

ISSN 1881-9028

日本IVF学会雑誌

Vol.27 No.1

2024

JSAR
Japan Society of Assisted Reproduction

追悼座談会「IVFにおける柳町隆造先生の功績とその位置付け」..... 3

塩谷 雅英 (一般社団法人 日本IVF学会 理事長/英ウィメンズクリニック 理事長)
森本 義晴 (医療法人 三慧会 理事長/ IVF JAPAN CEO)
柴原 浩章 (兵庫医科大学産婦人科学 主任教授)
星 和彦 (スズキ記念病院 名誉院長)
両角 和人 (両角レディースクリニック 院長)

特別企画「受精障害の改善に向けて～受精前後の卵子の取り扱い, 卵子の人為的活性化」

序文..... 10

木村 直子

山形大学大学院農学研究科動物機能調節学分野

— 総説 —

受精と卵活性化..... 11

若井 拓哉

岡山大学学術研究院・環境生命自然科学学域

— 総説 —

ICSIまでの工程 ～臨床成績に及ぼす影響～..... 17

長谷川 久隆, 星野 由貴, 吉田 淳

木場公園クリニック

— 総説 —

人為的卵活性化技術の最新動向..... 22

宮崎 康太郎, 山田 満穂

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

論 文

— 原著 —

ホルトロピンデルタ (レコベル®皮下注ペン) を用いた誘発法におけるGnRHアンタゴニスト投与の
タイミングに注目したマッチング解析..... 28

花岡 正智, 花岡 嘉奈子, 山田 舞夕

はなおかIVFクリニック品川

著者の申し出により、本論文の掲載を取り下げました。..... 33

— 原著 —		
不妊治療中の患者を対象とした葉酸および神経管閉鎖障害に関する 意識調査を踏まえた情報提供のあり方についての検討	41	藤井 美喜, 山本 健児, 苔口 昭次, 岩崎 利郎, 塩谷 雅英 英ウイメンズクリニック
— 原著 —		
不妊治療を受ける患者が薬剤師に求める支援内容	47	前田 優磨 ¹ , 辻 勲 ¹ , 小松原 千暁 ¹ , 岡村 太郎 ¹ , 福田 愛作 ¹ , 森本 義晴 ² ¹ IVF大阪クリニック / ² HORAC グランフロント大阪クリニック
— 原著 —		
Progestin primed ovarian stimulation (PPOS) 法における 採卵決定時のLH値別卵子成熟率の比較	53	深川 真弓 ^{1,2} , 藤田 智之 ¹ , 三田尾 拓 ¹ , 蔵本 和孝 ² , 小川 尚子 ² , 大塚 未砂子 ² , 吉岡 尚美 ² , 蔵本 武志 ² ¹ 久留米大学病院産科婦人科学教室 / ² 蔵本ウイメンズクリニック
— 調査報告 —		
ARTにおける黄体補充について日本IVF学会が実施したアンケート調査 — 不妊治療の保険適用とホルモン製剤の供給不足による影響	58	東口 篤司 ¹ , 塩谷 雅英 ² ¹ 札幌エンドメトリウムリサーチ / ² 英ウイメンズクリニック
— 短報 —		
産休育休により長期間臨床現場を離れることは胚培養士の技術維持に影響するか	65	星田 汐美 ¹ , 宗 修平 ^{1,2} , 榎原 由佳 ¹ , 川合 優菜 ¹ , 日野 沙也加 ¹ , 宮村 知子 ¹ , 石川 立 ¹ , 南波 美沙 ¹ , 宮野 奈緒美 ¹ , 村林 奈緒 ^{1,2} , 山口 和香佐 ¹ , 俵 史子 ¹ ¹ 俵IVFクリニック / ² 浜松医科大学大学生殖周産期医学講座
第27回 日本IVF学会学術集会のご案内	71	
日本IVF学会雑誌発行における投稿論文募集のお知らせ	72	
日本IVF学会雑誌 投稿規定	73	
一般社団法人 日本IVF学会 定款	75	
一般社団法人 日本IVF学会 役員	81	
編集委員会	82	

[追悼座談会]

IVFにおける 柳町隆造先生の功績と その位置付け



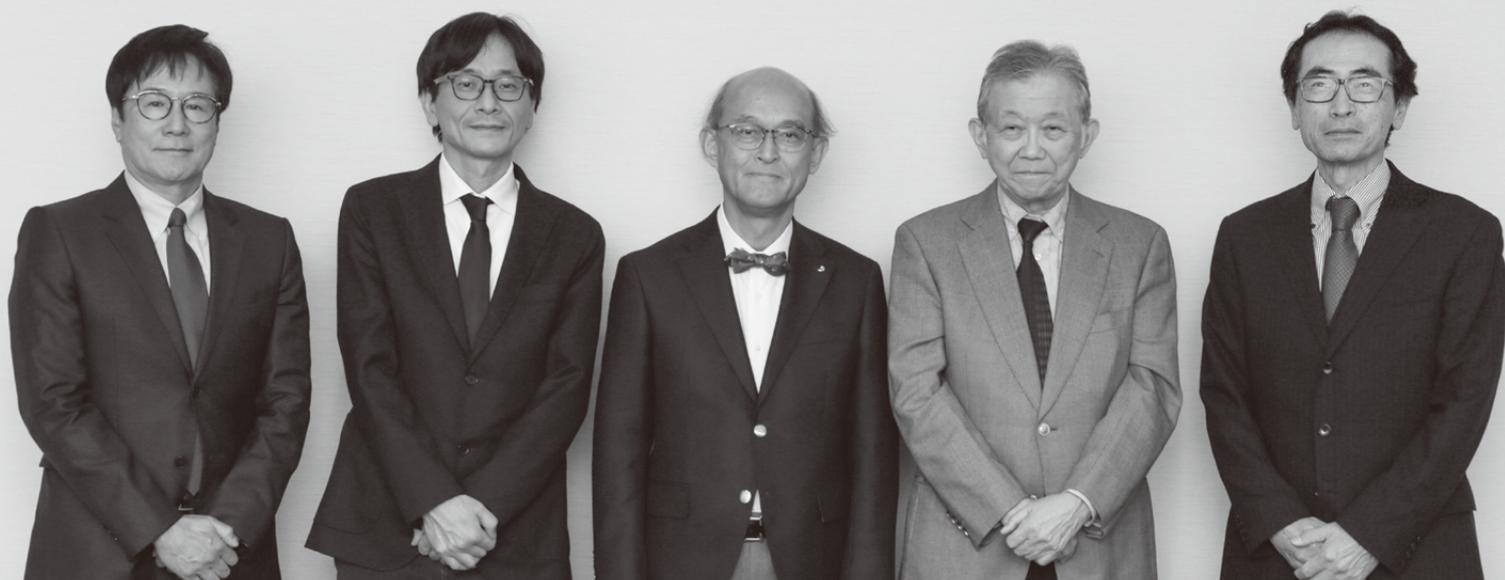
塩谷 雅英 一般社団法人 日本IVF学会 理事長／英ウィメンズクリニック 理事長

森本 義晴 医療法人 三慧会 理事長／IVF JAPAN CEO

柴原 浩章 兵庫医科大学産婦人科学 主任教授

星 和彦 スズキ記念病院 名誉院長

両角 和人 両角レディースクリニック 院長



【塩谷】 本日はご多忙のところお集まりいただき、誠にありがとうございました。

世界的に知られている生殖生物学者の柳町隆造先生が、2023年9月に95歳で亡くなりました。今日行われている体外受精の基礎は先生の研究によるところが大きく、1964年に行われたハムスターによる体外受精の成功は、後の生殖医療の先駆けとなりました。また、哺乳類のクローン技術における先駆者の一人であり、1998年には世界初のクローンマウスの作製に成功されています。

日本との関わりにおいては、2007年ならびに2011年に日本IVF学会の招聘

により来日され、ご講演していただきました。これをきっかけに日本IVF学会は柳町先生の名が末永く残るようにと「柳町隆造賞」を設け、顕著な業績、特筆すべき研究があった方に対して毎年1名を表彰しています。

今回、日本IVF学会は柳町隆造先生を偲んで座談会を設けました。先生の研究の功績、IVFにおける位置付け、日本の生殖医療界との関わりなど、多方面から論じていただきたいと思います。最初に柳町先生の1960年代の業績ついての話をお願いいたします。

1960年代の体外受精研究

【星】 先生がハムスターで体外受精に成功するまでは、精巢から採取した精子で体外受精を行うことができませんでした。1950年代の体外受精は雌の体の中に一度入った精子を採取し、体外受精を行うin vivoのCapacitationが主流だったと思います。そうした時代に柳町先生はハムスターの精巢上体から採取した精子を、体外培養液のタイロードに入れて受精させた。1964年のことです。成功率は55%、当時としては高い受精率で、これが世界最初の体外受精の成功となりました。



森本義晴先生



星和彦先生



両角和人先生

【森本】生殖医療を手がけるようになったばかりの頃、体外受精についての書籍を調べていると、「Yanagimachi」という名前をよく見掛けました。最初、まさか日本人とは思いませんでした。まさに今日の体外受精の基礎を作られた方です。当時、先生とお会いできるとは夢にも思いませんでした。

今日では先生の名前を知らない胚培養士の方がいますが、これは私達の責任だと感じています。やはり、そうした業績を社会に向けて発信していかなければならない。柳町先生はロバート・エドワーズ先生をノーベル賞候補として推薦したと言っていました。本当は先生が貰うべきだったのではないのでしょうか。

2023年に先生は先端技術部門で京都賞を受賞されました。すでに先生は亡くなられていたのに、非常に残念な思いがしました。私達にとって偉大な父のような存在だったと考えています。

【両角】私は柳町先生のパワーポイントをよく作成していましたが、その時にいろいろな話を聞きました。自分が今あるのはM. C. Chang博士のお陰だ。当時、日中関係は悪かったが、彼は中国人であるにも関わらず、日本人の私に様々なチャンスを与えてくれた。これが米国という国だよ、と言っていましたね。そして米国に世界中の優秀な研究者が集まる理由はそこにあるとも語っていました。

【柴原】私は1990年、米国のバージニ

ア州ノーフォークのGeorge Instituteに留学し、「抗精子抗体による受精障害」というテーマで研究生活を送りました。半年間の留学生活でしたが、研究していく中で柳町先生の受精に関する論文を多数読ませていただく機会がありました。帰国前に私はぜひ柳町先生にお会いしたいと思い、思い切って先生にファックスを送りました。ぜひ立ち寄ってくださいとのことのお返事をいただき、早速ラボにお邪魔しました。すると先生から見学だけでもいいので、今の研究内容でセミナーをやってくださいとのことのお話がありました。非常に光栄な経験をさせていただいたと思います。セミナー終了後は先生と奥様、私の家族との会食になり、とてもいい思い出となりました。

ヒトでの体外受精が始まり、今では透明帯による受精機能検査を行うようになりました。しかし、そうしたものがなかった時代にハムスターの卵子の透明帯を融解して、別の動物の精子を入れるという発想はすごいと思いました。非常に尊敬の念を覚えたことを記憶しています。

【塩谷】ハムスターによるin vitroによる受精は難しいと言われていました。それにも関わらずハムスターで成功されたのは素晴らしいと思います。柳町先生は困難なことに敢えて挑戦されているようですが、どうしてそのようなことができたのでしょうか。

【星】偶然に思いついたのではなく、いろ

いろと試行錯誤していたのだと思います。やるだけやってポツと出てきたということでしょう。

普通だったら絶対に手をつけないようなところを考えますね。例えばハムスターの卵子と他の動物の精子を組み合わせるといことは、普通だったら考えつきません。やってみたらどうだろうといった発想から生まれたのでしょうか。

体細胞クローンの研究とマウスによるICSIの実施

【塩谷】続いて、柳町先生の大きな業績の一つ、1998年に発表された世界初のクローンマウスについてです。今でもこの業績は記憶に新しいところですが、森本先生、クローンマウスに関して柳町先生との関わりはありますか。

【森本】私は先生の研究室に何回も通っていますが、ある時訪問したらマウスの卵丘細胞から作ったCumulinaという名のクローンマウスに取り組んでいました。その剥製も見せていただきましたが、先生にとってはクローンマウスが人生のトピックスの一つだったのではないのでしょうか。全世界に先生の名を知らしめた大きなきっかけになったと思います。

【星】僕は生きたクローンマウスを触りました。家内も触ったのだけれども、普通のマウスと全然変わらない。

柳町先生はICSIにも取り組まれました。

マウスのICSIは手を出してはいけないと言われるほど非常に難しい。マウスの卵はなかなか針が刺さりません。伸展性が強いので、ぐっと押すと三日月状になってしまう。また、ちょっと力を入れて穴を開けるとすぐ破裂します。福島県立医科大学の木村康之先生がハワイに行き、柳町先生と一緒にマウスのICSIにトライしました。6ヵ月を要しましたが、針の形や培養液の濃度、温度などを変えて、マウスの卵子に針を刺すことに成功します。1995年のことでした。

やはりマウスでないとクローン研究は進みません。あれからですよ、クローン研究が一挙に伸びていったのは、そういった意味ではやはりすごいですね。

【両角】 私は2004年に留学し、柳町先生の下に2年半いましたが、木村先生と同じ実験室で研究していたので、ICSIのことは聞いていました。柳町先生は、なぜか特殊な微細振動のピエゾパルスのことを知っていました。ピエゾをICSIに用いることを考えていたようです。ピエゾICSIは現在、ヒトに使用されていますが、最初は柳町先生の下で木村先生がマウスで実施しました。その成功を見て、同じ実験室にいた若山照彦先生がマウスのクローニングに応用したようです。

若山先生はクローンの実験をマイクロマニピュレーターで行っていました。その技術力は非常に優れていて、除核からインジェクションまでの作業をかなりの短時間で行っていった様です。私などはどう頑張っても1時間で100個が限界だった。約2ヵ月で技術をマスターし、何とかクローンマウスは作れるようになりましたが、あまりにもヒトの研究とはかけ離れていました。途中から柳町先生に「もうやめなさい。あなたは臨床をやりなさい」と言われ、クローンは止めることにしました。

【塩谷】 当時、柳町先生の教室では、全員がクローンマウスの作製に従事していたのですか。

【両角】 基本的に全員作ることができました。

【塩谷】 京都賞の受賞はこのクローンでしたね。

【星】 クローンマウスは米国でも結構話題になっていました。

【柴原】 体細胞クローン研究の欄に「ホルルテクニクがハワイ州ホルルにあるピショップミュージアムと、イリノイ州シカゴにあるミュージアムでも展示される」と書いてあります。何故、シカゴにと思いましたが、米国本土でもすごく注目されたということですね。

顕微授精における柳町先生への評価

【塩谷】 次のテーマは、柳町先生が開発された顕微授精についてです。これはピエゾICSIということになりますか。

【両角】 そうです。マウスで最初に行われ、次にヒトになりますが、福島県立医科大学は最初からピエゾICSIをヒトで行っていました。

【星】 東京大学でも使っていました。亡くなった東京大学の桑原慶紀先生が「これを顕微授精に使えるか」と言っていたので、見せてもらったことがあります。でも、どこが最初に使ったかはちょっと分かりませんね。

【塩谷】 ピエゾというのは元々何に使われていた技術だったのですか。

【両角】 プリマムが持っている特許です。何に使われていたかは分かりません。マウスのICSIは非常に難しく、ピエゾを使わないと絶対にできない。コンベンショナルでは無理です。日本の培養士が行っても、マウスのICSIは相当時間がかかると思います。

【塩谷】 当初、ピエゾICSIは福島県立医科大学から盛んに発表がありましたが、全国には普及しませんでした。しかし、この数年、見直されつつあります。ピエゾを

採用している医師、全例ピエゾをやっている施設が増えていきますね。

【森本】 私の施設でも早くから行っていました。導入が楽ですし、安定性がある。柳町先生には2023年にISIVF(International Society for In Vitro Fertilization) 大阪大会でピエゾICSIについて講演していただくことになっていました。

【塩谷】 柳町先生の研究室で開発されたピエゾは、今の私達にとって無くてはならないものになっています。

【森本】 ICSIが臨床で行われるようになったのも、先生の功績だったと考えています。日頃から私は言っています。体外受精はメイド・イン・ジャパンであると。

【星】 その通りだと思います。ICSIは琉球大学の上原剛先生のウニの実験から、柳町先生が着想を得たものです。柳町先生はその技術を知って、1976年に上原先生をハワイに呼び、ハムスターで実験しました。ハムスターの卵に未熟な精子を入れ、どのくらいから前核形成が起こるのか観察していたようです。ハワイに行った折、機械を見せていただきましたが、とんでもないことをするなと思いました。

国内で体外受精が成功し、次にICSIをヒトでという時に、ハワイで見たその機械を思い出しました。福島医科大学の人達に、ハワイに行ってICSIの勉強をするように進めましたね。柳田薫先生をはじめとして10人くらいで行ったと思います。

【塩谷】 ベルギーのパレルモ博士が1992年に世界初のICSIによる出産を成功させますが、その前ですか。

【星】 研究していたのはその前ですね。パレルモには半年差で負けてしまいました。研究開始は日本の方が早かったと思います。また、柳町先生はICSIを基礎実験として重要と考えていましたが、生殖医療でこれほど広がるとは思っていなかったようです。ご本人が「20年後の今、これがすごいらしいね」と言っていましたから。

【森本】 論文でUehara and Yanagimachi

の名前を目にするのはそのためなので
すね。

【星】ICSIの歴史を振り返ってみると、上
原先生の技術はすごいと思います。また、
それをやらせた柳町先生もやはりすごい
なと感じています。

日本の生殖医療との関わり

【森本】2001年に日本IVF学会が淡路
島で開催された時、後にノーベル賞を取
ることになるロバート・エドワーズを招聘
しました。そして2007年に柳町先生を
招いています。その際に顧問をお願いし
たら、引き受けていただいたというご縁で
す。関わりは非常に深いですね。エドワー
ズは体調を崩していましたから、柳町先生
には何回か日本に来ていただかねばなら
ないと思いました。

ISIVFの講演を依頼した折に「何の
話をすればいいのだ」とおっしゃるので、
若者にメッセージをくださいとお願い
しました。最後に先生にお会いしたのは、
2023年の夏、帯広畜産大学においてで
す。飛行機が夜に羽田に着き、帯広行き
の飛行機を逃してしまったと言っていまし
た。ホテルを探したらいいのですが見つか
らなくて、結局国際線のベンチで一夜を
明かしたそうです。驚きましたね。

【塩谷】当時、95歳ですよ。

【森本】晩年、ひょうひょうと生きておられ
ましたね。私達にとってはとても大きな存
在でした。講演を聞いたら皆が感動するし、
若い人にも少なからぬ影響を与えたと思
います。日本IVF学会では柳町賞の受賞
者に先生の論文のコピーを毎回渡してい
ます。若い人にとっては良い財産になる
のではないのでしょうか。

【塩谷】両角先生は昨年8月にお会いに
行かれたということですが、その時はまだ
お元気だったのでしょうか。

【両角】とても元気でした。コロナ禍前は
毎年夏冬2回行っていました。2023年
の8月、亡くなる1ヵ月前にもお会いして
います。一緒に食事して、研究室にも行っ
ていろいろ相談しました。「年末にうちに
来てください。手料理を作るから」と言
われたことが忘れられません。それがで
きなかつたことを後悔しています。本当に
息子のように可愛がっていただいていた
ので、亡くなったことは非常に大きなショ
ックでした。

娘はハワイで2006年に生まれたので
すが、翌日には奥さまと一緒に来られまし
た。本当の家族のようなお付き合いをし
ていただいたと思います。

【柴原】以前、受精の勉強をする際、先
生の『Physiology of Reproduction』
を何度か読ませていただきました。私に
とってバイブルのような本でしたので、で

ければ若い医師達と抄読会をやってみた
いと思っています。先ほど若手の医療者
が柳町先生の名をご存知ないとの話が出
ましたが、こうした名著は次の世代にきち
んと伝えなければなりません。

【塩谷】柳町先生のクローン技術やピエ
ゾICSIは、日本に限らず世界の生殖医療
の礎になっていると考えます。星先生はど
のような指導を受けたのでしょうか。

【星】1978年に英国で体外受精が成功
し、世界中でトライアルが始まりました。
私が在籍していた東北大学でも鈴木雅洲
教授が取り組みを考えるようになりました。
鈴木教授は柳町先生と米国のウース
ター財団実験生物学研究所と一緒に学ん
だ仲だったので、個人的にご存知でした。
私は教授から「M.C.Changの一番弟子
で生物学的な体外受精を研究している人
だから、基礎を勉強してこい」と言われ、
ハワイに留学しました。

先生の下で勉強するようになってショ
ックを受けたのは、受精が精子と卵子が1
対1で起こる現象であり、対等な関係に
あることを教えられたことです。精子より
も卵子の方が大きい。しかし、あれは対等
な関係にあって、受精の前半はむしろ精
子が主役であると先生は言っていました。
つまり、卵子は待っているだけなので、精
子が能動的に動いて卵に近づき、中に進
入しなければならぬ。だから体外受精

“ Do not be satisfied with what is known today.

現在の既知事項に満足すべからず。

There are many things very important, yet not fully explored or not explored at all.

非常に重要な事柄は多くあり、それは未だ十分探求されていない、あるいはまったく探求されていないものである。

When you go where no one has been before, you are bound to find something new.

誰も行ったことのない場所へ行くとき、あなたは必ず何かを新たに発見するはずである。

Success is not built on success. It is built on failures (failure is mother of success).

成功は成功の上に建つものではない。それは失敗の上に建つのである(失敗は成功の母)。

Fact is your strongest friend.

事実はあなたの最強の友である。

若き研究者へ向けた柳町先生のメッセージ(2020年 ISIVF 諮問委員会)



塩谷雅英先生



柴原浩章先生

を成功の鍵は、精子にとって最も良い環境を作ることだ、と研究ポイントをアドバイスしていただきました。

しかし、ヒトの精子で研究するにはヒトの卵が必要です。しかし、それはできません。先生に相談したところ、透明帯を取ったハムスターの卵を使うように指導されました。透明帯を取ったハムスターの卵はハムスター以外の精子も受け入れます。卵にはcapacitation, hyperactivation, acrosome reactionを起こす精子しか入れないので、それは受精能を持っていることを意味しました。先生からは、そんな精子にとって最適な培養液を作るように、と指示されました。

その後、ハムスターテストをずっと続けました。培養液に含まれているカルシウムやカリウム、グルコースなどを除去したりして、何が重要なのかいろいろ試してみました。しかし、私が一番心配だったのはハムスターの卵にヒトの精子が入って、別の生物ができてしまうことでした。先生にそのことを言ったところ、「絶対にできない、前核形成で終わる」ときっぱり言われました。

受精能を持った精子がいられるような培養液を何とか開発し、それを日本に持ち帰りました。東北大学でその培養液を使って精子を観察しながら、私はさらにスィムアップ法を学びます。そして日本初の体外受精の出産を東北大学から発表することができました。これが実現できたのも、柳町先生のお陰だと思っています。

柳町先生の研究所にはオーストラリアからも留学生が来ていました。エドワーズとも頻りに連絡を取っていたようです。世界の主だった国の最初期の体外受精は、先生に何らかの影響を受けていたのではないのでしょうか。

【森本】 昨年の秋、柳町先生が私に論文を送ってこられました。軽く書いたと言っていました。32ページもあってこれまでの集大成のようなものでした。タイトルはMysteries and unsolved problems of mammalian fertilizationでBiology of Reproductionという科学ジャーナルに掲載されました。これが最後の論文ではなかったかと思えます。

研究におけるエピソードと人間的魅力

【塩谷】 両角先生は年に2回、定期的な会いに行かれていたようですが、どのようなことを学ばれたのでしょうか。

【両角】 柳町先生には当クリニックのラボにも2回来ていただきました。教科書で伝説の柳町先生が来たということで、培養士のメンバーも感動していました。私はいつも柳町先生に言われていました。「まだ、お前は何も分かっていない。もっとクレイジーになってやりなさい」と。一方で柳町先生は、自分自身のことも何も分かっていないと言うのです。だからでしょう。「分かったふりはするな」といつも言っ

ていました。

よく口にしたのは「例外を見逃すな」という言葉です。「例外をただのエラーとは思わないこと、そこにヒントがある」と言っていました。非常に含蓄があります。「10個位やったが、1個しか当たらなかった」ともよく言っていました。その本意は「たくさん失敗して、そこから学びなさい」ということなのでしょう。

こんなやり取りもありました。「クレイジーな質問をどんどんしてこい」と最初に言い、そして「お前は何も分かっていないのだから、馬鹿なのだから、俺のように頭が固くないのだからどんどん質問してこい。その中に正解があるかもしれない」と言うのです。最初の頃は100個ぐらい質問を書いていた。それを先生に見せて「どうですか」と聞いたら、「全部駄目。でも、そのくらいの勢いでやりなさい。くだらない質問をいっぱい考えなさい。それがブレイクスルーのヒントだから」と言ってくれました。先生はその精神で常にチャレンジしたからこそ、あれだけの仕事のできたのだと思います。

【塩谷】 ハムスターの卵とヒトの精子を受精させるという発想は、ちょっとクレイジーでないと思いつかない。

【両角】 マウスにいろいろな精子を入れさせられました。ヒトだけではなく、ブタやウシなどですね。さらに「精子を2匹入れてみる」、「3匹入れてみる」と言ったりする。「先生、どこまでやるのですか」

と聞いたら、「マンモスを知っているか。マンモスでやるぞ」とか言ったりして、確か、当時シベリアの凍土でマンモスが見つかったというニュースが流れていた時だったと思います。本当にクレージーなことを次々と考えていましたね。

【塩谷】 柳町先生の場合、素晴らしい業績がありますが、一方で先生の人間的魅力に魅かれている部分もあると思います。森本先生は柳町先生の人間としての魅力をどのように感じていますか。

【森本】 僕自身は半弟子のように思っていますが、弟子ではありません。留学して先生の下で研究したわけではない。でも、私にとっては可愛らしいお爺さんという感じでしたね。みんな本当に好きだったと思います。会った人が自然に好きになってしまう。そんな魅力を持っていました。しかし、その背後には激しい情熱があり、それが90歳を過ぎてても失われていない。パッと何かを言われたら、その言葉の中には深い真実がある。そんな感じでした。

【星】 東北大学でも知っている先生はもう少ないと思いますが、実は私がハワイに行ったのは本意ではなかったのです。本来、私は周産期医療をやりたくて産婦人科を選びました。学位も新生児で取りましたし、IUGR(子宮内胎児発育遅延)に興味を持っていた。卒業後の8年間はマウスなどの実験を行いながら研究ばかりしていました。

ある時教授室に呼ばれて、鈴木教授から「周産期は誰か他の先生に任せて、体外受精をやるように」と突然言われました。当時の私は生殖医療に全く興味がありませんでした。周産期医療をやりたくて産婦人科に入ったのですから、どうしても納得できません。先輩にもいろいろお願いしたのですが、何回か教授室に呼ばれて強引に説得されました。そして波々ハワイに行くことになったわけです。その時は体外受精の基礎である培養液の研究で結果を出し、再び周産期に戻るつもりでいました。

ハワイで柳町先生に初めて会って、素直にすごい人だなと思いました。研究者として素晴らしい実績を残し、指導者としても魅力がある。先ほど両角先生が言ったように何を聞いても答えてくれるし、いろいろなことを教えてくれます。1~2週間会っているうちに、周産期を諦めて生殖医療に進むのもいいか位に思うようになりました。結局、1年半お世話になりましたが、本当に人柄に魅了された。出会えてよかったと思っています。

【両角】 私は2004年9月にハワイ大学に留学したのですが、柳町先生は12月には大学を引退されて名誉教授となりました。私を紹介する時には、必ず「最後の弟子」と言ってくれました。

先生は毎日ラボに来て研究をしていました。つまり日曜日というものが無い。ラ

ボに行くといつも必ずいらっしゃいます。また、時間に対する感覚も普通ではなくて、待ち合わせたりすると先にいるような方でした。昨年8月に会った折には、待ち合わせ場所に30分前に行ったのですが、すでにいらっしゃっていました。時間に関しては不思議な感覚をお持ちでしたね。

【星】 ちょっと気が短いところがある。先生の車に乗ると、ドアが閉まる前に動き出す。

【両角】 せっかちだったと思います。階段も一段おきが上がって行く。

【森本】 私はミトコンドリア移植の論文を投稿していたのですが、なかなか掲載されなかった。先生に見ていただいた幾つかが落ちたので、申し訳ないと思って先生の名誉のために名前を外す旨を話しました。すると先生は「この論文は必ず通る。通さないジャーナルが悪い」と言ったのです。結局、その論文は掲載されましたが、その時は粘り強い人だなと思いました。自分の信念を曲げない、意志の強い方です。

【柴原】 米国留学時に柳町先生とお会いしましたが、私が若かったこともあって非常に緊張しました。しかし、こんな若い者にも気さくに接してくれて、たいへん嬉しかった。皆さんのお話を聞いていると、直接指導を受けたかったと思います。

森本先生がBiology of Reproductionの論文を教えてくださいましたので、ぜひ私達の手で日本語に翻訳したいと考えています。ぜひ若手の培養士の方に読んでいただきたい。



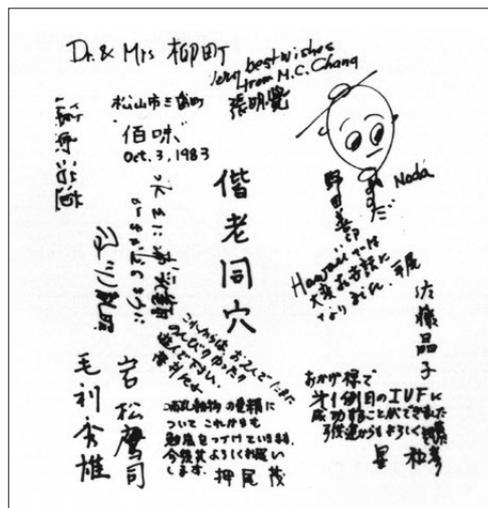
若手研究者へのメッセージ

【塩谷】 柳町先生は来日した際、若手研究者に向けて熱心にメッセージを発信してくださいました。日本IVF学会における講演も多かったですね。

【森本】 柳町先生には日本IVF学会だけでなく、ISIVFの顧問もお願いしていたのですが、そこにメッセージを寄せていただきました。5行程度のインパクトある



1983年10月、松山にて撮影



メッセージです。その中で「Success is not built on success. It is built on failures.」という言葉があります。先ほど先生方がおっしゃったことを若手に伝えたかったのでしょうか。また、「Fact is your strongest friend」とも書いています。これらのメッセージは、常日頃先生がおっしゃっていたことでした。

【星】 失敗で失望するな、失敗しないと成功しないといつも言っていました。

【塩谷】 東北大学で体外受精児が生まれた時、柳町先生は何か言われていましたか。

【星】 ちょうど1983年10月に四国の松山で学会があって、柳町先生はChang先生と来日されました。報告したら、すごく喜んでくれて、Chang先生にとっては最後の日本訪問になりました。松山で撮影した写真がここにあります。

【塩谷】 貴重な写真ですね。柳町先生、お若いんですね。これを学会誌に掲載してもよろしいですか。

【星】 いいですよ。40年前のものですから、問題ないでしょう。

【塩谷】 両角先生は最後の弟子ということですが、柳町先生は後進の育成をどのように考えていたのでしょうか。

【両角】 若い時期に海外に行くと、結構辛

い経験をすることがあります。私が柳町先生の研究室に入った時、最初の1年間は無給でした。2年目に柳町先生に呼ばれて、「次から5万出すから」と言われてね、「えっ、5万ドルか?」と思い、びっくりしたことを憶えています。すごく嬉しかったですね。最初に「無給でやる位の気持ちでやりなさい」と言われて始まりましたから。その経験があるから、今の自分があると思っています。若い医師や培養士はもっと海外に出て、そうした柳町イズムを学んで欲しいと思います。

【塩谷】 森本先生、京都賞を取られた方は、後にノーベル賞を取っておられる方が多いですね。柳町先生ももう少し長生きされていたら、ノーベル賞という可能性もあったのではないのでしょうか。

【森本】 そう思います。柳町先生はエドワーズの3歳下なのです。エドワーズの体外受精研究の後にreproductive biologyに取り組んだ。他の分野に比べると少し地味なので、うまくアピールできなかったのではないのでしょうか。研究業績としては受賞して当然の内容だと思います。

【柴原】 先ほどのメッセージですが、本当に重い言葉が綴られていると感じます。これを拝見すると、こんな指導の仕方もあるのかとつくづく考えさせられました。「失

敗を重ねていっていいよ」という言葉がかかる。ぜひ参考にしたいと思います。

【両角】 柳町先生が元気だったのは、いつまでも現役でいたからでしょう。最初の頃、私はハワイの気候がいいからかと思っていました。けれどもそんなことではなく、最先端分野で毎日いろいろな研究を若手と取り組んでいたからこそ、95歳まで元気でいられたのではないのでしょうか。やはり、そこが人生で学ぶべき点だと思っています。私もリタイアを考える時期に来ました。しかし、最後まで現役でいることによって輝かしく生きられる道もある、そのことを先生の人生から学びました。

【森本】 柳町先生はISIVFの講演での来日をたいへん楽しみにしていました。最後に意識がなくなる直前だったと思いますが、自分が行けなくなる可能性があることを伝えてくれと周囲の方々に言っていたそうです。死ぬ間際まで人の気持ちを大切にする方でした。感激しましたね。

【星】 先生は身体に変調をきたした時、本人自ら電話をして救急車を呼んだそうです。95歳だが手術を受けたいとも言っていました。最後まで生きる気力を持っていた方でしたね。

【塩谷】 長時間の座談会ありがとうございました

特別企画「受精障害の改善に向けて～受精前後の卵子の取り扱い, 卵子の人為的活性化」

序文

木村 直子

山形大学大学院農学研究科動物機能調節学分野

この度、柴原浩章編集委員長より、体外受精に関する特集を担当する機会を賜りました。日本産婦人科学会の最新報告(2021年)では、体外受精・胚移植等の治療周期総数498,140周期の内訳は、凍結胚(卵)を用いた治療239,428周期、顕微授精を用いた治療170,350周期、体外受精を用いた治療88,362周期であり、顕微授精の周期数は体外受精の約1.9倍となっています。顕微授精を用いた治療は、2011年(10年前)の同報告では102,473周期であり、高度な手技を必要としながら、改良が重ねられ、適用数が増加してきた背景があります。一方、体外受精、顕微授精の受精率が向上した現在でも、全ての卵子を受精させることは難しい状況です。限りある卵子から、より多くの移植可能胚を得る上で、高い受精率の確保は必須であり、それらに及ぼす要因には、卵子の質、精子の質、受精(顕微授精)技術が挙げられています。

本特集では、受精障害の改善に向けた卵子からのアプローチとして、受精前後の卵子の取り扱いと臨床成績、受精直後から卵内で起こるイベントについて、最近の知見を概説する企画としました。卵子の質の良し悪しに関わらず、受精に供する卵子は第二減数分裂中期で一旦停止し、精子を受け入れます。受精直後に起こる複数の卵子内活性化経路を介し、表層顆粒の放出、第二減数分裂の再開と完了、2前核の形成が起こり、その後雌雄ゲノムDNAの合成、2核の融合を経て、体細胞分裂に入ります。精子の質と受精(顕微授精)技術がクリアな場合、受精障害は、卵子の活性化以降から体細胞分裂直前までの間の何らかのエラーで起こると考えられているものの、その原因は複数推測され、未解明な部分が多いとされています。それらの中で、受精直後の卵子内で起こるイベントのトリガーとされる卵子の活性化の分子機構、卵子の人為的活性化法については、研究が比較的進んでいます。

本特集では、若井拓哉先生より、受精と卵子活性化の分子機構について、基礎的知見の概説を賜りました。また長谷川久隆先生、星野由貴先生、吉田淳先生より、ICSI操作のための一連の工程から、卵子の前培養、卵子の裸化处理、精子の不動態化、ICSI時の卵子紡錘体観察などと臨床成績との関わりについて、概説を賜りました。最後に、宮崎康太郎先生、山田満稔先生より、臨床におけるICSI後の受精障害の克服に向けた人為的卵子活性化技術の有効性や安全性の検証に関する最新動向について、概説を賜りました。

末筆ながら、このような機会を与えて下さいました塩谷雅英理事長、柴原浩章編集委員長に拝謝申し上げます。またご多忙にもかかわらず、本特集に玉稿をお寄せ下さいました執筆者の先生方には、心より御礼を申し上げます。体外受精における受精率の向上の一助になれば、幸いにございます。

受精と卵活性化

Fertilization and Egg Activation

若井 拓哉

Takuya Wakai

岡山大学学術研究院・環境生命自然科学学域 〒700-8530 岡山市北区津島中1-1-1
Graduate School of Environment and Life Science, Okayama University

要旨： 配偶子の融合後、精子は卵においてカルシウム (Ca^{2+}) オシレーションとよばれる反復性の Ca^{2+} 濃度上昇を誘発し、これが卵活性化の引き金となる。卵活性化が完了すると、減数分裂中の転写が不活性な卵は、有糸分裂を行う転写が活性化した接合体となり、やがて細胞分化を経て胚が発生する。ここでは、卵活性化の主要なイベントと、卵活性化における Ca^{2+} の普遍的な役割および Ca^{2+} シグナルの制御機構について述べる。また、卵活性化の失敗がどのようにして不妊症につながるのかを説明する。

キーワード： Ca^{2+} シグナリング, 受精, 胚発生, 不妊, 卵活性化

英文要旨： After gamete fusion, the sperm elicits in the egg repeated calcium (Ca^{2+}) transients known as oscillations, which triggers egg activation. Completion of egg activation renders the meiotic and transcriptionally silent egg into a mitotically competent, transcriptionally active zygote that eventually undergoes cell differentiation and embryo development. Here, we discuss the major events of egg activation and the molecular players that underlie them. We describe the universal role of Ca^{2+} on egg activation as well as the egg's Ca^{2+} regulatory mechanisms. We explain how failure of egg activation results in infertility. Finally, we point to areas where additional research is needed and how this knowledge will allow better control of fertility.

