

厚生科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
「わが国における生殖補助医療の実態とその在り方」
分担研究報告書

多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）に対する最適排卵誘発法の基礎的・臨床的検討
（分担研究：生殖補助医療の安全性に関する研究）

研究協力者 伊吹令人 群馬大学医学部産科婦人科学教室教授
安藤一道 群馬大学医学部附属病院周産母子センタ - 講師

研究要旨

多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）に対する最適排卵誘発法を検討するため、以下の基礎的・臨床的検討をおこなった。正常成熟マウスおよび多嚢胞性卵巣（PCO）モデルマウスの卵胞発育におけるLHの生理的意義を検討するため、recombinant human (rh) FSHおよびrhLHを用い、in vitro follicle culture systemにより検討した。その結果正常卵巣においてrhFSHとrhLHは協調的に卵胞発育に関与するが、PCOモデル卵巣ではrhLHが卵胞発育に障害的に作用する可能性が示唆され、PCOSに対するゴナドトロピン療法においても可能な限りLH活性の少ない製剤を用いるべきであると思われる。PCOSに対するゴナドトロピン療法において排卵誘発法の工夫により多胎妊娠の発生が抑制できるか否かを明らかにするため、PCOS妊娠例48例60周期について排卵誘発法別に多胎妊娠の発生を比較検討した。その結果いかなる投与方法を実施しても多胎妊娠が発生し、特にhCG切替日に14mm以上の発育卵胞数が5個以上の場合に高率に発生することが明らかとなった。従って多胎妊娠の軽減・予防にはまず単一卵胞発育率が最も高い投与方法（low-dose step-up法）を第一選択とすべきであるが、それでも多発排卵が予想される場合にはhCG投与を中断する必要があると思われる。

研究-1: Recombinant human FSH (rhFSH)およびrhLHの正常成熟マウスと多嚢胞性卵巣（PCO）モデルマウスの卵胞発育作用に関する検討

A. 研究目的

高LH血症を特徴とするPCOS症例に対するゴナドトロピン療法においては、理論的にできるだけLH活性を含まないゴナドトロピン製剤の使用が望まれる。しかしゴナドトロピン製剤の薬理動態学的検討や排卵誘発の治療成績では、製剤間に明らかな臨床成績上の差を認めていない。既に我々は厚生科学研究「子ども家庭総合研究事業」- 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（平成10年度研究報告書）-にて、LH活性が異なるrecombinant human FSH製剤、urinary purified FSH製剤、およびhMG製剤を用い、正常マウスおよび多嚢胞性卵巣（PCO）モデルマウスの卵胞発育をin vitro follicle culture systemにより検討し、正常マウスではすべての製剤が有意の卵胞発育を引き起こすが、PCOモデルマウスではhMG製剤が小卵胞への過剰刺激と中卵胞の早期黄体化を引き起こすことを明らかにした。本研究では、さらに卵胞発育におけるLHの生理的意義を検討するため、rhFSHおよびrhLHを用い正常成熟マウスおよびPCOモデル

マウスの卵胞発育を比較検討した。

B. 研究方法

8週齢のBDF-1正常成熟マウスおよびPCOモデルマウスの卵巣からsmall preantral follicle（直径;100-120 μ m）およびtertiary follicle（直径;260-300 μ m）を機械的に分離し、無添加群をcontrolとし、rhFSH（オルガノン社）およびrhLH（セローノ社）を添加し4日間培養した。連日卵胞径を計測し、培養4日目の培養液中のimmunoreactive（IR）-inhibin、estradiol（E₂）、progesterone（P）値をRIAにて測定した。PCOモデルマウス（androgen-sterilized mice）は6日齢のBDF-1幼弱雌マウスにtestosterone propionate（持田製薬）1mgを投与して作成した。なおマウスの飼育はthe principles of Animal Care and Experimentation Committee, Gunma Universityに準じておこなった。

