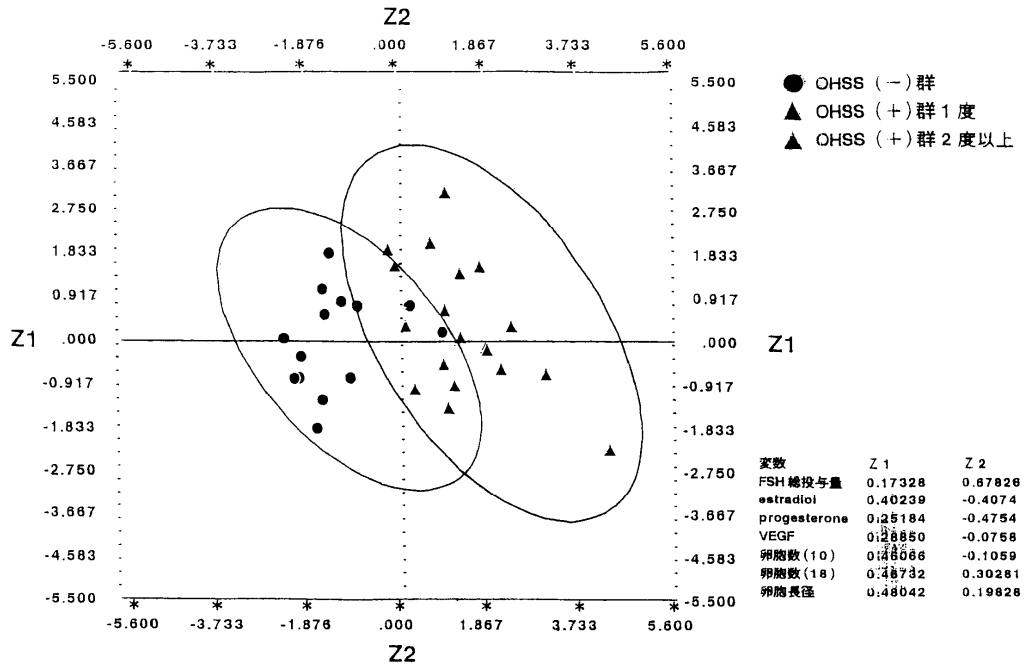


図 6

判別分析

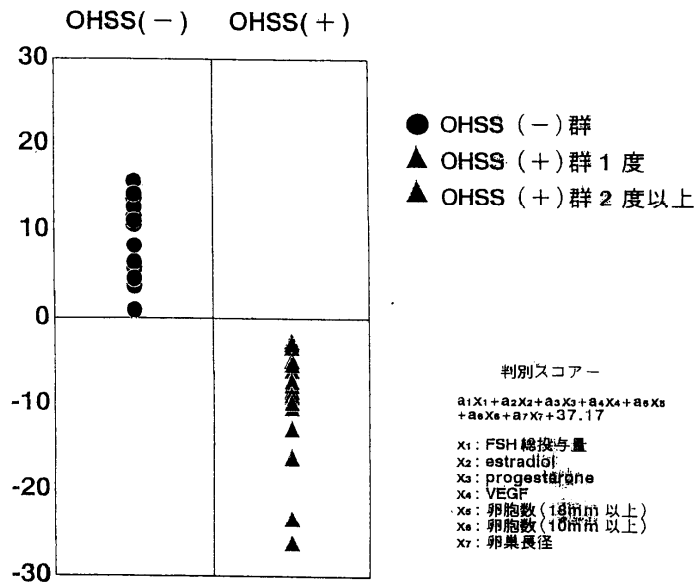


表 1

卵胞期後期における各種測定値の比較 (PCOを除く)

	FSH総投与量 (IU)	FSH投与日数 (日)	10mm以上の卵胞数	18mm以上の卵胞数	卵巣長径 (mm)	E (pg/ml)	P (ng/ml)	VEGF (pg/ml)
OHSS (-) 群 n=27 mean±SD	1340.2 ±639.7	12.9 ±4.0	** 3.1 ±2.0	** 1.7 ±1.2	** 37.2 ±9.3	** 254.2 ±228.4	0.8 ±0.6	* 177.5 ±142.4
OHSS (+) 群 n=20 mean±SD	1872.0 ±759.5	15.8 ±3.9	5.5 ±1.7	2.4 ±1.6	51.8 ±8.1	1299.3 ±996.1	0.94 ±0.6	265.2 ±143.2

* : P<0.05
** : P<0.01