Key words： Ca^{2+} signaling, fertilization, infertility, embryo development, egg activation

背景

排卵に先立ち、卵母細胞は第一減数分裂の前期 (Prophase I, PI) で細胞周期を停止する。黄体形成ホルモンのシグナルによって卵巣内のグラーフ卵胞は排卵を誘起され、卵胞内の卵母細胞は減数分裂を再開する。PIから第二減数分裂の中期 (Metaphase II, MII) まで減数分裂を進行した卵母細胞は、受精可能な状態となり再び細胞周期を停止する。受精により精子と卵母細胞 (以下、卵と呼ぶ) の2つの一倍体配偶子が融合し二倍体の状態に戻るが、卵活性化を経て接合体は胚発生や細胞分化をもたらす一連の細胞分裂を開始する。

受精は卵管の膨大部と呼ばれる場所で行われる。配偶子間の最初の相互作用は、卵の透明帯 (Zona pellucida, ZP) の糖タンパク質 (マウスではZP1-3, ヒトではZP1-4) と未知の精子レセプターによって媒介される¹⁾。その後、

精子はZPを通過し、卵の細胞膜 (Plasma membrane, PM) とZPの間の空間である囲卵腔に入る。精子のタンパク質であるIzumoと、Izumoの受容体であるJuno、卵細胞膜の組織化に関与するテトラスパニンであるCD9とCD81を含むいくつかの卵タンパク質が哺乳類の配偶子の融合に必要な²⁾、融合プロセスにおけるこれらの分子の正確な役割は不明である。融合後、精子は卵活性化を通して胚発生の第一段階である接合体を形成する。この卵活性化プロセスは、卵内の遊離カルシウムイオン (Ca^{2+}) の細胞内濃度の上昇によって引き起こされる。哺乳類の受精では、 Ca^{2+} オシレーションとよばれる反復性の Ca^{2+} 上昇が数時間にわたり展開する³⁾。本総説では、卵活性化の主要なイベントと Ca^{2+} オシレーションを制御するメカニズム、およびこれらの反応を開始できなかった場合に妊孕性に及ぼす影響について概説する。

受付 2023年3月14日 / 受理 2023年3月19日

責任著者：若井 拓哉 e-mail [t2wakai@okayama-u.ac.jp]

卵活性化イベント

受精は卵に父性ゲノムを導入すると同時に、様々な卵活性化のイベントを引き起こす。卵活性化イベントは、雌性配偶子を接合子に変化させる一連の生化学的・構造的変化からなる。これらのイベントには、表層顆粒 (Cortical granules, CGs) の放出と多精子受精の防止、減数分裂の再開と完了、前核 (Pronucleus, PN) 形成と間期への進行などが含まれる (図1)⁴⁾。ほとんどの種、そしてすべての哺乳類において、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇は卵活性化の普遍的なシグナルである⁵⁾。 Ca^{2+} は電荷や形状を変化させることによってタンパク質の機能を変化させるため、多数の細胞内事象を引き起こすことができる。卵内の下流のエフェクターは Ca^{2+} シグナルが提供する時空間情報を解釈し、それを以下に述べる卵活性化の細胞内イベント「多精子受精の防止」および「減数分裂の完了と胚発生の開始」に変換する⁶⁾。

多精子受精の防止

受精の際、卵は複数の精子にさらされるが、複数の精子が入り込むと多精子受精による倍数性異常を引き起こし、結果として胚発生の異常に繋がる。単一の精子との

融合を確実にするために、卵は2番目以降の精子の侵入に対して急速に不寛容になる必要がある。卵はこれをZPブロックとPMブロックからなる2段階の防御機構を発達させることで達成する。これら2つのブロックの相対的な寄与は種によって異なるが、一般的にPMブロックはZPブロックよりも早く展開する。PMブロックは、囲卵腔内に未融合の精子が存在することからわかるように、ZPを通過した精子の融合を阻止する。このブロックの根底にある分子メカニズムは未だ不明であるが、哺乳類では海洋生物の受精で起こるような受精直後の膜電位の変化は観察されない。またPMブロックは精子との融合後に展開されるが、顕微授精の場合は起こらないことから、このプロセスには融合が必須であることが示唆される。近年同定された精子Izumo1の受容体であるJunoは自然受精後のみ卵細胞膜から放出されることから、PMブロックに関与する可能性が高い。しかしながら、この受容体がどのようにして卵細胞膜から放出され、さらなる精子との融合を防ぐためにどのような働きをするのかについて解明が必要である。

ZPブロックは、精子のZPへの結合を防ぐことを目的としている。このブロックにはZPの精子結合残基の変化や構成要素の変化などいくつかのモデルが提案されて

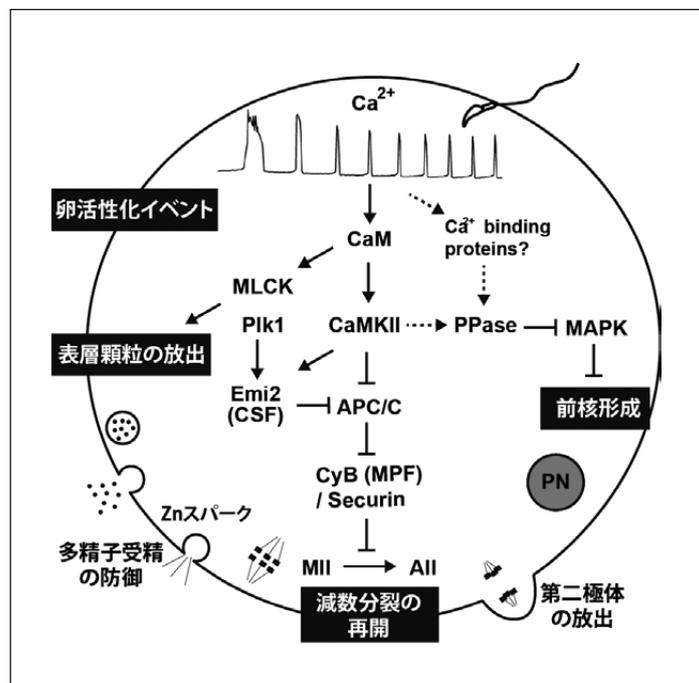


図1 卵の活性化イベントと Ca^{2+} シグナル
受精時の Ca^{2+} オシレーションは、MLCK や CaMKII などの下流のブ
ロテインキナーゼによって解釈され、表層顆粒の放出や減数分裂の再
開などの卵活性化イベントを引き起こす。破線矢印は、PPase に対す
る未同定の経路を示す。

いる。最も確立されたモデルは、ZPの主要な構成要素の一つであるZP2が以下のように切断されるという観察に基づいている。ZP2は受精後に精子結合部位であるアミノ酸のN末端部分が切断される。この切断には、 Ca^{2+} の上昇に伴って囲卵腔に開口分泌されるGCs内容物が関与している。OvastacinはGCs内のZP2プロテアーゼとして同定されており、OvastacinをコードするAsth1遺伝子の欠損卵はZP2を切断できず、精子のZPへの継続的な結合を引き起こした⁷⁾。GCsの放出には Ca^{2+} の上昇が必要であるが、 Ca^{2+} とCalmodulin (CaM)は、CaM依存性酵素であるミオシン軽鎖キナーゼやその標的であるミオシンIIを介してGCsの放出に関与する。また近年、GCs放出と密接に関連して細胞内から亜鉛スパークとよばれる亜鉛イオン (Zn^{2+}) の流出することが明らかとなり、ZPの組織変化を引き起こすことが報告されている⁸⁾。また、 Zn^{2+} は小胞体からの Ca^{2+} 放出を制御することから、 Ca^{2+} や Zn^{2+} を介したZPブロック全容の解明が求められる。

減数分裂の完了と胚発生の開始

ほとんどの脊椎動物の卵は、減数分裂のMII期で細胞周期を停止し排卵される。受精は減数分裂の再開と完了、さらに胚の細胞周期の開始を誘導する。MII期停止は、細胞分裂抑制因子 (cytostatic factor, CSF) の作用によって行われる。CSFの構成因子であるendogenous meiotic inhibitor 2 (Emi2)は、E3ユビキチンリガーゼである後期促進複合体(anaphase promoting complex, APC/C)の活性を抑制し、サイクリンB (cyclin B, CycB)の分解を防ぐ。CycBとサイクリン依存性キナーゼ1 (cyclin dependent kinase 1, Cdk1)は卵成熟促進因子 (maturation promoting factor, MPF)の構成要素であり、卵は高いMPF活性が維持されることでMII期停止が可能となる。受精によって誘導される Ca^{2+} の上昇はEmi2のSCF/プロテアソーム依存的分解を引き起こす。哺乳類における正確な分子メカニズムは完全には解明されていないが、Emi2の分解は Ca^{2+} -CaM dependent protein kinase II (CaMKII)を介した最初のリン酸化とそれに引き続き起こるPolo like kinase 1 (Plk1)によるリン酸化の連続的なリン酸化イベントによって引き起こされる。APC/Cの活性化はMPFレベルの低下に繋がり、結果としてMII期停止は解除される。

上述の卵活性化イベントに加えて、 Ca^{2+} の上昇は前核の形成、DNA合成および母性mRNAのリクルートなど胚発生の開始に必要なすべての事象を誘起する。 Ca^{2+} は卵活性化の普遍的なシグナルであるが、 Ca^{2+} オシレーションが数時間以上に及ぶのは哺乳類の卵だけである。 Ca^{2+} オシレーションの生理的意義については未だ

理解が不十分であるが、各卵活性化イベントの Ca^{2+} に対する感受性の違いが示唆されている。例えば、CGsの開口分泌や減数分裂の再開などの卵活性化の初期イベントが少しの Ca^{2+} 上昇で応答するのに対して、PN形成や母性mRNAのリクルートなどの後期イベントはより多くの Ca^{2+} 上昇が必要となる⁵⁾。ほとんどの動物種では第一卵割が2時間未満で完了するのに対して、哺乳類ではその完了に20時間以上を要する。段階的に進行する卵活性化イベントの開始と完了に応じて、かつ細胞機能を損なうことなく十分なシグナルを得る方法として、オシレーションが適していると考えられる。

卵活性化シグナル

哺乳類の Ca^{2+} オシレーションでは、10～20分毎の大きな Ca^{2+} 上昇が数時間観察される。この周期的かつ持続的な Ca^{2+} 応答を形成するために、卵は複雑な Ca^{2+} 制御を行う必要があるが、その根底にある分子や制御機構は未だに解明されていない。細胞小器官(オルガネラ)である小胞体は、細胞内の主要な Ca^{2+} リザーバーであり、小胞体から放出された Ca^{2+} は様々な細胞種における多様な細胞内イベントに関わる。実際に、受精時の卵細胞質内で起こる Ca^{2+} オシレーションは小胞体からの Ca^{2+} 放出に依存している。しかしながら、細胞内 Ca^{2+} 濃度は細胞内貯蔵と細胞外環境の2つのソースからの Ca^{2+} が統合されるため、 Ca^{2+} オシレーションの制御を正確に理解するためには、 Ca^{2+} のホメオスタシス制御を考慮する必要がある⁹⁾。ほとんどの細胞種では、細胞質の基底 Ca^{2+} 濃度はおよそ100nMであり、細胞外 Ca^{2+} 濃度(～1mM)と比較して 10^4 倍程度も低い。一方で、細胞内においても小胞体内腔の Ca^{2+} 濃度は100 μM 以上まで蓄積されている。また、ミトコンドリアやゴルジ体など膜オルガネラも Ca^{2+} を隔離し、 Ca^{2+} ホメオスタシスに関与している。細胞内と細胞外、あるいは細胞質とオルガネラとの間にこうした Ca^{2+} 濃度勾配を作り出すために、細胞は細胞膜やオルガネラ膜上にポンプ、チャネル、交換体などを組み合わせて持っている。 Ca^{2+} シグナルを形成するために重要なこれらの機構/分子は、 Ca^{2+} ツールキットと総称され¹⁰⁾、細胞は細胞種によって、または細胞内外の環境変化に応じて、一式の Ca^{2+} ツールキットを使い分けている。

Ca^{2+} ツールキットによるオシレーションの制御

受精時の Ca^{2+} シグナルの制御について概要図を図2に示した。受精時、精子から導入されたPhospholipase C zeta (PLC ζ)は、Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate

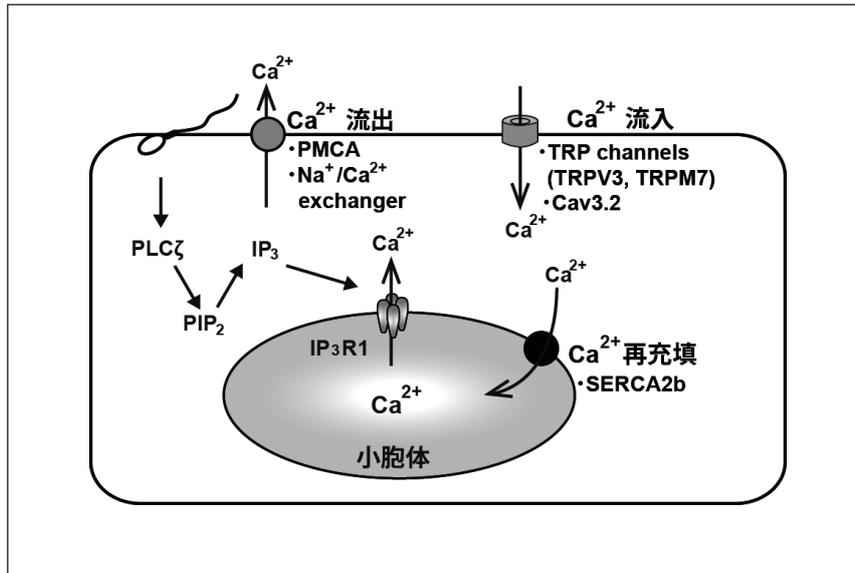


図2 受精時の Ca^{2+} オシレーションを制御する Ca^{2+} シグナルツールキット
 受精時、精子由来 PLC ζ は PIP_2 の加水分解により IP_3 を産生し、小胞体から $\text{IP}_3\text{R1}$ を介して Ca^{2+} が放出される。上昇した細胞質 Ca^{2+} は、PMCA や $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体の作用により速やかに細胞外へ除去される。一部の Ca^{2+} は SERCA ポンプの作用により小胞体に貯蔵 Ca^{2+} として再充填される。オシレーションの継続のために、 Ca^{2+} は細胞膜を通して細胞質へ流入するが、TRP チャンネルや Cav3.2 などの Ca^{2+} チャンネルを媒介することが提唱されている。

(PIP_2) の加水分解により 1,4,5-inositol trisphosphate (IP_3) を産生する。 IP_3 は小胞体上の Ca^{2+} チャンネルである IP_3 受容体 (IP_3R) に結合し、チャンネルの開閉により Ca^{2+} は小胞体から卵細胞質へ放出される。 IP_3R は 4 量体として機能し、哺乳類の卵は I 型アイソフォーム ($\text{IP}_3\text{R1}$) を主に発現している。 IP_3R は IP_3 の他にも Ca^{2+} によってゲートされ、高濃度の Ca^{2+} はチャンネルを阻害するため、オシレーションを媒介するのに適している。 Ca^{2+} オシレーションの周期性がどのように調節されているかは議論が続いているが、PLC 活性が Ca^{2+} 増加による正のフィードバックを受けることから、 IP_3 の周期的な産生が Ca^{2+} オシレーションを形成する仮説が提案されている¹¹⁾。その他には、 $\text{IP}_3\text{R1}$ の感受性や小胞体貯蔵 Ca^{2+} がオシレーションをペースメイキングする可能性も示唆されている。

また、 Ca^{2+} の哺乳類の受精が長時間にわたって Ca^{2+} オシレーションを維持するメカニズムも必要である。 Ca^{2+} free の培地で計測された Ca^{2+} オシレーションは早期に停止することから、細胞外からの Ca^{2+} 流入は Ca^{2+} オシレーションの持続に不可欠である。近年、ノックアウトマウスなどを用いた研究から、卵の Ca^{2+} 流入を担う PM チャンネルが同定されており、単一ではなく複数のチャンネルが Ca^{2+} オシレーション時の Ca^{2+} 流入に関与することが明らかとなったが¹²⁾、これらの Ca^{2+} チャンネルの詳細な役割

はまだ解明されていない。一方、過剰または長時間の Ca^{2+} 上昇はオシレーションを消失させアポトーシスを引き起こす可能性があるため、増加した細胞内の Ca^{2+} は PM Ca^{2+} -ATPase (PMCA) ポンプや $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体によって速やかに細胞外へ除去される必要がある。また、一部の Ca^{2+} は、Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) を通して、次の Ca^{2+} 上昇を生み出すための Ca^{2+} 貯蔵として小胞体に再充填される。重要なこととして、卵におけるこれらの Ca^{2+} ツールキットに関わる機構/分子の詳細はほとんど明らかにされていない。

精子特異的 PLC ζ

ウニやホヤの精子からの可溶性抽出物である精子因子 (Sperm factor, SF) を卵に注入すると、受精と同様の卵活性化が起こることから、精子成分がオシレーションの開始要因とする仮説が立てられた。この仮説を裏付けるように、哺乳類の SF を卵に注入すると、 Ca^{2+} オシレーションが誘発された。SF の分析から、 PIP_2 加水分解活性を示すタンパク質画分が明らかとなり、後に新規の精子特異的 PLC である PLC ζ が哺乳類 SF として同定された¹³⁾。PLC ζ は精子頭部の核周囲または先体後域に局在し、配偶子融合後に卵内へ迅速に移行することと矛盾しない。また PLC ζ の構造は他の PLC と類似しているが、

プレクストリン相同ドメインなど他のPLCに見られるいくつかの制御ドメインがないため可溶性である。PLC ζ は比較的小分子であるが、非常に高いPLC活性を持ち、卵のCa²⁺オシレーションを開始することに適したユニークな特性を備えている。

不妊症と卵活性化

顕微授精の代表的方法である卵細胞質内精子注入法 (Intracytoplasmic sperm injection, ICSI) は、配偶子の融合をバイパスして精子を卵内に注入する方法である。ICSIは当初、哺乳類の受精を研究するために開発されたが、その後男性不妊症を克服するために臨床応用された。この技術の成功は、配偶子膜の相互作用と融合を迂回しても卵活性化や胚の発生能が正常に起こることから、SFが卵活性化とCa²⁺オシレーションの開始を担っているという概念の証明にも貢献した。実際に、ICSIは受精の場合と非常によく似たCa²⁺オシレーションを誘起することが可能である。

体外受精 (In vitro fertilization, IVF) では、運動性の欠乏、卵の透明帯の貫通や細胞膜との融合の欠陥に至るまで、さまざまな精子側の欠陥が受精の失敗の原因となりうるが、ICSIにより受精の障害となる精子の欠陥は少ないと考えられる。これと一致して、ICSIで受精に失敗する症例は全体の3%程度と言われ、そのほとんどが卵活性化不全に集約される表現型を示す。また、これは先体部を欠損した球状精子によるICSIで多いケースでもある。その後の研究から、これらの精子にはPLC ζ が欠失あるいは減少していることが報告された¹⁴⁾。さらに、その他の受精障害や受精率低下の症例から、PLC ζ の特定の遺伝子変異も見つかっている¹⁵⁾。一方、受精障害の中には卵に起因する卵活性化不全もあるが、精子と比較して研究が進展していない。上述してきたように、卵活性化のメカニズムには多数の分子が複雑に関わるため、要因の同定は容易ではないと考えられる。

今後の展望

受精と卵活性化のメカニズムについては、過去30年間で大きく解明が進んだ。これらの知見の一部は、不妊治療のために臨床に應用され成功を収めている。とはいえ、いくつかの重要な疑問も残されている。例えば、哺乳類 (特にヒト) ではどのような分子が配偶子の融合を媒介するのか? あるいは、生体内での正常な胚発生にCa²⁺オシレーションはどの程度必要なのか? Ca²⁺流入を媒介するPMチャネルは何なのか? これらの疑問に対

する答えは、より優れた人為的卵活性化法や胚発生のための培養液の設計の基礎となるだろう。また今後数十年の間に、哺乳類のゲノムをより簡単に編集できるようになり、イメージング技術が進歩したことも手伝って、卵活性化に関する理解や不妊治療への応用は加速すると予想される。

参考文献

- 1) Avella M A, Xiong B, Dean J: The molecular basis of gamete recognition in mice and humans. *Mol Hum Reprod*, 19: 279-289, 2013.
- 2) Grayson P: Izumo1 and Juno: the evolutionary origins and coevolution of essential sperm-egg binding partners. *R Soc Open Sci*, 2: 150296, 2015. 10.1098/rsos.150296.
- 3) Miyazaki, S: Thirty years of calcium signals at fertilization. *Semin Cell Dev Biol*, 17: 233-243, 2006.
- 4) Schultz R M, Kopf G S: Molecular basis of mammalian egg activation. *Curr Top Dev Biol*, 30: 21-62, 1995.
- 5) Ducibella T, Fissore R: The roles of Ca²⁺, downstream protein kinases, and oscillatory signaling in regulating fertilization and the activation of development. *Dev Biol*, 315: 257-279, 2008.
- 6) Wakai T, Vanderheyden V, Fissore R A: Ca²⁺ signaling during mammalian fertilization: requirements, players, and adaptations. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 3: 2011.
- 7) Burkart A D, Xiong B, Baibakov B, Jimenez-Movilla M, Dean J: Ovastacin, a cortical granule protease, cleaves ZP2 in the zona pellucida to prevent polyspermy. *J Cell Biol*, 197: 37-44, 2012.
- 8) Kim A M, Bernhardt M L, Kong B Y, Ahn R W, Vogt S, Woodruff T K, O'Halloran T V: Zinc sparks are triggered by fertilization and facilitate cell cycle resumption in mammalian eggs. *ACS Chem Biol*, 6: 716-723, 2011.
- 9) Wakai T, Mehregan A, Fissore R A: Ca (2+) Signaling and Homeostasis in Mammalian Oocytes and Eggs. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 11: 2019.
- 10) Berridge M J, Lipp P, Bootman M D: The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 1: 11-21, 2000.
- 11) Nomikos M, Kashir J, Swann K, Lai F A: Sperm PLCzeta: from structure to Ca²⁺ oscillations, egg activation and therapeutic potential. *FEBS Lett*, 587: 3609-3616, 2013.
- 12) Bernhardt M L, Stein P, Carvacho I, Krapp C, Ardestani G, Mehregan A, Umbach D M, Bartolomei M S, Fissore R A, Williams C J: TRPM7 and Ca (V) 3.2 channels mediate Ca (2+) influx required for egg activation at fertilization. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 115: E10370-E10378, 2018.
- 13) Saunders C M, Larman M G, Parrington J, Cox L J, Royse J, Blayney L M, Swann K, Lai F A: PLC zeta: a sperm-specific trigger of Ca (2+) oscillations in eggs and embryo development. *Development*, 129: 3533-3544, 2002.
- 14) Yoon S Y, Jellerette T, Salicioni A M, Lee H C, Yoo M S, Coward K, Parrington J, Grow D, Cibelli J B, Visconti P E, et al: Human sperm devoid of PLC, zeta 1 fail to induce Ca (2+)

release and are unable to initiate the first step of embryo development. *J Clin Invest*, 118: 3671-3681, 2008.

- 15) Escoffier J, Lee H C, Yassine S, Zouari R, Martinez G, Karaouzene T, Coutton C, Kherraf Z E, Halouani L, Triki C, et al: Homozygous mutation of PLCZ1 leads to defective human oocyte activation and infertility that is not rescued by the WW-binding protein PAWP. *Hum Mol Genet*, 25: 878-891, 2016.

ICSIまでの工程 ～臨床成績に及ぼす影響～

Pre-ICSI procedure ~Effect on Clinical Outcomes~

長谷川 久隆, 星野 由貴, 吉田 淳

Hasegawa Hisataka, Hoshino Yuki, Yoshida Atsumi

木場公園クリニック
Kiba Park Clinic

要旨: 顕微授精 (intracytoplasmic sperm injection: ICSI) を実施するまでには, 採卵以降に様々な工程が存在する。これらの工程はICSIの臨床成績へ影響を与える可能性があるが, その効果について明確なエビデンスがないものも存在する。また, 統一されたプロトコルは存在せず, 各施設が経験的, 慣例的に手法を決定していることも考えられる。

本稿では, 卵子の前培養, 卵子の裸化処理, 精子の不動化, 卵子紡錘体の観察に焦点を当て, それぞれの施設において各工程の必要性および方法を再考する機会となることを期待し, 概説した。

キーワード: 卵子の前培養, 卵子の裸化処理, 精子の不動化, 卵子紡錘体の観察

英文要旨: The process leading up to intracytoplasmic sperm injection (ICSI) involves various steps post-ovum pick up. While these steps may potentially influence the clinical outcomes of ICSI, evidence regarding their specific effects remains inconclusive. Furthermore, the absence of standardized protocols implies that individual facilities often determine their methodologies based on empirical or customary practices.

This article focuses on the pre-ICSI processes such as pre-incubation of oocytes, denudation of oocytes, immobilization of sperm, and the observation of oocyte spindles. The aim is to provide an opportunity for reconsideration of the necessity and methods of each process at different facilities. We anticipate that this discussion will prompt a reevaluation of practices and contribute to a better understanding of the various stages leading to ICSI.

Key words: pre-incubation of oocytes, denudation of oocytes, immobilization of sperm, observation of oocyte spindles

はじめに

2022年4月より不妊治療が保険適用となり, さらに質の高い医療が求められ, またその均質化も課題である。採卵以降, 顕微授精 (intracytoplasmic sperm injection: ICSI) の実施に向けて様々な工程が存在し, 臨床成績に影響を及ぼすことが考えられる。しかしながら, それらは施設毎に経験的・慣例的に行われてきたプロトコルに従って異なる方針が取られているものもあり, 統一されたプロトコルがあるとは言い難い。

本稿では, ICSIに関連する工程のうち, 卵子の前培養, ヒアルロニダーゼを用いた卵子の裸化, 精子不動化,

ICSI時の卵子紡錘体観察の臨床成績への影響について, 既報を用い概説する。

卵子の前培養

本項目において, 卵子の前培養は, 採卵後ICSIを実施するまでの時間間隔を指す。卵子の前培養には二つの時間間隔が存在する。一つ目は, 採卵した卵丘細胞卵子複合体 (Cumulus Oocyte Complex: COC) をヒアルロニダーゼ処理し卵子を裸化するまでの時間であり, 二つ目は, 裸化後ICSIを実施するまでの時間である。

前培養が及ぼす影響には, 卵子の成熟率, 受精率,

良好胚率，胚盤胞形成率，着床率，臨床妊娠率，生児獲得率等に関する様々な報告があるが，その必要性については明確な結論に至っていない。

採卵－裸化時間が及ぼす影響

採卵から裸化までのCOCの前培養時間の延長は，卵子の成熟および受精，胚発生率に正の影響を与えることが報告されている。卵子の成熟に関しては，採卵後裸化まで2.5時間未満の前培養と比較し，2.5時間以上前培養した群で有意に高い成熟率が報告されている¹⁾。また，4時間前培養した群では，採卵直後に裸化した群と比較し成熟率に加えて有意に高い受精率が得られた²⁾。胚発育に関しては，3時間以下の前培養群で良好胚率が低下したが，3-12時間までの前培養では有意な差がなく³⁾，採卵直後に裸化した群と2時間前培養群の比較では，良好胚盤胞率が2時間群で有意に高いことが報告された⁴⁾。一方，Yanagidaらが行った前培養時間を1-3, 3-5, 5-7, 7-9, 9-11時間に分けた検討では，成熟率，受精率，胚盤胞形成率，妊娠率に差が見られなかったが，9-11時間の群で良好胚率が有意に低下することが報告された⁵⁾。このように，裸化までの長時間の前培養が負の影響を及ぼすことも示されている。上述の裸化までの前培養に関する報告では臨床妊娠率に有意な向上は認められず，さらに近年の大規模レトロスペクティブコホート研究では，成熟率，受精率，良好胚率，胚盤胞形成率，着床率，臨床妊娠率，生児獲得率すべてにおいて有意な差がないことが報告された⁶⁾。このため，臨床的な有用性については議論の余地がある。

裸化－ICSI時間が及ぼす影響

裸化からICSIまでの前培養時間の延長でも受精率が向上することが報告されている^{7,8)}。また裸化後前培養時間を，0-1, 1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 5時間以上に分けた検討によると，5時間までは受精率が上昇するものの，5時間を過ぎると受精率および良好胚率が低下し⁹⁾，裸化後についても裸化前同様に長時間の前培養による負の影響が報告されている。裸化後の前培養時間は卵子の成熟率に影響を与えず，0-3時間の前培養時間と受精率が負の相関を示す¹⁰⁾という報告もあり，裸化後直ちにICSIすることが望ましいとする意見もある。しかし，胚盤胞形成率に関しては，裸化後直ちにICSIした群と比較して4時間前培養しICSIした群で有意な差が認められなかった²⁾。裸化後の前培養時間が妊娠率を改善させる報告⁷⁾がある一方，Zangらは臨床妊娠率が裸化後4時間以上前培養すると顕著に減少することを報告しており⁹⁾，こちらについてもコンセンサスは得られていない。

前培養の必要性

ICSIの成功には卵子の成熟が欠かせない。採卵後のCOCの前培養は卵子の成熟を助け，ICSIの成績を向上させると考えられている。しかしながら上述の通り，卵子の前培養は成熟，受精・胚発生に必ずしも必要とは結論づけられない。影響を与えないという報告の他，長時間の前培養により負の影響を示唆する報告もみられ，卵子の体外におけるエイジングが大きく影響することからICSIを遅らせるべきではないとの報告も見られる⁸⁾。また採卵後の前培養時間ではなく，体内における十分な成熟時間，すなわちHCGトリガーから採卵までの時間が十分であることが臨床転帰を改善することも報告されており¹¹⁾，前培養の効果はHCGから採卵までの時間によっても異なることが予想される。

結論として，短時間の前培養時間はICSIの成績に負の影響を与える可能性は少なく，正の影響を与える可能性があるものの，生児獲得につながるというエビデンスはない。排卵誘発から採卵までの時間およびICSIのタイミングから，要不要を含め各施設毎にワークフローに合わせ前培養時間を最適化することが望ましい。

卵子の裸化処理

ヒアルロニダーゼの濃度と浸漬時間

卵子の裸化はICSI前の卵子の成熟度を確認するために欠かせないプロセスである。卵子の裸化処理において，ヒアルロニダーゼの濃度と浸漬時間は臨床成績に影響を与える可能性がある。

Jorisらは，約760 IU/mlのヒアルロニダーゼを用いた裸化処理と比較し，80 IU/mlまで濃度を下げることで，ヒアルロニダーゼの卵子活性化効果による単為発生(1PN率)を低下させ，ICSI後の2PN率が上昇したことを報告した¹²⁾。Van de Veldeらは10, 39, 78 IU/mlのヒアルロニダーゼおよび250, >1000 μ mの内径のピペットを組み合わせて裸化処理を行い，卵子が曝露されるヒアルロニダーゼの濃度と浸漬時間を減少させることによるICSIの転帰への影響を調べたが，受精率や胚の質の向上は見られなかった¹³⁾。しかしヒアルロニダーゼへの長期曝露による胎児への影響が不明であることから短時間で効率的に裸化処理を行うことが重要であると述べている。また別の報告では，ヒアルロニダーゼの濃度についてさらに低濃度の8 IU/mlの処理で，80 IU/mlの処理に比べ受精率・良好胚率が高くなることが示された¹⁴⁾。Simopoulouらは，ICSIまでに卵子がさらされる化学的ストレスを最小限に抑える必要があり，ヒアルロニダーゼ処理における濃度や処理時間に関する報告は様々だが

40～80 IU/mlと30秒以内の最小値に保つ必要があると報告している¹⁵⁾。

化学的ストレス以外にも、卵丘細胞の完璧な除去にこだわり細いピペットを使用することで物理的なダメージを与えることがないよう、注意が必要である。

リコンビナントヒアルロニダーゼ

リコンビナントヒアルロニダーゼを使用すると、ウシ由来ヒアルロニダーゼと比較して、ICSI正常受精率の有意な増加と変性率の有意な減少が観察された¹⁶⁾。しかし近年のメタアナリシスでは、ICSI前の卵子の裸化処理に対して、リコンビナントヒアルロニダーゼまたはウシ由来ヒアルロニダーゼを使用した場合との間で、受精率、胚の質、出生率に関して統計的な差異は見出されなかった¹⁷⁾。

Furuhashiらは、リコンビナントヒアルロニダーゼはウイルスの感染の危険性がなく、BSEに関与するタンパク質や不純物が含有されていない事から、より安全性の高い治療が提供できると報告している¹⁸⁾。

精子の不動化

不動化の方法の違いが及ぼす影響

精子細胞膜の損傷は、ICSIに必要なプロセスである^{19,20)}。精子不動化の方法が卵子活性化の開始に及ぼす影響がYanagidaらによって報告されている²¹⁾。ピエゾパルスによる不動化は、ピペッティングおよび圧挫法と比較してCa²⁺オシレーションを最も早く開始させると結論づけている。これはピエゾパルスを用いた不動化による精子細胞膜への広範囲な損傷を示唆しており、卵子活性化因子の迅速な放出を促進している可能性がある。しかし、この不動化法の違いではCa²⁺オシレーションのタイミングにばらつきがあるものの受精率、分割率、妊娠率などの臨床成績には有意な差は認められない。また、Velaersらは不動化の回数を増やすことによるICSI臨床成績への影響について報告している。この研究では、精子尾部の圧挫回数を1回と3回で比較した結果、受精率および妊娠率に差は認められず、3回圧挫群では3日目の良好胚が有意に少なかった²²⁾。この結果は圧挫による積極的な不動化がむしろ侵襲的であることを懸念させる。積極的な不動化は、ピエゾパルスを用いる場合も注意が必要である。

卵子紡錘体の観察

偏光顕微鏡による卵子紡錘体の可視化により、紡錘体の有無による卵子の成熟の判断が可能となった。また、

極体に対する位置等を非侵襲的かつリアルタイムで観察できるようになり、ICSI時の穿刺位置決定に必要な情報が得られる。

卵子の成熟と紡錘体

一般的に第一極体の存在は卵子の成熟のマーカーであると考えられているが、紡錘体観察の結果、第一極体放出後1時間以内の卵子は、見かけ上成熟卵子であっても、第一減数分裂後期～終期であることが報告されている²³⁾。よって第一極体を指標とした成熟確認のみでは、紡錘体の形成途中や染色体の分離途中の卵子が判断できず、早期に受精させてしまう可能性がある^{24,25)}。そのため、ICSI時に紡錘体の有無を観察し、卵子の成熟性を正確に把握することは、受精率・胚発生率を向上させると考えられている²⁶⁾。また、紡錘体未確認MII卵子や裸化処理後に成熟した卵子は受精率や胚発育等が低いと報告されているが²⁴⁾、これは卵子が完全に成熟していないことが要因であると考えられている。Holubcováらは、紡錘体未確認MII卵子であっても1～5時間(平均2時間)の追加培養を行うことで59.4%が紡錘体を確認することができ、紡錘体を確認できた場合の受精率・胚発育は最初から紡錘体を確認できた卵子と遜色ないと報告している²⁷⁾。

ICSIのタイミングは重要である。紡錘体の可視化は完全に成熟した卵子を見極め、早期受精による受精率・胚発育の低下を防ぐことが出来ると考えられる。

第一極体と紡錘体の位置

ICSIの穿刺位置は、通常紡錘体が第一極体直下にあるものと仮定して、第一極体を指標に決められることが多い。しかし実際には紡錘体が極体直下でない場合があり、ICSI時の紡錘体の位置を確認することで、紡錘体の損傷や染色体の切断を軽減できる可能性がある²⁸⁾。Rienziらは、21.1%の紡錘体が第一極体直下から46°～90°、4.9%は90°以上離れた位置に存在すると報告した。また、裸化処理後に体外で成熟した卵子では、紡錘体が第一極体の直下に存在したことから、紡錘体位置の変化はピペッティング等で人為的に起きている可能性があるともしている²⁴⁾。さらに90°以上のずれが生じた卵子では異常受精が高くなった事も報告しており、元は状態が良い卵子であっても不適切な操作により正常受精を阻害してしまう可能性があることを示唆しており、裸化処理の際には留意すべきである。

紡錘体と温度

紡錘体は温度変化に弱いことが知られており、ヒト卵

母細胞においても25℃になると5分で紡錘体は完全に崩壊し、その後加温しても修復されない事²⁹⁾、反対に39℃に加温した場合も紡錘体は分解し、37℃に戻しても完全に再構築することは無いという報告がある³⁰⁾。

前述したとおり、紡錘体が見えない卵母細胞の受精率・発育率は低いことが知られており、紡錘体の完全性維持の観点からも温度管理の重要性を再度確認したい。

おわりに

プロトコルのゴールドスタンダードの確立は悲願であるが、既報を紐解く限り難しいように考えられる。基本に立ち返り、作業時間や浸透圧、pH、温度の変化、物理的なダメージを最小化することが重要である。それぞれのIVFラボ毎に検討を行い独自の最適解を設定し、常に臨床成績の向上のために検討を重ねること、追求することが望まれる。