C. 研究結果

正常成熟マウスのsmall preantral follicleおよびtertiary follicleに対して、rhFSHは濃度依存的に有意の卵胞発育促進作用を示すが、rhLHはPCOモデルマウスのtertiary follicleに対して卵胞発育促進作用を示さなかった（Figures 1 and 2）。またrhFSHとrhLHの協同作用をみると、正常成熟マウスでは有意の卵胞発育促進作用を認めしたが、PCOモデルマウスのtertiary

follicle に対しては逆に卵胞発育を抑制し、また正常成熟マウスに比べ PCO モデルマウスで有意の P 産生を認めた (Figures 3 and 4)。

D. 考察

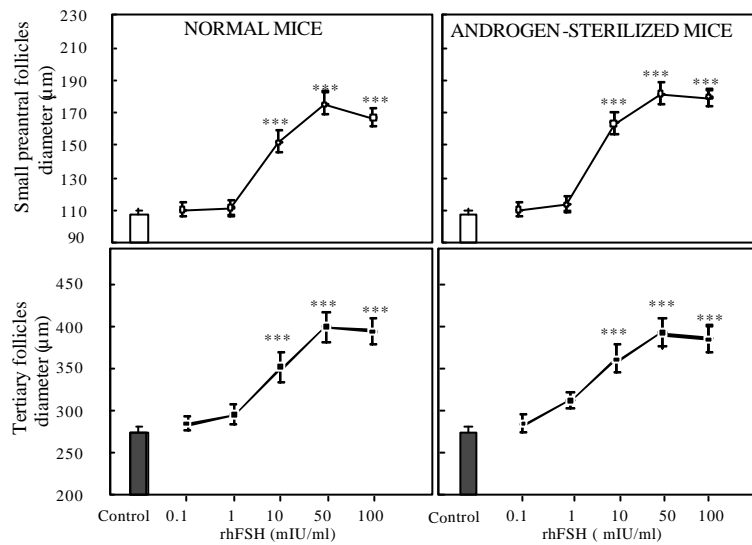
正常卵巣において LH と FSH は協調的に卵胞発育に関与するが、PCO モデル卵巣では LH が早期黄体化を引き起こし、卵胞発育に障害的に作用する可能性が示唆され、PCOS 症例に対

するゴナドトロピン療法においても可能な限り LH 活性の少ない製剤を用いるべきであると思われる。

E. 結論

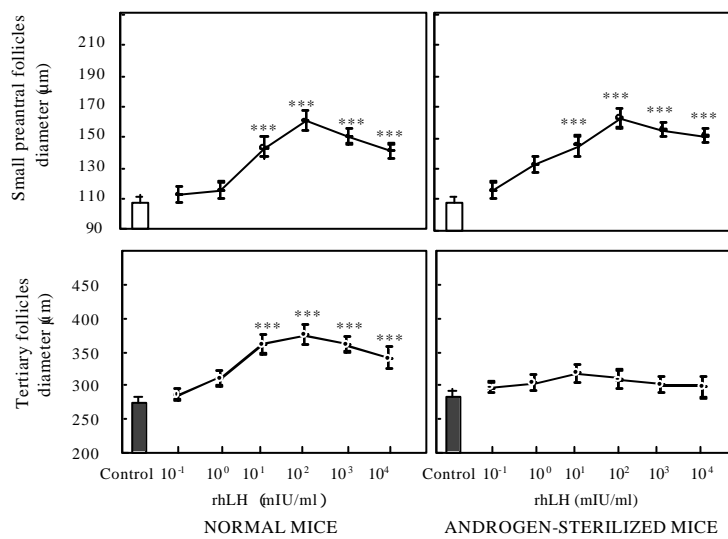
LH と FSH は正常卵巣の卵胞発育に協調的に作用するが、PCO モデル卵巣では LH が障害的に作用する可能性が明らかとなった。

Figure 1:



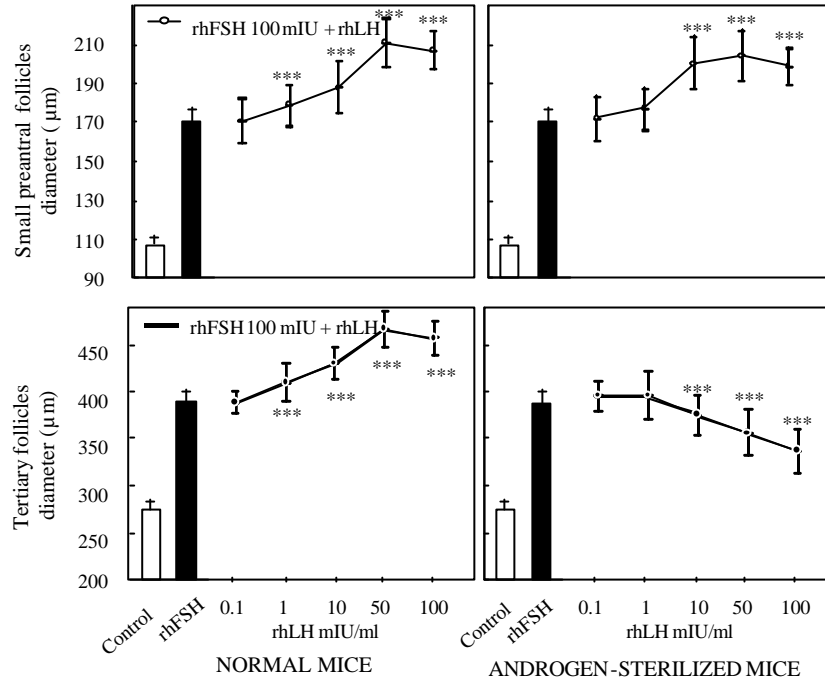
(***P<0.001 vs. control)

Figure 2:



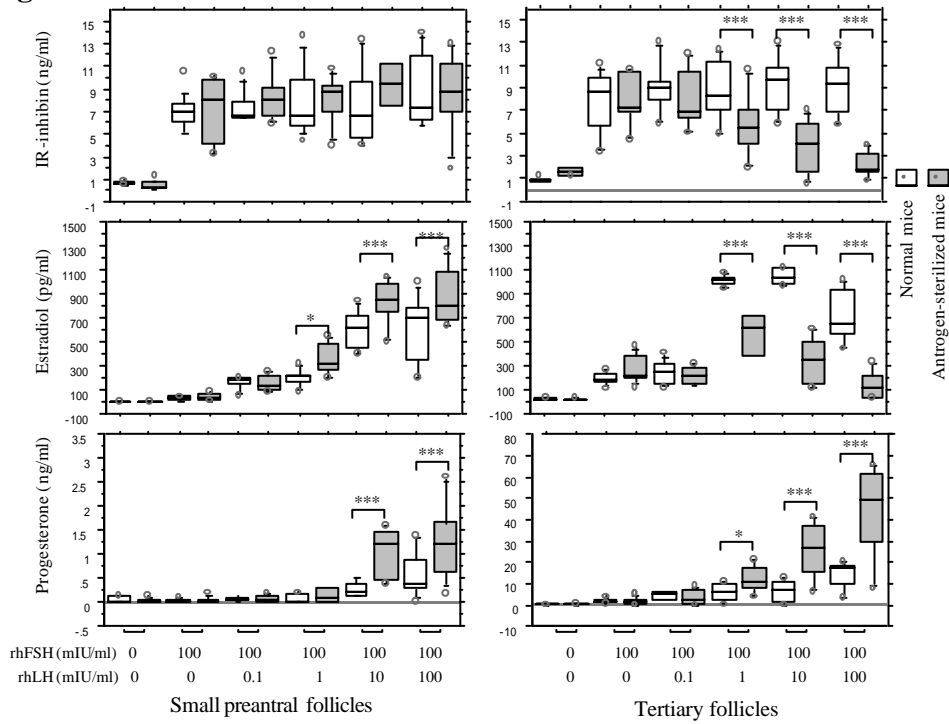
(***P<0.001 vs. control)

Figure 3:



(***P<0.001 vs. rhFSH 100 mIU)

Figure 4:



(*P<0.05, ***P<0.001)