引用文献

- 1) Ho JY, Chen MJ, Yi YC, Guu HF, Ho ES: The effect of preincubation period of oocytes on nuclear maturity, fertilization rate, embryo quality, and pregnancy outcome in IVF and ICSI. *J Assist Reprod Genet*, 20(9) : 358-64, 2003.
- 2) Hassan HA: Cumulus cell contribution to cytoplasmic maturation and oocyte developmental competence in vitro. *J Assist Reprod Genet*, 18(10) : 539-43, 2001.
- 3) Rienzi L, Ubaldi F, Anniballo R, Cerulo G, Greco E: Preincubation of human oocytes may improve fertilization and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, 13(4) : 1014-9, 1998.
- 4) Mizuno S, Ishikawa Y, Matsumoto H, Sato M, Ida M, Fukuda A, Morimoto Y: The timing of cumulus cell removal for intracytoplasmic sperm injection influences the capability of embryonic development. *Reprod Med Biol*, 18(1) : 111-7, 2019.
- 5) Yanagida K, Yazawa H, Katayose H, Suzuki K, Hoshi K, Sato A: Influence of oocyte preincubation time on fertilization after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, 13(8) : 2223-6, 1998.
- 6) Naji O, Moska N, Dajani Y, El-Shirif A, El-Ashkar H, Hosni MM, Khalil M, Khalaf Y, Bolton V, El-Toukhy T: Early oocyte denudation does not compromise ICSI cycle outcome: a large retrospective cohort study. *Reprod BioMed Online*, 37(1) : 18-24, 2018.
- 7) Aletubi F: Denudation and sperm injection interval timing: impact on outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Int J Women's Health*, 3: 99-103, 2011.
- 8) Pujol A, Garcia D, Obradors A, Rodríguez A, Vassena R: Is there a relation between the time to ICSI and the reproductive outcomes. *Hum Reprod*, 33(5) : 797-806, 2018.
- 9) Zhang Y, Ma Y, Fang Z: Performing ICSI within 4 hours after denudation optimizes clinical outcomes in ICSI cycles. *Reprod Biol Endocrinol*, 18(1) : 27, 2020.
- 10) Patrat C, Kaffel A, Delaroche L: Optimal timing for oocyte denudation and intracytoplasmic sperm injection. *Obstet Gynecol Int*, 2012: 403531, 2012.
- 11) Raziell A, Schachter M, Strassburger D, Kasterstein E, Ron-El R, Friedler S: In vivo maturation of oocytes by extending the interval between human chorionic gonadotropin administration and oocyte retrieval. *Fertil Steril*, 86(3) : 583-7, 2006.
- 12) Joris H, Nagy Z, Van de Velde H, De Vos A, Van Steirteghem A: Intracytoplasmic sperm injection: laboratory set-up and injection procedure. *Human Reprod*, 13(suppl 1) : 76-86, 1998.
- 13) Van de Velde H, Nagy ZP, Joris H, De Vos A, Van Steirteghem AC: Effects of different hyaluronidase concentrations and mechanical procedures for cumulus cell removal on the outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, Oct; 12(10) : 2246-50, 1997.
- 14) Moura BR, Gurgel MC, Machado SP, Marques PA, Rolim JR, Lima MC, Salgueiro LL: Low concentration of hyaluronidase for oocyte denudation can improve fertilization rates and embryo quality. *JBRA Assisted Reproduction*, 21(1) : 27-30, 2017.
- 15) Simopoulou M, Giannelou P, Bakas P, Gkoles L, Kalampokas T, Pantos K, Koutsilieris M: Making ICSI Safer and More Effective: A Review of the Human Oocyte and ICSI Practice. *In vivo*, Jul-Aug; 30: 387-400, 2016.
- 16) Evison M, Pretty C, Taylor E, Franklin C: Human recombinant hyaluronidase (Cumulase) improves intracytoplasmic sperm injection survival and fertilization rates. *Reprod Biomed Online*, Jun; 18(6) : 811-4, 2009.
- 17) Tsampras N, Kollmann M, Craciunas L: Recombinant versus bovine hyaluronidase for oocyte denudation before intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis. *J Obstet Gynaecol*, Feb; 42(2) : 301-305, 2022.
- 18) Furuhashi K, Goto S, Hashimoto H, Matsumoto Y, Kokeguchi S, Shiotani M: Comparison of bovine- and recombinant human-derived hyaluronidase in ICSI patients. *J Mamm Ova Res*, 27: 61-64, 2010.
- 19) Dozortsev D, Rybouchkin A, De Sutter P, Dhont M: Sperm plasma membrane damage prior to intracytoplasmic sperm injection: a necessary condition for sperm nucleus decondensation. *Hum Reprod*, 10: 2960-2964, 1995.
- 20) Palermo GD, Schlegel PN, Colombero LT, Zaninovic N, Moy F, Rosenwaks Z: Aggressive sperm immobilization prior to intracytoplasmic sperm injection with immature spermatozoa improves fertilization and pregnancy rates. *Hum Reprod*, 11: 1023-1029, 1996.
- 21) Yanagida K, Katayose H, Hirata S, Yazawa H, Hayashi S, Sato A: Influence of sperm immobilization on onset of Ca²⁺ oscillations after ICSI. *Hum Reprod*, Jan; 16(1) : 148-152, 2001.
- 22) Velaers A, Paternot G, Debrock S, D'Hooghe T: Triple touch sperm immobilization vs. single touch sperm immobilization in ICSI - a randomised trial. *Reprod Biol*

- and Endocrinol, Aug; 29: 10: 65, 2012.
- 23) Hyun CS, Cha JH, Son WY, Yoon SH, Kim KA, Lim JH: Optimal ICSI timing after the first polar body extrusion in in vitro matured human oocytes. Hum Reprod, Jul; 22 (7) : 1991-5, 2007.
 - 24) Rienzi L, Ubaldi F, Martinez F, Iacobelli M, Minasi MG, Ferrero S, Tesarik J, Greco E: Relationship between meiotic spindle location with regard to the polar body position and oocyte developmental potential after ICSI. Hum Reprod, 18: 1289-1293, 2003.
 - 25) Petersen CG, Oliveira JB, Mauri AL, Massaro FC, Baruffi RL, Pontes A, Franco JG Jr: Relationship between visualization of meiotic spindle in human oocytes and ICSI outcomes: A meta-analysis. Reprod Biomed Online, 18: 235-243, 2009.
 - 26) Wang WH, Keefe DL: Prediction of chromosome misalignment among in vitro matured human oocytes by spindle imaging with the PolScope. Fertil Steril, 78 (5) : 1077-81, 2002.
 - 27) Holubcová Z, Kyjovská Z, Martonová M, Páralová D, Klenková T, Otevřel P, Štěpánová R, Kloudová S, Hampl A: Egg maturity assessment prior to ICSI prevents premature fertilization of late-maturing oocytes. J Assist Reprod Genet, Mar; 36(3) : 445-452, 2019.
 - 28) Wang WH, Meng L, Hackett RJ, Odenbourg R, Keefe DL: The spindle observation and its relationship with fertilization after intracytoplasmic sperm injection in living human oocytes, Fertil Steril, Feb; 75 (2) : 348-53, 2001.
 - 29) Wang WH, Meng L, Hackett RJ, Odenbourg R, Keefe DL: Limited recovery of meiotic spindles in living human oocytes after cooling–rewarming observed using polarized light microscopy. Hum Reprod, Nov; 16(11) : 2374-8, 2001.
 - 30) Sun XF, Wang WH, Keefe DL: Overheating is detrimental to meiotic spindles within in vitro matured human oocytes. Zygote, Feb; 12(1) : 65-70, 2004.

人為的卵子活性化技術の最新動向

Recent developments in artificial oocyte activation technology

宮崎 康太郎, 山田 満稔

Kotaro Miyazaki, Mitsutoshi Yamada

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室 〒160-8582 東京都新宿区信濃町35
Department of Obstetrics and Gynecology Keio University School of Medicine

要旨: 1992年に導入された卵細胞質内精子注入法 (Intracytoplasmic Sperm Injection: ICSI) は男性不妊症の治療に革命をもたらした。しかしながら ICSI 周期あたり1-3%の確率ですべての卵子が受精しない完全受精障害が臨床上の課題となっている。受精障害の原因の一つとして, Ca^{2+} oscillations が生じず, 卵子活性化が不十分となり, 受精の成立を妨げる卵子活性化障害が考えられている。人為的卵子活性化法 (AOA) は ICSI 後の受精障害に対処する手段として有望であり, 機械刺激, 電気刺激, 化学刺激の3つの方法が存在する。AOAの有効性については一部の研究で改善が報告されているが, 安全性に関するデータは不足しており, 長期的な予後に関する検証が待たれている。

キーワード: 人為的卵子活性化, 有効性, 安全性, 卵子活性化障害, 受精障害

ランニングヘッド: 人為的卵子活性化の有効性・安全性

英文要旨: The advent of Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) in 1992 marked a transformative milestone in the management of male infertility. This technique empowered couples grappling with fertility challenges arising from severely impaired sperm characteristics to have children. Currently, the fertilization rate after ICSI reportedly exceeds 65% (2), though total fertilization failure occurs in 1-3% of all ICSI cycles. Oocyte activation deficiency (OAD) is considered to be a major cause of fertilization failure. To overcome fertilization failure after ICSI, artificial oocyte activation (AOA) has been developed. Although the efficacy and safety of AOA have not yet been established, AOA is widely performed in clinical practice with a variety of techniques, such as the use of Ca^{2+} ionophores (e.g., ionomycin and calcimycin [A23187]) and strontium chloride ($SrCl_2$), mechanical stimulation, and electrical stimulation. In this review, we aim to present data concerning the efficacy and safety of AOA in addressing impaired fertilization following ICSI.

キーワード: Artificial Oocyte Activation, effectiveness, safety, Oocyte Activation Deficiency, Fertilization Failure

背景: 生理的な受精現象 (卵子活性化)

ヒト卵子では排卵された卵子は第二減数分裂中期で減数分裂を中止している。その後, 受精により, 表層顆粒の放出, 細胞分裂抑制因子の不活性化, 第二極体放出, 前核形成といった一連の複雑なシグナル伝達カスケードが活性化される (卵子活性化: Oocyte activation)。現在までに報告された複数の動物種において, 卵子活性化は細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇を必要とすることが知られている¹⁾。哺乳類の受精時においては Ca^{2+} の反復的な上昇

(Ca^{2+} oscillation) が起こり, 種によって Ca^{2+} oscillation の形状は異なる²⁾。 Ca^{2+} oscillation は, 精子により卵細胞質内に持ち込まれた精子特異的ホスホリパーゼ C ゼータ (PLC ζ) が繰り返し Ca^{2+} の放出を誘発することによって制御されていると考えられている^{3,4)} (詳細は他稿に譲る)。

1. 受精障害

卵細胞質内精子注入法 (Intracytoplasmic Sperm Injection: ICSI) 周期あたり1-3%の確率ですべての卵子

が受精しない完全受精障害 (Total fertilization failure: TFF) が臨床上の課題となっている⁵⁾。この原因の一つとして、卵子活性化障害 (Oocyte Activation Deficiency: OAD) が考えられている。OAD においては Ca^{2+} oscillations が生じず、卵子活性化が不十分となり、受精の成立を妨げる。OAD は ICSI 後の受精不全の原因の 40-70% を占めている⁶⁾。

2. 人為的卵子活性化法 (Artificial Oocyte Activation: AOA)

ICSI 後の受精障害を克服するための手段の一つとして、人為的卵子活性化法 (Artificial Oocyte Activation: AOA) が開発されている。AOA は精子側因子による OAD に対して良い適応とされる。

AOA は大きく分けて (a) 機械刺激、(b) 電気刺激、(c) 化学刺激の 3 つに分類される (図 1)。

(a) 機械刺激

機械刺激は、刺激により細胞膜または卵膜内の膜構造が破壊され、 Ca^{2+} の流入または小胞体のような Ca^{2+} 貯蔵細胞の破壊による卵子内の Ca^{2+} の上昇をもたらす。一

般的な機械刺激は、手作業で細胞膜を破壊し、その後細胞質を激しく吸引するもので、注入時の卵子内の Ca^{2+} 量を増加させ高い受精率に繋がる⁷⁾。より侵襲が少ない方法として、卵子内に存在する Ca^{2+} を貯蔵している部位のみを破壊することによって卵子内のカルシウム濃度を上昇させ卵形質の流れを作り出す技術も存在する^{7,8)}。機械刺激は技術的な難易度が高く、行える施設は限られ、施設毎で受精率や妊娠率が変化する可能性がある。また、卵子へのダメージリスクがあるが、現在のところ蓄積されたデータは数が少なく、安全性についてはさらなる研究が必要である。

(b) 電気刺激

電気刺激は、卵子に電圧電流を負荷することで、帯電した脂質二重層タンパク質が移動して膜に孔を形成し、卵子内へ細胞外 Ca^{2+} の流入を可能にする⁹⁾。1 回の電気パルスで卵細胞に長時間持続する急速な Ca^{2+} 上昇が生じ、その後、徐々にベースラインレベルに戻る¹⁰⁾。電気刺激は卵子が単独で活性化され、胚盤胞形成を誘導し¹¹⁾、標準的な ICSI と比較して受精率を有意に改善する⁹⁾。しかしながら、電気刺激による AOA では Ca^{2+} の増加は一過性であり、 Ca^{2+} レベルは振動を誘発するこ

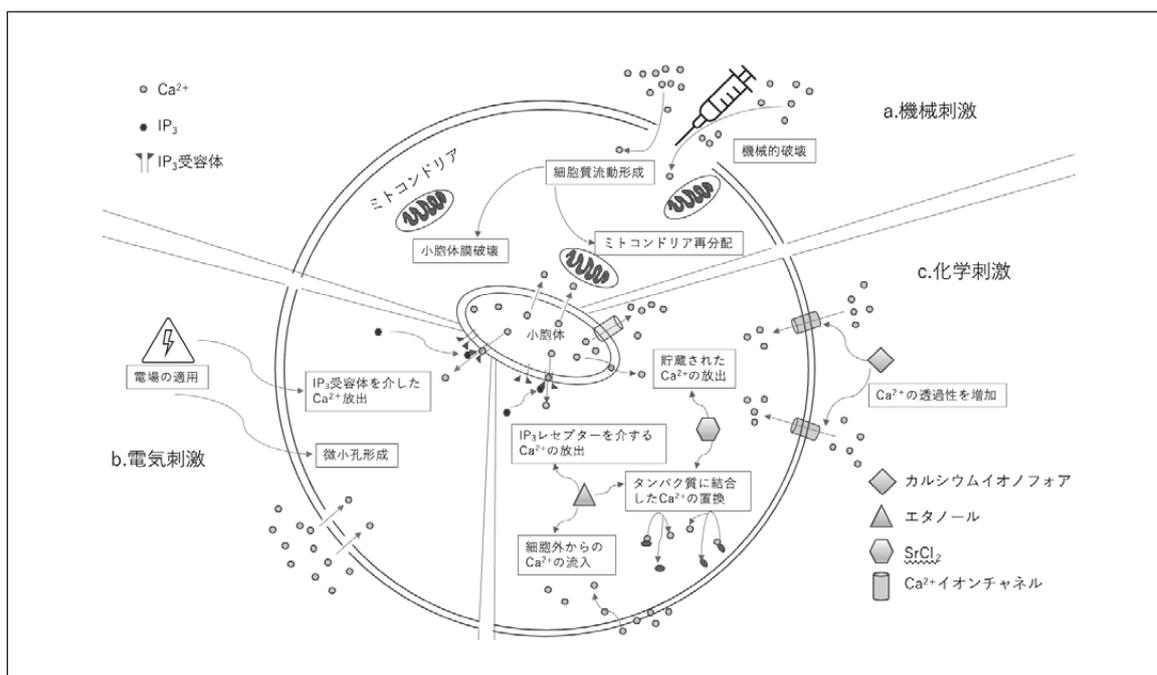


図 1 AOA として用いられる 3 つの方法のメカニズム (Kashir et al., Hum Reprod 2022 を改変)
 a. 機械刺激: 細胞膜, または卵膜内の破壊により, Ca^{2+} が流入する。または小胞体のような Ca^{2+} 貯蔵膜の破壊により卵子内の Ca^{2+} の上昇をもたらす。
 b. 化学刺激: 細胞外 Ca^{2+} の卵子内への直接または輸送チャネルを介した輸送を促進する。
 c. 電気刺激: 様々な電圧によって卵膜内に孔が形成され, 細胞外 Ca^{2+} が卵膜に流入する。

となく基底値に戻ることが明らかになっている¹²⁾。またブタ胚において電気刺激は過剰な活性酸素を発生させ、細胞質の凝縮や、アポトーシス小体など形態学的変化を引き起こし、胚発生を阻害する可能性が指摘されているが¹³⁾、ヒト胚での確認はまだされていない。

(c) 化学刺激

化学刺激のメカニズムは使用される薬剤の種類によって異なるが、主に細胞外 Ca^{2+} の卵子内への直接流入または輸送チャネルを介した細胞内流入の促進が関与する。使用される薬剤の例として、エタノール、ピューロマイシン、カルシマイシン、イオノマイシンや A23187 がある。これらは単発の Ca^{2+} 上昇を引き起こすが、正常なパターンの Ca^{2+} oscillations を引き出すことはできない¹⁴⁾。塩化ストロンチウム (SrCl_2) は、マウスにおいて複数回の Ca^{2+} 上昇を引き起こすことが示されている (図2)¹⁵⁾。しかしヒトにおける SrCl_2 の有効性と安全性に関する報告はあるものの¹⁶⁾、作用機序は明らかになっていない¹⁷⁾。近年、マウスモデルでイオノマイシンを用いて、DNA メチル化と遺伝子発現の変化が報告された¹⁸⁾。同様に、カルシマイシンは、小規模なヒトの研究において、胚盤胞では変化しないが、分割期胚ではインプリンティング遺伝子 H19 のメチル化レベルを変化させることが報告されている¹⁹⁾。化学刺激は施設間でのプロトコルの不均一性により、その有効性と安全性の実証は難しく、完全性は確立されていない。

3. AOA の有効性検証

厚生労働省による調査では日本においては 30.8% の施設が AOA を使用していると報告している²⁹⁾。AOA の

方法としてイオノマイシンおよび A23187 が本邦において頻用されている²⁰⁾。AOA の有効性検証として、精子に起因する受精障害に対して ICSI-AOA を使用することで出生率が改善したとする報告²¹⁾や、AOA 治療群で出生率が有意に向上したとするイオノマイシンに限定したメタ解析²²⁾が存在する。

我々のグループは本邦における 18 施設が参加した多施設共同研究において、卵子数 15,212 個 (826 カップル, 2,903 採卵周期) のデータを収集し、顕微授精による受精率 50% 未満のカップルを対象として最終的に 4,893 卵子 (198 カップル, 649 採卵周期) において ICSI-AOA の有効性に関する過去最大規模の後方視的解析を行った。本研究は慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認を得て行った (承認番号: 20211097)。その結果、ICSI-AOA 群 (18.0% (57/316)) の出生率は ICSI 単独群 (4.7% (4/85)) と比較して有意に高かった²³⁾。

4. AOA の安全性検証 (表1)

近年、AOA の安全性に関する報告は増加傾向にあるが、その多くは Ca^{2+} イオノフォアに関するものである。これまでに報告されている範囲で AOA の安全性を検証したランダム化比較試験 (RCT) は存在しない。後方視的研究 5 報を対象とした 1 本のメタ解析²⁴⁾と複数の後方視的コホート研究²⁵⁾では、ICSI と ICSI-AOA を比較した結果、先天形態異常、産科的予後、新生児予後に関して有意な差はなかったとしている。ICSI と ICSI-AOA の先天形態異常の発生率を比較したメタ解析では、ICSI にて出生した合計 5,506 人と ICSI-AOA にて出生した 316 人の先天形態異常率を比較評価した結果、両群間に有意差を認めなかったことから (リスク比 1.27,

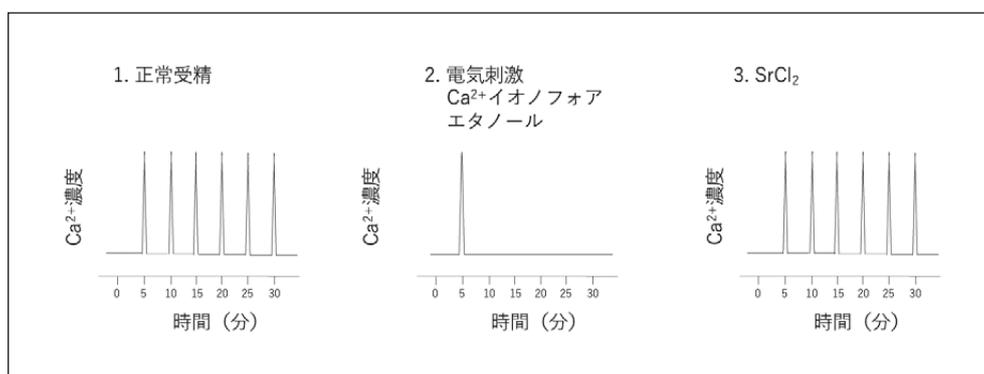


図2 マウスにおける正常受精と AOA による卵細胞内の Ca^{2+} の動態

1. 正常受精では複数回の Ca^{2+} の上昇が観察される。
2. 電気刺激, Ca^{2+} イオノフォア, エタノールでは単発の Ca^{2+} の上昇にとどまる。
3. SrCl_2 は正常受精と同様の複数回の Ca^{2+} の上昇を引き起こす

表1 AOAの安全性に関する論文 (Campos G., Hum Reprod 2023 を一部改変引用)

著者 (年)	Takisawara (2011)	Sato (2011)	D'haeseleer E (2014)	Vanden Meerschaut (2014)	Lu (2014)	Deemeh (2015)	Matsukawa (2015)	Miller (2016)	Mateizel (2018)	Li (2019)	Liang (2022)	Akashi (2023)
AOAプロトコル	A23187/SrCl2	NR	イオノマイシン	イオノマイシン	A23187	イオノマイシン	イオノフォア /SrCl2	A23187	イオノマイシン /A23187	イオノマイシン	A23187	イオノマイシン /A23187
患者数 (N)	85	21	20	21	3	125	56	95	74	194	22	198
流産率	A23187 28.6% (14/4), SrCl2 27.3% (11/3) (対照群 0% (0/0)), NS	NR	NR	NR	NR	13% (95%CI 4-22%) (対照群 13.4% (134/18), 95%CI 7.6-19.2%), NS	NR	12.6% (95/12) (対照群の13.7% (715/98)), NS	16.2% (74/12)	14.2% (13/91) (対照群 17.5% (429/2445)), NS	NR	29.2 (25/89) (対照群 60.0 (6/10)), NS
先天形態異常	NR	0% (21/0)	NR	14.3% (21/3) (95%CI 5.0-34.6%)	0% (3/0)	0% (79/0) (対照群 2.2% (89/2), OR=0.28, 95%CI 0.1-2.9), NS	3.8% (56/2) (対照群 3.4% (2047/59)), NS	6.3% (95/6) (対照群 3.6% (715/26)), NS	外科的治療を必要とする先天異常発生率: 6.3% (47/3)	2.11% (2/95) (対照群 1.2% (31/2442)), NS	NR	2.1% (1/89) (対照群 0.0% (0/10)), NS
認知発達	NR	NR	全般的言語スコアは正常範囲内	WPPSI-III-NL = 104.2 (95%CI 97.5-110.8) *	0% (3/0)	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
行動異常	NR	NR	NR	CBCL 1.5-5歳 = 48.6 (95%CI 42.5-54.8); CBCL 6-18歳 = 37.3 (95%CI 32.0-42.5) (対照群より<70) †	NR	2.5% (79/2) (対照群の4.5% (89/4), OR=0.5, 95%CI 0.1-3.1), NS	NR	NR	NR	NR	NR	NR
染色体異常率	NR	NR	NR	NR	0% (3/0)	NR	NR	0.0% (95/0) (対照群 0.8% (715/6)), NS	NR	NR	NR	NR
エピジェネティック異常	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

AOA: 人為的卵子活性化; CBCL: 子供の行動チェックリストスコア; NR: 報告されていない; NS: 統計的に有意ではない; OR: オッズ比; WPPSI-III-NL: ウェクスラー幼稚園・小学校尺度の知能スコア

‡ この数字は卵割期胚 (N=13), 胚盤胞 (N=9), 胎盤 (N=8) を指す。

† この研究では、これらのグループと正常なグループとの間の差を検討せず、CBCLの平均スコアが同様の年齢の子供たちの通常の範囲内にあり、<70であることだけを報告。

95%CI 0.70-2.28)²⁴⁾, AOAは安全に臨床適用できる方法と結論づけている。

これまで記載された報告はICSI-AOAで出生した児の出生時の評価に限定され、長期的な予後(成長, 認知機能, 神経発達, 運動, 言語, 自閉症など)について評価したエビデンスは後方視的研究2編^{25,26)}に限られる。この中で、ICSI-AOAにより出生した21人の児をフォローアップして評価した結果、出生時の形態異常として先天性欠損症(クモ膜嚢胞, 静脈瘤, 漏斗胸, 膀胱尿管逆流)と診断された児が3人(14.3%, 95%CI 5.0-34.6)²⁵⁾含まれたものの、939人のICSI児における先天形態異常率9.7%(91人/939人)²⁷⁾であることや、ICSI-AOAにて出生した20人の10歳までの児童の認知機能の発達調査においても病理学的閾値を下回る児の割合は0%(95%CI 0-15.5)²⁵⁾であったことから、ICSI-AOAの安全性は問題ないと結論づけている。

これらからAOAは安全に使用できる方法とされているものの、ICSI-AOAで出生した児の長期的な予後に関してはいまだ十分に明らかになっていない。

5. AOAの臨床上の位置付け

英国のHuman Fertilization & Embryology Authorityは、AOAの有効性に関するエビデンスの評価は良好であることから、2023年にtreatment add-ons(有効性に関するエビデンスの不足した医療)のリストからAOAを外し、臨床グレードに格上げした³⁰⁾。AOAの良い適応として、OAD, 受精率が30%未満, または頭部円形精子症の場合を挙げており、ルーチンでの臨床使用は推奨していない²⁸⁾。AOAを使用する場合には、潜在的な発育上の影響や出生時の転帰の観点から安全性は確立されていないことに留意し、患者には使用される特定のAOA手技に関する安全性データを提供すべきであるとしている。

6. 結語

TFFの原因の一つOADへのアプローチは臨床上の課題であり、診断方法とともに、有効性・安全性を担保したAOAの開発が望まれている。本邦では令和4年度から生殖補助医療を含む不妊治療への保険適用が開始

され、この際に AOA についても保険適用の対象となった。しかしながら安全性検証はまだ不十分であり、AOA によって生まれた子どもの長期的な影響を評価することは極めて重要である。我々のチームは継続して AOA の安全性検証にも取り組んでおり(慶應義塾大学医学部倫理委員会承認番号 20231127)、本邦発の AOA に関するエビデンスの構築に貢献したい。

謝 辞

人為的卵子活性化の有効性・安全性調査にご協力いただいた各 JISART 施設(クリニックママ, 醍醐渡辺クリニック, 英ウイメンズクリニック, 絹谷産婦人科, 蔵本ウイメンズクリニック, 京野アートクリニック仙台, 京野アートクリニック高輪, ミオ・ファティリティ・クリニック, 仙台 ART クリニック, 聖路加クリニック, セントマザー産婦人科医院, 岡山二人クリニック, セキールレディースクリニック, 高橋ウイメンズクリニック, つばきウイメンズクリニック), 東京医科大学, および東京大学の先生方に心より感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) S A Stricker: Comparative biology of calcium signaling during fertilization and egg activation in animals. *Dev Biol*, 211 (2): 157-176, 1999.
- 2) S Miyazaki: Thirty years of calcium signals at fertilization. *Semin Cell Dev Biol*, 17 (2): 233-243, 2006.
- 3) Zoltan Machaty: Signal transduction in mammalian oocytes during fertilization. *Cell Tissue Res*, 363 (1): 169-183, 2016.
- 4) Zoltan Machaty, Chunmin Wang, Kiho Lee, Lu Zhang: Fertility: Store-Operated Ca^{2+} Entry in Germ Cells: Role in Egg Activation. *Adv Exp Med Biol*, 993: pp577-593, 2017.
- 5) S P Flaherty, D Payne, C D Matthews: Fertilization failures and abnormal fertilization after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, 13 (suppl_1): 155-164, 1998.
- 6) P Rubino, P Viganò, A Luddi, P Piomboni: The ICSI procedure from past to future: a systematic review of the more controversial aspects. *Hum Reprod Update*, 22 (2): 194-227, 2016.
- 7) T Ebner, M Moser, M Sommergruber, K Jesacher, G Tews: Complete oocyte activation failure after ICSI can be overcome by a modified injection technique. *Hum Reprod*, 19 (8) : 1837-1841, 2004.
- 8) J Tesarik, L Rienzi, F Ubaldi, C Mendoza, E Greco: Use of a modified intracytoplasmic sperm injection technique to overcome sperm-borne and oocyte-borne oocyte activation failures. *Fertil Steril*, 78 (3): 619-624, 2002.
- 9) V Baltaci, O U Ayvaz, E Unsal, Y Aktaş, A Baltaci, F Turhan, S Ozcan, M Sönmezer: The effectiveness of intracytoplasmic sperm injection combined with piezoelectric stimulation in infertile couples with total fertilization failure. *Fertil Steril*, 94 (3): 900-904, 2010.
- 10) F Vanden Meerschaut, D Nikiforaki, B Heindryckx, P De Sutter: Assisted oocyte activation following ICSI fertilization failure. *Reprod Biomed Online*, 28 (5): 560-571, 2014.
- 11) K Versieren, B Heindryckx, S Lierman, J Gerris, P De Sutter: Developmental competence of parthenogenetic mouse and human embryos after chemical or electrical activation. *Reprod Biomed Online*, 21 (6): 769-775, 2010.
- 12) Q. V Neri, B Lee, Z Rosenwaks, K Machaca, G D Palermo: Understanding fertilization through intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Cell Calcium*, 55 (1): 24-37, 2014.
- 13) O J Koo, G Jang, D K Kwon, J T Kang, O S Kwon, H J Park, S K Kang, B C Lee: Electrical activation induces reactive oxygen species in porcine embryos. *Theriogenology*, 70 (7): 1111-1118, 2008.
- 14) D Kline, J T Kline: Thapsigargin activates a calcium influx pathway in the unfertilized mouse egg and suppresses repetitive calcium transients in the fertilized egg. *J Biol Chem*, 267 (25): 17624-17630, 1992.
- 15) S Kishigami, T Wakayama: Efficient strontium-induced activation of mouse oocytes in standard culture media by chelating calcium. *J Reprod Dev*, 53 (6): 1207-1215, 2007.
- 16) K Kyono, S Kumagai, C Nishinaka, Y Nakajo, H Uto, M Toya, J Sugawara, Y Araki: Birth and follow-up of babies born following ICSI using $SrCl_2$ oocyte activation. *Reprod Biomed Online*, 17 (1): 53-58, 2008.
- 17) K Swann: The soluble sperm factor that activates the egg: PLCzeta and beyond. *Reproduction*, 160 (1): V9-V11, 2020.
- 18) M Yin, W Yu, W Li, Q Zhu, H Long, P Kong, Q Lyu: DNA methylation and gene expression changes in mouse pre- and post-implantation embryos generated by intracytoplasmic sperm injection with artificial oocyte activation. *Reprod Biol Endocrinol*, 19 (1): 163, 2021.
- 19) R Liang, F Fang, S Li, X Chen, X Zhang, Q Lu: Is there any effect on imprinted genes H19, PEG3, and SNRPN during AOA? *Open Med (Wars)*, 17 (1): 174-184, 2022.
- 20) S Harada, M Yamada, H Shirasawa, S C Jwa, K Kuroda, M Harada, Y Osuga: Fact-finding survey on assisted reproductive technology in Japan. *J Obstet Gynaecol Res*, 49 (11): 2593-2601, 2023.
- 21) D Bonte, M Ferrer-Buitrago, L Dhaenens, M Popovic, V Thys, I De Croo, S De Gheselle, N Steyaert, A Boel, F Vanden Meerschaut, P De Sutter, B Heindryckx: Assisted oocyte activation significantly increases fertilization and pregnancy outcome in patients with low and total failed fertilization after intracytoplasmic sperm injection: a 17-year retrospective study. *Fertil Steril*, 112 (2): 266-274, 2019.
- 22) S Murugesu, S Saso, B P Jones, T Bracewell-Milnes, T Athanasiou, A Mania, P Serhal, J Ben-Nagi: Does the use of calcium ionophore during artificial oocyte activation demonstrate an effect on pregnancy rate? A meta-analysis. *Fertil Steril*, 108 (3): 468-482. e463, 2017.
- 23) K Akashi, M Yamada, S C Jwa, H Utsuno, S Kamijo, Y Hirota, M Tanaka, Y Osuga, N Kuji: Artificial oocyte activation using Ca^{2+} ionophores following intracytoplasmic

- sperm injection for low fertilization rate. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 14: 1131808, 2023.
- 24) R Long, M Wang, Q Y Yang, S Q Hu, L X Zhu, L Jin: Risk of birth defects in children conceived by artificial oocyte activation and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol*, 18 (1): 123, 2020.
 - 25) F Vanden Meerschaut, E D'Haeseleer, H Gysels, Y Thienpont, G Dewitte, B Heindryckx, A Oostra, H Roeyers, KVan Lierde, P De Sutter: Neonatal and neurodevelopmental outcome of children aged 3-10 years born following assisted oocyte activation. *Reprod Biomed Online*, 28 (1): 54-63, 2014.
 - 26) M R Deemeh, M Tavalaei, M H Nasr-Esfahani: Health of children born through artificial oocyte activation: a pilot study. *Reprod Sci*, 22 (3): 322-328, 2015.
 - 27) M J Davies, V M Moore, K J Willson, P Van Essen, K Priest, H Scott, E A Haan, A Chan: Reproductive technologies and the risk of birth defects. *N Engl J Med*, 366 (19): 1803-1813, 2012.
 - 28) K Lundin, J G Bentzen, G Bozdag, T Ebner, J Harper, N Le Clef, A Moffett, S Norcross, N P Polyzos, S Rautakallio-Hokkanen, I Sfontouris, K Sermon, N Vermeulen, A Pinborg: Good practice recommendations on add-ons in reproductive medicine[†]. *Hum Reprod*, 38 (11): 2062-2104, 2023.
 - 29) Nomura Research Institute. Survey and research project for the promotion of child and child rearing support in FY2020: Final report 2021 - Survey on the actual situation of infertility treatment. <https://www.mhlw.go.jp/content/000766912.pdf>, (2024.02.01)
 - 30) Human Fertilization & Embryology Authority. "IVF 'Add-Ons': Do they add up?". 2023. <https://www.hfea.gov.uk/media/3991/hfea-ivf-add-ons-patient-guide-final.pdf>, (2024.02.01)

ホリトロピンデルタ (レコベル[®]皮下注ペン) を用いた 誘発法における GnRH アンタゴニスト投与の タイミングに注目したマッチング解析

Matching analysis with a focus on GnRH antagonist administration timing
in induction using follitropin delta (Rekovele[®] pen for subcutaneous injection)

花岡 正智, 花岡 嘉奈子, 山田 舞夕

Masachi Hanaoka, Kanako Hanaoka, Mayu Yamada

はなおか IVF クリニック品川 〒141-0032 東京都品川区大崎1丁目11-2 ゲートシティ大崎イーストタワー 1F
Hanaoka IVF clinic shinagawa

要旨: 【背景】ホリトロピンデルタ(レコベル皮下注ペン)はAMH値および体重を指標に1日投与量を個別に設定し、刺激期間を通して固定量で投与することを目的とした薬剤である。体外受精の保険適用に伴い、外来通院回数を念頭に置いた治療計画が必要となったため、GnRHアンタゴニスト法による排卵誘発施行の際のアンタゴニスト投与開始タイミングについての検討を行った。【方法】2021年11月から2023年6月までの期間は、アンタゴニスト投与法を卵胞発育所見に基づいて行うフレキシブル法にて施行し、保険移行後は卵巣刺激開始6日目からの固定法、および卵巣刺激開始5日目からの固定法を一定期間ごとに行った。各々の期間における症例群からホリトロピンデルタ投与量をもとに1:1:1マッチングを行い、採卵数および成熟卵数(MII)について比較検討を行った。【結果】フレキシブル法群、6日目固定法群、5日目固定法群(n=14周期/群)の年齢、採卵既往回数、AMH値、FSH・LH基礎値、ホリトロピンデルタ総投与量、ホリトロピンデルタ投与日数について有意差は認めなかった。採卵数(フレキシブル群 vs 6日目固定法群 vs 5日目固定法群)は、 10.9 ± 4.8 個 vs 10.9 ± 6.3 個 vs 11.4 ± 8.1 個 ($p=0.973$)、MII数は同様に 9.0 ± 3.9 個 vs 8.6 ± 4.9 個 vs 8.2 ± 4.7 個($p=0.899$)であり、いずれも3群間に統計学的有意差は認めなかった。アンタゴニスト投与回数は 1.36 ± 0.93 回 vs 1.86 ± 0.77 回 vs 2.36 ± 0.63 回($p=0.007$)であった。【考察】当院ではフレキシブル法、および6日目アンタゴニスト開始症例において、排卵を認めた症例を経験したため、5日目開始のアンタゴニスト法へと移行させてきた。本検討では、以前のフレキシブル法と比べて、6日目固定法及び5日目固定法は採卵成績に有意差は認めなかった。このため、ホリトロピンデルタ投与下のアンタゴニストの開始タイミングは、採卵キャンセルが抑えられる刺激開始5日目投与がより利便性が高いと考えられた。一方、アンタゴニスト投与開始が早くなるほど投与回数が増えるため、コスト面での注意が必要である。

キーワード: アンタゴニスト法, 排卵誘発, ホリトロピンデルタ, rFSH

ランニングヘッド: ホリトロピンデルタのアンタゴニスト投与タイミング

英文要旨: Background: Follitropin delta (Rekovele[®] pen for subcutaneous injection) is an agent that is designed to be administered at a fixed dose throughout the stimulation period by individual setting of its daily dose based on the AMH level and body weight. With the approval of insurance coverage for in vitro fertilization, a treatment plan with consideration of the number of outpatient visits has become necessary. We therefore investigated the timing for starting GnRH antagonist administration for suppressing ovulation. Methods: From November 2021 to June 2023, a flexible protocol, where antagonist is given based on follicular development, was used, and after the transition to insurance coverage, fixed regimens, one in which the antagonist is given from the sixth day and another in which it is given from the fifth day after the start of ovarian stimulation, were used for a set period. A 1:1:1 matching of cases from each period was carried out based on the follitropin delta dose, and the retrieved oocyte count and mature metaphase II (MII) oocyte count were compared between groups. Results: Between the flexible protocol group, the day 6 fixed regimen group, and the day 5 fixed regimen group (n=14 cycles/

group) , no significant differences were observed in age, history of oocyte retrieval, AMH level, baseline FSH/LH levels, total follitropin delta dose, or number of days of follitropin delta administration. The retrieved oocyte count (flexible protocol group vs day 6 fixed regimen group vs day 5 fixed regimen group) was 10.9 ± 4.8 vs 10.9 ± 6.3 vs 11.4 ± 8.1 ($p=0.973$), and, similarly, the MII oocyte count was 9.0 ± 3.9 vs 8.6 ± 4.9 vs 8.2 ± 4.7 ($p=0.899$), indicating no significant differences among the 3 groups for either count. The antagonist was administered 1.36 ± 0.93 times vs 1.86 ± 0.77 times vs 2.36 ± 0.63 times ($p=0.007$) . Discussion: At our institution, we had experienced cases in which ovulation occurred using the flexible protocol and starting the antagonist on day 6. For this reason, we had been transitioning to the day 5 antagonist method. In this study, the day 6 fixed regimen and day 5 fixed regimen did not show significantly different oocyte retrieval outcomes compared with the previous flexible protocol. Thus, with respect to the timing for start of the antagonist under follitropin delta treatment, administration on day 5 of starting stimulation, when ovulation cancelation can be minimized, was considered to be more convenient. On the other hand, the number of antagonist administrations tended to increase with earlier start of antagonist administration, indicating that caution is necessary from a cost perspective.

Key words : antagonist method, follitropin delta, ovulation induction, rFSH

Running head : Antagonist administration timing with follitropin delta

緒 言

遺伝子組換えヒト卵胞刺激ホルモン (rFSH) 製剤であるホリトロピンデルタ (レコベル®, フェリング・ファーマ株式会社, 東京, 日本) はヒト由来細胞を使用して製造されたリコンビナントFSH製剤であり, ヒト生体内でより生理的な働きをすることが期待される薬剤である. 従来のリコンビナントFSH製剤はチャイニーズハムスター卵巣細胞株を使用して製造されていたが, ヒト由来細胞株で製造したホリトロピンデルタは, 従来のチャイニーズハムスター由来細胞株で製造されたリコンビナントFSH製剤に比べて, ヒト投与時の薬物動態が大きく異なるとされている¹⁻⁴⁾.

更に本製剤は患者のAMH値および体重をもとに1日用量が決定され, 刺激期間を通して投与量調節を行わない個別投与量アルゴリズムを有する. この個別投与量アルゴリズムはAMH値が低くなるにつれて投与量は増え, AMH値が高くなるにつれて投与量が少なくなり, 至適採卵数として8個から14個の獲得を目標とした1日投与量が計算される⁵⁾.

当院では, ホリトロピンデルタを用いた卵巣刺激はGnRHアンタゴニスト法としており, 以前よりアンタゴニスト法は卵胞発育所見に基づいて投与開始タイミングを調節するフレキシブル法にて施行してきた. この度, 体外受精の保険適用に伴い外来通院回数を念頭に置いた治療計画が必要となったため, アンタゴニスト投与は刺激開始時に計画する固定法へと移行させた. GnRH アンタゴニスト法におけるフレキシブル法と固定法の比較について

は, 従来薬剤に関しては多くの報告がなされており, 採卵回収卵数および臨床妊娠率において, 同等であるとされている⁴⁻⁷⁾. 一方, ホリトロピンデルタに関する報告は限定されており, アンタゴニスト投与も固定法とする報告にとどまり, フレキシブル法との差に関しては検討されていない. 加えて, いずれも新鮮胚移植を前提としたものである.

国内第3相試験 (Japanese Follitropin Delta Phase 3 Trial ; STORK)³⁾ は, 刺激開始6日目よりアンタゴニスト投与を開始するGnRHアンタゴニスト法にて施行されており, 当院でもこの報告に準拠して卵巣刺激を行っていた. しかし, フレキシブル法にて卵巣刺激を行っていた期間に加えて, 保険に移行したのち施行とした6日目固定法においても, 6日目観察時に排卵に至っていた症例を認めた. このため, 少ない観察でより確実に採卵を行う目的で, 固定法はこれより1日早い刺激開始5日目よりアンタゴニストを投与する5日目固定法へと移行させてきた(表1).

今回, 当院でのホリトロピンデルタを使用したアンタゴニスト法周期の症例が集積されたため, フレキシブル法と6日目固定法, 5日目固定法を一定期間ごとに行った過程において, これらの採卵成績の違いを後方視的に検討し, 排卵抑制のためのアンタゴニスト投与の適切なタイミングを検討した.

対象と方法

2021年11月から2023年6月までの期間を対象として, アンタゴニスト投与を卵胞発育所見に基づいて行うフレ

キシブル法にて開始し、その後体外受精の保険適用に伴って固定法に移行とし、刺激開始6日目からのアンタゴニスト投与、および刺激開始5日目からのアンタゴニスト投与を一定期間ごとに行い、この各群の比較検討を行うことを目的とした。各々の期間における症例群からホリトロピンドelta投与量で1:1:1マッチングを行い、採卵結果として3群間の採卵数および成熟卵数(MII)について比較検討を行った。ホリトロピンドeltaの刺激用量は患者のAMH値と体重をもとに算出されるアルゴリズムにて決定される。このため刺激用量での比較検討は、その背景にある患者のAMH値及び体重を加味した検討となることを目的としている。

2021年11月から2022年3月の期間は主席卵胞発育サイズ(≥16-18mm)を指標にアンタゴニストを開始し(フレキシブル群)、2022年4月以降は固定法にて行った。両群における採卵数、MII数を比較検討した。なお、アンタゴニストは両群ともセトリレクス(セトロタイド注射用0.25mg[®]、メルクバイオフーマ株式会社、東京、日本)を隔日にて用いた。

フレキシブル群は、刺激4～6日目に来院とし、初回評価(採血+超音波)を行った。その後フレキシブルに対応し、卵巣最大径が16～18mm程度でアンタゴニストを開始した。固定群は刺激6日目、または5日目にアンタゴニスト投与目的での来院を基本とし、初回アンタゴニスト投与の2日後に初回評価(採血+超音波)を行った。2回目診察の所見にしたがい、採卵決定に相応しい日に来院を促した。またそれぞれの群において主席卵胞20mm程度でuHCG製剤5,000単位(HCGモチダ筋注用5千単位[®]、持田製薬株式会社、東京、日本)とGnRHアナログ点鼻(ブセレキュア点鼻薬[®]、富士製薬工業株式会社、東京、日本)300μg左右各2回噴霧によるダブルトリガーを行い、約36時間後に採卵を行った。

統計学的手法は、マッチング変数をホリトロピンドelta1日投与量(AMH値及び体重に基づく個別投与量アルゴリズム)として、ANOVA検定にて行った。なお、本研究に関する診療情報の2次利用に関しては、全例書面で同意を得ており、当院倫理委員会の承認を得て行った。

結果

本検討の背景として各群の早発LH上昇・採卵キャンセル率(研究背景)を表1に記した。フレキシブル法にて卵巣刺激を行っていた期間に加えて、保険に移行したのち施行した6日目固定法において、6日目観察時に排卵に至っていた症例を認めたため、5日目固定法に移行とした。

患者背景(フレキシブル群 vs 6日目固定群 vs 5日目固定群)は下記であった。年齢36.5±3.7歳 vs 36.0±2.9歳 vs 36.3±3.4歳(p=0.945)、AMH値3.2±1.6ng/mL vs 3.3±1.9ng/mL vs 2.8±1.3 ng/mL(p=0.668)、月経中FSH値基礎値8.1±3.0mIU/mL vs 7.2±2.0 mIU/mL vs 7.9±2.2mIU/mLであり、患者背景にはいずれも有意差を認めなかった(表2)。また、採卵決定時E2値3110.4±1797.2pg/mL vs 2508.6±1647.4 pg/mL vs 2412.6±1345.4 pg/mL(p=0.468)、ホリトロピンドelta総投与量85.1±24.7μg vs 81.3±28.8μg vs 72.3±19.1μg(p=0.374)であった(表3)。

採卵数(フレキシブル群 vs 6日目固定群 vs 5日目固定群)は、10.9±4.8個 vs 10.9±6.3個 vs 11.4±8.1個(p=0.973)、MII数は同様に9.0±3.9個 vs 8.6±4.9個 vs 8.2±4.7個(p=0.899)であり、いずれも3群間に統計学的有意差は認めなかった(図1)。またアンタゴニスト投与回数は1.36±0.93回 vs 1.86±0.77回 vs 2.36±0.63回(P=0.007)であった。

考察

当院では、ホリトロピンドeltaを用いた卵巣刺激はGnRHアンタゴニスト法にて行っており、個別投与量アルゴリズムを有する本製剤において、アンタゴニスト投与の適切なタイミングを今回検討した。本検討はAMHと体重で決定されたホリトロピンドeltaの1日投与量でマッチング抽出した症例の3群間比較を行うことを目的としており、GnRHアンタゴニスト投与時期によって、フレキシブル群(n=14)、6日目固定群(n=14)、5日目固定群(n=14)

表1 早発LH上昇・採卵キャンセル率(研究背景)

	フレキシブル群	6日目固定群	5日目固定群
採卵周期数	44周期	52周期	99周期
早発LH上サージ発生率(%)	4.5(2/44)	3.8(2/52)	1.0(1/99)
採卵キャンセル率(%)	6.8(3/44)	1.9(1/52)	0.0(0/99)

表 2 患者背景 (1:1:1 マッチング後)

	フレキシブル群 (n=14)	6日目固定群 (n=14)	5日目固定群 (n=14)	p value
年齢	36.5±3.7	36.0±2.9	36.3±3.4	0.945
採卵歴 (回)	2.1±1.5	1.5±1.1	1.5±0.8	0.329
AMH 値 (ng/mL)	3.2±1.6	3.3±1.9	2.8±1.3	0.668
FSH 値(day2-3) (mIU/mL)	8.1±3.0	7.2±2.0	7.9±2.2	0.624
LH 値(day2-3) (mIU/mL)	4.8±2.2	4.7±1.9	5.1±1.8	0.844

P value: ANOVA 検定 p<0.05

表 3 排卵誘発・ホルモン値

	フレキシブル群 (n=14)	6日目固定群 (n=14)	5日目固定群 (n=14)	p value
採卵決定時 E2 (pg/mL)	3110.4±1797.2	2508.6±1647.4	2412.6±1345.4	0.468
採卵決定時 P4 (ng/mL)	1.7±0.5	1.6±1.7	1.4±1.2	0.779
ホリトピンデルタ1日投与量 (μg)	8.1±2.3	8.1±2.3	8.1±2.3	1.00
ホリトピンデルタ総投与量 (μg)	85.1±24.7	81.3±28.8	72.3±19.1	0.374
刺激日数 (日)	10.5±0.9	10.4±4.4	9.0±1.0	0.246
アンタゴニスト投与回数 (回)	1.36±0.93	1.86±0.77	2.36±0.63	0.007*

P value: ANOVA 検定 *p<0.05

GnRH アンタゴニスト投与回数 (フレキシブル群 vs 6日目固定群 vs 5日目固定群) は、1.36±0.93 回 < 1.86±0.77 回 < 2.36±0.63 回となり、排卵誘発早期に開始すると有意に投与回数が増えた (p=0.007)

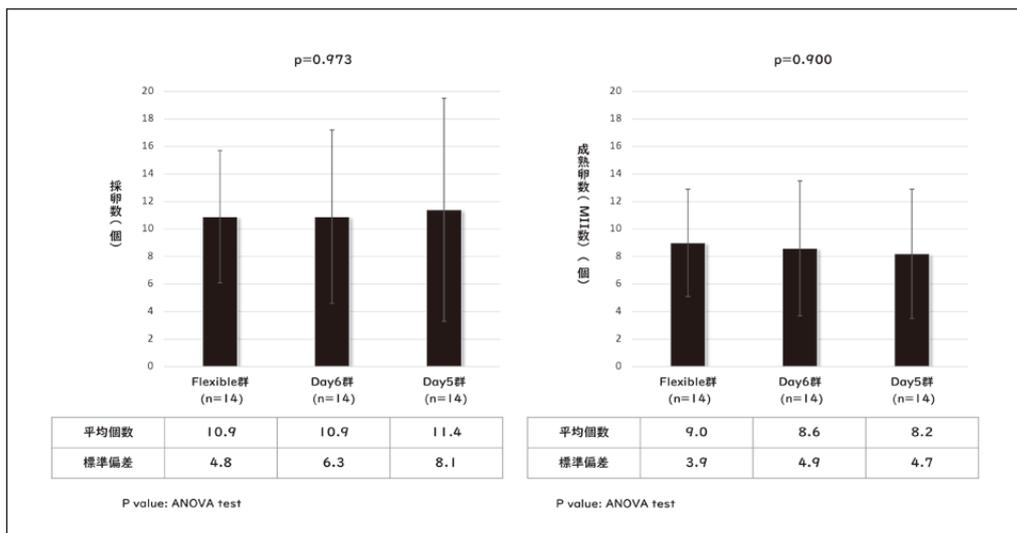


図 1 採卵結果

の3群に分けての検討を行った。本検討にて、フレキシブル群に比して、6日目固定群および5日目固定群は採卵成績に有意差を認めなかった。ホリトロピンドeltaのアンタゴニスト固定法の開始タイミングは、より確実に排卵誘発中のLHサージや予期せぬ排卵を防ぐことを視野に入れると、刺激開始5日目投与がより有用な選択肢ではないかと考えられた。

ホリトロピンドeltaの刺激用量は患者のAMH値×体重をもとに算出されるアルゴリズムである。このため刺激用量でマッチングした本検討は、その背景にある患者のAMH及び体重をも考慮した検討であると言える。また本製剤のコンセプトは至摘採卵数(8～14個)を得ることとしており、各群ともこれにあてはまった。この結果はアルゴリズムの用量調節に由来する結果であると考えられる。

本検討の背景として、体外受精の保険適用に伴い外来通院回数を念頭に置いた治療計画が求められた。このため、当院では卵巣刺激時の薬剤投与法を刺激開始時に計画する固定法へと移行させた。ホリトロピンドeltaの国内第3相試験(Japanese Follitropin Delta Phase 3 Trial ; STORK)⁶⁾は刺激開始6日目にアンタゴニスト投与を開始する固定法であるが、当院ではこの刺激6日目アンタゴニスト開始症例(フレキシブル群、および6日目固定群)において、LHサージや排卵を認めた症例を経験した。このため、少ない観察でより確実にLH上昇や予測外の排卵を防ぐ目的で刺激5日目にアンタゴニスト投与を行う方法に移行させた経緯がある。採卵成績が同様であるならば、この5日目固定法がより適切ではないかと考えられた。

文献的考察を行うと、GnRH アンタゴニスト法におけるフレキシブル法と固定法の比較については、ホリトロピンドeltaに関する報告は限定されているものの、従来薬剤に関しては多くの報告がなされており、採卵回収卵数および臨床妊娠率において、同等であるとされている⁴⁻⁷⁾。近年の報告では卵巣刺激開始5日目固定法でもフレキシブル法でも累積妊娠率で差がないと報告されている。同報告において、5日目固定法と6日目固定法の差異に関しては触れられていないものの、固定法の簡便さに関して焦点が当てられている⁷⁾。更に新鮮胚移植に限れば、刺激開始5日目、または6日目の固定法の方が、フレキシブル法に比べて継続妊娠率が高かったとするシステムティックレビューが報告されており、これは固定法においてE2の値が上昇しすぎないことが要因であると述べられている⁸⁾。一方で残りの胚をすべて凍結する事実を考えると、新鮮胚移植は必ずしも重要な選択肢とは言えず、本検討の結果である刺激5日目にアンタゴニスト投与を開始する有用性は、医療者が現実的に実行しやすい方法(ア

ンタゴニスト開始日が固定であり、早発LH上昇および予測外の排卵を防ぐ)としてとらえるべきであると言える。なお、当院では卵胞発育の面からアンタゴニストは最小限(隔日の投与)にとどめているが、排卵誘発のより早期にアンタゴニストを開始すると有意($p=0.007$)に投与回数が増えるため(フレキシブル群 vs 6日目固定群 vs 5日目固定群; 1.36 ± 0.93 回 < 1.86 ± 0.77 回 < 2.36 ± 0.63 回)、コスト面では注意が必要である。

今回、AMHと体重で決定されたホリトロピンドelta 1日投与量でマッチング抽出した3群間比較を行った結果、採卵成績には有意差を認めず、アンタゴニスト介入タイミングに関しての有用な情報が得られたと思われる。ホリトロピンドeltaの製剤特有の利便性に加えて、本検討の結果が、保険医療の制限下において患者および医療者の負担を減らす情報になればと願う。

参考文献

- 1) Eric I Park, Stephen M Manzella, Jacques U Baenziger: Rapid clearance of sialylated glycoproteins by the asialoglycoprotein receptor. *J Biol Chem*, 278: 4597-602, 2003.
- 2) Lindsay M Steirer, Eric I Park, R Reid Townsend, Jacques U Baenziger: The asialoglycoprotein receptor regulates levels of plasma glycoproteins terminating with sialic acid alpha2,6-galactose. *J Biol Chem*, 284: 3777-83, 2009.
- 3) Håkan Olsson, Rikard Sandström, Lars Grundemar: Different pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of recombinant follicle-stimulating hormone(rFSH) derived from a human cell line compared with rFSH from a non-human cell line. *J Clin Pharmacol*, 54: 1299-307, 2014.
- 4) Wolfgang Koechling, Daniel Plaksin, Glenn E Croston, Janni V Jeppesen, Kirsten T Macklon, Claus Yding Andersen: Comparative pharmacology of a new recombinant FSH expressed by a human cell line. *Endocr Connect*, 6: 297-305, 2017.
- 5) Joan-Carles Arce, Per Larsson, Juan Antonio Garcia-Velasco: Establishing the follitropin delta dose that provides a comparable ovarian response to 150 IU/day follitropin alfa. *Reprod Biomed Online*, 41: 616-622, 2020.
- 6) Osamu Ishihara, Joan-Carles Arce; Japanese Follitropin Delta Phase 3 Trial (STORK) Group: Individualized follitropin delta dosing reduces OHSS risk in Japanese IVF/ICSI patients: a randomized controlled trial. *Reprod Biomed Online*, 42: 909-918, 2021.
- 7) Xiu Luo, Li Pei, Fujie Li, Chunli Li, Guoning Huang, Hong Ye: Fixed versus flexible antagonist protocol in women with predicted high ovarian response except PCOS: a randomized controlled trial. *BMC Pregnancy Childbirth*, 21: 348, 2021.
- 8) C A Venetis, A Storr, S J Chua, B W Mol, S Longobardi, X Yin, T D'Hooghe: What is the optimal GnRH antagonist protocol for ovarian stimulation during ART treatment? A systematic review and network meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 29: 307-326, 2023.

著者の申し出により、本論文の掲載を取り下げました。

著者の申し出により、本論文の掲載を取り下げました。

著者の申し出により、本論文の掲載を取り下げました。

著者の申し出により、本論文の掲載を取り下げました。

著者の申し出により、本論文の掲載を取り下げました。

著者の申し出により、本論文の掲載を取り下げました。

著者の申し出により、本論文の掲載を取り下げました。

著者の申し出により、本論文の掲載を取り下げました。

不妊治療中の患者を対象とした葉酸および神経管閉鎖障害に関する意識調査を踏まえた情報提供のあり方についての検討

Consideration of how to provide information based on an awareness survey regarding folic acid and neural tube defects in patients undergoing infertility treatment

藤井 美喜, 山本 健児, 苔口 昭次, 岩崎 利郎, 塩谷 雅英

Miki Fujii, Kenji Yamamoto, Shoji Kokeguchi, Toshiro Iwasaki, Masahide Shiotani

英ウイメンズクリニック 〒650-0021 兵庫県神戸市中央区三宮1-1-2 三宮セントラルビル7,8階
Hanabusa Women's Clinic

要旨: 葉酸は胎児期における神経管形成の必要栄養素であるため、不妊治療を受ける患者は葉酸摂取を積極的に行う必要がある。そこで、初診およびART実施患者に対して、葉酸および神経管閉鎖障害の知識とサプリメント摂取状況をアンケート調査した。葉酸含有食材の認知度は50-70%で、初診患者の55%が葉酸サプリメントを摂取していた。また、葉酸サプリメントの推奨時期を「妊娠1か月以上前から」と知っているのは62%であった。そこで、葉酸と神経管閉鎖障害のパンフレットを初診時とサプリメント相談時に渡し、未摂取の患者にはサプリメントを勧めた。これらの対応後にART実施患者を対象にアンケートを実施した。葉酸含有食材の認知は向上し、葉酸サプリメント摂取率も71%から89%と有意に上昇した。しかし、葉酸摂取の理由を「知らない」と返答した人は51%と約半数であったため、葉酸と神経管閉鎖障害の関連性について今後も強調する必要がある。

キーワード: 葉酸, 神経管閉鎖障害, 不妊治療, 意識調査, 情報提供

英文要旨: Folic acid is an essential nutrient for neural tube formation during the fetal period. Therefore, patients who are undergoing infertility treatment and considering pregnancy need to actively take folic acid. We conducted a questionnaire survey in patients who had been diagnosed for the first time and undergone ART to assess their knowledge of folic acid and neural tube defects and their awareness of taking folic acid supplements. As a result, awareness of foods containing folic acid was 50%-60%, and the intake rate of folic acid supplements among first-time patients was approximately 50%. Meanwhile, approximately 50% of respondents knew that the recommended timing for taking nutritional supplements, including folic acid supplements, was at least 1 month before pregnancy, but were unaware that the reason for this was to reduce the risk of neural tube defects. Based on the results of the questionnaire, we created a pamphlet containing information about folic acid and neural tube defects and foods containing folic acid, and handed this pamphlet out at first visits and supplementation consultations. In addition, a check box was created in the electronic medical record-linked database system (FileMaker) to indicate whether patients were taking folic acid supplements, and patients who were not taking these supplements were encouraged to take them. After implementing these strengthening measures, we conducted another survey of patients undergoing ART. As a result, awareness of folic acid-containing foods had improved, and the intake rate of folic acid supplements had increased from approximately 70% to 90%. However, even after the strengthening measures, approximately 50% of respondents answered that they were unaware that the reason for recommending folic acid intake was to reduce the risk of neural tube defects. Therefore, it is considered necessary to continue emphasizing and communicating the relevance of folic acid supplements for preventing neural tube defects.

Key words: awareness survey, folic acid, infertility treatment, information provision, neural tube defects

緒言

葉酸はビタミンB群の水溶性ビタミンで細胞の分化に不可欠な栄養素である。このため、細胞分化が盛んな胎児、脳や脊椎、中枢神経にとって重要な器官である神経管の発育に欠かせない。神経管は妊娠の初期(妊娠4週頃)から形成され、妊娠6週に完成する。妊娠の4週間前から妊娠12週までの毎日、葉酸サプリメントを400 μ g摂取した場合、神経管閉鎖障害の発症が低減できることが後述の通り多くの研究で明らかになっている。1991年英国の医学研究評議会から葉酸サプリメントの有用性を証明する無作為比較試験¹⁾が報告され、最終月経第1日目から妊娠12週まで葉酸を含む総合ビタミン剤を内服した群では神経管閉鎖障害の発症リスクは有意に低減した。1993年ハンガリーでランダム化比較試験²⁾が実施され、葉酸0.8mg/日を含むマルチビタミンを妊娠1か月前から2か月間摂取すると神経管閉鎖障害の発生率が有意に減少した。その後、1999年中国で神経管閉鎖障害の発生率が高い北部地域と低い南部地域の比較試験³⁾が実施され、妊娠前から毎日400 μ gの葉酸を摂取することが神経管閉鎖障害の発生率を減少させた。

これらの葉酸の研究結果から、2000年に厚生労働省は、妊娠を計画する女性は妊娠の4週間前から妊娠12週頃まで、神経管閉鎖障害のリスク低減のために、1日400 μ gの葉酸補助食品の摂取するよう通知⁴⁾を出している。アメリカでは葉酸摂取によって、神経管閉鎖障害の発生は減少した⁵⁾。しかし、国際クリアリングハウスがまとめた報告では、日本における二分脊椎の発症は過去20年にわたり、出生1万当たり5.0-6.0の値を示し、減少傾向を認めない⁶⁾。

2019年国民健康・栄養調査報告によると食事からの一日あたりの葉酸摂取量は20-29歳では231 μ g/日で日本人の食事基準の240 μ g/日を下回っている⁷⁾。食事からの葉酸摂取も必要だが、妊娠初期はつわりなどが多くの方にみられるため野菜などの摂取が不足しやすいので、効果的に補充するにはサプリメントが有効であると考えられる。多くの場合、妊娠を知るのは神経管の形成に重要な時期(受胎後およそ28日間)よりも遅い。したがって、妊娠初期だけでなく、妊娠を計画している女性や妊娠の可能性のある女性は、食事からの葉酸摂取に加えて、葉酸栄養補助食品(サプリメントを含む)からも摂取することが神経管閉鎖障害発症の予防に重要である。そこで、今回、初診患者とART実施患者の葉酸摂取と神経管障害に関する意識を調査し、情報提供のあり方について考える機会とした。

研究目的

葉酸および神経管閉鎖障害の知識の向上を目指して、対応を強化した後の患者の知識状況を確認することで情報提供のあり方を考える。

研究方法

2021年9月~2022年4月に英ウィメンズクリニックを受診した初診患者とART実施患者を対象に葉酸および神経管閉鎖障害に関するアンケートを実施した。方法は、①不妊治療を目的に受診した初診患者を対象に、問診表記載確認後にアンケートを配布した。②ART実施患者を対象に、採卵当日リカバリールームの入室案内時にアンケートを配布した。いずれも、アンケートBOXにて回収した。アンケート内容は、①葉酸および神経管閉鎖障害についておよびその関連性に関する知識、②葉酸サプリメントの摂取状況などに関する質問を設定した。

アンケートの結果を受けて、葉酸および神経管閉鎖障害に関する情報提供に対する対応を次の通り行なった。①葉酸および神経管閉鎖障害の説明用紙を作成し、初診不妊患者および患者からサプリメントの相談があった場合に渡した。説明内容は、「葉酸とは」「神経管閉鎖障害とは」「サプリメントを勧める理由」「葉酸を含む食材について」であった(図1)。②電子カルテと連動する

目録量多く含む食品	目安量	葉酸(μ g)
卵の黄身	2個	126
鮭	3握	114
からし菜	1株	99
ブロッコリー	2握	84
アスパラガス	3本	108
大豆	1/2カップ	60
調整豆乳	1カップ	65
納豆	中1カップ	60
日本のほろちや	4cm角2切れ	48
さつまいも	中1/2本	49
緑豆	10匙	70
アボカド	1/2個	64
いちご	45粒	72
ハワイア	1/2個	57
オレンジ	中1個	44

図1 葉酸および神経管閉鎖障害の説明用紙

データベースシステム（ファイルメーカー）への追加項目として、葉酸サプリメント摂取の有無のチェックBOXを作成し、内服していない場合には積極的にサプリメントの摂取を勧めた。

対応後の2023年2月～5月にART実施患者を対象に、採卵当日、リカバリールームの案内時にアンケートを配布した。回収後、対応強化前のアンケート調査結果と比較した。倫理的配慮として、質問への回答は自由意志により、回答を依頼し、回答しなくても診療への影響はないことを説明して協力を依頼した。なお、日本語のわからない人や記載できない人は対象から除外した。いずれも、対象となる患者にアンケートの主旨、参加の拒否や同意の中止により不利益を生じないことを説明し、同意を得た上でアンケートをお渡した。検定方法は χ^2 検定およびt検定を用いた。

結果

1. 最初のアンケート結果

アンケートは650名に配布し、初診患者97名、ART実施患者98名、計195名から回収した（回収率30%）。年齢はそれぞれ35.7（±4.8）歳、38.0（±5.1）歳、不妊治療期間は1.7（±1.8）年、4.2（±3.5）年であり、どちらもART実施患者の方が高い傾向であった（表1）。葉酸及び神経管閉鎖障害に対する知識状況を表2に示した。「葉酸の栄養素」については、初診患者89.7%（87/97）、ART実施患者96.9%（95/98）が認知していた。「葉酸を含む食材に関する認知」の割合は、それぞれ52.6%（51/97）、66.3%（65/98）でいずれも差はなく認知していた患者は葉酸を含む食材についても正しく認知していた。「神経管閉鎖障害の認知度」については、

表1 患者背景

	初診患者 n=97	ART実施患者 n=98	p値
年齢	35.7 (±4.8) 歳	38.0 (±5.1) 歳	p<0.05
不妊治療期間	1.7 (±1.8) 年	4.2 (±3.5) 年	p<0.05
妊娠歴あり	31名 (32.0%)	39名 (39.8%)	p = 0.25
出産経験あり	12名 (12.4%)	16名 (16.3%)	p = 0.43
BMI	22.4 (±3.5)	21.5 (±2.9)	p = 0.15

表2 葉酸および神経管閉鎖障害に関する知識

	回答肢	対応前（初診患者）n = 97		対応前（ART実施患者）n = 98		P ¹⁾	対応後（ART実施患者）n = 200		P ²⁾
		n	%	n	%		n	%	
① 葉酸の栄養素の認知	はい	87	89.7	95	96.9	P=0.08	199	99.5	P=0.20
	いいえ	10	10.3	3	3.1		1	0.5	
② 葉酸を含む食材の認知	はい	51	52.6	65	66.3	P=0.05	154	77.0	P<0.05
	いいえ	46	47.4	33	33.7		46	23.0	
③ 神経管閉鎖障害の認知	はい	27	27.8	30	30.6	P=0.67	85	43.0	P<0.05
	いいえ	70	72.2	68	69.4		114	57.0	
④ リスク低減のために葉酸が推奨されている（認知）	はい	33	34.0	40	40.8	P=0.07	101	50.5	P=0.16
	いいえ	64	66.0	58	59.2		99	49.5	
⑤ 妊娠1か月前までに葉酸が推奨されている（認知）	はい	60	61.9	74	75.5	P<0.05	162	81.0	P=0.27
	いいえ	37	38.1	24	24.5		38	19.0	
⑥ 葉酸サプリメント摂取	はい	53	54.6	70	71.4	P<0.05	178	89.0	P<0.05
	いいえ	44	45.6	28	28.6		22	11.0	

P¹⁾ 対応前の初診患者とART実施患者の比較

P²⁾ 対応前後のART実施患者の比較

それぞれ27.8% (27/97), 30.6% (30/98) で、「神経管閉鎖障害のリスク低減のために葉酸が推奨されている」と知っていたのは、それぞれ34.0% (33/97), 40.8% (40/98) と差はなかった。「リスク低減のために葉酸栄養補助食品を摂取する時期」を「妊娠1か月以上前」と認知していたのは、それぞれ61.9% (60/97), 75.5% (74/98) で有意にART実施患者の方が多かった ($p < 0.05$)。葉酸サプリメント摂取している患者の割合は、それぞれ54.6% (53/97), 71.4% (70/98) であり、有意にART実施患者の方が多く、平均摂取量は557 (± 205) μg , 553 (± 198) μg であった。

2. 対応後のアンケート

アンケートはART実施者449名に配布し、200名から回収した(回収率44.5%)。年齢は対応前、対応後それぞれ38.0 (± 5.1) 歳, 38.5 (± 4.6) 歳, 不妊治療期間は4.2 (± 3.2) 年, 2.8年 (± 1.9) であった(表3)。対応前後(ART)の比較を表2に示した。

「葉酸の栄養素の認知」は対応前96.9% (95/98), 対応後99.5% (199/200) であったが、「葉酸を含む食材の認知」は66.3% (65/98), 77.0% (154/200) で、対応後に認知率が増えていた ($p < 0.05$)。「神経管閉鎖障害の認知」は30.6% (30/98), 43.0% (85/200) と対応後に認知率が増えていた ($p < 0.05$) が、「神経管閉鎖障害リスク低減のために葉酸が推奨されている」と知っているのは40.8% (40/98), 50.5% (101/200) であった。「リスク低減のために葉酸栄養補助食品を摂取する時期」を「妊娠1か月以上前」と知っているのは75.5% (74/98), 81.0% (162/200) であった。葉酸サプリメント摂取率は71.4% (70/98), 89.0% (178/200) で対応後に増えていた ($p < 0.05$)。対応後のサプリメント

の平均摂取量は652 (± 224) μg であった。

考 察

葉酸は1940年代にほうれん草の抽出物から発見された。水溶性ビタミンBに属し、体内では合成できないため、食品から摂取するか、化学合成された葉酸サプリメントから摂取する。食品中に存在する葉酸(食事性葉酸)は、複数のグルタミン酸が結合したポリグルタミン酸型として存在し、生体利用率は約50%である⁸⁾。葉酸サプリメントの多くはプテロイルモノグルタミン酸型でその生体利用率は約85%である⁹⁾。葉酸はDNAの合成、巨赤芽球性貧血の治療、神経管閉鎖障害の防止、流産防止、胎盤早期剥離の防止など重要な生理機能を担う¹⁰⁻¹³⁾。今回の結果では、葉酸の認知度については、初診時には90%を下回っていたのがART実施時には97%と受診を重ねるうちに、認知度が上昇しておりスタッフからの説明や自己で学ぶ機会が増えたことを伺わせた。さらに、対応後には、葉酸の認知度は100%近くまで上昇した。葉酸の認知度に関する別の研究では10～30歳の未婚女性は葉酸について約56%が全く知らない¹⁴⁾と報告されていることから、未婚女性と比較すると不妊治療を受けている患者の葉酸の認知度は高いと思われる。

しかし葉酸を含む食材についての認知度は初診時53%、ART実施患者においても66%であり、葉酸の認知度に比較して食材の認知度は高くなかった。しかしながら、食材について認知していると回答した人は葉酸を含むと考えている食品についてもすべて正しく認知されていた。対応強化後には葉酸を含む食材の認知度は有意差をもって77%に上昇していたことから、対応の効果はあったと考える。食事の欧米化に伴い、野菜の摂取量

表3 患者背景

	対応前 n=98	対応後 n=200	有意差
年齢	38.0 (± 5.1) 歳	38.5 (± 4.6) 歳	$p = 0.44$
不妊治療期間	4.2 (± 3.5) 年	2.8 (± 1.9) 年	$P < 0.05$
妊娠歴あり	39名 (39.8%)	97名 (48.5%)	$p = 1.56$
出産経験あり	16名 (16.3%)	44名 (22.0%)	$p = 0.25$
BMI	21.5 (± 2.9)	21.5 (± 3.0)	$p = 0.95$

アンケート実施期間 2021年9月～2022年4月

2023年2月～5月

が減っており、食事だけで必要量の葉酸を摂取するのは極めて困難な状態になってきている。葉酸は体内で蓄積する量が少なく、一度に摂取しても体外に排出されるため、毎日、適用量摂るように心がける必要がある¹⁵⁾。現在、世界では80を超える国々において、小麦粉や米、とうもろこしの粉など主食に用いられる穀類に葉酸が添加されている¹⁶⁾。食品に添加されれば、健康食品やサプリメントを購入できない人でも葉酸が摂取できるという利点がある。アメリカの食品医薬局(FDA)は1996年に穀類に葉酸を強化することを認可し、葉酸が強化された後に神経管閉鎖障害の子どもは約19%減少した¹⁷⁾。日本では葉酸の添加政策が行われていないため、葉酸が不足しないように食品やサプリメントから摂取する必要がある。

神経管閉鎖障害の認知度については、初診患者、ART実施患者とも約30%であり、不十分と思われた。対応強化後は43%を超えていたが、半数にも満たず、まだ十分とは言えなかった。神経管閉鎖障害(二分脊椎、無脳症、脳瘤)は、妊娠6週頃(受精後4週頃)に発症し、脳と脊椎の働きを障害する¹⁸⁾。このうち二分脊椎の発症は出生1万当たり5.0-6.0と多くはないが、出生後には水頭症、歩行障害、排泄障害など合併症の治療や手術が必要になる場合がある¹⁹⁾。また、無脳症は生まれても生命維持が難しく、脳瘤では手術をしても神経学的障害が残る可能性がある²⁰⁾。神経管閉鎖障害リスク低減のために葉酸の摂取が推奨されていることを知っていたのは41%であった。対応後には51%と増えていたが、まだ約半数程度は認知していなかった。妊娠経験のない女性の研究においても、神経管閉鎖障害のリスク低減のために葉酸が推奨されているのを知っていたのは25～29歳32.0%、30～34歳34.8%、35～39歳35.8%²¹⁾と報告されていることから、葉酸と神経管閉鎖障害の関連性の認知が十分に広まっていないと思われる。

厚生労働省は妊娠を計画している全ての女性に対して、妊娠する1か月以上前から妊娠3か月までの間、通常の食事に加え、葉酸400 μ gの栄養補助食品などから毎日摂取することを推奨している⁴⁾。しかし、今回の調査では、妊娠1か月前までに葉酸摂取が推奨されているのを知っているのは、初診患者62%、ART実施患者76%で、対応強化後はART実施患者で81%に上昇していた。また、妊娠1か月前から葉酸サプリメント摂取が必要と認知はしているが、前述の通り神経管閉鎖障害のリスク低減のために葉酸摂取が推奨されていることの認知度が低かったことから、葉酸の摂取の必要性を十分理解していないためと考えられた。したがって、葉酸の摂取を勧めるとともに、その理由についても十分に説明していくことで、コンプライアンスの上昇につながるのではないかと考える。

葉酸サプリメントを摂取している患者の割合は、初診時には55%であったのがART実施時には71%、対応強化後は89%と増えていた。対応の強化として行った葉酸・神経管閉鎖障害に関するリーフレットを作成、患者データベース(ファイルメーカー)の葉酸未摂取のアラートを表示による積極的な摂取の勧奨は、一定の効果があったと思われる。しかし、今回の調査では、アンケート回答後、葉酸サプリメントを継続して摂取できていたかの確認ができていない。妊娠前から妊娠中も継続して葉酸を摂取する効果を示す報告も見られる。たとえば、葉酸サプリメントの服用12週以降も続けることで、早産の発生リスクを下げるができる²²⁾と報告されている。他には、妊娠前の葉酸補給は胎児の成長を促進し、胎盤および出生体重が増加し、低出生体重児とSGA (small for gestational age) のリスクが減少する²³⁾と報告されている。これらのことから、葉酸摂取を継続的に行っていくことも促していきたい。本研究結果を踏まえ、今後も医師、助産師、看護師、薬剤師、不妊コーディネーター、管理栄養士などすべての職種の人が協力して、葉酸・神経管閉鎖障害の認知の向上に努め、サプリメントを含む葉酸栄養補助食品の適切な摂取を促すことで、神経管閉鎖障害が予防できるようにしていきたい。

参考文献

- 1) MRC Vitamin Study Research Group: Prevention of neural tube defects: Results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* (London, England), 338: 131-137, 1991.
- 2) Czeizel AE: Prevention of congenital abnormalities by periconceptional multivitamin supplementation. *BMJ*, 306: 1645-1648, 1993.
- 3) Berry RJ, Li Z, Erickson JD, Li S, Moore CA, Wang H, Mulinare J, Zhao P, Wong LY, Gindler J, Hong SX: Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. China-U.S. Collaborative Project for Neural Tube Defect Prevention. *N Engl J Med*, 341: 1485-1490, 1999.
- 4) 神経管閉鎖障害の発症リスク低減のために妊娠可能期の女性等に対する葉酸の摂取に関わる適切な情報提供の推進について。平成12年度。児母第72号・健医地生発第78号(厚生労働省通知)。https://www.mhlw.go.jp/www1/houdou/1212/h1228-1_18.html, (2024.1.27)
- 5) Sheree L Boulet, Quanhe Yang, Cara Mai, Russell S Kirby, Julianne S Collins, James M Robbins, Robert Meyer, Mark A Canfield, Joe Mulinare: Trends in the postfortification prevalence of spina bifida and anencephaly in the United States. *Birth defects research. Clinical and molecular teratology*, 82: 527-532, 2008.
- 6) 日本産婦人科医会. 外表奇形等統計結果. クリアリングハウス国際モニタリングセンター日本支部, 3-8, 2018. <https://icbdsr-j.jp/2020data.html>, (2023.11.17)
- 7) 厚生労働省. 令和元年国民健康・栄養調査結果の概要.

- <http://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000687163.pdf>, (2023.11.17)
- 8) 日本人の食事摂取基準(2020年版)「日本人の食事摂取基準」策定検討会報告。
<https://www.mhlw.go.jp/content/10904750/000586553.pdf>, (2024.1.23)
 - 9) 独立行政法人国民生活センター。胎児の正常な発育に役立つ「葉酸」を摂取できるといった健康食品。2011。
https://www.jsog.or.jp/news/pdf/information20110527_NCAC.pdf, (2023.11.17)
 - 10) Xiuwei Wang, Jialu Yu, Jianhua Wang: Neural Tube Defects and Folate Deficiency. Is DNA Repair Defective? International journal of molecular sciences, 24(3), 2023.
 - 11) Ralph Green, Ananya Datta Mitra: Megaloblastic Anemias, Nutritional and Other Causes. The Medical clinics of North America, 101: 297-317, 2017.
 - 12) Yan-Yan Mao, Liu Yang, Min Li, Jun Liu, Qian-Xi Zhu, Yang He, Wei-Jin Zhou: Periconceptional Folic Acid Supplementation and the Risk of Spontaneous Abortion among Women Who Prepared to Conceive. Impact of Supplementation Initiation Timing. Nutrients, 12, 2020.
 - 13) Elie Nkwabong, Olive Stella Tchomguie Moussi, Jeanne Fouedjio: Risk factors for placental abruption. Tropical doctor. 53: 37-40, 2023.
 - 14) 佐藤弘希・安楽誠・瀬尾量・河野陽介・山本巖・岡山善郎・渡部陽子・下石和樹・浦田由紀乃・門脇大介・異島優・渡邊博志・丸山徹: プライマリケア薬剤師におけるヘルスポロモーション-葉酸摂取における認知調査と能動的情報提供の効果-. Jpn J Pharm Health Care Sci, 36: 533-541, 2010.
 - 15) 永井勝次: 葉酸とは。健全社編, 葉酸-厚生労働省がはじめて摂取を呼びかけた重要な栄養素-, pp2, 健全社, 1998.
 - 16) Elizabeth Centeno Tablante, Helena Pachón, Heather Metterman, Julia L Finkelstein: Fortification of wheat and maize flour with folic acid for population health outcomes, 2019.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD012150.pub2>, (2024.1.22)
 - 17) Honein MA, Paulozzi LJ, Mathews TJ, Erickson JL, Wong LY: Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. J Am Med Assoc, 285: 2981-2986, 2001.
 - 18) 日本先天異常学会からのメッセージ。
<https://www.jspnm.com/topics/data/kaiin20170615.pdf>, (2023.12.01)
 - 19) 難病情報センター。奇形症候群分野 | 二分脊椎(平成23年度)。
<https://www.nanbyou.or.jp/entry/2216>, (2024.1.27)
 - 20) Srijan Singh, Sushant Mane, Suhani Jain, Aditi Bajaj: Clinical presentation and outcomes of neonates born with neural tube defects- an experience from a level III B NICU in Western India. Child's nervous system ChNS official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery, 40: 163-170, 2024.
 - 21) 株式会社日本総合研究所。妊娠・出産に当たっての適切な栄養・食生活に関する調査報告書(平成30年度子ども・子育て支援推進調査研究事業)
<http://www.mhlw.go.jp/content/11900000/000592928.pdf>, (2023.12.01)
 - 22) Liu X, Yan D, Zhang Y, He X: Study on correlation between folic acid supplementation during perigestational period and different subtypes of preterm birth. Zhongguo Fuyoujiankang Yanjiu, 31: 553-559, 2020.
 - 23) Timmermans S, Jaddoe VWV, Hofman A, Steegers-Theunissen RPM, Steegers EAP: Periconception folic acid supplementation, fetal growth and the risks of low birth weight and preterm birth. The Generation R Study, 102: 777-785, 2009.

不妊治療を受ける患者が薬剤師に求める支援内容

Which support infertile patient requires from pharmacist?

前田 優磨¹, 辻 勲¹, 小松原 千暁¹, 岡村 太郎¹, 福田 愛作¹, 森本 義晴²

Yuma Maeda¹, Isao Tsuji¹, Chiaki Komatsubara¹, Taro Okamura¹, Aisaku Fukuda¹, Yoshiharu Morimoto²

¹IVF大阪クリニック 〒577-0012 大阪府東大阪市長田東1-1-14

²HORACグランフロント大阪クリニック 〒577-0012 大阪府大阪市北区大深町3-1 グランフロント大阪 タワー B 15F

¹IVF Osaka Clinic

²HORAC Grand Front Osaka Clinic

要旨: 不妊治療を受ける患者が薬剤師に何を求めているのかを調査し、不妊治療における薬剤師の支援方法について検討した。当院で2021年10月に胚移植を実施した女性患者157名にアンケートを配布し、143名(有効回収率91.1%)を分析対象とした。不妊治療において薬剤師に求める支援内容として薬に関する情報提供だけでなく、治療の心理的支援についても67.9%が必要と思うと回答した。不妊治療で薬を服用することに不安があると36.3%の患者が回答し、不安があると回答した患者の割合は治療期間1年以上の群では1年未満の群よりも多い傾向がみられた。また、薬剤師から薬の説明を受けることで、患者の81.2%は服薬に対する不安が軽減された。患者は薬剤師に対して、薬剤情報提供だけでなく、心理的ケアを含めた多様な支援を求めている。薬剤師は患者の治療経過に合わせ、患者に寄り添った丁寧な説明を心掛ける必要がある。

キーワード: 患者支援, 生殖補助医療, 不妊治療, 薬剤師

ランニングヘッド: 不妊治療を受ける患者が薬剤師に求める支援内容

英文要旨: The aim of the present study was to reveal what kind of support infertile patients demand for pharmacist and to investigate how pharmacist can support fertility treatment. We distributed questionnaires to 157 female patients who underwent IVF treatment at IVF Osaka clinic in October 2021, and we analyzed their replies of 143 patients (91.1%). In their replies, 67.9% of patients required psychological support as well as receiving information about medications from pharmacists. Thirty-six-point three percent of them had anxious feeling for taking medicine during fertility treatment. The rate of patients who had anxious feeling tended to increase when their treatment period became longer than 1 year. However, their anxiety in 81.2% of patients reduced when they received explanations of the medications from pharmacist. Infertile patients required not only provision of information about medicine but also diverse support such as psychological care from pharmacist. Pharmacist should sympathize infertile patients and provide easy-to-understand explanations to patients in order to make their treatment as easy as possible.

Key words: assisted reproductive technology, fertility treatment, pharmacist, patient support

緒 言

不妊治療は性生活などセンシティブな内容を含み、また職場など周囲の理解を得られない場合がある。そのため、不妊治療を受けていることを周囲に知られたくない患者が多くいることが報告されている¹⁾。それゆえ、患者が気軽に悩みを打ち明けにくい環境にあり、医療従事者からの支援が求められている^{2,3)}。本邦において、がん

治療など他の領域における薬剤師の役割・支援に関する報告は散見される⁴⁻⁷⁾。一方で、不妊治療では排卵誘発剤やホルモン剤などの薬を用いて治療を行うにもかかわらず、薬剤師の役割・支援に関する報告は見られない。2022年4月より不妊治療が保険適用となり治療を受ける患者数は増加し、病院や調剤薬局において薬剤師が不妊治療患者と接する機会が増えていると考えられる。

本研究では、不妊治療を受ける患者が薬剤師に何を求

めているのかを明らかにするためにアンケート調査を行い、不妊治療における薬剤師の支援方法について検討した。

方法

2021年10月1日から2021年10月31日までに、当院において胚移植を実施した女性患者157名を対象にアンケート調査を行った。生殖補助医療は一般不妊治療と比較して一般的に使用する薬剤の種類が多く使用法も複雑であり、治療に対する不安・抵抗が強く^{8,9)}、生殖補助医療では支援を必要とする患者が多いと考えられる。このような背景を考え、今回の研究において対象は生殖補助医療を受ける患者に限定した。アンケートを紙媒体で胚移植後に配布し、院内ポストへの返却を依頼した。アンケートは一人一回答とし、無記名で回収した。

質問内容は1) 基本属性、2) 不妊治療において薬剤師に求める支援内容、3) 不妊治療で用いられる薬を服用することに対する不安、4) 薬剤師から薬の説明を受けることにより不妊治療で用いられる薬を使用することに対する不安は軽減されているか、について尋ねた(図1)。1) では年齢および不妊治療期間について単一選択形式で回答を求め単純集計した。2) では質問10項目について5段階のリッカート尺度で回答を求め単純集計した。

また10項目の質問以外に薬剤師に求める支援内容について自由記述形式で回答を求めた。3) では5段階のリッカート尺度で回答を求め単純集計した。また、不妊治療期間が1年以上の患者では不妊治療に対するストレスや抑うつ傾向が強く、日常生活および健康に影響を及ぼすことが報告されている¹⁰⁻¹²⁾。これらの報告をふまえて、不妊治療期間と不安の関係を検討するため、不妊治療期間1年未満の群と不妊治療期間1年以上の群で不安を感じている患者の割合に差があるか比較した。また、「全く不安はない」以外を選択した患者には、不妊治療で用いられる薬を服用することに対する不安の具体的な理由について自由記述形式で回答を求め、アフターコーディングすることでカテゴリー分類した。統計解析は χ^2 検定を行い、危険率(P-value)が5%未満の場合に統計学的に有意差ありとした。4) では5段階のリッカート尺度で回答を求め単純集計した。また、回答の具体的な理由について自由記述形式で回答を求めた。

倫理的配慮として、回答は自由意思であり不参加であっても治療等に不利益を被ることはないこと、匿名性が保持されること、および調査結果を論文発表などに用いることをアンケート用紙に記載し、回答を得られたものは同意を得たものとした。なお、本研究は院内倫理委員会の承認を得て実施した(承認番号2022-13)。

不妊治療における薬剤師の支援ニーズに関するアンケート

このアンケートは、患者さまの薬剤師に対する意見をお伺いし、今後の薬剤師業務を患者さまにとって安心・安全にするために配布しております。差し支えなければご協力をお願い致します。アンケートの回答には3分程度かかります。完全匿名のため、このアンケートに答えることで患者さまのプライバシーが隠れることや、個々のデータや資料が外部に漏れることはありません。アンケート調査への参加は自由意思であり、不参加であっても患者さまの治療等に不利益を被ることはありません。このアンケートの結果はウェブ掲載、学会発表および論文投稿に用いる場合があります。

Q1. あなたの年齢に○を記入してください。
a: ~29歳 b: 30~34歳 c: 35~39歳 d: 40~44歳 e: 45歳~

Q2. あなたの不妊治療期間に○を記入してください。
a: 1年未満 b: 1年以上2年未満 c: 2年以上3年未満 d: 3年以上

Q3. 不妊治療において、あなたが薬剤師に求める①~⑩の支援内容について、いずれかに○を記入してください。

① 処方された薬の用法用量、使用方法、開始日や服用期間の詳細な説明
とても必要と思う 少し必要と思う どちらともいえない あまり必要と思わない 全く必要と思わない

② 処方された薬の副作用の詳細な説明
とても必要と思う 少し必要と思う どちらともいえない あまり必要と思わない 全く必要と思わない

③ 処方された薬を服用し、副作用が出た場合の対応・相談
とても必要と思う 少し必要と思う どちらともいえない あまり必要と思わない 全く必要と思わない

④ 薬の効果や、薬がなぜ処方され服用しないといけないかの詳細な説明
とても必要と思う 少し必要と思う どちらともいえない あまり必要と思わない 全く必要と思わない

⑤ 妊娠前後に薬を服用した場合、胎児への影響についての情報提供
とても必要と思う 少し必要と思う どちらともいえない あまり必要と思わない 全く必要と思わない

⑥ 病院での処方や市販薬と不妊治療で使用する薬の相互作用についての相談
とても必要と思う 少し必要と思う どちらともいえない あまり必要と思わない 全く必要と思わない

⑦ サプリメントや漢方薬についての提案や情報提供
とても必要と思う 少し必要と思う どちらともいえない あまり必要と思わない 全く必要と思わない

⑧ 治療や検査のスケジュールについての説明や相談
とても必要と思う 少し必要と思う どちらともいえない あまり必要と思わない 全く必要と思わない

⑨ 治療のステップアップなどの意思決定支援
とても必要と思う 少し必要と思う どちらともいえない あまり必要と思わない 全く必要と思わない

⑩ 治療における精神的・心理的支援
とても必要と思う 少し必要と思う どちらともいえない あまり必要と思わない 全く必要と思わない

Q4. Q3の①~⑩以外にあなたが不妊治療において薬剤師に求める支援内容があれば教えてください。

Q5. 不妊治療の薬を使用することに対し不安がありますか？いずれかに○を記入してください。
全く不安はない 不安はあまりない どちらともいえない 少し不安がある とても不安がある

Q6. Q5で「全く不安はない」以外を選択された方は不安の内容を具体的に教えてください。

Q7. 薬剤師から薬の説明および投薬を受けることで不妊治療の薬を使用することに対する不安は軽減されますか？いずれかに○を記入してください。
とても軽減されている 少し軽減されている どちらともいえない あまり必要と思わない 全く必要と思わない

Q8. Q7で選択された答えの具体的な理由について教えてください。

アンケートにご協力ありがとうございました

IVF 大阪クリニック 薬剤師 前田優希

図1 アンケート内容

結果

アンケートは155名から回答が得られ(回収率98.7%),うち選択回答に欠損のない143名(有効回収率91.1%)を分析対象とした。

1) 基本属性

年齢は「29歳以下」が9名(6.2%),「30～34歳」が33名(23.1%),「35～39歳」が49名(34.3%),「40～44歳」が37名(25.9%),「45歳以上」が15名(10.5%)であった。不妊治療期間は「1年未満」が30名(21.0%),「1年以上2年未満」が34名(23.7%),「2年以上3年未満」が29名(20.3%),「3年以上」が50名(35.0%)であった。

2) 不妊治療において薬剤師に求める支援内容

「とても必要と思う」または「少し必要と思う」と回答した患者は、薬に関連する質問である「①処方された薬の用法用量,使用方法,開始日や服用期間の詳細な説明」,「②処方された薬の副作用の詳細な説明」,「③処方された薬を服用し,副作用が出た場合の対応・相談」,「④薬の効果や,薬がなぜ処方され服用しないといけないかの詳細な説明」,「⑤妊娠前後に薬を服用した場合,胎児への影響についての情報提供」,および「⑥他院での

処方薬や市販薬と不妊治療で使用する薬の相互作用についての相談」が90%以上,「⑦サプリメントや漢方薬についての提案や情報提供」が86.0%であった。一方,薬に関連しない質問である「⑧治療やスケジュールについての説明や相談」が72.7%,「⑨治療のステップアップなどの意思決定支援」が57.4%,「⑩治療における精神的・心理的支援」が67.9%であった(図2)。

また,10項目以外の薬剤師に求める支援内容については「飲み忘れや重複服用など使用方法を間違えた時の対応」,「薬が合わない場合に代替できるものがあればその情報提供」,「良質な卵子を作るための情報提供」,「食事のアドバイス」および「話しやすい雰囲気づくり」という5例の回答が得られた。

3) 不妊治療で用いられる薬を服用することに対する不安

「とても不安がある」が2.1%,「少し不安がある」が34.2%,「どちらともいえない」が16.1%,「不安はあまりない」が31.5%,「全く不安はない」が16.1%であった。不安を感じている患者は36.3%であった。

不妊治療の薬を服用することに対する不安について「とても不安がある」または「少し不安がある」と回答した患者の割合を不妊治療期間1年未満の群(30名)と不妊治療期間1年以上の群(113名)で比較した結果,不妊

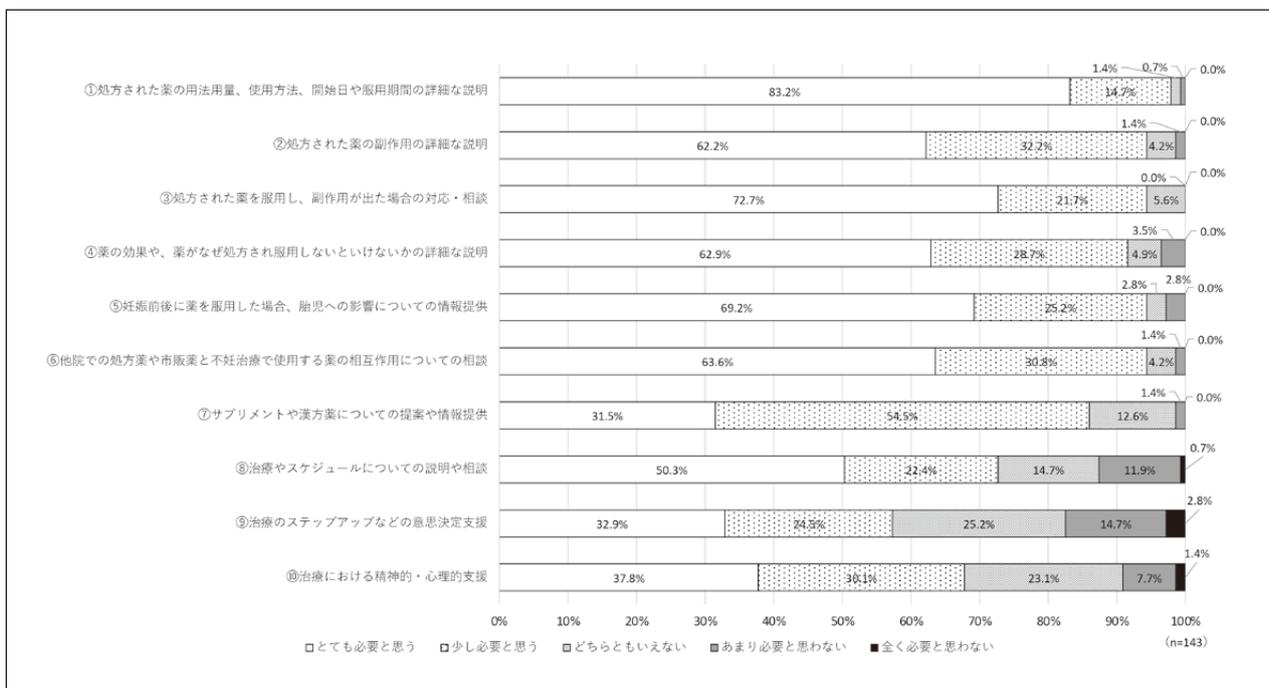


図2 不妊治療において薬剤師に求める支援内容

「とても必要と思う」または「少し必要と思う」と回答した患者は,薬剤に関連する質問①～⑥が90%以上,質問⑦が86.0%であった。一方,薬剤に関連しない質問である「⑧治療やスケジュールについての説明や相談」が72.7%,「⑨治療のステップアップなどの意思決定支援」が57.4%,「⑩治療における精神的・心理的支援」が67.9%であった。

治療期間1年以上の群で多い傾向がみられたが、有意な差は見られなかった(30.0% vs 38.1%, p=0.547, 表1)。また、不安の具体的な理由について「全く不安はない」以外と回答した患者は120名で、うち78名より回答があった。その理由を「薬の副作用」、「薬の胎児への影響」および「薬の服用方法を間違えること」の3つのカテゴリーに分類した。不安の理由として、「薬の副作用」が89.7%と最も多かった。「薬の胎児への影響」は9.0%であった(図3)。不安の具体的な理由の詳細については表2に示す。

4) 薬剤師から薬の説明を受けることにより不妊治療で用いられる薬を使用することに対する不安は軽減されているか

「とても軽減されている」が39.2%、「少し軽減されている」が42.0%、「どちらともいえない」が18.8%であった。「あまり軽減されていない」または「全く軽減されていない」と回答した患者はいなかった。薬剤師から薬の説明を受けることで、患者の81.2%は不安が軽減されていた。また、不安が軽減された具体的な理由として「いつも説明

表1 不妊治療の薬を使用することに対して「とても不安がある」または「少し不安がある」と回答した患者の割合

	不妊治療期間1年未満	不妊治療期間1年以上	P-value
不安があると回答した者の割合	30.0% (9/30)	38.1% (43/113)	p=0.547

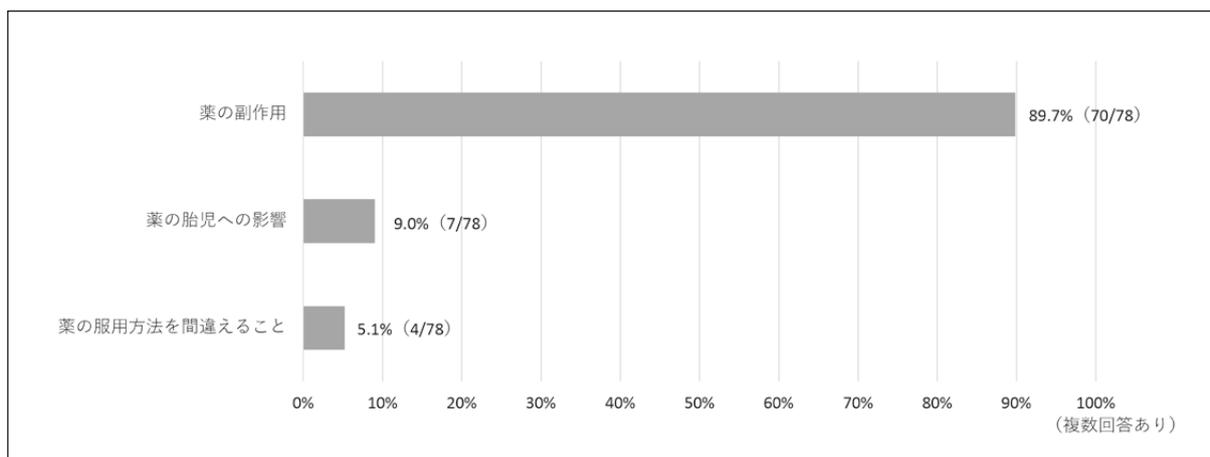


図3 不妊治療で用いられる薬を服用することに対する不安の理由

不妊治療の薬を服用することに対する不安の具体的な理由について「全く不安はない」以外と回答した患者120名のうち78名より回答が得られた。その理由を「薬の副作用」、「薬の胎児への影響」および「薬の服用方法を間違えること」の3つのカテゴリーに分類した。不安の理由として、「薬の副作用」が89.7%と最も多かった。

表2 不妊治療で用いられる薬を服用することに対する不安の具体的な理由

カテゴリー	アンケートの回答(抜粋)
薬による副作用の発現	<ul style="list-style-type: none"> ● 自分に合わず副作用が出ることが心配 ● 薬を服用することによって副作用がみられること ● 体がしんどくなったりしないかという不安 ● 数年後に薬を服用していたことでガンになったりしないのか ● 長期治療後その後に自分の身体に影響はないか ● 薬を服用し続けてより不妊が進むのではないかと不安になった
薬の胎児への影響	<ul style="list-style-type: none"> ● 赤ちゃんにとって悪影響などマイナスなことが起こらないか ● 妊娠した場合の胎児への影響はゼロではないと思うため
薬の服用方法を間違えること	<ul style="list-style-type: none"> ● 以前薬の残数が合わなくなったため ● 服用し忘れたとき心配

が丁寧で分かりやすいから」,「質問したらちゃんと納得のいく返答があるため安心できる」,「医師の説明を十分に聞いていないとき反復すると理解することがあるため」,また「薬剤師の口から説明を聞けるため」などという回答があった。

考 察

不妊治療において薬剤師に求める支援内容については、ほとんどの患者が服薬説明や薬の相談を希望していた。しかし、治療に関する説明や相談、精神的・心理的支援を求めている患者も半数以上いた。当院ではアンケート調査実施時、治療のスケジュールに関する説明や相談、意思決定支援および精神的・心理的支援については医師や看護師が担当しており、今回の結果は予想に反するものであった。不妊患者は薬剤師に多様な支援を求めていることが明らかとなった。

不妊治療中に生じる不安の原因のひとつとして、服用している薬に関することがある。今回の研究では、患者の約1/3が服用している薬に対して不安を感じていることが明らかとなった。なかでも薬の副作用について不安を感じている患者が最も多かった。患者は、「薬が自分の体に合わないか」、「体がしんどくなったりしないか」といった薬の急性期の副作用と、「数年後がんになったりしないか」、「長期治療後に自分の体に影響はないか」といった薬の長期的な影響に対して不安を感じている。また薬の催奇形性も不安の原因となっている。今回の研究では、薬の催奇形性に対して不安を感じている患者は約1割と少数であった。しかし、サリドマイド薬害以降、妊娠中に薬を服用することで胎児の先天異常を引き起こす可能性があることが広く認識されるようになり、多くの妊婦は服薬に対して不安を感じていることが報告されている^{13,14)}。不妊治療では妊娠前から胎児の器官形成期である妊娠初期まで薬を使用するため、不妊治療患者は妊婦と同様に服薬による胎児の先天異常に対して関心があると考えられる。そのため、不妊治療に携わる薬剤師は、服薬指導の時に薬の急性期の副作用だけでなく、長期的な影響や催奇形性についても説明する必要がある。また不安の原因には不妊治療特有のものがあり、妊娠できないことに対する「自責感」や「焦燥感」、妊娠することに対する周囲からのプレッシャーなどの情緒的反応が生じている¹⁵⁾。また、不妊治療を受けている女性患者の85%が治療を始めてから特別なストレスを感じていると回答し、その主な理由は「成功率を考えると子どもをもつことができるかどうか不安」であり¹⁶⁾、不妊治療を受けている女性患者は正常成人と比較して状態不安が高いことが報告さ

れている¹⁷⁾。これらのことにも薬剤師は留意しながら患者と接する必要がある。

今回の研究では、薬剤師から薬の説明を受けることで服薬に対する不安が軽減される可能性が示唆された。今回の結果と同様に、他の領域においても薬剤師からの薬剤情報提供によって、治療や服薬に対する不安が軽減されることが報告されている¹⁸⁻²⁰⁾。不安が軽減される理由として、「説明が丁寧でわかりやすいから」,「質問したら納得のいく返答があるため安心できる」,「医師の説明を十分に聞いていないとき反復すると理解できることがあるため」という回答があった。これらの回答から、薬剤師のわかりやすく、丁寧な説明は患者の理解を高め安心を与えることができると考えられる。ESHREのガイドラインでは日常的な心理社会的ケアの1つとして、不妊治療スタッフは、わかりやすく、患者に合わせた治療情報の提供が患者にとって重要であることを認識すべきであると記載されている²¹⁾。個々の患者に合った治療情報をわかりやすく説明し、患者の理解を高めることが、患者の不安を軽減する重要なポイントなのかもしれない。また興味深いことに、日常的な心理社会的ケアの提供は治療のコンプライアンスを向上させ、さらに治療のコンプライアンスが十分に得られた場合、不妊治療施設における妊娠率が15%上昇することが期待できると報告されている²²⁾。薬剤師の適切な心理的ケアは、不妊治療成績の向上にも寄与できる可能性があると考えられる。薬剤師の丁寧な説明が心理的ケアの効果ももつと考えていたが、心理的ケアを行うためにはカウンセリング技術が必要である。カウンセリングは、相手の悩みや不安の内容を傾聴し、そのポイントになる感情を理解し、共感できるコミュニケーションが必要になる²³⁾。このようなカウンセリング技術は、今後、生殖補助医療に携わるすべての医療従事者に求められる必須のスキルとなるだろう。

不妊患者の精神的ストレスは、治療期間と関連がある。不妊治療期間が1年以上になると不安が大きく、ストレスや抑うつ傾向が強いことが報告されている¹⁰⁻¹²⁾。しかし、今回の研究では、不妊治療期間が1年以上の群と1年未満の群の間に薬に対して不安を感じている患者の割合に有意な差は見られなかった。その原因として、今回の研究では、治療に対する不安・抵抗が強い生殖補助医療の患者が対象であり、年齢が高く、治療早期から生殖補助医療を行っている患者が多かったため、不妊治療期間で差がなかったと考えられる。よって、生殖補助医療を受ける患者に対しては、不妊治療期間にかかわらず心理的ケアが必要である。また体外受精・胚移植の施行回数も精神的ストレスと関連がある。施行回数が5回以上の患者では、4回以下の患者と比較して、悩みをもつ患者

の割合が高い傾向があると報告されている²⁴⁾。体外受精・胚移植の反復不成功患者に対しては、より手厚い心理的ケアが必要である。

薬剤師に対して、患者は薬に関する情報提供だけでなく、心理的ケアを含めた多様な支援を求めている。薬剤師の真摯な対応は、患者の不安を軽減し、ひいては不妊治療成績の向上に寄与できる可能性がある。薬剤師は、患者の治療経過に合わせて、わかりやすく、丁寧な説明を心掛け、患者が十分理解できるよう努めなければならない。

参考文献

- 1) 林谷啓美・鈴木江三子：不妊治療を受ける夫婦の抱える問題と支援のあり方。川崎医療福祉会誌, 19: 13-23, 2009.
- 2) 松本亜樹子：医療現場に求められるコミュニケーション—不妊治療体験者が感じる不妊治療施設に従事する医療者とのコミュニケーションに関するアンケート調査を行って—。支援対話研究, 1: 81-91, 2013.
- 3) 秋月百合：生殖医療現場における医師および看護師からの支援ニーズ—不妊治療経験者の視点から。支援対話研究, 3: 3-14, 2016.
- 4) 高野裕佑・半谷眞七子・立松三千子・中村千賀子・阿部恵子・藤崎和彦・亀井浩行：がん患者の薬剤師及び薬物療法に関するニーズを調査する質的研究。YAKUGAKU ZASSHI, 135: 1387-1395, 2015.
- 5) 野田久美子・小田綾乃・櫻井秀彦：うつ病患者および抑うつ症状保有者における薬局と薬剤師に対するニーズ分析。医療薬学, 45: 301-311, 2019.
- 6) 佐藤雅哉・伊勢雄也・林太祐・片山志郎：臨床現場における薬剤師の役割 (3) 心臓リハビリテーションにおける薬剤師の役割。日医大会誌, 13: 130-135, 2017.
- 7) 菅谷和也・伊勢雄也・片山志郎：臨床現場における薬剤師の役割 (1) 糖尿病治療における薬剤師の役割。日医大会誌, 11: 151-154, 2015.
- 8) 門尾三城子：生殖補助医療における患者の倫理観と葛藤：患者アンケートからの考察。医療・生命と倫理・社会, 11: 33-48, 2012.
- 9) 小泉智恵・中山美由紀・上澤悦子・遊佐浩子・中村水緒・川内博人：不妊検査・治療を受けている女性のストレス。周産期医学, 35: 1377-1383, 2005.
- 10) 冨田志織・安藤敬子・清村紀子：不妊治療を受けている女性がおかれている環境についての実態調査—ストレスや感情との関連—。看護科学研究, 18: 1-11, 2020.
- 11) 鶴巻陽子・江守陽子・村井文江・永井泰・小笠原加代子・石渡勇：不妊治療の長期化が女性の日常生活と健康に与える影響について。母性衛生, 54: 78-85, 2013.
- 12) A D Domar, A Broome, P C Zuttermeister, M Seibel, R Friedman: The prevalence and predictability of depression in infertile women. Fertil Steril, 58: 1158-1163, 1992.
- 13) 中島研・石井真理子・櫛田賢次・村島温子・山口晃史・渡邊典芳・荒田尚子・伊藤直樹・渡邊央美・入江聖子・北川道弘：相談者が予測する妊娠中の薬剤使用による先天奇形発生率とカウンセリングによる改善の評価。日病薬誌, 45: 377-380, 2009.
- 14) 高儀佳代子・恩田光子・岩城晶文・西川直樹・荒川行生：妊婦・授乳婦の服薬への意識に関する研究調査。YAKUGAKU ZASSHI, 130: 1381-1385, 2010.
- 15) 岸田佐智：体外受精適応となった不妊女性の情緒的反応。高知女子大学紀要, 44: 51-63, 1995.
- 16) 新野由子・岡井崇：不妊治療を受ける患者に対する支援のあり方に関する研究 第1報。母性衛生, 49: 138-144, 2008.
- 17) 五十嵐世津子・藤井俊策・木村秀崇・水沼英樹：生殖医療を受けている女性の不安。母性衛生, 49: 84-90, 2008.
- 18) 中島輝一・真野泰成・大内かおり・佐藤大輔・岩田杏子・樋口安耶・江原邦明・加藤芳徳・廣澤伊織・田島正教・土屋文人・山田治美・小瀧一・旭満里子：外来がん患者に対する薬剤師外来の役割とその評価。医療薬学, 38: 599-608, 2012.
- 19) 恩田光子・小林暁峯・黒田和夫・全田浩：薬剤管理指導が患者アウトカムに与える効果に関する研究。医療マネジメント会誌, 5: 349-353, 2004.
- 20) 齋藤美穂・有田悦子：幼い子を持つ保護者を対象とした薬局薬剤師の対応に関する意識調査。Journal of pharmaceutical communication, 13: 4-11, 2015.
- 21) S Gameiro, J Boivin, E Dancet, C de Klerk, M Emery, C Lewis-Jones, P Thorn, U Van den Broeck, C Venetis, C M Verhaak, T Wischmann, N Vermeulen: ESHRE guideline: routine psychosocial care in infertility and medically assisted reproduction—a guide for fertility staff. Hum Reprod, 30: 2476-2485, 2015.
- 22) S Gameiro, C M Verhaak, J A M Kremer, J Boivin: Why we should talk about compliance with assisted reproductive technologies (ART) : a systematic review and meta-analysis of ART compliance rates. Hum Reprod Update, 19: 124-135, 2013.
- 23) 久木留廣明：患者とのコミュニケーション・カウンセリングマインドの必要性。日歯内療誌, 22: 238-241, 2001.
- 24) 高崎由佳理・大藤智佳・篠崎るり子・藤永由美子・砥石和子・福井トシ子：体外受精・胚移植を希望した女性およびそのパートナーの心身の問題とケアの方向性。女性心身医学, 3: 53-62, 1999.

Progesterin primed ovarian stimulation (PPOS) 法における 採卵決定時のLH値別卵子成熟率の比較

Comparison of oocyte maturation rates by LH value at the time of oocyte retrieval decision using the Progesterin primed ovarian stimulation (PPOS) method

深川 真弓^{1,2}, 藤田 智之¹, 三田尾 拓¹, 蔵本 和孝²,
小川 尚子², 大塚 未砂子², 吉岡 尚美², 蔵本 武志²

Fukagawa M^{1,2}, Fujita T¹, Mitao H¹, Kuramoto K²,
Ogawa S², Otsuka M², Yoshioka N², Kuramoto T²

¹久留米大学病院産科婦人科学教室 〒830-0011 福岡県久留米市旭町67

²蔵本ウィメンズクリニック 〒812-0013 福岡県福岡市博多区博多駅東1丁目

¹KURUME UNIVERSITY HOSPITAL

²KURAMOTO WOMEN'S CLINIC

要旨: 2014年に新たな調節卵巣刺激法であるPPOS法が報告されて以来、近年本邦でもPPOS法は主流になってきている。しかし、PPOS法で用いられるMPAは血中LH値を抑制するという報告がある。また、調節卵巣刺激中にLH値が低い場合、卵子成熟に影響があることが懸念されている。そこで今回、当院で2019年1月から2020年3月の期間にPPOS法で卵巣刺激を行った39歳以下、AMH2.0ng/mL以上のICSI症例90例を対象とし、採卵決定時の血中LH値が0.5mIU/mL未満、0.5～0.9mIU/mL、1.0～1.4mIU/mL、1.5mIU/mL以上の4群にわけて治療成績を比較検討した。結果は、MII率や良好胚盤胞到達率に有意差を認めなかった。血中LH値が強く抑制されても、それに合わせて適切なDual triggerの実施や、ゴナドトロピン製剤の調整を行えば、卵子成熟には問題ないことが示唆された。

キーワード: PPOS, LHと卵子成熟

ランニングヘッド: PPOS法における採卵決定時のLH値が卵子成熟に及ぼす影響

英文要旨: Since the PPOS method, a new controlled ovarian stimulation method, was reported in 2014, it has become mainstream in Japan in recent years. However, it is said that MPA used in the PPOS method can suppress blood LH levels. There are also reports that low LH levels may affect oocyte maturation. Therefore, we examined a 39-year-old woman who underwent ovarian stimulation using the PPOS method at our hospital between January 2019 and March 2020. Below, we will focus on 90 cases of ICSI with AMH of 2.0 ng/mL or more, and the blood LH value at the time of oocyte retrieval decision was less than 0.5 mIU/mL, 0.5 to 0.9 mIU/mL, 1.0 to 1.4 mIU/mL, and 1.5 mIU/mL. We compared and examined the treatment results among the four groups mentioned above. The results showed no significant difference in the MII rate or the rate of successful blastocyst attainment. Even if the blood LH level is strongly suppressed, appropriate It was suggested that there would be no problem with oocyte maturation if the Dual Trigger was used and the gonadotropin preparation was adjusted.

Key words: Effect of LH value on oocyte maturation, PPOS

緒言

黄体形成ホルモン (LH) は卵胞形成、卵子の成熟に重要な役割を果たしている。ARTにおける調節卵巣刺激法では早発排卵を予防するための薬剤を併用しながら卵胞発育を図る。その早発排卵を予防するためにGnRHアゴニスト製剤を併用したLong法やShort法があり、従来これらが主流となっていた。しかし、triggerにhCGを使用しなければならないため卵巣過剰刺激症候群のリスクが懸念されていた。

2006年にGnRHアンタゴニスト製剤が日本で発売され、GnRHアンタゴニスト法は、triggerにhCGではなくGnRHアゴニスト製剤を使用することで卵巣過剰刺激症候群発症のリスクを減らすことができるため急速に広がった¹⁾。しかしGnRHアンタゴニスト法は、初期フレアアップ効果を伴わずに迅速かつ可逆的なLH抑制ができるが、高年や卵巣機能が低い症例において、0.34%~8%に早期のLHサージを認め採卵キャンセルになったと報告されている^{2,3)}。また、Long法やShort法に比べ、頻回の卵胞計測や血中LH濃度測定を要し、早期のLH上昇に注意を払いながらアンタゴニスト製剤の投与開始のタイミングを図る必要があった。

そして2014年に全胚凍結を前提としたProgestin primed ovarian stimulation (PPOS)法がKuangらによって発表された⁴⁾。卵胞期に投与された黄体ホルモンは、LHパルスを低頻度にし、振幅を増強させることで、平均血中LHレベルを低下させる⁵⁾。そのため、卵巣刺激中に経口合成黄体ホルモン剤を用いることで排卵を抑制することができると考えられた。PPOS法は、薬剤コストもGnRHアンタゴニストと比べて安価で、GnRHアゴニストやGnRHアンタゴニストである点鼻薬や注射剤と比べて、経口剤のため簡便であり、さらにPPOS法ではGnRHアゴニスト法やアンタゴニスト法と比較して有意にOHSSの発症リスクが低いという利点がある⁶⁾。経口合成黄体ホルモン内服とともに早期に子宮内膜の脱落膜化が起こるため、全胚凍結が必要となるが^{4,7)}、本邦においては、着床環境の改善やOHSSの重症化を予防する観点から全胚凍結し、別の周期に凍結融解胚移植を行う方法が主流となっている⁷⁻⁹⁾。実際に現在の日本では生殖補助医療で出生した児の約9割が凍結融解胚移植によるものである¹⁰⁾。全胚凍結を前提とした調節卵巣刺激であればデメリットにはならないと考えられる。

当院でも2018年よりPPOS法を取り入れており、メチルヒドロキシ酢酸エステル(以下MPA)およびジドロゲステロン(以下DYG)を使用している。経口合成黄体ホルモン剤の中でもMPAは、下垂体抑制が強く出る可能性

があるとの報告や⁴⁾、下垂体抑制が強く出現することでゴナドトロピンの投与日数や総投与量が増加するという報告がある⁴⁾。また、正倍数性胚の獲得率が低下したという報告もある¹¹⁾。

LHは、卵母細胞の成熟や卵胞形成に必要なホルモンであるが、採卵決定時の血中LH値が低いと採卵率や受精率に悪影響を与えるという報告が散見される。そこで今回は、当院で施行したPPOS法において、採卵決定時のLH値が及ぼす卵子成熟率及び良好胚盤胞到達率への影響について検討を行った。

対象と方法

当院で2019年1月から2020年3月の期間にPPOS法で採卵、顕微授精を行った39歳以下、AMH2.0ng/mL以上の90症例で、採卵決定時の血中LH値をLH<0.5(11例)、0.5≤LH<1.0(15例)、1.0≤LH<1.5(14例)、LH≥1.5(50例)の4群に分類し、ART成績について後方視的に検討した。

患者背景の比較は、JMPpro15を用いて行い、P値0.05未満を有意差ありとした(表1)。

年齢、BMI、AMHを調整因子とし、採卵数、MII率、正常受精率、良好胚盤胞到達率、総ゴナドトロピン投与量、ゴナドトロピン投与日数について多変量解析(SAS9.4:SAS Institute Inc. Cary, NC)を行った(表2)。なお当院の良好胚盤胞とは、ガードナー分類のBB以上のグレードの胚盤胞を示す。

また、すべての症例において書面で患者情報の使用について同意を得ており、当院倫理委員会の承認を得て行った。(承認番号20005)

PPOS法のプロトコールは、月経3日目よりFSH製剤(ゴナールF[®]、フォリルモンP[®])225単位~300単位を5日間投与し、その後FSH製剤に加えHMG製剤(HMGフェリング[®])75単位~150単位を投与した。また、月経3~5日目より経口合成プロゲステン製剤(MPA7.5~10mg/日もしくはDYG15~20mg/日)を連日内服した。当院での黄体ホルモンの使い分けは、卵巣刺激開始時の血中LH値が高い卵巣機能低下症例やPCOS症例は主にMPAを使用するなど、症例に応じて適宜使用薬剤を選択した。経腔超音波断層法で平均卵胞径を計測し、血中LH、FSH、E2、P4を測定した。平均径が18~20mm程度の卵胞が複数個発育した時点から、hCG1000~5000IU(ゴナトロピン[®])やGnRHアゴニスト点鼻薬(プセレキュア[®])をtriggerとして使用し、36

表 1

採卵決定時のLH値 (mIU/mL)	0.5未満 n=11	0.5 ≤, <1 n=15	1 ≤, <1.5 n=14	1.5以上 n=50	p value
経口合成プロゲステロンの種類					0.4065
MPA	8(73%)	9(60%)	6(43%)	24(48%)	
DYG	3(27%)	6(40%)	8(57%)	26(52%)	
年齢	34.3 ± 2.7	33.5 ± 3.5	33.4 ± 2.8	34.7 ± 3.0	0.3222
BMI(kg/m ²)	20.5 ± 3.4	22.0 ± 3.5	21.8 ± 3.9	21.3 ± 2.7	0.5338
AMH(ng/mL)	4.65 ± 1.9	4.03 ± 1.3	4.04 ± 2.3	4.74 ± 2.8	0.584
刺激開始時LH値 (mIU/mL)	4.05 ± 2.4	3.25 ± 1.5	3.84 ± 1.5	4.63 ± 2.3	0.1751
採卵決定時LH値 (mIU/mL)	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.2 ± 0.2	3.4 ± 2.0	<0.0001
Dual trigger	9(82%)	12(80%)	13(93%)	30(60%)	0.067

表 2

採卵決定時E2値(pg/ml)		p value	MII率 (%)		p value
LH ≥ 1.5 (n=50)	3488.9 ± 1743.2	reference	LH ≥ 1.5	82.4 ± 12.4	reference
1.0 ≤ LH < 1.5 (n=14)	3621.5 ± 1747.1	0.498	1.0 ≤ LH < 1.5	80.9 ± 9.2	0.583
0.5 ≤ LH < 1.0 (n=15)	2773.4 ± 1283.2	0.303	0.5 ≤ LH < 1.0	87.4 ± 10.4	0.204
LH < 0.5 (n=11)	2387 ± 1253.3	0.013	LH < 0.5	79.9 ± 10.0	0.561
総ゴナドトロピン投与量(単位)			正常受精率(%)		
LH ≥ 1.5	1727 ± 387.4	reference	LH ≥ 1.5	70.7 ± 20.3	reference
1.0 ≤ LH < 1.5	1708.9 ± 353.1	0.992	1.0 ≤ LH < 1.5	78.6 ± 11.9	0.242
0.5 ≤ LH < 1.0	2800 ± 891.5	<0.001	0.5 ≤ LH < 1.0	72.7 ± 21.8	0.859
LH < 0.5	2311.4 ± 717.1	0.003	LH < 0.5	71.7 ± 17.4	0.819
ゴナドトロピン投与日数(日)			良好胚盤胞到達率(%)		
LH ≥ 1.5	10.1 ± 1.8	reference	LH ≥ 1.5	39.0 ± 21.6	reference
1.0 ≤ LH < 1.5	10.7 ± 1.53	0.307	1.0 ≤ LH < 1.5	36.3 ± 25.1	0.686
0.5 ≤ LH < 1.0	11.3 ± 1.8	0.042	0.5 ≤ LH < 1.0	32.2 ± 21.0	0.304
LH < 0.5	9.8 ± 1.2	0.626	LH < 0.5	34.1 ± 23.7	0.581
採卵数(個)					
LH ≥ 1.5	14.6 ± 6.9	reference			
1.0 ≤ LH < 1.5	19.6 ± 8.1	0.009			
0.5 ≤ LH < 1.0	17.6 ± 10.0	0.067			
LH < 0.5	20.7 ± 6.5	0.013			

～ 37 時間後に採卵，媒精 (IVF, ICSI) を施行し，分割期および胚盤胞で凍結保存した。

結果

患者背景を表 1 に示す。年齢，BMI，AMH，刺激開

始時の LH 値，経口合成プロゲステロン製剤の割合，Dual trigger 実施症例の割合に有意差は認めなかった。

続いて年齢，BMI，AMH を調整因子とし多変量解析を行った結果，採卵決定時の LH 値が 1.5 mIU/mL 以上の群と比べ，0.5 mIU/mL 未満の場合に採卵決定時の E2 値は有意に低かった。また，LH 値が 1.0 mIU/mL 未

満の場合に総ゴナドトロピン投与量は有意に多く、ゴナドトロピン投与日数はLH値が0.5mIU/mL以上1.0mIU/mL未満の場合において有意に多かった。そして、採卵数はLH値が1.0mIU/mL以上1.5mIU/mL未満およびLH値が0.5mIU/mL未満の場合において有意に多かった。MII率、正常受精率、良好胚盤胞到達率に関してはいずれも有意差は認めなかった(表2)。

考 察

正常卵胞発育におけるLH、FSHの作用であるが、胞状卵胞はゴナドトロピン依存性の発育をし、FSHの刺激を受けた顆粒膜細胞は増殖しながらエストラジオールの合成を行う。顆粒膜細胞の増殖に伴い、卵胞は発育し主席卵胞になる。主席卵胞の顆粒膜細胞には、FSHの作用によってLH受容体が発現し、顆粒膜細胞にLHとFSHが協調的に作用することで卵子成熟が促される。その後LHサージが生じ排卵が誘発され、排卵後の卵胞は黄体に移行し、LHの作用で性ステロイド(エストラジオールやプロゲステロン)が産生される。性ステロイドの産生はtwo cell two gonadotropin theoryと呼ばれる莢膜細胞と顆粒膜細胞の協調によって行われている¹²⁾。このように、卵子成熟にはLHおよびFSHが重要な役割を担っている。

ARTでは複数の卵子を獲得するために、ゴナドトロピン製剤を使用し卵胞の発育を促すとともに、GnRH製剤や経口合成プロゲステン製剤を用いて早発排卵を予防しているが、採卵決定時のLH値が低い場合に、卵子成熟に影響を及ぼすことが懸念されている¹³⁾。

実際にtrigger日のLH値が0.5mIU/mL未満であると卵子の回収不良につながることを示す報告や⁴⁾、LH値が1.6mIU/mL未満の場合には、GnRHアゴニスト単剤での誘発では採卵率や卵子成熟率が不良だという報告がある¹³⁻¹⁶⁾。また、性腺刺激ホルモン分泌不全性腺機能低下症の女性を対象とした研究では、卵胞形成期におけるLHの重要性を支持している¹⁷⁾。また、ロング法で調節卵巣刺激を行い、採卵決定時のLHが0.5mIU/mL未満と0.5mIU/mL以上において比較した結果、採卵数や正常成熟率、移植可能な胚数には有意差はないが、新鮮胚移植における流産率がLH低値群で有意に高いという報告がある¹⁸⁾。

2015年のKuangらの報告以来、近年日本でもPPOS法についての報告が散見されている。そしてKuangらは、PPOS法で用いるMPAは下垂体抑制が強くなる可能性があり、そのためゴナドトロピン投与量の増

加やゴナドトロピン投与日数の増加が必要となる可能性がある⁴⁾。そこで今回はPPOS法における採卵決定時のLH値別の卵子成熟に及ぼす影響について検討を行った。PPOS法は全胚凍結が前提であり新鮮胚移植は行わないため、主要なアウトカムを卵子成熟率および良好胚盤胞到達率として比較検討を行った。

本研究の結果、採卵決定時のLH値が低いと総ゴナドトロピン投与量および採卵数が有意に多いという結果であった。そして、採卵決定時のLH値が1.5mIU/mL未満の場合でもMII率や正常受精率、良好胚盤胞到達率に有意差は認めなかった。当院では、卵巣刺激中のLH値に応じてLH含有量の多いHMG製剤の併用量を適宜調整して投与している。そのため、LH値が低いと総ゴナドトロピン投与量が増えたものと考えられる。また、どのプロトコルであっても採卵決定時のLH値が2.0mIU/mL未満の場合には、E2値を考慮し可能な限りDual triggerを行っており、今回も表1に示したように、LHが1.5mIU/mL未満の場合には80～93%でDual triggerを実施している。そして、Dual triggerを行っていない症例も少数あるが、その際に使用している薬剤はGnRHアゴニストではなくhCGである。Dual triggerを行うと採卵数や成熟卵子数が有意に多いという報告があり^{19,20)}、その結果、本研究でも採卵数が多くなり、MII率や正常受精率、良好胚盤胞到達率に差がなかった可能性が考えられる。

以上より、当院では卵巣刺激中に血中LH値が抑制された症例では、次回以降のPPOS法においてはMPA投与量の減量や、MPAからDYGに変更するなどして対応しているが、今回の結果を踏まえて、経口合成プロゲステン製剤の調整をしても採卵決定時のLH値が低い場合には、これまで通り可能な限りDual triggerを検討すべきであると考ええる。

本研究ではGnRHアゴニスト単剤でtriggerを行った症例がなかったため、今後はより大きなサンプルサイズで再確認する必要があると考える。また、高年症例や卵巣予備能低下症例における評価はしておらず、今後の検討課題である。

利益相反状態の開示: 今回の論文に関して開示すべき利益相反はありません。

謝辞: 本稿を執筆するにあたり、ご協力いただいた久留米大学バイオ統計センター室谷健太教授に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) M Toftager, J Bogstad, T Bryndorf, K Løssl, J Roskar, T Holland, L Pratrius, A Zedeler, L Nilas, A Pinborg: Risk of severe ovarian hyperstimulation syndrome in GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol: RCT including 1050 first IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod*, 31: 1253-1264, 2016.
- 2) Qiuju Chen, Weiran Chai, Yun Wang, Renfei Cai, Shaozhen Zhang, Xuefeng Lu, Xiaojing Zeng, Lihua Sun, Yanping Kuang: Progesterin vs Gonadotropin-Releasing Hormone Antagonist for the Prevention of Premature Luteinizing Hormone Surges in Poor Responders Undergoing in vitro Fertilization Treatment: A Randomized Controlled Trial. *CRINICALTRIALarticle*, *Front Endocrinol. Sec. Reproduction*, 10: 00796, 2019.
- 3) David E Reichman, Lauren Zakarin, Kenny Chao, Laura Meyer, Owen K Davis, Zev Rosenwaks: Diminished ovarian reserve is the predominant risk factor for gonadotropin-releasing hormone antagonist failure resulting in breakthrough luteinizing hormone surges in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*, 102: 99-102, 2014.
- 4) Yanping Kuang, Qiuju Chen, Yonglun Fu, Yun Wang, Qingqing Hong, Qifeng Lyu, Ai Ai, Zeev Shoham: Medroxyprogesterone acetate is an effective oral alternative for preventing premature luteinizing hormone surges in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 104: 62-70, 2015.
- 5) M R Soules, R A Steiner, D K Clifton, N L Cohen, S Aksel, W J Bremner: Progesterone Modulation of Pulsatile Luteinizing Hormone Secretion in Normal Women. *J Clin Endocrinol Metab*, 58: 378-383, 1984.
- 6) Ling Cui, Yonghong Lin, Fang Wang, Chen Chen: Effectiveness of progesterone-primed ovarian stimulation in assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*, 303: 615-630, 2021.
- 7) Nathalie Massin: New stimulation regimens: endogenous and exogenous progesterone use to block the LH surge during ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod Update*, 23: 211-220, 2017.
- 8) Paul Devroey, Nikolaos P Polyzos, Christophe Blockeel: An OHSS-Free Clinic by segmentation of IVF treatment. *Hum Reprod*: 26, 2593-2597, 2011.
- 9) Kai Mee Wong, Sebastiaan Mastenbroek, Sjoerd Repping: Cryopreservation of human embryos and its contribution to in vitro fertilization success rates. *Fertil Steril*: 102, 19-26, 2014.
- 10) 日本産科婦人科学会: 令和4年度倫理委員会登録・調査小委員会報告(2021年分の体外受精・胚移植等の臨床実施成績および2023年7月における登録施設名). *日産婦誌*: 75, 883-904, 2023.
- 11) Angel Hsin-Yu Pai, Yen Ju Sung, Chia-Jung Li, Chieh-Yu Lin, Chia Lin Chang: Progesterin Primed Ovarian Stimulation (PPOS) protocol yields lower euploidy rate in order patients undergoing IVF. *Reprod Biol Endocrinol*, 21: article number 72, 2023.
- 12) 泉玄太郎・大須賀穰: ゴナドトロピンの作用. 百枝幹雄, 基礎からわかる女性内分泌, 48-50, 診断と治療社, 2018.
- 13) Abdelhamid Benmachiche, Sebti Benbouhedja, Abdelali Zoghmar, Peter Humaidan: Low LH Level on the Day of GnRH Agonist Trigger Is Associated With Reduced Ongoing Pregnancy and Live Birth Rates and Increased Early Miscarriage Rates Following IVF/ICSI Treatment and Fresh Embryo Transfer. *Front Endocrinol*, 10: 639, 2019.
- 14) Laura Meyer, Lauren A Murphy, Arielle Gumer, David E Reichman, Zev Rosenwaks, Ina N Cholt: Risk factors for a suboptimal response to gonadotropin-releasing hormone agonist trigger during in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*, 104: 637-642, 2015.
- 15) Xuefeng Lu, Qingqing Hong, LiHua Sun, Qiuju Chen, Yonglun Fu, Ai Ai, Qifeng Lyu, Yanping Kuang: Dual trigger for final oocyte maturation improves the oocyte retrieval rate of suboptimal responders to gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril*, 106: 1356-1362, 2016.
- 16) Laura Meyer, Lauren A Murphy, Arielle Gumer, David E Reichman, Zev Rosenwaks, Ina N Cholt: Risk factors for a suboptimal response to gonadotropin-releasing hormone agonist trigger during in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*, 104: 637-642, 2015.
- 17) J Balasch, F Miró, I Burzaco, R Casamitjana, S Civico, J L Balleascá, B Puerto, J A Vanrell: The role of luteinizing hormone in human follicle development and oocyte fertility: evidence from in-vitro fertilization in a woman with long-standing hypogonadotrophic hypogonadism and using recombinant human follicle stimulating hormone. *Hum Reprod*, 10: 1678-1683, 1995.
- 18) L G Westergaard, S B Laursen, C Y Andersen: Increased risk of early pregnancy loss by profound suppression of luteinizing hormone during ovarian stimulation in normogonadotrophic women undergoing assisted reproduction. *Hum Reprod*, 15: 1003-1008, 2000.
- 19) Ming-Huei Lin, Frank Shao-Ying Wu, Robert Kuo-Kuang Lee, Sheng-Hsiang Li, Shyr-Yeu Lin, Yuh-Ming Hwu: Dual trigger with combination of gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves the live-birth rate for normal responders in GnRH-antagonist cycles. *Fertil Steril*, 100: 1296-1302, 2013.
- 20) Daniel Griffin, Richard Feinn, Lawrence Engmann, Tara Budinetz, Claudio Benadiva: Dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and standard dose human chorionic gonadotropin to improve oocyte maturity rates. *Fertil Steril*, 102: 405-409, 2014.

ARTにおける黄体補充について

日本IVF学会が実施したアンケート調査

—不妊治療の保険適用とホルモン製剤の供給不足による影響

Questionnaire survey about the luteal support in ART conducted by Japan Society of Assisted Reproduction
—Impact of the insurance coverage for infertility treatment and the shortage of hormone preparations supply

東口 篤司¹, 塩谷 雅英²

Atsushi Azumaguchi¹, Masahide Shiotani²

¹札幌エンドメトリウムリサーチ 〒064-0953 北海道札幌市中央区宮の森3条2丁目4-17
²英ウイメンズクリニック 〒650-0021 兵庫県神戸市中央区三宮1-1-2 三宮セントラルビル2,7,8階
¹Sapporo Endometrium Research
²Hanabusa Women's Clinic

要旨: 日本IVF学会は、不妊治療の保険適用に伴う添付文書の改訂から1年が経過したことで数年来のホルモン製剤の供給不足がARTにおける黄体補充にどのように影響しているかを調べるため、日産婦ART登録施設623施設を対象として、2022年4月1日から2023年3月31日の黄体補充についてアンケート調査を実施した。その結果、この間の黄体補充は2017年の調査に比較してプロゲステロン注射剤、ヒドロキシプロゲステロン注射剤が激減し、マイクロナイズドプロゲステロン経口剤が激増するなど、ホルモン製剤の供給不足に強く影響されている可能性が示唆された。一方、卵胞ホルモン製剤、その他の黄体ホルモン製剤の使用には大きな変化がなく、添付文書の改訂前と同様に多くの施設で適応外のホルモン製剤が使用されており、添付文書の改訂にはあまり影響されていない可能性が窺われた。今後、適応外使用に対してどのように対処すべきか議論が必要と考えられた。

キーワード: アンケート調査, 黄体補充, ART, 日本IVF学会
ランニングヘッド: ARTにおける黄体補充のアンケート調査

英文要旨: Japan Society of Assisted Reproduction conducted a questionnaire survey for 623 ART facilities registered with the Japan Society of Obstetrics and Gynecology. The purpose of the survey was to investigate if the revision of the package inserts for the coverage of infertility treatment and/or the shortage of hormone preparations supply for several years had given any influences on the luteal support in ART performed from April 1, 2022 to March 31, 2023 in Japan. The results suggested that the luteal support in ART had been strongly affected by the shortage of hormone preparations supply, as the usage of progesterone and hydroxyprogesterone injections had significantly decreased, while oral micronized progesterone had significantly increased, compared to the 2017 survey. On the other hand, the results suggested that it had not been affected by the revision of package inserts, as the usage of estrogen preparations and other progestogen preparations had not markedly changed, and many facilities had used the off-label medications as before the revision. It was shown that detail arguments should be necessary concerning how to manage these off-label uses.

Key words: ART, Japan Society of Assisted Reproduction, luteal support, questionnaire

緒言

日本IVF学会は、今回のアンケート調査以前に2回にわたってARTにおける黄体補充に関するアンケート調査を実施している。まず、2013年2月にマイクロナイズドプロゲステロン腔剤が市販されていなかった当時のARTにおける黄体補充の実態を調べるため1回目のアンケート調査を実施した¹⁾。2017年12月には4種類のマイクロナイズドプロゲステロン腔剤が出そろって1年が経過した時点で、ARTにおける黄体補充がどのように変化したかを調べるため2回目のアンケート調査を実施した²⁾。

2018年以後、ARTにおける黄体補充に大きく影響する可能性のある2つの事態が出現した。一つは、2021年11月に生殖医療ガイドラインが発刊されて^{3,4)}、2022年2月には厚労省によってARTで用いられるホルモン製剤の添付文書における適応改訂の方針が決められ⁵⁾、それに基づいて各製剤の添付文書が改訂されて、不妊治療の保険適用が開始されたことである。添付文書における適応の改訂によって、卵胞ホルモン製剤としては、凍結胚移植における黄体期から妊娠初期のホルモン補充薬として、ジュリナ錠[®]、エストラーナテープ[®]、ディビゲル[®]、ル・エストロジェル[®]が適応を認められた。また、黄体ホルモン製剤としては、ARTにおける黄体期から妊娠初期のホルモン補充薬として、添付文書の改訂前から適応があったルテウム腔錠[®]、ウトロゲスタン腔用カプセル[®]、ルティナス腔錠[®]、ワンクリノン腔用ゲル[®]の他にデュファストン[®]が適応を認められ、また胚移植までのホルモン補充薬としてルトラール[®]が適応を認められた。

もう一つの出来事は、数年来ホルモン製剤の供給が十分ではなくなっている事態である。2018年1月にはオバホルモン[®]、オオホルミンルテウムデポー[®]が、2021年8月にはペラニン[®]、プロゲホルモン[®]、プロゲデポー[®]、プロゲステロン筋注「F」[®]、プロゲストンデポー[®]が販売中止となった。その後も2022年4月にデュファストン[®]が品薄となり、2022年8月にはワンクリノン[®]が一時的に供給停止となり、2023年6月にはルティナス[®]が一時的に自主回収されるなど、ホルモン製剤の供給不足に関係する事態が数多く発生した。

そこで日本IVF学会は、不妊治療の保険適用に伴う添付文書の改訂とホルモン製剤の供給不足がARTにおける黄体補充にどのように影響しているかを調べるため、2023年6月に3回目のアンケート調査を実施した。

方法

日産婦ART登録施設623施設に対して、2022年4

月1日から2023年3月31日の1年間に、新鮮胚移植と凍結胚移植で、保険診療、自費診療にかかわらず、どんな卵胞ホルモン製剤、黄体ホルモン製剤を、何周期に、いつまで使用することが多かったか、についてオンラインのアンケート調査(図1~4)を実施した。周期あたりの使用率は、のべ周期あたりの使用率とし、例えば、同一周期に2種類の黄体ホルモンを併用した場合、のべ周期は2周期として計算した。

結果

132施設(21.2%)から回答があり、1施設の回答に不明な点が認められたため131施設の回答を解析した。

卵胞ホルモン製剤、黄体ホルモン製剤の施設あたりの使用率を2017年の調査と比較し、図5、6に示した。卵胞ホルモン製剤に関しては、新鮮胚移植と凍結胚移植の両方で大きく増減した製剤は認められなかった(図5)。黄体ホルモン製剤に関しては、新鮮胚移植と凍結胚移植の両方でプロゲステロン注射剤、ヒドロキシプロゲステロンカプロン酸エステル注射剤が著明に減少し、マイクロナイズドプロゲステロン経口剤が著明に増加していた。その他の黄体ホルモン製剤に大きな変化は認められなかった(図6)。

卵胞ホルモン製剤、黄体ホルモン製剤の周期あたりの使用率を図7に示した。卵胞ホルモン製剤に関して、新鮮胚移植における卵胞ホルモン製剤はすべて改訂添付文書で適応外使用だが、3272周期(131施設中41施設;31%:図に示していない)に使用されていた。凍結胚移植(57769周期)でも適応外使用の結合型エストロゲン、経口避妊薬、エステル型エストラジオール注射薬がそれぞれ9%、2%、2%に使用されていた(図7)。黄体ホルモン製剤に関しては、新鮮胚移植でも凍結胚移植でも適応外使用の経口避妊薬、メドロキシプロゲステロン酢酸エステル、マイクロナイズドプロゲステロン経口剤が、新鮮胚移植(10182周期)では、それぞれ1%、1%、16%に使用され、凍結胚移植(74736周期)では、それぞれ0.5%、1%、17%に使用されていた(図7)。

卵胞ホルモン製剤、黄体ホルモン製剤の使用期間を表1、2に示した。改訂添付文書では、凍結胚移植のエストラジオール貼付剤の使用は妊娠10週を越えないことになっているが、118施設中2施設(2%)が妊娠11週まで使用し法的に適応外使用だった(表1)。新鮮胚移植におけるジドロゲステロンは妊娠4~7週までの使用となっているが、47施設中31施設(66%)が妊娠8週以後も使用しており同様に適応外使用だった(表2)。クロルマジノン酢酸エステルの改訂添付文書での適応は新

質問1 2022年4月1日から2023年3月31日の1年間に新鮮胚移植で、自然周期、排卵誘発周期にかかわらず、また保険診療か自費診療にかかわらず、黄体補充として卵胞ホルモンを使われましたか？使われた場合、どのような卵胞ホルモンを、何例に、いつまで、使われましたか？経口避妊薬は黄体ホルモンとの合剤ですが、経口避妊薬も含めてお答えください。複数選択可です。□に✓を、()には数字を記載してください。

使用時期に関しては、予め何週まで使うと決める方法以外に、血中P4が一定以上になるまで使う、心拍を確認するまで使うなど、いろいろな基準があり得ますが、結果として約何週まで使うことが多かったかでお答えください。また、例えば7~8週と2週にわたる場合は8週としてください。妊娠判定まで使う場合も、どの週数で妊娠を判定することが多かったか（多くは妊娠4週と思われます）でお答えください。

卵胞ホルモンは使わなかった。
プレマリン（結合型エストロゲン）を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プロギノーバなどのエステル型エストラジオールの経口剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
ジュリナなどのマイクロナイズドエストラジオールの経口剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
エストラーナなどの貼付剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
ディビグルなどのゲル剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プラノバルなどの経口避妊薬を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プロギノデポーなどのエステル型エストラジオールの注射剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
その他の卵胞ホルモンを
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。

図1 新鮮胚移植で使用する卵胞ホルモン製剤についてのアンケート

質問2 2022年4月1日から2023年3月31日の1年間に新鮮胚移植で、自然周期、排卵誘発周期にかかわらず、また保険診療か自費診療にかかわらず、黄体補充として黄体ホルモンを使われましたか？使われた場合、どのような黄体ホルモンを、何例に、いつまで、使われたでしょうか？経口避妊薬は卵胞ホルモンとの合剤ですが、経口避妊薬も含めてお答えください。複数選択可です。□に✓を、()には数字を記載してください。

使用時期に関しては、予め何週まで使うと決める方法以外に、血中P4が一定以上になるまで使う、心拍を確認するまで使うなど、いろいろな基準があり得ますが、結果として約何週まで使うことが多かったかでお答えください。また、例えば7~8週と2週にわたる場合は8週としてください。妊娠判定まで使う場合も、どの週数で妊娠を判定することが多かったか（多くは妊娠4週と思われます）でお答えください。

黄体ホルモンは使わなかった。
ルティナスなどのプログステロン製剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
ウトログスタンなどのプログステロン経口剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
自家製プログステロン製剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
デュファストン（ジドログステロン）を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
ルトラルなどクオールマジン酢酸エステルを
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プロベラなどメドロキシプログステロン酢酸エステルを
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プラノバルなどの経口避妊薬を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プログホルモンなどのプログステロン注射剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プログデポーなどのヒドロキシプログステロン酢酸エステルの注射剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
その他の黄体ホルモンを
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。

図2 新鮮胚移植で使用する黄体ホルモン製剤についてのアンケート

質問3 2022年4月1日から2023年3月31日の1年間に凍結胚移植で、自然周期、排卵誘発周期、ホルモン補充周期にかかわらず、また保険診療か自費診療にかかわらず、黄体補充として卵胞ホルモンを使われましたか？使われた場合、どのような卵胞ホルモンを、何例に、いつまで、使われましたか？経口避妊薬は黄体ホルモンとの合剤ですが、経口避妊薬も含めてお答えください。複数選択可です。□に✓を、()には数字を記載してください。

使用時期に関しては、予め何週まで使うと決める方法以外に、血中P4が一定以上になるまで使う、心拍を確認するまで使うなど、いろいろな基準があり得ますが、結果として約何週まで使うことが多かったかでお答えください。また、例えば7~8週と2週にわたる場合は8週としてください。妊娠判定まで使う場合も、どの週数で妊娠を判定することが多かったか（多くは妊娠4週と思われます）でお答えください。

卵胞ホルモンは使わなかった。
プレマリン（結合型エストロゲン）を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プロギノーバなどのエステル型エストラジオールの経口剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
ジュリナなどのマイクロナイズドエストラジオールの経口剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
エストラーナなどの貼付剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
ディビグルなどのゲル剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プラノバルなどの経口避妊薬を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プロギノデポーなどのエステル型エストラジオールの注射剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
その他の卵胞ホルモンを
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。

図3 凍結胚移植で使用する卵胞ホルモン製剤についてのアンケート

質問4 2022年4月1日から2023年3月31日の1年間に凍結胚移植で、自然周期、排卵誘発周期、ホルモン補充周期にかかわらず、また保険診療か自費診療にかかわらず、黄体補充として黄体ホルモンを使われましたか？使われた場合、どのような黄体ホルモンを、何例に、いつまで、使われたでしょうか？経口避妊薬は卵胞ホルモンとの合剤ですが、経口避妊薬も含めてお答えください。複数選択可です。□に✓を、()には数字を記載してください。

使用時期に関しては、予め何週まで使うと決める方法以外に、血中P4が一定以上になるまで使う、心拍を確認するまで使うなど、いろいろな基準があり得ますが、結果として約何週まで使うことが多かったかでお答えください。また、例えば7~8週と2週にわたる場合は8週としてください。妊娠判定まで使う場合も、どの週数で妊娠を判定することが多かったか（多くは妊娠4週と思われます）でお答えください。

黄体ホルモンは使わなかった。
ルティナスなどのプログステロン製剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
ウトログスタンなどのプログステロン経口剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
自家製プログステロン製剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
デュファストン（ジドログステロン）を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
ルトラルなどクオールマジン酢酸エステルを
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プロベラなどメドロキシプログステロン酢酸エステルを
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プラノバルなどの経口避妊薬を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プログホルモンなどのプログステロン注射剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
プログデポーなどのヒドロキシプログステロン酢酸エステルの注射剤を
()例に使った。妊娠()週まで使うことが多かった。
その他の黄体ホルモンを

表4 凍結胚移植で使用する卵胞ホルモン製剤についてのアンケート

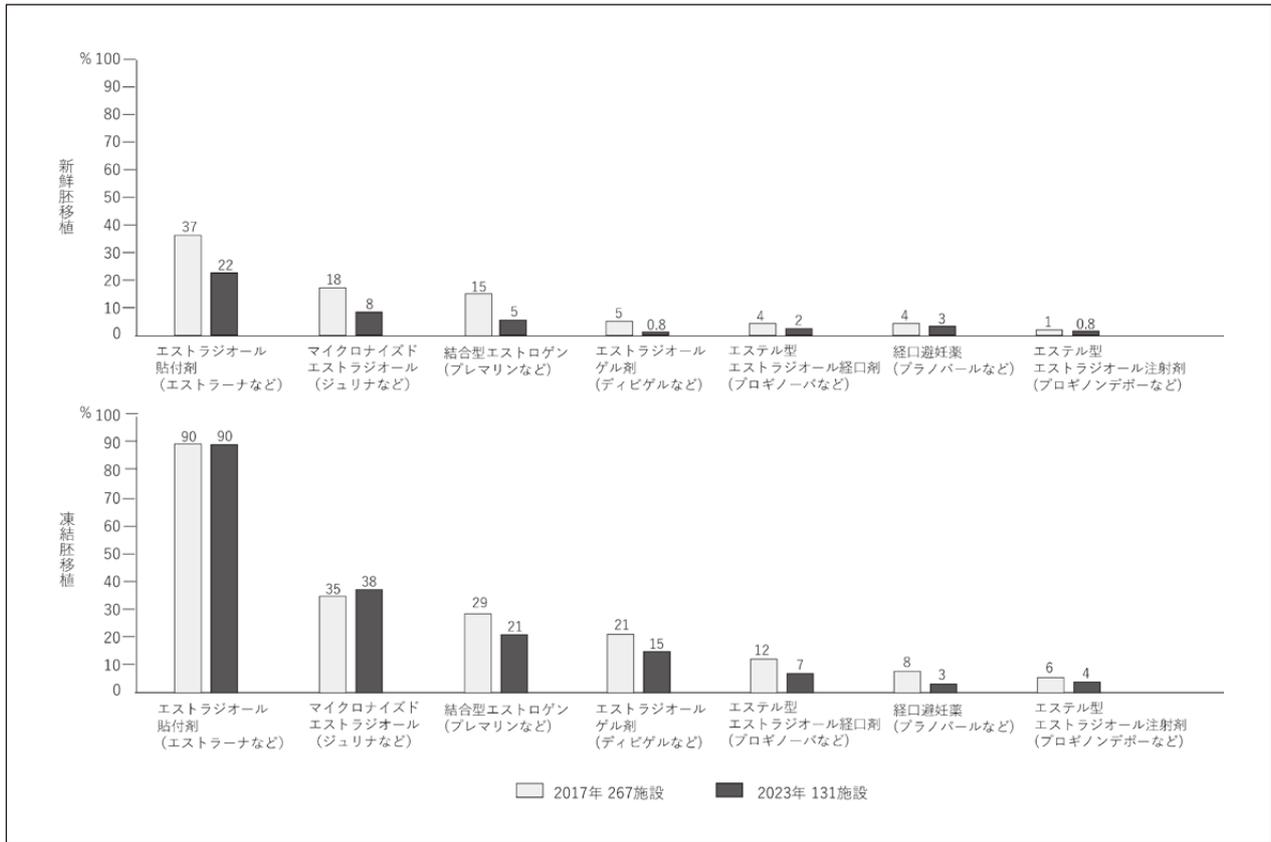


図5 卵胞ホルモン製剤—施設あたりの使用率

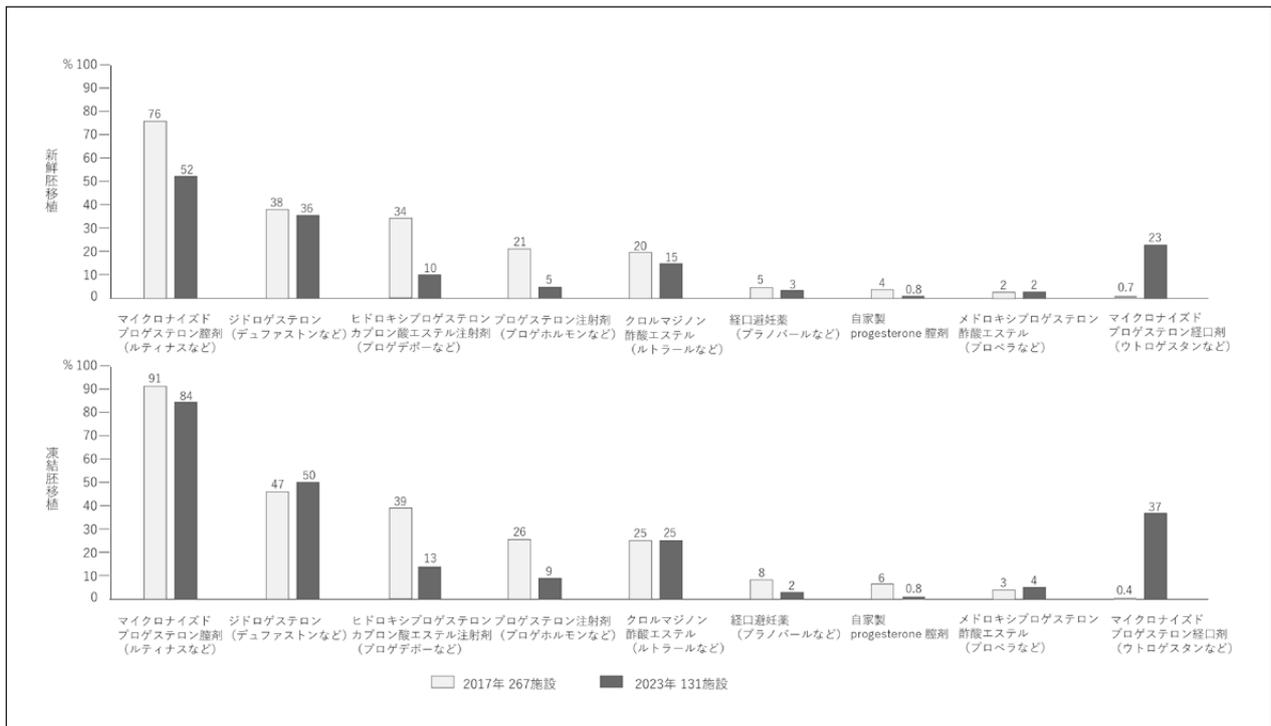


図6 黄体ホルモン製剤—施設あたりの使用率

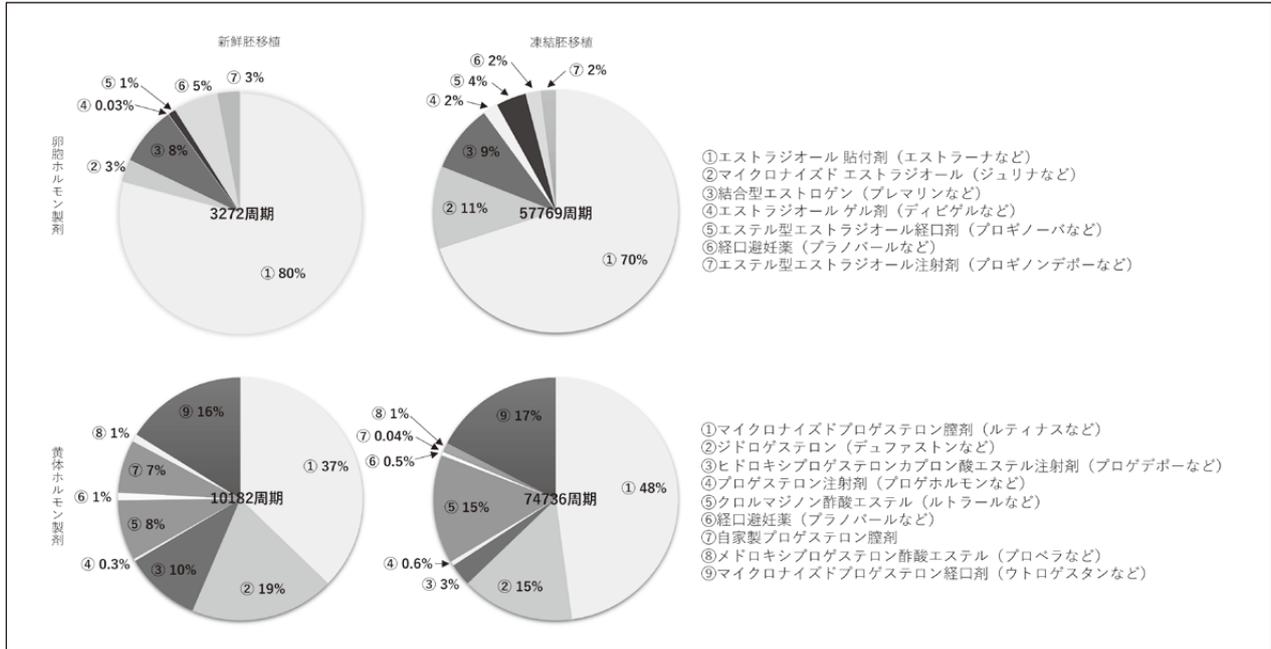


図7 卵胞ホルモン製剤・黄体ホルモン製剤一周期あたりの使用率

表1 卵胞ホルモン製剤の使用期間

	妊娠週数												計	
	2週	3週	4週	5週	6週	7週	8週	9週	10週	11週	12週	週数不明		
新鮮胚移植	エストラジオール貼付剤 (エストラーナなど)			5	6	1	4	8	4	1				29
	マイクロナイズドエストラジオール (ジュリナなど)			1	1			4	4					10
	結合型エストロゲン (プレマリンなど)			1				4	2					7
	エストラジオールゲル剤 (ディビゲルなど)			1										1
	エステル型エストラジオール経口剤 (プロギノーバなど)			1		1		1						3
	経口避妊薬 (プラノバルなど)			1	2			1						4
	エステル型エストラジオール注射剤 (プロギノンデボーなど)							1						1
凍結胚移植	エストラジオール貼付剤 (エストラーナなど)	1		5	2	3	14	46	28	15	2		2	118
	マイクロナイズドエストラジオール (ジュリナなど)			2	1		4	23	13	7				50
	結合型エストロゲン (プレマリンなど)	1		2			3	8	11	3				28
	エストラジオールゲル剤 (ディビゲルなど)			1	1		2	10	4	3				21
	エステル型エストラジオール経口剤 (プロギノーバなど)			3				2	2	2	1			10
	経口避妊薬 (プラノバルなど)			1	2									3
	エステル型エストラジオール注射剤 (プロギノンデボーなど)			2				3						5

数字は施設数

表2 黄体ホルモン製剤の使用期間

	妊娠週数												計	
	2週	3週	4週	5週	6週	7週	8週	9週	10週	11週	12週	週数不明		
新鮮胚移植	マイクロナイズドプロゲステロン錠剤 (ルティナスなど)		1	12	7	3	5	18	11	9			2	68
	ジドロゲステロン (デュファストンなど)		1	7	2	2	4	16	13	1		1		47
	ヒドロキシプロゲステロンカプロン酸エステル注射剤 (プロゲデボーなど)	1		3	3	1		3	2					13
	プロゲステロン注射剤 (プロゲホルモンなど)	1		3	1			1	1					7
	クロールマジノン酢酸エステル (ルトラルールなど)		1	9		1	1	6	1					19
	経口避妊薬 (プラノバルなど)			1	1			2						4
	自家製プロゲステロン錠剤								1					1
	メドロキシプロゲステロン酢酸エステル (プロベラなど)							1	1					2
マイクロナイズドプロゲステロン経口剤 (ウトロゲスタンなど)	1		6	2	1	4	8	6	2				30	
凍結胚移植	マイクロナイズドプロゲステロン錠剤 (ルティナスなど)	1	1	4	1	1	3	28	41	24	2	2	3	111
	ジドロゲステロン (デュファストンなど)		1	4		2	2	14	29	11	1	1		65
	ヒドロキシプロゲステロンカプロン酸エステル注射剤 (プロゲデボーなど)			1		2	2	6	3	2			1	17
	プロゲステロン注射剤 (プロゲホルモンなど)	2		2	1			3	2	1		1		12
	クロールマジノン酢酸エステル (ルトラルールなど)	1		11		1	1	9	4	5	1			33
	経口避妊薬 (プラノバルなど)			2	1									3
	自家製プロゲステロン錠剤								1					1
	メドロキシプロゲステロン酢酸エステル (プロベラなど)						1	1	3					5
マイクロナイズドプロゲステロン経口剤 (ウトロゲスタンなど)		1	3		1	3	18	13	7	2	1		49	

数字は施設数

鮮胚移植でも凍結胚移植でも胚移植までであり、胚移植以後に適応はないが、新鮮胚移植では19施設中全施設100%)が、凍結胚移植では33施設中32施設(97%)が胚移植後に用いており適応外使用だった(表2)。

考 察

施設あたりのホルモン製剤の使用率を2017年と比較すると、プロゲステロン注射剤、ヒドロキシプロゲステロンカプロン酸エステル注射剤が著明に減少していたが、このことは両製剤が販売中止になっていることを考えると了解可能である。また、マイクロナイズドプロゲステロン経口剤が著明に増加していることも、この薬剤が2022年4月改訂の添付文書で適応がないことから、添付文書の改訂によって説明できるものではなく、黄体ホルモン製剤の供給不足から説明されるのが妥当と考えられた。このように、不妊治療の保険適用に伴う添付文書の改訂から1年間のARTにおける黄体補充は、薬剤供給不足の事態に大きく影響されている可能性が示唆された。薬剤の供給不足に関して医療者側からできることはないのか、検討を要すると思われた。

2022年4月に添付文書が改訂される以前は、マイクロナイズドプロゲステロン経口剤以外のホルモン製剤にARTにおける黄体補充としての適応はなく、当時ホルモン補充周期による凍結胚移植に世界標準として用いられながら、添付文書では適応がなかったエストラジオール製剤は、日産婦の産婦人科診療ガイドライン⁶⁾の方針、つまり内外の研究報告から有用であり、利益が不利益を相当程度上回ると判断される薬剤はインフォームドコンセントを得て使用可能とする方針に基づいて使用されていた。エステル型エストラジオール経口剤は海外の製剤のため添付文書はなく、現在でもこの方針で使用されている。また、アメリカ生殖医学会(ASRM)のリコメンデーション⁷⁾、欧州生殖医学会(ESHRE)のガイドライン⁸⁾で使用が認められていたプロゲステロン注射剤、ESHREのガイドライン⁸⁾でprobably recommendedとして認められていたジドロゲステロン、マイクロナイズドプロゲステロン経口剤と成分、代謝が変わらない自家製プロゲステロン経口剤、及び、ASRMのリコメンデーション⁷⁾で使用が認められていたヒドロキシプロゲステロンも当時の添付文書では適応がなく、産婦人科診療ガイドライン⁶⁾の方針に基づいて使用されていた。2022年4月に添付文書が改訂されたことによって、黄体補充薬として、何が適応で、何が適応外かの区別が明確になったが、今回の調査結果をみると、添付文書の改訂によってプロゲステロン注射剤、ヒドロキシプロゲステロンカプロン酸エステル注

射剤、マイクロナイズドプロゲステロン経口剤以外には大きな変化が認められず、また、改訂添付文書では適応外ホルモン製剤が多数使用されており、不妊治療の保険適用から1年間の黄体補充は添付文書の改訂にあまり影響を受けていないことが示唆された。

卵胞ホルモン製剤の適応外使用について、改訂添付文書では新鮮胚移植で適応が認められている卵胞ホルモン製剤はないが、今回の調査では、多くの施設で新鮮胚移植にエストラジオール製剤、結合型エストロゲン、エステル型エストラジオール注射剤及び経口避妊薬が使用されていた。新鮮胚移植における卵胞ホルモン製剤の使用については、生殖医療ガイドライン³⁾で、プロゲステロン製剤と併用する限り妊娠判定前までのエストラジオール製剤、結合型エストロゲン、エステル型エストラジオール注射剤の使用が許容されるとされており、妊娠判定後はエストラジオール製剤に変えることが指示されているが、ESHREのガイドライン⁸⁾では、新鮮胚移植でのエストラジオールは妊娠率を上げず、OHSSのリスクを上げる可能性があることからprobably not recommendedとされている。また、今回の調査では、凍結胚移植においても改訂添付文書で適応が認められていない結合型エストロゲン、エステル型エストラジオール注射剤及び経口避妊薬が使用されていた。凍結胚移植における卵胞ホルモン製剤の使用については、生殖医療ガイドライン⁴⁾で新鮮胚移植と同様に妊娠判定前までのエストラジオール製剤、結合型エストロゲン、エステル型エストラジオール注射剤の使用が認められており、妊娠判定後はエストラジオール製剤に変えることが指示されているが、改訂添付文書では妊娠判定前でも後でも結合型エストロゲン、エステル型エストラジオール注射剤の適応は認められていない。

黄体ホルモン製剤の適応外使用については、ASRMのリコメンデーション⁷⁾、ESHREのガイドライン⁸⁾、生殖医療ガイドライン^{3,4)}で使用が認められておらず、新鮮胚移植でも凍結胚移植でも改訂添付文書で適応がない経口避妊薬、メドロキシプロゲステロン酢酸エステル、マイクロナイズドプロゲステロン経口剤が多数使用されていた。クロルマジノン酢酸エステルはASRMのリコメンデーション⁷⁾でアンドロゲンレセプターに結合する合成黄体ホルモンを妊娠初期に使用すると尿道下裂を引き起こす可能性があるとして、ESHREのガイドライン⁸⁾でも使用が認められていないが、生殖医療ガイドライン^{3,4)}では妊娠4～7週の使用が考慮されるとされ、添付文書では胚移植以前の使用に適応が認められている。しかし今回の調査では、クロルマジノン酢酸エステルを使用する施設のほぼすべてが胚移植以後に使用しており適応外使用だった。ヒドロキシプロゲステロンカプロン酸エステルは、

ASRMのリコメンデーション⁷⁾では、催奇性のリスクは上がらないとするFDAの考え⁹⁾が強調されているが、ESHREのガイドライン⁸⁾では認められておらず、生殖医療ガイドライン^{3,4)}では使用が認められている。

ASRMのリコメンデーション⁷⁾、ESHREのガイドライン⁸⁾、生殖医療ガイドライン^{3,4)}で、個々のホルモン製剤の有効性、安全性の評価は必ずしも同じではない。また、生殖医療ガイドラインと改訂添付文書とで内容が異なる部分もある。これらの事情を考慮し、改訂添付文書で適応外使用とされる個々のホルモン製剤に対しては、今後どのように取り扱うべきか検討が必要と考えられた。

参考文献

- 1) 東口篤司：ARTにおけるホルモン補充の現状—日本IVF学会によるアンケート調査の結果—。日IVF会誌, 17(1)：25-33, 2014.
- 2) 東口篤司・古井憲司・塩谷雅英・森本義晴：ARTにおけるホルモン補充—日本IVF学会による2013年と2017年のアンケート調査の比較—。日IVF会誌, 21(2)：14-19, 2018.
- 3) 黄体補充は有効か？（新鮮胚移植）新鮮胚移植における黄体補充は生殖補助医療の成績向上に有効か？日本生殖医学会（編）：生殖医療ガイドライン。pp88-91, 杏林社, 2021.
- 4) 凍結胚移植におけるホルモン調整周期は、自然周期に比べ優れているか？凍結融解胚移植におけるホルモン調整周期は、自然周期と比較して有効か？日本生殖医学会（編）：生殖医療ガイドライン。pp101-104, 杏林社, 2021.
- 5) 不妊治療に関する支援について。厚生労働省 <https://www.mhlw.go.jp/content/000901931.pdf>(2023.12.12閲覧)
- 6) 適応外の薬剤の投与、医療機器を使用した検査・処置についての留意点。日本産科婦人科学会/日本産婦人科医会 編, 産婦人科診療ガイドライン 婦人科外来編2023, pp XVIII, 杏林社, 2023.
- 7) ASRM Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in collaboration with Society for Reproductive Endocrinology and Infertility.: Progesterone supplementation during the luteal phase and in early pregnancy in the treatment of infertility: an educational bulletin. Fertil Steril, 89: 789-792, 2008.
- 8) ESHRE Reproductive Endocrinology Guideline Group: OVARIAN STIMULATION FOR IVF/ICSI Guideline of the European Society of Human Reproduction and Embryology. 2019.
- 9) Hubbard K: Progestational drug products for human use: Requirements for labeling directed to the patient. Federal register; 64 (70) : April 13, 1999. Proposed rules. FR document 99-9146.

産休育休により長期間臨床現場を離れることは 胚培養士の技術維持に影響するか

Does a long-term leave for childbirth affect the skills of embryologists?

星田 汐美¹, 宗 修平^{1,2}, 榊原 由佳¹, 川合 優菜¹, 日野 沙也加¹, 宮村 知子¹,
石川 立¹, 南波 美沙¹, 宮野 奈緒美¹, 村林 奈緒^{1,2}, 山口 和香佐¹, 俵 史子¹

Shiomi Hoshida¹, Syuhei So^{1,2}, Yuka Sakakibara¹, Yuna Kawai¹, Sayaka Hino¹, Tomoko Miyamura¹,
Ryu Ishikawa¹, Misa Nanba¹, Naomi Miyano¹, Nao Murabayashi^{1,2}, Wakasa Yamaguchi¹, Fumiko Tawara¹

¹俵 IVF クリニック 〒422-8066 静岡県静岡市駿河区泉町2-20

²浜松医科大学 生殖周産期医学講座 〒431-3192 静岡県浜松市東区半田山1-20-1

¹Tawara IVF Clinic

²Hamamatsu University School of Medicine Department of Reproductive and Perinatal Medicine

要旨: 本研究では、出産や育児のために長期間休職した胚培養士の技術低下について調査を行った。産休および育休から戻った3名の胚培養士を対象に、1年間のブランクが培養技術にどのような影響を及ぼしたかを分析した。その結果、胚盤胞のグレード評価ではサイズ評価では1名がわずかながら技術的な低下を示したが(κ 係数=0.58), conventional-ICSI(c-ICSI)の成績は3名とも休職前後で有意な差は確認されなかった。これらの胚培養士は勤続5年以上の経験者であり、復職後に受けた1ヵ月の復帰プログラムが技術維持に寄与したと考えられる。

キーワード: 産休育休, 胚培養士

ランニングヘッド: 産休育休が胚培養士の技術維持に与える影響の検討

緒言

生殖補助医療(ART)の現場では胚培養士が配偶子や受精卵・胚を取り扱う重要な役割を担っている。胚培養士はART施設で知識や技術を習得し、患者の配偶子や受精卵・胚を扱うのに一定の期間を要する。以前の研究によると、胚培養士は顕微授精(ICSI)の実施までに13ヵ月、一人前として任せられるまでに24ヵ月かかるとされ¹⁾、また、新人胚培養士の雇用情報の分析から、技術を習得して一人前になっても在職期間5年で4割の人が離職すると報告されている¹⁾。培養室では常に高い培養成績と安全性を提供する必要があるが、そのためには胚培養士の定着と継続的な技術維持が重要である。胚培養士の採用には、日本卵子学会が認定する生殖補助医療胚培養士のデータが参考になる。このデータによると、認定された胚培養士の80%以上が女性であり、年齢は20~29歳が72%を占めている²⁾ことから胚培養士の職場は若い女性が多い環境といえる。出産や育児のためにキャリアを続けることができるよう、育児・介護休業法が定められている。2021年の報告によると、

女性の育児休業取得率は85.1%であり、育児休業制度が定着していることが分かる³⁾。また、2015年から2019年に第一子を出産した女性の出産後の継続就業割合は2021年において69.5%であり、約7割の女性が出産後も仕事を継続している現状にある³⁾。胚培養士が産休育休を取得し長期間臨床現場を離れることは、復職後の育児と仕事の両立に不安が生じるだけでなく、技術の低下も心配される。当院では、3名の胚培養士がほぼ同時に1年間の産休育休を取得し、その後職場に復帰した。今回、胚培養士が臨床現場を長期間離れる際に懸念される技術面での低下の評価を行った。胚評価の精度管理の一環として当院で定期的実施している胚盤胞グレードテストと、conventional-ICSI(c-ICSI)の成績を指標とし、復職者それぞれの産休育休前後の結果を比較することで、長期間臨床現場から離れることが技術に与える影響について検討を行った。

対象と方法

産休育休を取得した3名の胚培養士(経験年数は9年

受付 2024年3月7日/受理 2024年4月2日

責任著者: 星田 汐美 e-mail [labo@tawara-ivf.jp]

(A), 7年(B), 5年(C))を対象にした。彼らは職場復帰後、約1ヵ月間の復帰プログラムに従ってトレーニングを受けた。復帰プログラムでは産休育休前の経験年数を考慮し、基本的には1ヵ月で手技の確認をし、2ヵ月目から休職前と同じように勤務できることを目標とした。主に午前は業務の見学、午後は練習を行い、項目それぞれに達成目標日数を設定し目標日までに指導胚培養士に手技確認を受けた。精子処理の後に胚の凍結融解操作を中心に胚操作の手技確認を行い、その後ICSIのトレーニングを開始した。ICSIではまずマイクロマニピュレーターなどの機器のセッティングを確認し、その後、治療に用いなかった卵子への穿刺の練習を行い、指導胚培養士による手技確認を行った。指導胚培養士の合格後、採卵してMII期(第二減数分裂中期:metaphase II)卵が8個以上ある場合にはその内の1個の臨床を開始し、10例で受精結果の80%以上を確認した。その後、採卵数が6個以上の症例では、現役ICSI施行者と半数ずつ行った。5症例で同等の受精率が確認された後、MII期卵子が2個以上ある1症例の臨床を担当するようになった。

胚盤胞グレードテストは指導胚培養士1名が過去の胚凍結で撮影した胚盤胞画像の中からサイズ、内細胞塊(ICM)、栄養外細胞(TE)の組み合わせに偏りがないように様々なグレードを含む約30枚の胚画像を選定し、胚画像から胚のサイズ、ICM、TEのグレードを評価した。胚盤胞のグレード付けについてそれぞれサイズは胚盤胞腔の広がり具合と広がりによって薄くなる透明帯の厚み、ICMは細胞の大きさと細胞同士の結合の状態、TEは細胞の数と均一性で評価した。当院独自の評価基準によりサイズは5段階、ICMとTEは4段階で評価を行った。指導胚培養士との一致度を評価するために κ 係数を用いた。 κ 係数は異なる評価者による一致度を測定できる指

標であり、数値が1に近いほど評価者間の一致度が高く、0に近づくと評価者間の一致度が低いことを示す⁴⁾。当院では $\kappa > 0.6$ を一致度良好とした。結果が $\kappa > 0.6$ を下回る場合、指導胚培養士との誤差がある場合にはそれぞれ指導を行った。3名の産休前の直近3回に行ったテストの結果と産休後に行ったテストの結果を比較した。

産休育休前後のc-ICSIの成績を比較するため、2020年5月から2023年3月までの間に当院で産休育休を取得した胚培養士3名による産休後のc-ICSI症例100個と、産休前1年間に実施した症例を比較した。名義変数検定には χ^2 検定、連続変数検定にはt-testを用いて比較した。各種検定および傾向スコアマッチングにはJMPソフトウェア(バージョン14, SAS社)を使用した。産休育休を取得した胚培養士と指導胚培養士との面談により、今後の課題について検討が行われた。この研究は俵IVFクリニック倫理委員会の承認を得て行われた。

結果

胚盤胞グレードテストの結果、産休前の数回のテスト結果において胚培養士によって個々のバラつきがあった。産休前直前・産休後初回の胚盤胞グレードテストの結果、サイズの一貫度はA(0.63/0.8)、B(0.95/0.58)、C(0.77/0.79)であった。ICMの一貫度はA(0.65/0.61)、B(0.39/0.79)、C(0.88/0.82)、TE:A(0.82/0.77)、B(0.80/0.65)、C(0.88/0.78)であり、1名で産休後のサイズの評価が基準よりも下回っていた(図1)。

基準を下回っていた項目があった胚培養士Bについて指導胚培養士による修正が行われ、ICM評価が安定していることからサイズ判断の微調整で修正可能と判断し、胚盤胞の内腔の広さ・サイズの各拡張度別に評価方法の

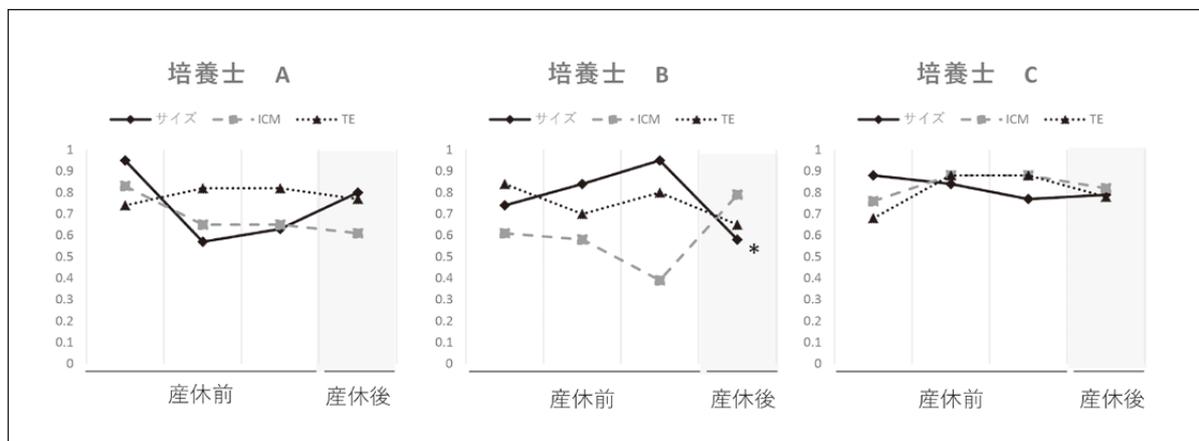


図1 3名の産休育休取得前後の胚盤胞グレード評価テストの成績
*は産休育休取得後に培養室の基準値(κ 係数0.6)を下回ったことを示す。

表1 対象症例の背景の比較(傾向スコアマッチング前)

	培養士A			培養士B			培養士C		
	産休前	産休後	p	産休前	産休後	p	産休前	産休後	p
女性年齢(歳) ±SD	36.7±4.1	35.5±4.0	0.008	35.0±4.8	35.9±5.1	0.101	34.6±4.2	35.4±4.1	0.111
男性年齢(歳) ±SD	38.7±5.8	35.5±5.7	<0.001	36.6±6.08	38.1±6.3	0.033	36.8±6.0	36.3±5.4	0.501
卵子の進展率(%)	92.6	95.0	0.413	90.4	92.0	0.605	90.9	86.0	0.182
細胞質 正常割合(%)	69.0	73.7	0.377	92.3	95.0	0.341	89.7	93.0	0.342
紡錘体可視化率(%)	98.7	95.1	0.022	98.1	99.0	0.554	96.5	81.0	<0.001
精子濃度±SD (10 ⁶ /ml)	27.7±24.1	52.0±44.1	<0.001	19.8±18.0	59.6±58.8	<0.001	28.8±27.7	73.6±71.9	<0.001
精子運動率±SD (%)	43.4±19.0	49.7±21.1	0.004	39.3±19.7	56.9±20.8	<0.001	39.9±19.2	46.2±18.7	0.006
精子直進率±SD (%)	27.6±17.7	34.4±19.2	0.001	23.6±16.3	43.9±18.7	<0.001	25.7±17.0	29.6±17.2	0.057

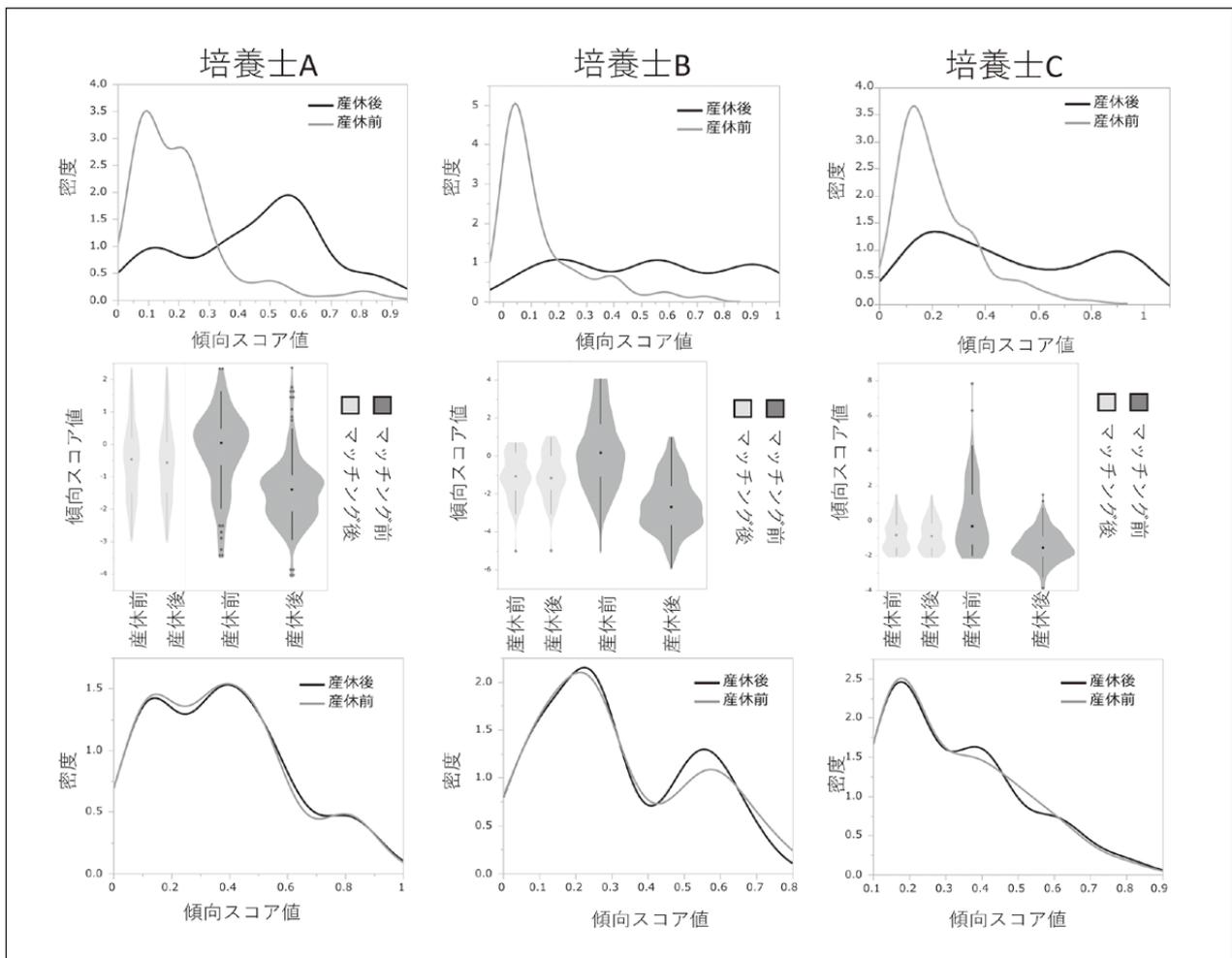


図2 傾向スコアマッチング法による患者背景の調整

上段は表1の患者背景変数を用いて算出した傾向スコア値の密度分布の比較。産休前後で分布のズレを認める。中段は比較群間での共変量のバランスを改善することを目的に、傾向スコアマッチングを用いて、傾向スコア値を基に産休前後の症例を1対1でマッチングさせた。下段はマッチング後の傾向スコア値の密度分布。マッチング前の傾向スコア値のズレが解消されていることを示す。

指導を行った。胚培養士Bは指導を受けたのちの再テストにおいてサイズの一致度が0.82となり基準値に達した。

c-ICSIの成績への影響要因として、女性年齢、男性年齢、卵子の進展率(卵細胞穿刺時に細胞膜の進展を認めた卵子の割合)、卵子の細胞質の状態(卵細胞穿刺時に細胞質に異常のない卵子を正常細胞質とした卵子の割合)、紡錘体可視化率(卵細胞穿刺前に偏光板を挿入し卵細胞の紡錘体の有無を確認できた卵子の割合)、原精液の精子濃度、運動率、直進率を群間で比較した結果、産休前と産休後で施行した症例の背景に有意な差を認めた(表1)。

そのため、これらの交絡因子の影響を最小限に抑えるため、傾向スコアマッチング法を用いて、産休育休前後に実施した症例を1対1でマッチングした(図2)。

傾向スコアマッチング後、産休育休前後の両群は、考

慮したほぼすべての変数でバランスが取れていることが確認された(表2)。

マッチング後のc-ICSI成績の比較では、3名とも産休後のc-ICSI症例の成績が産休前と比較して有意に低下していないことが分かった(胚培養士Aの受精率:産休前80.3%(49/61) vs 産休後77.0%(47/61), 胚培養士Bの受精率:産休前74.5%(44/59) vs 産休後84.7%(50/59), 胚培養士Cの受精率:産休前67.6%(46/68) vs 産休後77.9%(53/68), 胚培養士Aの胚盤胞到達率:産休前42.3%(22/52) vs 産休後55.7%(29/52), 胚培養士Bの胚盤胞到達率:産休前36.5%(19/52) vs 産休後53.0%(26/49), 胚培養士Cの胚盤胞到達率:産休前38.1%(24/63) vs 産休後49.2%(31/63) 図3)。

表2 対象症例の背景の比較(傾向スコアマッチング後)

	培養士A			培養士B			培養士C		
	産休前	産休後	p	産休前	産休後	p	産休前	産休後	p
女性年齢(歳) ±SD	35.8 ± 3.7	35.3 ± 4.2	0.434	35.1 ± 4.4	35.0 ± 4.7	0.937	34.8 ± 3.5	35.0 ± 3.9	0.768
男性年齢(歳) ±SD	36.5 ± 5.1	35.9 ± 6.1	0.525	36.2 ± 6.0	37.3 ± 4.7	0.265	34.6 ± 4.1	35.7 ± 5.6	0.203
卵子の進展率(%)	93.4	96.7	0.402	89.8	94.9	0.605	83.8	85.2	0.812
細胞質 正常割合(%)	62.3	77.0	0.076	91.5	94.9	0.298	98.5	92.6	0.095
紡錘体可視化率(%)	96.7	95.0	0.648	96.6	98.3	0.559	92.6	92.6	1.000
精子濃度 ±SD (10 ⁶ /ml)	38.6 ± 32.6	37.9 ± 31.9	0.902	30.3 ± 25.7	29.8 ± 29.2	0.929	30.8 ± 26.8	38.2 ± 20.4	0.071
精子運動率 ±SD (%)	47.6 ± 22.2	48.6 ± 23.7	0.806	52.0 ± 16.6	46.6 ± 18.1	0.093	43.0 ± 20.8	44.8 ± 18.5	0.610
精子直進率 ±SD (%)	35.6 ± 22.0	33.7 ± 20.9	0.626	39.5 ± 15.7	36.0 ± 15.9	0.228	28.2 ± 19.5	29.3 ± 16.3	0.710

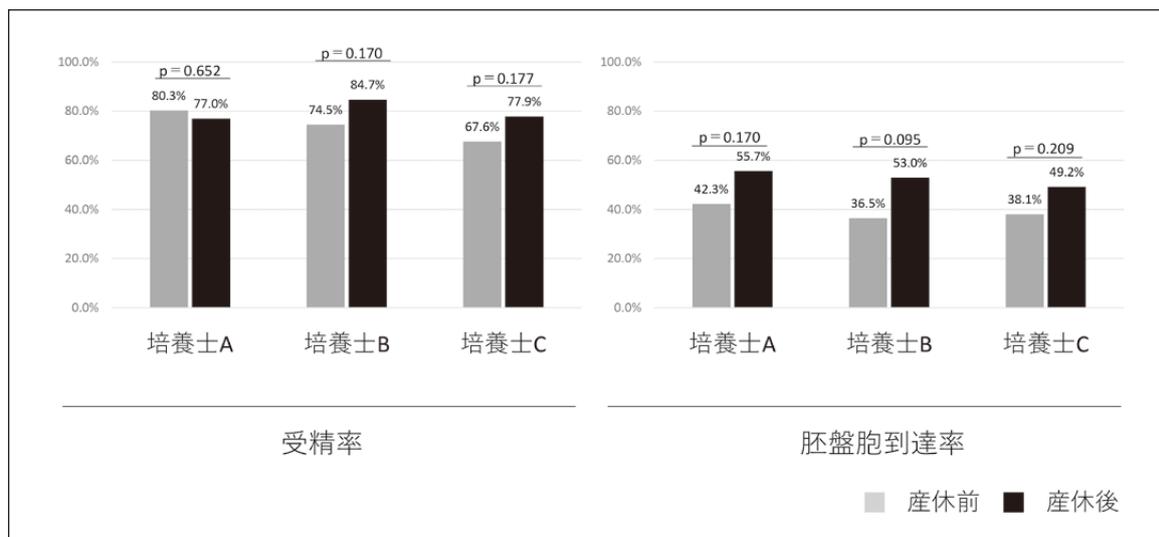


図3 3名の産休育休取得前後のc-ICSIの成績

考 察

胚盤胞グレードテストの結果では、産休前に業務をメインで行っている胚培養士でも胚培養士A・Bのように評価にバラつきがみられる場合と、胚培養士Cのように産休前・産休後関わらず一定の評価基準を維持している場合があるように個人による差があることが分かった。胚観察は主観的な評価となりやすい面があり、個人評価にバラつきが生じることが考えられた。定期的なグレードテストによる評価方法の見直しと指導による修正は培養室全体のクオリティ維持のために重要であると考えられる。産休前の期間でも評価が $\kappa > 0.6$ を下回った場合は、修正箇所について個別に指導を行い培養室全体のクオリティを保っている。産休育休で長期間臨床現場を離れることにより評価の一致度が低下することが懸念されたが、今回の結果より、長期間臨床現場を離れても評価基準は大きく低下することはないが、個人によっては評価にブレが生じることが分かった。個々の評価のブレは、指導胚培養士による指導と一定の評価基準の設定によって評価技術が維持できると考えられる。

c-ICSIの検討では産休前と産休後では背景因子に大きな違いがあった。産休前は1人で1つの症例を担当し、厳しい精液所見や難治性の症例も扱っていたが、産休後はトレーニングを経て患者の卵子に穿刺を開始する際に、採卵数が多い症例を経験豊富な胚培養士と分担して施行した。また、比較的年齢が若く精子所見が良好な症例から経験を積んでいた。これらの要因により、産休前と産休後の背景因子に大きな違いが生じたと考えられる。c-ICSIの臨床成績の結果から、経験年数が5年以上の中堅胚培養士は、長期間臨床現場から離れても1ヵ月程度の復帰プログラムにより、産休前と同程度のスキルに回復し、これまで培ってきた経験を継続して活かすことができることが示唆された。

産休育休取得に対する意見について、妊娠中は体調によってはにおいや体を動かすことが負担に感じる業務があるため、体調によっては他のスタッフと交代できる職場環境であると、妊婦自身の安心感やミスの防止につながると考えられる。産休育休取得後の復職前には、仕事と育児の両立に加えて、生殖補助医療の保険診療開始に伴う業務内容の変更への不安や、胚を扱う業務が以前のように行えるかという不安があったが、復職後は子供の状況に応じて勤務時間を考慮してもらえたことや、復帰プログラムを経て手技を確認できたことで不安が解消した。復帰プログラムのトレーニング内容については、適切であったという意見もあった。育休取得後は、時短勤務を選ぶ人が多いため、勤務時間に制限がかかること

が危惧される。限られた業務時間内で臨床業務に復帰するためには、明確な目標を持った復帰プログラムのトレーニングが効果的であり、実際の胚操作についても、手技が感覚的に残っていることや、復職後の臨床成績を見ても技術の取得には時間がかからないことが考えられる。産休育休に対する不安な点は個人によって異なるため、1人の不安点や子供の状況をヒアリングし、個別に対応することで不安が解消され、臨床業務への復帰がスムーズにいくと考えられる。胚培養士の職場環境についての報告書によると、過去3年間の産休育休の有無は約50%であり¹⁾、これは厚生労働省が報告する育児休業取得率に比べて低いことがわかった。このことから、スキルを身につけていても出産や育児のために離職する人が多いことが推測される。産休育休を経て復帰した胚培養士の職場環境には、時短勤務による業務時間の制限や、それをカバーするためのサポート体制の構築や、負担の増加などの課題がある。しかし、新人胚培養士の教育だけでなく、経験年数に応じた復帰プログラムなどのキャリアを継続できる体制を整えることは、培養室のクオリティや生殖補助医療施設の成績維持、そして胚培養士の人材定着に効果があると考えられた。女性だけでなく男性の育休取得促進されている背景から、様々な働き方を認め今後、将来的にもキャリアを継続できる職場環境を整える必要があると思われる。

参 考 文 献

- 1) 辻俊一郎・布田奈津子・米岡完・花田哲郎・竹林明枝・岸田和美・伊津野美香・村上節：胚培養士の職場環境と教育の現状。日本卵子学会誌，40(1)：9-14，2023。
- 2) 寺田幸弘・木村直子・高橋俊文・柴原浩章・斎藤英和・新村末雄・柳田薫：我が国における生殖補助医療胚培養士の現状2015—生殖補助医療胚培養士および管理胚培養士の資格審査結果の解析—。日本卵子学会誌，1(1)：15-21，2016。
- 3) 厚生労働省編。厚生労働白書。令和5年度，2023。
[http://www.mhlw.go.jp/stf/wp/hakusyo/kousei/22/index.html\(2024.1.15\)](http://www.mhlw.go.jp/stf/wp/hakusyo/kousei/22/index.html(2024.1.15))
- 4) Ashleigh Storr, Christor A.Venetis, Simon Cooke, Suha Kilani, William Ledger: Inter-observer and intra-observer agreement between embryologists during selection of a single Day5 embryo for transfer: a multicenter study. Hum Reprod, 32: 307-314, 2017.

お知らせ

第27回 日本IVF学会学術集会のご案内

共催：日本臨床エンブリオロジスト学会

ご挨拶

皆様におかれましてはますますご清栄のこととお喜び申し上げます。

平素より生殖医学の発展のために深いご理解とご高配を賜り厚く御礼申し上げます。

来る2024年10月5日～6日に、第27回日本IVF学会を開催させて頂くことになりました。今回の学術集会のテーマは、「不妊診療の開物成務 ～困難症例への挑戦～」です。「開物成務」（かいぶつせいむ）の由来は、中国の古代思想であり儒教の経典ともされる五経（易、書、詩、礼、春秋）の一つ、「易経」の教えにあります。儒教の始祖である孔子は「易経」の解説書となる十編の書物「十翼（象伝上下、象伝上下、繫辞伝上下、文言伝、説掛伝、序掛伝、雑掛伝）」を編集し、この中の繫辞上傳の第十一章にポスターの漢文一節があります。

「子曰。夫易。何為者也。夫易。開物成務。冒天下之道。如斯而已者也。是故聖人以通天下之志。以定天下之業。以斷天下之疑。」「孔子はおっしゃった。そもそも易経は何のために創られ、また、どのような効用があるのでしょうか。そもそも易経は、天下のあらゆる物事を開通させ、萬物が各々天から授かった使命としての務め（天命）を成し遂げさせ、天地宇宙の変化の道理を明らかにするものである。」「開物成務」は「易経」の本質を示した言葉です。

この言葉は、その後の中国の古典文学や哲学でも用いられ、「物事を開拓し、成し遂げるために努力する」という意味で現代にも通用しています。新しい分野や領域に積極的に取り組んで、新しい事業や成果を築くことを指しています。また、物事を切り拓いて進んでいく姿勢や、新しいことに挑戦して成果を上げる精神を表現し、実現するために努力することの重要性を強調しています。不妊診療の保険化から2年が過ぎました。経済的なハードルが下がった結果、若年カップルの受診が増えるなどその恩恵を享受する人達がいる一方で、保険適応ではない検査・治療を必要とする方々が存在します。特に反復不成功・着床不全、卵巣機能不全などの困難症例に対しては、従来から様々なアプローチが試みられていますが、それらは未だ保険および前段階の先進医療の適応にも至らずその見通しもたっていないのが現状です。しかしそれでも我々は「開物成務」の精神で、これら困難症例に対しては今後向き合い、新しい対応を考え、挑戦を続けなければなりません。

本会はこれら困難症例に対する「開物成務」の対応として、PRP（多血小板血漿）子宮内投与および卵巣投与のシンポジウムを中心に、その他に慢性子宮内膜炎に関する新しい知見、タクロリムス先進医療Bの経過/結果、エクソソーム卵巣投与、POIの現状、培養に関わる話題、世界のART情勢などをテーマとした教育講演、特別講演、ランチョンセミナーを予定しています。また海外からは、英国Warwick大学のJ. Brosens教授をお招きして「着床」に関する講演を予定しています。

今回の学会は従来通り、日本臨床エンブリオロジスト学会との共催であり、エンブリオロジスト学会のセッションを用意したほか、口演での一般演題発表も予定します。

コロナも一段落し、お楽しみの懇親会も用意しています。多くの皆様のご参加をお待ちしています。



第27回 日本IVF学会学術集会
会長 高見澤 聡（杉山産婦人科 新宿 副院長）

学会開催概要

●スケジュール

会期：2024年10月5日（土）～6日（日）

会場：京王プラザホテル（東京都新宿区西新宿2-2-1）

●学術集会会長

高見澤 聡（杉山産婦人科 新宿 副院長）

●メインテーマ

不妊診療の開物成務 ～困難症例への挑戦～

●その他ご案内

演題投稿・参加登録の詳細および会場等のご案内は、学術集会特設ページをご覧ください。



日本IVF学会雑誌発行における 投稿論文募集のお知らせ

2012年より、日本 IVF 学会では学会雑誌を新刊・発行する運びとなりました。本雑誌は体外受精-胚移植に関する基礎的研究、臨床的研究に関する論文を掲載し、新たな知見を広く世界に知らせることを目的としています。

対象読者は、体外受精-胚移植に関連するすべての研究者、臨床医、技術者で、体外受精という技術を集学的に理解し、評価し、そして高めることに目標を置き、編集発行されます。

次号の発行は 2024 年 9 月を予定いたしております。因みに原稿の締め切りは 2024 年 8 月 9 日（金）とさせていただきます。

なお、年間の投稿論文の中から優秀論文賞として選考し、表彰および副賞を贈呈いたします。

取り扱いテーマ

妊能および不妊、IVFおよび生殖補助、生殖内分泌学、生殖生理学、受精、配偶子提供、卵母細胞および卵巣発生学、精母細胞および精巣発生学、着床前遺伝子診断（PGD）、胎児の遺伝性疾患、着床および器官形成、妊娠、胎児、出産、倫理、カウンセリング

詳細はウェブサイト
(<https://www.jsar.or.jp/dissertation/submission/>)
をご覧ください。

JSAR
Japan Society of Assisted Reproduction

一般社団法人
日本IVF学会

1. 本誌の目的と対象読者

本誌は生殖医療に関連する基礎研究、臨床研究に関する論文を対象とし、新たな知見を広く世界に知らせることを目的とする。対象読者は生殖医療に関わる全ての研究者、臨床医、技術者、培養士、検査技師、看護職、心理士等である。

2. 投稿資格

著者は原則として本学会会員に限る。ただし、編集委員会が認めた場合はこの限りでない。

3. 投稿内容と種類

投稿論文は原著、短報、総説、レター、症例、その他とし、他誌に発表、掲載されていない学術論文に限る。

4. 倫理的配慮

研究に際しては「ヘルシンキ宣言」、厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」、および外科関連学会協議会「症例報告を含む医学論文および学会発表における患者プライバシー保護に関する指針」などの倫理指針を遵守し、投稿に際しては倫理委員会の承認を得たことを論文中に記載する。

5. 利益相反

投稿者は本会にて定める「利益相反に関する指針」に従い、利益相反状態を明らかにするため、所定の申込書に記入し、投稿論文とともに提出し、開示すべき利益相反関係があれば論文中に記載する。

6. 投稿論文の採否

論文は編集委員会において審査・査読を行い、採用決定したものを掲載する。審査の結果、原稿の修正を求められることがある。

7. 著作権

本誌掲載論文の著作権は本学会に帰属する。

8. 執筆要項

- 1) 原稿は、原則としてパーソナルコンピュータ上のWordで作成する。
- 2) 原稿は原則として日本語とし、A4版横書き、11ポイント、1ページに約1,200字(40字×30行)とする。
- 3) 投稿原稿の1編は、本文、文献、図表を含めて以下の枚数以内とする。
原著論文 8枚(約9,600字以内)
総説 8枚(約9,600字以内)
研究報告 8枚(約9,600字以内)
短報 4枚(約4,800字以内)
症例報告 4枚(約4,800字以内)
レター 2枚(約2,400字以内)
その他 8枚(約9,600字以内)

<原著論文/研究報告>

原著論文は、表紙、要旨・キーワード、本文、参考文献、図・表・写真およびその説明文から構成される。※(和文・英文)

- 1) 第1ページに表題[※]、著者名[※]、所属[※]、住所、連絡先(氏名、所属、住所、電話番号、FAX番号、Eメールアドレス)を記載する。表題には略語を使用しない(以下の略語は本文中も含め使用可とする:AID, AIH, ART, BT, E2, ET, FSH, hCG, hMG, ICSI, IMSI, IVF, LH, MESA, OHSS, P4, PCO, PCOS, PESA, PRL, TESE, MD-TESE)。
- 2) 第2ページには和文要旨(400字以内)、キーワード(5個以内、50音順)およびランニングヘッド(25字以内)を記載する。
- 3) 第3ページには英文要旨(250ワード以内)、キーワード(5個以内、abc順)を記載する。
- 4) 第4ページ以降の本文は緒言(目的、背景)、対象と方法、結果、考察(謝辞)、参考文献の順に記載する。
- 5) 参考文献は引用順に記載し、本文中にも同じ文献番号をつける。著者名は全員とし、下記のように記載する。雑誌名については、原則として省略法で記載する(例:日IVF会誌, 日受精着床会誌, 日産婦誌, Hum Reprod, Fertil Steril等)。

①雑誌

著者名:表題. 雑誌名, 巻(号):頁-頁, 発行年(西暦). ※(号数)の記載については有/無いずれも可とする。

〈例1〉三宅麻喜・笠井剛・藤江道子・平田修司・星和彦:アルギネート包埋法またはマイクロピペットを用いた極少数精子の凍結保存法について. 日受精着床会誌, 22: 58-61, 2005.

〈例2〉Nakamoto T, Okada H, Nakajima T, Ikuta A, Yasuda K, Kanzaki H: Progesterone induces the fibulin-1 expression in human endometrial stromal cells. Hum Reprod, 20: 1447-1455, 2005.

②書籍

著者名:表題. 編集者名, 書名, pp頁-頁, 発行所, 発行年(西暦).

〈例1〉森崇英:ARTの倫理と体制. 森崇英・久保春海・岡村均編, 図説ARTマニュアル, pp 9-17, 永井書店, 2002.

〈例2〉Okamura H, Katabuchi H, Nagai R: Ultrastructure of human ovulation: histofunctional parameters. In: Motta, PM., ed. Microscopy of reproduction and development: a dynamic approach, pp 155-161, Antonio Delfino Ediore, 1997.

③ウェブサイト

そのページの題名. ウェブサイト名. 入手先URL, (入手日付)

〈例1〉倫理に関する見解. 公益社団法人日本産科婦人科学会.

<http://www.jsog.or.jp/ethic/index.html>, (2015.10.1)

④ウェブサイトから入手した文献

著者名. 文献名. 版表示, 出版年. 入手先URL, (入手日付)

〈例1〉厚生労働省編. 最近の医療費の動向(年次版). 平成26年度, 2015.

<http://www.mhlw.go.jp/topics/medias/year/14/index.html>, (2015.10.1)

⑤学会ガイドライン

インターネットから引用した場合は④(ウェブサイトから入手した文献)を, 雑誌から引用した場合は①(雑誌)を参照のこと.

- 6) 図・表・写真: 図・表はパワーポイント, 写真はjpegデータで作成する. 個々に符号をつけ, 本文中に挿入位置(図1, 表1, 写真1など)を明示する. 掲載時のサイズは編集委員会に一任とする. 写真は白黒印刷で掲載される.
- 7) 表記が規定の通りではない原稿について, 再提出をお願いする場合がある.

<総説>

最近における内外の研究または理論的技術的知識を総合してまとめたもので, できるだけ解説的な内容とする.

原著論文と形式は同様であるが項目分けについては特に定めず, 著者の自由な構成とする. 本文の後に謝辞, 文献, 表, 図の順に記載する.

<短報/症例報告>

論文のうち臨床症例やより簡潔な形での研究の報告が可能なものについては症例報告ないし短報とする.

- 1) 第1ページには原著論文と同様な内容を記載する.
- 2) 第2ページには要旨(250字以内), キーワード(3語)およびランニングヘッド(25字以内)を記載する.
- 3) 第3ページ以降, 症例報告では緒言, 症例報告, 考察の項目に分け, 短報はこれらの区分をつけないこととする.
- 4) 参考文献は10編以内とする.

<レター>

レターは原著や症例報告より簡潔な形で報告が可能なもの, また検査・診断・治療などの技術に関する新知見や, 臨床に関する興味深い経験を簡潔に解説したものとする.

- 1) 第1ページには原著論文と同様な内容を記載する.
- 2) 第2ページ以降にはキーワード(3語)およびランニングヘッド(25字以内)ならびに本文を項目分けせずに記載する.
- 3) 参考文献は5編以内とし, 文献の表題を省く.

9. 原稿の送付方法

投稿論文は, 「投稿フォーマット」に準じて記載したものを, 日本IVF学会の論文投稿用指定アドレス宛に, E-mailにて投稿する.

詳細はウェブサイト

(<https://www.jsar.or.jp/dissertation/submission/>)をご覧ください.

10. 別刷申し込み

別刷を希望する場合, 初校の校正時に必要部数を申し出ること. 記入がない場合は別刷不要とみなし, 掲載後の別刷希望には応じられない. 別刷料金は50部10,000円(税抜)とする.

一般社団法人 日本IVF学会 定款

第1章 総 則

(名 称)

第1条 当法人は、一般社団法人日本IVF学会と称する。学会の英文名称は、Japan Society of Assisted Reproduction (略称JSAR) とする。

(目 的)

第2条 当法人は、生殖補助医療である体外受精法 (In Vitro Fertilization (以下「IVF」という。)) 及びその関連領域に関する研究の発展、知識の交流を図り、もって医学の進歩に寄与することを目的として、次の事業を行う。

- (1) 学術集会の開催
- (2) 各種の学術的調査、研究
- (3) 内外関連学術団体との連絡及び提携
- (4) 学会雑誌の発行
- (5) その他当法人の目的達成に必要な事業

(主たる事務所の所在地)

第3条 当法人は、主たる事務所を横浜市に置く。

(公告方法)

第4条 当法人の公告は、官報に掲載して行う。

(機 関)

第5条 当法人は、当法人の機関として社員総会及び理事以外に理事会及び監事を置く。

第2章 社員及び会員

(会員の資格及び種別)

第6条 当法人の会員は、当法人の目的に賛同する医師、エンブリオロジスト (胚培養士)、臨床検査技師、看護師、薬剤師、臨床心理士、研究者又は理事会の承認を得た者とし、次の4種に分類する。なお、名誉会員及び功労会員の資格並びにその他の事項については、本定款に定めるもののほか、理事会の定める規則による。

- (1) 正会員 当法人の目的に賛同して当法人の活動に参画するために入会した個人
- (2) 名誉会員 当法人の目的に賛同して入会した会員のうち、IVFに関する研究の発展に関する貢献が顕著な者
- (3) 功労会員 当法人の進歩発展に特別の功績があり、当法人の発展に功労があった者
- (4) 賛助会員 当法人の目的に賛同し、当法人の事業を賛助するために入会した団体又は法人。なお、法人の代表者、生殖医療管理責任者、又は個人開業医が正会員の場合は、同会員が所属する団体又は法人は自動的に会員資格を保有するものとする。

(社 員)

第7条 一般社団法人及び一般財団法人に関する法律 (以下「法人法」という。) 第11条第1項第5号等に規定する社員は、正会員の中から理事会において選定された者とする。

2 社員は、法人法第35条以下に規定する社員総会を組織し、当法人の重要事項を審議、議決する。

(入 会)

第8条 当法人の会員となるには、当法人所定の入会申込方法により入会の申込みをし、会費を納入のうえ、理事長の承認を得なければならない。再入会の場合も同様とする。

(会 費)

第9条 会員は、当法人の目的を達成するため必要とする経費として、別途定める規則に従い会費を支払う義務を負うものとする。ただし、名誉会員は会費を納めることを要しない。

(正会員の権利)

第10条 正会員は次の権利を有する。

- (1) 当法人の主催する学術集会に定められた参加費で参加することができる。
- (2) 当法人の雑誌に投稿することができる。

(退社又は退会)

第11条 社員は、次に掲げる事由によって退社する。

- (1) 正会員の資格を喪失したとき。
- (2) 社員本人の退社の申し出。退社の申し出は1か月前にするものとするが、やむを得ない事由があるときは、会費をすべて支払った後にいつでも退社することができる。なお、既に支払った会費の払い戻しはしないものとする。
- (3) 死亡
- (4) 除名

2 会員は、次に掲げる事由によって退会する。

- (1) 会員本人の退会の申し出。ただし、既に支払った会費の払い戻しはしないものとする。
- (2) 死亡又は解散
- (3) 会費の不払い（期限を定めて催告した場合に限る。）
- (4) 除名

3 社員の除名は、正当な事由があるときに限り、法人法第30条及び第49条第2項第1号の定める社員総会の特別決議によってすることができる。

4 会員の除名は、正当な事由があるときに限り、理事会の決議によってするものとする。

(社員名簿及び会員名簿)

第12条 当法人は、社員及び会員の氏名及び住所を記載した社員名簿及び会員名簿を作成し、当法人の主たる事務所に備え置くものとする。社員名簿をもって法人法第31条に規定する社員名簿とする。

2 当法人の社員及び会員に対する通知又は催告は、社員名簿及び会員名簿に記載した住所又は社員及び会員が当法人に通知した居所にあてて行うものとする。

第3章 社員総会

(招 集)

第13条 当法人の定時社員総会は、毎事業年度末日の翌日から3か月以内に招集し、臨時社員総会は、必要に応じて招集する。

2 社員総会は、法令に別段の定めがある場合を除くほか、理事会の決議に基づき理事長がこれを招集する。理事長に事故若しくは支障があるときは、副理事長がこれを招集する。

3 社員総会を招集するには、会日より1週間前までに、社員に対して招集通知を発するものとする。

4 前項の招集通知は、書面による通知の発出に代えて、社員の承諾を得て、電磁的方法により通知を発することができる。

(招集手続の省略)

第14条 社員総会は、社員全員の同意があるときは、招集手続を経ずに開催することができる。

(議長)

第15条 社員総会の議長は、理事長がこれに当たる。ただし、理事長に事故若しくは支障があるときは、副理事長又はその他の理事が当たる。

(決議の方法)

第16条 社員総会の決議は、法令又は定款に別段の定めがある場合を除き、総社員の議決権の過半数を有する社員が出席し、出席した当該社員の議決権の過半数をもって行う。

2 書面による議決権の行使は、議決権行使書面に必要な事項を記載し、当法人に提出して行う。

3 電磁的方法による議決権の行使は、当法人の承諾を得て、議決権行使書面に記載すべき事項を当法人に提供して行う。

4 前2項の規定によって行使した議決権の数は、出席した社員の議決権の数に算入する。

(社員総会の決議の省略)

第17条 社員総会の決議の目的たる事項について、理事又は社員から提案があった場合において、その提案に社員の全員が書面又は電磁的記録によって同意の意思表示をしたときは、その提案を可決する旨の社員総会の決議があったものとみなす。

(議決権の代理行使)

第18条 社員は、当法人の社員又は議長を代理人として、議決権を行使することができる。ただし、この場合には、社員総会ごとに代理権を証する書面を提出しなければならない。

2 前項の社員又は代理人は、代理権を証明する書面の提出に代えて、当法人の承諾を得て、同書面に記載すべき事項を電磁的方法により提供することができる。

(社員総会議事録)

第19条 社員総会の議事については、法令に定める事項を記載した議事録を作成し、議長及び議事録署名人が署名又は記名押印して10年間当法人の主たる事務所に備え置くものとする。

2 議事録署名人の選定は、議長が出席した社員の内1名を指名し、出席した当該社員の議決権の過半数をもって行う。

第4章 役員

(役員等)

第20条 当法人に次の役員を置く。

- | | |
|----------|-----------|
| (1) 理事長 | 1名 |
| (2) 副理事長 | 若干名 |
| (3) 常務理事 | 20名以内 |
| (4) 理事 | 3名以上45名以内 |
| (5) 監事 | 2名以内 |

(役員等の職務)

第21条 当法人の役員等の職務は次のとおりとする。

- (1) 理事長は、法令及び本定款で定めるところにより、当法人を代表し、業務の執行を統括する。
- (2) 副理事長は、理事長を補佐し、理事長が事故その他の事由により職務を執行できないときはその職務を代行する。
- (3) 常務理事は、理事会において別に定めるところにより、当法人の業務を分担執行する。

(4) 理事は、理事会を構成し、法令及び本定款で定めるところにより、当法人の業務を執行する。

(理事の資格)

第22条 当法人の理事は、当法人の社員又は会員若しくはその関係者の中から選任する。ただし、必要があるときは、上記以外の者から選任することができる。

(理事及び監事の選任の方法)

第23条 当法人の理事及び監事の選任は、社員総会において総社員の議決権の過半数を有する社員が出席し、出席した当該社員の議決権の過半数をもって行う。

2 副理事長及び常務理事の選任規程は別に定める。

(代表理事)

第24条 当法人に理事長1人を置き、理事会において理事の過半数をもって選定する。

2 理事長は、法人法上の代表理事とする。

3 理事長は、当法人を代表し会務を総理する。

4 他の理事は理事長を補佐し、理事長に事故があるときは、理事長があらかじめ理事会の承認を得て定めた順位に従いその職務を代行し、理事長が欠けたときはその職務を行う。

(理事及び監事の任期)

第25条 理事及び監事の任期は、選任後2年以内に終了する事業年度のうち最終のものに関する定時社員総会の終結の時までとする。

2 任期満了前に退任した理事又は監事の補欠として選任された者の任期は、前任者の任期の残存期間と同一とする。

3 増員により選任された理事の任期は、他の在任理事の任期の残存期間と同一とする。

(報酬等)

第26条 理事及び監事の報酬、賞与その他の職務執行の対価として当法人から受け取る財産上の利益は、社員総会の決議によって定める。

(監事の職務及び権限)

第27条 監事は、理事の職務の執行及び会計を監査し、法令の定めるところにより、監査報告を作成する。

2 監事は理事に対して、いつでも事業の報告を求め、当法人の業務及び財産の状況を調査することができる。

第5章 理事会

(招集)

第28条 当法人の理事会は、年2回招集し、臨時理事会は、必要に応じて招集する。

2 理事会は、理事長がこれを招集し、会日の1週間前までに各理事及び各監事に対して招集の通知を發するものとする。ただし、緊急の場合にはこれを短縮することができる。

3 理事長に事故若しくは支障があるときは、副理事長がこれを招集する。

(招集手続の省略)

第29条 理事会は、理事及び監事の全員の同意があるときは、招集手続を経ずに開催することができる。

(議長)

第30条 理事会の議長は、理事長がこれに当たる。ただし、理事長に事故若しくは支障があるときは、副理事長がこれに代わるものとする。

(理事会の決議)

第31条 理事会の決議は、法令又は定款に別段の定めがある場合を除き、議決に加わることができる理事の過半数が出席し、その過半数をもって行う。

(理事会の決議の省略)

第32条 理事が理事会の決議の目的である事項について提案をした場合において、当該提案につき議決に加わることができる理事の全員が書面又は電磁的記録により同意の意思表示をしたとき（監事が当該提案に異議を述べた場合を除く。）は、当該提案を可決する旨の理事会の決議があったものとみなす。

(職務の執行状況の報告)

第33条 理事長は、自己の職務の執行の状況を理事会に報告するものとする。

(理事会議事録)

第34条 理事会の議事については、法令に定める事項を記載した議事録を作成し、出席した代表理事（代表理事に事故若しくは支障があるときは議長たる副理事長）及び監事がこれに署名又は記名押印し、10年間主たる事務所に備え置くものとする。

第6章 会 計

(事業年度)

第35条 当法人の事業年度は、毎年8月1日から翌年7月31日までとする。

(計算書類等の定時社員総会への提出等)

第36条 理事長は、毎事業年度、法人法第124条第1項の監査を受け、かつ同条第3項の理事会の承認を受けた計算書類（貸借対照表及び損益計算書）及び事業報告書を定時社員総会に提出しなければならない。

2 前項の場合、計算書類については社員総会の承認を受け、事業報告書については理事がその内容を定時社員総会に報告しなければならない。

(計算書類等の備置き)

第37条 当法人は、各事業年度に係る貸借対照表、損益計算書及び事業報告書並びにこれらの附属明細書（監事の監査報告書を含む。）を、定時社員総会の日から2週間前の日から5年間、主たる事務所に備え置くものとする。

(剰余金の不配当)

第38条 当法人は、剰余金の配当はしないものとする。

第7章 解散及び清算

(解散の事由)

第39条 当法人は、社員総会の決議その他法令で定められた事由により解散するものとする。

(残余財産の帰属)

第40条 当法人が清算をする場合において有する残余財産は、社員総会の決議を経て、公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律第5条第17号に掲げる法人又は国若しくは地方公共団体に贈与するものとする。

第8章 附 則

(設立時社員の氏名及び住所)

第41条 当法人の設立時社員の氏名及び住所は、次のとおりである。

神戸市	塩 谷 雅 英
神戸市	森 本 義 晴
岐阜県大垣市	古 井 憲 司

(設立時役員)

第42条 当法人の設立時理事、設立時監事及び設立時代表理事は、次のとおりとする。

設立時理事	塩 谷 雅 英
設立時理事	古 井 憲 司
設立時理事	石 川 元 春
設立時理事	沖 津 撰
設立時理事	藏 本 武 志
設立時理事	高見澤 聡
設立時理事	詠 田 由 美
設立時理事	福 田 愛 作
設立時理事	細 井 美 彦
設立時理事	向 田 哲 規
設立時理事	山 下 正 紀
設立時理事	吉 田 淳
設立時理事	吉 田 仁 秋
設立時代表理事	塩 谷 雅 英
設立時監事	森 本 義 晴
設立時監事	久 保 春 海

(最初の事業年度)

第43条 当法人の最初の事業年度は、当法人成立の日から平成29年7月31日までとする。

(定款に定めのない事項)

第44条 この定款に定めのない事項については、すべて法人法その他の法令の定めるところによる。

上記は当法人の定款に相違ありません。

一般社団法人日本 IVF 学会
代表理事 塩 谷 雅 英

令和4年4月1日 改訂

一般社団法人 日本IVF学会 役員

Japan Society of Assisted Reproduction

- 理事長 塩谷 雅英 (英ウイメンズクリニック 理事長)
- 副理事長 大須賀 稔 (東京大学 産婦人科学 教授)
古井 憲司 (クリニックママ 理事長)
- 常務理事 石川 元春 (いしかわクリニック 理事長)
岩瀬 明 (群馬大学大学院 医学系研究科 産科・婦人科学 教授)
岡田 英孝 (関西医科大学 産婦人科 教授)
沖津 摂 (楠原ウイメンズクリニック 培養室 培養部長)
梶山 広明 (名古屋大学大学院医学系研究科 産婦人科学 教授)
加藤 恵一 (加藤レディースクリニック 院長)
蔵本 武志 (蔵本ウイメンズクリニック 理事長)
柴原 浩章 (兵庫医科大学医学部 産科婦人科学 主任教授)
杉山 カー (杉山産婦人科 理事長)
高見澤 聡 (杉山産婦人科 新宿 副院長)
徳永 義光 (空の森クリニック 理事長)
中岡 義晴 (IVFなんばクリニック 院長)
詠田 由美 (アイブイエフ詠田クリニック 理事長・院長)
福田 愛作 (IVF大阪クリニック 院長)
細井 美彦 (近畿大学 学長)
向田 哲規 (広島HARTクリニック 理事長・院長)
村上 節 (滋賀医科大学 産科学婦人科学講座 教授)
山下 正紀 (山下レディースクリニック 院長)
吉田 淳 (木場公園クリニック 理事長・院長)
吉田 仁秋 (仙台ARTクリニック 理事長)
渡辺 浩彦 (醍醐渡辺クリニック 院長)
- 理事 浅田 義正 (浅田レディースクリニック 理事長)
東口 篤司 (札幌エンドメトリウムリサーチ 代表)
安藤 寿夫 (豊橋市民病院 総合生殖医療センター センター長)
岩崎 利郎 (英ウイメンズクリニック 研究開発部長・東京農工大学名誉教授)
大谷 徹郎 (にしたんARTクリニック神戸三宮院)
岡本 純英 (ART岡本ウーマンズクリニック 理事長・院長)
河村 寿宏 (田園都市レディースクリニック 理事長・院長)
北脇 城 (前 京都府立医科大学 産婦人科学教室 教授)
古賀 文敏 (古賀文敏ウイメンズクリニック 理事長・院長)
鈴木 直 (聖マリアンナ医科大学 産婦人科学 主任教授)
竹内 一浩 (竹内レディースクリニック 理事長・院長)
竹下 直樹 (竹下医院 (前 東邦大学医療センター佐倉病院 臨床遺伝診療センター 教授))
中山 貴弘 (足立病院 生殖内分泌医療センター長)
榎原 久司 (大分大学医学部 産科婦人科学 特任教授・名誉教授)
西村 満 (西村ウイメンズクリニック 理事長・院長)
藤原 敏博 (フェニックスアートクリニック 院長)
藤原 浩 (金沢大学 医薬保健研究域医学系 産科婦人科学教室 教授)
松田 和洋 (松田ウイメンズクリニック 理事長・院長)
三谷 匡 (近畿大学 生物理工学部 遺伝子工学科 学科長・教授)
矢野 浩史 (矢野産婦人科 理事長・院長)
- 監事 久保 春海 (東邦大学 名誉教授/日本不妊予防協会 理事長)
森本 義晴 (HORACグランフロント大阪クリニック 院長/ IVF JAPAN CEO)

(50音順)

- 事務局 〒226-0003 神奈川県横浜市緑区鴨居6-19-20 株式会社ヒューマンリプロ・K 内
TEL: 045-620-7560 FAX: 045-620-7563 E-mail: info@ivf-et.net

(2022年11月1日改訂)

編集委員会

- 編集委員長 柴原 浩章 (兵庫医科大学医学部産科婦人科)

- 副編集委員長 岩佐 武 (徳島大学医学部産婦人科)
沖津 摂 (楠原ウイメンズクリニック)
竹下 直樹 (竹下医院)

- 編集委員 木村 直子 (山形大学農学部)
熊谷 仁 (京野アートクリニック盛岡)
黒田 恵司 (杉山産婦人科 丸の内)
竹内 一浩 (竹内レディースクリニック)
千葉 公嗣 (神戸大学泌尿器科)
鍋田 基生 (つばきウイメンズクリニック)
平山 史朗 (東京HARTクリニック)
藤ノ木 政勝 (獨協医科大学 実験動物センター)
古橋 孝祐 (英ウイメンズクリニック)
山谷 文乃 (兵庫医科大学医学部産科婦人科)
脇本 裕 (兵庫医科大学医学部産科婦人科)

(50音順)

- 編集委員会事務局 〒226-0003 神奈川県横浜市緑区鴨居6-19-20 株式会社ヒューマンリプロ・K 内

(2023年6月1日改訂)

-
- 発行責任者 理事長 塩谷 雅英

発行日：2024年4月30日 制作：株式会社デュナミス
発行者：一般社団法人 日本IVF学会 印刷所：株式会社イーステージ



日本IVF学会雑誌

Vol.27 No.1

www.jsar.or.jp