研究-2: ゴナドトロピン療法後の多胎妊娠発生からみた最適排卵誘発法とその限界

A. 研究目的

ゴナドトロピン療法において多発卵胞発育を抑制し多胎妊娠を予防するために、step-down法や low-dose step-up法など様々な排卵誘発法が試行されてきた。本研究の目的はこれらの排卵誘発法の工夫により果たして多胎妊娠の発生が抑制できるか否か、また抑制できないとすればどのような原因によるのかを明らかにすることである。

B. 研究方法

1989年1月から1999年9月までに、群馬大学医学部附属病院産婦人科不妊外来にてゴナドトロピン療法を実施した207例805周期中、妊娠成立した97例112周期を対象に、後方視的に多胎妊娠発生の有無と基礎疾患、及びPCOS症例についてはゴナドトロピン製剤の投与方法(排卵誘発法)と発育卵胞数を調査・検討した。

C. 研究結果

表1・2に示すように、治療周期あたりの排卵率・妊娠率・多胎妊娠率は95.5%・14.0%・17.9%で、多胎妊娠の内訳は双胎妊娠が15例、品胎妊娠が5例であった。基礎疾患別にみた多胎妊娠率には有意差を認めなかった。PCOS症例に対しては、ゴナドトロピン製剤の投与量を一定(150IU/日)にしたconventional法、初期投与量を225IU/日として2日間投与しその後75IU/日に減量するstep-down法、初期投与量を75IU/日として7~14日間投与し、その後卵胞発育が認められない場合には37.5IU/日を増量するlow-dose step-up法、及びGnRH agonist(酢酸ブセレリン; スプレキュア点鼻液)900µg/日にて少なくとも2週間前処置後、投与量を一定(150IU/日)にしてゴナドトロピン製剤を投与するGnRH agonist併用conventional法の4つの投与方法を実施した。尚、主席卵胞径が18m

m以上に達した時点でhCG製剤(プレグニール)5,000~10,000IUを筋注し、多発排卵が予想される場合でもhCG投与を中断しなかった。

表3・4に示すように、治療法別にみた排卵率・妊娠率には有意差を認めないが、卵巣過剰刺激症候群(OHSS)による入院頻度はconventional法が4.2%、step-down法が2.3%で、low-dose step-up法とGnRH agonist併用conventional法では0%であった。一方すべての投与方法で多胎妊娠の発生を認め、投与方法別の多胎妊娠率には有意差を認めなかった。

図1及び表5に示すように、投与方法別にhCG切替日の14mm以上の発育卵胞数と多胎妊娠発生との関連をみると、投与方法に関係なく、発育卵胞数が5個以上の場合に多胎妊娠率が有意に高値を示した。

D. 考察

未だ完全に単一卵胞発育を引き起こすゴナドトロピン療法は確立されていない。従って、いかなる投与方法を実施しても多発卵胞発育が引き起こされる可能性があり、本研究はそのような多発卵胞発育周期に多胎妊娠が発生していることを示している。PCOSに対するゴナドトロピン療法においては、単一卵胞発育率が最も高い(多発卵胞発育を最も抑制する)low-dose step-up法が第一選択の投与方法として推奨されるが、現在おこなわれている投与方法の工夫だけでは限界があり、hCG切替日に14mm以上の発育卵胞数が5個以上の周期で多発排卵が予測される場合にはhCG投与を中断する必要があると思われる。

E. 結論

PCOSに対するゴナドトロピン療法においては単一卵胞発育率が最も高いlow-dose step-up法を第一選択の投与方法とすべきであるが、それでも多発排卵が予想される場合にはhCG投与の中断を考慮すべきである。

表1：ゴナドトロピン療法の治療成績

基礎疾患	症例	治療周期	排卵周期	OHSS入院周期	妊娠症例	妊娠周期
多嚢胞性卵巣症候群	99	457	439(96.1%)	12(2.6%)	48(48.5%)	60(13.1%)
無排卵周期症	13	29	26(90.9%)	2(6.9%)	5(38.5%)	5(17.2%)
視床下部性第一度無月経	27	123	115(93.5%)	3(2.4%)	15(55.6%)	16(13.0%)
視床下部性第二度無月経	10	26	22(84.6%)	0	5(50.0%)	7(26.9%)
Macroprolactinoma術後	4	13	12(92.3%)	0	2(50.0%)	2(15.4%)
排卵性不妊	54	157	155(97.5%)	2(1.3%)	22(40.7%)	22(14.0%)
合計	207	805	769(95.5%)	19(2.4%)	97(46.9%)	112(14.0%)

表2：ゴナドトロピン療法後の妊娠予後

基礎疾患	妊娠周期	流産	子宮外妊娠	単胎妊娠	多胎妊娠	：双胎	品胎
多嚢胞性卵巣症候群	60	7(11.7%)	1	39	13(21.7%)	：9	4
無排卵周期症	5	0	0	3	2(40.0%)	：1	1
視床下部性第一度無月経	16	3(18.8%)	2	10	1(6.3%)	：1	0
視床下部性第二度無月経	7	0	0	5	2(28.6%)	：2	0
Macroprolactinoma術後	2	0	0	1	1(50.0%)	：1	0
排卵性不妊	22	2(9.1%)	0	19	1(4.5%)	：1	0
合計	112	12(10.7%)	3	77	20(17.9%)	：15	5

**表3 :PCOSに対するゴナドトロピン療法の
投与方法別治療成績 (1989.1 ~ 1999.9)**

投与方法	症例	治療周期	排卵周期	OHSS入院	妊娠症例	妊娠周期
Conventional法	61	189	178(94.2%)	8(4.2%)	22(36.1%)	26(13.8%)
Step-down法	74	175	169(96.5%)	4(2.3%)	20(27.0%)	23(13.1%)
Low-dose step-up法	35	61	61(100%)	0	6(17.1%)	6(9.8%)
自己皮下投与方法	8	18	18(100%)	0	2(25.0%)	2(11.1%)
GnRH agonist併用 Conventional法	20	32	31(96.9%)	0	5(25.0%)	5(15.6%)
合計	99*	457	439(96.1%)	12(2.6%)	48(48.5%)*	60(13.1%)

*

**表4 :PCOSに対するゴナドトロピン療法の
投与方法別妊娠予後 (1989.1 ~ 1999.9)**

投与方法	妊娠周期	流産	子宮外妊娠	単胎妊娠	多胎妊娠 : 双胎	品胎
Conventional法	26	4(18.5%)	1	17	4(15.4%) : 3	1
Step-down法	23	2(8.7%)	0	14	7(30.4%) : 6	1
Low-dose step-up法	6	0	0	5	1(16.7%) : 0	1
自己皮下投与方法	2	0	0	2	0 : 0	0
GnRH agonist併用 conventional法	5	1(20.0%)	0	3	1(20.0%) : 0	1
合計	60	7(11.7%)	1	39	13(21.7%) : 9	4

図 1 : 投与方法別にみた hCG 切替日の 14mm 以上の発育卵胞数と多胎妊娠発生との関連

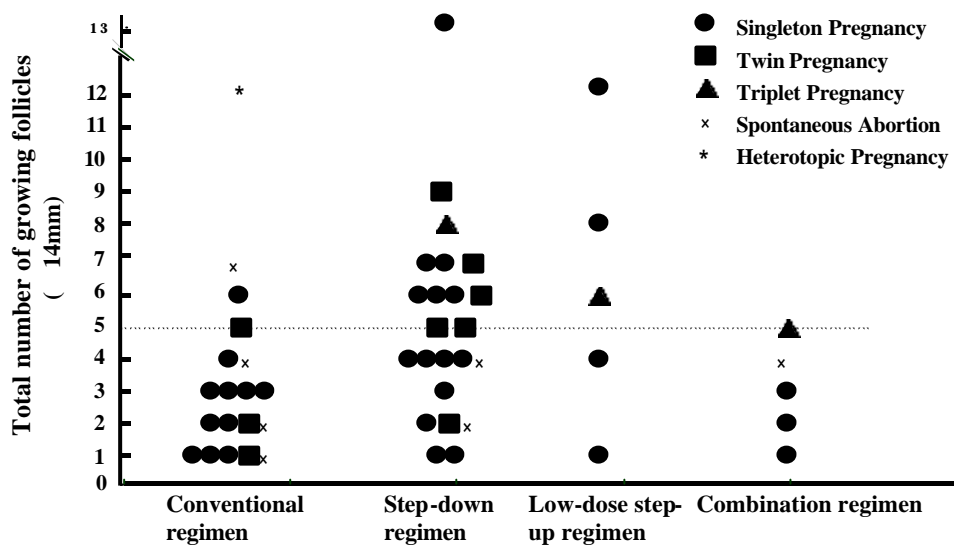


表5 :PCOSに対するゴナドトロピン療法の投与方法別にみた発育卵胞数と多胎妊娠頻度

hCG切替え日の 発育卵胞数 (14mm)	投与方法別にみた双胎・品胎妊娠頻度				合計
	Conventional法	Step-down法	Low-dose step-up法	GnRH agonist併用 conventional法	
4	2/15(13.3%)	1/11(9.1%)	0/2(0%)	0/4(0%)	3/32(9.4%)*
5	1/4(25.0%)	6/12(50.0%)	1/3(33.3%)	1/1(100%)	9/20(45.0%)*

Fisher's exact probability test *p=0.0056

F. 研究発表

1. 論文発表

Liu X, Andoh K, Kamijo T, Yamada K, Mizunuma H, Ibuki Y. The relationship between the number of growing follicles and the occurrence of multiple pregnancies in women treated with gonadotropin. *Jpn J Fertil Steril* 1999; 44: 213-219

Liu X, Andoh K, Abe Y, Kobayashi J, Yamada K, Mizunuma H, Ibuki Y. A comparative study on transforming growth factor-beta and activin A for preantral follicles from adult, immature, and diethylstilbestrol-primed immature mice. *Endocrinology* 1999; 140: 2480-5

Kobayashi J, Mizunuma H, Kikuchi N, Liu X, Andoh K, Abe Y, Yokota H, Yamada K, Ibuki Y, Hagiwara H. Morphological Assessment of the Effect of Growth Hormone on Preantral Follicles from 11-Day-Old Mice in an in Vitro Culture System. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 5;268:36-41

2. 学会発表

安藤一道、王華、上条隆典、山田清彦、水沼英樹、伊吹令人。ゴナドトロピン療法後の品胎妊娠の検討。(第44回日本不妊学会学術講演会)

安藤一道、劉曉偉、安部由美子、小林淳郎、菊池信正、山田清彦、水沼英樹、伊吹令人。In vitro follicle culture system を用いた follistatin の卵胞発育作用に関する検討。(第51回日本産科婦人科学会学術講演会)

劉曉偉、安藤一道、上条隆典、安部由美子、山田清彦、水沼英樹、伊吹令人。Androgen-sterilized mice (PCO モデルマウス) の卵胞発育に対するゴナドトロピンの作用: In vitro follicle culture system を用いた

検討。(第51回日本産科婦人科学会学術講演会)

菊池信正、小林淳郎、劉曉偉、横田秀巳、安部由美子、安藤一道、山田清彦、水沼英樹、伊吹令人。In vitro follicle culture system を用いた幼弱マウス未熟卵における IGF-1, activin, leptin の卵胞発育に関する基礎的研究。(第51回日本産科婦人科学会学術講演会)

菊池信正、安藤一道、山田清彦、水沼英樹、伊吹令人。レプチンの卵胞発育に関する研究(IGF-1-GH系を利用した細胞増殖能に対する影響)。(第44回日本不妊学会学術講演会)

王華、安藤一道、菊池信正、安部由美子、山田清彦、水沼英樹、伊吹令人。未熟マウスの卵胞発育に対するアンドロゲンの作用。(第44回日本不妊学会学術講演会)

上条隆典、山田清彦、水沼英樹、安藤一道、伊吹令人。マイクロラパロスコピー(細径腹腔鏡)の有用性 術後疼痛の軽減と早期回復の観点から。(第44回日本不妊学会学術講演会)

山田清彦、上条隆典、安藤一道、水沼英樹、伊吹令人。超音波凝固切開を用いた腹腔鏡下子宮筋腫核出術の経験。(第44回日本不妊学会学術講演会)

など

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし