

ISSN 1881-9028

# 日本IVF学会雑誌

Vol.27 No.2

2024

JSAR

Japan Society of Assisted Reproduction



# 本日のRACCO教室

(今回もぜひ試験にできます!)

ラッコ  
ART 605

トータルコーディネーター  
スターターパック発表!

## 新発表

本当に必要な機能から手軽に

**605**パック価格で手軽に  
不妊治療施設のIT化をはじめ  
取りがなからちようで!

<これまでの目が割れな原因>

☞ システム化したけれど何かを手を付けたら良いかわからなから全体をコーディネートして欲しい。

☞ RACCOでかき電カルがあるらしいけれど「あくまで」では激烈高額らしいよ。

<目を打ち割るための処方箋>

まずは弊社が長年の経験と実績をもとに厳選し診療で本当に必要な機能をパック化した  
手軽にIT化がスタートできるごみ込み605万円(税込665.5万円)を処方いたします。

### 処方箋

(この処方箋はどのラッコ生息地でも有効です)



Rp. 電子カルテ / 不妊治療管理システム / 日し導入(ORCA) / 超音波画像取込 / ホルモン検査データ連携 /  
サーバー機器 / 端末PC x 6 / FMライセンス x 5 / プリンタ等のL1つ付の周辺機器 / 素敵は笑顔と目  
もちろ将来的や最初からWeb診療予約やフルパッケージ化への拡張導入も可能!

1パック  
分1 はじめての導入時に 1回分

※疑義照会はお気軽に弊社にデモンストレーションをご下命ください。

品番: RACCO/ART605TCSP



ご訪問またはZoom遠隔にて  
デモンストレーションが可能

**FAX.03-3555-0887**

## ROAD

### システムロード株式会社

〒104-0033 東京都中央区新川1-3-3 グリーンオーク茅場町  
Tel.03-3553-9812 拠点: 東京本社・名古屋・大阪・広島・福岡  
Mail.racco@road.co.jp <https://www.road.co.jp/>

施設名				
住所	〒	—	都道 府県	
連絡先	フリガナ	御担当者様	電話	
			メール	
御希望	<input type="checkbox"/> ART605トータルコーディネータースターターパック <input type="checkbox"/> 産科施設向け産科パッケージ(入院対応版) <input type="checkbox"/> 記録道ネット(Web予約・Web問診・UMIN支援ツール等)			特記欄 (御希望される御連絡方法など)

## 特別企画：顕微授精 ～細部へのこだわり～

序文 .....	3
	沖津 撰 楠原ウイメンズクリニック培養室長
— 総説 —	
ICSIにおける卵母細胞の変性回避と膜修復機構 .....	4
	水野 康平, 沖津 撰, 五島 まこ, 楠原 淳子, 吉田 昌弘, 楠原 浩二 楠原ウイメンズクリニック
— 総説 —	
Piezo-ICSIにおける最適な穿刺位置を特定するリアルタイム画像解析システムの開発と その臨床的有用性について .....	10
	前川 朋広, 森本 高史 リプロダクションクリニック東京
— 総説 —	
卵細胞膜を穿破しない顕微授精法～精子と卵子の融合因子～ .....	15
	島山 将太, 黄木 詩麗, 矢内原 敦 矢内原ウイメンズクリニック

## 特別企画：ARTに関わるマイクロバイオーーム

序文 .....	22
	鍋田 基生 つばきウイメンズクリニック
— 総説 —	
ARTに関わるマイクロバイオーーム .....	23
	高田 和秀 <sup>1</sup> , 竹田 善紀 <sup>1,2</sup> , 相澤 (小峯) 志保子 <sup>1</sup> <sup>1</sup> 日本大学医学部 病態病理学系微生物学分野, <sup>2</sup> 奈良県立医科大学 産婦人科
— 総説 —	
ARTに関わるマイクロバイオーーム～子宮内細菌叢の着床への影響～ .....	28
	門上 大祐 <sup>1,2</sup> , 中岡 義晴 <sup>1</sup> , 村上 節 <sup>2</sup> , 森本 義晴 <sup>3</sup> <sup>1</sup> IVF なんばクリニック, <sup>2</sup> 滋賀医科大学大学院 産科学婦人科学講座, <sup>3</sup> HORAC グランフロント大阪クリニック
— 総説 —	
子宮内細菌叢異常と着床障害 .....	35
	平塚 大輝, 廣田 泰 東京大学医学部附属病院 女性診療科・産科

## 論文

### —原著—

卵巣予備能著明低下症例に対する Platelet-Derived Factor Concentrate Freeze Dry (PFC-FD) 卵巣注入療法の治療成績の検討 .....	43
山下 衣里子 <sup>1</sup> , 加来 翔志 <sup>2</sup> , 鳥濱 朝子 <sup>1</sup> , 福田 美里 <sup>1</sup> , 太田 浩子 <sup>1</sup> , 伊東 希望 <sup>1</sup> , 勝下 芽衣 <sup>2</sup> , 齋藤 穂華 <sup>2</sup> , 住田 由香理 <sup>2</sup> , 中田 雄太 <sup>2</sup> , 熊谷 晶子 <sup>2</sup> , 木戸 健陽 <sup>1,2</sup> , 澤野 祥三 <sup>1</sup> , 中村 公彦 <sup>1,2</sup> <small><sup>1</sup> 天の川レディースクリニック, <sup>2</sup> 天の川レディースクリニックひらかた院</small>	

### —原著—

ART における調整卵巣刺激法に progestin primed ovarian stimulation を行った際の FSH 製剤ホリトロピンドeltaとホリトロピンアルファの使用比較 .....	50
岡本 恵理, 江夏 徳寿, 山田 弘次, 山田 愛, 林 奈央, 山田 聡, 水澤 友利, 江夏 国宏, 柴原 浩章, 苔口 昭次, 塩谷 雅英 <small>英ウィメンズクリニック</small>	

### —総説—

閉塞性無精子症に対する治療戦略 .....	57
谷口 久哲 <small>関西医科大学附属病院腎泌尿器外科</small>	

### —総説—

非閉塞性無精子症に対する治療戦略の現状と今後の展望 .....	62
岩月 正一郎 <sup>1</sup> , 梅本 幸裕 <sup>2,3</sup> , 武田 知樹 <sup>1</sup> , 角田 菜緒 <sup>3</sup> , 夏目 明子 <sup>3</sup> , 北舘 祐 <sup>3</sup> , 安井 孝周 <sup>1</sup> <small><sup>1</sup> 名古屋市立大学大学院医学研究科 腎・泌尿器科学分野, <sup>2</sup> 名古屋市立大学医学部附属西部医療センター 泌尿器科, <sup>3</sup> 名古屋市立大学医学部附属西部医療センター 生殖医療センター</small>	

### —参加報告—

The 13th Congress of ASPIRE 2024 in Manila 学会報告 .....	69
黒田 恵司 <small>杉山産婦人科丸の内</small>	

### —参加報告—

ESHRE2024 レポート .....	70
中川 浩次 <small>杉山産婦人科新宿</small>	

# 特別企画 「顕微授精 ～細部へのこだわり～」

## 序 文

沖津 撰

楠原ウイメンズクリニック 培養室長

ARTへ公的保険制度が適用され、そこには胚培養士が行う技術も含まれている。そしてその結果は各患者さんの人生を大きく左右するのでその責任は重大だが、実施した行為の結果が明確な数字として表れるので自身の成長を実感しやすく、大きなやりがいを感じることも出来る。中でも顕微授精は細やかな技の集合体で、ピペットの取り付け、精子の選択、不動化処理、透明帯通過、原形質膜穿破、精子注入の各工程を高精度かつ素早く実施する必要がある。最近ではヒアルロン酸結合精子を用いた精子選別法(PICSI)や強拡大下での精子選別法(IMSI)、メッシュを用いた精子選別(Zymot)、Piezo ICSIなど、顕微授精に関連した様々なアドオンが登場し、効果検証が行われている。

ICSIにおいてより高い成果を上げるためには学術的に裏付けされた細部へのこだわりを持つことが望まれる。特に高齢症例や卵巣機能低下症例など、少数の卵母細胞しか採取できないようなケースでは確実に正常受精させることが期待され、逆に卵母細胞の変性だけはどうあっても回避したいと多くの胚培養士は考えるはずである。

今回の特別企画では、テーマを「顕微授精 ～細部へのこだわり～」として、特に精子注入時に卵母細胞の変性を回避するための取り組みについて3名の著者に情報提供をお願いした。高度な画像解析によって卵母細胞の低伸長部位を避け、最適な穿刺部位を特定するリアルタイム画像解析システム構築、高浸透圧で粘性のあるPVPを用いた精子注入後の変性回避方法、そもそも原形質膜の穿破自体を回避した顕微授精法について、メカニズムや現時点における成果、将来展望について情報提供をお願いした。本特別企画が当学会会員の多くの胚培養士の専門知識と技術の向上に寄与できることを強く望みます。

## ICSIにおける卵母細胞の変性回避と膜修復機構

Preventing oolemma degeneration by ICSI and plasma membrane repair mechanisms

水野 康平, 沖津 撰, 五島 まこ, 楠原 淳子, 吉田 昌弘, 楠原 浩二

Kohei Mizuno, Osamu Okitsu, Mako Goto, Atsuko Kusahara, Masahiro Yoshida, Koji Kusahara

楠原ウイメンズクリニック 〒104-0061 東京都中央区銀座 5-6-2 銀座七宝ビル 6F  
Kusahara women's clinic

**要旨：** C-ICSIは透明帯を穿刺する際に原形質膜が同時に破膜するリスクがある。この侵襲的手順により卵母細胞は損傷を受けやすく、変性する可能性が高くなる。一方でPiezo-ICSIはピエゾパルスで透明帯を破膜できるため侵襲性が低い。そのため受精率が高く変性率が低いことが報告されており、近年Piezo-ICSIは国内外で広く普及しつつある。ICSIにおいて卵母細胞の原形質膜の性質には高伸展と低伸展があり、その伸展性の違いによって変性率が異なる。ICSI時の変性回避は受精率の向上に寄与し、良質な胚の増加につながる重要な課題であり、今後の研究が期待される。

本稿では、現在までに報告されているICSIにおける変性回避例を紹介したうえで、動物細胞における膜修復機構について概説するとともに、著者らによって提唱されたICSI時の膜修復機構について述べる。

キーワード：原形質膜, 変性回避, 膜修復機構, C-ICSI, Piezo-ICSI

ランニングヘッド：ICSIにおける卵母細胞の変性回避

**英文要旨：** C-ICSI involves the risk of simultaneously rupturing the plasma membrane when penetrating the zona pellucida. This invasive procedure makes oocytes more fragile and increases the risk of oocyte degeneration. Conversely, Piezo-ICSI is less invasive to oocytes as the zona pellucida can be penetrated using piezo-pulses. Therefore, Piezo-ICSI has been reported to have a higher fertilization rate and lower degeneration rate. Consequently, Piezo-ICSI has become a widely used procedure worldwide. There are two modes of rupture of the oocyte plasma membrane in ICSI: higher stretching and lower stretching. The rate of degeneration differs depending on the stretchability of each oocyte. Preventing degeneration during ICSI contributes to improved fertilization rates and is a critical theme leading to an increase in high-quality embryos. Consequently, further research in this area is highly anticipated, as it holds the potential to improve the outcomes of assisted reproductive technologies.

This chapter introduces cases of degeneration avoidance in ICSI reported to date and provides an overview of membrane repair mechanisms in animal cells. It also discusses the membrane repair mechanisms during ICSI proposed by the authors.

キーワード：C-ICSI, Piezo-ICSI, plasma membrane, preventing degeneration, the plasma membrane repair mechanisms

### Conventional-ICSI vs Piezo-ICSI

Conventional-ICSI (C-ICSI) は先端の鋭利なインジェクションピペットで透明帯を押し進めながら貫通させるが、その際に原形質膜も同時に破膜するリスクがある。この侵襲的手順により卵母細胞は損傷を受けやすく

なり、それによって細胞質の構造が損傷または失われる可能性もある<sup>1)</sup>。

一方でPiezo-assisted ICSI (Piezo-ICSI) は先端が平坦なインジェクションピペットを用いてピエゾパルスで透明帯を破膜することができる為、卵母細胞に対する侵襲性が低い。また、Piezo-ICSIはC-ICSIと比較

して受精率が高く、卵母細胞の変性率が低いことが報告されている<sup>2-5)</sup>。日本臨床エンブリオロジスト学会の調査によると国内施設のPiezo-ICSIの導入率は回答した85施設中43施設(50.6%)、全例Piezo-ICSIをしていると回答した施設は25施設(29.4%)であった<sup>6)</sup>。2010年代初頭まではPiezo-ICSIの有効性を述べた報告は国内のみ<sup>2-5,7,8)</sup>だったが、近年海外からも報告されている<sup>9-11)</sup>。

### 原形質膜の伸展性の違いによる変性率

ICSIにおいてインジェクションピペットが卵母細胞の原形質膜を破膜する様式は2つある。一つは原形質膜が十分に伸展されてから破膜する高伸展型と、もう一つは十分に伸展される前に原形質膜が破膜する低伸展型(以下、異常破膜)である。前者は原形質膜が十分に伸展されているので速やかに膜修復が行われ、変性することはほとんどないが、後者では変性リスクは高まる。とくに異常破膜の中でも卵母細胞直径の50%よりも手前で破膜した場合、変性率は高くなることが知られている<sup>12)</sup>。

### ICSIにおける変性回避報告例

ICSIにおいて変性を回避する方法はこれまでに多くの施設で報告されている(以下順不同)。

#### ①画像解析を用いた最適な穿刺位置を特定するシステム<sup>13)</sup>

画像解析を用いて卵細胞膜の形状を可視化し、破膜が起きやすい位置を識別することができる原理と蓄積された画像データに基づき、モニタ上に破膜が起きやすい位置を表示するシステムICSI POSITION DETECTOR (IPD)を開発した。

破膜の可能性が低いと識別された位置はICSIの方法によらず変性率が低く、受精率が高く、Piezo-ICSIでは胚発生も良好であった。IPDによる卵細胞膜形状の可視化は、ICSI時の意図しない破膜を回避できる可能性があり、より多くの良好胚獲得に寄与すると考えられた。

#### ②膜の破膜方法の違いによる方法<sup>14)</sup>

Piezo-ICSIにおいて細胞膜の破膜方法の違いが受精率と変性率に与える影響を調べた。以下の3つの方法、①1回パルス法(卵子直径の70%程度まで押し進め1回パルスをかけ破破)、②3回パルス法(卵子直径の70%程度まで押し進め1回目のパルスをかけ破破後、80%程度で2回目、さらに90%程度で3回目のパルスをかけて精子を注入する)、③細胞膜伸展穿刺法(卵子

直径の90%程度まで押し進め1回パルスをかけて細胞膜を穿破)の比較を行った。正常受精率、変性率に有意差は認められなかった。異常破膜卵に対して1回パルス法(破膜位置で精子を注入)、細胞膜伸展穿刺法(破膜位置に関わらず90%の位置で精子を注入)で比較したところ、変性率において細胞膜伸展穿刺法において低い傾向が認められた。

卵子の変性率を低下させるには、細胞膜を十分に伸展させて、異常破膜が起こっても破膜位置より奥に精子を注入することが有効であり、細胞膜伸展穿刺法が優れた穿刺法あることが示唆された。

#### ③精子注入位置の検討<sup>15)</sup>

Piezo-ICSIで異常破膜を認めた卵子において卵子直径40%未満と40%以上の2群に分け、精子注入位置の方法別(①破膜位置に注入、②破膜位置よりも針を卵子80-90%の位置まで押し進めて刺入の対側に注入)に変性率と受精率を算出した。方法②は方法①と比較して2群とも変性率を有意に低下させ、受精率を有意に上昇させた。破膜位置に関わらず刺入の対側に精子を注入する方法は変性率を低下させる有効な方法であることが示唆された。

#### ④反対方向から穿刺する方法<sup>16)</sup>

Conventional-ICSIにおいて伸展せず穿破を確認した時点で吸引せずneedleを抜去し、反対方向から再穿刺を試みた方法である。従来法と比較して受精率が有意に高く、変性率が有意に低くなった。再穿刺による発育の影響は認めなかった。

#### ⑤ICSI時のDish至適温度について<sup>17,18)</sup>

報告例1<sup>17)</sup>: Piezo-ICSI時の倒立顕微鏡プレート温度がICSIの変性率、発生能に影響するかを後方視的に検討した。38.5°C、37.0°C、36.0°Cの3群比較を行い38.5°C群のICSI後の変性率は37.0°C、36.0°Cと比較して有意に高かった。良好胚盤胞到達率、妊娠率、流産率は有意差を認めなかった。36.0°C、37.0°CはICSIにおける至適設定温度帯と思われた。

報告例2<sup>18)</sup>: Piezo ICSI施行時のヒートプレート温度の違いが受精および培養成績に与える影響を検討した。37°Cと28°Cの2群比較を行い、正常受精率は有意差を認めなかった。胚盤胞到達率、胚利用率は28°C群で高い傾向にあり、変性率は28°C群で低い傾向にあった。ヒートプレート温度を下げることで細胞質の流動性が低下し、細胞質の流出が起こる前に細胞膜修復が行われたことで穿刺時の卵への侵襲性が軽減され変性率の低下および受精後の胚発生の向上に寄与したものと考えられる。

## ⑥ PVP曝露法<sup>19)</sup>

ICSIにおける変性の多くの原因は異常破膜であることが知られている。異常破膜時における新たな変性回避方法について検討した。異常破膜時に破膜位置で直ちに精子を注入し、インジェクションピペットを抜去後、卵母細胞全体にPVPを曝露し10分静置させた。すると培養液の浸透圧が上がり原形質膜の膜張力が低下することで膜修復が促進されると考えられる。異常破膜した卵母細胞をPVP曝露群とコントロール群に分け、受精率、変性率、胚発生、妊娠予後について比較した。

PVP曝露群の変性率はコントロール群と比較して有意に低くなった。その後の胚発生、妊娠率、生産率、胎児異常率に有意差を認めなかった。異常破膜後直ちに卵母細胞にPVPを曝露することは変性回避策として有効な方法であることが示された。

## 原形質膜修復機構

動物細胞における原形質膜の修復機構はFacilitated resealingとPatch hypothesisという2種類の仮説が提唱されている<sup>20-22)</sup>(図1)。

ヒトの卵母細胞の場合にも同様の機構が存在していると思われる。原形質膜の修復には適当な濃度の $\text{Ca}^{2+}$ (1~5mM)が必要であり、通常の培養液中で操作する限りは問題がない。 $\text{Ca}^{2+}$ 非含有培養液でICSIを行うと多くの場合、変性する<sup>22)</sup>。

### Facilitated resealing

生理学的条件下で原形質膜は自己修復能力を持たないが、損傷部位が直径 $1\mu\text{m}$ 程度の微小な損傷が起きた際には、損傷部位のリン脂質疎水性ドメインがエネルギー的に不安定になる為、そこを被覆するように直ちに膜修復が起こる。このとき、原形質膜のリン脂質頭部とその下にある細胞骨格は接着しており、損傷部位を広げようとする「膜張力(Membrane tension)」が働いてい

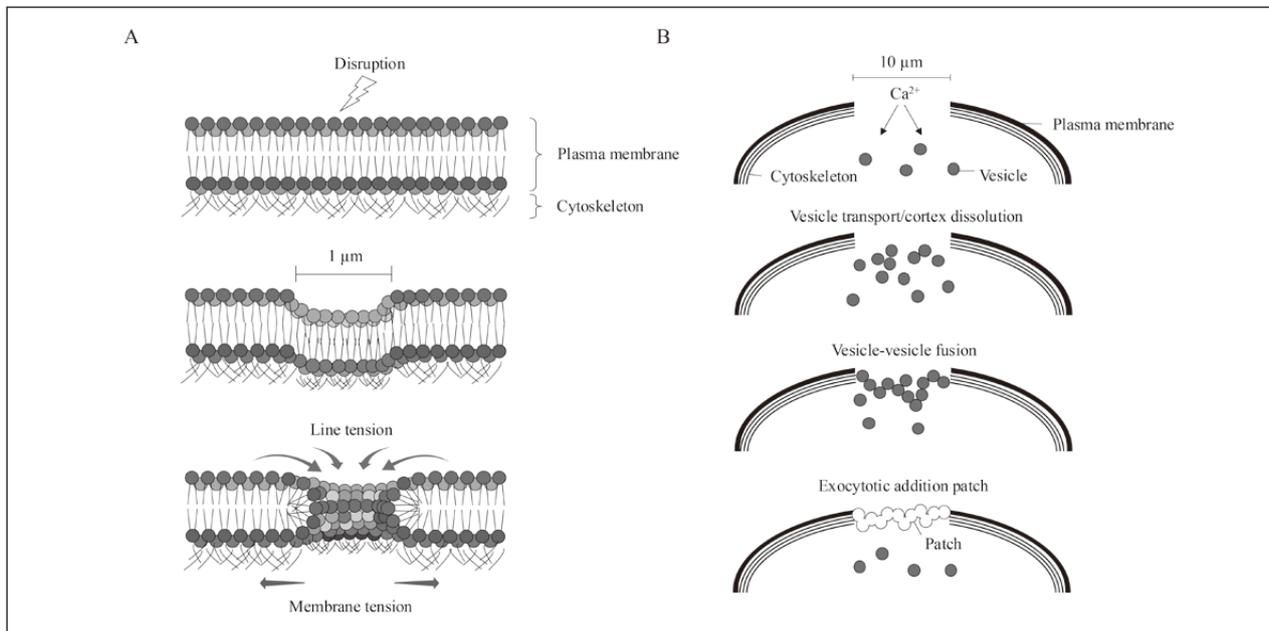


図1 動物細胞における原形質膜の修復機構<sup>21,22)</sup>を基に一部改変

#### A: Facilitated resealing

直径 $1\mu\text{m}$ 程度の損傷が起きると、損傷部位のリン脂質疎水性ドメインがエネルギー的に不安定になる。このとき、原形質膜のリン脂質頭部とその下にある細胞骨格は接着しているため膜張力(membrane tension)が働く。一方、損傷部位の縁では線張力(line tension)が働いている。膜張力は $\text{Ca}^{2+}$ の流入によって開始されるエキソサイトーシスによって低下し、線張力が上回るため膜修復が行われる。

#### B: Patch hypothesis

直径 $10\mu\text{m}$ 以上の大きな損傷が起きると、損傷部位から $\text{Ca}^{2+}$ が流入し、それに誘導されて小胞(vesicle)が相互に融合する。さらにそれらがPatchを形成する。そして損傷部位を被覆するような形で損傷部位近隣の原形質膜と融合して修復が完了し、原形質膜の連続性が回復する。

る<sup>20, 21)</sup> (図1A)。一方、損傷部位の縁ではリン脂質が再配列する必要があるときに生じる「線張力 (Line tension)」が働いており、損傷部位を閉じようとする力が働いている<sup>24)</sup>。したがって、膜張力を減少させることができれば、線張力による膜修復を促進できる。膜張力はCa<sup>2+</sup>の流入によって開始されるエキソサイトーシスによって低下することがわかっているが、どのようにして膜張力の低下につながるのかは明らかになっていない。

### Patch hypothesis

直径10μm以上の大きな損傷が生じた場合には膜張力が線張力を大幅に上回るため、Facilitated resealingでは修復が不可能となる。この場合には損傷部位からCa<sup>2+</sup>が流入し、それに誘導されて小胞体が相互に融合する。さらにそれらがPatch vesicleと呼ばれる集合体を形成する。そして損傷部位を被覆するような形で損傷部位近隣の原形質膜と融合して修復が完了し、原形質膜の連続性が回復する<sup>20-22)</sup> (図1B)。

### ICSI における膜修復機構

ヒトにおけるICSIの場合、使用するインジェクションピペットの内径は4～4.5μm程度であり、損傷部位は12～15μm<sup>2</sup>と大きな損傷であると予測される。しかし、

実際のICSIは十分に細胞深部に原形質膜が押し込まれたのちに破膜が起こることを考慮すると、Facilitated resealingが機能すると考えられる。十分な伸展後の破膜は、伸展した原形質膜が元の場所に戻る方向に膜張力が働き、Ca<sup>2+</sup>の流入によってエキソサイトーシスが誘導され、膜張力は低下する。その結果線張力が上回るため、直ちに修復が起こると考えられる(図2)。

一方で、異常破膜した場合、インジェクションピペットが奥まで押し込まれる前に破膜しているため開口部は広いと予測される。この場合Facilitated resealingでは困難であり、Patch hypothesisが機能すると考えられる(図3)。また、膜張力が損傷部位を広げる方向により強く働き、線張力を上回ると考えられるので、修復が追い付かず大半の場合変性してしまう。

### 卵母細胞変性回避に有効と思われる物質

上述した変性回避方法以外にも卵母細胞の変性回避に有効と思われる物質として以下が考えられる。

#### ①カルシウムイオノフォア

Ca<sup>2+</sup> ionophore処理により卵母細胞は表層反応(cortical reaction)を引き起こし、表層顆粒が開裂する。その結果、原形質膜の膜張力が低下し伸展性が上昇する。

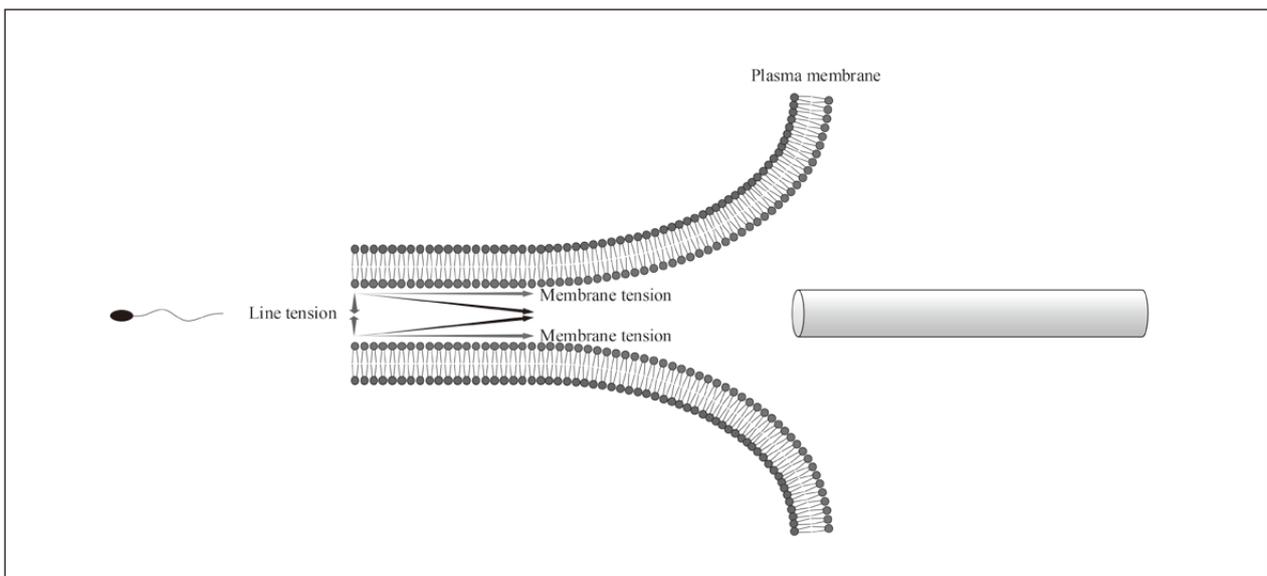


図2 ヒトICSIにおける十分な伸展後に破膜した場合の膜修復機構

原形質膜が細胞深部に十分に押し込まれたのちに破膜が起こるため、伸展した原形質膜が元の場所に戻る方向に膜張力が働くと考えられる。そしてCa<sup>2+</sup>の流入によってエキソサイトーシスが誘導され、膜張力は低下し、線張力が上回るため、直ちに修復が起こると考えられる。

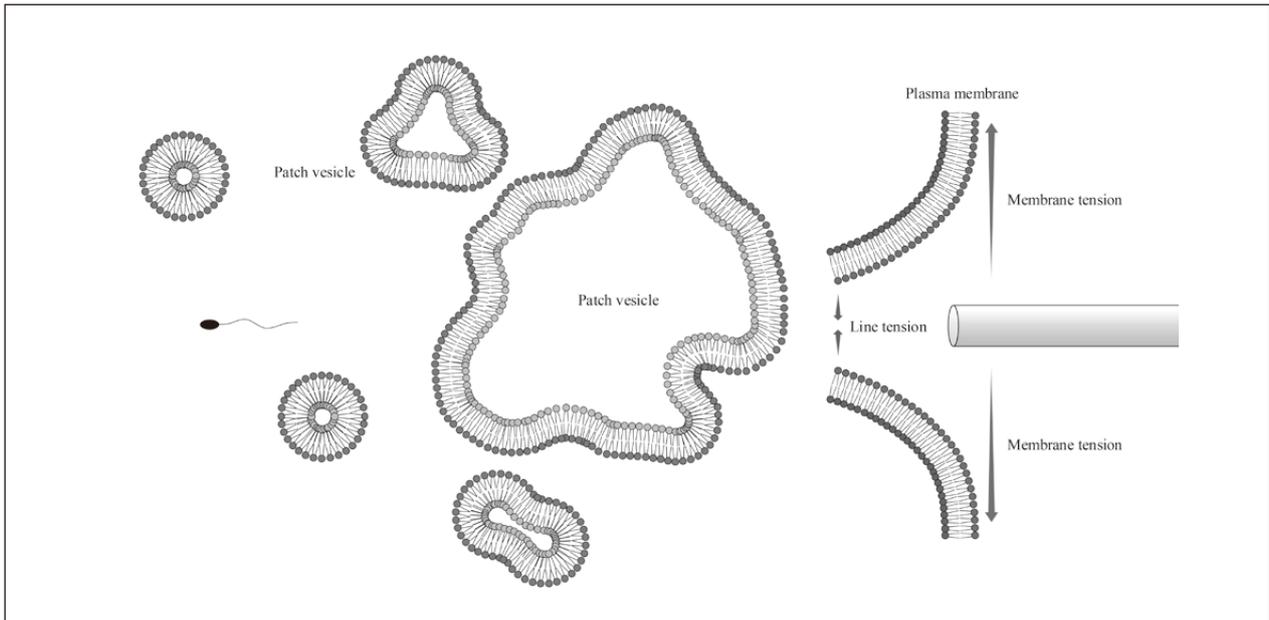


図3 ヒト ICSI における異常破膜した場合の膜修復機構

異常破膜した場合、開口部は広くなる。膜張力が損傷部位を広げる方向により強く働き、線張力を上回ると考えられるので、修復が追いつかず大半の場合変性してしまう。

### ②スクロース

Sucroseにより培養液の浸透圧が上がると卵母細胞は脱水され、収縮して体積が減少する。その結果、原形質膜の膜張力が低下し伸展性が上昇する。

### ③Sperm slow

成熟精子選別の為に用いられるヒアルロン酸ベースの培養液でありPVPの代替品としても用いられる。PVP曝露法と同様の結果が期待できる可能性がある。

### ④界面活性剤

Pluronic F68のような低毒性の非イオン化界面活性剤を用いるとPVP曝露と同様の結果が期待できる可能性がある<sup>25, 26)</sup>。原形質膜を奥まで伸展させて破膜する際、膜の縁で脂質の親水性頭部は無理矢理引き離されてしまうため、くさび型の隙間が出来てしまう。そこに界面活性剤分子が入り込み隙間を埋めることによって、分子間のひずみを緩和し、それに伴って膜張力も低下すると考えられる。しかし、添加後拡散されず細胞内へ留まり、発育に影響がある可能性もあるため慎重に検討する必要がある。

### おわりに

ICSI時の変性を回避することは受精率の増加につな

がり、すなわち凍結保存あるいは移植に利用できる良質な胚が増えるため非常に重要な課題である。

上述したように、ICSIの変性回避には多くの施設が取り組んでいるが、完全に回避することができていないのが現状であり、さらなる検証が必要である。今後に期待したい。

### 謝辞

本論文作成にあたり、ご協力いただいた関係者の方々に感謝申し上げます。

### 参考文献

- 1) Patrizia Rubino, Paola Viganò, Alice Luddi, Paola Piomboni: The ICSI procedure from past to future: a systematic review of the more controversial aspects. Hum Reprod Update, 22: 194-227, 2016.
- 2) Huang T, Kimura Y and Yanagimachi R: The use of piezo micro manipulation for intracytoplasmic sperm injection of human oocytes. J Assist Reprod Genet, 13: 320-328, 1996.
- 3) Yanagida K, Katayose H, Yazawa H, Kimura Y, Konnai K and Sato A: The usefulness of a piezo-micromanipulator in intracytoplasmic sperm injection in humans. Hum Reprod, 14: 448-453, 1999.
- 4) Takeuchi S, Minoura H, Shibahara T, Shen X, Futamura N and Toyoda N: Comparison of piezo-assisted micromanipulation with conventional micromanipulation for

- intracytoplasmic sperm injection into human oocytes. *Gynecol Obstet Invest*, 52: 158-162, 2001.
- 5) Hiraoka K and Kitamura S: Clinical efficiency of Piezo-ICSI using micropipettes with a wall thickness of 0.625 $\mu$ m. *J Assist Reprod Genet*, 32: 1827-1833, 2015.
  - 6) 長瀬祐樹・菊地裕幸・畑景子・水田真平・後藤優介: 複数施設における Conventional-IVF および ICSI の培養成績と融解後生存率および臨床妊娠率に関連する調査. *日本臨床エンブリオロジスト学会雑誌*, 24: 9-17, 2022.
  - 7) Fujii Y, Endo Y, Mitsuhata S, Hayashi M, Motoyama H: Evaluation of the effect of piezo-intracytoplasmic sperm injection on the laboratory, clinical, and neonatal outcomes. *Reprod Med Biol*, 19: 198-205, 2020.
  - 8) Furuhashi K, Saeki Y, Enatsu N, Iwasaki T, Ito K, Mizusawa Y, Matsumoto Y, Koikeguchi S, Shiotani M: Piezo-ICSI improves fertilization and blastocyst development rates compared with conventional ICSI in women aged more than 35 years. *Reprod Med Biol*, 18: 357-361, 2019.
  - 9) Zander-Fox D, Lam K, Pacella-Ince L, Tully C, Hamilton H, Hiraoka K, McPherson NO, Tremellen K: PIEZO-ICSI increases fertilization rates compared with standard ICSI: a prospective cohort study. *Reprod Biomed Online*, 43 (3) : 404-412, 2021.
  - 10) Caddy M, Popkiss S, Weston G, Vollenhoven B, Rombauts L, Green M, Zander-Fox D: PIEZO-ICSI increases fertilization rates compared with conventional ICSI in patients with poor prognosis. *J Assist Reprod Genet*, 40: 389-398, 2023.
  - 11) Zander-Fox D, Green M, Watson K, Turner R, Bakos HW, Foo J, Pacella-Ince L, Caddy M, McPherson NO, Rombauts L: Improved fertilization, degeneration, and embryo quality rates with PIEZO-intracytoplasmic sperm injection compared with conventional intracytoplasmic sperm injection: a sibling oocyte split multicenter trial. *Fertil Steril*, S0015-0282 (24)00031-1, 2024.
  - 12) 阿部礼奈・古橋孝祐・岩崎利郎・伊藤宏一・水澤友利・岡本恵理・荅口昭次・塩谷雅英: Piezo-ICSI 施行時に卵細胞膜の低伸展を認めた卵子の培養成績について. *J Mamm Ova Res*, 38 (1) : S43, 2021.
  - 13) 森本高史・前川朋広・水田真平・松林秀彦・竹内巧・石川智基: ICSI における画像解析による最適な穿刺位置の特定は卵子変性を低減させる上で有用である. 第40回受精着床学会総会・学術講演会抄録集, 139, 2022.
  - 14) Takeda N, Abe A, Suzuki H, Funayama M, Sato Y, Odawara K, Suzuki M, Tanaka K, Mikashima M, Odawara Y: Examination of the utility of different puncture method protocols for Piezo-ICSI. *J Mamm Ova Res*, 36 (2): 107-113, 2019.
  - 15) 齋藤梓・八木亜希子・田中恵美・平山奈美・齋藤美希・川俣美帆・小澤順子・岩見菜々子・水内将人・山本貴寛・渡邊恵理・森若治・神谷博文: 異常破膜卵子のピエゾ ICSI における変性率を低下させる精子注入位置の検討. 第39回日本受精着床学会・学術講演会抄録集, 143, 2021.
  - 16) 今井和美・奥裕嗣・紺谷渚・北川晴香・篠原三佳・貴志瑞季・岡本裕子・金森真希・山口晶子・田中舞弥: ICSI 時卵膜伸展不良でも穿刺方法で変性率は減らせる. *J. Jpn. Soc. Reprod. Med*, 62 (4): 297 (459), 2017.
  - 17) 渡辺真一・松永利恵・見田渉・三浦恵・小林勇毅・山中菜保子・上畑みな子・吉澤ひかり・宮村浩徳・前田知子・牧野弘・越知正憲・藤井多久磨・堀内俊孝: Piezo-ICSI 時の倒立顕微鏡プレート温度は ICSI 後の変性率に影響する. 第36回受精着床学会総会・学術講演会抄録集, 200, 2018.
  - 18) 大村生和子・藤村佳子・加藤喜愛・剣持智恵美・中橋真朗・神沢典子・荒木泰行・志村隆行・久保祐子・佐藤雄一: ヒートプレート温度の違いにおける Piezo-ICSI の受精および培養成績の検討. *J. Jpn. Soc. Reprod. Med*, 65 (4): 246 (394), 2020.
  - 19) Mizuno K, Okitsu O, Goto M, Kusuhara A, Kusuhara K: Polyvinylpyrrolidone can prevent oolemma lysis caused by abnormal rupture of the plasma membrane in Piezo-ICSI. *Hum Cell*, 37: 951-958, 2024.
  - 20) McNeil PL, Kirchhausen T: An emergency response team for membrane repair. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 6: 499-505, 2005.
  - 21) Cooper ST, McNeil PL: Membrane Repair: Mechanisms and Pathophysiology. *Physiol Rev*, 95 (4) : 1205-40, 2015.
  - 22) McNeil PL, Terasaki M: Coping with the inevitable: how cells repair a torn surface membrane. *Nat Cell Biol*, 3 (5) : E124-9, 2001.
  - 23) 柳田薫・佐藤章: ICSI のコツ. *J Mamm Ova Res*, 21: 61-64, 2004.
  - 24) Karatekin E, Sandre O, Guitouni H, Borghi N, Puech PH, Brochard-Wyart F: Cascades of transient pores in giant vesicles: line tension and transport. *Biophys J*, 84: 1734-49, 2003.
  - 25) Togo T, Krasieva TB, Steinhardt RA: A Decrease in Membrane Tension Precedes Successful Cell-Membrane Repair. *Mol Biol Cell*, 11 (12) : 4339-4346, 2000.
  - 26) Clarke MS, McNeil PL: Syringe loading introduces macromolecules into living mammalian cell cytosol. *J Cell Sci*, 102: 533-541, 1992.

# Piezo-ICSI における最適な穿刺位置を特定するリアルタイム画像解析システムの開発とその臨床的有用性について

Development of a real-time image analysis system to identify optimal puncture positions in Piezo-ICSI and its clinical usefulness

前川 朋広, 森本 高史

Tomohiro Maekawa, Takashi Morimoto

リプロダクションクリニック東京 〒105-7103 東京都港区東新橋 1-5-2 汐留シティセンター 3階  
Reproduction Clinic Tokyo

**要旨：** Piezo-ICSIでは、穿刺の過程で卵細胞膜が意図せず破膜した場合に、その後卵子が変性しやすい。適正な穿刺位置を特定することで、破膜とそれに伴う卵子変性の頻度を減らすことができる可能性があるが、目視でその位置を判別することは困難である。我々は、Piezo-ICSI時に、画像解析を用いて卵細胞膜の形状を可視化することで、破膜が起こりやすい位置を識別できることを報告した。この原理に基づき、モニター上に破膜が起こりやすい位置を識別し表示できる画像解析システムICSI Position Detector (IPD)を開発した。IPDが識別した穿刺適正位置からICSIを実施することで、意図しない破膜が起こる頻度を著しく減らせ、それに伴う卵子の変性を低減できる。IPDは治療に使用できる受精卵を一つでも多く獲得することに寄与し、臨床上有用なツールになり得ると考える。

**キーワード：** 画像解析, 意図しない破膜, Piezo-ICSI, 卵子変性

**ランニングヘッド：** ICSIにおける画像解析システムの有用性の検討

**英文要旨：** Unintentional membrane rupture in the puncturing process of Piezo-ICSI often predisposes oocyte degeneration. Identifying the appropriate puncturing position may decrease the likelihood of membrane rupture and thus degeneration, but this cannot be done visually via a microscope. We have reported that visualization of the shape features of the oolemma using an image analysis during Piezo-ICSI can locate areas on the oolemma where membrane rupture is likely to occur. Based on this principle, we have developed an image analysis system called ICSI Position Detector (IPD), which can identify areas where membrane rupture is likely to occur and visualize it on the video monitor in real-time. The IPD to perform ICSI at the appropriate position can significantly avoid unintentional membrane rupture, and thereby reduce oocyte degeneration. We consider IPD to be a clinically useful tool, which contributes to the production of more embryos that can be used for treatment.

**キーワード：** Image analysis, Oocyte degeneration, Piezo-ICSI, Unintentional membrane rupture

## はじめに

1992年にPalermoらによって世界で最初のICSIによる妊娠が報告された<sup>1)</sup>。それ以来、ICSIは生殖補助医療における男性因子不妊症の治療法として最も一般的に使用され、その安定した高い受精率と標準化された技術により、生殖補助医療において必要不可欠となっている。こ

のICSIにおける技術的な問題点として、穿刺時の意図しない卵細胞膜の破膜とそれに伴う卵子の変性が挙げられる。卵子の変性は、細胞の機能が失われ生存していない状態のことを指す。ICSI後に変性する卵子は5～19%の確率で見られ<sup>1)</sup>、変性した殆どの卵子で穿刺時に意図しない破膜がみられる。破膜とは、穿刺の過程における、卵細胞膜の脆弱性などの原因による突然の卵細胞膜の

破裂と定義される<sup>2)</sup>。

近年では、Piezo-ICSI が普及しつつある。Piezo-ICSI は、ピエゾパルスによって半自動的かつ安定的に透明帯と卵細胞膜を穿破することができる。また、先端が平坦なインジェクションピペットを使用し、卵細胞質をピペットに吸引することなく卵細胞膜を穿破できるため、Conventional-ICSI と比較して卵子に対する侵襲性が低く<sup>3)</sup>、受精率の向上、変性率の低下が期待できる<sup>4)</sup>。しかし、Piezo-ICSI を使用しても、穿刺時に意図しない破膜は散見され、その後変性する卵子も存在するのが現状である。

生殖補助医療において、採卵で回収される卵子1個1個が貴重となる。そのため、破膜する可能性を0%に近づけることは、治療成績の向上に寄与できるといえる。

破膜の起こりやすさは卵細胞膜の穿刺位置に依存することが報告されている<sup>5)</sup>。これは、穿刺時に破膜した際、異なる位置に再穿刺すると破膜を回避できるケースが散見されたことから明らかになった。そのため、ICSI を実施する前に破膜が起こりやすい位置を識別することができれば、変性の頻度を低減できる可能性がある。しかし、顕微鏡下でその位置を目視で識別することは困難である。そこで我々は、画像解析技術を駆使して、最適な穿刺位置を特定することができるか検討を行った。

### 画像解析システムの開発

本研究では、画像特徴量の一つであるLocal Binary Pattern (LBP)<sup>6,7)</sup>を用いてICSI時の動画データを解析した。画像特徴量とは、画像解析において色や輝度、輪郭などの画像の特徴を表すのに一般的に用いられる手法であり、その中でもLBPは画像の濃淡の変化に対して頑健であり、高い識別性能を持つ。また、処理速度が速いことから、顔画像認識<sup>8)</sup>など様々な分野で広く応用されており、生殖医療の分野でも卵胞や子宮内膜の超音波

画像の解析<sup>9,10)</sup>に応用されている。LBPは、光量の変化に大きく影響される顕微鏡画像上でも、卵細胞膜の形状特徴を細かく入手することができるため、ICSI時の動画画像解析にも適しているといえる。図1にLBP特徴量の算出方法を示す。3×3画素内の中心画素とその周りの8近傍の画素の輝度値の大きさを比較し、小さければ0、大きければ1をそれぞれの画素に付与する。この値を8桁の2進数として並べ、10進数に変換したものがLBPの値となる。3×3画素の場合は中心画素を除く8画素が2値をとるため、LBPの形状パターンは全部で256通りとなる。

本研究における画像解析の手順を図2に示す。最初に、動画データから穿刺前の画像を取得し(図2 A)、卵細胞膜の円周上20度の範囲で解析領域を決定する(図2 B)。解析領域内の全ての画素においてLBP特徴量を算出した(図2 C)、これを卵子131個のICSI動画データに対して実施し、穿刺時の破膜の有無(破膜なし群101個、破膜あり群30個)で比較して差が大きい形状パターンを選別した。その結果、256種類の形状パターンのうち、3つのパターンが破膜する可能性を評価する上で有効であった(図2 D-F)<sup>11)</sup>。

上記の原理を利用して、我々は、卵細胞膜上で破膜が起こりやすい位置をモニターに表示するシステムICSI Position Detector (IPD)を開発した。IPDは、破膜との関連性が高い3つのLBPパターンを瞬時に算出し、破膜なし群のLBPパターンとの類似性が高い領域を、破膜が起こりにくい位置として特定する。類似性はユークリッド距離で表しており、距離が小さいほど類似性が高くなり、破膜する可能性が低いことを示す。ICSI時に術者が迅速に判別できるよう、ユークリッド距離の最小値0.00を、破膜する可能性が低い穿刺適正位置として卵細胞膜上に青色で表示する。反対に、最大値は0.50と設定し、破膜する可能性が高い穿刺非適正位置として赤色で表示し、視覚的に区別しやすいようにした(図3)。

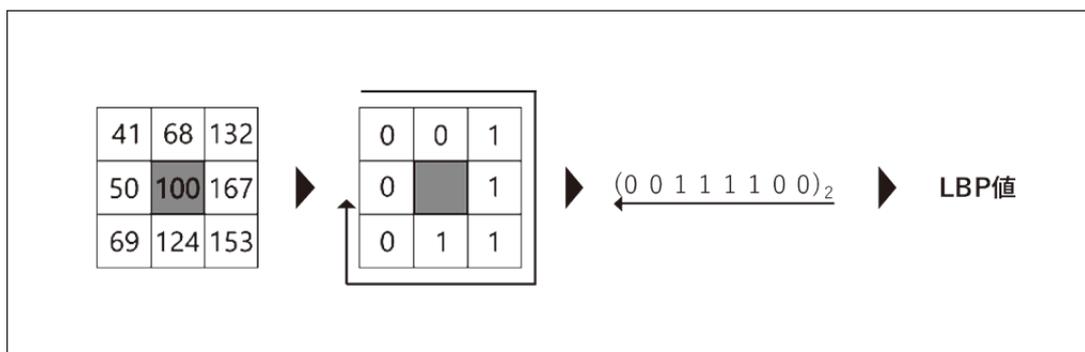


図1 LBP特徴量の算出方法

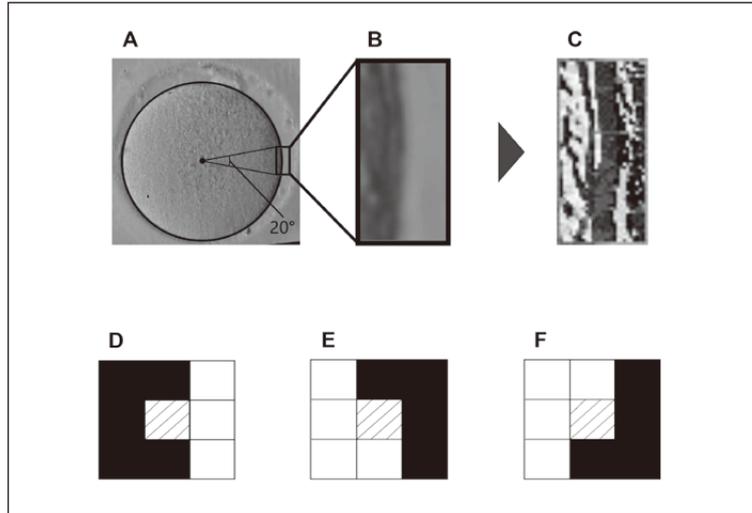


図2 本研究における画像解析の手順 (A-C) と破膜の評価に有効な3つのLBPパターン (D-F)

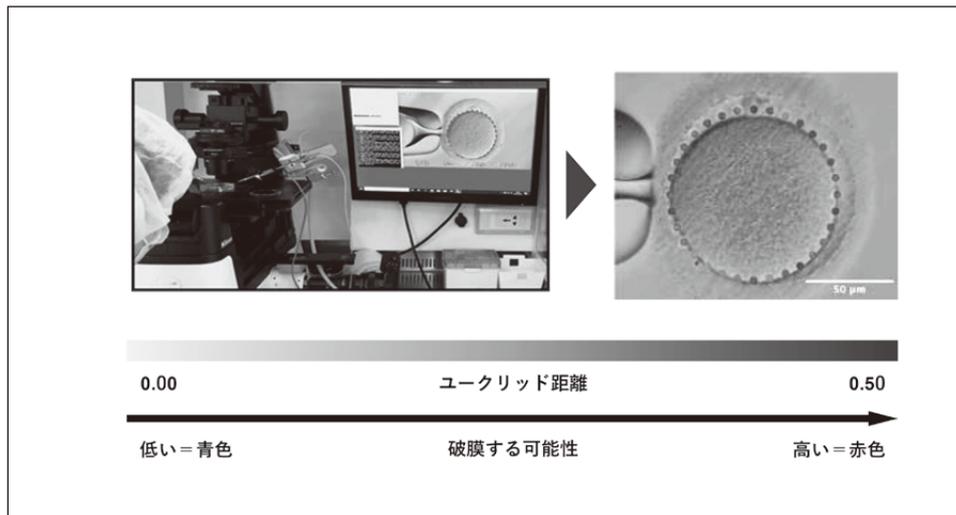


図3 臨床におけるIPDを用いたICSIの実際

ICSI時に術者は、顕微鏡横に設置したモニターでIPDが解析した結果を確認し、穿刺位置を決定する。実際には、卵細胞膜上に破膜する可能性が青色から赤色で表示され、リアルタイムで識別することができる。

### 画像解析システムの臨床的有用性の検討

#### 対象

IPDの臨床的有用性を検証するために sibling oocyte studyによる前方視的解析を行った。2020年1月から2021年8月にリプロダクションクリニック東京において、患者の同意を得た225周期、MⅡ卵1268個(採卵時妻平均年齢 $38.3 \pm 4.7$ 歳)を対象とした。

#### 方法

同一周期に得られた卵子を半数ずつ、IPD使用群とIPD非使用群に分けてPiezo-ICSIを実施した。対象とした全ての卵子において、IPDを使用してICSI時の動画を撮影した。IPD使用群は、IPDが識別した穿刺適正位置よりICSIを実施し、IPD非使用群は、術者にIPDの識別結果を確認できない状態でICSIを実施した。両群間において破膜率、変性率、正常受精率(2PN率)、胚盤胞発生率、良好胚盤胞率(Day5, Gardner分類 $\geq 3BB$ )につ

いて培養成績を比較した。また、IPDの性能をさらに検証するため、IPD非使用群において、実際の穿刺位置に対するIPDの識別結果を後方視的に確認した。その結果により、IPDが穿刺非適正と識別した位置から穿刺していた卵子（穿刺非適正群）と、穿刺適正位置からICSIを実施したIPD使用群において培養成績を比較した。

## 結果

IPD使用群とIPD非使用群の破膜率は6.0% vs. 11.9% (P<0.001)、変性率は1.6% vs. 4.6% (P<0.01)であり、IPD使用群の方が有意に低かった。2PN率は83.7% vs. 79.7%、胚盤胞発生率は51.9% vs. 51.0%、良好胚盤胞率は24.7% vs. 24.3%であり、両群間で差は認めなかった(表1)。IPD非使用群のうち、約半数の45.3% (286/632個)の卵子でIPDが穿刺非適正と識別した位置からICSIを実施していた。IPD使用群と穿刺非適正群を比較した結果、破膜率は6.0% vs. 18.2% (P<0.001)、変性率は1.6% vs. 7.3% (P<0.001)であり、IPD使用群において有意に低かった。また、2PN率は83.7% vs. 74.5% (P<0.01)、胚盤胞発生率は51.9% vs. 43.0% (P<0.05)であり、IPD使用群において有意

に高く、良好胚盤胞率は24.7% vs. 19.7%で有意差は認めないものの高い傾向であった(表2)。

## まとめ

Piezo-ICSI時にIPDを使用することによって、穿刺時に意図しない破膜が起こる頻度が低減し、それに伴うICSI後の変性率が低下することが明らかになった。また、後方視的解析より、IPDが識別した穿刺非適正位置から穿刺した場合は、破膜する可能性が高くなり、胚盤胞発生率が低下したことから、破膜した卵子由来の胚は培養成績が不良になる可能性がある。我々は、Conventional-ICSIにおいてもIPDが有用であることを報告している<sup>12)</sup>。したがって、IPDは、生殖補助医療において必要不可欠な技術であるICSIにおいて、治療に使用できる受精卵を一つでも多く獲得することに寄与できると考えられる。IPDは、カメラとソフトウェアから構成され、非侵襲的に卵細胞膜を解析するシステムであることから、生殖補助医療において安全性と倫理的懸念に対処でき、臨床上有用なツールになり得ると考える。

表1 IPD使用群 vs. IPD非使用群の培養成績の比較結果：前方視的解析

	ICSIにおけるIPD使用の有無		P値
	IPD使用群	IPD非使用群	
成熟卵子数		1268	-
Piezo-ICSI 実施卵子数	632	636	-
破膜率 (%)	6.0% (38/632)	11.9% (76/636)	<0.001
変性率 (%)	1.6% (10/632)	4.6% (29/636)	0.002
2PN率 (%)	83.7% (529/632)	79.7% (507/636)	0.066
胚盤胞発生率 (%)	51.9% (250/482)	51.0% (237/465)	0.782
良好胚盤胞率 (%)	24.7% (119/482)	24.3% (113/465)	0.890

表2 IPD使用群 vs. 穿刺非適正群の培養成績の比較結果：後方視的解析

	IPDによる穿刺位置の識別		P値
	IPD使用(適正位置)群	非適正位置群	
成熟卵子数		918	-
Piezo-ICSI 実施卵子数	632	286	-
破膜率 (%)	6.0% (38/632)	18.2% (52/286)	<0.001
変性率 (%)	1.6% (10/632)	7.3% (21/286)	<0.001
2PN率 (%)	83.7% (529/632)	74.5% (213/286)	0.001
胚盤胞発生率 (%)	51.9% (250/482)	43.0% (83/193)	0.037
良好胚盤胞率 (%)	24.7% (119/482)	19.7% (38/193)	0.165

## 参考文献

- 1) Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC: Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 340: 17-18, 1992.
- 2) Nagy ZP, Liu J, Joris H, Bocken G, Desmet B, Van Ranst H, Vankelecom A, Devroey P, Van Steirteghem AC: The influence of the site of sperm deposition and mode of oolemma breakage at intracytoplasmic sperm injection on fertilization and embryo development rates. *Hum Reprod*, 10: 3171-3177, 1995.
- 3) Hiraoka K, Isuge M, Kamada Y, Kaji T, Suhara T, Kuga A, Ohuchi K, Hayashi M, Kawai K: Piezo-ICSI for Human Oocytes. *J Vis Exp*, 170, 2021.
- 4) Zander-Fox D, Lam K, Pacella-Ince L, Tully C, Hamilton H, Hiraoka K, McPherson NO, Tremellen K: PIEZO-ICSI increases fertilization rates compared with standard ICSI: a prospective cohort study. *Reprod Biomed Online*, 43: 404-412, 2021.
- 5) 渡辺真一・松永利恵・見田渉・三浦恵・小林勇毅・山中菜保子・上畑みな子・牧野弘・宮村浩徳・桑波田暁子・越知正憲・堀内俊孝：ピエゾ ICSI において卵子変性を回避するための再穿刺は胚発生と妊孕能に影響しない。日受精着床会誌, 34: 24-27, 2017.
- 6) Ojala T, Pietikäinen M, Harwood D: Performance evaluation of texture measures with classification based on Kullback discrimination of distributions. *Proceedings of the 12th International Conference on Pattern Recognition*, 582-585, 1994.
- 7) Ojala T, Pietikäinen M, Harwood D: A comparative study of texture measures with classification based on feature distributions. *Pattern Recognition*, 29: 51-59, 1996.
- 8) Ahonen T, Hadid A, Pietikäinen M: Face description with local binary patterns: application to face recognition. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 28: 2037-2041, 2006.
- 9) Okishio K, Koya Y, Matsubayashi H, Ishikawa T: Identifying an egg-containing follicle by displacement analysis of the follicle border. *Transactions of the Institute of Systems, Control and Information Engineers*, 34: 303-309, 2021.
- 10) Mori K, Kitaya K, Ishikawa T, Hata Y: A pregnancy prediction system based on uterine peristalsis from ultrasonic images. *Intell Autom Soft Comput*, 29: 335-352, 2021.
- 11) Kinishi Y, Maekawa T, Mizuta S, Ishikawa T, Hata Y: Detection of optimal puncture position in ovum images for artificial insemination. *Proceedings of the 2019 International Conference on Machine Learning and Cybernetics*, 40-144, 2019.
- 12) Morimoto T, Maekawa T, Mizuta S, Matsubayashi H, Takumi T, Hata Y, Ishikawa T: Optimal puncture position for intracytoplasmic sperm injection can be detected by image analysis using Local Binary Pattern. *Reprod Biomed Online*, 46: 46-53, 2023.

## 卵細胞膜を穿破しない顕微授精法～精子と卵子の融合因子～

Micro-insemination without breaking the oocyte membrane: Fusion factors between sperm and oocyte

畠山 将太, 黄木 詩麗, 矢内原 敦

Shota Hatakeyama, Shirei Ohgi, Atsushi Yanaihara

矢内原ウィメンズクリニック 〒247-0056 神奈川県鎌倉市大船1-24-30-4階  
Yanaihara Women's Clinic

**要旨：**「受精」は卵子と精子という二つの異なる細胞の融合によって生じる種の存続に欠かすことのできない現象である。融合を介さずに卵子の中に精子を注入するICSIは通常媒精での受精が望めない患者に恩恵をもたらしてきた。一方で、精子を注入するために卵細胞膜を破らなければならず、変性のリスクが常につきまとうことがICSIの大きな問題点であるといえる。この問題点を解決するには卵子と精子の融合を利用した顕微授精法が不可欠であり、我々は2020年に精子膜融合補助授精法（Assisted sperm fusion insemination: ASFI）を報告した。本稿では、ICSIの登場により臨床で実施されることなくなった囲卵腔内精子注入法（SUZI）で不足していたと考えられる配偶子の融合に必須の因子について概説するとともに、ASFIの確立に向けた展望について述べる。

**キーワード：**顕微授精, 受精, 先体反応, 透明帯, 膜融合

**英文要旨：** Fertilization, the fusion between an oocyte and a sperm, is an essential process for sustaining species. ICSI has provided patients who were unable to achieve natural fertilization with pregnancies by injecting sperm directly into the oocyte without the fusion of gametes. However, there is always a risk of degeneration after ICSI because the oocyte membrane needs to be broken to inject the sperm. To solve this problem, a micro-insemination method that assists the fusion between the oocyte and sperm should be established. Therefore, we reported on assisted sperm fusion insemination (ASFI). In this article, we provide an overview of essential factors that seem to be insufficient in subzonal insemination, a micro-insemination method that involves injecting sperm into the perivitelline space, with a future perspective to establish ASFI.

**キーワード：** Acrosome reaction, Fertilization, Membrane fusion, Micro-insemination, Zona pellucida

### はじめに

「受精」は卵子と精子という二つの細胞の融合によって遺伝的に新たな個体を作り出す、種を存続するための非常に重要な現象である。ヒトをはじめとした哺乳類における生理的な環境では、精子自身の運動によって両配偶子（卵子と精子）が接近し、やがて卵細胞内に精子が進入、そして両配偶子の核が融合することで受精が成立する<sup>1)</sup>。この現象を生体外で再現したものが「体外受精 (In vitro fertilization: IVF)」であり、卵管内での受精を模した方法を通常媒精 (Conventional insemination) と呼ぶ。生殖補助医療 (Assisted reproductive technology: ART) における受精法の第一選択は通常媒精であるが<sup>2)</sup>、精液所

見が不良な症例では受精率が低いいため顕微鏡下で媒精操作をおこなう顕微授精法が考案された。顕微授精法では精子が少数であっても卵細胞内への進入を容易にするために様々な工夫がなされ、それぞれ透明帯開孔法 (zona drilling: ZD, partial zona dissection: PZD, zona opening: ZO)、囲卵腔内精子注入法 (Subzonal insemination: SUZI)、そして卵細胞質内精子注入法 (Intracytoplasmic sperm injection: ICSI) と呼ばれている。ZDは酸性タイロイド液を透明帯に吹き付け、溶解して開孔し、囲卵腔への精子進入を容易にする<sup>3)</sup>。PZDはマイクロニードルにより透明帯を部分的に切開することで<sup>4)</sup>、ZOは2本のマイクロフックを用いて透明帯に裂孔をつくることで<sup>5)</sup>、いずれも囲卵腔への精子の進入を促進させる方法で

ある。また、SUZIは囲卵腔に数個の運動精子を注入する方法であるが<sup>6)</sup>、これらの顕微授精法による受精率は低く、多精子受精も多く認められたため、臨床的に有用性が低いとされてきた。そのような中、1992年にPlermoらが卵細胞質内精子注入法 (Intracytoplasmic sperm injection: ICSI) での妊娠・出産例を報告し、生存精子が得られれば高率で卵子を受精させることが可能となり、世界中で広く実施されるようになった<sup>7)</sup>。我が国においてもART治療における採卵周期の半数以上を占めている<sup>8)</sup>。一方でICSIの問題点として、卵細胞膜を穿破しなければ精子を注入することができないため、変性リスクが常につきまとうことが挙げられる。この課題を解決するには、卵細胞膜を破ることなく受精させる必要がある。かつて考案されてきた受精法のうち、SUZIは通常媒精よりも配偶子間の距離が近く、かつ卵細胞膜を破る必要のない理想的な顕微授精ではあるが、ICSIよりも受精率が低いため臨床でおこなわれることはなくなった<sup>9,10)</sup>。何故SUZIの受精率は低かったのだろうか。SUZIにおける問題点を明らかにするとともに卵細胞膜と精子の融合に関わる因子について考察し、SUZIとは異なる卵細胞膜を穿破しない顕微授精法について紹介する。

### 先体反応と人為的な誘起法

卵細胞膜に結合した精子を観察すると全ての精子が先体反応を起こしていることから、配偶子の融合には先体反応が必須であると考えられる<sup>11)</sup>。精子頭部には先体と言われる特殊な細胞小器官があり、内部に様々な酵素

が含まれている(図1)。先体部は外側から細胞膜、先体外膜、先体内膜の順で構成されており、受精に至る前の過程で精子細胞膜と先体外膜の一部が融合することによって間隙が生じ、内部の酵素が先体外部に放出される。この一連の反応を先体反応と呼ぶ<sup>12)</sup>。一方で、ARTで実施されるSwim up処理後の精子では約10%においてのみ先体反応が起きているため、SUZIでも大部分の精子は先体が残った状態で囲卵腔に注入されており、このことが受精の妨げとなっていたと考えられる<sup>13)</sup>。つまり、先体反応を誘起してから囲卵腔に精子を注入すれば受精が起こると予想され、実際に先体反応誘起精子によってSUZIの受精率が向上したと報告されている<sup>14)</sup>。

人為的に先体反応を誘起する方法として、まずカルシウムイオノフォアがあげられる。細胞膜に入り込みイオン輸送をおこなう化合物をイオノフォアと言い、A23187やイオノマイシンが代表的なカルシウムイオノフォアであり、細胞膜の透過性を向上させてカルシウムイオンの取り込みを促進する<sup>15)</sup>。

カルシウムイオノフォアは受精障害症例における卵子活性に使用されており、精子の先体反応誘起に関しても臨床応用が期待されるが、その誘起率は約60-70%であることや対象症例によっても大きく異なるため効果としては不十分である<sup>16,17)</sup>。また、副次効果として精子の運動抑制や、活性酸素種 (Reactive Oxygen Species: ROS) の産生およびアポトーシスを起こした精子数が増加するとの報告もあるため、先体反応誘起法としてカルシウムイオノフォアを使用するには課題が残されている<sup>18,19)</sup>。カルシウムイオノフォアの他にプロゲステロンによる先体反応誘起法も報告され

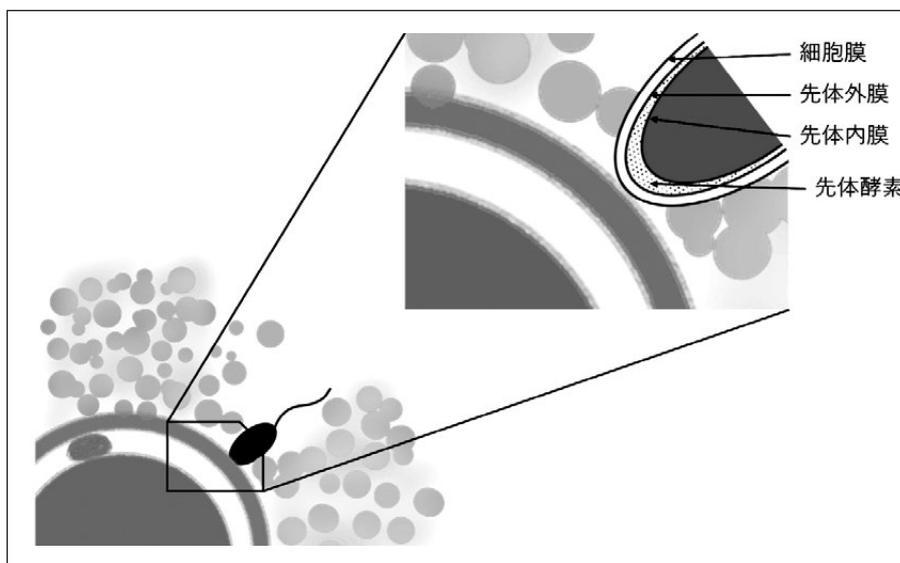


図1 精子頭部先体の模式図

ており、ナノ粒子化したプロゲステロンにより高率に先体反応を誘起することが報告されているが100%には至っていない<sup>20-22)</sup>。さらに、ICSI時に精子尾部の一部を物理的操作により破壊するいわゆる不動化によって17%の精子で先体が完全に除去されるが、大部分の精子は先体が残った状態であることに加え、精子の運動性が完全に損なわれるためSUZIには応用することができない<sup>23)</sup>。このように、先体反応を人為的に誘起するために様々な検討がなされてきたが現在に至るまでに完全な人為的先体反応誘起法ははまだ確立されていない。実現するには生理的な先体反応がどの段階でどのような過程を経て起こっているのか理解する必要がある。

### 生理的な先体反応

卵子と精子が融合するには先体反応が必須であり、卵細胞膜に結合した精子は全て先体反応を起こしている<sup>11)</sup>。卵子は内側から卵細胞膜、透明帯、それらを卵丘細胞が取り囲んでおり、卵細胞膜に達する前のどの時点で先体反応が起こっているのだろうか。

かつて先体反応は透明帯に精子が結合することによって引き起こされると考えられていた<sup>24,25)</sup>。ところが、「卵丘細胞層内に先体反応を起こした精子がいる」という過去の報告を説明できないということや<sup>26)</sup>、透明帯に結合した精子を調べても先体反応を起こさないという報告により<sup>27)</sup>、この透明帯誘起説は否定されるようになった。現在では、透明帯に到達する前の卵丘細胞層<sup>28,29)</sup>や卵管内<sup>30)</sup>で既に先体反応は開始されていると考えられている。CatSperといわれる精子尾部に特異的に発現するイオンチャンネルがプロゲステロンに反応しカルシウムイオンを取り込む働きをしていることが2001年に報告された<sup>31)</sup>。卵丘細胞から分泌されるプロゲステロンによりCatSperを通してカルシウムイオンの取り込みが増大し、先体反応を起こすことが予想されたがCatSper欠損精子であってもプロゲステロンによる先体反応率は変わらないため、CatSperはあくまでも精子運動性の変化いわゆるハイパーアクチベーションを引き起こすために重要と考えられる<sup>32)</sup>。また、「先体反応を起こしていない精子が透明帯に結合している」という事実をこの卵丘細胞誘起説では説明できない<sup>27)</sup>。透明帯はZP1～ZP4の4種類の糖タンパクで構成されており、網目状の構造をしている<sup>33)</sup>。透明帯構成タンパクの内、ZP2には先体反応精子が結合でき、ZP1、および4には先体反応を起こしていない精子が、ZP3には先体反応を起こしている精子も起こしていない精子も結合できることが判明している<sup>33-36)</sup>。つまり透明帯には先体反応の有無に関わらず精子が結合できるということになるが、これらの結果は使用した

透明帯タンパクの発現方法により異なっており一定の結論は得られていない。

### 透明帯結合精子

精子の先体状態により結合できる透明帯タンパクの種類が異なるとして、透明帯という構造物として考えた場合に結合できる精子の先体はどのような状態になっているのだろうか。

我々は通常媒精後の卵子透明帯に結合している運動精子をインジェクションピペットで回収し先体状態を調べた結果、98%と高率で先体反応を起こしていることを報告した<sup>37)</sup>。透明帯結合精子の先体状態に関する報告は既にあったが、いずれも透明帯に結合した精子を卵子ごとピPETTINGすることで回収しており、確実に透明帯に結合した精子のみを調べていたとは言い難い<sup>11,38)</sup>。Nakanishiらは、透明帯に精子が結合した状態で先体状態を調べたところ、先体反応を起こしていなかったと報告している<sup>27)</sup>。この報告と我々の結果は一致していないが、これは我々が調べたのは「透明帯に結合して“いた”＝結合が解かれた精子」であるということが要因と考えている。また、透明帯結合精子は形態が正常な割合が多く、高率で二本鎖DNAを持っていると報告されている<sup>39,40)</sup>。

### 透明帯結合精子を用いた顕微授精

生理的な受精過程において精子は必ず透明帯に結合する必要があるため、透明帯結合精子が結合していない精子と比べて受精に適していると考えられることは理にかなっている。このことを利用して精子選別をおこなうことが臨床においても有効であると考えられ、透明帯結合精子をICSIに用いることが試みられており、胚発生や妊娠成績が向上したという報告もある<sup>41-43)</sup>。我々は透明帯結合精子が高率で先体反応を起こしていることから、透明帯結合精子であれば卵細胞膜に融合可能なのではないかと考え、卵細胞膜を破らない顕微授精法を考案し精子膜融合補助授精法(Assisted sperm fusion insemination: ASFI)と名付けた<sup>37,44)</sup>。通常媒精もしくは未熟卵や変性卵を精子と共培養することによって透明帯に精子を結合させ、透明帯に結合した運動精子をインジェクションピペットで回収して、成熟卵の卵細胞膜に精子頭部を約10秒間押し当てることで授精させる(図2)。同一症例の卵子を対象としてASFIとConventional-ICSIを実施して成績を比較した結果、ASFIは胚移植可能な有効胚数を有意に増加させた<sup>45)</sup>。このことから、透明帯結合精子＝先体反応精子であれば卵細胞膜を破って卵細胞質内に注

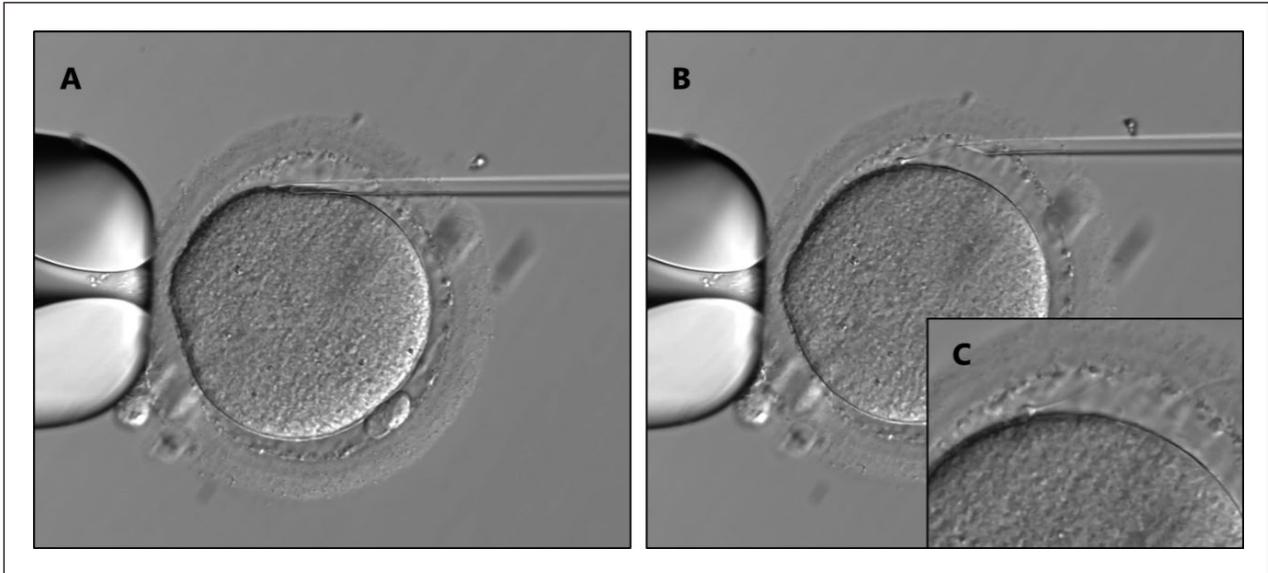


図2 ASFI

- A: 透明帯から回収した運動精子を卵細胞膜に10秒間押し当てる。
- B: インジェクションピペットを外した後も精子頭部が卵細胞膜に接着している。
- C: 卵細胞膜に接着した精子の拡大図。

入する必要がないと言える。しかし、あくまでも先体反応以外の配偶子融合に必須な因子が揃っていることが前提である。

### 先体反応以外の膜融合必須因子

先体反応が完了すると精子頭部先端では先体内膜が露出することになるが、この先体内膜と卵細胞膜が融合するわけではない。卵細胞膜と融合可能な部位は精子頭部赤道面の細胞膜である(図3)。実際、我々が報告したASFIでも精子頭部側面を卵細胞膜に押し当てた後に卵子に取り込まれて受精が起こっている。精子頭部赤道面の細胞膜は常に表面に露出しているにもかかわらず、先体反応を起こしていない状態では卵細胞膜と融合できない。どのような変化により融合が可能となるのだろうか。2005年、Inoueらによって精子側の融合必須因子タンパクが同定されIZUMO1と名付けられた<sup>46)</sup>。IZUMO1は先体反応前には精子頭部の表面には露出しておらず、先体反応後に赤道面に再分配される<sup>47)</sup>。つまり、先体反応によって赤道面の細胞膜が卵子と融合可能な状態に変化するということである。

ここまで、SUZIにおいて不足していたと考えられる配偶子融合に必須な精子側の因子を考察してきた。先体反応が完了し、IZUMO1が赤道面に発現している精子であれば卵細胞膜を破ることなく授精させることが可能と考えら

れるが、これは卵子側のCD9(Cluster of Differentiation 9)やJUNOといった膜融合に必要な因子が揃っていることが前提である。CD9は4ヶ所の膜貫通部位をもつ膜タンパク質で、排卵前の卵細胞膜上に存在する<sup>48)</sup>。CD9を欠損させたマウス卵子では精子が融合できないものの、ICSIで産仔が得られていることから、両配偶子の膜融合に必須の因子と考えられている<sup>49)</sup>。卵細胞膜上に存在するCD9は、排卵後にエクソソームとして囲卵腔に放出され、その過程で卵細胞膜上に微絨毛が形成される<sup>50,51)</sup>。微絨毛の形成異常を生じるCD9欠損マウス卵子であっても、外的にエクソソームを補うことで精子の融合が回復すること

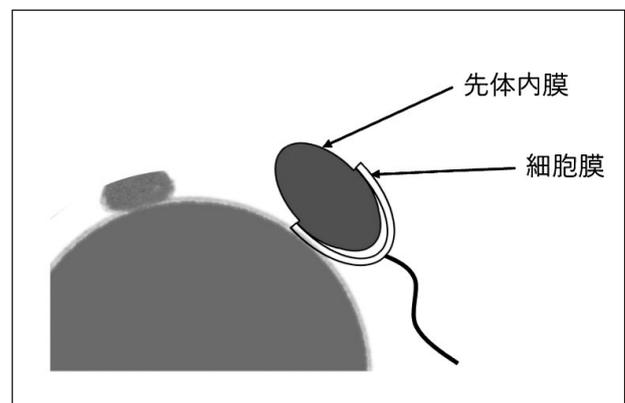


図3 先体反応後の精子頭部の様子と融合部位

から、両配偶子の融合に必要なのは微絨毛ではなく、CD9を含むエクソソームであると考えられる。JUNOは2014年にIZUMO1に対応する卵子側のタンパクとして同定され、JUNO欠損卵子では精子が融合できない<sup>52)</sup>。ヒトにおいてCD9やJUNOが欠損した卵子が存在するのかは明らかではないが、そのような卵子に対しては配偶子の融合が起こらないためASFIではなくICSIの適応と考えられる。

## おわりに

ASFIは卵細胞膜を破ることなく授精させることが可能であり、理論上はASFIによって変性が生じることはない。しかし、透明帯を必要とする現在の精子選別法ではASFI実施可能な対象が限定されてしまう。透明帯を使用せずに卵細胞膜と融合可能な精子を確実に選別する方法が確立され、ASFIが既存の顕微授精法であるICSIの代替となり生殖補助医療技術の向上に寄与することを期待している。

## 参考文献

- 1) Wassarman PM, Jovine L, Litscher ES: A profile of fertilization in mammals. *Nat Cell Biol*, 3 (2): E59-64, 2001.
- 2) 倫理に関する見解一覧. 公益社団法人 日本産科婦人科学会. <https://www.jsog.or.jp/medical/576>, (2024.5.14)
- 3) Gordon JW, Grunfeld L, Garrisi GJ, Talansky BE, Richards C, Laufer N: Fertilization of human oocytes by sperm from infertile males after zona pellucida drilling. *Fertil Steril*, 50 (1): 68-73, 1988.
- 4) Malter HE, Cohen J: Partial zona dissection of the human oocyte: a nontraumatic method using micromanipulation to assist zona pellucida penetration. *Fertil Steril*, 51 (1): 139-48, 1989.
- 5) Odawara Y, Lopata A: A zona opening procedure for improving in vitro fertilization at low sperm concentrations: a mouse model. *Fertil Steril*, 51 (4): 699-704, 1989.
- 6) Laws-King A, Trounson A, Sathananthan H, Kola I: Fertilization of human oocytes by microinjection of a single spermatozoon under the zona pellucida. *Fertil Steril*, 48 (4): 637-42, 1987.
- 7) Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC: Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 340 (8810): 17-8, 1992.
- 8) Summary report of ART online registry for 2021 by the Ethics Committee of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology. [https://www.jsog.or.jp/activity/art/2021\\_JSOG-ART.pdf](https://www.jsog.or.jp/activity/art/2021_JSOG-ART.pdf), (2024.5.14)
- 9) Palermo G, Joris H, Derde MP, Camus M, Devroey P, Van Steirteghem A: Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*, 59 (4): 826-35, 1993.
- 10) Tarín JJ: Subzonal insemination, partial zona dissection or intracytoplasmic sperm injection? An easy decision? *Hum Reprod*, 10 (1): 165-70, 1995.
- 11) Liu DY, Baker HW: Acrosome status and morphology of human spermatozoa bound to the zona pellucida and oolemma determined using oocytes that failed to fertilize in vitro. *Hum Reprod*, 9 (4): 673-9, 1994.
- 12) Toshimori K: Dynamics of the mammalian sperm membrane modification leading to fertilization: a cytological study. *J Electron Microsc*, 60 Suppl 1: S31-42, 2011.
- 13) Luongo FP, Perez Casaus S, Haxhiu A, Barbarulo F, Scarcella M, Governini L, Piomboni P, Scarica C, Luddi A: Exposure to Cumulus Cell Secretome Improves Sperm Function: New Perspectives for Sperm Selection In Vitro. *Cells*, 12 (19): 2349, 2023.
- 14) Kobayashi K, Okuyama M, Fujimoto G, Rothman CM, Hill DL, Ogawa S: Subzonal insemination with a single spermatozoon using manipulation assisted sperm adhesion onto the ooplasmic membrane in mouse ova. *Mol Reprod Dev*, 31 (3): 223-9, 1992.
- 15) Kao JP: Practical aspects of measuring [Ca<sup>2+</sup>] with fluorescent indicators. *Methods Cell Biol*, 40: 155-81, 1994.
- 16) Köhn FM, Mack SR, Schill WB, Zaneveld LJ: Detection of human sperm acrosome reaction: comparison between methods using double staining, Pisum sativum agglutinin, concanavalin A and transmission electron microscopy. *Hum Reprod*, 12 (4): 714-21, 1997.
- 17) Jaiswal BS, Eisenbach M, Tur-Kaspa I: Detection of partial and complete acrosome reaction in human spermatozoa: which inducers and probes to use? *Mol Hum Reprod*, 5 (3): 214-9, 1999.
- 18) Yang Q, Wen Y, Wang L, Peng Z, Yeerken R, Zhen L, Li P, Li X: Ca<sup>2+</sup> ionophore A23187 inhibits ATP generation reducing mouse sperm motility and PKA-dependent phosphorylation. *Tissue Cell*, 66: 101381, 2020.
- 19) Keshtgar S, Ghani E: Impact of calcium and reactive oxygen species on human sperm function: Role of NOX5. *Andrologia*, 54 (8): e14470, 2022.
- 20) Foresta C, Rossato M, Mioni R, Zorzi M: Progesterone induces capacitation in human spermatozoa. *Andrologia*, 24 (1): 33-5, 1992.
- 21) Chen X, Zheng Y, Zheng J, Lin J, Zhang L, Jin J: The progesterone-induced sperm acrosome reaction is a good option for the prediction of fertilization in vitro compared with other sperm parameters. *Andrologia*, 51 (6): e13278, 2019.
- 22) Baranizadeh K, Mahboobian MM, Amiri I, Tavilani H, Shafiee G: Effects of progesterone nanoparticles on the sperm capacitation and acrosome reaction in asthenozoospermia men. *Andrologia*, 54 (1): e14258, 2022.
- 23) Takeuchi T, Colombero LT, Neri QV, Rosenwaks Z, Palermo GD: Does ICSI require acrosomal disruption? An ultrastructural study. *Hum Reprod*, 19 (1): 114-7, 2004.
- 24) Florman HM, Storey BT: Mouse gamete interactions: the zona pellucida is the site of the acrosome reaction leading to fertilization in vitro. *Dev Biol*, 91 (1): 121-30, 1982.

- 25) Gupta SK, Bansal P, Ganguly A, Bhandari B, Chakrabarti K: Human zona pellucida glycoproteins: functional relevance during fertilization. *J Reprod Immunol*, 83 (1-2): 50-5, 2009.
- 26) Cummins JM, Yanagimachi R: Sperm - egg ratios and the site of the acrosome reaction during *in vivo* fertilization in the hamster. *Gamete Res*, 5 (3): 239-56, 1982.
- 27) Nakanishi T, Ikawa M, Yamada S, Parvinen M, Baba T, Nishimune Y, Okabe M: Real-time observation of acrosomal dispersal from mouse sperm using GFP as a marker protein. *FEBS Lett*, 449 (2-3): 277-83, 1999.
- 28) Sun TT, Chung CM, Chan HC: Acrosome reaction in the cumulus oophorus revisited: involvement of a novel sperm-released factor NYD-SP8. *Protein Cell*, 2 (2): 92-8, 2011.
- 29) Jin M, Fujiwara E, Kakiuchi Y, Okabe M, Satouh Y, Baba SA, Chiba K, Hirohashi N: Most fertilizing mouse spermatozoa begin their acrosome reaction before contact with the zona pellucida during *in vitro* fertilization. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108 (12): 4892-6, 2011.
- 30) La Spina FA, Puga Molina LC, Romarowski A, Vitale AM, Falzone TL, Krapf D, Hirohashi N, Buffone MG: Mouse sperm begin to undergo acrosomal exocytosis in the upper isthmus of the oviduct. *Dev Biol*, 411 (2): 172-82, 2016.
- 31) Ren D, Navarro B, Perez G, Jackson AC, Hsu S, Shi Q, Tilly JL, Clapham DE: A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility. *Nature*, 413 (6856): 603-9, 2001.
- 32) Young S, Schiffer C, Wagner A, Patz J, Potapenko A, Herrmann L, Nordhoff V, Pock T, Krallmann C, Stallmeyer B, Röpke A, Kierzek M, Biagioni C, Wang T, Haalck L, Deuster D, Hansen JN, Wachten D, Risse B, Behre HM, Schlatt S, Kliesch S, Tüttelmann F, Brenker C, Strünker T: Human fertilization *in vivo* and *in vitro* requires the CatSper channel to initiate sperm hyperactivation. *J Clin Invest*, 134 (1): e173564, 2024.
- 33) Gupta SK: Human Zona Pellucida Glycoproteins: Binding Characteristics With Human Spermatozoa and Induction of Acrosome Reaction. *Front Cell Dev Biol*, 9: 619868, 2021.
- 34) Ganguly A, Bukovsky A, Sharma RK, Bansal P, Bhandari B, Gupta SK: In humans, zona pellucida glycoprotein-1 binds to spermatozoa and induces acrosomal exocytosis. *Hum Reprod*, 25 (7): 1643-56, 2010.
- 35) Chakravarty S, Kadunganattil S, Bansal P, Sharma RK, Gupta SK: Relevance of glycosylation of human zona pellucida glycoproteins for their binding to capacitated human spermatozoa and subsequent induction of acrosomal exocytosis. *Mol Reprod Dev*, 75 (1): 75-88, 2008.
- 36) Chiu PCN, Wong BST, Lee CL, Pang RTK, Lee KF, Sumitro SB, Gupta SK, Yeung WSB: Native human zona pellucida glycoproteins: purification and binding properties. *Hum Reprod*, 23 (6): 1385-93, 2008.
- 37) Hatakeyama S, Araki Y, Ohgi S, Yanaihara A, Araki Y: Fertilization with human sperm bound to zona pellucida by pressing onto the oocyte membrane. *Hum Cell*, 33 (3): 521-7, 2020.
- 38) Francavilla F, Romano R, Santucci R, Marrone V, Properzi G, Ruvolo G: Interference of antisperm antibodies with the induction of the acrosome reaction by zona pellucida (ZP) and its relationship with the inhibition of ZP binding. *Fertil Steril*, 67 (6): 1128-33, 1997.
- 39) Liu DY, Baker HWG: Human sperm bound to the zona pellucida have normal nuclear chromatin as assessed by acridine orange fluorescence. *Hum Reprod*, 22 (6): 1597-602, 2007.
- 40) Liu DY, Garrett C, Baker HWG: Clinical application of sperm-oocyte interaction tests in *in vitro* fertilization--embryo transfer and intracytoplasmic sperm injection programs. *Fertil Steril*, 82 (5): 1251-63, 2004.
- 41) Black M, Liu DY, Bourne H, Baker HWG: Comparison of outcomes of conventional intracytoplasmic sperm injection and intracytoplasmic sperm injection using sperm bound to the zona pellucida of immature oocytes. *Fertil Steril*, 93 (2): 672-4, 2010.
- 42) Liu F, Qiu Y, Zou Y, Deng ZH, Yang H, Liu DY: Use of zona pellucida-bound sperm for intracytoplasmic sperm injection produces higher embryo quality and implantation than conventional intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*, 95 (2): 815-8, 2011.
- 43) Ganeva R, Parvanov D, Vidolova N, Handzhiyska M, Ruseva M, Vasileva M, Nikolova K, Ivanova I, Shaban M, Shabarkova J, Hristova R, Miladinova M, Stamenov G: Sperm selection by zona adhesion improves assisted reproductive treatment outcomes. *Andrology*, 12 (6): 1373-80, 2024.
- 44) Hatakeyama S, Araki Y, Araki Y, Ohgi S, Yanaihara A: First birth following assisted sperm fusion insemination using sperm bound to zona pellucida. *J Assist Reprod Genet*, 37 (8): 1849-51, 2020.
- 45) Hatakeyama S, Koizumi K, Kuramoto G, Horiuchi Y, Ohgi S, Yanaihara A: O-186 A novel micro-insemination method, assisted sperm fusion insemination, increases the embryo utilization rate compared to conventional intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, 39 (Supplement\_1): deae108.219, 2024.
- 46) Inoue N, Ikawa M, Isotani A, Okabe M: The immunoglobulin superfamily protein Izumo is required for sperm to fuse with eggs. *Nature*, 434 (7030): 234-8, 2005.
- 47) Satouh Y, Inoue N, Ikawa M, Okabe M: Visualization of the moment of mouse sperm-egg fusion and dynamic localization of IZUMO1. *J Cell Sci*, 125 (Pt 21): 4985-90, 2012.
- 48) Kaji K, Oda S, Shikano T, Ohnuki T, Uematsu Y, Sakagami J, Tada N, Miyazaki S, Kudo A: The gamete fusion process is defective in eggs of Cd9-deficient mice. *Nat Genet*, 24 (3): 279-82, 2000.
- 49) Miyado K, Yamada G, Yamada S, Hasuwa H, Nakamura Y, Ryu F, Suzuki K, Kosai K, Inoue K, Ogura A, Okabe M, Mekada E: Requirement of CD9 on the egg plasma membrane for fertilization. *Science*, 287 (5451): 321-4, 2000.
- 50) Miyado K, Yoshida K, Yamagata K, Sakakibara K, Okabe M, Wang X, Miyamoto K, Akutsu H, Kondo T, Takahashi Y, Ban T, Ito C, Toshimori K, Nakamura A, Ito M, Miyado M, Mekada E, Umezawa A: The fusing ability of sperm is bestowed by CD9-containing vesicles released from eggs

- in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105 (35): 12921-6, 2008.
- 51) Runge KE, Evans JE, He ZY, Gupta S, McDonald KL, Stahlberg H, Primakoff P, Myles DG: Oocyte CD9 is enriched on the microvillar membrane and required for normal microvillar shape and distribution. *Dev Biol*, 304 (1): 317-25, 2007.
- 52) Bianchi E, Doe B, Goulding D, Wright GJ: Juno is the egg Izumo receptor and is essential for mammalian fertilization. *Nature*, 508 (7497): 483-7, 2014.

# 特別企画 「ARTに関わるマイクロバイオーム」

## 序 文

鍋田 基生

つばきウイメンズクリニック

この度、柴原浩章編集委員長より本学会雑誌の特別企画を担当する機会を賜りました。柴原先生が第3代編集委員長となられた2023年Vol.26 No.1から毎号特別企画が組まれています。これまでの特別企画の内容は「ARTに関わる生殖内分泌～基礎から最新知見まで～」、「卵巣移植-世界の現状からみた我が国の現状」、「ARTと着床免疫」、「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」などでありました。マイクロバイオームに関する企画がまだありませんでしたので、今回は私自身が以前より強く興味をもっていたマイクロバイオームに焦点をあて、テーマを「ARTに関わるマイクロバイオーム」として企画しました。

これまで生殖器内の炎症や細菌の研究は形態学的な染色法や既知の病原体の培養、病原体特異的PCR法に依存し、性感染症との関連性が報告されている菌ばかりに焦点が当てられてきました。特に子宮内膜は腔分泌物と比べ細菌量が100～10,000倍程度少ないと推定され、従来の手法を用いても検出感度の限界によりほぼ無菌と考えられてきました。2000年代、膨大なDNA配列を一度に決定できる次世代シーケンサーの登場により、16S rRNA遺伝子シーケンシング手法を用いて試料中の菌の種類と割合を推定する細菌叢解析、いわゆるマイクロバイオーム解析が普及し、生殖医療に寄与する腔内および子宮内細菌叢の研究が急速に進歩しています。

本特別企画では、高田和秀先生、竹田善紀先生、相澤(小峯)志保子先生に女性生殖器における細菌叢構成、細菌叢と不妊との関連、ARTにおける細菌叢へのアプローチについての概説を賜りました。また門上大祐先生、中岡義晴先生、村上節先生、森本義晴先生には自施設での反復着床不全症例を対象に行われた子宮内dysbiosis症例に適切な治療を行うことで着床率が改善したことや、種レベルでの菌叢解析の重要性、子宮内細菌叢の役割などについて概説を賜りました。さらに平塚大輝先生、廣田泰先生には細菌叢という概念から臨床現場での最新の治療に至るまで子宮内細菌叢異常の周辺知識をととても詳細に整理いただき、着床障害患者に対する今後の妊娠率・生児獲得率向上の可能性などについて概説を賜りました。マイクロバイオームの領域において第一線で活躍されている先生方にご執筆いただくことが叶い、いずれも極めて質の高い内容となっています。本企画が読者の皆様の今後の臨床に大きく活かせるものと確信しております。

末筆ながら、このような機会を与えてくださいました塩谷雅英理事長、柴原浩章編集委員長に深謝申し上げます。またご多用にも関わらず、本特別企画に玉稿を賜りました執筆者の先生方に心よりお礼申し上げます。

# ARTに関わるマイクロバイーム

## ART and microbiome

高田 和秀<sup>1</sup>, 竹田 善紀<sup>1,2</sup>, 相澤 (小峯) 志保子<sup>1</sup>

Kazuhide Takada<sup>1</sup>, Yoshinori Takeda<sup>1,2</sup>, Shihoko Komine-Aizawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 日本大学医学部 病態病理学系微生物学分野 〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1

<sup>2</sup> 奈良県立医科大学 産婦人科 〒634-8522 奈良県橿原市四条町840

<sup>1</sup>Division of Microbiology, Department of Pathology and Microbiology, Nihon University School of Medicine

<sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Nara Medical University

**要旨：** 次世代シーケンサーなど分子生物学的手法によるマイクロバイーム研究全体の進歩により、腔内細菌叢研究の論文数は2000年代以降増加の一途をたどっている。また、以前は無菌と考えられていた子宮内も独自の細菌叢を持つことが明らかになり、生殖医療との関係が注目されている。さらに最近では、女性生殖器と消化管など他臓器との相関も明らかになってきているが、その機序の一つとして各臓器における細菌叢に関心が集まっており、生殖補助医療 (assisted reproductive technology: ART) も含む不妊治療において細菌叢を理解することの重要度は増している。しかし各細菌の役割などを検討した基礎医学的観点からの研究は、他臓器における細菌叢研究と比べるとまだ不足しているのが現状である。この総説では主にARTと特に関連が深い腔内と子宮内、そして腸内細菌叢に注目し、最近の知見を交えながらその役割と機序について考えてみたい。

**キーワード：** 子宮内細菌叢, 腔内細菌叢, 腸内細菌叢

**ランニングヘッド：** ARTに関わるマイクロバイーム

**英文要旨：** The advancements in microbiome research, which have been facilitated by molecular techniques such as next-generation sequencing, have resulted in a consistent increase in the number of publications on vaginal microbiota research since the 2000s. In addition, the uterus, which was previously believed to be sterile, has been demonstrated to contain its own microbiota, and its connection to reproductive medicine is currently receiving significant attention. In addition, the bacterial flora in each organ is garnering attention as one of the mechanisms of this correlation, which has recently been observed in the female reproductive organs and other organs, such as the gastrointestinal tract. Nevertheless, there is a shortage of fundamental research investigating microbiota's role in reproductive organs compared to research conducted in other organs. The vaginal, uterine, and intestinal microflora, which are deemed to be particularly pertinent to ART, will be the primary focus of this review. The functions and mechanisms of these microbiota will be discussed.

**キーワード：** endometrial microbiota, vaginal microbiota, gut microbiota

## はじめに

近年 ART も含む生殖医療の領域において細菌叢を理解することの重要度が増している。この総説では、主にARTと特に関連が深い腔内と子宮内、そして腸内細菌叢に注目し、その役割について考察する。

## 女性生殖器における細菌叢構成

### ①腔細菌叢

近年、腔内細菌叢の構成をCommunity state type (CST)<sup>1)</sup> で分類することが多い。具体的にはそれぞれ、*Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners*, *L. jensenii* が優位のCST I, II, III, V, そして*Lactobacillus*が減少し

*Atopobium*, *Gardnerella*, *Mobiluncus*や*Prevotella*を始めとする嫌気性菌が混在するCST IVという5つのCSTに基づいて腔内細菌叢を分類する。また最近ではVaginal community state type nearest centroid classifier (VALENCIA)<sup>2)</sup>等のデータベース充実による、さらに詳細なCST分類が行われている(表1)。

## ②子宮内細菌叢

子宮内細菌叢の構成については*Lactobacillus* 優位であるとする報告がある一方、摘出子宮から直接のサンプリングでは*Lactobacillus* 優位とするものと、ほぼ検出されないとする報告も混在し議論が続いている<sup>3,4)</sup>。子宮内の菌数は腔内と比べて多くとも数千分の一であると考えられる<sup>5)</sup>。経腔的に行われる子宮内サンプリングは腔内細菌叢のコンタミネーションのリスクがあり、サンプリング方法も統一化されていない<sup>6)</sup>。正常な子宮細菌叢の構成が定まらない限り、細菌叢の乱れ、いわゆるディスバイオーシスの診断根拠がない。腔内細菌叢も同時に採取し、子宮内から採取された

細菌の種類や菌数と比較するなど、精度管理の高い解析が必要である。

## 細菌叢と不妊

### 腔内細菌叢と不妊

不妊患者群と健常群において腔内細菌叢の構成が異なることが報告されている<sup>7)</sup>。その中でも*Lactobacillus* 優位な腔内細菌叢が妊娠の成功に重要であるとの報告が複数なされている<sup>8,9)</sup>。菌種レベルの報告では*Lactobacillus crispatus* が妊娠成功要因であった<sup>7)</sup>。逆に不妊に関連した菌種として*Atopobium*<sup>9,10)</sup>、*Gardnerella*<sup>11,12)</sup>、*Prevotella*<sup>9,11,13)</sup>などの嫌気性菌が挙げられている。嫌気性菌が優位になると相対的に*Lactobacillus* の存在比が減少するが、これも不妊に関連すると考えられている<sup>10,11)</sup>。反復着床不全(repeated implant failure: RIF)の症例では*Lactobacillus* の減少が見られたとする報告もあるが<sup>14)</sup>、特に妊娠成功例との違いを認めないとする報告も複数ある<sup>15,16)</sup>。さらに、不育症(recurrent

表1 VALENCIA による腔内細菌叢の CST 分類<sup>2)</sup>

CST 分類	特徴
CST I-A	<i>L. crispatus</i> 優位 (相対的存在量: 高)
CST I-B	<i>L. crispatus</i> 優位 (相対的存在量: 低)
CST II	<i>L. gasseri</i> 優位
CST III-A	<i>L. iners</i> 優位 (相対的存在量: 高)
CST III-B	<i>L. iners</i> 優位 (相対的存在量: 低)
CST V	<i>L. jensenii</i> 優位
CST IV-A	Candidatus <i>Lachnocurva vaginae</i> (BVAB1) 優位 かつ <i>G. vaginalis</i> (相対的存在量: 中)、 <i>Atopobium vaginae</i> (相対的存在量: 中) を伴う
CST IV-B	<i>G. vaginalis</i> 優位かつ <i>A. vaginae</i> (相対的存在量: 中)、Ca. <i>L. vaginae</i> (相対的存在量: 低) を伴う
CST IV-C0	<i>Lactobacillus</i> 属、 <i>G. vaginalis</i> 、 <i>A. vaginae</i> 、Ca. <i>L. vaginae</i> の相対的存在量が低く、 かつ <i>Prevotella</i> の相対的存在量が中程度
CST IV-C1	<i>Lactobacillus</i> 属、 <i>G. vaginalis</i> 、 <i>A. vaginae</i> 、Ca. <i>L. vaginae</i> の相対的存在量が低く、 かつ <i>Streptococcus</i> が優位
CST IV-C2	<i>Lactobacillus</i> 属、 <i>G. vaginalis</i> 、 <i>A. vaginae</i> 、Ca. <i>L. vaginae</i> の相対的存在量が低く、 かつ <i>Enterococcus</i> が優位
CST IV-C3	<i>Lactobacillus</i> 属、 <i>G. vaginalis</i> 、 <i>A. vaginae</i> 、Ca. <i>L. vaginae</i> の相対的存在量が低く、 かつ <i>Bifidobacterium</i> が優位
CST IV-C4	<i>Lactobacillus</i> 属、 <i>G. vaginalis</i> 、 <i>A. vaginae</i> 、Ca. <i>L. vaginae</i> の相対的存在量が低く、 かつ <i>Staphylococcus</i> が優位

pregnancy loss: RPL) では *Atopobium*, *Gardnerella*, *Prevotella* などの嫌気性菌の増加が関連したという報告がみられた<sup>17-19</sup>。総じて、腔内における *Lactobacillus* の減少ならびに嫌気性菌の増加が不妊と関わっているというエビデンスが蓄積されつつある。さらに、1255 人の IVF 患者を対象とした最新の研究では、*L.crispatus* や *L.iners* が 80% 程度腔内に存在する場合が最も妊娠率が高く、逆に 90% 以上では妊娠率が低下するという興味深い結果であった<sup>20</sup>。細菌性陰症 (BV) と不妊の関係も指摘されており、炎症性サイトカインやムチン分解などのメカニズムが考えられている<sup>21</sup>。

### 子宮内細菌叢と不妊

子宮内細菌叢研究では同時に腔内細菌叢の評価を行なった研究があり、前述の通り腔内に比して細菌数が少ないということ<sup>12</sup>に加え、同一個体内で腔内細菌叢と異なった細菌叢を認めたとする報告がなされている<sup>22</sup>。不妊との関連については、腔内細菌叢と同様に *Lactobacillus* の減少が不妊と関連しているという報告もある<sup>22</sup>が、子宮内の *Lactobacillus* 優位か否かの比較で妊娠率に差を認めなかったとする報告もある<sup>23</sup>。RIF 症例では、嫌気性菌の *Prevotella*<sup>16</sup>に加え多種多様な細菌群の増加が指摘されており<sup>15,24</sup>、健常群とは異なった子宮内細菌叢の存在が示唆されている。RPL についても健常群とは異なり<sup>25</sup>、*Lactobacillus* の減少<sup>18,26</sup>、*Gardnerella* の増加<sup>18</sup>に加え *Ureaplasma* の増加を認めたとする報告もある<sup>27</sup>。しかし、子宮内サンプルに対しての適切なコントロールをおいた研究はほとんどなく、前述した採取過程による腔内細菌のコンタミネーションの可能性を完全に排除することは難しい。そのような状況下で、子宮内細菌叢と不妊の関連については未だに明確となっていないのが現状である<sup>4</sup>。

またこれまでの子宮内細菌叢の研究は属レベルでの報告が多かったが、種レベルでの研究も出てきており、*L.iners* は他の *Lactobacillus* と比べ着床率が低いとの報告がある<sup>28</sup>。我々は *L.crispatus* がトロホプラスト細胞株の浸潤を促進することを既に報告しているが<sup>29</sup>、*L.iners* の培養上清がトロホプラストの浸潤を阻害しないものの、*L.crispatus* と比べると有意に促進はしないことを見出している (Bae et al. 投稿中)。

### 腸内細菌叢と不妊

腸内細菌叢と不妊に関しての報告も少ないながらも見受けられる。肛門と腔口の解剖学的な近さから腸内細菌叢から女性生殖器への直接的な細菌移動も起こることに加え、間接的に相互作用を持つと言われている<sup>30</sup>。具体的には腸管内の *Paraprevotella* と *Blautia* の減少に加え *Bifidobacterium* の増加が妊娠成功の予測因子となったと

いう報告がある<sup>31</sup>。間接的な不妊の原因として多嚢胞性卵巣症候群 (polycystic ovary syndrome: PCOS)<sup>32</sup>、子宮内膜症<sup>33</sup>と腸内細菌叢との関連も示唆されている。また男性側の細菌叢と不妊の関係では、腸内細菌叢の乱れが全身性の慢性炎症を引き起こし、精巣の環境に悪影響を及ぼす可能性が指摘されている (腸-精巣相関)<sup>34</sup>。腸内細菌叢は、精子の受精能力に影響を及ぼす活性酸素種 (ROS) の生成にも関与する可能性がある<sup>34</sup>。また腸内細菌叢のディスバイオーシスによる腸管バリアの構造的損傷は代謝障害、内分泌障害、インスリン抵抗性を引き起こし、これらはすべて精子形成に影響を及ぼしうる<sup>35</sup>。

### ART における細菌叢へのアプローチ

本邦では 2022 年に子宮内フローラ検査が先進医療として認められたが、未解明な問題点も多く存在するため、2023 年の ESHRE ガイドラインでは RIF における腔及び子宮の細菌叢のプロファイリングは推奨されていない<sup>36</sup>。BV では抗菌薬治療後の再発例も多いが、プロバイオティクスによる治療の有効性が報告されている<sup>37</sup>。近年、炎症性腸炎などで問題となる腸管内のディスバイオーシスを是正するために、腸内細菌叢移植 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT) が行われることがある。腔においても、将来的には同様に健常者の腔内細菌叢を移植する腔細菌叢移植が治療法の選択肢となる可能性がある<sup>38</sup>。しかし細菌叢移植は病原微生物や多剤耐性菌の感染リスクもあるため、健常者からの有効菌種の同定など研究の充実が望まれる。

子宮内膜の慢性的な炎症状態であり、子宮内膜の組織診が診断のゴールドスタンダードとされる慢性子宮内膜炎 (CE)<sup>39</sup>と子宮内細菌叢の関連も報告され始めている<sup>40</sup>。なかには起因菌の特定をせずに治療として広域抗菌薬の長期間投与をする医師がいるが、広域抗菌薬の長期間投与は薬剤耐性菌の拡大につながるため、感染症対策の面から問題となっている。薬剤耐性菌が世界的に増加する一方、新たな抗菌薬の開発は減少傾向にあり、感染症の治療に難渋するリスクが高まる。抗菌薬の適正使用について、よく理解し、治療にあたるべきである。加えて、抗菌薬長期間投与は腎障害、致死的不整脈、脳症などの重大な副作用が生じるリスクがある。さらに、複数のメタアナリシスで CE に対する抗菌薬治療は妊娠成績を向上させないとしている<sup>41, 42</sup>。子宮内膜の培養結果に基づき薬剤感受性を考慮して抗菌薬を選択投与した場合の CE 治療率は、研究デザインが異なるため直接比較は困難であるものの、他の広域抗菌薬を投与した研究と同様であったとの報告がある<sup>43</sup>。このように現状では、広域抗菌薬の副作用や耐性菌の出現リスクを明らかに上回るメリットを提示する明確なエビデンスが不足

している。不妊患者の腔内細菌叢からは薬剤耐性遺伝子が有意に高頻度で検出されたという報告もあり<sup>20)</sup>、子宮内フローラ検査後どのように治療介入すべきか、特に広域抗生剤の長期投与に関して慎重な検討が必要である。

## おわりに

本総説ではマイクロバイオームの中でも主に細菌叢に着目したが、ウイルス叢、特に細菌に感染するバクテリオファージや真菌叢についても今後研究が進んでいくと思われる。妊娠年齢が上昇している現状において、よりARTの成功率を高めるためには、女性生殖器の微生物叢について、より質の高い臨床研究の積み重ねによるエビデンスの確立が急務である。

## 参考文献

- 1) Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, Karlebach S, Gorle R, Russell J, Tacket CO, Brotman RM, Davis CC, Ault K, Peralta L, Forney LJ: Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108 (Supplement 1): 4680-4687, 2011.
- 2) France MT, Ma B, Gajer P, Brown S, Humphrys MS, Holm JB, Waetjen LE, Brotman RM, Ravel J: VALENCIA: a nearest centroid classification method for vaginal microbial communities based on composition. *Microbiome*, 8 (1): 166, 2020.
- 3) Mitra A, Gultekin M, Burney Ellis L, Bizzarri N, Bowden S, Taumberger N, Bracic T, Vieira-Baptista P, Sehouli J, Kyrgiou M: Genital tract microbiota composition profiles and use of prebiotics and probiotics in gynaecological cancer prevention: review of the current evidence, the European Society of Gynaecological Oncology prevention committee statement. *Lancet Microbe*, 5 (3): e291-e300, 2024.
- 4) Rokhsartalab Azar P, Karimi S, Haghtalab A, Taram S, Hejazi M, Sadeghpour S, Pashaei MR, Ghasemnejad-Berenji H, Taheri-Anganeh M: The role of the endometrial microbiome in embryo implantation and recurrent implantation failure. *J Reprod Immunol*, 162: 104192, 2024.
- 5) Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, Li F, Yu X, Feng Q, Wang Z, Xie H, Chen X, Zeng C, Wen B, Zeng L, Du H, Tang H, Xu C, Xia Y, Xia H, Yang H, Wang J, Wang J, Madsen L, Brix S, Kristiansen K, Xu X, Li J, Wu R, Jia H: The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun*, 8 (1): 875, 2017.
- 6) Inversetti A, Zambella E, Guarano A, Dell'Avanzo M, Di Simone N: Endometrial Microbiota and Immune Tolerance in Pregnancy. *Int J Mol Sci*, 24 (3): 2995, 2023.
- 7) Amato V, Papaleo E, Pasciuta R, Viganò P, Ferrarese R, Clementi N, Sanchez AM, Quaranta L, Burioni R, Ambrosi A, Salonia A, Clementi M, Candiani M, Mancini N: Differential Composition of Vaginal Microbiome, but Not of Seminal Microbiome, Is Associated With Successful Intrauterine Insemination in Couples With Idiopathic Infertility: A Prospective Observational Study. *Open Forum Infect Dis*, 7 (1): ofz525, 2019.
- 8) Bernabeu A, Lledo B, Díaz MC, Lozano FM, Ruiz V, Fuentes A, Lopez-Pineda A, Moliner B, Castillo JC, Ortiz JA, Ten J, Llacer J, Carratala-Munuera C, Orozco-Beltran D, Quesada JA, Bernabeu R: Effect of the vaginal microbiome on the pregnancy rate in women receiving assisted reproductive treatment. *J Assist Reprod Genet*, 36 (10): 2111-2119, 2019.
- 9) Fu M, Zhang X, Liang Y, Lin S, Qian W, Fan S: Alterations in Vaginal Microbiota and Associated Metabolome in Women with Recurrent Implantation Failure. *mBio*, 11 (3): e03242-19, 2020.
- 10) Zhao C, Wei Z, Yang J, Zhang J, Yu C, Yang A, Zhang M, Zhang L, Wang Y, Mu X, Heng X, Yang H, Gai Z, Wang X, Zhang L: Characterization of the Vaginal Microbiome in Women with Infertility and Its Potential Correlation with Hormone Stimulation during In Vitro Fertilization Surgery. *mSystems*, 5 (4): e00450-20, 2020.
- 11) Kong Y, Liu Z, Shang Q, Gao Y, Li X, Zheng C, Deng X, Chen T: The Disordered Vaginal Microbiota Is a Potential Indicator for a Higher Failure of in vitro Fertilization. *Front Med (Lausanne)*, 7: 217, 2020.
- 12) Wee BA, Thomas M, Sweeney EL, Frentiu FD, Samios M, Ravel J, Gajer P, Myers G, Timms P, Allan JA, Huston WM: A retrospective pilot study to determine whether the reproductive tract microbiota differs between women with a history of infertility and fertile women. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 58 (3): 341-348, 2018.
- 13) Carosso A, Revelli A, Gennarelli G, Canosa S, Cosma S, Borella F, Tancredi A, Paschero C, Boatti L, Zanotto E, Sidoti F, Bottino P, Costa C, Cavallo R, Benedetto C: Controlled ovarian stimulation and progesterone supplementation affect vaginal and endometrial microbiota in IVF cycles: a pilot study. *J Assist Reprod Genet*, 37 (9): 2315-2326, 2020.
- 14) Kitaya K, Nagai Y, Arai W, Sakuraba Y, Ishikawa T: Characterization of Microbiota in Endometrial Fluid and Vaginal Secretions in Infertile Women with Repeated Implantation Failure. *Mediators Inflamm*, 2019: 4893437, 2019.
- 15) Ichiyama T, Kuroda K, Nagai Y, Urushiyama D, Ohno M, Yamaguchi T, Nagayoshi M, Sakuraba Y, Yamasaki F, Hata K, Miyamoto S, Itakura A, Takeda S, Tanaka A: Analysis of vaginal and endometrial microbiota communities in infertile women with a history of repeated implantation failure. *Reprod Med Biol*, 20 (3): 334-344, 2021.
- 16) Diaz-Martínez MDC, Bernabeu A, Lledó B, Carratalá-Munuera C, Quesada JA, Lozano FM, Ruiz V, Morales R, Llácer J, Ten J, Castillo JC, Rodríguez A, Nouni-García R, López-Pineda A, Moliner B, Bernabeu R: Impact of the Vaginal and Endometrial Microbiome Pattern on Assisted Reproduction Outcomes. *J Clin Med*, 10 (18): 4063, 2021.
- 17) Al-Memar M, Bobdiwala S, Fourie H, Mannino R, Lee YS, Smith A, Marchesi JR, Timmerman D, Bourne T, Bennett PR, MacIntyre DA: The association between vaginal

- bacterial composition and miscarriage: a nested case-control study. *BJOG*, 127 (2): 264-274, 2020.
- 18) Peuranpää P, Holster T, Saqib S, Kalliala I, Tiitinen A, Salonen A, Hautamäki H: Female reproductive tract microbiota and recurrent pregnancy loss: a nested case-control study. *Reprod Biomed Online*, 45 (5): 1021-1031, 2022.
  - 19) Jiao X, Zhang L, Du D, Wang L, Song Q, Liu S: Alteration of vaginal microbiota in patients with recurrent miscarriage. *J Obstet Gynaecol*, 42 (2): 248-255, 2022.
  - 20) Wang T, Li P, Bai X, Tian S, Yang M, Leng D, Kui H, Zhang S, Yan X, Zheng Q, Luo P, He C, Jia Y, Wu Z, Qiu H, Li J, Wan F, Ali MA, Mao R, Liu YX, Li D: Vaginal microbiota are associated with in vitro fertilization during female infertility. *Imeta*, 3 (3): e185, 2024.
  - 21) Ravel J, Moreno I, Simón C: Bacterial vaginosis and its association with infertility, endometritis, and pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol*, 224 (3): 251-257, 2021.
  - 22) Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martínez-Blanch JF, Jiménez-Almazán J, Alonso R, Alamá P, Remohí J, Pellicer A, Ramon D, Simon C: Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol*, 215 (6): 684-703, 2016.
  - 23) Kyono K, Hashimoto T, Nagai Y, Sakuraba Y: Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile patients: a single-center pilot study. *Reprod Med Biol*, 17 (3): 297-306, 2018.
  - 24) Lozano FM, Lledó B, Morales R, Cascales A, Hortal M, Bernabeu A, Bernabeu R: Characterization of the Endometrial Microbiome in Patients with Recurrent Implantation Failure. *Microorganisms*, 11 (3): 741, 2023.
  - 25) Verstraelen H, Vilchez-Vargas R, Desimpel F, Jauregui R, Vankeirsbilck N, Weyers S, Verhelst R, De Sutter P, Pieper DH, Van De Wiele T: Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene. *PeerJ*, 4: e1602, 2016.
  - 26) Liu FT, Yang S, Yang Z, Zhou P, Peng T, Yin J, Ye Z, Shan H, Yu Y, Li R: An Altered Microbiota in the Lower and Upper Female Reproductive Tract of Women with Recurrent Spontaneous Abortion. *Microbiol Spectr*, 10 (3): e0046222, 2022.
  - 27) Shi Y, Yamada H, Sasagawa Y, Tanimura K, Deguchi M: Uterine endometrium microbiota and pregnancy outcome in women with recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol*, 152: 103653, 2022.
  - 28) Kadogami D, Kimura F, Hanada T, Tsuji S, Nakaoka Y, Murakami T, Morimoto Y: Impact of *Lactobacillus* in the uterine microbiota on in vitro fertilization outcomes. *J Reprod Immunol*, 160: 104138, 2023.
  - 29) Yoshida T, Takada K, Komine-Aizawa S, Kamei Y, Ishihara O, Hayakawa S: *Lactobacillus crispatus* promotes invasion of the HTR-8/SVneo trophoblast cell line. *Placenta*, 111: 76-81, 2021.
  - 30) Takada K, Melnikov VG, Kobayashi R, Komine-Aizawa S, Tsuji NM, Hayakawa S: Female reproductive tract-organ axes. *Front Immunol*, 14: 1110001, 2023.
  - 31) Komiya S, Naito Y, Okada H, Matsuo Y, Hirota K, Takagi T, Mizushima K, Inoue R, Abe A, Morimoto Y: Characterizing the gut microbiota in females with infertility and preliminary results of a water-soluble dietary fiber intervention study. *J Clin Biochem Nutr*, 67 (1): 105-111, 2020.
  - 32) Sun Y, Gao S, Ye C, Zhao W: Gut microbiota dysbiosis in polycystic ovary syndrome: Mechanisms of progression and clinical applications. *Front Cell Infect Microbiol*, 13: 1142041, 2023.
  - 33) Qin R, Tian G, Liu J, Cao L: The gut microbiota and endometriosis: From pathogenesis to diagnosis and treatment. *Front Cell Infect Microbiol*, 12: 1069557, 2022.
  - 34) Magill RG, MacDonald SM: Male infertility and the human microbiome. *Front Reprod Health*, 5: 1166201, 2023.
  - 35) Lv S, Huang J, Luo Y, Wen Y, Chen B, Qiu H, Chen H, Yue T, He L, Feng B, Yu Z, Zhao M, Yang Q, He M, Xiao W, Zou X, Gu C, Lu R: Gut microbiota is involved in male reproductive function: a review. *Front Microbiol*, 15: 1371667, 2024.
  - 36) ESHRE Working Group on Recurrent Implantation Failure; Cimadomo D, de Los Santos MJ, Griesinger G, Lainas G, Le Clef N, McLernon DJ, Montjean D, Toth B, Vermeulen N, Macklon N: ESHRE good practice recommendations on recurrent implantation failure. *Hum Reprod Open*, 2023 (3): hoad023, 2023.
  - 37) Cohen CR, Wierzbicki MR, French AL, Morris S, Newmann S, Reno H, Green L, Miller S, Powell J, Parks T, Hemmerling A: Randomized Trial of Lactin-V to Prevent Recurrence of Bacterial Vaginosis. *N Engl J Med*, 382 (20): 1906-1915, 2020.
  - 38) Meng Y, Sun J, Zhang G: Vaginal microbiota transplantation is a truly opulent and promising edge: fully grasp its potential. *Front Cell Infect Microbiol*, 14: 1280636, 2024.
  - 39) Cicinelli E, McQueen DB, Huepfel B, Vitagliano A, Moreno I, Simon C, Pirtea P, Scott RT Jr, Bellavia M, de Ziegler D: Should patients be screened for chronic endometritis before assisted reproductive technology? *Fertil Steril*, 118 (4): 639-652, 2022.
  - 40) Zhang H, Zou H, Zhang C, Zhang S: Chronic endometritis and the endometrial microbiota: implications for reproductive success in patients with recurrent implantation failure. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 23 (1): 49, 2024.
  - 41) Kato H, Yamagishi Y, Hagihara M, Hirai J, Asai N, Shibata Y, Iwamoto T, Mikamo H: Systematic review and meta-analysis for impacts of oral antibiotic treatment on pregnancy outcomes in chronic endometritis patients. *J Infect Chemother*, 28 (5): 610-615, 2022.
  - 42) Guo JH, Mi HX: Comment on: Does antibiotic therapy for chronic endometritis improve clinical outcomes of patients with recurrent implantation failure in subsequent IVF cycles? a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*, 40 (5): 1225-1226, 2023.
  - 43) Cicinelli E, Resta L, Loizzi V, Pinto V, Santarsiero C, Cicinelli R, Greco P, Vitagliano A: Antibiotic therapy versus no treatment for chronic endometritis: a case-control study. *Fertil Steril*, 115 (6): 1541-1548, 2021.

# ARTに関わるマイクロバイオーーム ～子宮内細菌叢の着床への影響～

Impact of uterine microbiota on implantation

門上 大祐<sup>1,2</sup>, 中岡 義晴<sup>1</sup>, 村上 節<sup>2</sup>, 森本 義晴<sup>3</sup>

Daisuke Kadogami<sup>1,2</sup>, Yoshiharu Nakaoka<sup>1</sup>, Takashi Murakami<sup>2</sup>, Yoshiharu Morimoto<sup>3</sup>

<sup>1</sup>IVF なんばクリニック 〒550-0015 大阪市西区南堀江 1-17-28

<sup>2</sup>滋賀医科大学大学院 産科学婦人科学講座 〒520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町

<sup>3</sup>HORAC グランフロント大阪クリニック 〒530-0011 大阪市北区大深町 3-1 グランフロント大阪 タワー B 15F

<sup>1</sup>IVF Namba Clinic

<sup>2</sup>Department of Obstetrics & Gynecology, Shiga University of Medical Science

<sup>3</sup>HORAC Grandfront Osaka Clinic

**要旨：** 細菌叢とは、特定の環境や生物の体内に生息する細菌の集まりを指す。ヒトと共生する40～100兆個の常在菌は体の各部位で細菌叢を形成しており、細菌叢の異常 (dysbiosis) は宿主の不利になることが知られている。2009年に米国国立衛生研究所 (National Institutes of Health : NIH) 主導で開始した Human microbiome project により、ヒトの尿生殖器には全体の約9%の細菌が存在し、大部分を Lactobacillus 属が占めることが報告された。女性生殖器においては、腔細菌叢の研究から始まり、現在では子宮内にも細菌叢が存在することが明らかとなっている。2016年のMorenoらの報告以降、子宮内細菌叢と妊娠との関連が注目されているが、一致した見解は得られていない。本稿では、我々が検討した反復着床不全症例を対象に行った子宮内細菌叢検査の結果を用いて、子宮内 dysbiosis 症例に対して適切な治療を行うことで着床率が改善すること、また種レベルでの菌叢解析の重要性を示し、子宮内細菌叢の役割について文献的考察を踏まえて報告する。

**キーワード：** 子宮内細菌叢, 腔内細菌叢, ART, 着床

**英文要旨：** A microbiota refers to a community of bacteria residing in a specific environment or within a living organism. There are between 40 to 100 trillion commensal bacteria coexisting with the human body, forming microbiota in various parts of the body. It is known that dysbiosis, an imbalance in the microbiota, can be detrimental to the host. Initiated in 2009 by the National Institutes of Health (NIH), the Human Microbiome Project revealed that approximately 9% of the bacteria in the human body are found in the urogenital tract, with the majority belonging to the Lactobacillus genus. Research on the female reproductive tract initially focused on the vaginal microbiota, and it has since been discovered that the uterus also harbors its own microbiota. Since the 2016 report by Moreno et al., there has been increasing interest in the relationship between the uterine microbiota and pregnancy, although a consensus has not yet been reached. This review reports on the results of uterine microbiota examinations conducted on cases of repeated implantation failure that we investigated. The findings demonstrate that appropriate treatment for cases of dysbiosis can improve pregnancy outcomes, and they highlight the importance of species-level microbiota analysis, contributing to the understanding of the role of the uterine microbiota through a review of the literature.

**キーワード：** Assisted reproductive technology, Implantation, Uterine microbiota, Vaginal microbiota

## はじめに

ヒトの体は37兆2000億個の細胞から形成されており、体内外に生息する常在菌は40～100兆個に及ぶ<sup>1)</sup>。これらは腸内や口腔内など様々な部位で細菌叢を形成し、生息部位の機能発現や免疫調整などの役割を担っていることが知られている<sup>2-4)</sup>。2009年にはNIH主導でHuman microbiome projectが開始され、尿生殖器には全体の約9%の細菌が存在すること、大部分を*Lactobacillus*属が占めることが明らかとなった<sup>5)</sup>。その後、女性生殖器については膣や子宮内細菌叢が不妊症や生殖補助医療の成績に重要な役割を担う可能性が示唆されている<sup>6-10)</sup>。

本稿では膣細菌叢での知見を通して、子宮内細菌叢と着床の関係について、種解析の観点から最新の知見と当院での臨床結果を交えて論じる。

## 膣細菌叢について

一般的に、理想的な膣細菌叢とは*Lactobacillus*属が豊富な状態と定義されており<sup>11)</sup>、*Lactobacillus*からの乳酸産生による酸性環境形成と膣の感染防御には強い相関関係がある<sup>12-14)</sup>。妊娠転帰に与える影響についての研究では、早期前期破水を経験した女性の膣内細菌叢は、*Lactobacillus*の存在比率が少なく多様性に富んでおり、さらには*Gardnerella*や*Ureaplasma*の存在が早期陣痛発来と関連していることが報告されている<sup>15,16)</sup>。近年、種レベルでの細菌叢解析が可能になり、膣内細菌叢で検出される*Lactobacillus*は約20種存在すること、その中でも*L.crispatus*、*L.iners*、*L.gasseri*、*L.jensenii*の1つまたは2つの種が大部分の女性では支配的であることが知られるようになった<sup>17,18)</sup>。加えてVaginal Microbiome Consortiumでは、膣内細菌叢に存在する*L.crispatus*が早産と負の相関を示すことを報告している<sup>19)</sup>。一方で*L.iners*はその存在量が*L.Crispatus*と逆相関する<sup>20,21)</sup>ことや、反復流産と関連すること<sup>19)</sup>が報告されており、*Lactobacillus*属の中でも種によって異なる挙動を示す事が明らかとなっている。

## 子宮内細菌叢について

着床・妊娠は子宮内腔で起こる現象であるため、生殖医療の領域においては特に子宮内細菌叢と着床に関する詳細な研究への関心が高まっているが、子宮内の*Lactobacillus*属の着床に及ぼす影響について、種解析で評価した報告は少ない。過去には、1900年のHenry Tissierによる報告以降、健康な子宮内腔は無菌であるとい

うパラダイムが存在し、頸部に膣からの菌侵入を阻止する不浸透性バリアが存在すると仮定されていた<sup>22,23)</sup>が、子宮内にも細菌叢が存在すること、さらには頸部粘液栓が膣からの上行性感染を完全に防ぐわけでないことが示された<sup>24)</sup>。その後の研究で、子宮内細菌叢の組成について一致した見解は得られていないが<sup>7,25)</sup>、2016年のMorenoらの報告では、ARTによる妊娠転帰に子宮内の*Lactobacillus*の豊富さ(≥90%)が関連していることを述べている<sup>26)</sup>。一方で、特定の*Lactobacillus*の種にベネフィットがあるかどうかについては明らかにされていない。

## 着床における子宮内細菌叢の役割

無菌マウスでは、胚移植後の妊娠率が通常マウスよりも低いことが報告されており<sup>27)</sup>、子宮内の細菌(または細菌叢)が妊娠に関与している可能性は高い。子宮内膜の炎症性サイトカイン(例: Interleukin -6 (IL-6))および抗炎症性サイトカイン(例: IL-10)の分泌状態は原因不明不妊と相関関係にあること<sup>28)</sup>、さらに子宮内dysbiosisが、これらのサイトカインの均衡に影響し胚盤胞の健全な発育と着床に影響していることが報告されている<sup>29)</sup>。加えて*Lactobacillus*が産生する乳酸はToll様受容体活性化を介して炎症性サイトカインおよびケモカインの産生を阻害する抗炎症特性を有する事が知られるようになり<sup>30,31)</sup>、Blazhevaらは、子宮内細菌叢における*Lactobacillus*がT-cellの制御に関与している可能性について述べている<sup>32)</sup>。その他にも子宮内細菌叢の子宮内膜のゲノム変化やpHへの影響、上皮バリア機能への影響が報告されている<sup>33)</sup>。より詳細な解明が進んでいる腸内細菌叢の分野でも、細菌やその代謝物がTreg新生やT-cellの分化など、免疫系の調節に関与している報告<sup>34)</sup>が多く見受けられ、妊娠の成立、維持のために厳密に制御されている子宮内の免疫環境が細菌などの微生物の影響を受けていることは十分可能性がある。

## 子宮内細菌叢と着床率

ART反復着床不全症例に対する子宮内細菌叢評価の有用性について、当院での臨床結果を紹介する<sup>35)</sup>。

### ①子宮内dysbiosis治療前後の着床率の比較

ART反復着床不全症例に対して子宮内細菌叢を評価し、dysbiosis(*Lactobacillus*<80%)であった症例を対象に、metronidazole膣錠250mg/day、内服750mg/dayを7日間、その後Probiotics膣錠1Capsule/dayを7日間投与し、再検にてeubiosis(*Lactobacillus*≥80%)

を確認した39人に凍結融解単一胚盤胞移植を行った。結果、治療後に着床率は有意に改善しており(15.2% vs 64.9%,  $P < 0.05$ )、子宮内細菌叢の*Lactobacillus*が着床に寄与する可能性が示唆された。

一方で、dysbiosisとeubiosisで着床率に影響しないと述べる報告もあり、一致した結論は得られていない。その理由として、細菌叢検査手技やdysbiosisの定義が統一されていないことが挙げられるが、後に示すように既存の報告が*Lactobacillus*を属レベルで評価してい

ることが原因の1つと考えている。

## ② *Lactobacillus* 種毎の着床率の比較

ART反復着床不全症例に対して子宮内細菌叢を評価し、eubiosisであった87人に対して凍結融解単一胚盤胞移植を行い、着床率を*Lactobacillus*の菌種毎で比較したところ、*L.iners*が優勢の症例では着床率が低い傾向を認め(表1-1)、特に*L.iners*とその他の*Lactobacillus*で比較すると前者の着床率は有意に低い結果であった(表1-2)。

表1-1 LD 症例に対する凍結融解単一胚盤胞移植の結果(優勢菌種毎の比較)  
(着床率: GS 確認症例数 / 移植回数、流産率: 流産症例数 / GS 確認症例数)

Dominant species	<i>L. iners</i>	<i>L. crispatus</i>	<i>L. gasseri</i>	<i>L. jensenii</i>	P Value
症例数	34	22	10	7	
<i>Lactobacillus</i> 占有率 (%)	97.1 (82.8-99.7)	96.5 (93.9-99.1)	89.5 (86.7-97.9)	89.4 (80.8-97.1)	.212*1
年齢 (y)	36.9 ± 3.9	37.2 ± 4.4	37.6 ± 4.0	37.2 ± 3.8	.428*1
妊娠歴	10	7	4	3	.743*2
出産歴	5	3	1	0	.162*2
ART治療歴					
移植回数	37	24	10	7	
移植時内膜厚 (mm)	10.47 ± 1.41	9.84 ± 1.03	10.01 ± 2.01	10.22 ± 1.05	.192*1
着床率 (%)	27.0 (8/37)	58.3 (14/24)	50.0 (5/10)	57.1 (4/7)	.068*2
流産率 (%)	50.0 (4/8)	35.7 (5/14)	40.0 (2/5)	25.0 (1/4)	.446*1
着床症例の年齢 (y)	34.5 ± 3.8	35.4 ± 4.1	36.3 ± 3.3	36.7 ± 3.4	.463*1

\*1 One-way ANOVA \*2 Chi-squared test

表1-2 LD 症例に対する凍結融解単一胚盤胞移植の結果 (*L.iners* vs Other *Lactobacillus* の比較)  
(着床率: GS 確認症例数 / 移植回数、流産率: 流産症例数 / GS 確認症例数)

Dominant species	<i>L. iners</i>	Others	P Value
症例数	34	39	
年齢 (y)	36.9 ± 3.9	37.4 ± 3.3	.471*1
<i>Lactobacillus</i> 占有率 (%)	96.9 (82.8-99.7)	97.1 (80.8-99.1)	.522*2
ART治療歴			
移植回数	37	41	
移植時内膜厚 (mm)	10.47 ± 1.41	9.95 ± 1.28	.226*2
着床率 (%)	27.0 (8/37)	56.1 (23/41)	.019*3
流産率 (%)	50.0 (4/8)	43.4 (8/23)	.734*3
着床症例の年齢 (y)	34.5 ± 3.8	36.2 ± 4.4	.497*1

\*1 Student's t test \*2 Mann-Whitney U test \*3 Chi-squared test

## 女性生殖器細菌叢における*Lactobacillus*の役割

*Lactobacillus*の役割としては、膣内細菌叢では乳酸産生による膣内酸性環境の形成やH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の産生が知られており<sup>36)</sup>、この作用によって膣内での病原性細菌増殖抑制効果を担っている。これを種レベルで検討すると、乳酸産生の多い*L.crispatus*と膣内pHは逆の相関関係を維持しているが、*L.iners*、*A.vaginae*、*G.vaginalis*と膣内pHは正の相関をすることを示す報告がある<sup>36)</sup>。また、*L.crispatus*、*L.gasseri*、*L.jensenii*が微生物増殖抑制効果を担うH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を産生するのに対し、*L.iners*は産生しない<sup>37)</sup>など、種レベルではその作用が異なる。従って膣内で*L.iners*が優勢であっても潜在的に有害な細菌の増殖抑制が期待できない可能性があり<sup>38)</sup>、*L.iners*優勢の場合は膣dysbiosisに移行する可能性が高い報告もこれを裏付けるものである<sup>39)</sup>。膣細菌叢の妊娠転帰への影響についても、膣のdysbiosisが前期破水や早産との関係することは知られてきたが、最近では膣がeubiosisの状態であっても*L.iners*が優勢の場合は有意に前期破水が生じやすいことが報告<sup>40)</sup>されており、膣内の*L.iners*が炎症のマーカーとなる可能性も示唆されている<sup>36)</sup>。さらに、提供卵子を用いたIVF/ICSIの妊娠成績と膣内細菌叢の関係を評価した報告では、特に*L.crispatus*が優勢であった場合に妊娠成績が良好であることを述べている<sup>41)</sup>。このように膣細菌叢における研究結果から、女性生殖器細菌叢における*Lactobacillus*の役割については*L.iners*とそれ以外で分けて考える必要があると思われる。

## *L.crispatus*の着床への影響

*L.crispatus*がARTにおける着床、妊娠転帰に有益な役割を担っていると考えられており、例えば*L.crispatus* (M247)の投与を受けた女性はARTによる臨床妊娠率が56%増加したことを報告している<sup>42)</sup>。またBuiらは<sup>43)</sup>、初回ART不成功の方を対象に子宮内細菌叢の評価を行い、結果に係らず治療介入せずにその後12か月間の経過を観察し、期間内に出産に至った女性はそうでない女性と比較して、有意に*L.crispatus*の存在率が高いことを報告している。その機序としてYoshidaらは<sup>44)</sup>、*L.crispatus*の生菌および培養上清がH8細胞の浸潤能を促進することを報告し、*L.crispatus*が着床機構に有意な役割を示唆しており、栄養膜の侵入不良は胎盤形成不全、子宮内発育遅延に繋がる可能性が報告されていることから<sup>45)</sup>、この過程に*Lactobacillus*が関与していることは大変興味深い。また、*L.crispatus*は酸性

環境の維持や抗菌化合物の産生による抗微生物活性だけでなく、局所免疫の調整能が知られており、適切な子宮内膜環境の維持に貢献している可能性も示唆されている<sup>46)</sup>。このように*L.crispatus*の妊娠への有益性報告が多くあり、今後作用機序や具体的な臨床応用手段についての更なる研究が必要ではあるが、原因不明不妊に対するART転帰を改善できる可能性がある。

## *L.iners*の着床への影響

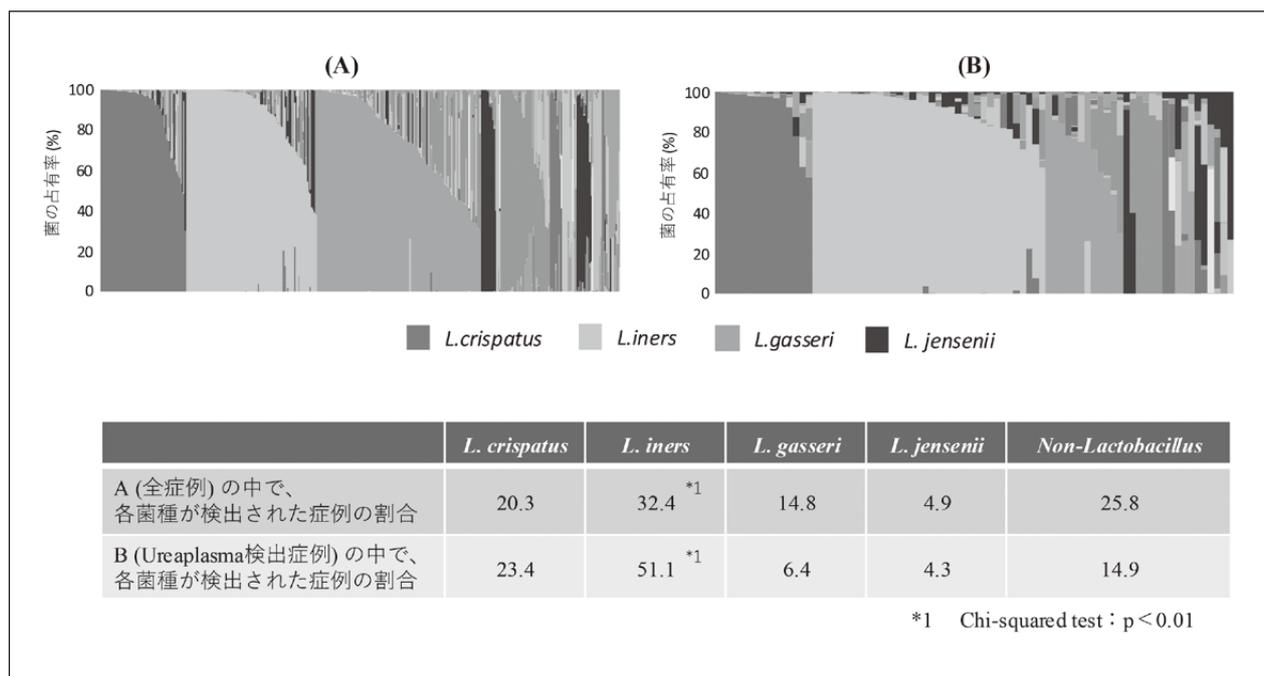
*L.iners*は*Lactobacillus*の中でも比較的新しく検出された菌種である。抗微生物活性を有するD-乳酸やH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を産生しないことが知られており、膣細菌叢の研究では*L.iners*優勢の菌叢はBVに移行しやすく、性感染症の罹患リスクになることが報告されている<sup>37)</sup>。また、*L.iners*は複雑な栄養要求性を持つことが知られおり、*L.crispatus*、*gasseri*、*jensenii*のゲノムが3～4Mbpであるのに対し、*L.iners*は約1Mbpと小さく、栄養学的にも生存には他の菌との共生が必要である可能性が指摘されている<sup>37)</sup>。そのため*L.iners*のゲノムには、*Gardnerella vaginalis*のvaginolysinのように細胞膜に穴をあけることで細胞障害性を発揮する毒素であるinerolysinがコードされていることも知られている<sup>47)</sup>。*L.iners*が優勢の場合に着床率が下がる原因として、直接的には抗微生物活性の低下やinerolysinが子宮内膜に及ぼす影響が考えられる。一方で、*L.iners*がその特性から特定の菌と共生しやすい可能性があり、2020年6月から2021年6月の期間に当院が行った子宮内細菌叢検査182症例を解析したところ、*Lactobacillus*の中でも特に*L.iners*症例は*Ureaplasma*と共生している割合が有意に高いこと示唆する結果が得られている(表2)。*Ureaplasma*は着床不全の原因となる慢性子宮内膜炎の起炎菌であることが知られており<sup>48)</sup>、このように共生菌の存在が妊娠率の低下に寄与している可能性も考えられている。これは同一検体で子宮内細菌叢と慢性子宮内膜炎の評価を行うことで新しい知見が得られるため、今後の課題である。

## 今後の展望

ARTにおける子宮内細菌叢評価の有用性についての報告は徐々に増加しているが、子宮内細菌叢dysbiosisの定義や検体採取手技が統一されていない。

膣内細菌叢の菌量は10<sup>8</sup>～10<sup>9</sup>CFU/mL程度であるのに対し、子宮内細菌叢では10<sup>3</sup>～10<sup>4</sup>CFU/mL程度とされており<sup>49,50)</sup>、経膣的なサンプリングがコンタミネーションのリスクが非常に高いことはよく知られている。リスク低減

表2 全症例 (A) および *Ureaplasma* 検出症例 (B) において, *Lactobacillus* が検出された割合



のため、膣の十分な洗浄、膣壁や子宮腔部への接着の回避、ダブルルーメンカテーテルの使用などが考えられ、検査手技の統一化は必要不可欠である。一方で子宮内細菌叢は膣内細菌叢の影響を強く受けており、実際に膣からの上行性感染によって子宮内に菌が定着していることを示す報告<sup>51)</sup>もあることから、膣内細菌叢の結果から子宮内細菌叢を評価するプロトコールが今後有用になるかもしれない。また、*Lactobacillus*の中でも*L.iners*を選択的に増殖阻害する治療法の解明も期待される分野である。

### 参考文献

- 1) Bianconi E, Piovesan A, Facchin F, et al: An estimation of the number of cells in the human body. *Ann Hum Biol*, 40 (6): 463-471, 2013.
- 2) Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, Goodman AL, Gordon JI: Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*, 474: 327-36, 2011.
- 3) Chen L, Bingcai Qin, Minquan Du, Huanzi Zhong, Qingan Xu, Yuhong Li, Ping Zhang, Mingwen Fan: Extensive description and comparison of human supra-gingival microbiome in root caries and health. *PLoS One*, 10: e0117064, 2015.
- 4) Conlon MA, Bird AR: The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health. *Nutrients*, 7: 17-44, 2014.
- 5) Antonio G, Yoshiki VB, Rob K: Snapshot: the human microbiome. *Cell*, 31: 158(3): 690, 2014.
- 6) Bruno T, Carlos S, Moreno I: The Endometrial Microbiome

- and Its Impact on Human Conception. *Int J Mol Sci*, 1: 23 (1): 485, 2022.
- 7) Weijun C, Kehong W, Xia H, Jing W, Lijuan Y, Lin L, Tingtao C, Buzhen T: Identification of Uterine Microbiota in Infertile Women Receiving in vitro Fertilization With and Without Chronic Endometritis. *Front Cell Dev Biol*, 9: 693267, 2021.
- 8) Francisca ML, Belen L, Ruth M, Alba C, Monica H, Andrea B, Rafael B: Characterization of the endometrial microbiome in patients with recurrent implantation failure. *Microorganisms*, 11(3): 741, 2023.
- 9) Diana MB, Ignacio CA, Elizabeth GG: Current findings in endometrial microbiome: impact on uterine diseases. *Reproduction*, 163(5): R81-R96, 2022.
- 10) Doerflinger SY, Throop AL, Herbst-Kralovetz MM: Bacteria in the vaginal microbiome alter the innate immune response and barrier properties of the human vaginal epithelia in a species-specific manner. *J Infect Dis*, 209: 1989-99, 2014.
- 11) Srinivasan S, Liu C, Mitchell CM, Fiedler TL, Thomas KK, Agnew KJ, Marrazzo JM, Fredricks DN: Temporal variability of human vaginal bacteria and relationship with bacterial vaginosis. *PLoS One*, 5: e10197, 2010.
- 12) Breshears LM, Edwards VL, Ravel J, Peterson ML: *Lactobacillus crispatus* inhibits growth of *Gardnerella vaginalis* and *Neisseria gonorrhoeae* on porcine vaginal mucosa model. *BMC Microbiol*, 15: 276, 2015.
- 13) Aldunate M, Srbinovski D, Hearps AC, Latham CF, Ramsland PA, Gugasyan R, Cone AR, Tachedjian G: Antimicrobial and immune modulatory effects of lactic acid and short chain fatty acids produced by vaginal

- microbiota associated with eubiosis and bacterial vaginosis. *Front Physiol*, 6: 164, 2015.
- 14) Tachedjian G, O'Hanlon DE, Ravel J: The implausible "in vivo" role of hydrogen peroxide as an antimicrobial factor produced by vaginal microbiota. *Microbiome*, 6: 29, 2018.
  - 15) Jayaprakash TP, Wagner EC, Schalkwyk J, Albert AY, Hill JE, Money DM, PPRM Study Group: High diversity and variability in the vaginal microbiome in women following preterm premature rupture of membranes (PPROM) : a prospective cohort study. *PLoS One*, 11: e0166794, 2016.
  - 16) Genovese C, Corsello S, Nicolosi D, Aidala V, Falcidia E, Tempera G: Alterations of the vaginal microbiota in the third trimester of pregnancy and pPPROM. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 20: 3336-43, 2016.
  - 17) Lamont RF, Sobel JD, Akins RA, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Romero R: The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. *BJOG*, 118:533-49, 2010.
  - 18) Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL: Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 4680-7, 2011.
  - 19) Fettweis JM, Serrano MG, Brooks JP, Edwards DJ, Girerd PH, Parikh HI, Huang B, Arodz TJ, Edupuganti L, Glascock AL, Xu J, Jimenez NR, Vivadelli SC, Fong SS, Sheth NU, Jean S, Lee V, Bokhari YA, Lara AM, Mistry SD, Duckworth RA 3rd, Bradley SP, Koparde VN, Orenda XV, Milton SH, Rozycki SK, Matveyev AV, Wright ML, Huzurbazar SV, Jackson EM, Smirnova E, Korlach J, Tsai YC, Dickinson MR, Brooks JL, Drake JI, Chaffin DO, Sexton AL, Gravett MG, Rubens CE, Wijesooriya NR, Hendricks-Muñoz KD, Jefferson KK, Strauss JF 3rd, Buck GA: The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat Med*, 25: 1012-21, 2019.
  - 20) Santiago GL, Cools P, Verstraelen H, Trog M, Missine G, Aila NE, Verhelst R, Tency I, Claeys G, Temmerman M, Vaneechoutte M: Longitudinal study of the dynamics of vaginal microflora during two consecutive menstrual cycles. *PLoS One*, 6(11) : e28180, 2011.
  - 21) antiago GL, Tency I, Verstraelen H, Verhelst R, Trog M, Temmerman M, Vancoillie L, Decat E, Cools P, Vaneechoutte M: Longitudinal qPCR study of the dynamics of *L. crispatus*, *L. iners*, *A. vaginae*, (sialidase positive) *G. vaginalis*, and *P. bivia* in the vagina. *PLoS One*, 7(9) : e45281, 2012.
  - 22) Carre G, Naud C. Tissier: Recherches sur la flore intestinale des nourrissons (état normal et pathologique) . Paris: Dissertation 1900.
  - 23) Quayle AJ: The innate and early immune response to pathogen challenge in the female genital tract and the pivotal role of epithelial cells. *J Reprod Immunol*, 57(1-2):61-79, 2002.
  - 24) Hansen LK, Becher N, Bastholm S, Glavind J, Ramsing M, Kim CJ, Romero R, Jensen JS, Uldbjerg N: The cervical mucus plug inhibits, but does not block, the passage of ascending bacteria from the vagina during pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 93(1) : 102-8, 2014.
  - 25) Hashimoto T, Kyono K: Does dysbiotic endometrium affect blastocyst implantation in IVF patients?. *J Assist Reprod Genet*, 36(12) : 2471-2479, 2019.
  - 26) Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazán J, Alonso R, Alamá P, Remohí J, Pellicer A, Ramon D, Simon C: Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol*, 215(6) : 684-703, 2016.
  - 27) Inzunza J, Midtvedt T, Fartoo M, Norin E, Osterlund E, Persson AK, Ahrlund-Richter L: Germfree status of mice obtained by embryo transfer in an isolator environment. *Lab Anim*, 39(4) : 421-7, 2005.
  - 28) Sarapik A, Velthut A, Haller-Kikkatalo K, Faure GC, Béné MC, de Carvalho Bittencourt M, Massin F, Uibo R, Salumets A: Follicular proinflammatory cytokines and chemokines as markers of IVF success. *Clin Dev Immunol*, 606459, 2012.
  - 29) Sirota I, Zarek SM, Segars JH: Potential influence of the microbiome on infertility and assisted reproductive technology. *Semin Reprod Med*, 32(1) :3 5-42, 2014.
  - 30) Delgado-Diaz DJ, Tyssen D, Hayward JA, Gugasyan R, Hearps AC, Tachedjian G: Distinct immune responses elicited from cervicovaginal epithelial cells by lactic acid and short chain fatty acids associated with optimal and non-optimal vaginal microbiota: *Front Cell Infect Microbiol*, 9: 446, 2020.
  - 31) Ilhan ZE, Laniewski P, Thomas N, Roe DJ, Chase DM, Herbst-Kralovetz MM: Deciphering the complex interplay between microbiota, HPV, inflammation and cancer through cervicovaginal metabolic profiling. *EBioMedicine*, 44: 675-690, 2019.
  - 32) Blazheva S, Pachkova S, Bodurska T, Ivanov P, Blazhev A, Lukanov T, Konova E: Unlocking the uterine code: Microbiota, Immune cells, and therapy for recurrent reproductive failure: *Microorganisms*, 12(3) : 547, 2024.
  - 33) James M Baker, Dana M Chase, Melissa M Herbst-Kralovetz: Uterine Microbiota: Residents, Tourists, or Invaders?. *Front Immunol*, 2: 9: 208, 2018.
  - 34) Postler TS, Ghosh S: Understanding the Holobiont: How Microbial Metabolites Affect Human Health and Shape the Immune System. *Cell Metab*, 26(1) : 110-130, 2017.
  - 35) Kadogami D, Kimura F, Hanada T, Tsuji S, Nakaoka Y, Murakami T, Morimoto Y: Impact of *Lactobacillus* in the uterine microbiota on in vitro fertilization outcomes, 160: 104138, 2023.
  - 36) Zheng N, Guo R, Yao Y, Jin M, Cheng Y, Ling Z: *Lactobacillus iners* Is Associated with Vaginal Dysbiosis in Healthy Pregnant Women: A Preliminary Study. *Biomed Res Int*, 6079734, 2019.
  - 37) Macklaim JM, Gloor GB, Anukam KC, Cribby S, Reid G: At the crossroads of vaginal health and disease, the genome sequence of *Lactobacillus iners* AB-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 4688-95, 2011.
  - 38) Petrova MI, Reid G, Vaneechoutte M, Lebeer S: *Lactobacillus iners*: friend or foe?. *Trends in Microbiology*, 25(3) : 182-191, 2017.
  - 39) Verstraelen H, Verhelst R, Claeys G, Backer ED,

- Temmerman M, Vanechoutte M: Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that *L. crispatus* promotes the stability of the normal vaginal microflora and that *L. gasseri* and/or *L. iners* are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. 9: 116, 2009.
- 40) Goodfellow L, Verwijs MC, Care A, Sharp A, Ivandic J, Poljak B, Roberts D, Bronowski C, Gill AC, Darby AC, Alfirevic A, Muller-Myhsok B, Alfirevic Z, van de Wijgert J: Vaginal bacterial load in the second trimester is associated with early preterm birth recurrence: a nested case-control study. 128(13) : 2061-2072, 2021.
- 41) Vergaro P, Tiscornia G, Barragan M, Garcia D, Rodriguez A, Santalo J, Vassena R: Vaginal microbiota profile at the time of embryo transfer does not affect live birth rate in IVF cycles with donated oocytes. *Reprod Biomed Online*, 38(6) : 883-891, 2019.
- 42) Bertuccioli A, Cardinail M, Zonzini G, Cazzaniga M, Ri Pierro F: *Lactobacillus crispatus* M247: Characteristics of a Precision Probiotic Instrument for Gynecological and Urinary Well-Being. *Microbiol*, 13(4) : 963-971, 2022.
- 43) Bui BN, van Hoogenhuijze N, Viveen M, Mol F, Teklenburg G, de Bruin JP, Besselink D, Brentjens LS, Mackens S, Rogers MRC, Steba GS, Broekmans F, Paganelli FL, van de Wijgert JHHM: The endometrial microbiota of women with or without a live birth within 12 months after a first failed IVF/ICSI cycle. *Sci Rep*, 13(1) : 3444, 2023.
- 44) Yoshida T, Takada K, Komine-Aizawa S, Kamei Y, Ishihara O, Hayakawa S: *Lactobacillus crispatus* promotes invasion of the HTR-8/SVneo trophoblast cell line. *Placenta*, 111: 76-81, 2021.
- 45) Burton GJ, Jauniaux E, Charnock-Jones DS: The influence of the intrauterine environment on human placental development. *Int J Dev Biol*, 54(2-3) : 303-12, 2010.
- 46) Odendaal J, Black N, Bennett P, Brosens J, Quenby S, Macintyre D: The endometrial microbiota and early pregnancy loss. *Hum Reprod*, 39(4) : 638-646, 2024.
- 47) Rampersaud R, Planet PJ, Randis TM, Kulkarni R, Aguilar JL, Lehrer RI, Ratner AJ: Inerolysin, a cholesterol-dependent cytolysin produced by *Lactobacillus iners*. *J Bacteriol*, 193(5): 1034-1041, 2011.
- 48) Cicinelli E, Trojano G, Mastromauro M, Vimercati A, Marinaccio M, Mitola PC, Resta L, Ziegler D: Higher prevalence of chronic endometritis in women with endometriosis: a possible etiopathogenic link. *Fertil Steril*, 108(2) : 289-295, 2017.
- 49) Li T, Liu ZH, Li K, Bai HH: Evaluation of the vaginal microbiome in clinical diagnosis and management of vaginal infectious diseases. *Chin Med J (Engl)*, 132(9) : 1100-1103, 2019.
- 50) Liang J, Li M, Zhang L, Yang Y, Jin X, Zhang Q, Lv T, Huang Z, Liao Q, Tong X: Analysis of the microbiota composition in the genital tract of infertile patients with chronic endometritis or endometrial polyps. *Front Cell Infect Microbiol*, 13: 2023
- 51) Wang J, Li Zhanzhan, Ma Xiuling, Du L, Fan H, Xiao L, Zhang B, Zhao F: Translocation of vaginal microbiota is involved in impairment and protection of uterine health. *Nat Commun*, 12(1) : 4191, 2021.

## 子宮内細菌叢異常と着床障害

### Endometrial dysbiosis and implantation failure

平塚 大輝, 廣田 泰

Hiratsuka D, Hirota Y

東京大学医学部附属病院 女性診療科・産科 〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1  
Department of Obstetrics and Gynecology, The University of Tokyo Hospital

**要旨：** 反復着床不全は不妊症患者の20%程度を占め、難治性不妊である。近年、子宮側の着床障害の原因として、慢性子宮内膜炎に近縁した病態「子宮内細菌叢異常」が注目されている。子宮の内腔は無菌であるとされていたが、実際は常在菌による子宮内環境が存在し、これを子宮内細菌叢あるいは子宮内フローラと呼ぶ。基本的に生殖年齢女性では乳酸菌優位となっており、乳酸菌が90%以上を占める状態（LDM：Lactobacillus Dominated Microbiota）やGardnerellaなどの細菌が存在しない状態を良い状態とされる。子宮内細菌叢異常は着床障害や流早産に繋がるため、抗菌薬治療やプレバイオティクス（ラクトフェリン）、プロバイオティクス（乳酸菌製剤）による治療が行われてきた。現時点では、子宮内細菌叢異常と近縁した病態である慢性子宮内膜炎を併せて幅広く診断・治療せざるを得ないと考えられる。今後、子宮内細菌叢異常の治療が妊娠転帰の改善につながるかどうかエビデンスの構築が求められる。

**キーワード：** 子宮内細菌叢異常, 子宮内フローラ, 乳酸菌, 反復着床不全, 慢性子宮内膜炎

**英文要旨：** Recurrent implantation failure accounts for infertility in approximately 20% of infertility patients and it is an intractable form. Endometrial dysbiosis, a condition closely related to chronic endometritis, has recently been recognized as a uterine cause of recurrent implantation failure. Although the uterine endometrium was formerly considered to be sterile, an intrauterine environment exists in which there is indigenous bacteria, known as the endometrial microbiome or intrauterine flora. Lactobacillus species are dominant in women of reproductive age, and a state in which Lactobacillus species account for > 90% (LDM: Lactobacillus Dominated Microbiota) of the microbiome or in which bacteria such as Gardnerella are absent, is considered a healthy state. When the endometrial microbiome is abnormal, the condition is termed endometrial dysbiosis. Because endometrial dysbiosis can lead to implantation failure, spontaneous abortion, and preterm labor, treatments with antibiotics, prebiotics (lactoferrin), and oral or vaginal Lactobacillus probiotics have been performed. At present, patients with endometrial dysbiosis and chronic endometritis, a condition closely related to endometrial dysbiosis, undergo broad spectrum treatment. Evidence is required to determine whether the treatment of endometrial dysbiosis leads to improved pregnancy outcomes.

**キーワード：** Chronic endometritis, Endometrial dysbiosis, Lactobacillus, Microbiota, Recurrent implantation failure

### はじめに

妊娠を望むカップルのうち一年以上の不妊に苦しむカップルは17.5%ほどいるとされ<sup>1)</sup>、治療としてタイミング療法や人工授精、体外受精が行われる。しかしながら、体外受精を行っても妊娠に至らないカップルが一定数存在し、

40歳未満で良好胚を4個以上・3回以上移植しても妊娠に至らないことを反復着床不全 (Recurrent Implantation Failure: RIF) と呼ぶ<sup>2)</sup>。反復着床不全は不妊症患者の20%程度を占め<sup>2)</sup>、難治性不妊である。反復着床不全の原因は胚側の因子と子宮側の因子に大別されるが、子宮側の着床障害の原因の一つとして慢性子宮内膜炎

(Chronic endometritis: CE) が挙げられ、診断基準や抗菌薬治療などに関して様々な議論がなされてきた<sup>3)</sup>。そんな中、近年、着床障害の原因として、慢性子宮内膜炎に近縁した病態「子宮内細菌叢異常」が注目されている。本稿では、細菌叢という概念から臨床現場での最新の治療に至るまで子宮内細菌叢異常の周辺知識を整理し、今後の着床障害患者の妊娠率・生児獲得率向上の可能性を探る。

### ヒトには腸内細菌叢をはじめ様々な細菌叢が存在する

1885年、健康な子供の腸内から大腸菌が検出され、人体に生息する非病原性細菌の最初の発見とされた。それ以来、消化管の他にも鼻腔や口腔、皮膚、泌尿生殖器と、人体のさまざまな部分に生息する他の共生細菌が発見されてきた。このような種々の常在菌「細菌叢 (Microbiota)」が生着した体内環境を Microbiome と呼ぶ。Microbiome はバランスが取れた状態では食物の消化や免疫力の向上など健康に重要な働きを果たし、逆に細菌の数や種類のバランスが乱れた状態「細菌叢異常 (Dysbiosis)」は「細菌叢異常→炎症惹起→粘膜の変化」というメカニズムを介して健康でない状態や疾患につながる<sup>4)</sup>。細菌叢異常の治療は抗生剤治療、有用な菌そのものを補充するプロバイオティクス (Probiotics)、有用な菌が増えるためのエサ (食物繊維など) を補充するプレバイ

オティクス (Prebiotics)、細菌叢の移植 (例：腸内細菌に対する糞便移植、腔内細菌に対する帯下移植<sup>5)</sup>) などが存在する。細菌叢は、細菌がもつ 16S rRNA 遺伝子を PCR にて増幅し、次世代シーケンサーで検体に含まれる細菌の種類や量を解析することで調べることができる。さらに、生体に含まれる代謝物全体を解析するメタボロミクスや微生物を培養してから解析するカルチュロミクスといったものを駆使して Microbiome 全体を調べるという手法も見られる<sup>6,7)</sup>。

### 子宮内細菌叢は乳酸菌主体である

女性生殖器の細菌叢としては、腔内・頸管内・子宮内 が挙げられる。かつて子宮の内腔は無菌であるとされていたが、実際は常在菌による子宮内環境が存在し、これを子宮内細菌叢あるいは子宮内フローラと呼ぶ。年齢や生活環境、ホルモン周期に応じて変動するが、基本的に生殖年齢女性では乳酸菌優位となっており<sup>8,9)</sup> (図1)、実臨床においては子宮内膜吸引組織診のように子宮内膜液を採取し次世代シーケンサーにて検査 (子宮内フローラ検査) することで調べられる。乳酸菌が90%以上を占める状態を LDM (Lactobacillus Dominated Microbiota) と呼び、90%未満である NLDM (non-LDM) と対比し良好な子宮内環境と判断する方法が子宮内細菌叢の状態の代表的な評価方法として用いられている。乳酸

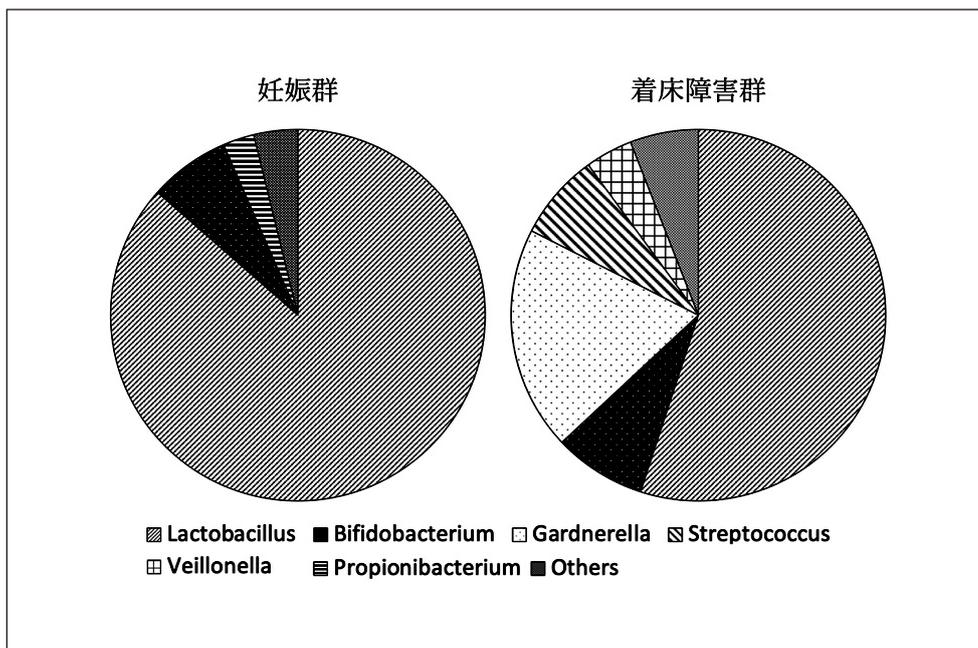


図1 子宮内細菌叢の解析<sup>12)</sup>より改変  
妊娠群と比較して着床障害群では乳酸菌の割合が低下している。

菌の種類としては、*L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri* など<sup>10,11)</sup>、乳酸菌以外に検出される菌種としては、*Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Gardnerella*, *Streptococcus*, *Veillonella* が知られている<sup>12)</sup> (図1)。

### 子宮内細菌叢異常は着床障害をはじめ 妊娠に負の影響を与える

女性生殖器の細菌叢異常も産婦人科疾患に関係する。

腔内細菌叢に関しては、乳酸菌の減少と嫌気性菌の増加が細菌叢異常とされており、腔内細菌叢異常は細菌性陰症と密接に関係しており、流産や不妊症に繋がる<sup>13-15)</sup>。また、腔内と頸管内の細菌叢は子宮内膜症や子宮筋腫との関連性も示唆されている<sup>16,17)</sup>。

子宮内細菌叢異常も同様に着床障害や流産に繋がる<sup>18)</sup>。子宮内細菌叢において乳酸菌が90%未満であるNLDMとなっているRIF患者では炎症マーカー (IL-6, IL-1 $\beta$ , HIF-1 $\alpha$ , COX-2) のレベルが高く、抗炎症因子 (IL-10, IGF-1) のレベルが低いことが観察され、子宮内膜の炎症の程度は、乳酸菌種の割合と負の相関があり、炎症分子のレベルと正の相関がある<sup>19)</sup>。炎症による子宮内膜異常が着床障害に繋がるものと想定される<sup>20)</sup>。Morenoらは不妊症患者の妊娠率を比較したところ、LDM患者では70.6%が妊娠していたのに対してNLDM患者では33.3%の妊娠率に留まっており、子宮内細菌叢異常患者では妊娠率が低下すること、流産率も17%対60%と有意に低いことを報告した<sup>12)</sup>。さらに、着床障害患者において乳酸菌割合が低下していることも報告し (図1)、2023年には342人の不妊症患者の子宮内細菌叢の解析により *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Chryseobacterium*, *Gardnerella*, *Haemophilus*, *Klebsiella*, *Neisseria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* で構成される細菌叢が不良な妊娠転帰に繋がると報告した<sup>21)</sup>。

### 腔内細菌叢異常は抗菌薬の他に プロバイオティクス等も治療に用いられる

元来、細菌性陰症や子宮内膜炎、前期破水や絨毛膜羊膜炎など感染症に伴う産婦人科疾患においては、基本的に抗菌薬による治療が行われてきた。これは細菌叢異常という観点では、「悪い菌を減らす」という効果があるものと見込まれる。一方で、細菌性陰症と早産という観点では、「良い菌を増やす」効果に期待し、乳酸菌が増えやすい環境を作るプロバイオティクスとしてラクトフェリンの内服や錠剤による補充、乳酸菌そのものを増やすプロバ

イオティクスとしての内服や錠剤の補充も治療法として知られている。

プロバイオティクスは細菌性陰症の改善に伴う流産率の減少・生児獲得率の上昇に関する研究などが報告されている<sup>22)</sup>。本邦の研究では、早産歴などのある流産ハイリスク患者6人に対してラクトフェリン錠150mg/日と内服700mg/日を併用したところ、全例で腔内の乳酸菌優位の細菌叢および在胎35週以上での生児獲得に至ったとの報告がある<sup>23)</sup>。腔内細菌叢に関するプロバイオティクスについても、乳酸菌含有ヨーグルトの摂取によるカンジダ陰炎の治療を端緒とし様々な取り組みがなされてきた<sup>24)</sup>。乳酸菌製剤の経口・経腔投与に関しては、多くの報告で細菌性陰症の予防および治療の効果があるとされている<sup>25,26)</sup> が、既往歴のない妊婦を含めた全ての妊娠初期の妊婦に乳酸菌製剤の経口投与を行ったランダム化比較試験では投与群とプラセボ群で細菌性陰症患者の割合に有意差を認めなかったとの報告もある<sup>27)</sup>。そのため、「乳酸菌製剤の投与は細菌性陰症患者や早産既往患者などの特定の患者層において治療効果が見込まれる」と考えるべきものと思われる。一方、ほとんどの報告において $10^8$ – $10^{10}$  colony-forming units (CFU) /錠の乳酸菌含有製剤が使われているが、いずれの報告においても副作用・有害事象は認められておらず、投与による医学的不利益は一切ないと考えられる<sup>25-28)</sup>。乳酸菌ではなく *Streptococcus faecalis*, *Clostridium butyricum*, *Bacillus mesentericus* を組み合わせたプロバイオティクスにより分娩週数が改善 (36週 対 34週) したという報告もあるが<sup>29)</sup>、現状としては、多くの研究は乳酸菌製剤を検討しており、抗生剤と乳酸菌製剤の併用が優勢である<sup>30)</sup>。その他としては帯下移植による治療があるが、現時点では症例報告が存在するのみである<sup>5)</sup>。

### 子宮内細菌叢異常の治療効果はまだ明らかでない

子宮内細菌叢異常とその治療は腔内細菌叢と比較して新しい概念であるが、先述のように「子宮内細菌叢の異常が妊娠に良くないこと・妊娠する女性の方が良い子宮内細菌叢を有していること」は既に示されており、子宮内細菌叢異常の治療も腔内細菌叢と概ね同様の治療方針としているのが現状である。Kyono Kらは、47人 (51.1%) のLDMと45人 (48.9%) のNLDMの合計92人の体外受精を施行した不妊症患者を解析し、NLDMの9例が抗菌薬とプロバイオティクス・プロバイオティクスによる治療を受け乳酸菌優位となることに成功、胚移植による妊娠率はLDM群 (患者1人当たり58.9%) がNLDM群 (患者1人当たり47.2%) より高い傾向にあることを報告

した(有意差は認められず)<sup>31)</sup>。Kadogami Dらは、392人の反復着床不全患者を解析し、NLDMの患者が全体の44.9%を占め、これらを経口プロバイオティクス+経口プレバイオティクス群、抗菌薬群、経口プロバイオティクス+経口プレバイオティクス+抗菌薬群、経腔プロバイオティクス群、経腔プロバイオティクス+抗菌薬群に分けて治療したところ、それぞれの治癒率は、それぞれ29.5%、33.33%、43.6%、78.6%であったと報告した。経腔プロバイオティクス+抗菌薬群で有意な改善が認められ、その有効性を示している<sup>32)</sup>。まだエビデンスは少ないが、これらの報告より、子宮内細菌叢異常には経腔プロバイオティクスと抗菌薬による治療が有効であるものと推察される。さらに、治療による妊娠転帰についてもエビデンスは極めて限られている。Thanaboonyawat Iらは、340人の不妊症女性に対して凍結融解胚移植前に乳酸菌補充あるいはプラセボ補充を行うランダム化比較試験を行い、妊娠転帰を評価した。生化学的および臨床的妊娠率は両群間で同等であった(乳酸菌群39.9%および34.2% vs 対照群41.8%および31.7%)が、流産率は乳酸菌群で有意に減少した(それぞれ9.5 vs 19.1%,  $p = 0.02$ )。さらに、細菌性膣症と診断された49人の女性においては、乳酸菌群の方が生産率が高かった(42.31 vs. 26.09%,  $p = 0.23$ )。また、胚盤胞移植を行った206人に関しては、乳酸菌群の方が生産率が高かった(35.71 vs. 22.22%,  $p = 0.03$ )<sup>33)</sup>。

以上を踏まえると、乳酸菌錠の補充は子宮内細菌叢異常を改善させ、一般集団における流産率の低下や細菌性膣症患者の生産率上昇に効果がある可能性がある。

投与方法についても明確なプロトコルは定まっていないが、これまでの文献では30日程度 $10^6 \sim 10^8$ CFU/錠を毎日1錠補充しているものが多い。例えば「胚移植周期に、生理が終わってから乳酸菌錠のサプリメントを1日1回1錠入浴後に腔内へ挿入する」というように説明する。サプリメントによるプロバイオティクスは、治療効果ならびに用量や用法、治療期間に関する今後のエビデンス構築が必須である。

### 慢性子宮内膜炎は着床障害の重要な原因である

子宮内細菌叢異常に関連した疾患として慢性子宮内膜炎が挙げられる。子宮内細菌叢の関連や抗菌薬治療など共通した要素も見られるため、両者を紐づけて理解することは診療上重要と思われる。

子宮内膜炎には発熱や腹痛、帯下異常などの自覚症状を伴う急性子宮内膜炎と、特段の自覚症状を伴わず慢性炎症が持続する慢性子宮内膜炎(Chronic endometritis

: CE)が存在する。CEは反復流産反復着床不全の30-57%に見られ、子宮側の不妊因子の一つとして知られている<sup>3,34,35)</sup>。

CEの診断には子宮内膜組織におけるCD138陽性細胞の検出や子宮鏡での観察所見が用いられる。CD138検査は正常な子宮内膜間質には存在しない形質細胞を、そのマーカーであるCD138を免疫染色によって検出するという方法であり、診断基準は完全には統一されていないものの、高倍率10視野中に1個以上の陽性細胞を認めた場合(CD138陽性細胞 $\geq 1$ 個/10HPF)にCEと診断するのが一般的である<sup>36)</sup>。一方、子宮鏡検査では発赤、充血、浮腫、マイクロポリープなどが観察された際にCEの存在を疑い、CD138検査の補助として使用する<sup>37)</sup>。

### 慢性子宮内膜炎の治療は妊娠率向上に寄与すると想定される

治療は抗菌薬が基本である。現在の第一選択はドキシサイクリン2週間(初日200mg、2日目以降100mg)、第二選択としてシプロフロキサシン400mg/日+メトロニダゾール500mg/日を2週間、あるいはセフポドキシム200mg/日+メトロニダゾール500mg/日を2週間などで治療を行うこともある<sup>3,34)</sup>。第一選択のドキシサイクリン投与でCE患者の88.9%が治癒に至るとされている<sup>38)</sup>。その他としては子宮鏡による洗浄や子宮内膜搔爬による報告もなされている<sup>39)</sup>。

CEの抗菌薬治療後の胚移植による生産率が元々CEのない群よりも有意に高かったとする報告や、抗菌薬治療によってCEが治癒した着床障害患者の妊娠率と生産率がCE持続群と比較して有意に高かったとする報告があり、CEの抗菌薬治療は着床障害患者にとって重要なものとして確立されてきた<sup>34-36,40)</sup>。しかしながら、のちに抗菌薬治療によるCE治療が妊娠率向上に繋がらなかったとする報告や治療後もCEが元々ない患者と比較して流産率が高かったとする報告もあり<sup>38,41)</sup>、最終的な妊娠率・生産率の向上に繋げる上で、子宮側の炎症や感染という病態において「CEをCD138検査と子宮鏡で検索し抗菌薬で治療する」のみで良いのかは今後も検討が必要である。

### 子宮内細菌叢異常と慢性子宮内膜炎は異なる概念であるが関連性がある

子宮内細菌叢がT細胞系統の免疫制御に深く関連していることから分かるように、子宮側の炎症や感染という病態において、CEと子宮内細菌叢異常は近縁の概念

である。CEを有する着床障害患者においては子宮内細菌叢異常を高確率に合併しており、CEを有さない着床障害患者の子宮内細菌叢は80.7%であったのに対してCEを有する患者では1.9%であったと報告されており、CEに特異的な細菌叢が存在するものと考えられている<sup>42,43)</sup>。CEには子宮内膜細菌叢異常を伴わない非感染性のもも存在し、子宮内膜症や子宮腺筋症の患者では慢性子宮内膜炎が多いという報告や、分娩は慢性子宮内膜炎頻度の低下と関連するといった報告がなされている<sup>44,45)</sup>。そのため、CEと子宮内細菌叢異常を同一のものと考えことはできないが、重複する患者像も存在する。治療も抗菌薬治療は共通しており、CD138検査、子宮鏡、子宮内細菌叢検査を併用しながらこれら二つの異常があるかどうかを同時に考えながら診療に臨むのが良いと考えられる。

### 子宮内細菌叢異常の治療は慢性子宮内膜炎の治療よりも妊娠に結びつきやすいかもしれない

子宮内細菌叢異常とCEの取り扱いにおいてはCD138検査、子宮鏡、子宮内細菌叢検査と3種類の検査結果が得られるが、各検査を比較検討し今後の診療指針を定めていくことが必要である。

東京大学医学部附属病院で着床障害患者に3種類の検査全てを行い、その検査とその後の妊娠転帰について解析したため、紹介する (under submission)。2019年4月から2024年3月にかけて良好胚を2周期以上移植しても妊娠に至らず当院着床外来を受診し、子

宮鏡検査、CD138検査、子宮内細菌叢検査を全て検査した81例について後方視的に解析した。検査および治療(結果に応じてドキシサイクリン14日間の抗菌薬治療+移植前1ヶ月程度の乳酸菌錠補充)の1年後に妊娠予後を追跡したところ、追跡し得た43例のうち30例(69.8%)が妊娠に至っていたが、子宮内細菌叢異常を合併した着床障害患者のうち88.9%(18例中16例)が抗生剤と乳酸菌錠による治療を行った後に妊娠が成立しており、子宮内細菌叢異常を認めなかった群の妊娠率56.0%(25例中14例)と比較して有意に高い妊娠率を認めた(p=0.021)(表1)。一方で、子宮鏡とCD138検査に関しては、それぞれ検査陽性群と陰性群の間で明らかな妊娠率の相違を認めなかった。さらに、臨床的妊娠に至る因子について検討するため多変量解析を行ったところ、他2検査と異なり子宮内細菌叢異常の治療はオッズ比6.29倍(p=0.031)で妊娠成立に関係しているとされた(表2)。

この研究からは子宮内細菌叢異常の検査と治療がCEの検査と治療と比較して良好な妊娠転帰に繋がりやすい可能性が考えられ、さらなる検討が望まれるところである。

### 最後に

子宮内細菌叢異常は慢性子宮内膜炎と並んで着床障害や流産に繋がる重要な病態である。特に不妊症患者においては子宮因子の検索として子宮鏡・CD138検査・子宮内細菌叢検査を組み合わせ慢性子宮内膜炎・子宮

表1 子宮鏡・CD138検査・子宮内細菌叢検査の結果と治療後の妊娠率

		臨床的妊娠率 (%)	p 値
患者全体		69.8% (n = 30/43)	
子宮鏡検査	陽性	70.0% (n = 19/27)	0.911
	陰性	70.6% (n = 11/16)	
CD138 検査	陽性	65.0% (n = 13/20)	0.526
	陰性	73.9% (n = 17/23)	
子宮内細菌叢検査	陽性	88.9% (n = 16/18)	0.021
	陰性	56.0% (n = 14/25)	

子宮鏡検査では発赤、充血、浮腫、マイクロポリープが観察された際にCEと診断。CD138検査では高倍率10視野中に1個以上の陽性細胞を認めた場合(≥1個/10HPF)にCEと診断。子宮内細菌叢検査では乳酸菌割合<90%を異常と診断。治療後1年での臨床的妊娠について解析した。子宮内細菌叢検査で異常を認めた症例は治療後に有意に臨床的妊娠に繋がっていた。

表2 臨床的妊娠に関わる因子についての多変量解析

	臨床的妊娠	
	オッズ比 (95% 信頼区間)	p 値
40歳以上	1.270 (0.0670-23.9)	0.875
未経産	0.498 (0.0394-6.30)	0.590
胚移植4周期以上	4.39 (0.462-41.7)	0.198
子宮筋腫合併	2.44 (0.444-13.4)	0.305
子宮腺筋症合併	0.505 (0.0726-3.51)	0.490
子宮鏡陽性	1.090 (0.217-5.46)	0.919
CD138 検査陽性	0.813 (0.182-3.63)	0.786
子宮内細菌叢異常	6.29 (1.18-33.3)	0.031

本研究では、子宮筋腫や子宮腺筋症により子宮が小骨盤腔を超える症例は除外している。子宮内細菌叢検査で異常を認めた症例は治療後に有意に臨床的妊娠に繋がっていた。

内膜細菌叢異常が診断され、比較的幅広い患者層に対して抗菌薬や乳酸菌製剤による治療介入がなされてきた。一方で、最終的な妊娠率や生産率の向上に繋がる最適な診断基準・治療内容については未だ明確な結論が出ていない。特に乳酸菌製剤に関しては経済面以外に使用のデメリットがないため、既に着床障害を認め不妊期間が長い患者には積極的に進めざるを得ない現状があるが、前向き臨床試験による今後エビデンス構築が求められる。

## 謝 辞

本論文に記載の研究は、AMED(課題番号 JP24gn0110085, JP24gn0110069, JP24gk0210039, JP24k0310083)の支援を受けて実施した。

## 参考文献

- Cox CM, Thoma ME, Tchangelova N, Mburu G, Bornstein MJ, Johnson CL, Kiarie J : Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Open*, 12: hoac051, 2022.
- Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demiroglu A, Gurgan T, Cutting R, Ong K, Sallam H, Li TC : Recurrent implantation failure: definition and management. *Reprod Biomed Online*, 28: 14-38, 2014.
- Johnston-MacAnanny EB, Hartnett J, Engmann LL, Nulsen JC, Sanders MM, Benadiva CA : Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 93: 437-41, 2010.
- Honda K, Littman D : The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature*, 535: 75-84, 2016.
- Wrönding T, Vomstein K, Bosma EF, Mortensen B, Westh H, Heintz JE, Møllerup S, Petersen AM, Ensign LM, DeLong K, van Hylckama Vlieg JET, Thomsen AB, Nielsen HS : Antibiotic-free vaginal microbiota transplant with donor engraftment, dysbiosis resolution and live birth after recurrent pregnancy loss: a proof of concept case study. *Eclinicalmedicine*, 61: 102070, 2023.
- Philips CA, Augustine P, Yerol PK, Ramesh GN, Ahamed R, Rajesh S, George T, Kumbar S : Modulating the Intestinal Microbiota: Therapeutic Opportunities in Liver Disease. *J Clin Transl Hepatol*, 8: 87-99, 2020.
- Cariati F, Carotenuto C, Bagnulo F, Pacella D, Marrone V, Paolillo R, Catania MR, Di Girolamo R, Conforti A, Strina I, Alviggi C : Endometrial microbiota profile in in-vitro fertilization (IVF) patients by culturomics-based analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 14: 1204729, 2023.
- Toson B, Simon C, Moreno I : The Endometrial Microbiome and Its Impact on Human Conception. *Int J Mol Sci*, 23: 485, 2022.
- Liptáková A, Čurová K, Záhumenský J, Visnyaiová K, Varga I : Microbiota of female genital tract - functional overview of microbial flora from vagina to uterine tubes and placenta. *Physiol Res*, 71 (Suppl 1) : S21-S33, 2022.
- Vanstokstraeten R, Callewaert E, Blotwijk S, Rombauts E, Crombé F, Emmerechts K, Soetens O, Vandoorslaer K, De Geyter D, Allonsius C, Vander Donck L, Blockeel C, Wybo I, Piérard D, Demuyser T, Mackens S : Comparing Vaginal and Endometrial Microbiota Using Culturomics: Proof of Concept. *Int J Mol Sci*, 24: 5947, 2023.
- Kadogami D, Kimura F, Hanada T, Tsuji S, Nakaoka Y, Murakami T, Morimoto Y: Impact of Lactobacillus in the uterine microbiota on in vitro fertilization outcomes. *J Reprod Immunol*, 160: 104138, 2023.
- Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazán J, Alonso R, Alamá P, Remohí J, Pellicer A, Ramon D, Simon C : Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol*, 215: 684-703, 2016.
- Fettweis JM, Serrano MG, Brooks JP, Edwards DJ, Girerd PH, Parikh HI, Huang B, Arodz TJ, Edupuganti L, Glascock AL, Xu J, Jimenez NR, Vivadelli SC, Fong SS, Sheth NU, Jean S, Lee V, Bokhari YA, Lara AM, Mistry SD, Duckworth RA 3rd, Bradley SP, Koparde VN, Orenda XV, Milton SH, Rozycki SK, Matveyev AV, Wright ML, Huzurbazar SV, Jackson EM, Smirnova E, Korlach J, Tsai YC, Dickinson MR, Brooks JL, Drake JI, Chaffin DO, Sexton AL, Gravett MG, Rubens CE, Wijesooriya NR, Hendricks-Muñoz KD, Jefferson KK, Strauss JF 3rd, Buck GA: The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat Med*, 25: 1012-1021, 2019.
- Sun D, Zhao X, Pan Q, Li F, Gao B, Zhang A, Huang H, Xu D, Cheng C : The association between vaginal microbiota disorders and early missed abortion: A prospective study. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 101: 960-971, 2022.
- Skafté-Holm A, Humaidan P, Bernabeu A, Lledo B, Jensen JS, Haahr T : The Association between Vaginal Dysbiosis and Reproductive Outcomes in Sub-Fertile Women Undergoing IVF-Treatment: A Systematic PRISMA Review and Meta-Analysis. *Pathogens*, 10: 295, 2021.
- Salliss ME, Farland LV, Mahnert ND, Herbst-Kralovetz MM : The role of gut and genital microbiota and the estrobolome in endometriosis, infertility and chronic pelvic pain. *Hum Reprod Update*, 28: 92-131, 2021.
- Mao X, Chen H, Peng X, Zhao X, Yu Z, Xu D : Dysbiosis of vaginal and cervical microbiome is associated with uterine fibroids. *Front Cell Infect Microbiol*, 13: 1196823, 2023.
- Odendaal J, Black N, Bennett PR, Brosens J, Quenby S, MacIntyre DA : The endometrial microbiota and early pregnancy loss. *Hum Reprod*, 39: 638-646, 2024.
- Cela V, Daniele S, Obino MER, Ruggiero M, Zappelli E, Ceccarelli L, Papini F, Marzi I, Scarfò G, Tosi F, Franzoni F, Martini C, Artini PG : Endometrial Dysbiosis Is Related to Inflammatory Factors in Women with Repeated Implantation Failure: A Pilot Study. *J Clin Med*, 11: 2481, 2022.

- 20) Gao X, Louwers YV, Laven JSE, Schoenmakers S : Clinical Relevance of Vaginal and Endometrial Microbiome Investigation in Women with Repeated Implantation Failure and Recurrent Pregnancy Loss. *Int J Mol Sci*, 25: 622, 2024.
- 21) Moreno I, Garcia-Grau I, Perez-Villaroya D, Gonzalez-Monfort M, Bahçeci M, Barrionuevo MJ, Taguchi S, Puente E, Dimattina M, Lim MW, Meneghini G, Aubuchon M, Leondires M, Izquierdo A, Perez-Olgiati M, Chavez A, Seethram K, Bau D, Gomez C, Valbuena D, Vilella F, Simon C : Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients. *Microbiome*. 10: 1, 2022.
- 22) Otsuki K, Imai N : Effects of lactoferrin in 6 patients with refractory bacterial vaginosis. *Biochem Cell Biol*, 95: 31-33, 2017.
- 23) Otsuki K, Nishi T, Kondo T, Okubo K : Review, role of lactoferrin in preventing preterm delivery. *Biometals*, 36: 521-530, 2023.
- 24) Hilton E, Isenberg HD, Alperstein P, France K, Borenstein MT : Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as prophylaxis for candidal vaginitis. *Ann Intern Med*, 116: 353-7, 1992.
- 25) Hodayouni A, Bastani P, Ziyadi S, Mohammad-Alizadeh-Charandabi S, Ghalibaf M, Mortazavian AM, Mehrabany EV : Effects of probiotics on the recurrence of bacterial vaginosis: a review. *J Low Genit Tract Dis*, 18: 79-86, 2014.
- 26) Mändar R, Söerunurk G, Štšepetova J, Smidt I, Rööp T, Kõljalg S, Saare M, Ausmees K, Le DD, Jaagura M, Piiskop S, Tamm H, Salumets A : Impact of *Lactobacillus crispatus*-containing oral and vaginal probiotics on vaginal health: a randomised double-blind placebo controlled clinical trial. *Benef Microbes*, 14: 143-152, 2023.
- 27) Husain S, Allotey J, Drymoussi Z, Wilks M, Fernandez-Felix BM, Whiley A, Dodds J, Thangaratinam S, McCourt C, Prosdocimi EM, Wade WG, de Tejada BM, Zamora J, Khan K, Millar M : Effects of oral probiotic supplements on vaginal microbiota during pregnancy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial with microbiome analysis. *BJOG*, 127: 275-284, 2020.
- 28) van de Wijgert J, Verwijs MC : Lactobacilli-containing vaginal probiotics to cure or prevent bacterial or fungal vaginal dysbiosis: a systematic review and recommendations for future trial designs. *BJOG*, 127: 287-299, 2020.
- 29) Kirihara N, Kamitomo M, Tabira T, Hashimoto T, Taniguchi H, Maeda T : Effect of probiotics on perinatal outcome in patients at high risk of preterm birth. *J Obstet Gynaecol Res*, 44: 241-247, 2018.
- 30) Moreno I, Simon C : Deciphering the effect of reproductive tract microbiota on human reproduction. *Reprod Med Biol*, 18: 40-50, 2018.
- 31) Kyono K, Hashimoto T, Kikuchi S, Nagai Y, Sakuraba Y : A pilot study and case reports on endometrial microbiota and pregnancy outcome: An analysis using 16S rRNA gene sequencing among IVF patients, and trial therapeutic intervention for dysbiotic endometrium. *Reprod Med Biol*, 18: 72-82, 2018.
- 32) Kadogami D, Nakaoka Y, Morimoto Y : Use of a vaginal probiotic suppository and antibiotics to influence the composition of the endometrial microbiota. *Reprod Biol*, 20: 307-314, 2020.
- 33) Thanaboonyawat I, Pothisan S, Petyim S, Laokirkkiat P : Pregnancy outcomes after vaginal probiotic supplementation before frozen embryo transfer: a randomized controlled study. *Sci Rep*, 13: 11892, 2023.
- 34) Kitaya K, Matsubayashi H, Takaya Y, Nishiyama R, Yamaguchi K, Takeuchi T, Ishikawa T : Live birth rate following oral antibiotic treatment for chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure. *Am J Reprod Immunol*, 78, 2017.
- 35) Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Lepera A, Alfonso R, Indraccolo U, Marrocchella S, Greco P, Resta L : Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod*, 30: 323-30, 2015.
- 36) McQueen DB, Maniar KP, Hutchinson A, Confino R, Bernardi L, Pavone ME : Redefining chronic endometritis: the importance of endometrial stromal changes. *Fertil Steril*, 116: 855-861, 2021.
- 37) Moreno I, Cicinelli E, Garcia-Grau I, Gonzalez-Monfort M, Bau D, Vilella F, De Ziegler D, Resta L, Valbuena D, Simon C : The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic women: a comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology. *Am J Obstet Gynecol*, 218: 602. e1-602. e16, 2018.
- 38) Song D, He Y, Wang Y, Liu Z, Xia E, Huang X, Xiao Y, Li TC : Impact of antibiotic therapy on the rate of negative test results for chronic endometritis: a prospective randomized control trial. *Fertil Steril*, 115: 1549-1556, 2021.
- 39) Kuroda K, Ishiyama S, Shiobara K, Nakao K, Moriyama A, Kataoka H, Horikawa T, Ojio Y, Takamizawa S, Nakagawa K, Sugiyama R : Therapeutic efficacy of gentle endometrial curettage on antibiotic-resistant chronic endometritis in infertile women. *Reprod Med Biol*, 22: e12525, 2023.
- 40) Vitagliano A, Saccardi C, Noventa M, Di Spiezio Sardo A, Saccone G, Cicinelli E, Pizzi S, Andrisani A, Litta PS : Effects of chronic endometritis therapy on in vitro fertilization outcome in women with repeated implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*, 110: 103-112. e1, 2018.
- 41) Duan H, Li X, Hao Y, Shi J, Cai H : Risk of spontaneous abortion after antibiotic therapy for chronic endometritis before in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection stimulation. *Fertil Steril*, 118: 337-346, 2022.
- 42) Liu Y, Ko EY, Wong KK, Chen X, Cheung WC, Law TS, Chung JP, Tsui SK, Li TC, Chim SS : Endometrial microbiota in infertile women with and without chronic endometritis as diagnosed using a quantitative and reference range-based method. *Fertil Steril*, 112: 707-717. e1, 2019.
- 43) Lozano FM, Bernabeu A, Lledo B, Morales R, Diaz M,

Aranda FI, Llacer J, Bernabeu R : Characterization of the vaginal and endometrial microbiome in patients with chronic endometritis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 263: 25-32, 2021.

- 44) Cicinelli E, Trojano G, Mastromauro M, Vimercati A, Marinaccio M, Mitola PC, Resta L, de Ziegler D : Higher prevalence of chronic endometritis in women with endometriosis: a possible etiopathogenetic link. *Fertil Steril*, 108: 289-295. e1, 2017.
- 45) Khan KN, Fujishita A, Ogawa K, Koshiba A, Mori T, Itoh K, Nakashima M, Kitawaki J : Occurrence of chronic endometritis in different types of human adenomyosis. *Reprod Med Biol*, 21: e12421, 2021.

# 卵巣予備能著明低下症例に対する Platelet-Derived Factor Concentrate Freeze Dry (PFC-FD) 卵巣注入療法の治療成績の検討

Treatment results of ovarian injections of Platelet-Derived Factor Concentrate Freeze Dry (PFC-FD) for patients with severe reduced ovarian function

山下 衣里子<sup>1</sup>, 加来 翔志<sup>2</sup>, 鳥濱 朝子<sup>1</sup>, 福田 美里<sup>1</sup>, 太田 浩子<sup>1</sup>, 伊東 希望<sup>1</sup>, 勝下 芽衣<sup>2</sup>, 齋藤 穂華<sup>2</sup>, 住田 由香理<sup>2</sup>, 中田 雄太<sup>2</sup>, 熊谷 晶子<sup>2</sup>, 木戸 健陽<sup>1,2</sup>, 澤野 祥三<sup>1</sup>, 中村 公彦<sup>1,2</sup>

Yamashita E<sup>1</sup>, Kaku S<sup>2</sup>, Torihama A<sup>1</sup>, Fukuda M<sup>1</sup>, Ota H<sup>1</sup>, Ito N<sup>1</sup>, Katsuge M<sup>2</sup>, Saito H<sup>2</sup>, Sumida Y<sup>2</sup>, Nakata Y<sup>2</sup>, Kumagai A<sup>2</sup>, Kido T<sup>1,2</sup>, Sawano S<sup>1</sup>, Nakamura K<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>天の川レディースクリニック 〒576-0041 大阪府交野市私部西2-3-25

<sup>2</sup>天の川レディースクリニックひらかた院 〒573-0027 大阪府枚方市大垣内町2-17-13 枚方洛元ビル3階

<sup>1</sup>Amanogawa Ladies Clinic

<sup>2</sup>Amanogawa Ladies Clinic, Hirakata

**要旨:** 卵巣予備能が著明に低下した女性では高度生殖医療の技術を用いても治療に難渋することは少ない。近年、自己の血小板を濃縮した多血小板血漿 (PRP) を卵巣内に注入し卵巣機能の回復を目指す報告が散見され、さらに本邦では、血小板由来因子濃縮物 (PFC-FD) の卵巣注入療法が開始されている。今回我々は、AMHが1ng/ml未満の卵巣予備能が著明に低下した17症例を対象にPFC-FDの卵巣注入療法を行い、その後の体外受精治療成績をまとめたので報告する。結果、PFC-FD注入後に採卵個数は有意に増加したものの、MII卵数、受精卵数、移植可能胚数は注入前後で有意差は認められなかった。PFC-FD後に2例の妊娠例を認めたが妊娠率にも有意差は認められなかった。今後、若年の医原性やPOI患者等の卵巣予備能低下症例を対象を絞れば良好な成績が得られる可能性があり、更に症例を蓄積して検討したいと考えている。

**キーワード:** AMH, PFC-FD, 卵巣注入, 卵巣予備能

**ランニングヘッド:** 卵巣予備能低下症例へのPFC-FD卵巣注入の成績

**英文要旨:** Women with reduced ovarian function often have a poor response to treatment, even with the use of assisted reproductive technology. Recently, a study reported on the results of platelet-rich plasma therapy, where a concentrate of the patient's own platelets is injected into the ovaries to improve ovarian function. In Japan, ovarian injections of Platelet-Derived Factor Concentrate Freeze Dry (PFC-FD) are starting to be used for treatment. We report the results of our study, which was conducted in 17 patients with severe reduced ovarian function. We administered PFC-FD ovarian injections to these patients and collected data on subsequent rounds of in-vitro fertilization. Results showed that injection of PFC-FD significantly increased the number of retrieved oocytes. However, the number of MII oocytes, fertilized oocytes, and fertilized oocytes that developed into transferable embryos was not significantly different before and after PFC-FD therapy, and no improvements in the quality of oocytes and fertilized oocytes were observed. It is possible that treatment results would be favorable if conducted in young patients with diminished ovarian reserve; therefore, we plan to accumulate more cases to investigate the outcome of PFC-FD therapy in such patient populations.

**Key words:** AMH, ovarian function, ovarian injection, PFC-FD

## 目 的

近年、晩婚化により挙児を希望する女性の年齢が上昇し、卵巣予備能が低下した女性 (Diminished Ovarian Response : 以下DOR) に対して生殖補助医療技術 (Assisted Reproductive Technology : 以下ART) を行うことが増えている。しかしながら、DORや早発卵巣不全 (Premature Ovarian Insufficiency : 以下POI) の女性では、ARTを用いても良好胚が獲得できず治療に難渋することが少なくないが、これらの女性に対して残存卵巣機能を確実に改善できる効果的な治療法は確立されていない。

POIやDORの女性において、現在までに自己の血小板を濃縮した多血小板血漿 (Platelet Rich Plasma: 以下PRP) を卵巣内に注入し卵巣機能の回復を評価することを目的としたPOI患者向けの臨床試験がいくつか行われている<sup>1-3)</sup>。しかし、PRP療法は再生医療に位置付けられているため施設ごとの厚生労働省の認可が必要である<sup>4)</sup>。一方、血小板由来因子濃縮物 (Platelet-Derived Factor Concentrate Freeze Dry : 以下PFC-FD) は、自己の血液を遠心分離し、濃縮した血小板で組成された多血小板血漿内の成長因子のみを抽出し濃縮・活性化させ、無細胞化した物質である。PFC-FDの利点として、PRPと異なり再生医療等に関する届出が必要ないこと、さらに約6ヶ月間の常温保存が可能であるため、治療計画を柔軟に立案できることなどがある。現在までに本邦から少数のPFC-FDの症例報告はあるが<sup>5)</sup>、海外からの報告や治療後の妊娠例の報告はない。我々は2022年9月より、POIやDORの女性において、通常の体外受精で獲得卵子数が少ない症例や複数回の採卵で妊娠に至らない症例に対し、PFC-FDの卵巣注入療法を開始した。そこで今回我々は、当院におけるPFC-FD卵巣注入の治療成績を調査し、PFC-FDで卵巣機能およびARTの成績を改善できたかを検討したので報告する。

## 対象と方法

対象は、過去にARTを行うも妊娠に至らず、天の川レディースクリニック本院とひらかた院で2022年9月から2024年1月までの間にPFC-FDの卵巣注入を行った17症例 (27歳～47歳) で、PFC-FD施行前と施行後の体外受精における採卵数、MII卵数、受精数、移植可能胚数、妊娠成績および合併症を検討した。本調査は、英ウィメンズクリニック倫理委員会の外部審査で承認を得たうえで実施した (承認番号 : 2024-01)。

当院でPFC-FDの卵巣注入療法を行う基準として、

抗ミュラー管ホルモン (anti-Mullerian hormone: 以下AMH) が1ng/ml未満の低値かつ、半年以上卵胞発育がない患者、もしくは以前に体外受精を行っても獲得卵子数が3個以下で妊娠に至らなかった患者を対象とした。尚、対象患者はすべて既定の同意書の署名を確認した。

PFC-FDの作成方法としては、Cell Source社のプロトコルに従い、50mLの末梢静脈血を採取しCell Source再生医療センターに輸送。一次遠心分離を行い血漿層と血球層を分離し、血漿層を二次遠心分離を行い沈殿部分のPRP 1mLを採取。このPRPに対し2%塩化カルシウムを少量添加したリン酸緩衝液5mLで攪拌させ、血小板に刺激を与え、成長因子等を含む生理活性物質を放出させPFCを調整。作製したPFC内の不要な細胞をフィルター濾過することにより除去し無細胞化し、抽出成分を安定化させるために凍結乾燥処理を行った後、2本のバイアルに分注し当院に輸送され室温で保管。実際のPFC-FDの卵巣への注入時期は、卵巣描出自体が困難な症例もあり一定にはできなかったが、卵巣実質が確認できる症例では月経期以外、また卵巣描出が極めて困難な症例では注入の確実性を期すため初回の採卵直後に卵巣に注入した。方法としては、2本のPFC-FDバイアルをそれぞれ1mlの注射用蒸留水で溶解し、体外受精の採卵時と同様の方法で、21Gの穿刺針にシリンジを接続して穿刺前に穿刺針先端までPFC-FD溶液で満たし、卵巣を穿刺し内容液を左右の卵巣に合計1mlずつ注入。注入箇所は穿刺時の医師の判断によるが、卵巣体積が小さい症例では卵巣一箇所を穿刺し、卵巣の直径が約2cm以上見える症例では、5～10か所に0.1～0.2mlずつ注入した。注入後は腹腔内出血がないかを超音波検査にて確認。患者は処置後1時間は院内で待機しバイタルサインが問題のないことを確認し帰宅。

胚の評価は分割期胚ではVeeck分類を用い、胚盤胞ではGardner分類を用いた。今回の調査では全例がPOIまたはDORで移植可能胚獲得に難渋した症例であり分割期胚やGardner分類でBCやCBの胚盤胞での移植の選択肢も排除しなかった。そのため、移植可能胚は、採卵2日後の分割期胚ではVeeck分類4cell Grade3以上、採卵3日後の分割期胚ではVeeck分類8cell Grade3以上、胚盤胞ではGardner分類4BCまたは4CB以上の胚とした。着床前胚染色体異数性検査 (PGT-A) は全例未施行であり、妊娠は胎嚢を確認できた患者を妊娠群とし、生化学妊娠のみで胎嚢を確認できなかった患者は除外した。統計学的検討はstat flex ver7.0を用いてPaired-samples t-test、およびChi-squared testを行い、有意水準は $p < 0.05$ とした。

## 結果

今回我々が検討した全患者のPFC-FD施行前の年齢、経妊産回数、AMH値、月経周期 (cycle day: 以下CD) 2-4日目の胞状卵胞数 (Antral Follicle count: 以下AFC)、FSH値、LH値、E2値を表1に示す。患者の年齢は27~47歳、AMH値は0.02~0.96 (ng/ml)、AFCは0~3個、FSH値は7.4~129 (mIU/ml)、LH

値は2.3~64.4 (mIU/ml)、E2値は検出感度20未満~47 (pg/ml)であった。

PFC-FD卵巣注入の効果調べるために、まずPFC-FD注入前後において、CD2-4のFSH値を比較検討した。(PFC-FD注入前後でFSH値を複数回測定している症例ではそれらの平均値を比較した。) PFC-FD注入前後のFSH値の変化を図1-aに示す。PFC-FD注入前後では、FSHに有意な改善を示す傾向は見られな

表 1

	年齢	経妊産	AMH値 (ng/ml)	AFC (個)	CD2-4のFSH 値(mIU/ml)	CD2-4のLH 値(mIU/ml)	CD2-4のE2 値(pg/ml)
症例1	27	0G0P	0.52	1	13.2	5.7	<20
症例2	32	0G0P	0.76	2	13	6	42
症例3	34	0G0P	0.02	0	60.6	38.8	<20
症例4	36	0G0P	0.68	2	24.7	11.1	33
症例5	39	2G1P	0.24	0	10.9	3.1	<20
症例6	41	0G0P	0.83	2	18.1	7.3	27
症例7	41	0G0P	0.96	3	10.7	4.3	43
症例8	41	0G0P	0.21	1	24	8	<20
症例9	41	0G0P	0.16	2	22.2	5.6	<20
症例10	42	0G0P	0.05	1	129	64.4	8
症例11	43	0G0P	0.83	0	7.4	3.8	20.8
症例12	43	0G0P	0.42	2	14.1	4.2	24
症例13	43	1G0P	0.34	2	13.9	7.9	28
症例14	43	1G0P	0.02	0	19.5	2.3	<20
症例15	46	0G0P	0.37	1	19.8	13	25
症例16	46	1G0P	0.03	0	23.8	7.8	<20
症例17	47	0G0P	0.06	0	25.1	6.2	47

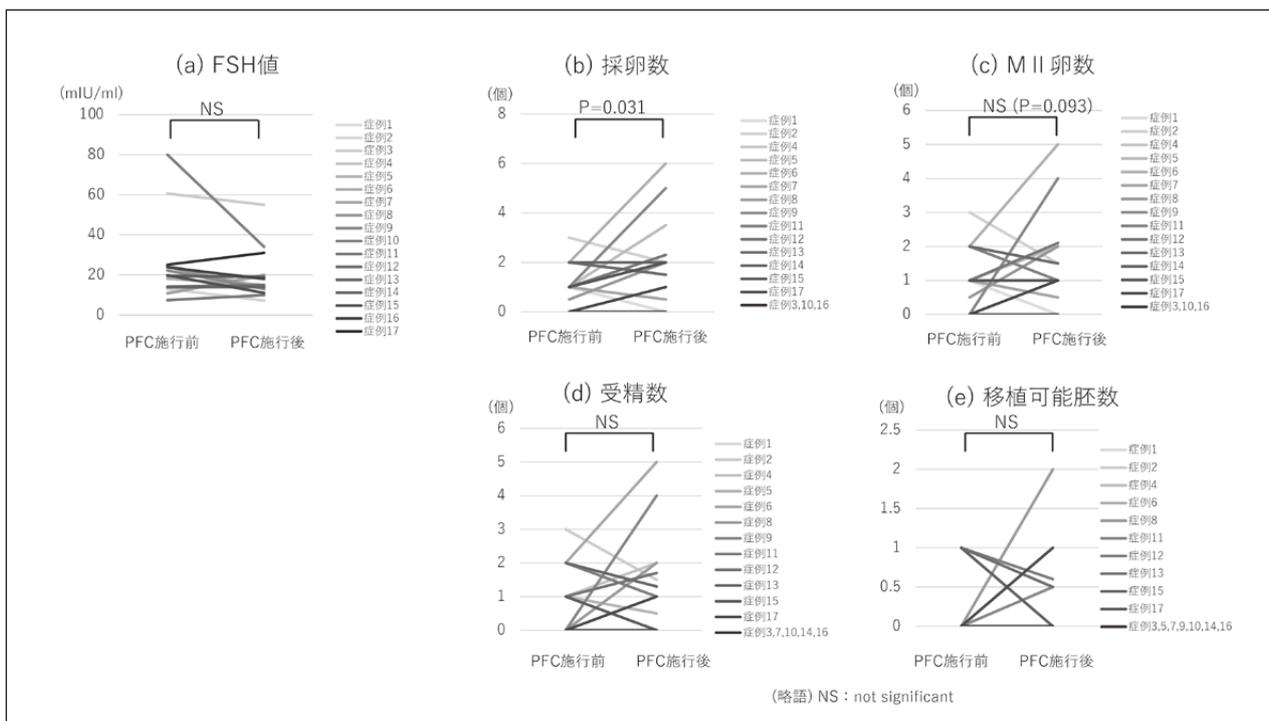


図 1 PFC-FD 施行前と施行後の FSH 値、採卵数、M II 卵数、受精数、移植可能胚数の比較

かった。

次に、ART成績の検討として、PFC-FD 卵巣注入施行前と施行後の採卵結果を表2-a, bに示す。PFC-FDの卵巣への注入はほとんどの症例で1回のみ施行されていたが、2症例(症例4, 症例7)では2回目のPFC-FD再注入が行われていた。PFC-FD施行前の採卵回数は0~4回であり、卵巣刺激法はほとんどの症例でGn-

RH agonistを使用したshort法であった。自然周期や低刺激周期が少なかった理由としては、ARTを開始する前の一般不妊治療において自然周期や排卵誘発薬を用いて治療を行ったが卵胞が発育しなかったため、それらの方法は選択されなかったと考えられた。1回あたりの採卵数は0~3個、MII卵数も0~3個、受精数も0~3個で、9症例で受精卵が得られたが、移植可能胚が獲

表 2-a (症例 1~10)

PFC-FD施行前								PFC-FD施行後								
採卵	卵巣刺激法	採卵数	MII卵数	受精卵数	移植可能胚	妊娠転機		採卵	PFCから採卵までの日数	卵巣刺激法	採卵数	MII卵数	受精卵数	移植可能胚	妊娠転機	
症例1	1回目	short	1	1	1	4BB	陰性	1回目	52	antago	0	0	0	0	-	
症例2	1回目	short	3	3	3	4BB	陰性	1回目	19	short	2	2	2	0	-	
								2回目	44		2	1	1	0		
症例3	なし	short	卵胞発育せず採卵できず						なし	-	short	卵胞発育せず採卵できず				
症例4	1回目	short	1	1	1	4CB	陰性	1回目	61	short	1	1	1	0	-	
(※PFC-FD2回施行症例)								2回目	①後91, ②後21	short	3	3	3	9cell G3	出産	
症例5	1回目	低刺激	1	1	1	0	-	1回目	32	short	3	1	0	0	-	
								2回目	63	short	4	3	1	0	-	
症例6	1回目	short	2	2	2	0	-	1回目	55	short	6	5	5	5CB	陰性	
症例7	1回目	short	1	1	0	0	-	1回目	61	short	0	0	0	0	-	
(※PFC-FD2回施行症例)								2回目	①後119, ②後26	short	1	1	0	0	-	
								3回目	①後207, ②後114	short	0	0	0	0	-	
症例8	1回目	short	1	1	0	0	-	1回目	41	short	2	2	2	2	陰性	
	2回目	低刺激	0	0	0	0	-									
	3回目	short	1	1	0	0	-									
	4回目	short	1	0	0	0	-									
症例9	1回目	short	1	0	0	0	-	1回目	28	short	5	4	4	0	-	
症例10	1回目	short	0	0	0	0	-	1回目	66	short	0	0	0	0	-	

(略語) short : short法、低刺激 : 低刺激法、antago : antagonist法、①後 : PFC-FD1回目注入後、②後 : PFC-FD2回目注入後

表 2-b (症例 11~17)

PFC-FD施行前								PFC-FD施行後							
採卵	卵巣刺激法	採卵数	MII卵数	受精卵数	移植可能胚	妊娠転機		採卵	PFCから採卵までの日数	卵巣刺激法	採卵数	MII卵数	受精卵数	移植可能胚	妊娠転機
症例11	1回目	antago	2	2	2	0	-	1回目	37	antago	2	1	1	4CB	陰性
症例12	1回目	short	1	1	1	8cell G3	陰性	2回目	171	antago	1	1	1	0	-
								1回目	91	short	1	1	1	0	-
								2回目	144	short	4	3	3	0	-
								3回目	165	short	5	5	4	4cell G3	-
								4回目	208	short	1	1	1	5cell G3	2個移植 陰性
								5回目	241	short	3	3	2	5BB	陰性
								6回目	271	short	1	1	0	0	-
								7回目	325	short	1	1	1	4AB	妊娠中
症例13	1回	short	2	2	2	4BC	陰性	1回目	24	short	2	2	0	4cell G3	-
								2回目	52	short	2	2	1	8cell G3	2個移植 陰性
								3回目	170	antago	1	1	1	0	-
								4回目	203	antago	1	1	1	0	-
症例14	1回	short	2	1	0	0	-	1回目	27	short	1	1	1	0	-
								2回目	76	short	2	1	0	0	-
								3回目	97	short	1	1	0	0	-
症例15	1回	antago	1	1	1	8cell G3	陰性	1回目	88	short	0	0	0	0	-
症例16	1回	short	0	0	0	0	-	2回目	137	short	2	1	0	0	-
症例17	1回	short	0	0	0	0	-	1回目	24	short	1	0	0	0	-
								1回目	40	short	1	1	1	4cell G3	陰性

(略語) short : short法、antago : antagonist法

得できたのは6症例であり、全例が妊娠に至らなかった。

一方、PFC-FD施行後の採卵回数は0~7回であり、施行後の刺激法もほとんどの症例でGn-RH agonistを使用したshort法であった。1回あたりの採卵数は0~6個、MII卵数は0~5個、受精数も0~5個であり、6症例の10周期で移植可能胚が得られ、そのうち2人が妊娠し1人が出産に至っている。

PFC-FD 卵巣注入の効果を検討する為に、PFC-FD 施行前後の採卵数、MII卵数、受精数、移植可能胚数を比較検討した(複数回採卵した患者では平均値を比較した)ところ、採卵数は有意に増加したが(図1-b;  $P=0.031$ )、MII卵数は増加傾向はあるが有意差はなく(図1-c;  $P=0.093$ )、受精数、移植可能胚数では有意差を認めなかった(図1-d, e)。またPFC-FD注入後に2人が妊娠に至ったが、妊娠率にも注入前後で有意差は認めなかった( $P>0.05$ )。

PFC-FD 卵巣注入の合併症の調査では、アレルギー反応や腹腔内出血、他臓器損傷、感染症などは1例も見られなかった。

## 考 察

現在、POIやDORの女性でARTを用いても卵子の獲得が困難な症例では、卵子提供<sup>6)</sup>が海外では行われているが、わが国では卵子提供は倫理的・社会的に未だ議論が定まっていないため、患者自身の卵巣機能を回復させる方法が模索されている。その方法としてPRPを卵巣内に注入し卵巣機能の回復を評価する臨床試験が行われ、良好な成績が報告されている<sup>1,2)</sup>。

PRPは患者本人の血液を使用するため安全性が高く、非手術的治療の選択肢として整形外科やスポーツ医学、歯科、皮膚科、泌尿器科などの幅広い分野で活用が始まっている<sup>7-9)</sup>。生殖補助医療の分野でも、反復着床不全患者に対して子宮内腔に投与し着床率を改善する目的で使用されており、その有用性の報告が多数なされている<sup>10-13)</sup>。近年、PRPをPOIやDORの患者の卵巣内に注入し卵巣機能の回復を評価する報告は海外から複数報告され、AMH、FSH、およびAFCの有意な改善が見られ、妊娠予後も改善したとの報告が複数あるが<sup>1-3)</sup>、妊娠予後は改善しないとの報告もあり<sup>14)</sup>議論の余地がある。

一方PFC-FD臨床応用の歴史は浅いが、本邦では整形外科領域において、変形性関節症や関節周囲が炎症を起こして痛みを生じている患者に多く用いられ複数の報告がある<sup>15-16)</sup>。近年、生殖医療においてもPRPと同様に、PFC-FDでも反復着床不全患者に対して子宮内腔に投与し着床率を改善する目的や、卵巣予備能低下

症例に対して卵巣に注入することで組織修復や再生を促進する目的で使用され始めている。しかしながらPFC-FDの卵巣注入の海外からの報告はなく本邦からの報告もわずかであり<sup>5)</sup>、治療効果のエビデンスが少なく、治療効果の持続期間など未解明な点も多くある。しかしPRPは再生医療に位置付けられているため施設ごとの厚生労働省の認可が必要であるが、PFC-FDはPRPと異なり再生医療等に関する届出が必要なく、約6ヶ月間の常温保存が可能であるため、治療計画を柔軟に立案できるという利点がある。

POIの女性では、卵巣機能が低下していても必ずしも卵巣に卵胞が全くないわけではない<sup>1)</sup>と考えられているため、今回我々はPFC-FD卵巣注入を行う対象患者を、POIやDORと診断された患者全員とはせず、AMH 1ng/ml未満で、かつ半年以上卵胞発育がない患者もしくは卵巣刺激で体外受精を行っても獲得卵子数が3個以下の患者のみを対象とした。

今回の我々の検討では、PFC-FD注入後に、採卵数は全体では有意に増加していた。これはPFC-FDが、PRPと同様に血管新生等の生理学的プロセスを促進して卵巣組織の再活性化を誘発した可能性が考えられるが<sup>17-18)</sup>、今回の我々の検討では、MII卵数、受精卵数、移植可能胚数では有意差を認めなかった。また、症例により採卵数が全く増えない症例も散見された。これは、残存卵巣機能の差にも起因すると考えられるが、手技的な面の考察としては、POIやDORの患者の卵巣実質は超音波で同定することが困難なほど小さい症例もあり、実際の卵巣注入の手技の難易度が高いこと、また注入時期や注入箇所が統一できていないことに起因する可能性も推察される。我々は卵巣実質が非常に小さい患者においては、初回の採卵直後に卵巣の同定が容易な状況で次回の採卵のためにPFC-FDを注入した。ただし採卵直後の注入では手技的に確実性が高いが、採卵時のPFC-FD注入は保険適応化では認められておらず、採卵からすべて自費診療になることも考慮しなくてはならない。卵巣の同定が比較的容易な症例では月経期以外の時期に注入した。これらの複合的な要因が、移植可能胚の増加には至らなかった一つの原因と考えられた。

PFC-FDやPRPの卵巣注入の至適注入時期や回数、効果持続期間の検討としては、現在のところ統一したプロトコルがない。我々が調べたところ、PRPの卵巣注入時期や注入回数についても論文間にはばらつきがみられ<sup>1-3)</sup>、一次卵胞が二次卵胞まで達するのに約120日、前胞状卵胞から胞状卵胞まで約65日かかる<sup>14,19)</sup>ことを考慮し3周期連続でPRPを卵巣に注入した報告<sup>14)</sup>もあるが、多くの論文では1回のPRP注入での有効性を報告している<sup>1-3)</sup>。

またPRPの卵巣注入後の効果発現時期についても論文によりばらつきがみられた。POIで19か月月経がなかった40歳の患者において、PRP 1回注入後6週間で月経発来後、8週目に体外受精を実施して卵子を獲得できたとの報告<sup>3)</sup>もあるが、PRP投与後3周期経過後に卵胞発育するとの報告もある<sup>1)</sup>。

今回の我々の検討では、卵巣注入の1か月後に卵子数が増加した症例もあれば4か月以上経ってから増加した症例もあり、今後さらに症例を蓄積して検討する必要があると考えられた。また妊娠症例の検討では、症例4と症例12の2症例が妊娠に至った。そのうち1例は分娩に至ったが、その2症例はPFC-FD施行前の周期でも移植可能胚が獲得できていた症例であったこと、さらに症例12の妊娠はPFC-FD注入後325日後の採卵で獲得した胚による妊娠であることより、PFC-FDの治療効果と断定することは困難であると考えられる。

今回の結果では、採卵数の増加のみ有意に増加したにとどまり、予想どおり卵質及び胚質の向上には寄与していない結果ではあったが、採卵個数が増加した事でPFC-FD卵巣注入は一定の効果があると考えられる。そのため比較的若年者のPOIや抗がん剤治療後の医原的POIにおいては染色体レベルのダメージが限定的であれば、良質卵の獲得から妊娠・出産に転帰する可能性を期待できるのではないかと考えられた。

今回我々は、AMH1 ng/ml未満かつ、半年以上卵胞発育がない患者、もしくは以前に卵巣刺激で体外受精を行っても獲得卵子数が3個以下で妊娠に至らなかった患者を対象としてFSH・採卵数・移植可能胚の獲得を指標に検討した。今後症例数の蓄積に伴い、AMH1 ng/ml未満の対象症例の選択として、POIの背景別(年齢因子・医原的因子・突発性など)に卵巣実質が超音波下で明確に同定できる症例について、PFC-FD投与時期を固定した検討を行い、かつその効果持続期間をより正確に把握することが臨床応用するうえで必要と考えられた。

## 参考文献

- 1) Cakiroglu Y, Saltik A, Yuceturk A, Karaosmanoglu O, Kopuk SY, Scott RT, Tiras B, Seli E: Effects of Intraovarian Injection of Autologous Platelet Rich Plasma on Ovarian Reserve and IVF Outcome Parameters in Women With Primary Ovarian Insufficiency. *Aging*, 12: 10211-10222, 2020.
- 2) Sfakianoudis K, Simopoulou M, Grigoriadis S, Pantou A, Tsioulou P, Maziotis E, Rapani A, Giannelou P, Pantos K: Reactivating Ovarian Function Through Autologous Platelet-Rich Plasma Intraovarian Infusion: Pilot Data on Premature Ovarian Insufficiency, Perimenopausal, Menopausal, and Poor Responder Women. *J Clin Med*, 9: 1-25, 2020.
- 3) Sfakianoudis K, Simopoulou M, Nitsos N, Rapani A, Pappas A, Pantou A, Pantos K: Autologous Platelet-Rich Plasma Treatment Enables Pregnancy for a Woman in Premature Menopause. *J Clin Med*, 8: 1-7, 2019.
- 4) 堤治・野間桃・久須美真紀: 多血小板血漿 (PRP) による着床改善 産科と婦人科, 87(11): 1291-1296, 2020.
- 5) 矢嶋秀彬・門上大祐・藤原奨・太田志代・勝佳奈子・森本真晴・山内博子・中岡義晴・森本義晴: 卵巣予備能低下症例3例に対する Platelet-Derived Factor Concentrate Freeze Dry (PFC-FD) 療法, 日受精着床会誌, 39: 274-281, 2022.
- 6) Oyesanya OA, Olufowobi O, Ross W, Sharif K, Afnan M: Prognosis of oocyte donation cycles: a prospective comparison of the in vitro fertilization-embryo transfer cycles of recipients who used shared oocytes versus those who used altruistic donors. *Fertil Steril*, 92: 930-936, 2009.
- 7) Dhillon RS, Schwarz EM, Maloney MD: Platelet-rich plasma therapy: future or trend? *Arthritis Res Ther*, 14: 219-228, 2012.
- 8) Everts PA, Hoogbergen MM, Weber TA, Devilee RJ, van Montfort G, de Hingh IH: Is the use of autologous platelet-rich plasma gels in gynecologic, cardiac, and general, reconstructive surgery beneficial? *Curr Pharm Biotechnol*, 13: 1163-1172, 2012.
- 9) Lai LP, Stitik TP, Foye PM, Georgy JS, Patibanda V, Chen B: Use of platelet-rich plasma in intra-articular knee injections for osteoarthritis: a systematic review. *PM R*, 7: 637-648, 2015.
- 10) Garcia-Velasco JA, Acevedo B, Alvarez C, Alvarez M, Bellver J, Fontes J, Landeras J, Manau D: Strategies to manage refractory endometriosis: state of the art in 2016. *Reprod Biomed Online*, 32: 474-489, 2016.
- 11) Kong X, Tang G, Liu Y, Zheng Z, Li Y, Yan F: Efficacy of intrauterine infusion therapy before embryo transfer in recurrent implantation failure: A systematic review and network meta-analysis. *J Reprod Immunol*, 156: 103819, 2023.
- 12) Deng H, Wang S, Li Z, Xiao L, Ma L: Effect of intrauterine infusion of platelet-rich plasma for women with recurrent implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *J Obstet Gynaecol*, 43: 2144177, 2023.
- 13) Russell SJ, Kwok YSS, Nguyen TTN, Librach C: Autologous platelet-rich plasma improves the endometrial thickness and live birth rate in patients with recurrent implantation failure and thin endometrium. *J Assist Reprod Genet*, 39: 1305-1312, 2022.
- 14) P Melo, C Navarro, C Jones, K Coward, L Coleman: The use of autologous platelet-rich plasma (PRP) versus no intervention in women with low ovarian reserve undergoing fertility treatment: a non-randomized interventional study. *J Assist Reprod Genet*, 37: 855-863, 2020.
- 15) 白田智彦・加藤有紀: 変形性膝関節症に対し施行した自己血由来PRPを用いたPFC (platelet-derived factor concentrate) 治療の臨床成績. *JOSKAS*, 44: 84-85, 2019.
- 16) 大鶴任彦・前川祐志・尾辻正樹・岡崎賢: 変形性膝関節症に対するPFC-FD注射におけるMRI三次元自動解析ソフトウェアを用いた軟骨評価 - 単回注射 vs. 3回注射: 関節外科 基礎と臨床, 41: 1405-1409, 2022.

- 17) Pantos K, Nitsos N, Kokkali G, Vaxevanoglou T, Markomichali C, Pantou A: Ovarian rejuvenation and folliculogenesis reactivation in peri-menopausal women after autologous platelet-rich plasma treatment. Proceedings of the 32nd Annual Meeting of ESHRE; July pp. 3-6, 2016.
- 18) Ozcan P, Takmaz T, Tok OE, Islek S, Yigit EN, Ficicioglu C: The protective effect of platelet-rich plasma administrated on ovarian function in female rats with Cy-induced ovarian damage. J Assist Reprod Genet, 37: 865-873, 2020.
- 19) 生殖医療の必修知識2023, 一般社団法人日本生殖医学会編, (株)杏林舎, pp34-35, 2023.

# ARTにおける調整卵巣刺激法に progestin primed ovarian stimulation を行った際の FSH 製剤ホリトロピンデルタとホリトロピンアルファの使用比較

Comparison of follitropin delta versus follitropin alfa in progestin-primed ovarian stimulation in IVF

岡本 恵理, 江夏 徳寿, 山田 弘次, 山田 愛, 林 奈央, 山田 聡, 水澤 友利, 江夏 国宏,  
柴原 浩章, 苔口 昭次, 塩谷 雅英

Eri Okamoto, Noritoshi Enatsu, Kouji Yamada, Ai Yamada, Nao Hayashi, Satoshi Yamada, Yuri Mizusawa, Kunihiro Enatsu,  
Hiroaki Shibahara, Shoji Kokeguchi, Masahide Shiotani

英ウィメンズクリニック 〒650-0021 神戸市中央区三宮町 1-1-2 三宮セントラルビル7F  
Hanabusa Women's Clinic

**要旨:** 【目的】ホリトロピンデルタが全胚凍結を前提としたprogestin primed ovarian stimulation (以下PPOS)法の排卵誘発において使用された報告は少なく, 今回, ホリトロピンアルファと比較して臨床結果に差があるかどうかを検討した.

【方法】2022年4月から2022年8月までにホリトロピンデルタまたはホリトロピンアルファを用いたPPOS法による排卵誘発を受けた患者644人を対象に体外受精(顕微授精)の培養成績を比較した. また, 融解胚移植を行った504周期の臨床成績を後方視的に解析した.

【成績】ホリトロピンデルタ群324名, ホリトロピンアルファ群320名で, 受精率81.4% vs 80.1%, 良好分割期胚率59.4% vs 55.9% ( $P<0.05$ ), 胚盤胞率58.9% vs 55.7%, 良好胚盤胞率41.3% vs 38.7% ( $P<0.05$ )であった. 軽度のOHSSは40.3% vs 53.1%で確認された ( $P<0.05$ ). 融解胚移植はホリトロピンデルタ群260周期, ホリトロピンアルファ群244周期で行われ,  $\beta$ -hCG陽性率は59.6% vs 59.0%, 臨床妊娠率は41.6% vs 44.1%, 累積臨床妊娠率は58.8% vs 61.9%, 生産率は44.6% vs 48.0%と両群間に有意差は認めなかった.

【結論】妊娠率に関して, ホリトロピンデルタ群とホリトロピンアルファ群の間に差はなかったが, 良好分割期胚率, 良好胚盤胞率において有意にホリトロピンデルタ群が良好であった. また, OHSS発生率が有意に低く, 安全性が確認された.

キーワード: 調節卵巣刺激, 排卵誘発剤, ホリトロピンアルファ, ホリトロピンデルタ, PPOS法  
ランニングヘッド: PPOS法における2種類のrFSHの使用比較

**英文要旨:** Purpose: There have been few reports on the use of follitropin delta at progestin primed ovarian stimulation (PPOS) method in controlled ovarian stimulation which is based on the freeze all strategy. We investigated whether there was any difference in clinical results compared to follitropin alfa.

Methods: A total of 644 patients who underwent ovarian stimulation under PPOS method using follitropin delta or follitropin alfa between April 2022 and August 2022 are included in this study. Laboratory outcomes of IVF-ICSI were retrospectively analyzed to compare each group. In addition, clinical outcomes of 504 frozen-thawed embryo transfer cycles were analyzed.

Results: The fertilization rate was 81.4% and 80.1% in follitropin delta-group ( $n=324$ ) and follitropin alfa-group ( $n=320$ ), good quality cleavage-stage embryo rate was 59.4% and 55.9%, blastocyst formation rate was 58.9% and 55.7%, good quality blastocyst formation rate were 41.3% and 38.7% ( $P<0.05$ ), respectively. Mild Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) was reported in 40.3% and 53.1% ( $P<0.05$ ), respectively. Frozen-thawed embryo transfers were performed for 260 cycles in the follitropin delta-group and 244 cycles in the follitropin alfa-group, with  $\beta$ -hCG positive rate of 59.6% and 59.0%, ongoing pregnancy rate of 41.6% and

44.1%, cumulative ongoing pregnancy rate of 58.8% and 61.9%, and live birth rate of 44.6% and 48.0%, respectively. No significant differences were found between the two groups.

Conclusion: Although there was no difference between follitropin delta-group and follitropin alfa-group in terms of pregnancy rates, good quality cleavage-stage embryo rate and good quality blastocyst rate were significantly better in follitropin delta-group. In addition, the incidence of OHSS was significantly lower in  $\delta$ -group, confirming its safety in clinical setting.

キーワード：controlled ovarian stimulation, follitropin alfa, follitropin delta, progestin primed ovarian stimulation

## 緒言

2015年にKuangらが初めて報告した progestin primed ovarian stimulation (PPOS)法は生殖補助医療(Assisted reproductive technology: ART)における調整卵巣刺激方法のなかで今では主流な排卵誘発方法となっている。

ホルトリピンデルタは、従来の投与方法と違い血清 AMH 値と体重に基づいて投与量を決定するアルゴリズムに基づく個別投与レジメンを用いた初のリコンビナント FSH 製剤である。卵巣過剰刺激症候群のリスクを低減しながら、目標採卵個数を 8-14 個に設定している。ホルトリピンデルタの有効性と安全性は、ランダム化比較試験で実証されている<sup>1-3)</sup>が、全胚凍結を前提とした PPOS 法の排卵誘発において使用された報告は少なく、今回、ホルトリピンアルファと比較して臨床結果に差があるかどうかを検討した。

## 対象と方法

### 1. 対象

2022年4月から2022年8月の間に、当院でIVF/ICSIのために調節卵巣刺激を受けた女性のうち、ホルトリピンデルタまたはホルトリピンアルファを用いたPPOS法による卵巣刺激を行った644症例について後方視的に解析を行った。

なお、本研究は院内識者および外部委員から構成される英ウィメンズクリニック倫理委員会の承認を受けており(受付番号:2024-12)、本研究参加者には、研究目的、方法、参加は自由意志で拒否による不利益はないこと、及び個人情報保護について、文書と口頭で説明を行い、書面にて同意を得た。

### 2. 採卵方法

PPOS法のプロトコールはCD3よりMedroxyprogesterone Acetate (MPA) 5mg/日を経口投与し、同時にホルトリピンデルタまたはホルトリピンアルファを連日皮下投与した。ホルトリピンデルタはアルゴリズム通りの投与量を最後まで容量変更せず投与し、ホルトリピンアルファは医師の裁量に基づいて

投与量を決定し、反応に応じて適宜容量変更を行った。3個以上の卵胞平均径が18mmに達した時点で、トリガーを投与した。トリガーには、ブセレリン酢酸塩(ブセレキュア、富士製薬、日本)300 $\mu$ g/回を1時間空けて2回点鼻、あるいはhCG製剤としてHCGモチダ注射用5千単(持田製薬、日本)、もしくはオビドレル皮下注シリンジ250 $\mu$ g(メルクバイオファーマ、日本)1本をいずれか単独、あるいは両方使用した。トリガー投与約37時間後に採卵を行った。受精方法は精液所見や過去の成績などより医師の裁量で決定し、受精確認は媒精およびICSI後18~20時間後に行った。

### 3. 評価方法

受精率はICSI施行卵数とIVF施行後受精確認の段階で未熟卵であったものを除いた卵子数を分母として、受精ありと判定された卵子数を分子として計算した。IVF症例においては媒精4時間後に裸化処理を行い、GV核を認めた、もしくは第2極体を認めなかったものを未熟卵と判断した。採卵後1日目の時点で雌雄前核が観察されたもの、もしくは雌雄前核が観察されなかった症例においても胚盤胞発生を認めたものを受精ありと判定した。正常受精率は雌雄前核が確認できた個数を分子として計算した。3個以上の前核を認めた受精卵を除いて培養し、良好分割胚率はDay2で分割が確認できた胚数を分母とし、良好分割胚数を分子として計算した。分割期胚の評価はVeckの分類<sup>4)</sup>を用いて行い、Day0時を採卵日とし、Day2時、Grade1,2の4-cell及びGrade3以上の5-cell以上の胚を良好分割期胚とした。分割期胚で凍結を行わずに培養した胚数を分母とし、胚盤胞になった胚数を分子として、継続当たりの胚盤胞率を計算した。また、胚盤胞の評価はGardnerの分類<sup>5)</sup>を用いて、Grade3BB以上を良好胚盤胞とした。良好胚盤胞率は全胚盤胞数を分母として良好胚盤胞数を分子として求めた。

さらに培養成績に影響を及ぼさる因子としてホルトリピンデルタ投与群とホルトリピンアルファ投与群の血清AMH値別培養成績を解析対象として、散布図および群間比較を行って分析した。

血清 AMH 値が低いものから順に 20 例毎の回収卵数、分割卵数、胚盤胞数、良好胚盤胞数の平均値を求め、胚盤胞率、良好胚盤胞率を計算し、プロットし解析した。

継続培養中の良好胚盤胞発生率が 25% を超えたものをエンドポイントとして影響する因子を年齢、血清 AMH 値、体重、投与薬剤別にロジスティック回帰分析を行い解析した。

さらに、自然周期またはホルモン補充周期で凍結融解胚移植を行った女性 504 人について、移植当たりの  $\beta$ hCG 陽性率（胚盤胞移植 10 日後の血清  $\beta$ hCG 定量にて判定）、臨床的妊娠率（子宮内に 1 個以上の胎嚢を確認できた症例）、症例当たりの累積妊娠率（1 回の排卵誘発周期で得られた凍結胚盤胞を妊娠するまで、あるいは胚を使い切るまで移植を反復して行った結果臨床的妊娠にいたった確率）、症例当たり生産率（1 回の排卵誘発周期で得られた胚で生産にいたった確率）を分析した。

また、排卵誘発時の有害事象の有無を検討するために採卵時に卵巣腫大を認めたかどうかについても調査した。

統計手段としては、 $\chi^2$  検定およびスチューデントの T 検定を用い、計算ソフトとしてマイクロソフトエクセル<sup>®</sup>および EZR<sup>®</sup>を用いた。p<0.05 をもって有意差ありと定義した。また散布図における分散分析では、線形近似と対数近似

を実施し相関係数（r）二乗の大きい方を相関判定に用い、 $r^2 > 0.3$  をもって相関ありと判断した。

## 結果

表 1 にホリトロピンデルタ投与群 324 例とホリトロピンアルファ投与群 320 例の患者背景を示す。平均年齢・体重・血清 AMH 値・過去の採卵回数に差は認めなかった。

続いて表 2 に両群の排卵誘発結果を示す。排卵誘発剤投与期間はホリトロピンデルタ投与群 9.0 ± 1.4 日に対しホリトロピンアルファ投与群は 8.6 ± 1.2 日とホリトロピンデルタ投与群が有意に長く (P<0.05)、ゴナドトロピン総投与量はホリトロピンアルファ 75IU を 5.5  $\mu$ g として換算する<sup>6)</sup> とホリトロピンデルタ投与群 81.2 ± 26.4  $\mu$ g に対しホリトロピンアルファ投与群は 141.3 ± 29.4  $\mu$ g とホリトロピンアルファ投与群が有意に多かった (P<0.05)。平均採卵数はホリトロピンデルタ投与群 8.0 ± 5.1 個に対しホリトロピンアルファ投与群は 10.1 ± 6.8 個とホリトロピンアルファ群が有意に多かった (P<0.05)。総投与量を採卵個数で除して求めた卵子 1 個当たりの投与量はホリトロピンデルタ投与群 16.8 ± 17.0  $\mu$ g に対しホリトロピンアルファ投与群は

表 1 患者背景

	ホリトロピンデルタ (n=324)	ホリトロピンアルファ (n=320)	P値
年齢 (歳)	35.1 ± 4.3	35.2 ± 4.3	N.S
体重 (kg)	54.2 ± 8.7	55.2 ± 9.3	N.S
AMH (ng/mL)	3.6 ± 3.3	3.5 ± 3.1	N.S
過去の ART 回数	1.6 ± 1.6	1.7 ± 1.7	N.S

表 2 排卵誘発剤投与期間・総投与量・平均採卵数・卵子 1 個当たりの投与量

	ホリトロピンデルタ (n=324)	ホリトロピンアルファ (n=320)	P値
投与期間 (日)	9.0 ± 1.4	8.6 ± 1.2	P<0.05
総投与量 ( $\mu$ g)	81.2 ± 26.4	141.3 ± 29.4	P<0.05
平均採卵数	8.0 ± 5.1	10.1 ± 6.8	P<0.05
卵子 1 個当たりの投与量 ( $\mu$ g)	16.8 ± 17.0	23.8 ± 22.9	P<0.05

表3 培養成績

	ホリトロピンデルタ	ホリトロピンアルファ	P値
受精率	81.4% (1741/2138)	80.1% (2088/2606)	N.S
正常受精率	73.9% (1579/2138)	71.5% (1863/2606)	N.S
分割率	92.5% (1610/1741)	91.0% (1900/2088)	N.S
良好分割期胚率	59.4% (957/1610)	55.9% (1062/1900)	P<0.05
継続あたりの胚盤胞率	58.9% (945/1604)	55.7% (1051/1888)	N.S
良好胚盤胞率	41.3% (390/945)	38.7% (407/1051)	P<0.05

23.8±22.9μgとホリトロピンデルタ投与群が有意に少なかった。

続いて、各群の培養結果を表3に示す。受精率・正常受精率・分割率には各群間に差は認めなかったが、良好分割期胚率はホリトロピンデルタ投与群で59.4%とホリトロピンアルファ投与群55.9%に対し有意に高かった(P<0.05)。また、継続培養した胚の胚盤胞発生率はホリトロピンデルタ投与群が58.9%とホリトロピンアルファ投与群55.7%との有意差はなかったが、良好胚盤胞率はホリトロピンデルタ投与群41.3%と、ホリトロピンアルファ投与群38.7%に比較して有意に高かった(P<0.05)。

続いて、ホリトロピンデルタ投与群とホリトロピンアルファ投与群における回収卵数、分割数、胚盤胞数、良好胚盤胞数、胚盤胞率、良好胚盤胞率を血清AMH別に20例毎の平均値を求め、プロットし解析した結果を図1に示す。回収卵数、分割数、胚盤胞数、良好胚盤胞数は両群とも血清AMH値が高くなるにつれて増加するが、その増加は徐々に緩徐になっていた。また、回収卵数は血清AMH値が2.5 ng/mLを超えるあたりからホリトロピンアルファ投与群の方が多くなっていた。分割数、胚盤胞数、良好胚盤胞数でも同様の傾向だが、両群の差は小さくなっていた。胚盤胞率は血清AMH値と相関を認めず、群間差も認めなかった。良好胚盤胞率はホリトロピンデルタ投与群がホリトロピンアルファ投与群よりも高く、両群ともに血清AMH値4～5ng/mLあたりにピークを認めた。また、両群とも年齢とともに同様の血清AMHの低下を認めており、両群間に差を認めなかった。

次に継続培養中の良好胚盤胞発生率が25%を超えたものをエンドポイントとして影響する因子を調べるために、年齢、AMH値、体重、投与薬剤別にロジスティック回帰分析を行い解析した結果を表4に示す。年齢のみが良好胚盤胞発生率25%以上を予測する有意な予測因子となっており(95%信頼区間0.86-0.94, p<0.05)、AMH値・

体重・投与薬剤には有意差を認めなかった。

表5に移植症例の妊娠成績を示す。解析時に胚移植を行っていた症例は504周期で、ホリトロピンデルタ投与群が

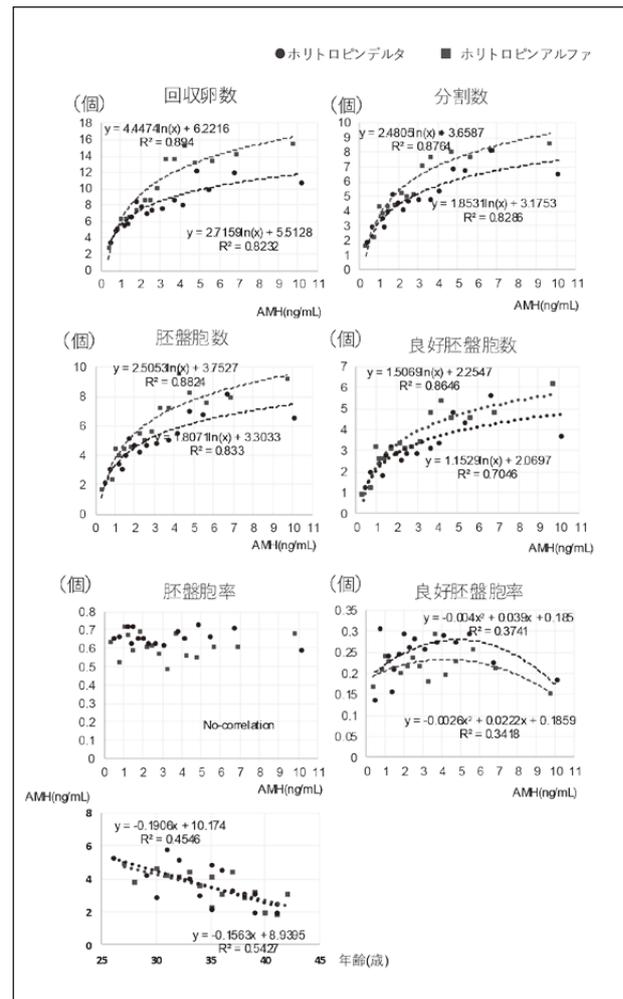


図1 AMH別の採卵・培養成績

表4 良好胚盤胞発生率 25%以上に関連する因子の多変量解析

	Odds ratio	95% CI	P-value
年齢	0.9	0.86-0.94	<0.05
血清AMH値	0.96	0.90-1.01	0.11
体重	1.01	0.99-1.03	0.37
ホリトロピンデルタ or ホリトロピンアルファ	0.92	0.66-1.28	0.62

表5 臨床成績

	ホリトロピンデルタ群 (n=260)	ホリトロピンアルファ群 (n=244)	P値
移植当たりhCG陽性率	59.6% (238/399)	59.0% (227/385)	N.S
移植当たり臨床的妊娠率	41.6% (166/399)	44.1% (170/385)	N.S
症例当たり累積妊娠率	58.8% (153/260)	61.9% (151/244)	N.S
症例当たり生産率	44.6% (116/260)	48.0% (117/244)	N.S

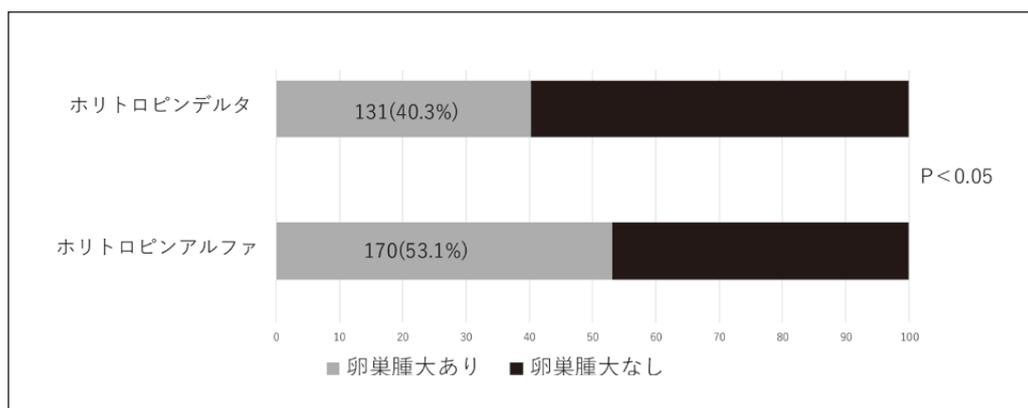


図2 卵巣腫大発症率 (採卵当日の卵巣長径が4cmを超えたもの)

324例中260例 (80.2%), ホリトロピンアルファ投与群が320例中244例 (76.3%)であった。総移植周期数はホリトロピンデルタ投与群が399周期, ホリトロピンアルファ投与群が385周期であった。移植あたりの血中hCG陽性率・臨床妊娠率および症例あたりの累積妊娠率・生産率において両群間に有意差を認めなかった。

採卵時の卵巣長径が4cmを超えるものを卵巣腫大ありと診断したところ, ホリトロピンデルタ投与群では131症例 (40.3%), ホリトロピンアルファ投与群では170症例 (53.1%)に認め, 有意にホリトロピンデルタ投与群に少なかった。結果を図2に示す。

## 考 察

ホリトロピンデルタは, 血清AMH値と体重に基づいて投与量を決定する個別投与レジメンを有する初のリコンビナントFSH製剤であるが, 医師の判断で一日あたりの投与量を決定するホリトロピンアルファと比較すると, 目的の卵胞サイズに達するまでの投与期間が有意に長い一方, 総投与量は有意に少ないことが明らかになった。総投与量の差が平均採卵数の差に関係していると思われる。しかし, 卵子1個当たりの投与量はホリトロピンデルタの方が有意に少なく, 用量反応性の高い製剤といえる。ホリトロピンデルタのアルゴリズムは採卵目標数を8個から14個に設定されて

いるが、本報告でのホルトリピンデルタ投与群の平均採卵数は  $8.0 \pm 5.1$  個と目標採卵数下限くらいであった。GRAPE 試験<sup>3)</sup>では、ホルトリピンデルタ投与群の平均採卵個数は  $10.3 \pm 6.2$  個であるが、本報告の患者背景と比較すると、体重や血清 AMH 値に差はないものの平均年齢が  $30.6 \pm 3.6$  歳に対し本報告では  $35.1 \pm 4.3$  歳と、年齢層が異なることが理由の一つとして考えられる。

培養成績においては、受精率・正常受精率・継続培養胚の胚盤胞発生率においては両群間に差を認めなかったのに対し、良好分割期胚率や良好胚盤胞率は有意に高いことが分かった。血清 AMH の値に従ってデータを分析したところ、血清 AMH 値が  $1\text{ng/mL}$  より低い症例では、2 群間で回収卵数・分割数・胚盤胞数・良好胚盤胞数に差はないが、 $1\text{ng/mL}$  を超えると血清 AMH 値の上昇に伴いホルトリピンデルタ群の方が個数の増加が著明で両群間の個数の差が広がっていく傾向がある。しかし、良好胚盤胞数の差は血清 AMH 値が上昇しても広がっておらず、逆に良好胚盤胞率においてはホルトリピンデルタ群の方がどの血清 AMH 値層においても高い傾向にあることがわかる。胚盤胞発生率は血清 AMH 値に影響を受けておらず、良好胚盤胞発生率は特にホルトリピンデルタ群において血清 AMH 値が  $4 \sim 5\text{ng/mL}$  あたりが最も高いことが分かった。ホルトリピンデルタ投与群では高 AMH 層の採卵個数が抑えられており、高反応を示す症例の卵巢反応を適正化することが示された。また、血清 AMH 値  $<1\text{ng/mL}$  の低反応症例においても遜色のない採卵数が得られることが分かった。

多変量解析において、良好胚盤胞発生率 25% 以上を予測する因子として有意差があったのは年齢のみで血清 AMH 値・体重・投与薬剤には有意差を認めなかったことは、培養成績における良好分割胚率・良好胚盤胞発生率に投与薬剤間で有意な差を認めた結果と一致しないが、ホルトリピンデルタ投与によって胚の質が向上するかどうかについては今後の検討課題といえる。

本報告では hCG 陽性率、臨床的妊娠率、累積妊娠率、生産率において、2 群間に差は認められなかった。臨床試験は主にアンタゴニスト法による新鮮胚移植の臨床成績を報告しているが、Havelock ら<sup>7)</sup>は凍結融解胚移植での妊娠率を報告しており、妊娠 10 週以降の継続妊娠率はホルトリピンデルタ投与群が 27.6%、ホルトリピンデルタ投与群が 27.8%と有意な差を認めなかった。また、1 回目の排卵誘発周期での新鮮胚移植と凍結胚移植を合わせた累積生産率は 41.4%と 42.2%で、これも有意な差を認めなかった。彼らの報告の母集団はホルトリピンデルタ投与群で平均年齢が  $33.4 \pm 3.9$  歳と、本報告より低年齢層であるにも関わらず、本報告での累積生産率の方が 44.6%と高いことが分かった。

ホルトリピンデルタ投与群と比較して、ホルトリピンデル

タ投与群では、卵巢腫大の発生率が有意に低いことが観察された。これは ESTHER-1 試験<sup>1)</sup>において、ホルトリピンデルタ投与群と比較して個別化されたアルゴリズムを用いたホルトリピンデルタを使用することにより、中等度/重度の OHSS (卵巢過剰刺激症候群) の発生率が 50%減少したことと同様の結果である。卵巢高反応を示す可能性のある女性に対して、アルゴリズムに基づいたホルトリピンデルタの投与を適用することで、卵巢刺激による OHSS のリスクを軽減することができると思われる。また、総投与量が少なくとも同様の結果が得られるということは、薬剤の過剰投与を予防でき、医療費の削減にもつながることが期待できる。

今回の検討ではホルトリピンデルタ投与群の良好分割胚率と良好胚盤胞率がホルトリピンデルタ投与群よりも有意に高かったにもかかわらず臨床成績には差がみられなかったが、今回は 1 人出産までをエンドポイントにしており、今後余剰胚を次の生児獲得のために利用していった際に累積生児獲得数に差があるかどうかなども検討課題である。

## 参考文献

- 1) Anders Nyboe Andersen, Scott M Nelson, Bart C J M Fauser, Juan Antonio Garcia-Velasco, Bjarke M. Klein, and Joan-Carles Arce, for the ESTHER-1 study group: Individualized versus conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization: a multicenter, randomized, controlled, assessor-blinded, phase 3 noninferiority trial. *Fertil Steril*, 107 (2): 387-96, 2017.
- 2) Osamu Ishihara, Joan-Carles Arce, for the 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 (5): 909-18, 2021.
- 3) Jie Qiao, Yunshan Zhang, Xiaoyan Liang, Tuong Ho, Hong-Yuan Huang, Sung-Hoon Kim, Marie Goethberg, Bernadette Mannaerts, and Joan-Carles Arce, on behalf of the Asian Follitropin Delta Phase 3 Trial (GRAPE) Group: A randomised controlled trial to clinically validate follitropin delta in its individualised dosing regimen for ovarian stimulation in Asian IVF/ICSI patients. *Hum Reprod*, 36 (9): 2452-62, 2021.
- 4) Veeck LL: Atlas of the human oocyte and early conceptus, 2nd ed, pp151-153, Williams & Wilkins Co, Baltimore, 1991.
- 5) Gardner DK and Schoolcraft WB: Towards reproductive certainty: Fertility & genetics beyond. Proceedings of the 11th World Congress on in Vitro Fertilization & Human Reproductive Genetics. pp347-371, Carnforth Parthenon Press, 1999.
- 6) European Medicines Agency. GONAL-f : EPAR - Product Information. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gonal-f-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gonal-f-epar-product-information_en.pdf), (2024.8.15)

- 7) Jon Havelock, Anna-Karina Aaris Henningsen, Bernadette Mannaerts, Joan-Carles Arce, ESTHER-1 and ESTHER-2 Trial Groups: Pregnancy and neonatal outcomes in fresh and frozen cycles using blastocysts derived from ovarian stimulation with follitropin delta. *J Assist Reprod Genet*, 38: 2651-2661, 2021.

# 閉塞性無精子症に対する治療戦略

## Treatment Strategies for Obstructive Azoospermia

谷口 久哲

Hisanori Taniguchi

関西医科大学附属病院腎泌尿器外科 〒573-0101 大阪府枚方市新町 2-3-1  
Department of Urology and Andrology, Kansai Medical University

**要旨：** 閉塞性無精子症は精巣における造精機能には問題が無いが、最終的な診断は精巣内の成熟精子を確認する事である。閉塞性無精子症の治療戦略は、精路再建が可能な精路通過障害に対して精路再建を行うか、生殖補助医療を行う事を前提に精巣内精子採取術（TESE）を行うかのどちらかを選択する事である。精路再建はマイクロサージャリーでTESEは顕微鏡を用いないconventional-TESEが施行される。2022年からTESEが保険適用になった。生殖医療者はそれぞれの治療の特徴と成績を患者カップルに十分説明し治療戦略を構築する必要がある。

**キーワード：** 男性不妊症, 閉塞性無精子症, 精路再建, 精巣内精子採取術, 精管閉塞  
**ランニングヘッド：** 閉塞性無精子症に対する治療戦略

**英文要旨：** Obstructive azoospermia (OA) is a condition in which no sperm are detected on semen analysis as a result of obstruction of the male reproductive tract. There are several possible causes, but a final diagnosis requires testicular histology to confirm mature sperm; the treatment strategy for OA is either seminal tract re-anastomosis or testicular sperm extraction (TESE). The physician should fully explain both options, including the female factor, to establish a treatment strategy.

**キーワード：** male infertility, obstructive azoospermia, seminal tract re-anastomosis, testicular sperm extraction

### はじめに

閉塞性無精子症 (Obstructive azoospermia: OA) は精巣における造精機能には問題が無いが、精路である精巣上体・精管・射精管のいずれかに閉塞を来す精路通過障害、または精管形成不全により、射出精液中に精子を認めない病態である。無精子症全体の10～15%を占めるとされている。精巣内における造精機能すなわち精子形成は正常であるため、OAの治療戦略は精路再建を行うか、生殖補助医療 (Assisted Reproductive Technology: ART) を遂行することを前提に、精巣内精子採取術 (Testicular sperm extraction: TESE) を行うかのどちらかを選択することになる。どちらを選択するかについては、十分なインフォームドコンセントのもと、個々のカップル毎に検討されるべきである。

### 閉塞性無精子症の原因と頻度

本邦の疫学調査によると、男性不妊疾患全体に占める閉塞性精路障害の割合は3.9%であり、原因不明の1.2%が最も多く、次いで精巣上体炎 (0.7%)、精管結紮後 (0.7%) であった<sup>1)</sup>。無精子症は閉塞性而非閉塞性に分けられるが、閉塞性の割合は約20%であった。

閉塞部位と、閉塞原因について以下に示す。

#### 1. 精管閉塞

- ・精管結紮術：閉塞性無精子症で最も頻度が高い。避妊目的に行われる。
- ・先天性精管形成不全：完全欠損から骨盤部の部分欠損まで様々である。本邦の全国調査で男性不妊全体の0.5%と報告されている。
- ・鼠径ヘルニアの術後：小児期の医原性閉塞である<sup>2)</sup>。近年は減少している。

## 2. 精巣上体管閉塞

- ・精巣上体炎：両側性で閉塞性無精子症になる。原因不明の多くは、小児期の不顕性感染による閉塞が原因であると考えられている<sup>3)</sup>。
- ・ヤング・シンプソン症候群：両側精巣上体頭部の閉塞と停留精巣、矮小陰茎を合併する先天性疾患である。
- ・精管閉塞後の二次的閉塞：精管結紮後、長期間経過した症例で精巣上体内圧の上昇による二次的閉塞を来すことがある。

## 3. 射精管閉塞

- ・ミューラー管嚢胞・ウォルフ管嚢胞のほか、前立腺炎などの感染による閉塞、経尿道的手術後の閉塞に伴うものが挙げられる。

## 閉塞性無精子症の診断

閉塞性無精子症 (Obstructive azoospermia: OA) は精巣における造精機能に問題がない為、①無精子症、②精巣容積に問題が無い (14mL 以上) ③血清ゴナドトロピン (LH, FSH) 値が基準値内 (8.5 m IU/L 未満) である場合に OA である可能性が高くなる。精巣上体炎を含めた精路の感染症の既往歴や、手術歴、過去の妊娠歴 (自然妊娠歴) 等を問診する。触診では精巣上体の硬結の有無、精管欠損の有無を評価する。

精液所見で精液量が少ない場合は、射精管閉塞と逆行性射精などの射精障害を鑑別する必要がある。射精管閉塞は経直腸的超音波検査やMRIで精嚢の拡張や嚢胞の有無を確認する。逆行性射精は射精後の尿中精子

の有無を確認する(図1)。

以上により、OA が強く疑われる場合でも最終的な診断は精巣生検や吸引細胞診で精巣内の成熟精子を確認する事である。各検査所見、理学所見がすべて正常でも、精子形成が途中で停止している maturation arrest や Y 染色体微小欠失が原因の場合があることを念頭に置く必要がある。

## 閉塞性無精子症の治療

OA は造精機能が保たれている為、精子採取が可能な無精子症である。精路再建が不可能な精管欠損症を除いては、精路再建か生殖補助医療 (ART) のどちらかを選択する事になる。いずれを選択するかについては、女性側の因子も考慮し、患者カップルへの十分なインフォームド Consent 上で決定されるべきである。精路再建を選択する場合、精巣内吸引細胞診で精子が存在する事を確認しておくことが勧められる。従来、精路再建術後の精子出現が不十分な場合に備えて、精路再建と TESE を同時に施行する場合があったが、TESE の保険収載により困難であると思われる。精路再建と生殖補助医療それぞれの特徴について(表1)に示す。

以下に各治療法について記載する。

### 1. 精路再建術

#### (1) 精管精管吻合術(vasovasostomy: VV)

顕微鏡補助下で行うのが一般的である。精管切断術 (パイプカット) 後の場合は切断部 (閉塞部) が触知可能なケースが多い。外鼠径輪から陰嚢部までの約3

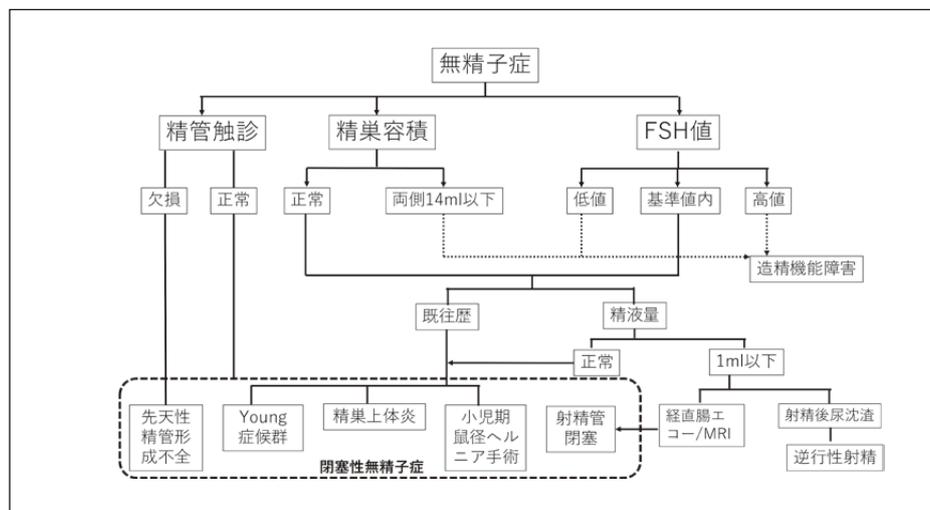


図1 閉塞性無精子症の診断フローチャート

cmの皮膚切開を置き、精巣を漿膜ごと脱転する。次に精管の剥離を十分行うが、この時精管周囲の血流を保つよう心がける。閉塞部の尿道・精巣側の精管断端部を切断し、尿道側は、尿管ブジーを入れて拡張後24G サーフローを用いて注水テストを行う。抵抗があれば精管造影を行い、末梢側の閉塞の有無・吻合可能かの判断を行う。精巣側は流出液内の精子の有無を顕鏡する。精子が認められない場合は精管精巣上体吻合に術式を変更する。

精管精管吻合は精管粘膜、精管筋層の順に2層縫合を行うのが一般的である(図2)。周囲組織を縫合し、精管把持器を用いて精管を把持した後、10-0ナイロン糸を用いた粘膜縫合を行う。続いて8-0ナイロン

糸を用いて筋層縫合を行う。

## (2)精管精巣上体吻合術(vasoepididymostomy: VE)

VV同様に精巣を脱転し精管を切断、尿道側の注水テストを行い、通過性を確認する。精巣上体管と精管の端側吻合が行われることが多い。近年は精巣上体への運針を先に行い、その後に精巣上体管を切開、精巣上体管の粘膜を精管に引き込むlongitudinal intussusception vasoepididymostomy: LIVE法やその変法が主体である(図3)<sup>4,5)</sup>。

## 2. 生殖補助医療

### 精巣内精子採取術 (Testicular sperm extraction: TESE)

OAに対するTESEは顕微鏡を用いない、いわゆるconventional-TESE (c-TESE)の適応である。局所麻酔下でのデイスージェリーが可能である。精索ブロックと陰囊皮膚に局所麻酔を施行後、陰囊皮膚を切開(陰囊縫腺に沿った縦切開)し、精巣白膜まで露出する。尖刃刀で5mm程切開し、精巣内の精管を無鉤鑷子で採取する。採取した精細管を細切し培養液中の精子の有無を確認する。採取された精子は一般的に凍結保存され、顕微授精(Intra-Cytoplasmic Sperm Injection: ICSI)に使用される。前述のように原因不明のOAの場合は、maturation arrestや遺伝子異常の

表1 治療法別の特徴

	精路再建術	生殖補助医療 (MESA/TESE-ICSI)
自然妊娠	可能	不可
女性への侵襲	ない	伴う (採卵-胚移植が必要)
精子確保の可能性	閉塞原因によっては 精子出現率・妊娠率が低い	高い
妊娠までの期間	生殖補助医療に比較して長い	精路再建に比較して短い

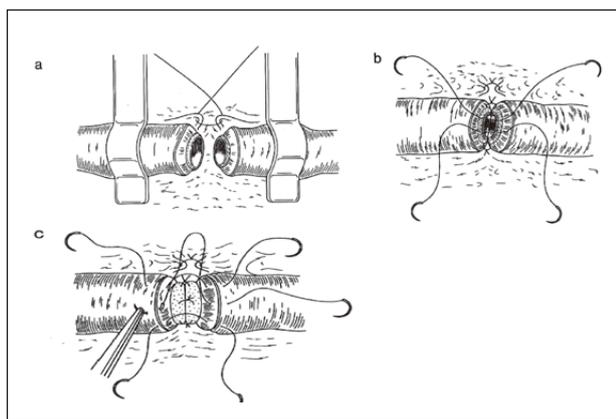


図2 精管-精管吻合術 (vasovasostomy: VV)

顕微鏡下二層縫合術

- 精管周囲を剥離、精管をダブルクリップし周囲組織を縫合。
- 精管粘膜の縫合。0時6時の縫合を行い、続いて2時4時を縫合する。(10-0ナイロン両端針)
- 精管筋層の縫合。ダブルクリップを反転して裏側を縫合する。(8-0ナイロン丸針・片端針)

図説よくわかる臨床不妊症学 一般不妊治療編 改訂第3版 / 中外医学社より引用改変

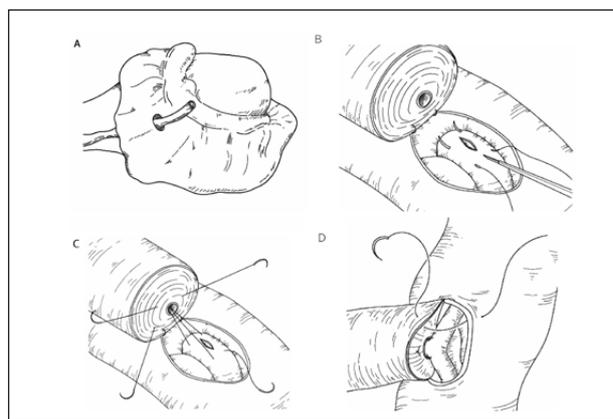


図3 精管-精管上体吻合術 (vasoepididymostomy: VE)

Longitudinal Intussusception Vaso-Epididymostomy (LIVE) 法

- 精管を精巣上体体部に緊張なく近づける
- 10-0ナイロン2針を精巣上体管に平行にかけ、マイクロ剪刀で間を0.5-0.7mm切開し精巣上体管を開窓する。
- 先にかけてた10-0ナイロン(2針)によるintussusception吻合
- 8-0ナイロンによる鞘膜の結節縫合6-8針

泌尿器外科 2024年 37 (3),1-5 より引用改変

場合があるため、最終診断はあくまでも精巣内の成熟精子の確認であることを患者カップルへ術前説明しておくことが大切である。

2022年4月から無精子症に対するTESEは保険適用となった。実臨床においては極めて精子採取率が高いc-TESEを選択されるカップルが多いのが実情であろう。TESEを選択される場合は女性側の採卵、胚移植などの侵襲を伴う事を説明しておく必要がある。また、TESEを行う事を前提にY染色体微細欠失の有無を精査する事も保険診療で可能である。明らかな原因を認めないOAの場合、TESE施行前にY染色

体微細欠失の有無を確認しておく。

### 閉塞性無精子症の治療成績

#### 精路再建術後の精子出現率

本邦における全国調査によると、術式別に見た術後精子出現率は、精管精管吻合術68.9%、精管精巣上体吻合術41.5%であった。原因別にみると術後精子出現率は精管切断術73.6%、精巣上体炎38.9%、ヘルニア術後38.9%であり、全体としては54.6%であった<sup>6)</sup>。精巣上体炎後では精巣上体精管吻合術が選択される場合

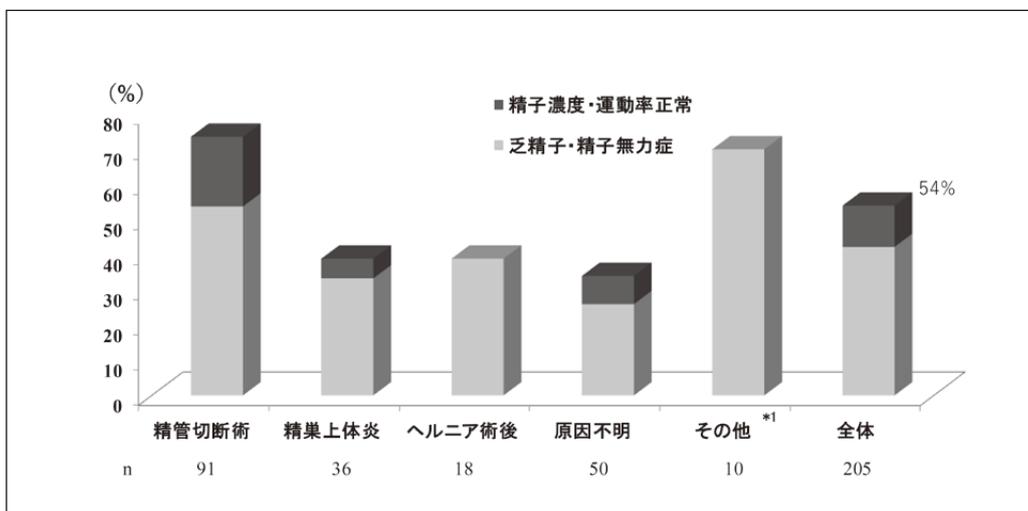


図 4-1 精路再建後の精子出現率 (閉塞原因別)

\*1: 先天性片側精管形成不全 2 例, 先天性閉塞 2 例, 精巣固定術後 1 例, 両側精巣上体部分切除術後 1 例, 外傷 1 例, その他 3 例  
参考文献<sup>6)</sup>より引用改変

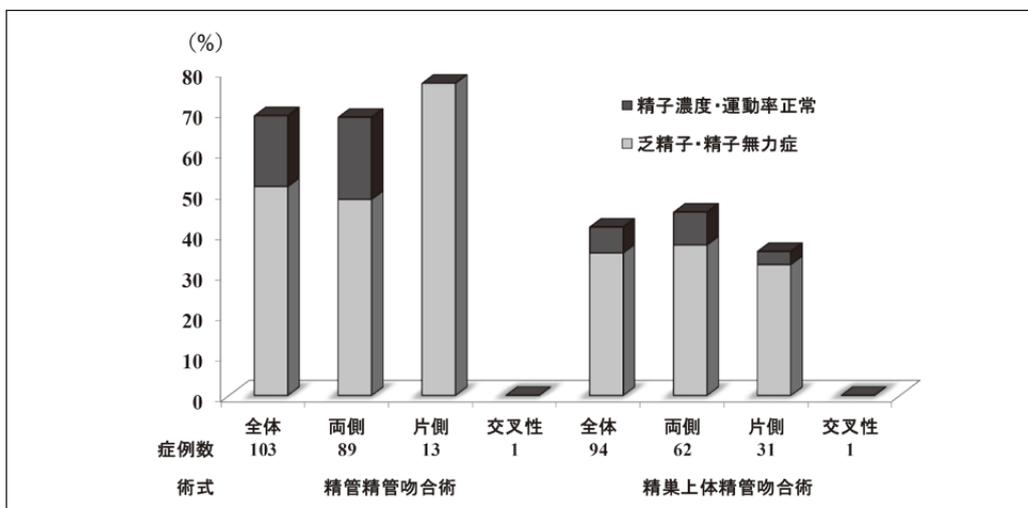


図 4-2 精路再建後の精子出現率 (術式別)

参考文献<sup>6)</sup>より引用改変

がほとんどである(図4)。海外からのレビューでは精管切断術後の精路再建での術後精子出現率は90%を超えていた<sup>7)</sup>。精路再建を行う場合は両側を施行する事が望ましい<sup>8)</sup>。

### 精路再建後の妊娠状況

本邦の全国調査における自然妊娠率は、術式別にみると精管精管吻合術が21.2%、精巣上体精管吻合術20%であった。原因別にみると精管切断術後で27.5%、精巣上体炎後で32.3%であった。体外受精や顕微授精の妊娠率は、施設差が大きく、女性因子も関与するので一概は比較できないが、2021年の日本産科婦人科学会の報告では精巣精子を用いたICSIあたりの妊娠率が17.1%と報告されており、精路再建による妊娠率は顕微授精による妊娠率と同等であった。

### おわりに

閉塞性無精子症に対する治療戦略は、精子を確保するために精路再建かTESEのどちらかを選択することになる。患者カップルにはそれぞれの選択肢について説明する必要がある。精路再建は繊細なマイクロサージャリーであり、術者の育成と治療成績の向上が喫緊の課題である。生殖医療者は精路再建かTESEそれぞれの治療の特徴と成績を理解し、治療戦略を構築する必要がある。

### 参考文献

- 1) Yumura Y, Tsujimura A, Imamoto T, Umemoto Y, Kobayashi H, Shiraishi K, Shin T, Taniguchi H, Chiba K, Miyagawa Y, Iwamoto T: Nationwide survey of urological specialists regarding male infertility: results from a 2015 questionnaire in Japan. *Reprod Med Biol*, 17 (1): 44-51, 2018.
- 2) Matsuda T, Muguruma K, Hiura Y, Okuno H, Shichiri Y, Yoshida O: Seminal tract obstruction caused by childhood inguinal herniorrhaphy: results of microsurgical reanastomosis. *J Urol*, 159 (3): 837-40, 1998.
- 3) Matsuda T, Horii Y, Yoshida O: Obstructive azoospermia of unknown origin: sites of obstruction and surgical outcomes. *J Urol*, 151 (6): 1543-6, 1994.
- 4) Yoon YE, Lee HH, Park SY, Moon HS, Kim DS, Song SH, Kim DK: The role of vasoepididymostomy for treatment of obstructive azoospermia in the era of in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl*, 21 (1): 67-73, 2019.
- 5) Shiraishi K, Matsuyama H: Outcomes of partial intussusception and endo-to-side vasoepididymostomy in men with epididymal obstructive azoospermia. *Int J Urol*, 27 (12): 1124-9, 2020.
- 6) Taniguchi H, Iwamoto T, Ichikawa T, Nagai A, Okada H, Fujisawa M, Tsujimura A, Shiraishi K, Hibi H, Nagao K, Iwasaki A, Kamba T, Tomomasa H, Takada S, Matsuda T: Contemporary outcomes of seminal tract re-anastomoses for obstructive azoospermia: a nationwide Japanese survey. *Int J Urol*, 22 (2): 213-8, 2015.
- 7) Duijn M, van der Zee JA, Bachour Y: Outcomes of Three Vasovasostomy Surgical Techniques in Vasectomized Men: A Systematic Review of the Current Literature. *SN Comprehensive Clinical Medicine*, 5 (1): 56, 2023.
- 8) Gurnani N, Goel R, Kumar M, Dada R, Kumar R: Unilateral Versus Bilateral Vasoepididymal Anastomosis for Idiopathic Obstructive Azoospermia: A Randomised Controlled Trial. *Eur Urol Open Sci*, 52: 30-5, 2023.

# 非閉塞性無精子症に対する治療戦略の現状と今後の展望

## Therapeutic Strategies and Its Future Perspective for Nonobstructive Azoospermia

岩月 正一郎<sup>1</sup>, 梅本 幸裕<sup>2,3</sup>, 武田 知樹<sup>1</sup>, 角田 菜緒<sup>3</sup>, 夏目 明子<sup>3</sup>, 北舘 祐<sup>3</sup>, 安井 孝周<sup>1</sup>

Shoichiro Iwatsuki<sup>1</sup>, Yukihiro Umemoto<sup>2,3</sup>, Tomoki Takeda<sup>1</sup>, Nao Tsunoda<sup>3</sup>, Akiko Natsume<sup>3</sup>, Yu Kitadate<sup>3</sup>, and Takahiro Yasui<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科 腎・泌尿器科学分野 〒467-8601名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1

<sup>2</sup>名古屋市立大学医学部附属西部医療センター 泌尿器科

<sup>3</sup>名古屋市立大学医学部附属西部医療センター 生殖医療センター

<sup>1</sup>Department of Nephro-urology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

<sup>2</sup>Department of Urology, Nagoya City University West Medical Center

<sup>3</sup>Department of Reproductive Medical Center, Nagoya City University West Medical Center

**要旨:** 非閉塞性無精子症 nonobstructive azoospermia (NOA) は、精子形成障害の最重症型である。治療は顕微鏡下精巣内精子採取 microdissection testicular sperm extraction (Micro-TESE) をはじめとする外科的精子採取と、それに続く顕微授精 (ICSI) である。しかし、精索静脈瘤、未治療の停留精巣、低ゴナドトロピン性男子性腺機能低下症 male hypogonadotropic hypogonadism, (MHH) については、即時の Micro-TESE 以外に、いくつかの治療オプションがある。本稿では、Micro-TESE における精子採取率を向上させるか、という課題を設定し、前に挙げた病態における治療オプションと、それに関するエビデンスを紹介する。また NOA の治療に関する諸問題と、将来の展望について、国内外の研究成果を含めた内容を紹介する。

**キーワード:** 顕微鏡下精巣内精子採取術、精索静脈類医、低ゴナドトロピン性男子性腺機能低下症、停留精巣、非閉塞性無精子症

**ランニングヘッド:** 非閉塞性無精子症の治療戦略

**英文要旨:** Nonobstructive azoospermia (NOA) is the most severe form of spermatogenic failure. Primary treatment involves surgical sperm retrieval via techniques such as microdissection testicular sperm extraction (micro-TESE), followed by intracytoplasmic sperm injection (ICSI). However, several other treatment options are available for conditions including varicocele, untreated cryptorchidism, and male hypogonadotropic hypogonadism (MHH).

This article addresses the challenge of improving sperm retrieval rates in micro-TESE and introduces other treatment options for the conditions mentioned above, along with corresponding evidence of their efficacy. In addition, issues associated with the treatment of NOA and prospective future directions are discussed, based on findings from recent domestic and international research.

**Key words:** cryptorchidism, male hypogonadotropic hypogonadism, Micro-TESE, nonobstructive azoospermia, varicocele testis

**ランニングヘッド:** Treatment strategy for nonobstructive azoospermia

### 1. NOAの定義と診断

無精子症とは、射出精液に精子が1つもない状態を言う。約1%にみられるとされているが、本邦においてライダルチェックをうけた男性564人のうち10人(1.8%)にみられたという報告<sup>1)</sup>もある。このことから不妊を訴えずに、潜在する無精子症の男性も一定数存在することが示唆される。無精子症は、その病態の違いから、閉塞

性無精子症 obstructive azoospermia (OA) と非閉塞性無精子症 nonobstructive azoospermia (NOA) の2つに分類される。OAは、精巣輸出管から射精管のいずれかが閉塞しているために精液中に精子が出ない状態を言う。病態は精路の閉塞であるため、精巣の造精機能には問題ないと考えられる。一方NOAは、造精障害により射出精液に精子が出ない状態を言う。言い換えると、NOAは造精障害の最重症型と考えることができる。

受付 2024年8月31日 / 受理 2024年8月31日

責任著者: 岩月 正一郎 e-mail [iwatsuki@med.nagoya-cu.ac.jp]

無精子症の診断は、世界保健機関 World Health Organization (WHO) のマニュアル<sup>2)</sup>に従い、2回以上の精液検査で確定診断する。無精子症に限らず、男性不妊症の診療では、病歴聴取、身体診察、各種検査を系統立てて行うことが重要である(表1)。とくに無精子症を疑う場合には、染色体検査、Y染色体微小欠失の検査が必要となる。ほとんどのNOAは、精巣容量が小さく、血清卵胞刺激ホルモン follicle-stimulating hormone (FSH) 値が高値となることで診断可能である。しかし、OAとNOAを正確に鑑別する方法はなく、最終的には外科的精子採取の時に精巣生検で確定診断することとなる。

## 2. NOAの治療戦略

後で述べる、低ゴナドトロピン性男子性腺機能低下症(MHH)以外のNOAに対しては、外科的精子採取とそれに続く卵細胞質内精子注入法(顕微授精) intracytoplasmic sperm injection (ICSI) が第一選択の治療である。外科的精子採取の方法には様々な方法がある<sup>3)</sup>。NOAに対しては、精巣内精子吸引採取 testicular sperm aspiration (TESA)、精巣内精子採取 testicular sperm extraction (TESE)、顕微鏡下精巣内精子採取 microdissection testicular sperm extraction (Micro-

TESE)などが主に適応となるが、近年ではMicro-TESEが主流である。精巣白膜を1ヶ所ないし複数ヶ所切開して肉眼下に精巣組織を採取するのがTESE(しばしばMicro-TESEに対応する表現として、conventional TESEと言われる)であるが、手術用顕微鏡を用いて精巣組織を採取するものがMicro-TESEである。本稿ではMicro-TESEを基本とし、他の治療オプションが考慮できる、精索静脈瘤、停留精巣、MHHによるNOA治療に関する知見をまとめる。

### (1) Micro-TESE

Micro-TESEは、本邦のガイドラインにおいてNOAに対する外科的精子採取法として、グレードAで推奨されている<sup>4)</sup>。Micro-TESEは、それまでのconventional TESEに代わる方法として、1999年にSchlegel<sup>5)</sup>らにより提唱された方法で、手術用顕微鏡を用いることにより、精巣へのダメージを軽減しながらも、精子採取率をより高めることを目指したものである。私たちは2004年に外科的精子採取に手術用顕微鏡を導入し、Micro-TESEを標準術式としている。

私たちの手術手順について簡単に述べる。

全身麻酔または脊椎くも膜下麻酔にて、仰臥位で開始する。陰囊前面を約3～4cm横切開し、肉様膜(Dartos筋膜)と精巣鞘膜を切開、精巣を脱転して、手術用顕微

表1 男性不妊症の診療で評価すべき項目

評価項目	
病歴聴取	現病歴、不妊期間、パートナーの年齢 既往歴、服薬歴 性機能障害(勃起・射精障害)の有無
理学的所見	身長・体重 体毛の状態、外陰部 Tanner ステージ(外性器、陰毛) 手術痕の有無 精巣上体・精管の触知 精索静脈瘤の有無 精巣容量
精液検査	
血液検査	一般採血 血清ホルモン値(LH、FSH、総テストステロン、プロラクチン)
染色体・遺伝子検査	Gバンディング Y染色体微小欠失分析
画像検査	陰囊超音波検査

LH: 黄体形成ホルモン luteinizing hormone, FSH: 卵胞刺激ホルモン follicle-stimulating hormone

鏡を術野に入れる。次に白膜の切開であるが、私たちは原則、縦切開としている。Schlegelらの元法<sup>5)</sup>では横切開だが、血管損傷のリスクはあるものの広く精巣実質内を観察できることから、私たちは縦切開としている。白膜切開直後に、白膜直下の精細管を観察する。この段階で太い精細管が目立つ場合(図1B)、この部位には精子形成が期待できるため採取する。次に精巣実質内へ検索を進めるが、精巣組織への物理的な力の作用により、太い精細管の鑑別が徐々に困難になるため、私たちは白膜切開直後の精細管所見を重要視している。十分な精子量が確保できた場合、または精巣全体を検索し終えた時点で、精巣生検と止血を行い、手術を終了する。

私たちは、①同一施設内でTESEと精子検索を行う場合と、②TESEでの採取組織を提携するARTクリニックへパートナーによって搬送する場合、の2つの運用を採用している。前者の場合は、産婦人科医および培養士とのリアルタイムのディスカッションが可能であるが、後者の場合は困難であり運用上の課題である。

## (2) 精索静脈瘤を合併したNOA

精索静脈瘤は、男性不妊症の原因の30.2%、造精機能障害の36.6%を占める<sup>6)</sup>疾患で、手術治療により精液所見の改善が期待できる疾患である。精索静脈瘤は健康な成人の4.4-22.6%(平均15%)に見られる<sup>7)</sup>とされ、NOA患者にもしばしば見られる。

このような患者に対する治療方針として、①精索静脈瘤手術を先に行うか、②即時Micro-TESEを行うか、のいずれかが考えられる。精索静脈瘤を合併したNOA患者に対する精索静脈瘤手術の目的は、①射出精子の出現と、②Micro-TESEにおける精子採取率の向上、③Micro-TESEによる精巣精子を用いたICSI成績の向上の3つである。このような効果を検討したシステムティックレビューやメタアナリシスのいくつかをここで紹介するが、いずれの検討も概ね同様の結果を示している。

射出精子の出現に対する効果として、Jensenらによる13の文献を検討したシステムティックレビューでは、精索静脈瘤を合併したNOA患者に対する精索静脈瘤治療により、平均27.3%で射出精子が出現したとしている<sup>8)</sup>。またWeedinらによる11の文献を検討したシステムティックレビューでは、精索静脈瘤手術により233人中14人(6.0%)で自然妊娠が成立したとされている<sup>9)</sup>。

TESEにおける精子採取成績について、先のJensenらによるレビューでは、精索静脈瘤手術しない場合の平均32.1%から、手術をすると平均48.9%まで上昇したとしている<sup>8)</sup>。またEstevesらによる3つの文献を検討したメタアナリシスでは、精索静脈瘤手術しない場合の36.5%から、手術により57.2%へ増加したとしている<sup>10)</sup>。

精巣精子を用いたICSI成績についてEstevesらのメタアナリシスで、精索静脈瘤を行うことにより、生産率が39.2%から43.9%(オッズ比 2.19, 95%信頼区間 0.99

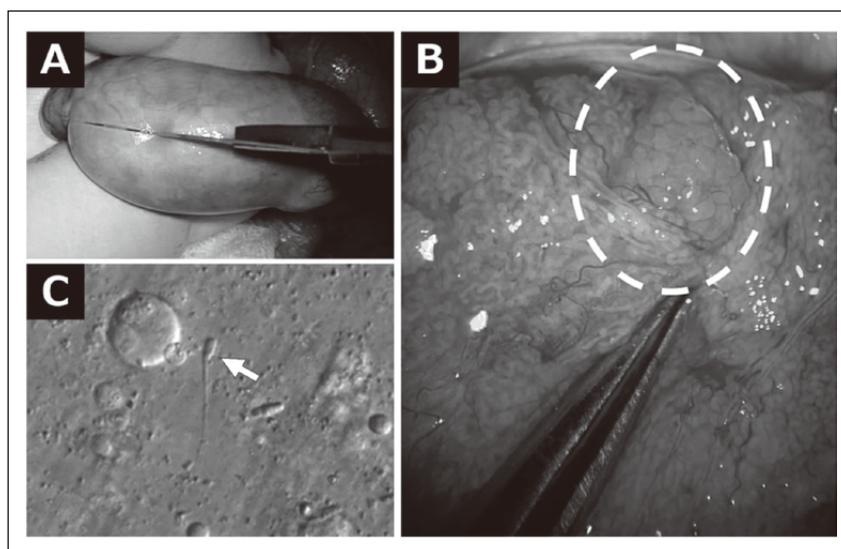


図1 Micro-TESE の実際

(A) 精巣白膜に縦切開を入れている。(B) 白膜直下に認められた太く、白く、蛇行した精細管(r破線の枠内)。この症例では同部位から精子採取が可能だったが、他の部位では精細胞がなく、Sertoli cell-onlyであった。(C) Micro-TESEで採取した組織中に見られた精子(矢印)。

-4.83), 臨床妊娠率が48.6%から50.0%(オッズ比2.07, 95%信頼区間0.92-4.65)とわずかに増加したとしている<sup>10)</sup>.

以上のように, TESEに先行して精索静脈瘤治療を行うメリットはある程度期待できるものと考えられる. しかし, いずれの検討で用いられた報告も, 後ろ向きおよび観察研究のみでランダム化比較試験がないこと, 精索静脈瘤治療の術式が統一されていない, ことなどからエビデンスとしては限定的だと考えるべきである. さらに精索静脈瘤治療を先に行うため, TESEの時期が遅れることとなる. 患者やパートナーの年齢を十分考慮し, 精索静脈瘤治療を先行するかどうかは慎重に判断するべきである.

### (3) 未治療の停留精巣を合併したNOA

停留精巣は, 胎児期における腹腔内から陰嚢内への精巣下降が途中で停滞し, 精巣が正常の陰嚢内に局在していない状態を言う. 停留精巣は造精障害の原因となり, 国内調査によると男性不妊症の1.6%が停留精巣を原因とするものである<sup>6)</sup>. 多くは小児期のうちに, 精巣を陰嚢内に固定する手術治療(精巣固定術)が行われる. しかし未治療のまま成人に至り, 男性不妊外来を訪れる患者もあり, 先の国内調査では停留精巣に関連する男性不妊症患者のうち13.3%が未治療だった<sup>6)</sup>. 両側停留精巣が未治療のまま成人に至った場合, すべて無精子症だったという報告もあり<sup>11)</sup>, NOAの原因として停留精巣も十分念頭に置くべきである.

未治療の停留精巣がある無精子症患者に対する治療方針として, ①造精機能の回復を目的とした精巣固定術を先に行うか, ②即時Micro-TESEを行うか, のいずれかが考えられる. 成人の停留精巣に対する精巣固定術の効果を検討した大規模な報告はなく, ほとんどが症例報告である. Munceyらによる57文献, 231人の両側停留精巣による無精子症患者の報告を集めたシステムティックレビューでは, 精巣固定術後に射出精子が出現したのが11例(4.8%)で, 精巣固定術後に二次的なTESEにより精子採取できたのが, 22人中10人(45.5%)だったとしている<sup>11)</sup>. しかし精巣固定術から射出精子の出現, またはTESEの施行までには1年以上の間隔が必要だったとも述べている.

停留精巣については, 片側と両側とで成人になって生じる造精障害の程度に大きな違いがあることや, まとまった規模の研究報告がないことから, その治療方針を決定するためのエビデンスには乏しいと言わざるを得ない. 精索静脈瘤手術と同様に, パートナーの年齢を考慮して, TESEのタイミングを遅らせないような治療計画を立てることが重要である.

### (4) 低ゴナドトロピン性男子性腺機能低下症によるNOA

低ゴナドトロピン性男子性腺機能低下症 male hypogonadotropic hypogonadism (MHH) は, 何らかの原因で下垂体からのゴナドトロピンの分泌不全による性腺機能低下症である. 黄体形成ホルモン luteinizing hormone (LH) の低下によりテストステロンが低値となり, FSHの低下により造精障害が生じる. 本邦において男性不妊症の原因のうち2.6%を占める<sup>6)</sup>. ゴナドトロピン分泌不全による二次性の性腺機能低下であることから, 初診時には無精子症であっても, ゴナドトロピンの補充療法により造精機能の回復が期待できる.

MHHに対しては, ヒト絨毛性ゴナドトロピン (human chorionic gonadotropin, hCG) 製剤の単独補充, またはhCGおよびヒト下垂体性性腺刺激ホルモン (human menopausal gonadotrophin, hMG) の併用療法などが用いられてきた. しかし遺伝子組換えヒト卵胞刺激ホルモン (recombinant human follicle-stimulating hormone, rhFSH) 製剤の開発により, 現在ではhCGとrhFSH製剤を使用する方法が保険適用となり, 広く普及している.

MHHに対するホルモン補充療法に関する本邦での調査では, hCG単独療法, hCG+hMG療法, hCG+rhFSH療法での射出精子出現率は, それぞれ29.1%, 50.0%, 88.6%だったと報告されている<sup>12)</sup>. さらに, 挙児希望のあったMHH患者70人に対するホルモン補充療法により, 48人(68.6%)が自然妊娠で, 7人(10.0%)がARTにより挙児を達成したとされている<sup>13)</sup>.

以上のことから, MHHによるNOA患者ではホルモン補充療法により, 場合によっては自然妊娠も含めた挙児達成が期待できる. MHHの診断は, 血清LH値, FSH値, テストステロン値が低値であることから診断できるため, 確実な診断のもと, ホルモン補充療法の計画を立てることが重要である. なお, ホルモン補充により射出精子の出現がみられない場合は, Micro-TESEの適応となる.

### (5) NOA患者に対する内分泌治療

NOAに対するMicro-TESE前に, 薬物療法を行った報告がいくつかある.

クエン酸クロミフェンは, 選択的エストロゲン受容体修飾薬である. エストロゲン受容体拮抗作用により視床下部-下垂体-性腺軸のネガティブフィードバック機構を抑制し, ゴナドトロピン分泌を促進することで, 精巣を刺激する効果がある. 乏精子症における精子形成の誘導を目的とした投与が保険適用となっている(無精子症には適応がないことには注意が必要である).

Husseinらは, NOA患者にクエン酸クロミフェンを投与したうえでMicro-TESEをしたところ, 投与しなかった

患者での精子採取率が33.6%だったところが、投与により57.7%と有意に増加したと報告している<sup>14)</sup>。一方、Alrabeehらはクエン酸クロミフェン投与によってもMicro-TESEでの精子採取率は良くならない(投与群で40.5%、非投与群で45.9%)と報告しており<sup>15)</sup>、NOAに対するクエン酸クロミフェンの効果は一定ではない。NOAに対するクエン酸クロミフェンの効果に関するさらなるエビデンスの蓄積が必要である。

その他の内分泌製剤として、ゴナドトロピン製剤やアロマターゼ阻害剤の効果も期待できるが、本邦では適応外使用である。Tharakanによる、NOAに対する内分泌治療の効果をまとめたメタアナリシスでは、術前の内分泌療法により、Micro-TESEでの精子採取率が有意に向上することが示されている<sup>16)</sup>。しかし治療に使用する薬剤やレジメンの統一性がなく、Micro-TESEに先立つホルモン治療の有用性が示されているとは言い難いのが現状である。

### 3. 治療不成功例への対応

#### (1) 発展的な治療戦略

現在のところ、Micro-TESEで精子採取できなかった症例に対して、治療不能と判断することが一般的である。しかし、このような患者に対して、いくつかのアプローチが提唱されているが、ここでは2つ紹介したい。

1つ目は、救済ホルモン療法を施行したうえで、改めてMicro-TESEを施行する方法である。Shiraishiらは、48例の初回Micro-TESE不成功例のうち、28例に救済ホルモン療法(hCG単独、またはhCGおよびrhFSH補充)のうえ再度Micro-TESEをしたところ、救済ホルモン療法なしの患者では1例も精子採取できなかったが、救済ホルモン治療をした28人中6人(21.4%、全体の12.5%)で精子採取できたと報告している<sup>17)</sup>。またElbardisiらによるレビューでは、治療レジメンは異なるものの、一定の効果を示す報告がまとめられている<sup>18)</sup>。しかし、初回Micro-TESEの精巣生検で精細胞が存在することが重要な条件であること、ホルモン製剤に対する保険適用がないため治療費が高額となる、ことなどが問題で、すべての症例にすすめられる治療とは言い難い。

2つ目は、円形精子細胞注入法 round spermatid injection (ROSI) である。Micro-TESEで精子が採取できないものの円形精子細胞が見られた場合、これを卵子に注入する方法である。Hansonらによる22文献を検討したメタアナリシスでは、受精率38.7%(95%信頼区間:31.5-46.3%)で、妊娠率3.7%(3.2-4.4%)、生産率4.3%(2.3-7.7%)と示されており、予後は決して

良好ではないと述べられている<sup>19)</sup>。またMirco-TESEで精子採取できなかった患者の精巣生検組織において、円形精子細胞を認めたのはわずか2%だったため、ROSIの恩恵を受けられる患者は限定的であるという意見<sup>20)</sup>もある。さらに、顕微鏡下に円形精子細胞を判別するには、非常に高い技術が必要である。以上のことから、ROSIの臨床的な有効性を示すエビデンスにはまだ乏しいと言わざるを得ない。しかし動物実験レベルでは、円形精子細胞よりもさらに未分化である一次精母細胞の卵細胞質内注入による生産例も報告されている<sup>21)</sup>。このようにROSIやそれ以前の精細胞の注入は、そのNOA患者自身の生物学的な子を得るための最終手段とも捉えることができるため、今後の技術の発達と研究成果の積み重ねに期待したい。

#### (2) 非配偶者間人工授精(AID)

非配偶者間人工授精 artificial insemination of donor semen(AID)は、ドナー精子を用いて人工授精を行う方法で、男性因子の適応として、精巣内精子採取の不成功例または精巣内精子採取に期待できない症例に検討される方法である。なお、提供精子を用いた体外受精は本邦では一般的ではない。感染症リスクを軽減することを目的とし、一旦凍結融解した精液を用いるため、妊娠率は約5%である。AIDで出生した児への事実告知、出自を知る権利といった社会的な問題点もあり、AIDを選択したカップル、生まれた児、精子提供をしたドナーの3者を守る仕組みの整備が必要である。

#### (3) 里親制度と養子縁組

何らかの事情で産みの親が養育できない児童(要保護児童)を家族として迎え入れる制度である。里親や養子縁組制度にはいくつかの種類があるが、詳細は本邦の男性不妊症診療ガイドライン<sup>4)</sup>の概要が掲載されているためここでは割愛する。治療を断念するカップルに治療不能であることを宣告するだけでなく、それとともにこのような社会制度があることを説明し、適切な相談先を示すことも、生殖医療従事者として重要な責務である。

#### (4) 心理的サポート

NOA患者に対するMicro-TESEの不成功例では、多くの場合、治療終結を宣告することとなる。この場合には、臨床心理士などコメディカルスタッフの協力を得ながら、心理サポートを提供できるのが理想であるが、すべての施設でこの体制が整っているわけではない。治療終了時のみでなく、治療に関する意思決定支援も含めた、コメディカルスタッフとの連携システムの構築が必要である。

## 4. 問題点および将来の展望

Schlegelらの提唱から四半世紀が経過した現在でも、NOAに対する治療のgolden standardはMicro-TESEであることは疑う余地はない。同時に、前にいくつか挙げたようなオプションや例外がいくつかあるものの、Micro-TESEがNOA治療の唯一かつ最終手段であるとも言える。そこでNOAやMicro-TESEをとりまくいくつかの問題点と、今後の展望について述べておきたい。

### (1) 精子採取率を向上すること

Micro-TESEでは、手術用顕微鏡を用いて、「白く、太く、蛇行した」精細管を採取する。しかし、その判断基準は術者の主観によるところが大きいことが問題で、報告により精子採取率は25-60%と術者により差があり<sup>22)</sup>、すべての患者が最大限のMicro-TESEの恩恵を受けていない可能性が懸念される。そこで、Micro-TESEにおいて、採取すべき精細管を客観的に示すことを目的としたいくつかの基礎研究がある。狭域帯光観察barrow band imaging (NBI)<sup>23)</sup>、多光子顕微鏡<sup>22)</sup>、顕微鏡画像の深層学習による補助<sup>24)</sup>などを用いて、採取すべき精細管をより明示する方法が国内から報告されている他、いくつかの技術が提案されている<sup>25)</sup>。

いずれの方法にも、臨床応用までに解決すべき問題はいくつかあるが、今後の研究の発展に期待したい。

### (2) 情報化社会への対応

昨今のソーシャル・ネットワーキング・サービス(SNS)の普及により、個人での情報収集や発信のハードルが下がってきている。その反面、発信される情報の信憑性や安全性に問題があることや、誹謗中傷にともなう事例があることなどがたびたび報道されており、情報リテラシーの重要性が認識されている。

私たちはこれまで、SNSを通じて男性不妊症に関する情報発信を続けてきた(<https://x.com/Androlwasho>)が、その中で「精子提供」を謳うアカウントをしばしば目にしてきた。「シリンジ法」として実際に精液を提供したり、「タイミング法」として実際に性交渉で精液を提供したりする方法を示しているアカウントも少なくない。中には真剣に活動に取り組むアカウントもあるのだろうが、感染症や夫婦関係の破綻といった問題を生じる懸念のほうが大きい。

生殖医療従事者は、このような実態があることを理解し、カップルがトラブルに巻き込まれることのないよう、情報を提供することも重要である。

## 5. 最後に

本稿ではNOAの治療戦略について、Micro-TESEを中心として、いくつかのオプションや問題点についてまとめた。この25年の間、Micro-TESEがNOA治療の中心であり、今後もしばらくは同じ状況が続くだろう。しかしMicro-TESEを中心とした周辺の技術の発達や社会環境の整備、NOAの病態解明が進むことにより、多くのNOA患者の挙児が得られるようになることを願いたい。

## 参考文献

- 1) Tsujimura A, Hiramatsu I, Nagashima Y, Ishikawa K, Uesaka Y, Nozaki T, Ogishima T, Shirai M, Terai K, Kobayashi K, Horie S: Erectile Dysfunction is Predictive Symptom for Poor Semen in Newlywed Men in Japan. *Sex Med*, 8: 21-29, 2020.
- 2) World Health Organization: WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, sixth edition. Geneva: World Health Organization Press Geneva: World Health Organization, 2021.
- 3) Esteves SC, Miyaoka R, Orosz JE, Agarwal A: An update on sperm retrieval techniques for azoospermic males. *Clinics (Sao Paulo)* 68 Suppl 1: 99-110, 2013.
- 4) 日本泌尿器科学会 編, 日本生殖医学会 後援: 男性不妊症診療ガイドライン 2024年版. メディカルレビュー社, 2024.
- 5) Schlegel PN: Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Hum Reprod*, 14: 131-135, 1999.
- 6) Yumura Y, Tsujimura A, Imamoto T, Umemoto Y, Kobayashi H, Shiraishi K, Shin T, Taniguchi H, Chiba K, Miyagawa Y, Iwamoto T: Nationwide survey of urological specialists regarding male infertility: results from a 2015 questionnaire in Japan. *Reprod Med Biol*, 17: 44-51, 2018.
- 7) Saypol DC: Varicocele. *J Androl*, 2: 61-71, 1981.
- 8) Jensen S, Ko EY: Varicocele treatment in non-obstructive azoospermia: a systematic review. *Arab J Urol*, 19: 221-226, 2021.
- 9) Weedin JW, Khera M, Lipshultz LI: Varicocele repair in patients with nonobstructive azoospermia: a meta-analysis. *J Urol*, 183: 2309-2315, 2010.
- 10) Esteves SC, Miyaoka R, Roque M, Agarwal A: Outcome of varicocele repair in men with nonobstructive azoospermia: systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl*, 18: 246-253, 2016.
- 11) Muncey W, Dutta R, Terlecki RP, Woo LL, Scarberry K: Fertility potential in adult men treated for uncorrected bilateral cryptorchidism: A systematic literature review and analysis of case reports. *Andrology*, 9: 781-791, 2021.
- 12) Kobori Y, Ota S, Okada H, Tanaka T: Investigation of treatment for azoospermia due to male hypogonadotropic hypogonadism in Japan. *Int J Urol*, 26: 134-135, 2019.
- 13) Tao Y: Endocrine aberrations of human nonobstructive azoospermia. *Asian J Androl*, 24: 274-286, 2022.

- 14) Hussein A, Ozgok Y, Ross L, Rao P, Niederberger C: Optimization of spermatogenesis-regulating hormones in patients with non-obstructive azoospermia and its impact on sperm retrieval: a multicentre study. *BJU Int*, 111: E110-114, 2013.
- 15) Alrabeeh K, Addar A, Alothman A, Melha SA, Alkhayal A: Effect of hormonal manipulation using clomiphene citrate prior to microdissection testicular sperm retrieval. *Urol Ann*, 13: 254-257, 2021.
- 16) Tharakan T, Corona G, Foran D, Salonia A, Sofikitis N, Giwercman A, Krausz C, Yap T, Jayasena CN, Minhas S: Does hormonal therapy improve sperm retrieval rates in men with non-obstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 28: 609-628, 2022.
- 17) Shiraishi K, Ohmi C, Shimabukuro T, Matsuyama H: Human chorionic gonadotrophin treatment prior to microdissection testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*, 27: 331-339, 2012.
- 18) Elbardisi H, Bakircioglu E, Liu W, Katz D: Second chance in fertility: a comprehensive narrative review of redo micro-TESE outcomes after initial failure. *Asian J Androl*, 2024.
- 19) Hanson BM, Kohn TP, Pastuszak AW, Scott RT Jr, Cheng PJ, Hotaling JM: Round spermatid injection into human oocytes: a systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl*, 23: 363-369, 2021.
- 20) Barda S, Mano R, Lehavi O, Kleiman SE, Yossepowitch O, Azem F, Hauser R, Dekalo S: Questioning the utility of round spermatid injections in men with non-obstructive azoospermia. *Andrology*, 9: 1145-1150, 2021.
- 21) Ogonuki N, Kyogoku H, Hino T, Osawa Y, Fujiwara Y, Inoue K, Kunieda T, Mizuno S, Tateno H, Sugiyama F, Kitajima TS, Ogura A: Birth of mice from meiotically arrested spermatocytes following biparental meiosis in halved oocytes. *EMBO Rep*, 23: e54992, 2022.
- 22) Takeda T, Iwatsuki S, Nozaki S, Okada A, Mizuno K, Umemoto Y, Yasui T: Identification of active spermatogenesis using a multiphoton microscope. *Andrology*, 11: 1147-1156, 2023.
- 23) Enatsu N, Miyake H, Chiba K, Fujisawa M: Identification of Spermatogenically Active Regions in Rat Testes by Using Narrow-band Imaging System. *Urology*, 86: 929-935, 2015.
- 24) Takeshima T, Karibe J, Kuroda S, Yumura Y: Development of a deep-learning model for detecting positive tubules during sperm recovery for nonobstructive azoospermia. *Reproduction* 168, 2024.
- 25) Kresch E, Efimenko I, Gonzalez D, Rizk PJ, Ramasamy R: Novel methods to enhance surgical sperm retrieval: a systematic review. *Arab J Urol*, 19: 227-237, 2021.

## The 13th Congress of ASPIRE 2024 in Manila 学会報告

黒田 恵司

杉山産婦人科丸の内

2024年5月23日～26日にフィリピン・マニラのフィリピン国際コンベンションセンターで開催されたThe 13th Congress of the Asia Pacific Initiative on Reproduction (ASPIRE 2024)に参加してまいりました。ASPIREはアジア・オセアニアにおける最大の学会であり、ヨーロッパのESHREやアメリカのASRMと肩を並べることを目指して年々大きくなっています。学会の内容は非常に多岐にわたっており、ARTの臨床・基礎、生殖内分泌、低侵襲手術、ラボワーク、カウンセリングなど、最新の発表が多数あり、特にこれからARTのレベルを上げることを目指している東南アジアの勢を感じる学会です。今年も何名も日本人の先生方の招待講演があり、その中でも山口大学の杉野法広教授がKey note lectureで登壇され、「子宮内膜脱落膜化のエピジェネティクス制御」について講演されました。残念ながら日本からの参加者は他国と比較するとあまり多くなかったため、来年5月にシンガポールで行われる学会では日本からたくさんの先生方が参加してくれることを期待しています。

ASPIREの中にSpecial interest group (SIG) という各国のそれぞれの分野に特化した先生方が集まり話し合うことのできるグループが10グループあります。私もEndometrium & Implantationという主に着床不全や不育症を専門としたグループのChairを行っています。また東京大学の須賀穰教授がEndometriosis、セントマザー産婦人科医院の田中温先生がAndrologyのChairを務めています。日本は生殖医療、特にARTに関しては世界でもトップクラスの技術を持っていると思います。それぞれのSIGが毎年Pre-congress courseやConcurrent sessionを担当しているため、ぜひさらに多くの日本人の先生方や胚培養士などのコメディカルにも積極的にASPIREのSIGに参加して、アジア・オセアニアを牽引してほしいです。またESHREやASPIREと違い、多くの発表がOral presentationに通りますし、毎年日本人の発表者がAwardに選ばれています。すでに次のASPIREの演題募集は始まっていますので、ぜひみんなでシンガポールへ行きましょう！



写真は Faculty dinner (左)、Endometrium & Implantation SIG のメンバーと (右)

# ESHRE2024 レポート

中川 浩次

杉山産婦人科新宿

## アムステルダムでのESHRE

2024年のESHRE annual meetingはオランダのアムステルダムで開催された。ESHRE (European Society of Human reproduction and Embryology; ESHRE)は欧州ヒト生殖医学会と邦訳されることが多い組織で、ヨーロッパに位置する様々な国で生殖医療に従事する医師、胚培養士、看護師、カウンセラー、コーディネーター等が参加する、国際的な組織である。そのESHREは毎年1回、ESHREに参加している国の都市で学術集会を開催している(表1)。2020年はコペンハーゲンで開催される予定であったが新型コロナウイルス感染

症のパンデミックのため中止となり、2021年は完全virtualで開催、2022年はイタリアのミラノでhybrid開催、2023年は、2020年に開催できなかった都市コペンハーゲンにおいて、やはりhybridで開催されたが、まだコロナ禍の影響もあり参加者は多くはなかったようである(参加者は2021年;9,142名、2022年;12,000名、2023年;11,533名)。今年は世界134の国から11,647名が参加した。私は2005年のコパンハーゲンで開催されたESHRE meetingに参加して以降2018年のジュネーブでの開催までの14年間は毎年参加していたが、2019年から昨年までは不参加であったため、今年は久しぶり(6年ぶり)の参加となった。

アムステルダムでのESHRE meetingは、2009年以降15年ぶりの開催であったが、私は2009年の時も参加していたので、アムステルダム自体は2度目の訪問であった。オランダは海拔0mの場所が多いため、運河で治水管理をしていた歴史があり、アムステルダム中央駅を囲むように多くの運河が張りめぐらされている。その運河を船で周遊するcanal tourは人気で、アムステルダム中央駅の前にはたくさんの船着場があり、ひっきりなしにボートが発着している(写真1)。私は前回の訪問の際には乗船できなかったため、今回は1時間の運河のクルーズを堪能し

表1 2005年以降のESHRE annual meeting の開催都市

開催年	都市	国
2025	パリ	フランス
2024	アムステルダム	オランダ
2023	コペンハーゲン*	デンマーク
2022	ミラノ*	イタリア
2021	Virtual	Virtual
2020	コペンハーゲン**	デンマーク
2019	ウィーン	オーストリア
2018	バルセロナ	スペイン
2017	ジュネーブ	スイス
2016	ヘルシンキ	フィンランド
2015	リスボン	ポルトガル
2014	ミュンヘン	ドイツ
2013	ロンドン	イギリス
2012	イスタンブール	トルコ
2011	ストックホルム	スウェーデン
2010	ローマ	イタリア
2009	アムステルダム	オランダ
2008	バルセロナ	スペイン
2007	リヨン	フランス
2006	ブラハ	チェコ
2005	コペンハーゲン	デンマーク

\*現地とwebのhybrid開催、\*\*中止



写真1 運河ツアーの乗り場(左)、マヘレの跳ね橋(右)

受付 2024年8月30日/受理 2024年8月31日

た。アムステルダムには、オランダ王立美術館、ゴッホ美術館、アンネ・フランク記念館、ハイネケン醸造所等、観光名所が多数あり、15年前は予約の必要はなく、ふらっと立ち寄っても入館できたが、今年は予約必須で、それも予め予約していないと入れないような状況であった。私は前回の訪問の際に、全て訪れたいので今回は前記の場所へは行かず、オランダ南部のキンデルダイクという街へ風車を見に行った(写真2)。

### プレ・コングレス・コース

今年のESHRE meetingは、アムステルダム中央駅から地下鉄で15分ほどに位置するRAI Amsterdamという大きなコンベンションセンターで開催された(写真3)。ESHRE meetingは、7/8～7/10の3日間にメイン・プログラムが、7/7はpre-congress course(通称:プレ・コン)が開催された。プレ・コンとは、ESHREという組織の中にある様々なトピックに分かれたSIG (Special interest group)が、まる1日使ってその興味を深掘りするミニシンポジウムであり、通常、メイン・プログラムの前日に開催される。私は2010年頃からESHRE meetingの参加の際には、必ずプレ・コンから参加するようにしている。理由は、プレ・コンでは1日中、自分の興味のある内容に精通した世界中(主にヨーロッパ)の演者が基本から最先端の内容まで含んだ講義をしてくれるからである。しかしプレ・コンは、メイン・プログラムとは別途、参加費用が必要であり、さらに一度コースの選択した、他のコースの受講は出来ない等のメイン・プログラムとは違って不自由な面もあるが、それ以上に会場を移動せずに自分の興味ある項目について集中的に講義を聴けることに魅力を感じて参加している。今年も16のコースに分かれており、私は「PCC6: Failures of reproduction: how to handle - and to prevent」に

参加した。演者は7名で1人30分講義し、その後15分間のdiscussionがある。その日の演者と講義内容はプレ・コンを申し込む前から知らされており、今回のプレ・コンも講義名や演者を事前に確認してから参加の申し込みをしたのだが、「ワクワク」するような内容の講義はなく、残念であった。講義の内容は、「着床不全症例に対して、個別にどのように対応するか?」とか、「精子のDNAフラグメンテーションがどのように着床不全に関与するか?」とか、「ラボのエラーをどのように防ぐか?」等の内容であった。プレ・コンへの参加の目的は、その時の自分の持っている知識が世界基準と比べた場合、どの程度の位置なのかを測ることであるが、今回のプレ・コンでは、日本で「当たり前」のことになりつつあることが、まだまだ議論の最中である、という印象であった。さらに、私の参加したプレ・コン「PCC6」では、最後の演者が来ずにプレ・コン自体が早く終了する、等、今年のプレ・コンは少々不完全燃焼に終わった。

### ESHRE meeting での Oral presentation

「ESHRE でのオーラル」とは、ESHRE meetingにおいて、登録した演題が審査の結果oral presentation(以下「オーラル」)に採択されることであり、「オーラル」に選ばれるとESHRE meetingの大きな会場の壇上において、大勢の外国からの参加者の前で、英語でプレゼンテーションをすることができる。この「オーラル」は生殖医療に従事し、学会活動を志す者には、一つの目に見える大きなゴールであり、憧れの舞台の一つである。ESHRE meetingへの抄録の登録は、毎年1月末日が締め切り(日本時間では2月1日の昼頃)であり、今年も2,000題以上の抄録が登録され(2,218題)、発表形式(オーラル、ポスター発表)を問わずの採択率が約5割と言われている。その中で、毎年「オーラル」の枠が決まっている(約200題



写真2 キンデルダイクの風車群



写真3 ESHRE meeting の会場 (RAI Amsterdam)

程度)ため、「オーラル」は最難関であり、憧れでもある。演者1人に15分の時間が割り当てられ、10分間でプレゼンをして、5分間はdiscussionである。会場はどこも非常に大きく、約2,000人以上も着席できるような規模の会場もある。毎年、日本人(日本からの施設)の「オーラル」は7-10名程度が選ばれるが、今年は7名であった。私は7/8、月曜日の午前中の枠で「オーラル」を行った(写真4)。Meeting初日の午前中、ということもあり、会場の参加者は非常に多く、私の今までの学会発表では、最大数であったのではないかと感じている。私がオーラルをした会場は、奥行きは広くはないが横に長く、会場の前方真ん中に座長が2名、演者が1人いて、その真ん中にはスクリーンはなく横長の会場の前方の左右に巨大なスクリーンが配置される会場であった。プレゼンは無事終わり、会場からの質疑応答になった際にあまりにも横長のため、会場のどのあたりから質問されているのかが全く分からず(勿論、質問者は、マイクの前で発言している)、質問者を探すのに一苦労であった。

我々の施設からは、胚培養士の演題が「オーラル」に採択しており、7/9の火曜日に、「Can insemination techniques be improved?」というARTの媒精のセッションで「オーラル」を行った。この会場は、今回のESHRE meetingにおける最大の広さを誇る2,000名程度は収容可能な大きなホール(写真5)であり、「ESHRE 初オーラル」の彼にとっては、最高の舞台となった。「オーラル」前には相当緊張していたようであるが、かなり練習を積んでいたようで、非常に堂々とした発表と質疑応答であった(写真5)。その日の夜のビールは最高に美味しいものとなったことは想像に難くないことである。このセッションには、もう1名、日本人が「オーラル」を行っており、彼も非常に堂々としたプレゼンおよび質疑応答であり、内容も素晴らしく、セッション終了後に多くの参加者に囲まれて、質問攻めにあった。

## Selected Poster

今までは、抄録がポスターで採択された場合は、事前にパワーポイントで作成したe-posterをアップロードするだけでよく、selected posterに選ばれても、特にプレゼンをする必要はなかったが、昨年ぐらからはやや雲行きが変わってきたようで(昨年は不参加であったため事情が分からなかった)、今年は壇上での発表が必要となっていた。この度のESHRE meetingでは、我々の施設からT.H.先生の演題がselected posterに選別された。このselected posterの発表は「オーラル」とは異なり、発表時間は5分、プレゼンのために用意できるスライドは5枚以内、制約の多い発表である。しかしながら、発表者には15分間の「枠」が用意されているため、5分間の発表のうち、10分間の質疑応答時間が残ることとなる。今回は、T.H.先生が参加できなかったため、私が代役で発表と質疑応答を行った。発表は予め準備していたためスムーズに行えたが、質疑応答は10分間と長丁場であった。発表直後にフロアから2名の質問を受けたのみで、その後は座長も時間を持って余していた。質疑応答の10分の持ち時間もいよいよ残り少なくなった時に、発表とは全く関係ない質問(卵巣刺激とPGTAの発表をしたのだが、「何故、日本では凍結融解胚移植が多いのか?」という質問をいただいた)があった。今まではselected posterは、「オーラルに選ばれてなくて惜しい!」という位置付けであったが、これからは、「オーラルより質疑応答が大変」という位置付けに変わるかもしれない、という印象を持った。

## おわりに

今回のESHRE meetingは、私個人として5年ぶりの参加であったため、色々と楽しみにして参加したが、内



写真4 Oral presentation



写真5 Oral presentation

容的には消化不良の感は否めなかった。日本の生殖医療の進歩が世界基準に照らして高いレベルにまで達していることで、世界の様々な国の事情に触れるにあたって、若干の失望感があったのかもしれない。しかしながら、細部ではまだまだこれから発展していく可能性（AIによる精子や胚の選別、ラボ作業のオートメーション化等）があることも認識できたので、総じて有意義なESHRE meeting 2024 in Amsterdamであった（写真6）。来年のESHRE meetingはパリでの開催であり、抄録作成の準備を始めよう、と行くモチベーションを抱いて、今回のレポートの筆をおくこととする。



写真6



色上質紙

色上質紙

# 第27回 日本IVF学会学術集会

共催

日本臨床エンブリオロジスト学会

メインテーマ

かい ぶつ せい む  
不妊診療の開物成務  
～ 困難症例への挑戦 ～

会期

2024年10月5日(土)～10月6日(日)

会場

京王プラザホテル 東京

# 学術集会抄録集

<b>理事長挨拶</b> (一般社団法人 日本IVF学会 理事長 / 塩谷 雅英) .....	84
<b>学術集会長挨拶</b> (第27回 日本IVF学会 学術集会 会長 / 高見澤 聡) .....	85
<b>Program</b> .....	86
<b>会場アクセス・フロアマップ</b> .....	88
<b>展示会場図</b> .....	90
<b>お知らせ</b> .....	91

## 理事長講演

	座長: 杉山産婦人科 新宿 / 高見澤 聡
不妊治療の開物成務 (かいぶつせいむ) - 困難症例への挑戦 - 難しい問題に対して創造的な解決策を見つけ出すこと .....	95
	英ウィメンズクリニック理事長 / 塩谷 雅英

## 特別講演1

	座長: 杉山産婦人科 丸の内 / 黒田 恵司
New Insights into Embryo Implantation: Impact on Clinic Practice .....	96
	University of Warwick, United Kingdom / Jan J Brosens MD PhD

## 教育講演1

	座長: 杉山産婦人科 新宿 / 中川 浩次
免疫の関与する重症不妊症患者に対するタクロリムス治療開発 .....	97
	国立成育医療研究センター母性内科診療部長 / 山口 晃史

## 特別講演2

	座長: 関西医科大学 / 岡田 英孝 滋賀医科大学 / 村上 節
慢性子宮内膜炎の新しいマーカーに関する研究 .....	98
	順天堂大学医学部産婦人科講座非常勤助教 / 大科 恭子
慢性子宮内膜炎に関する新しい知見 .....	99
	奈良県立医科大学産婦人科学講座教授 / 木村 文則

## 日本臨床エンブリオロジスト学会セッション「難治症例へのラボからの挑戦」

座長：山王病院 / 猪鼻 達仁  
杉山産婦人科 / 渡邊 英明

抗セントロメア抗体陽性患者における卵子および胚の特性と臨床成績 .....	100
浅田生殖医療研究所主任研究員 / 野老 美紀子	
高齢不妊への挑戦～現状打破を目指して～ .....	101
順天堂大学大学院医学研究科産婦人科学 / 川越 雄太	
レスキューIVM ～卵子を救う最前線～ .....	102
医療法人オーク会検査部マネージャー / 高野 智枝	
顆粒球マクロファージ刺激因子による形態不良胚盤胞の活性化 .....	103
藤田医科大学医療科学部准教授 / 小林 達也	
40歳以上の体外受精におけるラボからのアプローチ .....	104
京野アートクリニック仙台/高輪/盛岡/品川培養部部長 / 服部 裕亮	

## シンポジウム1: PRP/PFC-FD 子宮内投与

座長：山王病院 / 堤 治  
IVF詠田クリニック / 詠田 由美

子宮内PRP 投与による脱落膜化への影響 .....	105
東京大学医学部産婦人科教授 / 廣田 泰	
PRPによる着床のメカニズムを探る：PRP 添加によるヒト子宮内膜遺伝子解析 .....	106
杉山産婦人科丸の内院長 / 黒田 恵司	
産婦人科PRP 研究会のレジストリ解析によるPRP 有効性の評価 .....	107
山王病院リプロダクション婦人科内視鏡治療センター / 鈴木 聡史	
座長：蔵本ウイメンズ / 蔵本 武志 仙台ARTクリニック / 吉田 仁秋	
当院におけるPFC-FD 療法を用いた胚移植術の成績 .....	108
空の森 KYUSHU 院長 / 中島 章	
PFC-FD 子宮内投与 高齢症例に対して当院の工夫 .....	109
両角レディースクリニック院長 / 両角 和人	

## 教育講演2

座長：英ウイメンズクリニック / 柴原 浩章

ICMART Preliminary World Report 2020 の概況について .....	110
自治医科大学附属病院産科婦人科准教授 / 左 勝則	

# 学術集会抄録集

## ランチョンセミナー 1

座長：聖マリアンナ医科大学 / 杉下 陽堂

- 当院でのタイムラプス導入前後の効果とAI 胚評価システム活用事例 ..... 111  
新橋夢クリニック培養部長 / 大久保 毅
- AI 胚評価システムの臨床導入と有用性について ..... 112  
IVF なんばクリニック/HORAC グランフロント大阪クリニック生殖技術部門技師長 / 佐藤 学

## ランチョンセミナー 2

座長：レディースクリニックコスモス / 桑原 章

- Shortening Time to pregnancy のための包括的アプローチ ..... 113  
京野アートクリニック高輪理事長 / 京野 廣一

## 教育講演 3

座長：杉山産婦人科 / 杉山 カー

- 早期卵巣不全 (POI) の全国調査から ..... 114  
杉山産婦人科新宿生殖医療科生殖内分泌・遺伝・内視鏡診療部長 / 丸山 哲夫

## シンポジウム 2 : PRP/PFC-FD 卵巣投与

座長：いしかわクリニック / 石川 元春  
英ウイメンズクリニック / 塩谷 雅英

- PRP卵巣内投与の実際 ..... 115  
英ウイメンズクリニック副院長 / 岡本 恵理
- 卵巣機能不全症例に対する卵巣内PRP 投与の実際 ..... 116  
はなおか IVF クリニック品川院長 / 花岡 正智

座長：空の森クリニック / 徳永 義光  
HORACグランフロント大阪クリニック / 森本 義晴

- PFC-FD卵巣投与におけるポイントについて ..... 117  
リプロダクションクリニック東京・大阪 スーパーバイザー / 松林 秀彦
- 当院での卵巣機能低下症例に対する  
Platelet-Derived Factor Concentrate Freeze Dry (PFC-FD) 卵巣注入について ..... 118  
IVF なんばクリニック / 辻 尚也

## 教育講演 4

座長：おち夢クリニック名古屋/麻布大学 / 藤原 浩

- Ovarian Rejuvenation ..... 119  
順天堂大学大学院医学研究科産婦人科学教授 / 河村 和弘

## 一般演題 (口頭発表)

### セッション1: 基礎 - 胚/精子

座長: フェニックスアートクリニック / 藤原 敏博

- 0-1 発育遅延したウシ胚の形態変化の特徴 ..... 120  
HORAC グランフロント大阪クリニック / 山中 昌哉
- 0-2 精子のヒートショックプロテイン A2 の局在変化と男性不妊症との関連の検討 ..... 120  
名古屋市立大学医学部附属西部医療センター 生殖医療センター / 夏目 明子
- 0-3 セロトニンとトリプトファンによる精子超活性化運動の促進 ..... 121  
獨協医科大学実験動物センター / 藤ノ木 政勝

### セッション2: 基礎 - 遺伝子

座長: 近畿大学 / 三谷 匡

- 0-4 IVMF した SOD1 欠損マウス卵における第二極体放出障害の解析 ..... 121  
山形大学農学部 / 王 玲玲
- 0-5 *TUBB8* 遺伝子のミスセンス変異か? 胚発生に与える影響 ..... 122  
英ウィメンズクリニック / 向田 直人
- 0-6 *RNASE9* 遺伝子変異による精子運動性低下に関する研究 ..... 122  
英ウィメンズクリニック / 佐伯 信一郎
- 0-7 *SURF1* 遺伝子変異と不妊症に関する見解 ..... 123  
英ウィメンズクリニック / 魏 興強

### セッション3: AI

座長: 広島 HART クリニック / 向田 哲規

- 0-8 胚盤胞画像1枚からのAI妊娠予測: Day6 胚盤胞を含むデータへも応用可能か ..... 123  
浅田レディースクリニック / 木田 雄大
- 0-9 培養4日目にて凍結した胚盤胞の臨床成績について ..... 124  
つばきウイメンズクリニック / 青井 英里
- 0-10 AI スコアリングの評価を優先した移植胚決定の影響 ..... 124  
IVF なんばクリニック / 和泉 広樹
- 0-11 多角的 AI アプローチによる胚画像解析における妊娠予測精度向上 ..... 125  
浅田レディースクリニック / 辻 暖永

### セッション4: 培養 (基礎) - その他

座長: 松田ウイメンズクリニック / 松田 和洋  
田園都市レディースクリニック / 河村 寿宏

- 0-12 胚移植時の GM-CSF 培養液使用は TE grade 良好な胚盤胞へ有効 ..... 125  
仙台 ART クリニック / 菅野 弘基

- 0-13 Ex utero 培養システムによる異常分割胚の着床周辺期発生の理解 .....126  
東京農工大学大学院連合農学研究科, 浅田レディースクリニック / 辻 暖永
- 0-14 精子クロマチン分散試験 (SCD) 検査による精子 DNA 断片化評価と喫煙歴 .....126  
豊橋市民病院総合生殖医療センター / 古井 憲作
- 0-15 毎日の朝食摂取は良好な生殖補助医療の治療成績に貢献する .....127  
東京医科大学 / 小野 政徳
- 0-16 子宮内 *Lactobacillus* を増加させるサプリメントとその投与方法による効果の違い .....127  
つばきウイメンズクリニック / 坂井 和貴
- 0-17 不妊治療患者におけるPRP卵巣注入治療を受ける患者の意識 .....128  
英ウイメンズクリニック / 藤井 美喜
- 0-18 原疾患寛解後の精液検査の有用性と妊孕性温存の重要性 .....128  
HORAC グランフロント大阪クリニック / 安藤 光里

## セッション 5: 臨床 - 非遠心精子調整

座長: 古賀文敏ウイメンズクリニック / 古賀 文敏

- 0-19 運動精子選別装置「ミグリス」と密度勾配遠心分離法における妊娠成績の比較 .....129  
英ウイメンズクリニック / 野村 瑠莉
- 0-20 当院における膜構造を用いた生理学的精子選択術 (ZyMot) の有用性 .....129  
倭 IVF クリニック / 宮村 知子
- 0-21 ZyMot™ Multi スパームセパレーターの有用性についての検討 .....130  
杉山産婦人科新宿 / 森田 恵理華

## セッション 6: 臨床 - ICSI

座長: 札幌エンドメトリウムリサーチ / 東口 篤司

- 0-22 2細胞期多核胚の核の数とサイズが妊娠成績に及ぼす影響 .....130  
矢野産婦人科 / 中井 康弘
- 0-23 紡錘体不可視卵における経時的変化の観察とその培養成績の検討 .....131  
広島 HART クリニック / 岩瀬 寛子
- 0-24 ICSI 由来の1PN 胚の臨床的有用性について .....131  
松本レディース IVF クリニック / 宮崎 孔龍

## セッション 7: 臨床 - 凍結融解

座長: 楠原ウイメンズクリニック / 沖津 摂

- 0-25 脂肪酸添加融解液が臨床成績に与える影響 .....132  
杉山産婦人科新宿 / 森田 恵理華
- 0-26 ワンステップ急速融解法による胚盤胞移植の臨床成績 .....132  
なごや ART クリニック / 加藤 麗夏
- 0-27 ガラス化凍結時の胚盤胞の平衡液浸漬時間が臨床成績に及ぼす影響 .....133  
なごや ART クリニック / 糸井 史陽
- 0-28 胚盤胞における凍結時の収縮度合と培養時の虚脱回数は関連するか? .....133  
蔵本ウイメンズクリニック / 田中 啓子

## セッション 8：臨床 -F-BT

座長：IVF 大阪クリニック / 福田 愛作

- O-29 凍結胚移植 (HR 法) と凍結胚移植 (NC 法) および新鮮胚移植の治療成績と妊娠経過について ..... 134  
醍醐渡辺クリニック / 小野 香奈子
- O-30 SEET を用いた凍結融解胚移植の臨床的妊娠率 ..... 134  
クリニックママ / 鎌倉 沙樹
- O-31 保険診療下でスクリーニングとしての子宮鏡検査は初回凍結胚移植の成績に寄与するか ..... 135  
竹内レディースクリニック / 折田 有史
- O-32 Direct cleavage (DC) と Reverse cleavage (RC) が  
Day5 胚盤胞 (BL) 率と融解胚盤胞移植での臨床成績に及ぼす影響 ..... 135  
空の森クリニック / 瀬底 亜里沙

## セッション 9：臨床 - その他

座長：山下レディースクリニック / 山下 正紀  
IVF なんばクリニック / 中岡 義晴

- O-33 精子運動解析システム SMAS を用いた体外受精における正常受精指標の探索 ..... 136  
HORAC グランフロント大阪クリニック / 朝香 未来
- O-34 SMAS 計測パラメータから cIVF において胚盤胞形成率が低くなる要因を探る ..... 136  
IVF なんばクリニック / 内堀 翔
- O-35 胚質不良改善目的で人為的透明帯除去術を実施し妊娠に至った一例 ..... 137  
IVF 大阪クリニック / 入江 真奈美
- O-36 当院における 15 年間の妊孕性温存凍結精子の保管状況および使用実績 ..... 137  
県立広島病院成育医療センター生殖医療科 / 三浦 貴弘
- O-37 全例単一胚移植から正確に算出された胚移植妊娠の一卵性多胎発生率 ..... 138  
豊橋市民病院 / 古井 達人

学術集会 共催・協賛企業・後援一覧 .....	139
日本IVF学会雑誌発行における投稿論文募集のお知らせ .....	140
日本IVF学会雑誌 投稿規定 .....	141
一般社団法人 日本IVF学会 定款 .....	143
一般社団法人 日本IVF学会 役員 .....	149
編集委員会 .....	150

## ごあいさつ

第27回日本IVF学会学術集会は高見澤聡大会長のもと、京王プラザホテル（東京）で開催されます。日本IVF学会はARTの臨床的側面を取り扱う唯一の学会として長年に亘って親しまれ、我が国のART臨床に大きな影響を与えて参りました。1993年に本学会の前身であるIVF懇話会が発足した当時は、まだまだこの分野には解決すべき問題が溢れておりエキサイティングな状況でした。日本IVF学会も、その時々々のトピックスをテーマに掲げ、時代を先取りして参りました。そして、この日本IVF学会は今年で27回目の開催となります。

今回の学術集会のテーマは、「不妊診療の<sup>かいぶつせいむ</sup>開物成務 ～困難症例への挑戦～」です。「開物成務」とは「物事を開拓し、成し遂げるために努力する」という意味だそうで、高見澤聡大会長の治療に取り組む熱い思いが伝わって参ります。ARTが凄まじいスピードで進歩を続け、新しい技術・診断方法が次々に開発される中、それでもまだなお救うことのできない患者様がいらっしゃるのも事実です。そのような患者様を目の前にした時、高見澤聡大会長は、「開物成務」の精神で困難症例に向き合い、新しい対応を考え、挑戦を続けよ、と我々を叱咤激励してくださっているように感じます。日々、ARTの臨床に取り組んでおられる皆様、そして、生殖医療の基礎研究に取り組んでおられる皆様、10月には東京に集まって是非とも「新たな挑戦」について大いに議論しましょう。

今年も2会場が用意され、日本臨床エンブリオロジスト学会との共催プログラム「難治症例へのラボからの挑戦」も用意されています。そして、国内のみならず海外演者によるState-of-the-Artのプログラムが多数予定されています。どれも聞き逃したくないものばかりです。口頭発表からは、今年も柳町隆三賞、森本義晴賞が選定されます。これらの賞がART医療を進化させる原動力となることを期待します。

いうまでもなく、10月の東京は一年を通じて最高のシーズンを迎えます。観光、ショッピング、グルメと、どれをとっても素晴らしい所です。

皆様と10月の東京でお会いできることを楽しみにしております。多くの方のご参加をお待ちしております。

令和6年秋

一般社団法人 日本IVF学会

理事長 塩谷 雅英

(英ウィメンズクリニック理事長)

## ごあいさつ

第27回日本IVF学会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)の語源は、孔子が始祖である儒教の経典ともされる中国の古代思想の五経(易, 書, 詩, 礼, 春秋)の一つ、「易経」にあります。孔子が編集した「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)」のなかの繫辞上傳の第十一章に以下の一節があります。

「子曰。夫易。何爲者也。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あろうか。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」は現代においても「物事を開拓し、成し遂げるために努力する」という意味で通用しており、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すのと同時に、その姿勢や精神を表現し、実現するために努力することの重要性を表しています。

不妊診療の保険化から2年以上が経過し多くの施設で保険診療が定着し、大半を占めていることと思います。経済的なハードルが下がった結果、若年カップルなどその恩恵を享受する人達がいる一方で、保険適応でない検査・治療を必要とする人達も依然、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、従来から様々な検査・治療のアプローチが試みられていますが、保険診療下ではこれらは実施できず、現状では治療者および患者側にも窮屈な思いと不利益を強いています。

それでも我々は「開物成務」の精神でこれまでも、そしてこれからも、これらの困難症例に向き合い、新しい対応を考え、実施し、挑戦し続けます。また保険診療下での実施を可能にすべく、先進医療ひいては保険適応取得に向けて実績・データを積み上げ、エビデンスを構築していく努力を続けます。

今回、PRP/PFC-FDの子宮内投与・卵巣投与のシンポジウムを中心に、慢性子宮内膜炎に対する新しい知見、タクロリムス先進医療Bの経過と結果、その他エクソソーム卵巣投与、POIの現状、世界のART事情、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用意しました。困難症例への「開物成務」の対応の現状を確認し、皆様と共有したいと考えます。

また本会は従来通り、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。

学会は「お祭り」でもあります。ド派手な懇親会も用意しました。日常を一時忘れて、非日常を楽しんでいただけたら幸いです。

令和6年秋

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)

## 2024年10月5日(土)

### 第1会場 南館 5F エミネンス

時間	区分/テーマ	演題	演者
11:30~	参加受付開始		
12:30~12:35	開会の辞 理事長挨拶		塩谷 雅英 (英ウィメンズクリニック)
12:35~12:45	学術集会長挨拶		高見澤 聡 (杉山産婦人科 新宿)
12:45~13:15	理事長講演	不妊治療の開物成務(かいぶつせいむ)-困難症例への挑戦- 難しい問題に対して創造的な解決策を見つけ出すこと	塩谷 雅英 (英ウィメンズクリニック)
13:15~13:25	休憩		
13:25~14:25	特別講演 1	New Insights into Embryo Implantation: Impact on Clinic Practice	J. Brosens (Univ. Warwick) ※同時通訳
14:25~14:35	休憩		
14:35~15:00	教育講演 1	免疫の関与する重症不妊症患者に対するタクロリムス治療開発	山口 晃史 (成育医療センター)
15:00~15:25	特別講演2-1	慢性子宮内膜炎の新しいマーカーに関する研究	大科 恭子 (順天堂大学)
15:25~15:50	特別講演2-2	慢性子宮内膜炎に関する新しい知見	木村 文則 (奈良県立医大)
15:50~16:00	休憩		
16:00~18:00	日本臨床 エンブリオロジスト学会 セッション [難治症例への ラボからの挑戦]	抗セントロメア抗体陽性患者における卵子 および胚の特性と臨床成績	野老 美紀子 (浅田生殖医療研究所)
		高齢不妊への挑戦~現状打破を目指して~	川越 雄太 (順天堂大学大学院医学研究科産婦人科学)
		レスキュー IVM ~卵子を救う最前線~	高野 智枝 (医療法人オウク会)
		顆粒球マクロファージ刺激因子による形態不良胚盤胞の活性化	小林 達也 (藤田医科大学)
		40歳以上の体外受精におけるラボからのアプローチ	服部 裕充 (京野アートクリニック仙台)

## 2024年10月6日(日)

### 第1会場 南館 5F エミネンス

時間	区分/テーマ	演題	演者
8:20~	参加受付開始		
9:00~9:05	会長挨拶		高見澤 聡 (杉山産婦人科 新宿)
9:05~9:15	シンポジウム概要説明		高見澤 聡 (杉山産婦人科 新宿)
9:15~11:15	シンポジウム1: PRP/PFC-FD 子宮内投与	子宮内PRP投与による脱着膜化への影響	廣田 泰 (東京大学)
		PRPによる着床のメカニズムを探る: PRP添加によるヒト子宮内膜遺伝子解析	黒田 恵司 (杉山産婦人科 丸の内)
		産婦人科PRP研究会のレジストリ解析によるPRP有効性の評価	鈴木 聡史 (山王病院)
		休憩	
		当院におけるPFC-FD療法を用いた胚移植術の成績	中島 章 (空の森 KYUSHU)
		PFC-FD子宮内投与 高齢症例に対して当院の工夫	両角 和人 (両角レディースクリニック)
11:15~11:25	休憩		
11:25~11:50	教育講演 2	ICMART Preliminary World Report 2020の概況について	左 勝則 (自治医科大学附属病院)
11:50~12:00	休憩		
12:00~13:00	ランチョンセミナー 1	当院でのタイムラプス導入前後の効果とAI胚評価システム活用事例	大久保 毅 (新橋夢クリニック)
		AI胚評価システムの臨床導入と有用性について	佐藤 学 (IVF なんばクリニック)
13:00~13:15	年次総会		
13:15~13:30	優秀演題表彰		
13:30~13:55	教育講演 3	早期卵巣不全(POI)の全国調査から	丸山 哲夫 (杉山産婦人科 新宿)
13:55~14:05	休憩		
14:05~15:35	シンポジウム 2: PRP/PFC-FD 卵巣投与	PRP卵巣内投与の実際	岡本 恵理 (英ウィメンズクリニック)
		卵巣機能不全症例に対する卵巣内PRP投与の実際	花岡 正智 (はなおか IVF クリニック 品川)
		PFC-FD卵巣投与におけるポイントについて	松林 秀彦 (リプロダクションクリニック東京)
		当院での卵巣機能低下症例に対する Platelet-Derived Factor Concentrate Freeze Dry (PFC-FD)卵巣注入について	辻 尚也 (IVF なんばクリニック)
15:35~15:45	休憩		
15:45~16:10	教育講演 4	Ovarian Rejuvenation	河村 和弘 (順天堂大学)
16:10~16:15	閉会の辞		高見澤 聡 (杉山産婦人科 新宿)
16:15~16:25	次期会長挨拶		徳永 義光 (空の森クリニック)

座長	専門医機構 領域講習受講単位
高見澤 聡 (杉山産婦人科 新宿)	
黒田 恵司 (杉山産婦人科 丸の内)	○
中川 浩次 (杉山産婦人科 新宿)	
岡田 英孝 (関西医科大学) 村上 節 (滋賀医科大学)	
猪鼻 達仁 (山王病院) 渡邊 英明 (杉山産婦人科)	

第2会場 南館 4F 錦			
時間	区分/テーマ	座長	専門医機構 領域講習受講単位
11:30~	参加受付開始		
13:15~15:46	口頭演題 発表	セッション1:基礎-胚/精子 3題 (0-1~3)	藤原 敏博 (フェニックスアートクリニック)
		セッション2:基礎-遺伝子 4題 (0-4~7)	三谷 匡 (近畿大学)
		セッション3:AI 4題 (0-8~11)	向田 哲規 (広島 HART クリニック)
		セッション4:培養(基礎)-その他 7題 (0-12~18)	松田 和洋 (松田ウイメンズクリニック) 河村 寿宏 (田園都市レディースクリニック)

南館 3F グレースルーム	
16:15~	通常理事会

本館 5F コンコード	
18:30~	開場
19:00~	懇親会 開始

座長	専門医機構 領域講習受講単位
堤 治 (山王病院) 詠田 由美 (IVF 詠田クリニック)	○
蔵本 武志 (蔵本ウイメンズ) 吉田 仁秋 (仙台 ART クリニック)	
柴原 浩章 (英ウイメンズクリニック)	
杉下 陽堂 (聖マリアンナ医科大学)	○
杉山 カー (杉山産婦人科)	
石川 元春 (いしかわクリニック) 塩谷 雅英 (英ウイメンズクリニック)	○
徳永 義光 (空の森クリニック) 森本 義晴 (HORAC グランフロント 大阪クリニック)	
藤原 浩 (おち夢クリニック名古屋 / 麻布大学)	

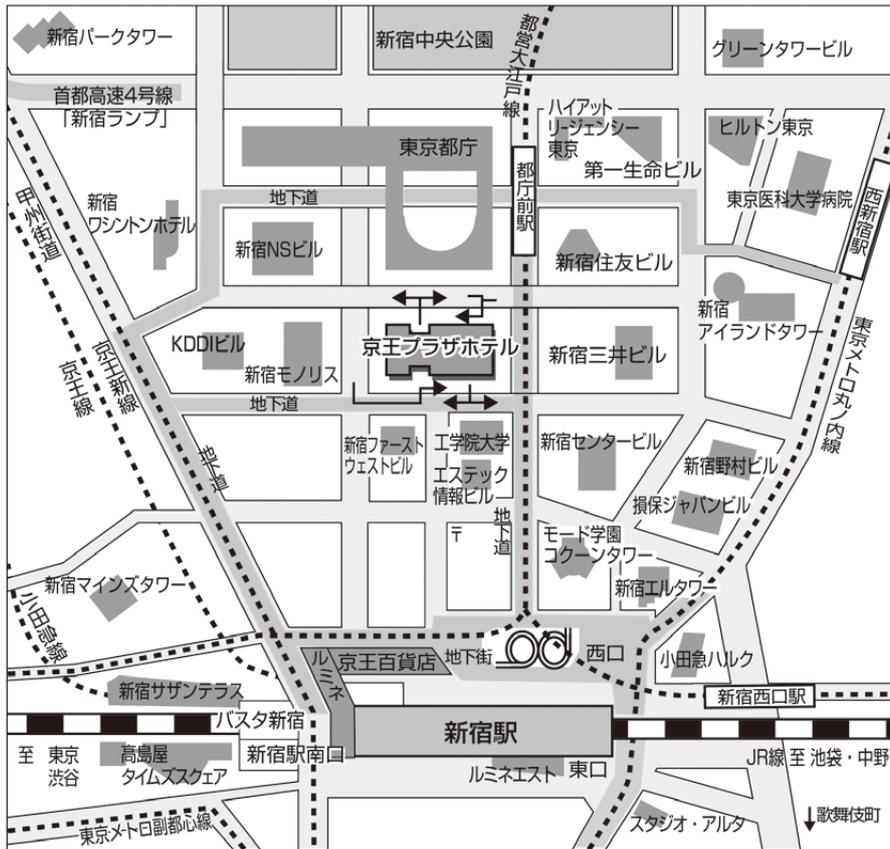
第2会場 南館 4F 錦			
時間	区分/テーマ	座長	専門医機構 領域講習受講単位
8:20~	参加受付開始		
9:00~11:40	口頭演題 発表	セッション5:臨床-非遠心精子調整 3題 (0-19~21)	古賀 文敏 (古賀文敏ウイメンズクリニック)
		セッション6:臨床-ICSI 3題 (0-22~24)	東口 篤司 (札幌エンドメトリウムリサーチ)
		セッション7:臨床-凍結融解 4題 (0-25~28)	沖津 摂 (楠原ウイメンズクリニック)
		セッション8:臨床-F-BT 4題 (0-29~32)	福田 愛作 (IVF 大阪クリニック)
		セッション9:臨床-その他 5題 (0-33~37)	山下 正紀 (山下レディースクリニック) 中岡 義晴 (IVF なんばクリニック)
12:00~13:00	ランチョン セミナー2	Shortening Time to pregnancy のための包括的アプローチ 京野 廣一 (京野アートクリニック)	桑原 章 (レディースクリニックコスモス)

# 会場アクセス

## 交通アクセス・周辺地図

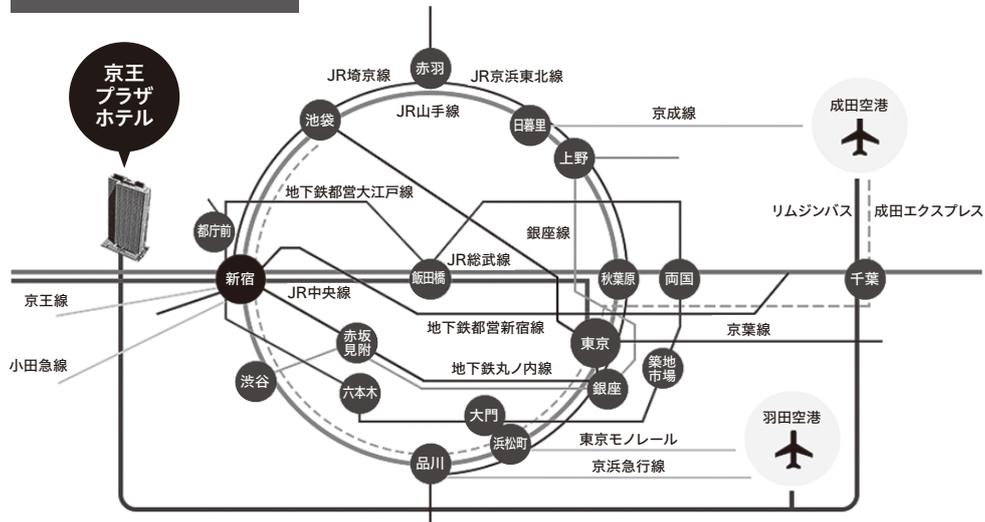
京王プラザホテル

住所：〒160-8330 東京都新宿区西新宿2-2-1



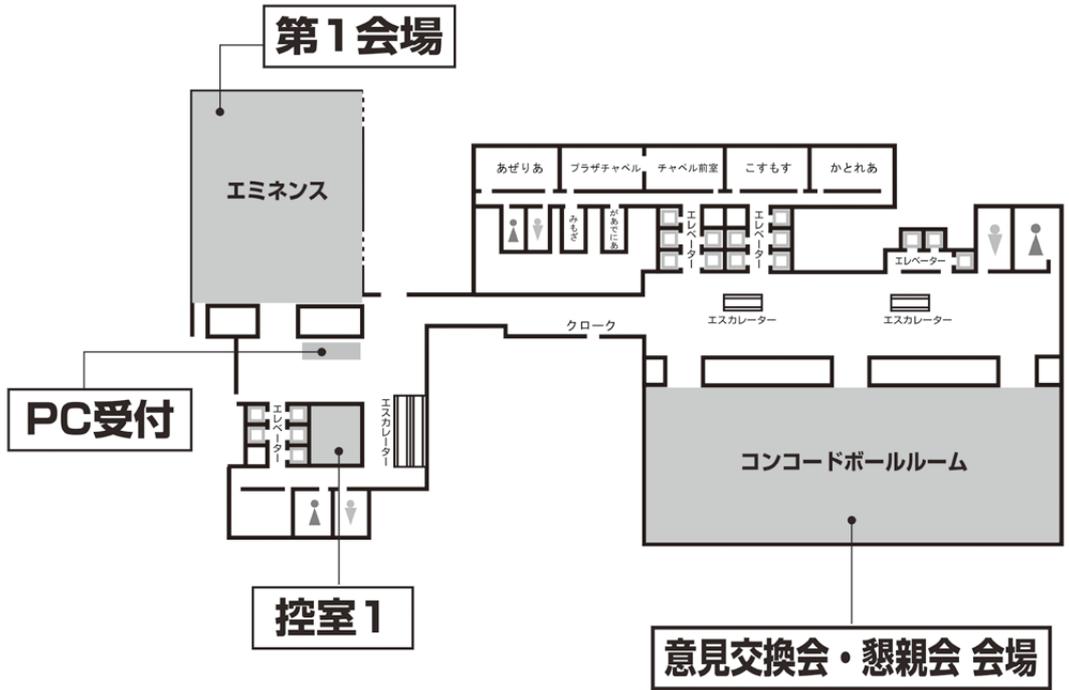
徒歩なら……JR・私鉄・地下鉄「新宿駅（西口）」「西新宿駅」下車徒歩5分  
 都営地下鉄大江戸線「都庁前駅」B1出口すぐ  
 お車なら……首都高速4号線「新宿ランプ」が便利です

## 都内簡略路線図

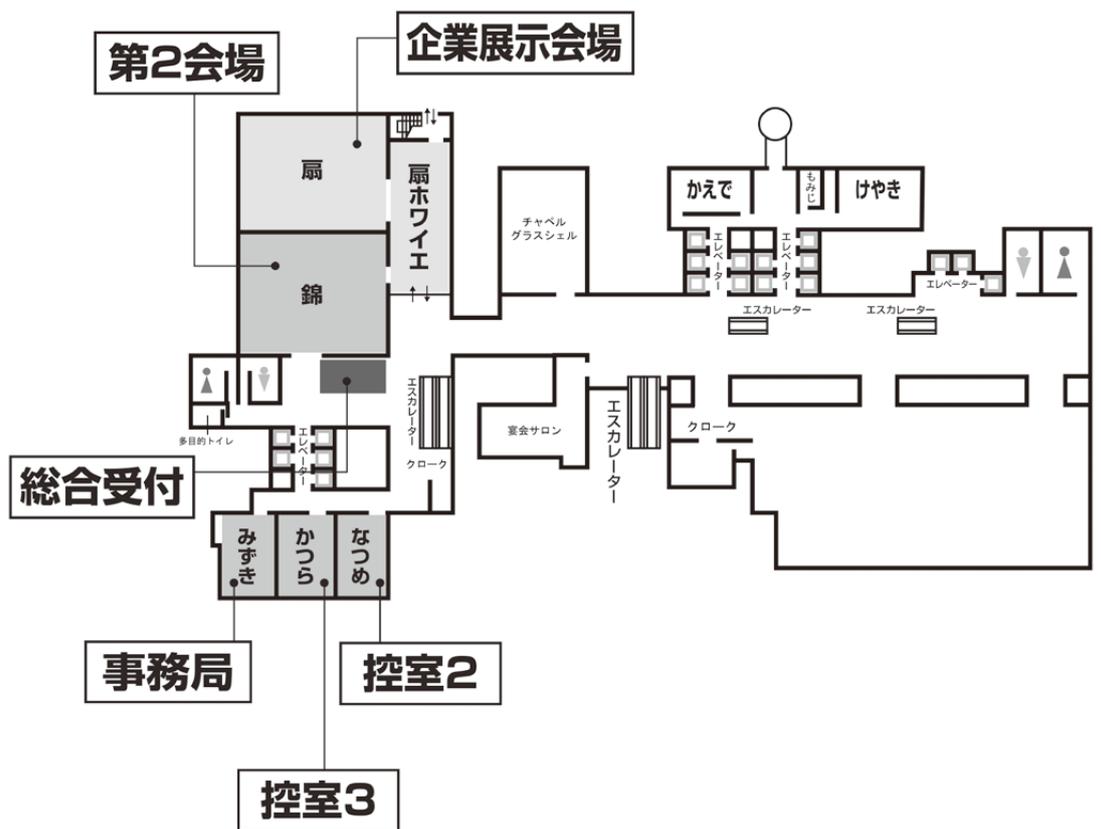


# フロアマップ【京王プラザホテル】

5F

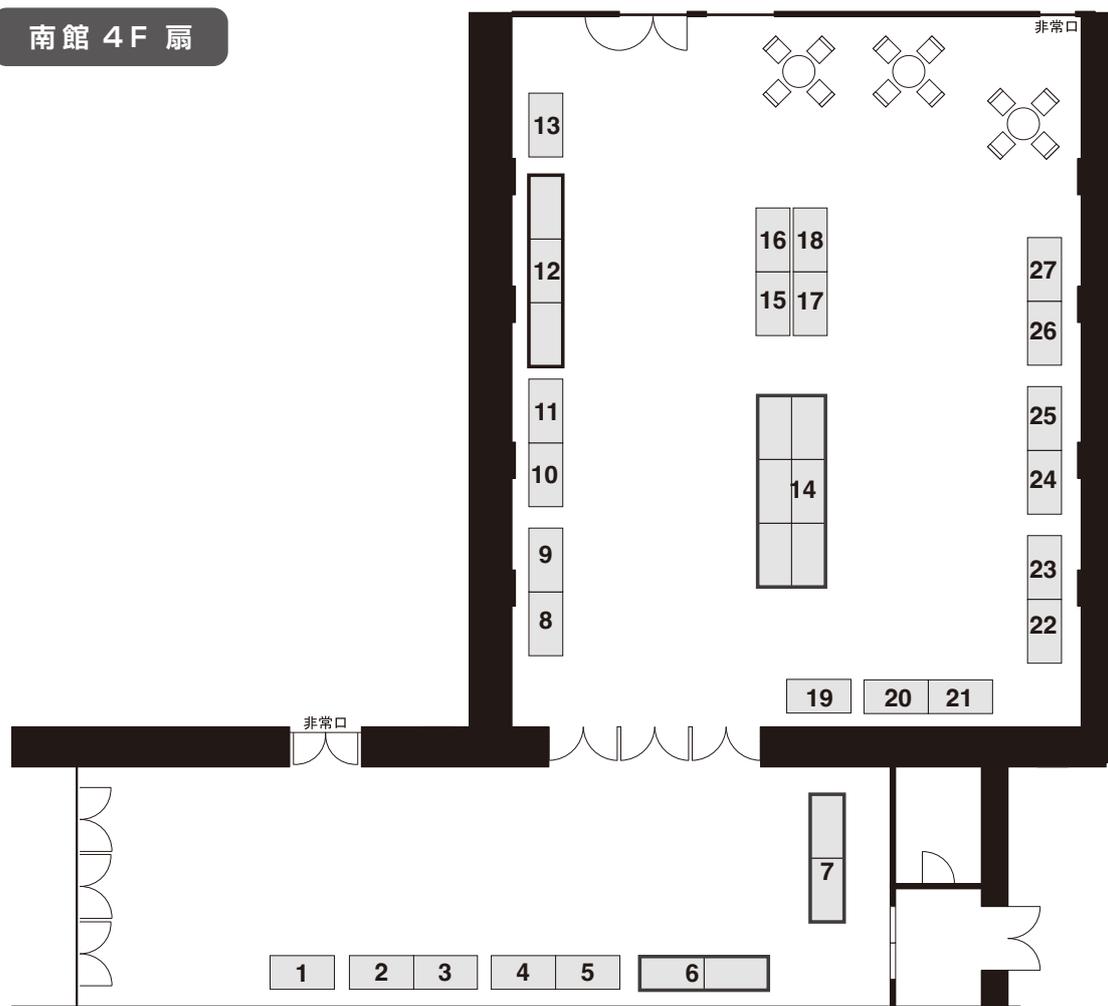


4F



# 展示会場図

## 南館 4F 扇



- |    |                                   |    |                |
|----|-----------------------------------|----|----------------|
| 1  | 株式会社サリー・ジョイス・ジャパン<br>損害保険ジャパン株式会社 | 14 | 株式会社リプロライフ     |
| 2  | 株式会社グレイスグループ                      | 15 | 株式会社Revorf     |
| 3  | 株式会社ユー・ディー                        | 16 | 正晃テック株式会社      |
| 4  | システムロード株式会社                       | 17 | 株式会社メニコン       |
| 5  | 株式会社ドクターズファーマシー                   | 18 | 株式会社オフショア      |
| 6  | ヴィトロライフ株式会社                       | 19 | タック株式会社        |
| 7  | オルガノン株式会社                         | 20 | ニプロ株式会社        |
| 8  | 株式会社ナカメディカル                       | 21 | 全球卵銀股份有限公司     |
| 9  | メディー・コン インターナショナル株式会社             | 22 | 扶桑薬品工業株式会社     |
| 10 | フェリング・ファーマ株式会社                    | 23 | あすか製薬株式会社      |
| 11 | vivola株式会社                        | 24 | 株式会社 東機貿       |
| 12 | 株式会社北里コーポレーション                    | 25 | 株式会社パートナーズ     |
| 13 | ホロジックジャパン株式会社                     | 26 | バイエル薬品株式会社     |
|    |                                   | 27 | 富士フィルム和光純薬株式会社 |

# お知らせ

## 第27回 日本IVF学会 学術集会

共催：日本臨床エンブリオロジスト学会

### ●概要

会期：2024年10月5日(土)～10月6日(日)

会場：京王プラザホテル 東京

〒160-8330 東京都新宿区西新宿2-2-1

TEL: 03-3344-0111

## 学術集会参加者へのお知らせ

### ●学会受付

#### ◆受付

場所：4階 錦の間 前

受付日時：10月5日(土) 11:30～18:00

10月6日(日) 8:20～16:30

#### ◆PC受付

場所：5階 エミネンスホール 前

受付日時：10月5日(土) 11:30～16:00

10月6日(日) 8:20～15:45

### ●参加登録

- ・参加をご希望の方は、第27回 日本IVF学会 学術集会Webサイト【参加登録】ページより、オンラインによる参加登録を行ってください。
- ・事前参加登録の場合はネームカードを会場受付にてお受け取りください。
- ・当日登録の場合は Web サイト上の【当日登録】ページよりご入力いただきお手続きを行ってください。
- ・ネームカードをお持ちの方は、すべての学術集会プログラムにご参加いただけます。会場内ではホルダーに入れて必ずご着用ください。
- ・ネームカードは見やすいところに着用の上、ご入場ください。会期中、ネームカードのない方の入場はお断りいたします。

### ●参加費

(消費税込み)

			事前参加登録	当日登録
参加費	会員	医師	20,000円	22,000円
		医師以外	10,000円	12,000円
	非会員	医師	23,000円	25,000円
		医師以外	13,000円	15,000円

※事前参加登録費は2024年9月13日(金)までのお申し込みに適用されます。

※お支払方法はクレジットカード決済のみといたしております。

● **コンGRESバッグ**

コンGRESバッグをご用意しております。

受付にて名札受取の際にお受け取りください(引換券はございません)

● **プログラム抄録集**

学会雑誌が学術集会講演抄録集を兼ねておりますので、会員の方は当日ご持参ください。

当日にご必要な場合、受付にて3,000円(税込み)で販売いたします。

● **懇親会のご案内**

◆ **懇親会**

日 時：10月5日(土) 19:00～

会 場：京王プラザホテル 東京

参加費：5,000円(税込み)

申込方法：オンライン登録サイトからお申し込みいただけます。

※事前参加登録のみ

● **日本産科婦人科学会専門医研修出席証明**

「e 医学会カード」による講習受講証明を行いますので、「e 医学会カード」をご持参ください。

・学術集会参加単位3単位(2日以上)の学術集会)

また、下記セッションにつきましては、それぞれ1セッション毎に1ポイントの日本専門医機構産婦人科領域講習受講単位が付与されます。

機構1単位/1セッション

・特別講習1：New Insights into Embryo Implantation: Impact on Clinic Practice

・シンポジウム1：PRP/PFC-FD 子宮内投与

・シンポジウム2：PRP/PFC-FD 卵巣投与

・ランチョンセミナー1：当院でのタイムラプス導入前後の効果とAI胚評価システム活用事例/  
AI胚評価システムの臨床導入と有用性について

・ランチョンセミナー2：Shortening Time to pregnancyのための包括的アプローチ

● **ランチョンセミナーについて**

ランチョンセミナーは事前チケット制です。当日参加をご希望の方は受付付近にてチケットを配布致しておりますのでご確認ください。

フードロス削減の取り組みとして、事前申し込み分+予備(若干数)のお弁当をご用意しております。先着順としておりますので、お弁当が確保できない場合がございます。

- 会場内でのご注意

- ・セッション会場内では携帯電話の電源を OFF にするか、マナーモードに設定してください。
- ・会長の許可のない掲示・展示・印刷物の配布は固くお断りいたします。
- ・講演スライド等の録画・録音・撮影は一切禁止いたします。また、無断転用・複製も一切禁止いたします。
- ・講演会場内での呼び出しはいたしません。何かございましたら、総合受付までお問合せください。

- 企業展示のご案内

会場：4階 扇の間

## 口演発表者へのご案内

- 講演時間

特別講演、企画プログラム：別途ご案内の通り

シンポジウム：20分/人（質疑応答を含む）

口頭演題発表：8分（発表6分＋質疑応答2分）

- 講演者は各セッション開始 30 分前までに、PC 受付（南館5階 エミネンスホール前）にて試写をお済ませください。

パソコンを持参される方も、セッション開始 30 分前までに受付をお済ませください。データは専用の PC に保存させていただきますが、発表が終わり次第データは消去させていただきます。会場に用意してある PC では、パワーポイントの「発表者ツール」機能は使用できません。

**【発表データをお持ち込みの方へ】**

- ・ソフトは Windows 版 Power Point 2013 以降 2021 までをご使用ください。
  - ※ Macintosh をご使用の方は、PC 本体をお持ち込みください。
  - ※ 動画ファイルをご使用の方は、PC 本体をお持ち込みください。
- ・フォントは OS 標準のもののみご使用ください。
- ・画像の解像度は、FullHD (1920 × 1080) をお願いいたします。
- ・発表データは USB フラッシュメモリーに保存してお持ちください。

#### 【ノート PC 本体をお持ち込みの方へ】

- ・バックアップとして、必ずメディアもご持参ください。
- ・画像の解像度は FullHD (1920 × 1080) でお願いいたします。
- ・PC 受付の液晶モニターに接続し、映像の出力チェックを行ってください。
  - ※ PC の機種や OS によって出力設定方法が異なります。
- ・プロジェクターとの接続ケーブルの端子は HDMI です。
- ・PC によっては専用のコネクタが必要となりますので、必ずお持ちください。
  - ※特に薄型ノート PC は別途付属コネクタが必要となりますので、ご注意ください。
- ・スクリーンセーバー、省電力設定は事前に解除ください。
- ・コンセント用電源アダプタを必ずご持参ください。
  - ※内蔵バッテリー駆動の場合、発表中に映像が切れる恐れがありますので、ご注意ください。

#### ●利益相反の開示

本学術集会で演題を発表する全ての演者は、利益相反状態の有無を開示する必要があります。COI 状態を発表スライドの最後に開示してください。

### 演者・座長へのお願い

#### ●口演発表

セッション開始 10 分前には、各会場内前方の「次演者席・次座長席」に着席し、待機してください。

# 不妊治療の開物成務 - 困難症例への挑戦 - 難しい問題に対して創造的な解決策を見つけ出すこと



塩谷 雅英

英ウィメンズクリニック  
理事長

略 歴

1985年3月 島根医科大学卒業、京都大学医学部婦人科学産科学教室  
1988年9月 京都大学医学部婦人科学産科学教室医員  
1994年4月 神戸市立中央市民病院産婦人科医長  
2000年3月 英ウィメンズクリニック開設

医学博士(京都大学)、日本産科婦人科学会専門医・指導医、日本生殖医学会生殖医療専門医・指導医、臨床遺伝専門医、日本臨床細胞学会専門医

日本IVF学会 理事長、日本生殖医学会 特任理事、日本受精着床学会 理事、日本生殖心理学会 理事、JISART 理事、日本生殖発生医学会 理事、生殖バイオロジー東京シンポジウム 理事、日本レーザーリプロダクション学会 理事、日本生殖医療支援システム研究会 理事長、日本卵子学会 代議員、日本生殖医学会 生殖医療ガイドライン評価委員、近畿産婦人科学会 内分泌・生殖研究部会委員、兵庫県産婦人科学会 学術委員、兵庫医科大学 非常勤講師、大阪医科薬科大学 臨床教育教授、大阪信愛学院大学 客員教授

第27回学術集会は、高見澤聡大会長のもと、「不妊診療の開物成務～困難症例への挑戦～」をテーマとして開催されます。そこで、「開物成務」とは、「治療困難症例に対して創造的な解決策を見つけ出す」と解釈し今回の理事長講演に望みたいと思います。1978年のIVF・ETによるルイズさんの出産以来、すでに半世紀近い月日が流れようとしています。この間、生殖医療は日進月歩の進化を遂げてまいりました。しかしながら、繰り返し治療が不成功に終わる症例に遭遇することは決して稀ではありません。このような反復不成功の原因は、1. 胚側の問題、2. 着床に関する子宮側の問題、3. 着床に関する免疫の問題、4. 卵巣機能の問題、5. 造精機能の問題、等に分類することができます。本講演では時間の許す限り、これらの原因を取り上げ、それらに対する「創造的な解決策」について議論したいと考えています。下記に、それぞれの原因と着目すべきポイントを列挙します。

## 1. 胚側の問題：着目すべきポイント

卵巣刺激法(ロング, ショート, アンタゴニスト, PPOS, 低刺激, 自然周期), トリガーの種類, トリガー後採卵までの時間, 採卵のタイミング(首席卵胞径), 精子選別方法(ZYMOTなど), 授精方法(IMSI, PICSI, PIEZO), 培養法(タイムラプス), 抗セントロメア抗体, PGT-A, SR等。

## 2. 着床に関する子宮側の問題：着目すべきポイント

子宮鏡検査, 着床の窓(ERA, ERピーク), 子宮内腔細菌叢, プロバイオティクス, 子宮内膜炎, 子宮筋腫, 子宮腺筋症, 子宮内膜ポリープ, 卵管水腫(卵管切除の効果), 子宮形態異常, PRP(PFCFD)療法,

凍結融解胚移植(ホルモン補充周期, 自然排卵周期), 高濃度ヒアルロン酸培養液, G-CSF子宮内注入, 末梢血幹細胞子宮内注入, シート療法, 二段階胚移植法, AHA, 偽閉経療法, 等。

## 3. 着床に関する免疫の問題：着目すべきポイント

Th1/Th2, NK活性, APAS(抗凝固療法), 免疫抑制剤(タクロリムス他), 脂肪乳剤点滴静注療法, ガンマグロブリン療法, PRP(PFCFD)療法, 末梢血単核球(PBMC)療法, 幹細胞上清療法, 等。

## 4. 卵巣機能の問題：着目すべきポイント

卵巣刺激法, hMG製剤, rec-FSH製剤, 投与アルゴリズム, 採卵のタイミング(首席卵胞径), IVM, IVA, 卵子提供, 卵巣PRP(PFCFD)療法, 卵巣チョコレート嚢胞, OHSS, 等。

## 5. 造精機能の問題：着目すべきポイント

MDTESE, MESA, 精索静脈瘤, 薬物療法, 精子提供, AZF, 等。

# New Insights into Embryo Implantation: Impact on Clinic Practice



**Jan J Brosens**  
**MD PhD**

University of Warwick,  
United Kingdom

- Jan Brosens graduated from the KU Leuven, Belgium, in 1990 and pursued postgraduate training in Obstetrics and Gynaecology in the United Kingdom.
- He became a Member of the Royal College of Obstetricians and Gynaecologists in 1995 and a Fellow of the College in 2008.
- He obtained a Ph.D. from the University of London in 1999.
- He was awarded a Wellcome Trust Clinical Scientist Fellowship in 1998.
- He joined Imperial College London, first as Chair of Reproductive Sciences (2004) and then as Chair of Reproductive Medicine (2008).
- In May 2011, he was appointed as Chair of Obstetrics and Gynaecology at the University of Warwick and Head of the Division of Reproductive Health.
- Jan Brosens is a Wellcome Trust Investigator and scientific director of Tommy's National Centre for Miscarriage Research, a partnership between Imperial College London, University of Birmingham, and University of Warwick.

Although embryo implantation has never been observed directly in humans, the 'implantation window' is an established concept in reproductive medicine as the limited period during which a blastocyst can attach to the luminal endometrial epithelium. Despite the widespread adoption of this paradigm, practical diagnostic tools to detect endometrial defects leading to implantation failure and early pregnancy loss have not yet emerged.

Novel technologies, including single-cell RNA-seq, spatial transcriptomics and organoids/assembloids, have radically changed our understanding of the human implantation window. A unique characteristic of human endometrium is that, on average, it quadruples in thickness and volume between menstruation and ovulation. Spatial transcriptomics revealed that morphogen and cytokine gradients regulate epithelial and stromal cell proliferation, resulting in tissue stratification and positional cell specification. After ovulation, progesterone acting on this spatial template triggers a decidual reaction, an endogenous inflammatory tissue response that heralds the start of the four-day mid-luteal implantation window. A canonical feature of the decidual reaction is the inflammatory reprogramming of progesterone-dependent stromal cells, termed pre-decidual cells. By secreting IL-15, pre-decidual cells activate cytolytic uNK cells to prune stressed and damaged cells, curtailing tissue inflammation. The emergence of mature decidual cells, characterised by their epithelioid morphology and stress-resistant phenotype, signals the window's closure.

Spatial mapping revealed that progesterone-resistant *DIO2+* stromal cells abutting the luminal

epithelium constrain the decidual reaction at the start of the implantation window. Multiple strands of evidence indicate that *DIO2+* cells are essential for interstitial embryo implantation, including the overrepresentation of genes mediating blastocyst-endometrium interactions. Further, immunotolerant KIR+ uNK cells accumulate in this subluminal implantation niche. As the endometrium cycles through the implantation window, the expansion of underlying progesterone-dependent pre-decidual cells leads to a reciprocal decline in pro-implantation *DIO2+* cells. Thus, the progressive loss of *DIO2+* cells and reciprocal expansion of pre-decidual cells set the spatiotemporal boundaries of the interstitial implantation niche in the human endometrium.

Analysis of pre-pregnancy timed endometrial biopsies from 924 women revealed that the frequency of menstrual cycles marked by a blunted or stalled decidual reaction closely aligns with the miscarriage risk not accounted for by maternal age-dependent fetal aneuploidy. Conversely, an accelerated decidual reaction is linked to pathological implantation failure. However, our observations demonstrate that *DIO2+* and pre-decidual subsets are finely balanced during the implantation window. Soluble signals from IVF that failed to implant upend this balance in a manner that will promote tissue breakdown. Thus, the human endometrium is specifically adapted to dispose of low-fitness blastocysts, implying that many perceived RIF cases in IVF are not biological failures. This new implantation paradigm underpins the development of a new generation of endometrial diagnostics and therapeutics to prevent persistent reproductive failure.

# 免疫の関与する重症不妊症患者に対する タクロリムス治療開発

## 山口 晃史

国立成育医療研究センター  
母性内科診療部長

### 略 歴

1985年	順天堂大学内科研修医
1987年	同大学内科(現膠原病内科)
1989年	国立予防衛生研究所(現国立感染症研究所)エイズ予防財団リサーチレジデント
1991-1995年	ハーバード大学医学部附属病院
1996-2011年	国立感染症研究所エイズ第1グループ協力研究員
1997年	昭和大学医学部細菌学教室
1998年	同大学 講師
2002年	国立成育医療センター周産期診療部 母性内科
2009年	国立成育医療研究センター周産期診療部(現周産期・母性診療センター) 部長
2011年	同センター研究所周産期病態研究部母体管理室長(併任)
2024年	同センター妊娠と薬情報センターセンター長(併任)

不妊症の原因として全体の約10～15%程度に原因不明が含まれていると考えられており、通常の治療方法で不成功を繰り返している患者は少なくない。これらの患者の中から新たな疾患群である細胞性免疫の関与する不妊症を定義し、治療方法の開発を行ってきた。

2008年に妊娠中のインフルエンザワクチンの有用性を評価するために、妊娠中の免疫状態とワクチン接種による抗体産生(免疫原性)の関係をTh1/Th2比で解析したところ、免疫原性の評価結果だけでなく、妊婦にTh1/Th2比が高値の方は少ないことが明確となった。このことからTh1/Th2比が高値の方は妊娠しにくい免疫状態にある可能性を想定し、原因不明の不妊症患者を対象としてTh1/Th2比を測定したところ、多くの方が高値を示した。従って、Th1優位の細胞性免疫亢進状態が不妊症の原因の一つであることが示唆され、細胞性免疫の抑制が治療法として有用である可能性が窺えた。安全性の確保を最優先として、細胞性免疫を主に抑制する免疫抑制剤を使用しながら出産した過去の臓器移植症例や自己免疫疾患症例での妊娠中用量と安全性情報のすべてを抽出し、候補に挙げられた薬剤の中で最も安全と評価されているタクロリムスを選択した。2011年より開始されたパイロットスタディーでは不妊症治療として有効である結果が得られ、2014年に初回論文発表を行った。この治療プロトコルを基に2015年よりRCTへ向けた準備を開始した。しかし、妊娠期を避けた不妊治療領域の使用であるが研究遂行のハードルは高く、加えて2018年4月に施行された臨床研究法によりさらに開発のスピードは鈍化した。この間、生殖医療領域の重鎮の先生方からアドバイスをいただき、2020年に独立行政法人医薬品医療機器総合機構からの指摘事項を踏まえ国立研究開発法人日本医療研究開発機構

(AMED) 研究班によるプロトコル検討会を開催し、2021年にプロトコル骨子が完成した。この骨子を基に作成した臨床研究計画は2022年1月の認定臨床研究審査委員会承認、3月の厚生労働省先進医療技術審査部会で「不妊症患者に対するタクロリムス投与療法」として先進医療Bへ振り分けられ、5月の同会議で承認、7月に告示された。その後、先進医療Bとして「重症不妊症患者に対するタクロリムスの多施設共同2用量単群比較試験」がAMED研究班により開始された。

治療方法の発案から臨床研究開始までの約10年間で腫瘍免疫学や移植免疫学は急速に進み、不妊治療領域でも基礎研究へ及び多くの解析が成されている。ここでは現在考える不妊症に関連する免疫学的なポイント、タクロリムスの作用点について、先進医療Bの内容を踏まえてお話しする。

## 慢性子宮内膜炎の新しいマーカーに関する研究



### 大科 恭子

順天堂大学医学部  
産婦人科講座  
非常勤助教

### 略 歴

2013年 東京医科大学医学部卒業  
2015年 順天堂大学医学部産婦人科学講座助手  
2020年 国立成育医療研究センター周産期病態研究部共同研究員  
2023年 順天堂大学医学部大学院医学研究科博士課程修了  
順天堂大学医学部産婦人科講座非常勤助教

慢性子宮内膜炎 (CE) は子宮内膜の形質細胞浸潤を伴う子宮内局所の持続的な炎症疾患である。CE は不妊女性、特に反復着床不全や習慣流産の女性に多くみられる。そのため、CE の正確な診断と治療は、その後の不妊治療において妊娠率を向上させ、妊娠までの期間を短縮するために重要である。CE の診断には CD138 免疫組織化学染色が CE 診断のマーカーとして広く用いられているが、CD138 陽性細胞数の基準値は統一されておらず施設間で結果に一貫性がない。さらに CD138 が子宮内膜における感染誘発性炎症のマーカーであるかどうかについては、依然として議論の余地がある。そこで我々は、CE の病態解明と診断マーカーを探索することを目的として、RNA シーケンスを用いて遺伝子発現解析を実施した。

まず不妊女性の CE 患者子宮内膜と非 CE 患者子宮内膜の遺伝子発現プロファイルを比較した。この結果から 12 個の免疫グロブリン関連遺伝子と 8 個の非免疫グロブリン遺伝子が CE 子宮内膜で上昇していることを見出した。同定した遺伝子の中で、Trans-Golgi Network Vesicle Protein 23 Homolog A タンパクをコードする TVP23A のみが CD138 陽性細胞数に関わらず CE 子宮内膜の大部分で発現が上昇していた。この TVP23A の CE 特異的な遺伝子発現様式は、形質細胞の蓄積ではなく、子宮内膜に内在する細胞の病態生理を反映していることを示唆した。

次に CE 子宮内膜組織の RNA シーケンスデータと独自に取得した子宮内膜間質細胞脱落膜化 RNA シーケンスデータを統合的に解析した。層別分析により、各群内で他と著しく異なる遺伝子発現様式を示す少数検体が治療抵抗性 CE 症例と一致することを見出した。子宮内膜の状態は月経周期によって変化するため、検体採取のタイミングを標準化することが理想的であるが、不妊女性は月経不順の問題を抱えていることが

多い。また長期間のホルモン療法を受けていることも多く、検体採取の時期を限定することは困難である。我々の結果は、子宮内膜間質細胞脱落膜化データを用いることで、子宮内膜採取タイミングにばらつきがあっても、疾患病態を反映した遺伝子発現動態を抽出できることを示している。

また近年では CE と子宮内膜ポリープの関係が注目されている。本講演では、この子宮内膜ポリープ合併 CE の RNA シーケンス解析結果に、臨床像や治療転機情報を合わせて紹介する。

## 慢性子宮内膜炎に関する新しい知見



## 木村 文則

奈良県立医科大学  
産婦人科学講座  
教授

## 略 歴

1993年 3月 滋賀医科大学医学部卒業  
4月 滋賀医科大学附属病院研修医  
1995年 6月 滋賀医科大学附属病院および関連病院医員  
1999年10月 滋賀医科大学附属病院助手  
2007年 9月 University of Massachusetts Amherst Postdoctoral fellow  
2008年 9月 University of Massachusetts Amherst Senior research associate  
2010年11月 滋賀医科大学附属病院特任助教  
2011年10月 滋賀医科大学附属病院講師  
2015年 7月 滋賀医科大学産科学婦人科学講座准教授  
2021年 9月 奈良県立医科大学産婦人科学講座教授

慢性子宮内膜炎(CE)は、子宮内膜の慢性的な炎症状態であり、着床障害、不妊症、不育症、子宮内膜ポリープ、および子宮内膜症との関連が指摘されている。近年の研究により、CEの診断法および治療法に関する新しい知見が得られている。本講演では、これらの最新知見を紹介し、CEがどのようにこれらの病態に影響を与えるかについて概説する。

CEの診断は、子宮内膜組織の間質にCD138陽性形質細胞を検出することがゴールドスタンダードであるが、診断基準は統一されていない。この要因は様々考えられるが、患者背景の違いが最も大きく影響すると考えられる。また、子宮鏡検査や細菌の検出による診断も試みられているが、十分なエビデンスは得られていない。

CEは着床障害の主要な原因の一つと考えられているが、European Society of Human Reproduction and Embryologyでは、反復着床障害の患者への検査は「推奨される」ではなく「考慮してもよい」に分類されている。これは、診断と治療がまだ標準化されていないためであると述べられている。最近、CEを形質細胞の密度により軽症と重症に分類する試みがある。軽症CEは体外受精(IVF)の成功率に影響を与えない一方、重症CEは臨床妊娠率や生児獲得率を低下させることが報告されている。

抗菌薬治療がCE患者の着床率を改善することが示されており、治療後の患者の臨床妊娠率が向上することが確認されているが、抗菌薬が無効とする報告もあり、抗菌薬による弊害も懸念されている。

不育症においてCEの罹患率が高いとの報告があり、流産率が高まる可能性が示唆されているが、不育症のリスク因子となるかどうかは今後の検討が必要である。

CEは子宮内膜ポリープの形成および再発に関与していることが示唆されている。CEを認める患者は、認めない患者に比べて子宮内膜ポリープの再発率が高いと

の報告がある。これにより、ポリープの再発を防ぐためには、CEの診断と治療が重要であるとの報告がある。

CEと子宮内膜症の間には相関関係があり、子宮内膜症患者はCEの発症リスクが高いことが示されている。CEは子宮内膜症の病態を悪化させる可能性があり、両者の同時治療が妊孕性や妊娠予後を改善する可能性があるかもしれない。

CEの治療には主に抗菌薬が用いられ、治療後の再検査において改善が報告されている。特に反復着床障害において、抗菌薬治療が効果的であるとの報告がある一方、それを否定する報告も認められる。

CEの診断法や治療法のさらなる改良が期待されており、特に標準化された診断基準の確立が求められている。また、CEと他の子宮内膜疾患との関連を解明する研究が進展することで、不妊症や不育症の予防・治療に寄与することが期待される。

## 抗セントロメア抗体陽性患者における 卵子および胚の特性と臨床成績

野老 美紀子

浅田生殖医療研究所  
主任研究員

略 歴

2010年 4月- 2010年 9月	近畿大学大学院生物理工研究科研究員
2010年10月- 2012年 3月	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター ゲノム・リプログラミング研究チーム研究員
2012年 4月- 現在	浅田レディースクリニック 浅田生殖医療研究所研究員
2012年 6月- 2013年 3月	理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター ゲノム・リプログラミング研究チーム客員研究員
2015年10月- 現在	近畿大学生物理工学部研究員

受精後、正常な胚では、精子由来の雄性前核と卵子由来の雌性前核が1つずつ、合計2つの前核が形成されるが、稀に3つ以上の前核が形成される多前核胚が得られる。ヒトでの多前核胚の形成率は1.5-6.2%程度 (Shibahara et al., 2003, Uzun et al., 2021, Takahashi et al., 2022) であるが、当院で採卵した一部の患者では、この多前核形成率を上回る採卵周期が複数回で認められた。我々はそれらの患者について調べたところ、強皮症や全身性エリテマトーデスといった膠原病の患者が存在することが明らかになった。これらはいずれも女性に多く、全身の血管、皮膚および筋肉などに炎症がみられ、90%以上で抗核抗体 (Anti-nuclear antibody: ANA) が陽性となることが報告されている (Notman et al., 1975, Meyer et al., 2007, Hamaguchi et al., 2018, Cavazzana et al., 2023)。ANAは自己の細胞核を抗原とする抗体の総称であり、これまでに抗DNA抗体、抗ヒストン抗体、抗セントロメア抗体 (Anti-centromere antibody: ACA) など50種類以上が同定されている。特にACAは染色体上のセントロメア領域を特異的に認識する抗体であり、ACA陽性の患者では胚発生や卵子成熟の低下がみられることが報告されている (Shirota et al., 2011, Ying et al., 2013, Ying et al., 2021)。そこで我々は、ACAが多前核形成の原因なのではないかと考え、ACA陽性患者における卵子および胚の特性と臨床成績を明らかにすることを目的に2014年から体外受精および顕微授精によって媒精を行う患者に対して蛍光抗体法によるANA検査を実施してきた。この検査は、核成分に対する自己抗体の有無と抗体価を調べ、染色パターンから核内の対応抗原をある程度まで推定することが可能である。ACAはCentromere型 (Discrete speckled型) という独特の染色パターンを示すため、この検査で区別することができる。ANAの抗体価が

40倍未満の患者をANA陰性 (ANA negative: ANAn)、抗体価が40倍以上かつACAが陽性の患者をACA陽性 (ACA positive: ACAp)、抗体価が40倍以上かつACA以外のANAが陽性の患者をANA陽性 (ANA positive: ANAp) の3つのグループに分類した。これらの3グループについて、卵子成熟、多前核形成、胚発生および妊娠率を比較し、多前核形成にACAが関与しているか検討を行った。本検討は、院内倫理委員会による承認と患者の研究への同意を得たうえで行った。研究の結果、ACApでは他のグループと比較して、多前核の形成率が有意に高く、卵子の成熟率、胚発生率、胚盤胞形成率、そして妊娠率は有意に低いことが明らかになった。これらの結果から、ACAは多前核形成だけでなく、卵子から胚発生まで広く影響を及ぼしていることが示唆された。

本セッションでは、これまでの研究結果を報告し、多前核形成が多くみられる抗セントロメア抗体陽性症例の当院での治療方針などについて紹介したい。

## 高齢不妊への挑戦～現状打破を目指して～



### 川越 雄太

順天堂大学大学院  
医学研究科産婦人科学

#### 略 歴

2009年 岩手大学附属施設寒冷バイオサイエンスセンター研究員  
2010年 秋田大学医学部産婦人科学講座胚培養士  
2012年 聖マリアンナ医科大学病院生殖医療センター主任胚培養士  
2018年 ローズレディースクリニック培養室主任胚培養士  
2020年 国際医療福祉大学医学部産婦人科助教  
2022年 順天堂大学医学部産婦人科特任助教  
順天堂医院リプロダクションセンター胚培養士  
2023年 株式会社アークス医療技術顧問就任

体外受精の成否は、生殖細胞の質に大きく左右される。特に卵子は出生後に増えることはなく、その質の低下が妊娠率に大きく影響する。現代社会では世界的に不妊症患者の高齢化が進行しており、高齢不妊患者では老化に伴う卵子・胚の質の低下によって妊娠率が減少する。現状で卵子・胚の質を改善する方法として考えられるのは、体内の卵子の段階での老化の予防、もしくは採卵後に培養液に何かしらの物質を添加してその質を改善する方法であるが、現在報告されているサプリメントの摂取や投薬、培養液への抗酸化剤などの添加は、その効果が限定的であるかもしくは懐疑的なものが多く、治療法として確立した方法はほとんどない。

種々の細胞は様々なストレスによって細胞老化が誘導される。そのような老化細胞では、細胞周期を不可逆的に停止し炎症性のサイトカイン、ケモカイン、増殖因子、細胞外マトリックス分解酵素などのさまざまな因子を分泌する Senescence-associated secretory phenotype (SASP) という現象が生じることが明らかになっている。SASPが生じるメカニズムは、ミトコンドリアの機能障害や酸化ストレスの蓄積、DNA修復因子の機能低下によるDNA損傷の蓄積などによる慢性的なDNA損傷応答が重要な役割を果たしていると考えられている。SASPによって分泌されるこれらの因子(SASP因子)は、がんの抑制や組織修復など生体に有益な作用を有する。一方で、オートクライン・パラクライン作用によって自身や周囲の細胞に作用し、慢性炎症を惹起し加齢性疾患の発症を促進する負の作用があることも報告されている。SASP因子は一般的な体細胞のみに作用するだけではなく、卵子・胚にも作用し老化に伴う質の低下の原因の一つとなるが、特にSASP因子のうち、炎症性サイトカインである C-X-C motif chemokine 5(CXCL5) が胚の着床率低下の原因となっている。また、マウス胚でそのシグナル

を抑制することで着床率が改善する。ヒトの胚でも、体外培養中に胚自身が分泌するCXCL5を抑制することで、高齢不妊患者の着床率を効果的に改善できる可能性が考えられるため、現在、老化胚の質を改善する培養液の社会実装を目指して開発を行っている。

一方で、マウス胚の培養液中のCXCL5シグナルの抑制を行っても老化胚の流産率は改善しなかったことから、上述した体外での胚の質改善法はEuploidy胚や低頻度モザイク胚などの胚の着床率を改善する治療法となる可能性が高い。高齢不妊患者に頻発するAneuploidy胚や高頻度のモザイク胚に関しては、卵子の段階ですでに染色体が異数性であり、受精後の治療は難しいため、卵巣内の段階で細胞老化を予防する必要があると考えられる。本公演では我々が行っている研究の中から、SASP因子であるCXCL5シグナルの抑制による老化胚の治療方法の確立を中心に、困難症例の一つである高齢不妊の治療成績を向上させるための試みについてお話しさせて頂く。

## レスキュー IVM ～卵子を救う最前線～



### 高野 智枝

医療法人オーク会  
検査部マネージャー

#### 略歴

2010年3月 山形大学農学部生物資源学科卒業  
2012年3月 山形大学大学院農学研究科生物資源学専攻修士課程修了  
2012年 オーク会オーク住吉産婦人科検査部入職  
2014年 生殖補助医療胚培養士取得  
2024年 日本臨床エンブリオロジスト学会代議員

#### 現在

オーク会オーク住吉産婦人科  
オーク梅田レディースクリニック  
オーク銀座レディースクリニック  
臨床検査・生殖補助医療技術セッションマネージャー

ヒトのIVM（体外成熟培養）の歴史は古く1970年代には既に行われていた。臨床応用では1991年には最初のIVM卵による生児が誕生して以降、IVM卵の使用により約5000～6000人の生児が誕生したとされている。しかし、IVMを実施している施設は多くなく、これはIVMの成熟率の低さや小卵胞からの採卵の難しさが要因となっていると考えられる。オーク会では成熟卵子の採取を目的とした採卵周期で得られた未成熟卵子、特に裸化後の未成熟卵子に対して他施設とは異なるレスキューIVMを行っている。レスキューIVMの成熟率は当初50%ほどであったが前処理を行い第一減数分裂中期（MI）卵子で79.9%、卵核胞（GV）期卵子で70.5%まで成熟率を向上させることに成功している。なお、レスキューIVM由来の胚における胚盤胞形成率は16.1%、良好胚盤胞率は2.9%であった。本発表では、レスキューIVMを用いて、妊娠・出産に至った2例の高齢患者症例について詳細を報告する。

**【方法】**月経3日目よりクロミッドおよびHMGにより排卵誘発を行い、セトロタイドを用いて排卵抑制を行った。成熟卵子の獲得を目的としhCG 5000IUをトリガーとし、トリガー35.5時間後に採卵を行った。2～3時間前培養後裸化処理を行い、成熟確認を行った。未成熟卵子に対してレスキューIVMを行うか否か患者と相談の上、希望を確認してレスキューIVMの処理を行った。N6,2'-O-Dibutyryladenine 3',5'-cyclic monophosphate sodium salt (dbcAMP) および3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX) を含む培養液で2時間前培養を行い、FSHおよびhCGを含む成熟用培地でIVMを開始した。翌日から最大翌々日までIVMを継続し成熟の確認は1日3回行った。成熟が確認出来た卵子に顕微授精を施行した。顕微授精には成熟日当日に採取した精子または凍結精子を用いた。顕微授精翌日に受精の確認を行い、3日目で凍結基準を満たす胚をガラス化法で凍結した。

採卵周期の次周期以降でホルモン補充による凍結融解胚移植を行い、レスキューIVM由来の胚を移植した。

妊娠判定は血液検査で行った。

#### 【症例1】

患者概要：

- ・採卵時年齢：40歳
- ・背景：37歳で結婚し、40歳時挙児希望にて当院受診
- ・既往歴：なし
- ・IVF履歴：他院にてAIH5周期、採卵6周期、移植2周期
- ・レスキューIVM施行時の採卵数：2個
- ・レスキューIVM施行時の未成熟卵子数：1個

採卵周期に得られたGV期卵子1個に対してレスキューIVMを行い、翌日朝に成熟卵に達した為、顕微授精を行った。顕微授精翌日に2PNを確認し、day3に8分割グレード3の胚を凍結保存した。融解胚移植周期にて該当の胚を移植し妊娠、出産に至った。

#### 【症例2】

患者概要：

- ・採卵時年齢：44歳
- ・背景35歳で結婚し、43歳時挙児希望にて当院受診
- ・既往歴：なし
- ・IVF履歴：なし
- ・レスキューIVM施行時の採卵数：3個
- ・レスキューIVM施行時の未成熟卵子数：2個

このケースでも、採卵周期に得られたGV期卵子2個に対してレスキューIVMを行い、翌日朝に成熟卵に達した為、顕微授精を行った。顕微授精翌日に1つの胚で2PNを確認し、day3に9分割グレード3の胚を凍結保存した。融解胚移植周期にて該当の胚を移植し妊娠、出産に至った。

これらの症例のように採卵数の少ない高齢患者において、レスキューIVMで1つでも多くの卵子を顕微授精に供することで妊娠の機会が増えるものと考えられる。また、高齢患者に限らず、低AMH患者、PCO患者はもちろん未成熟卵子が多い症例に対してもレスキューIVMは有用であると考えられる。

# 顆粒球マクロファージ刺激因子による 形態不良胚盤胞の活性化



## 小林 達也

藤田医科大学  
医療科学部准教授

### 略 歴

2019年

2011年4月～2023年6月

2016年～現在

2023年7月～2024年3月

2023年7月～現在

2024年3月～現在

千葉大学大学院医学研究院先端医学薬学専攻修了 博士(医学)

千葉大学医学部附属病院婦人科 培養室長

高橋ウイメンズクリニック非常勤職員

千葉大学大学院医学研究院生殖医学講座特任助教

藤田医科大学医療科学部研究推進ユニット レギュラトリーサイ

エンス分野准教授, 東京先端医療研究センター リプロダクシ

ンセンター培養室長

千葉大学大学院医学研究院病原細菌制御学特任助教

本邦で実施される年間約24万周期の胚移植のうち、約21万周期が凍結融解胚移植であり、さらにその大部分が凍結融解胚盤胞移植となっている。胚盤胞移植あたりの妊娠率は30-60%程度であり、妊娠率が高いとされる形態良好胚を移植しても必ずしも妊娠に至るわけではない。特にGardner分類で形態が不良な胚では、正倍数性の胚であったとしても、妊娠率が低下してしまうことは周知の事実であり、疑う余地がない。現在では、着床率の改善のためにアシステッドハッチングやヒアルロン酸含有培養液などのadd-on治療が臨床に導入されているが、質の悪い胚盤胞に対する有用性に関する報告は少ない。このような胚盤胞をいかに着床させ、移植あたりの妊娠率を向上させるかは今後もARTの重要な課題の一つである。

生体内で分泌される生理活性物質を胚培養液に添加するという戦略は「より自然に近い環境で胚を培養するのがベストである」というコンセプトのもと、古くから研究が行われてきた。今回我々が紹介する顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)は、ヒトや他の哺乳動物の卵管や子宮内膜の上皮細胞より、エストロゲン依存的に分泌される成長因子(サイトカイン)であり、*in vitro*でヒト胚盤胞の発生率を向上させることが知られている。さらに、ヒト胎盤も大量のGM-CSFを合成して、胎盤の合胞体栄養芽層の増殖と分化を促進している。また、GM-CSFノックアウトマウスは胎盤の異常による子宮内胎児死亡により産仔数が減少することが報告されている。これらの報告は、GM-CSFが哺乳類の生殖に重要なサイトカインであることを強く示唆している。GM-CSFの胚培養液への添加についての最も有名な報告はSoren Ziebeらの多施設共同研究である(Fertil steril, 2013)。Ziebeらは、GM-CSF含有培養液により初期胚の培養を行うことで、生化学妊娠が減少し、臨床妊娠率

が上昇することを報告している。

我々は凍結融解胚盤胞移植周期の後方視的解析を行い、GM-CSF含有培養液を融解後の回復培養時の数時間のみ使用することで、非GM-CSF含有培養液を使用した場合と比較して、着床率が約15%、生産率が約10%向上することを見出した(Okabe et al., JARG, 2022)。サブグループ解析の結果、この着床率改善効果はGardner分類でCがついてしまう形態不良胚で顕著であることが明らかとなった。また、*in vitro*でのattachment assayの結果においても、GM-CSF含有培養液は凍結融解胚盤胞のfibronectin-coat dishへの接着能を向上させること、すなわち着床を上昇させることを明らかにした。従って、GM-CSFはこれまで難しいと考えられていた「形態不良胚盤胞の活性化」を実現する、新規の移植戦略になる可能性がある。

現在、後方視的な観察研究であった先行研究の限界を克服するための他施設共同ランダム化比較試験(RCT)を計画中である。本講演では、GM-CSFによる胚盤胞の活性化に関する我々の知見と、計画中のRCTについて紹介したい。

## 40歳以上の体外受精におけるラボからのアプローチ



### 服部 裕充

京野アートクリニック  
仙台 / 高輪 / 盛岡 / 品川  
培養部部長

### 略歴

北海道出身  
2007年 弘前大学医学部保健学科 検査技術科学専攻卒業  
京野アートクリニック仙台入職  
2017年 京野アートクリニック仙台培養部主任  
2020年 東北大学大学院医学系研究科医科学専攻博士課程修了(指導教官 有馬隆博教授)  
2022年 京野アートクリニック仙台 / 高輪 / 盛岡 / 品川培養部部長

### 役職・資格

臨床検査技師免許, 医学博士, 生殖補助医療管理胚培養士  
日本臨床エンブリオロジスト学会理事, 日本卵子学会代議員  
北里大学獣医学部 非常勤講師

不妊治療の保険診療化に伴い、経済的な負担軽減によりARTを受けることへのハードルが下がったことで、多くの不妊治療施設において若年層を含む受診患者の増加が認められた。若年患者では、1回の体外受精で複数個の良好胚を得て、1回の胚移植で妊娠、出産につながることから、保険で認められた技術で良好な成績を得られる症例が多い。一方で、40歳以上の患者については、保険診療における「胚移植回数3回まで」の限られた規定の中で、いかに良好な胚を移植して妊娠を得るかが課題となっており、良好胚が得られるまで採卵を繰り返す症例もめずらしくない。また、2個胚移植の割合も保険診療化以降に増加していることが予想される。

当ラボでは、高齢症例に対する取り組みとして、①低乳酸濃度シングルステップ培養液の有用性、②2.1PN胚利用の可能性、③人工知能(AI)による胚評価の有用性について検討を行ってきた。①低乳酸濃度培養液は過剰な乳酸蓄積による胚への代謝ストレスを防ぐことを目的に開発された培養液(CSCM-NX, 富士フイルム和光純薬)である。高齢症例の胚では代謝ストレスの影響を受けやすいと危惧されることから、低乳酸濃度の培養液を使うことで、胚発育を阻害するストレスを軽減し、特に胚盤胞発生率の上昇や胚利用率を向上させられる結果が得られている。②受精確認時に2個の雌雄前核にプラスして極小の前核が認められる胚は2.1PNと呼ばれており、3PNと同様に三倍体のリスクを有することから、廃棄されることが多い。2.1PNは女性年齢が高くなると出現率が上昇することがわかってきているが、胚の有用性については明らかとなっていない。最近、NGSにおける異数性解析に一塩基多様性(SNV)を用いた倍数性解析を併用する手法により、2.1PNの倍数性の特徴が明らかとなったので報告する。③タイムラプスインキュベーター

で得られた胚画像データに基づき、AIがその着床能を予測するシステムの開発がここ数年で急激な進展を見せており、多数の論文が掲載されている。当ラボではEmbryoScope+ (Vitrolife社)に搭載されているiDAScoreを活用しているが、昨年、大幅なアップデートが実施され、v2.0 modelが利用可能となった。v2.0ではこれまでのv1.0と比較して、よりの確により容易に妊娠の可能性が高い胚の選択が可能となった。また、初期胚におけるスコアリングが胚盤胞到達予測に有用である可能性も示唆されている。

本講演では、保険診療下で治療周期数が増えている40歳以上の症例に対する当院での取り組みを紹介するとともに、ラボからのアプローチについて議論したいと考えている。

## 子宮内PRP投与による脱落膜化への影響



### 廣田 泰

東京大学医学部産婦人科  
教授

#### 略 歴

1998年 東京大学医学部医学科卒業，東京大学医学部産婦人科および連携病院で研修  
2005年 東京大学大学院医学系研究科卒業，医学博士取得  
2007年 米国留学(バンダービルト大学およびシンシナティ小児病院)  
2010年 焼津市立総合病院産婦人科医長  
2011年 JST さきがけ専任研究員  
2014年 東京大学医学部附属病院女性診療科・産科助教，同講師  
2020年 東京大学大学院医学系研究科産婦人科学講座准教授  
2023年 東京大学大学院医学系研究科産婦人科学講座教授，現在に至る  
資格等：日本産科婦人科学会・代議員・産婦人科専門医・指導医，日本生殖医学会・常任理事・  
生殖医療専門医・指導医，日本生殖内分泌学会・常務理事，日本内分泌学会・評議員・  
内分泌代謝科専門医・指導医，日本産科婦人科内視鏡学会・評議員・腹腔鏡技術  
認定医

近年の諸家による臨床研究により，反復胚移植不成功で定義される着床不全患者に対する子宮内多血小板血漿 (PRP) 療法が着床成立に有効であることが示されている。一方で，子宮内PRP投与が着床過程に及ぼす影響や着床不全を改善させる生物学的機序は十分わかっておらず，着床の過程で起こる脱落膜化という子宮内膜の形態・機能変化に対して子宮内PRP投与が及ぼす作用は明らかになっていない。本研究では子宮内PRP投与が脱落膜化に与える影響とその分子生物学的機序を明らかにすることを目的として，脱落膜化のマウスモデルを用いて脱落膜化を解析した。ヒトPRPあるいはマウスPRPをマウス子宮内に投与したところ，いずれも脱落膜化が認められた。PRPに脱落膜化を誘導する作用があることが判明した。次に，既知の脱落膜化調節因子であるリゾホスファチジン酸受容体 LPAR3 とプロスタグランジン合成酵素 COX2 に着目した。ヒトPRPをマウス子宮内に投与する脱落膜化マウスモデルを用いて，LPAR3欠損マウスを用いた場合とCOX2阻害剤前処置を行った場合において脱落膜化を評価したところ，いずれの場合もマウス脱落膜化が減弱した。PRPの脱落膜化作用はLPAR3とCOX2を介していることが示された。さらに，PRPの脱落膜化誘導作用における血小板の役割を検討した。ヒトPRPの代わりにヒト乏血小板血漿を用いると脱落膜化が減弱した。PRPの脱落膜化誘導作用にはPRPに含まれる血小板の存在が貢献していることが示された。本研究により，子宮内PRP療法における子宮内膜の脱落膜化を介した作用機序の存在が明らかとなった。

## PRPによる着床のメカニズムを探る： PRP 添加によるヒト子宮内膜遺伝子解析



黒田 恵司  
杉山産婦人科丸の内  
院長

### 略 歴

2001年 順天堂大学医学部卒業, 順天堂大学産婦人科学講座臨床研修医  
2003年 産科婦人科 館出張 佐藤病院  
2004年 東京女子医科大学第二生理学教室 体外受精・卵活性化について研究  
2007年 順天堂大学院医学博士課程学位授与, 産婦人科学講座助教  
2010年 Imperial College London Hammersmith Campus 子宮内膜脱落膜化について研究  
2011年 University of Warwick 原因不明不妊症, 着床について研究  
2013年 順天堂大学産科婦人科学講座准教授  
2018年 杉山産婦人科新宿難治性不妊症診療部長 内視鏡診療部長  
2023年 杉山産婦人科丸の内院長 現在に至る  
専門医: 産科婦人科専門医, 生殖医専門医  
認定医: 産科婦人科内視鏡技術認定医(腹腔鏡, 子宮鏡), 不妊症認定医  
著書: データから考える不妊症・不妊症治療, メジカルビュー社, Treatment Strategy for Unexplained Infertility and Recurrent Miscarriage, Springer社など

【目的】 子宮内膜が菲薄化した不妊女性に対する, 多血小板血漿 (platelet-rich plasma; PRP) を子宮内に注入し, 胚移植を行い妊娠した症例が多数報告されている。PRPに含まれる成長因子が子宮内膜の再生に寄与していることが考えられるが, その作用機序は明らかではなかった。今回, ヒト子宮内膜におけるPRPの作用機序を解明することを目的に研究を行った。

【方法】 本研究は順天堂大学および杉山産婦人科の倫理委員会の承認を得て行った。着床不全の既往のある不妊女性より書面での了承を得た後に, 黄体期に子宮内膜を採取し子宮内膜間質細胞 (human endometrial stromal cells: HESCs) を *in vitro* に培養した。同時に血液を採取し輸血パックに冷蔵保存した。培養したHESCsは, 4つのディッシュへ継代し十分に発育後に一部スクラッチを行った。4つのうち2つはスクラッチ1日後と3日後にPRPを添加し, 残り2つはPRPを添加しなかった。その後, PRP添加と非添加1つずつをcAMP+プロゲステロンを添加し5日間脱落膜化させ, 残りの2つの内膜細胞は脱落膜化させずに回収し, 分子解析を行った。内膜細胞および脱落膜細胞それぞれにおいて, PRP添加と非添加を比較し解析を行った。

【成績】 細胞移動アッセイで, PRP非添加群と比較してPRP添加群のHESCsは, スクラッチ後のスペースに有意な細胞増殖を認めた。PRPはマイクロアレイ解析で, PRP添加により内膜細胞と脱落膜細胞それぞれで, 381と63遺伝子が検出された。PRPは, 内膜細胞において細胞増殖, 組織再生, 炎症反応, 抗菌作用に関わる遺伝子の発現を増加させ, 一方脱落膜細胞においてPI3Kシグナリングの発現抑制を通して細胞増殖やTh1細胞などの炎症作用に関わる遺伝子が抑制されていた。

【結論】 子宮内膜は増殖期に肥厚するが, 分泌期は脱落膜化により細胞増殖が抑えられる。PRPは脱落膜化前後で細胞増殖や炎症反応を至適に制御することで, 子宮内膜を肥厚し着床時期の胚に対する受容性と免疫寛容を向上させる可能性が示唆された。

# 産婦人科 PRP 研究会のレジストリ解析による PRP 有効性の評価



## 鈴木 聡史

山王病院リプロダクション  
婦人科内視鏡治療センター

## 略 歴

2006年3月 東京大学経済学部卒業  
2013年3月 日本大学医学部卒業  
4月 慶應義塾大学病院初期研修医  
2015年4月 平塚市民病院産婦人科  
2020年4月 山王病院リプロダクション・婦人科内視鏡治療センター

着床障害に対するPRP子宮内投与の有効性は様々な論文で報告されているが、今回我々が山王病院で行ったPRPに関する3つの臨床研究に関して発表する。**【研究1】**最大子宮内膜厚7mm未満の内膜菲薄患者へPRP子宮内投与をおこなったときの、内膜厚の増加効果と妊娠成績について検討した前向き単群自己対照比較試験である。凍結胚移植予定の患者36人を対象にエストロゲン補充を2周期行い、第2周期のDay10とDay12にPRPを投与しDay14の内膜厚を第1周期と比較した。第1周期から第2周期にかけてDay14の子宮内膜厚は盲検化されていない測定値では5.98mmから7.25mmと増加し( $P < 0.001$ )、盲検化された測定値でも6.04mmから6.76mmと増加した( $P < 0.001$ )。36人の患者のうち、32人(88.9%)がPRP投与後の適切な時期からプロゲステロンを投与し凍結胚移植を受けた。臨床妊娠率は15.6%であった。

**【研究2】**PRP投与後子宮内膜厚が増加した症例と増加しなかった症例で妊娠成績に差があるかどうかを検証した。産婦人科PRP研究会の症例レジストリを解析した後方視的コホート研究であり、過去の最大子宮内膜厚が8mm未満で、PRP投与後に単一胚盤胞移植を行った患者208名を対象とした。まず同群208名の内膜厚と妊娠成績を、ヒストリカルコントロールと比較した結果、内膜厚は6.3mmから7.1mmに増加し( $P < 0.01$ )、臨床妊娠率(34.1 vs 20.0%,  $P < 0.01$ )、生産率(22.6 vs 3.9%,  $P < 0.01$ )、流産率(33.8 vs 73.4%,  $P < 0.01$ )といずれも有意に改善した。次に同群を、PRP投与後に子宮内膜が増加した136名の群と増加しなかった72名の群に分け比較した結果、臨床妊娠率(36.0 vs 30.5%,  $P = 0.43$ )、生産率(25.7 vs 16.7%,  $P = 0.11$ )、流産率(28.5 vs 45.4%,  $P = 0.16$ )となり、数値的には内膜増加群が優っているものの2群間に統計的有意差は認めなかった。さらに胚性交絡因

子を除くため、同群からPGT-A正常胚の単一胚盤胞移植をおこなった28名を抽出し、PRP投与後内膜厚増加群22名と非増加群6名に分け、成績を比較した。臨床妊娠率(36.4 vs 50%,  $P = 0.30$ )、生産率(36.4 vs 50%,  $P = 0.30$ )、流産率(0 vs 0%)であり、2群間に統計的有意差を認めなかった。

**【研究3】**PRPが初期子宮体癌あるいは子宮内膜異型増殖症患者の子宮内膜搔爬術後の菲薄内膜の再生を促し、妊娠率を改善させるかどうかを検証した。前述の症例レジストリのサブグループを解析した後方視的コホート研究である。全面搔爬術(total curettage)既往のある患者35名を対象群として稽留流産等で流産手術(D&E, D&C)既往の105名を抽出し比較した結果、全面搔爬術既往群は過去の最大子宮内膜厚7.2mmから7.7mmと増加した( $P = 0.39$ )。流産手術既往群は7.4mmから8.0mmへと増加した( $P = 0.07$ )。妊娠成績は、全面搔爬術既往群において、臨床妊娠率、生産率、流産率すべてにおいて流産手術既往群より劣っていた(それぞれ14.3 vs 29.5%  $P = 0.07$ , 5.7 vs 22.9%  $P < 0.01$ , 60 vs 22.6%  $P = 0.08$ )。原因としては、繰り返される全面搔爬により子宮内膜の間質細胞や幹細胞が物理的に損傷している可能性のほか、がん細胞や異型細胞が発生した内膜は再生能や胚受容能が低下している可能性が考えられた。

PRP療法は子宮内膜厚を増加させ、妊娠率を向上させるほか、子宮内膜炎を抑え、胚と内膜のクロストークを改善させるなど着床環境を改善する分子化学的機序も存在する可能性がある。しかし一定以上の損傷を受けた内膜や癌の影響を受けた内膜は再生力や妊孕力が向上しない可能性がある。内膜菲薄の原因となる子宮内操作手術時は内膜保護を目的とした愛護的操作、例えば搔爬ではなく吸引法、あるいは子宮鏡下手術では電気メスではなく非通電式シェーバーを用いるなどの工夫が重要である。

## 当院における PFC-FD 療法を用いた胚移植術の成績



### 中島 章<sup>1)</sup>

徳永 義光<sup>2)</sup>

1) 空の森 KYUSHU 院長

2) 空の森クリニック

### 略 歴

2003年 鹿児島大学医学部医学科卒業  
2003年 久留米大学産婦人科学教室  
2005年 国立小倉病院産婦人科  
2007年 国立成育医療センター不妊診療科  
2011年 蔵本ウイメンズクリニック  
2013年 ALBA OKINAWA CLINIC  
2014年 空の森クリニック  
2022年 空の森KYUSHU 院長  
資格  
医学博士  
日本産科婦人科学会 産婦人科専門医  
日本生殖医学会 生殖医療専門医

【緒言】着床障害という診断は非常に曖昧な定義であり、明確な基準があるわけではないが、反復して妊娠しない症例において多く見られる原因の一つが7mm以下と菲薄した子宮内膜であり、治療に難渋し保険診療範囲での診療では限界を感じざるを得ない。近年、多血小板血漿 (PRP) の子宮内投与が、子宮内膜を厚くし、胚移植後の妊娠率に有効であると示す論文が多数発表され、注目されている。一方でこのPRPを応用し、血小板の活性化により、血小板顆粒からVEGF, EGF, TGF, IGF, PDGFなどの抗炎症、組織修復に関わる因子を抽出し、血小板を除去してフリーズドライ化したPFC-FDがセルソース株式会社への委託により使用可能となった。再生医療法の対象外であることから導入しやすく、複数の医療分野に応用され始め、生殖医療領域においては、PRP療法と同様に子宮内腔・卵巣内への注入が報告されている。保険ARTの導入から2年が経過し、保険外診療を必要とする症例が増え、PFC-FDの使用も徐々に増えてきた。本会では、現在実施しているPFC-FDの子宮内への投与方法および、これまでの臨床成績について紹介する。

【対象】内膜菲薄症例 (<7mm) で移植中止、または移植したが着床不成功、内膜厚は良好 (≥7mm) だが、良好胚盤胞移植が反復して不成功の症例

【方法】文書による同意を得て49mlの採血を実施、移送してPFC-FDを作成。注入および移植日程の調整はホルモン補充周期とし、エストロゲン製剤投与開始から10日目頃とその2日後にそれぞれPFC-FDを注入。実施時には内膜厚および子宮動脈血流 (Resistance Index: RI) を測定し、子宮の向き、卵胞発育の有無を確認。強前屈の症例では膀胱充滿しておく。子宮内腔の広さに応じて0.6-0.8mlの生理食塩水で1瓶のPFC-FDを溶解。腔内を生食で洗浄

し、KITAZATO IUIカテーテル (先端が丸い形状) のカテ先を内子宮口まで挿入して子宮内に散布。カテはその位置から動かさずに30秒待ち、ゆっくりと腔鏡と同時に抜去。仰臥位で10分程安静にして帰宅。その2日後の朝に再来し、超音波計測後に黄体ホルモンを開始する。

【成績】当法人でのPFC-FD注入後の成績を示す (保険診療開始前に実施した26周期/23症例)。平均内膜厚は6.4mmから7.4mmと改善した。平均RIは右0.89、左0.91から右0.82、左0.82へと低下した。胚盤胞移植での妊反陽性は9周期 (34.6%)、臨床的妊娠は7周期 (26.9%)、妊娠継続は3周期 (11.5%)。その後の別治療周期 (3-6ヶ月後) で3例が妊娠、1例が自然妊娠 (3ヶ月後) し、累積52.2% (12/23) で妊反陽性、43.5% (10/23) で臨床的妊娠、26.1% (6/23) で妊娠継続した。

内膜厚は1mm程度の改善であり、劇的な変化とは言い難いが、内膜のリモデリングや抗炎症作用が影響し、着床機構を改善した可能性が考えられる。一方で本治療においては、まだ十分な基礎研究が必要と考えられる。

## PFC-FD 子宮内投与 高齢症例に対して当院の工夫



### 両角 和人

両角レディースクリニック  
院長

#### 略 歴

1998年 4月 福島県立医科大学産婦人科学講座入局  
10月 板橋中央総合病院産婦人科医員  
2001年10月 福島県立医科大学産婦人科学講座医員  
2004年 9月 ハワイ大学医学部生殖生物学研究所留学  
2007年 1月 福島県立医科大学産婦人科学講座助教  
2008年 6月 山王病院リプロダクションセンター  
国際医療福祉大学大学院講師  
2012年 7月 両角レディースクリニック院長

着床不全や子宮内膜が菲薄化している症例に対して効果的な根拠がある治療法がない現状で自己血小板由来成分濃縮物（以下PFC-FD）を用いた治療は安全かつ即効性がある治療法として近年期待されている。特に常温で6ヶ月間の保管が可能でありまた最大6本に分けて作成ができるため使用する際の本数も症例により調整が出来、利便性や対比用効果が高いと考えられる。

ただその一方大規模なRCTが未だ出ておらず施設毎に方法が統一されていないという問題がある。そして効果があるケースも定かではなく、最適な投与のタイミングも手探り状態というのが実際のところである。

当院は東京都中央区銀座にあり体外受精の治療患者がかなり高齢であり卵巣機能の低下や子宮内膜の菲薄化が顕著なケースが多く見られる為PFC-FDに対しての希望者が多く2021年12月から卵巣内及び子宮内投与を臨床に実施している。

子宮内投与対象者は原則として反復不成功症例または前周期移植時の子宮内膜が8ミリ未満の方に対して行っている。今回当院の3年弱における子宮内投与をまとめたため具体的な投与方法を当院の工夫と共に供覧したい。

投与方法は移植周期10日目前後で内膜を計測し12日目前後及び15日目前後にPFC-FDを子宮内へ投与した。移植胚は3日目胚または胚盤胞とした。投与回数は1回または2回とした。注入量は1バイアルから3バイアルとし生食0.5mlで溶解した。

今回年齢によるPFC-FDの妊娠への効果及び内膜への効果を検討した。

全症例126名223周期（平均年齢46.1歳）を年齢で以下の2群に分けて検討した。

A群 43歳以上106名199周期（平均年齢46.7歳）

B群 43歳未満20名24周期（平均年齢40.6歳）

結果は以下の通りとなった。妊娠例は全て注入周

期の結果とした。

A群 199周期中10名が妊娠し3名が出産し7名が流産となった。

（A群のPFC-FD注入時の平均内膜厚8.72mm 平均移植時の内膜厚9.14mm）

B群 24周期中7名が妊娠し4名が出産し2名が妊娠継続中で1名が流産となった。

（B群のPFC-FD注入時の平均内膜厚7.76mm 平均移植時の内膜厚8.54mm）

43歳未満に対しては効果が認められたため推奨できる治療法と考えられる。ただ43歳以上に対しては胚の異数性の問題があるためPFC-FDの効果が限定的となるもののある程度効果が認められたため反復不成功例に対してトライしてみる価値はあると考えられる。

なお今回の検討とは異なるが当院では良好胚が得られない高齢の難治症例に対してPFC-FDの卵巣内投与も行なっているため当院の工夫とデータ（64名210周期）も併せて示したい。平均年齢が45.7歳であり結果はかなり厳しいものの卵巣内投与後良好胚が増えており今後の課題として注入回数や濃度や注入部位や注入間隔などを改善の余地があると考えられるため工夫を踏まえ紹介したい。

またPFC-FD卵巣内投与を行い採卵し移植の際にPFC-FD子宮内投与を行い49歳で出産に至った貴重な症例も併せて紹介したい。

最後に今回全症例自費で体外受精の治療をしている方が対象であるが43歳未満で保険診療中の方も同様な症例がいてFC-FDを用いる事で結果を出せる症例がいると考えられるが、現在保険診療との併用ができないため今後先進医療としてPFC-FDが使用できることを期待したい。また当院の高齢症例への投与結果が他施設の治療法の参考になれば幸いと考える。

# ICMART Preliminary World Report 2020 の概況について



## 左 勝則

自治医科大学附属病院  
産科婦人科准教授

### 略 歴

2006年 千葉大学医学部医学科卒業  
2008年 東京都立広尾病院(初期臨床研修了)  
2011年 国立成育医療センター周産期診療部(産婦人科後期研修了)  
2012年 ジョンス・ホプキンス大学公衆衛生大学院留学(公衆衛生修士号取得)  
2013年 国立成育医療研究センター周産期・母性診療センター不妊診療科  
2014年 千葉大学大学院博士課程(公衆衛生学)修了  
2015年 空の森クリニック常勤医師  
2017年 埼玉医科大学産科婦人科学助教  
2018年 埼玉医科大学産科婦人科学講師  
2021年 埼玉医科大学産科婦人科学准教授  
2023年 自治医科大学産科婦人科准教授

International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) は1989年に設立されたInternational Working Group of Registers on Assisted Reproductionを母体として2001年に組織され、毎年世界における生殖補助医療(ART)の実施状況を報告している。ICMARTの報告から、世界中で現在までに少なくとも1200万人の児がARTにより誕生していると推計されている。ICMARTは設立以来継続的にARTの利用率、有効性、安全性をモニターし、国際的な登録システムの開発を支援してきた。

データの収集方法は国や地域により様々である。前向きに周期情報を収集している国もあれば、集計された情報として収集している国もある。European IVF Monitoring Consortium (EIM), Latin American Network of Assisted Reproduction (REDLARA), Australian/New Zealand Registry, African Network and Registry for ART (ANARA) は地域データをまとめて提出し、日本などその他の国々は所定のフォーマットを用いて国内データを提出している。また登録システムが存在しない国では、少数の診療所レベルのデータの提供にとどまる。提出されたデータは、オーストラリアのニューサウスウェールズ大学においてクリーニングされ、毎年概況をPreliminary World Reportとして公表している。本発表では、European Society of Human Reproduction and Embryology 2024で発表された2020年のWorld Reportの概況を解説する。

世界で行われるARTの治療周期数は増加し続けているが、人口あたりの利用率は国や地域によって大きく異なる。現在では中国が90万周期を超え、日本も50万周期近く報告しており、アジア全体で世界の周期数の約半分を報告している。治療を受けた女性の年齢、移植した胚の個数、出生率、多胎率、顕微授

精や凍結融解胚移植数は、地域や国による差を認めている。さらに新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は多くの国でARTの利用を減少させた。

収集されたデータは、世界全体の治療周期の80%以上を占めると推計され、世界のARTの実施状況を把握するために有用であると考えられる。しかし、データが限られている国や、データの妥当性の検証が十分とはいえない国も少なからず存在する。ICMARTは提出されたデータの検証も行っているが、最小限にとどまる。さらに用語の定義には各国のコンセンサスが必要不可欠であるため、用語集(glossary)を定期的な作成・アップデートし、多言語への翻訳も行っている。

このようにして集計されたデータは、世界各国・各地域のARTの実施状況およびその傾向を把握し、比較を可能にするため、ARTの質を向上させる。ARTに対する理解が深まることで、社会的受容が高まり、ARTへのアクセスの向上とさらなる研究への支持が高まるものと考えられる。

# 当院でのタイムラプス導入前後の効果とAI 胚評価システム活用事例



大久保 毅  
新橋夢クリニック  
培養部長

略 歴  
1997年 明治薬科大学薬学部卒業  
加藤レディスクリニック入社  
2002年 金沢たまごクリニック培養室長  
2007年 新橋夢クリニック培養室主任  
2014年 千葉大学大学院医学部医学研究院生殖医学講座卒業  
2016年 Natural ART Clinic 日本橋部長  
2019年 新橋夢クリニック培養室部長、現在に至る

体外受精 (IVF) において、複数の胚を凍結可能であった際に妊娠の可能性が高い良好胚を選択することがIVFの保険診療適応に伴う移植回数制限の観点からも今まで以上に重要となっている。また精度の高い良好胚選択は、妊娠に至るまでの期間を短縮し、費用効果の点においても患者にとって有益であろう。

従来の定点観察による胚の評価法では、静止画像に基づく培養士の主観または各施設での評価基準に沿った胚評価が主流であった。例えば当院の例をとると、胚の発育スピード、胚盤胞径、胚の内細胞塊 (ICM) や栄養外胚葉細胞 (TE) の状態などを考慮したガードナー分類に基づく評価により移植胚の優先順位を選択していたものの、培養士の主観はもちろん経験値による個人差も含まれることが否定できず、評価の一貫性や精度に限界があった。

しかし、近年ではIVFの領域においてもディープラーニング (深層学習) モデルを用いた胚評価の導入が進んできている。特に、タイムラプスインキュベーターによる胚培養から得られた膨大な画像データを基にしたAI技術が注目されている。これにより、胚の自動スコアリングが可能となり、客観的で一貫性のある評価が実現されている。

当院では、iDAScore (vitrolife) という深層学習モデルに基づく胚評価指標を導入し、従来の手動評価と比較あるいは併用を行い臨床に活用してきており、このような深層学習モデルの導入によって以下のような利点が得られると考える。

1. 妊娠予測精度の向上: タイムラプス画像データから複雑なパターンを分析して着床および出産可能胚の予測精度が向上
2. 自動化による負担軽減: 完全自動評価プロセスにより培養士が行っていた手動評価の必要性が減少し主観的な評価が可能

3. 時間的分析: 胚の発育過程における変化を追跡し重要な形態運動学的パターンに関する洞察が得られる
4. 個別化: 将来的には、個々の患者の特性を組み込むことで、より個別化された胚選択戦略が得られる可能性
5. 意思決定の強化: 高信頼性の予測により、医師と培養士がより納得できる情報に基づいた意思決定を行える

このように、iDAScore等のAIを用いた胚評価は、従来の評価方法に比べて一貫性と精度を高め、妊娠の成功率を予測するうえで有用な判断基準となり得る可能性がある。

現状ではAIによるスコアリングは良好胚を選択する際の補助ツールであると考え、さらなるビッグデータの蓄積により、非侵襲的な胚異数性の予測も可能となるかも知れない。

そのような背景も含めて、2023年度にはiDAScoreは従来のversion 1に比べてより高い精度の妊娠予測能を目指したアップデート版であるversion 2がリリースされた。

本講演ではタイムラプスを用いた胚培養を導入した前後における変化を報告する。またiDAScoreの活用事例と臨床成績における評価を考察し、新旧ヴァージョンの妊娠予測能についての比較検討を行った。

将来的にAIによる胚評価をどのように活用するか、また皆様の施設における臨床成績や活用法などを参考にしながら本セッションを通して積極的に議論したいと考える。

## AI 胚評価システムの臨床導入と有用性について



### 佐藤 学

IVF なんばクリニック /  
HORAC グランフロント大阪  
クリニック  
生殖技術部門技師長

### 略 歴

2003年 弘前大学大学院農学研究科修士(農学)  
IVF 大阪クリニック入職  
2008年 IVF なんばクリニック勤務  
2009年 近畿大学大学院生物理工学部研究科修士(工学)  
2020年 HORAC グランフロント大阪クリニック兼務  
現在 IVF なんばクリニック/HORAC グランフロント大阪クリニック生殖技術部門技師長

胚評価は胚培養士の業務の中でも個人差が生じやすく、主観的になりがちな作業である。評価方法や重視する点は多様で、教育にも相当な時間を要する。観察方法についても、静止画像による一時的評価とタイムラプスによる経時的評価のどちらが優れているかは議論の余地がある。

タイムラプス観察で得られる膨大な情報を全て確認することは業務上困難であり、評価ポイントを絞る必要がある。当院では独自に、第一と第二卵割が正常な胚を最良好として分割期胚評価を行ってきた。一方、胚盤胞評価では Gardner 分類などの形態学的評価が主流であった。

この状況を改善するため、2024 年から iDAScore version 2.0 (Vitrolife) を臨床導入した。これにより、分割期から胚盤胞期までの総合的かつ客観的な評価を目指している。従来のタイムラプスデータを加味した当院独自評価から、iDAScore を第一基準とする評価へ移行し、移植胚選択に活用している。

本セミナーでは、iDAScore と従来評価との関係性、臨床成績との相関など、AI 胚評価システムの有用性について紹介する。

## Shortening Time to pregnancy のための 包括的アプローチ



京野 廣一

京野アートクリニック高輪  
理事長

略 歴

1978年福島県立医科大学卒業、東北大学産科婦人科学教室入局。1983年体外受精の妊娠出産に成功(東北大学)。1995年個人開業。1997年ISIVF・2000年ESHRE・2001年ASRM発表。2001年凍結卵子(緩慢凍結)・TESE(KS)・2002年IVM、2004年凍結卵子(ガラス化法)による出産。2007年仙台、2012年東京(高輪)、2019年盛岡にクリニック開院。2009年第12回日本IVF学会開催(仙台市)。2009年World Congress on Fertility Preservation(ブラッセル)で発表。2012年ALL患者、凍結卵子で1人目出産(2019年2人目出産)。2012年JISARTシンポジウム開催(仙台市)。2014年Mayo Clinic訪問。2016年日本卵巣組織凍結保存センター(HOPE)を設立(東京)。2017年ボランティアによる提供卵子で出産(JISART)。2017年ERA、2018年子宮内フローラ発表。一般社団法人卵巣組織凍結を普及する会を設立(東京)。東北ART研究会代表世話人。日本卵子学会功労会員、日本生殖医学会功労会員。

“Shortening time to pregnancy”は不妊治療・不育症治療と仕事の両立を希望される患者さんにとってとても重要なことです。

日本産科婦人科学会2021年ARTデータによりますと“採卵当たりの生産率”は1999年14.9%であったものが徐々に減少し、2021年には3.9%まで下降してきています。世界的に見て“採卵当たりの生産率”は国際比較の重要な指標となります。ARTの知識や技術は確実に高まってきているのにどうしたことでしょうか。これに関与する因子について考察してみましょう。まず治療を受ける患者さんの年齢です。これに関して、ARTを受ける患者さんの多くが39～42歳の高齢者が多いことも大きな要因です。はたしてそれだけでしょうか？

新鮮胚移植と凍結胚移植の妊娠率をみると2001年の新鮮胚移植の妊娠率が26.3%と凍結胚移植より高いですが、2002年には凍結胚移植の妊娠率が27.7%と新鮮胚移植を逆転し、それ以降は差が広がり、2021年には凍結胚移植当たりの妊娠率36.9%に対して、新鮮胚移植の妊娠率は21.2%まで差が開いています。2008年以降、単一胚移植の会告により多胎率は1999年の18.2%から2021年には3.0%まで低下しました。これはとても喜ばしいことです。2021年の胚利用率に焦点を当ててみました。“胚利用できた”とは採卵して新鮮胚移植(この中には胚凍結できた患者さんと胚凍結できなかった患者さんも含まれます)できた患者さんと全胚凍結できた患者さんが該当します。したがって“胚利用できなかった患者さん”とは、採卵したが、その後、新鮮胚移植も全胚凍結もできなかった患者さんを指します。2021年には255,560周期採卵を行い、32,959周期で新鮮胚移植を行い、129,008周期で全胚凍結しました。したがって残りの93,593周期の患者さんが採卵するも、

最終的に胚移植できなかった周期数になります。それはどのような患者さんでしょうか？

2024年10月6日(日)ランチオンセミナーの会場で日本のARTはどうあるべきか？お話しできるのを楽しみにしております。

# 早期卵巣不全 (POI) の全国調査から



## 丸山 哲夫

杉山産婦人科新宿  
生殖医療科  
生殖内分泌・遺伝・内視鏡  
診療部長

### 略 歴

1986年 慶應義塾大学医学部卒業  
1986～89年 同学医学部産婦人科研修医/専修医  
1989～92年 同学医学部産婦人科助手  
1992～94年 神戸海星病院産婦人科医長  
1994～96年 京都大学ウイルス研究所研修員  
1996～99年 National Institutes of Health (NIH, USA) 客員研究員/日本学術振興会海外特別研究員(NIH)  
2000～02年 慶應義塾大学助手(医学部産婦人科)  
2002～14年 同学専任講師(医学部産婦人科)  
2014～23年 同学准教授(医学部産婦人科)  
2023～現在 杉山産婦人科 生殖内分泌・遺伝・内視鏡診療部長

挙児希望の早発卵巣不全 (primary/premature ovarian insufficiency, POI) に対して、最も高い evidence を以て有効とされている治療は卵子提供であるが、本邦では極めて限られた選択肢となる。そのことも一因となり、本邦では、僅かな生殖能を引き出して自身の卵子による妊娠を目指した様々な治療が行われてきた。しかし、その実態は十分に把握されていない。これを明らかにするために、日本産科婦人科学会の生殖・内分泌委員会のもと、同会の小委員会 (2017～2018年度 [本邦における POI に対する診療の実態調査-生殖医療を中心に-] および 2019年度～2020年度 [早発卵巣不全の生殖アウトカムに関する調査研究]) により全国調査が行われた。私は当時の小委員会の委員長であった立場から、その調査研究結果の一部を本講演で紹介する。

全国の5,261の産婦人科関連医療施設のなかで、挙児希望のPOIに対して自施設で治療を行うと回答した167施設での治療の内訳は、ホルモン補充療法(カウフマン療法)(59%)、クロミフェン療法(14%)、エストロゲンとゴナドトロピンの併用療法(13%)、ゴナドトロピン療法(9%)の順に多かった。また、超音波による卵胞発育モニタリングの頻度は週1回とする施設が最も多かった(64.7%)。43.7%の施設では生殖補助医療を主に行うとする一方、タイミングや人工授精を主に行う施設も半数以上を占めた。各施設の回答症例を総計すると、2013年1月～2017年12月の過去5年間での不妊治療を行ったPOI患者総数は2,055例で、1,165例(56.6%)は少なくとも1回は卵胞発育を認め、286例(13.9%)が妊娠し、180例(8.8%)が生児を得た、という結果であった。ただし、本調査では各症例の個別調査はしておらず、各施設への聞き取り調査であることから、卵巣予備能低下症例などの混入による症例の異質性や症例数が不正確な

どの問題点があることは否定できない。従って、結果の解釈には慎重を要するが、初めての全国規模の調査である点で意義の有る研究と考える。なお、POIでは卵胞発育は極めて希で予測困難であることから、卵胞モニタリングの頻度が高い施設ほど、また治療期間(治療終了を提案する年数)が長い施設ほど患者あたりの卵胞発育率、妊娠率、および生児獲得率は高くなる、と予想される。本調査の結果では、治療期間には一部その傾向は認められるものの、モニタリング頻度には特にその傾向は認められなかった。

聞き取り調査であるがゆえに生じる上記の問題点を最小化するため、2017年の1年間に各施設を初診で受診した挙児希望のPOI患者で且つ受診後3周期以上の不妊治療を受けた症例に対して、初診時より最長2年間をフォローアップ期間として、主要評価項目は妊娠率、副次的評価項目としては、卵胞発育率、排卵率、採卵率、流産率、生児獲得率とする後ろ向き観察研究を行った。その結果62施設から238症例が登録された。講演当日は、主要評価項目ならびに副次的評価項目を中心に本調査研究の結果を提示する。

最後に、本講演内容は、小委員会のメンバーも含めてご協力いただいた全ての関連組織および医療施設によって得られた成果であり、ここに深甚なる謝意を表す。

## PRP 卵巣内投与の実際



### 岡本 恵理

英ウィメンズクリニック  
副院長

#### 略 歴

1998年3月 大阪市立大学医学部卒業  
2004年3月 大阪市立大学大学院医学研究科女性病態医学卒業  
2007年1月 英ウィメンズクリニック入職  
2012年8月 英ウィメンズクリニック内視鏡部門副部長  
2013年6月 英ウィメンズクリニック妊孕能温存部門部長  
2020年12月 英ウィメンズクリニック副院長

#### 【緒言】

PRP (Platelet-rich Plasma : 多血小板血漿) を用いた再生医療は、含まれる成長因子の組織修復・血管新生・細胞増殖促進効果などから多分野で様々な治療に用いられている。

不妊治療の分野では、日本国内では子宮内膜が厚くならない患者に対して子宮内PRP注入療法の臨床試験が行われている。海外では子宮以外に早発卵巣不全患者に対する卵巣へのPRP注入療法が行われており、2018年にアメリカから最初の報告があったのち、世界各国から文献報告されている。この治療後に生児を得た報告も散見される。

PRP療法は患者自身の血液を利用するため拒絶反応のリスクがほぼなく、患者への侵襲性が低い画期的な治療であるが、その場で作成し使用するため、治療のたびに採血と血液の加工作業を要するという特徴がある。また血液細胞の加工を行うため、再生医療等安全性確保法による届け出が必要である。

我々は2022年3月よりPRP卵巣注入を導入しており、今回その使用経験について報告する。

#### 【方法】

2022年3月から2023年6月に当院で31名にPRP卵巣注入治療を行った。

19ゲージ針を用い末梢血10mLを専用シリンジに2本採取し、遠心分離操作を行い、2mLのPRPを作成する。注入の際は無麻酔下に23G20cmのカテラン針を用いて経膈エコーガイド下に卵巣皮質部を狙って各卵巣1mLずつ注入する。投与後から概ね1週間毎に発育卵胞の有無、FSH、E<sub>2</sub>、3か月後にAMHを測定し、評価を行う。31名を対象に治療成績を評価した。

#### 【成績】

適応は31名中2名が治療成績改善目的、1名が原発性無月経、5名が早発閉経、23名が卵巣機能不全

(4名は早発卵巣不全、19名は40歳以上の排卵障害)であった。治療成績改善目的の2名のうち1名は効果がなく、1名は直後の採卵で妊娠成立した。原発性無月経1名は効果を認めなかった。早発閉経5名のうち3名は効果を認めず、1名はフォローできず、1名は投与8か月後に卵胞発育を認めた。

卵巣機能不全23名の平均年齢は42歳(36-47歳)、平均AMHは0.11(0-0.67) ng/mL、平均基礎FSH値は21.8(3-46) mIU/mLで、投与前に対して投与後AMH上昇を認めた症例は5名、低下した症例が5名であった。注入後22名に卵胞発育を認めたが、1名のみ注入後に発育しなくなった症例があった。ある程度効果が感じられた症例が12名、不変と判断した症例が5名、逆に悪化したように感じられた症例が3名、評価不能が3名であった。1名は4か月後と6か月後に採卵した初期胚2個の融解胚移植でDD双胎となり、vanishing twinで妊娠38週単胎生産している。

#### 【結論】

PRP卵巣注入により停止した卵胞発育が再開した症例が散見され、期待される治療法であるが、臨床妊娠にいたった症例はまだ少ない。症例選択方法など改善の余地がある。今後症例数を増やして臨床試験を行い効果を判断したい。

## 卵巣機能不全症例に対する卵巣内 PRP 投与の実際



## 花岡 正智

はなおか IVF クリニック品川  
院長

## 略 歴

2004年  
2004～2005年  
2006年  
2007年～  
2011年

2008年～  
2011年

2013年  
2014年8月～2022年3月

## 資格

- ・医学博士
- ・日本産科婦人科学会認定 産婦人科専門医
- ・日本人類遺伝学会認定 臨床遺伝専門医
- ・日本周産期新生児医学会認定 周産期(母体・胎児)専門医
- ・日本生殖医学会認定 生殖医療専門医

東邦大学医学部卒業  
三井記念病院にて初期研修(一部は東京大学附属病院)  
三井記念病院産婦人科  
国立成育医療センター周産期診療部レジデントのちに臨床研究員  
東邦大学大学院医学研究科 学位取得  
Decrease in High Human Chorionic Gonadotropin in Twin-Twin Transfusion Syndrome following Fetoscopic Laser Surgery Fetal Diagn Ther 2011;30(3):189-93.  
はなおかレディースクリニック  
東日本大震災後時の医療支援 気仙沼市立病院  
宮城県立こども病院  
離島支援 沖縄県立八重山病院(石垣島)  
はなおかIVFクリニック品川院長

不妊症は世界人口の約12%に影響を及ぼしており、過去数十年にわたり増加傾向にある。日本においては、5.5組に1組のカップルが不妊症に悩まされており、この数値は急速かつ継続的に増加している。不妊の主な要因の中で卵巣機能の低下は重要かつ深刻な問題であり、現時点では有効な治療法は確立していない。

PRP治療は自己末梢血を用いて高濃度血小板血漿を組成し、標的部位へ注射・注入する再生医療である。この多血小板血漿 (PRP) が卵巣機能を向上させ、卵子の質を改善し、生児出産率を高める可能性を示唆する研究が近年報告されてきており、注目されている。本研究の目的は、卵巣機能が低下している女性に対してのPRPの有効性を検討したものである。対象期間は2022年12月から2024年11月までの3年間とし、対象症例はPOSEIDONグループIVに分類される卵巣機能低下 (POR) 症例70例とした。対象症例の背景は、年齢  $39.8 \pm 4.5$  歳 (Mean  $\pm$  SD), AMH値  $0.38 \pm 0.45$  ng/mL, 月経中FSH基礎値  $22.4 \pm 14.8$  mIU/mL, BMI  $21.9 \pm 3.1$  kg/m<sup>2</sup>であった。PRPは20 mLの患者末梢血より調製され、20Gシングルルーメン針にて経膈超音波ガイド下に卵巣に数か所1 mL投与した。卵巣PRP投与前後の変化は以下であった。AMH値は  $0.38 \pm 0.45$  ng/mL (Before) vs  $0.47 \pm 0.48$  ng/mL (After) ( $p=0.04$ ), 前胞状卵胞数 (AFC: Antral Follicle Count) は  $0.61 \pm 0.97$  個 vs  $1.06 \pm 1.20$  個 ( $p=0.02$ ) と、いずれも有意に増加した。月経中FSH基礎値は  $22.4 \pm 14.8$  mIU/mL vs  $13.9 \pm 8.5$  mIU/mL ( $p<0.001$ ) と有意に減少した。LH値は  $8.33 \pm 7.9$

vs  $8.2 \pm 8.9$  ( $p=0.89$ ) と有意差を認めなかった。これらのデータは、PRP注射が一定の範囲で卵巣機能を回復させることを示唆している。

施行症例全例において、副作用を認めず、現時点で児の予後にnegativeな影響を与えていない。これらの結果は、PRPがPOR患者に対して安全かつ効果的な治療法である可能性を示唆している。本研究は、FSH35 mIU/mL以上の症例、または3回連続して採卵できなかった症例(凍結胚を得られなかった症例)に対して行ったが、卵巣機能がある程度保たれている患者に対してはより効果的ではないかと考え、今後はより適応を拡大していく方針である。

## PFC-FD 卵巣投与におけるポイントについて



### 松林 秀彦

リプロダクションクリニック  
東京・大阪  
スーパーバイザー

#### 略 歴

1988年 3月 慶應義塾大学医学部卒業  
1996年 10月 米国 Indiana州 Methodist病院 生殖移植免疫センター 研究員  
2002年 4月 東海大学医学部産婦人科学講師  
2005年 4月 東海大学医学部産婦人科学准教授  
2009年 4月 大阪 New ARTクリニック 副院長  
2012年 2月 桂川レディースクリニック 副院長  
2013年 9月 リプロダクションクリニック大阪 院長  
2017年 2月 リプロダクションクリニックスーパーバイザー (東京・大阪兼務)

日本血栓止血学会「学術標準化委員会 抗リン脂質抗体部会 副部会長」  
世界体外受精会議記念賞3回, 浜田記念学術奨励賞2回, エンドメトリオーシス研究会1回,  
日本生殖免疫学会1回, 米国生殖免疫学会1回, 世界リエゾン精神医学会1回  
2012年9月「生殖医療専門医のブログ」開設し情報発信, 1万アクセス/日

PRP療法およびPFC-FD療法が普及するにつれて「卵巣投与法について教えてください」という質問が相次いでいます。本シンポジウムでは、「PFC-FD卵巣投与におけるポイントについて」図表や動画を用いてお話させていただきます。

#### <準備>

PFC-FD溶解に使う針：18G 1.2×38mm

溶解液：生理食塩水

シリンジ：1mLロック式（暴発を防ぐためロック式が必須）

卵巣注入に使う針：カテラン針23G 200mm

麻酔：採卵時は採卵時の麻酔（無麻酔，局所麻酔，静脈麻酔），外来では無麻酔

感染防止予防策：経口抗生剤2日分処方（チョコレート嚢腫がある場合は抗生剤点滴も追加）

#### <卵巣注入手順>

PFC-FDに溶解液0.8mLを溶解に使う針で注入する

PFC-FD瓶を数回回転させて溶解する

PFC-FD吸引時は逆さまにしない（通常の薬剤作成時とは異なる）

卵巣注入に使う針に差し替える

エコーガイド下に採卵時と同様に卵巣穿刺（カラードプラで血管の位置を把握しておく）

注入部位は，皮質の間質部分に場所を変えて数箇所に分けて注入（髄質や卵胞ではない）

左右卵巣に0.4mLずつ注入（片側の卵巣の場合は0.8mL全量注入）

エアは極力抜いておく（エアが入るとエコーで見にくい）

注入時期は，卵巣が確認できる状態であればいつでも良い

#### <注入後>

採卵時注入では通常の採卵と同じ取り扱い（リカバリーで5～60分休憩）

外来注入（内診室）では原則として休憩時間なし（痛みのある方はリカバリーで適宜休憩）

# 当院での卵巣機能低下症例に対する Platelet-Derived Factor Concentrate Freeze Dry (PFC-FD) 卵巣注入について



辻 尚也

IVF なんばクリニック

略 歴

2018年 岐阜大学医学部医学科卒業  
済生会松阪総合病院  
2020年 三重大学医学部附属病院産科婦人科  
2021年 伊勢赤十字病院産婦人科  
2023年 IVF なんばクリニック

現代社会における晩婚化に伴い、挙児希望年齢が上昇し、不妊治療を受ける患者の年齢層も高齢化している。卵子の質の低下による妊娠に必要な胚の数は多くなるものの、加齢による卵巣予備能低下 (Diminishing Ovarian Reserve:DOR) により卵巣刺激を行っても思ったような採卵数は得られず、治療に難渋することが多い。DORに対して、幹細胞移植・卵巣移植・人工卵巣・ミトコンドリア置換療法など今後展望される治療の報告はあるが、妊娠成立に至る有効な方法が確立されているとは言えない。

多血小板血漿 (Platelet Rich Plasma:PRP) は自身の血液を遠心分離し、濃縮した血小板で組成された血漿である。PRP中には多くの成長因子が含まれており、組織の修復や再生に寄与することが知られている。これまで整形外科領域における変形性関節症、腱靭帯炎を対象としたPRPの関節内注入や、形成外科領域における難治性疾患、美容目的を対象としたPRP皮下注入治療は広く実施されている。生殖医療においては、2015年に子宮内膜菲薄化による反復着床不全症例に対しPRPを子宮内腔に注入することで着床率が改善することが報告された。2018年には、ギリシャのグループがDORに対するPRP卵巣注入を行ったという報告もある。本邦でも、2019年より子宮内膜菲薄化による反復着床不全症例に対するPRPの子宮内腔注入が臨床研究として開始され、DOR症例に対するPRPの卵巣注入にも注目されている。一方でPRP療法は、国内においては再生医療に位置付けられ、再生医療等安全性確保法を遵守して行う必要がある。PRPは第2種再生医療等(体性幹細胞等で中リスク)に分類され、細胞培養加工施設の認可、特定認定再生医療等委員会での審査を受け、最終的に厚生労働省の認可を受けないと自施設で使用することができない。

血小板由来因子濃縮物 (Platelet-Derived Factor Concentrate:PFC) は、PRP内の成長因子のみを濃縮・活性化させ、無細胞化した物質である。凍結乾燥処理を行うことで、血小板由来因子濃縮物凍結乾燥 (Platelet-Derived Factor Concentrate Freeze Dry:PFC-FD) に加工され、約6か月間の常温保存が可能となる。PFC-FDの作製は厚生労働省からの認可を取得した特定細胞加工物製造許可施設 (Cell Source再生医療センター) に依頼して行う。PFC-FDには、PRPと比較して約2倍の成長因子が含まれるため、より治療効果が期待できる。さらにPRPとは異なり、実際にPFC-FDを投与する施設における再生医療等に関する届け出が不要である。また、検体の保存可能期間が長いことから、ARTの治療計画をより柔軟に行うことができることも利点となる。当院では2021年5月以降、72症例に対してPFC-FDの卵巣局所投与を実施してきた。PFC-FD卵巣投与に際し、黄体中期に経膈超音波で卵巣を同定し、プロポフォール・ペンタゾシンで鎮静・鎮痛下に局所投与を実施している。

本講演では、当院でのDOR症例に対するPFC-FD卵巣局所投与の使用経験および、ART成績への影響について文献的考察を踏まえて報告する。

# Ovarian Rejuvenation



## 河村 和弘

順天堂大学大学院  
医学研究科産婦人科学  
教授

### 略 歴

1996年 秋田大学卒業  
2003年 Stanford大学医学部産婦人科分子生物学講座 Research Fellow  
2007年 Stanford大学医学部産婦人科 Visiting Professor  
2012年 聖マリアンナ医科大学医学部産婦人科学准教授  
同 生殖医療センター長  
2018年 国際医療福祉大学医学部産婦人科学講座教授  
同 高度生殖医療リサーチセンター長  
2022年 順天堂大学院医学研究科産婦人科学教授  
同 大学院医学研究科 生殖技術フロンティア講座教授  
同 大学院医学研究科 食と生殖機能先端研究講座教授

卵巣機能不全は、残存卵胞数が減少し、発育卵胞のリクルートが減少して卵胞発育不全とそれに伴う排卵障害、性ホルモン産生異常をきたす病態である。卵巣機能不全には加齢によっておこるものと、病的な原因によって発症するものがある。加齢による卵巣機能不全では、卵胞数の減少に加えて卵子の質が低下するため、難治性である。病的な原因によって発症した卵巣機能不全は、最も重症な病型が40歳未満で閉経する早発卵巣不全であるが、残存卵胞の減少速度が速く、診断された時には既に無月経(閉経)となっている場合が多く、治療に苦慮する。近年の晩婚化により、不妊を呈する卵巣機能不全患者数は国内外で急増しているが、自己の卵子を用いた妊娠は非常に困難であり、生殖医療の大きな課題の一つである。

卵巣機能不全の治療は、確立された方法は提供卵子を用いたIVF-ETのみであるが、倫理的な問題、適切なドナーの確保の問題、完全な非自己を妊娠することによる免疫学的な問題、など様々な問題があり優れた方法とは言えない。イスラム教では宗教上の理由から禁止されており、中国も国が実施を禁じている。そこで近年では、ovarian rejuvenationと呼ばれる残存卵胞を有効利用する方法が試行されている。我々は、卵胞活性化療法の開発やplatelet rich plasma (PRP)の改良などを行ってきた。また、高齢の卵巣機能不全患者の対策として、卵巣(卵子)のアンチエイジングに関する研究も行ってきた。本講演では、これまでの研究と現在進行中の研究について紹介する。

## O-1 発育遅延したウシ胚の形態変化の特徴

山中 昌哉<sup>1)</sup>, 橋本 周<sup>2)</sup>, 北地 秀基<sup>2)</sup>,  
Udayanga Gamage<sup>1)</sup>, 森本義晴<sup>1)</sup>

1) HORAC グランフロント大阪クリニック

2) 大阪公立大学リプロダクティブサイエンス

### 【目的】

ヒト体外受精卵において、胚盤胞形成が遅延した胚は速やかに胞胚腔を形成した胚に比べ、紡錘体構造異常の出現頻度が高く、着床能が低いことが知られている (Hashimoto et al., 2013). また、桑実胚期においてミトコンドリア機能が低下していると、その後の発育が遅延することも明らかになっている (Morimoto et al., 2021). 本研究では発育遅延胚における形態変化の特徴を理解するために、ウシ体外受精卵における胚盤胞形成遅延胚 (Day8 胚盤胞) と正常なタイミングで胞胚腔を形成した胚 (Day7 胚盤胞) の各ステージへの発育に要する時間を計測し、比較した。

### 【方法】

既報に従い作成したウシ体外受精卵を媒精後 43 h で 4 細胞以上に発育した胚 (240 個) を、iBIS (ASTEC 社) を用い、15 分間隔で胚の形態変化を記録した。Day7 および Day8 胚盤胞が、8 細胞、桑実胚 (コンパクト開始および完了)、胚盤胞への発育所要時間を後方視的に比較した。なお、最初の細胞接着が観察された時間をコンパクト開始、全ての細胞の接着が観察された時間をコンパクト完了、胞胚腔が胚の体積の半分以上に拡大した時間を胚盤胞と定義した。統計解析は t 検定を用い、 $p < 0.05$  で有意差ありと判定した。

## O-2 精子のヒートショックプロテイン A2 の局在変化と男性不妊症との関連の検討

夏目 明子<sup>1)</sup>, 尾崎 康彦<sup>2)</sup>, 北舘 祐<sup>1)</sup>, 林 祥太郎<sup>1)</sup>,  
松本 洋介<sup>1)</sup>, 小澤 史子<sup>3)</sup>, 岩月 正一郎<sup>4)</sup>, 梅本 幸裕<sup>1)</sup>

1) 名古屋市立大学医学部附属西部医療センター 生殖医療センター

2) 名古屋市立大学大学院看護学研究科 性生殖看護学・助産学

3) 名古屋市立大学大学院薬学研究科 共用機器センター

4) 名古屋市立大学大学院医学研究科 腎・泌尿器科学分野

### 【目的】

受精が成立するためには精子が受精能を獲得し、卵子の透明帯結合時には先体反応を起こすことが必要である。精巣特異的なヒートショックプロテイン 70 ファミリーである HSPA2 は精子形成時に生殖細胞に発現し、減数分裂を制御するといわれている。また近年では受精時にも発現し、精子の先体領域に位置することで透明帯結合を制御するといわれている。しかし *in vitro* においてどのように局在が変化するか、また男性不妊症との関連については解明されていない。今回我々は精子調整後の培養で精子の HSPA2 の局在がどのように変化するか検証し、男性不妊症との関連を検討した。

### 【方法】

研究の同意が得られ、2021 年の WHO の精液検査正常値の基準を満たした健常症例 (8 症例)、および精索静脈瘤の既往のある症例もし

### 【結果】

Day7 ならびに Day8 胚盤胞はそれぞれ 77 個と 27 個であった。培養開始時の細胞数は Day7 胚盤胞においては  $5.09 \pm 1.0$  個 (mean  $\pm$  sd)、Day8 胚盤胞においては  $4.85 \pm 0.9$  個であり、差はなかった ( $P=0.25$ )。8 細胞への所要時間は Day7 胚盤胞で  $67.9 \pm 16.1$ h、Day8 胚盤胞で  $75.0 \pm 16.4$ h であり、差はなかった。コンパクト開始までの所要時間は、Day7:  $92.0 \pm 16.1$ h および Day8:  $98.6 \pm 8.3$ h であり、コンパクト完了時間 (Day7:  $112.5 \pm 7.5$ h、Day8:  $122.4 \pm 8.8$ h) であり発育遅延胚で遅延していた ( $P < 0.01$ )。当然のことであるが、胚盤胞への発育所要時間 (Day7:  $161.2 \pm 8.7$ h、Day8:  $183.0 \pm 6.5$ h) は発育遅延胚で延長が認められた ( $P < 0.01$ )。8 細胞からコンパクト開始までの所要時間 (Day7:  $24.1 \pm 16.3$ h vs. Day8:  $23.6 \pm 15.3$ h,  $P=0.90$ ) に差はなかった。その一方で、Day8 胚盤胞において、コンパクト開始からコンパクト完了までの所要時間 ( $20.5 \pm 7.8$ h vs.  $23.8 \pm 7.7$ h,  $P=0.06$ ) が増加する傾向が観察され、コンパクト完了から胞胚腔形成開始までの所要時間 ( $40.5 \pm 9.7$ h vs.  $47.9 \pm 9.9$ h,  $P < 0.01$ )、胞胚腔形成開始から胚盤胞への所要時間 ( $8.2 \pm 9.1$ h vs.  $12.7 \pm 7.4$ h,  $P < 0.01$ ) は有意に増加した。

### 【考察】

発育遅延胚 (Day8 胚盤胞) ではコンパクト開始時から遅延が認められ、それ以降、その遅延時間はますます拡大する傾向にあった。ウシ胚では 8 細胞で胚性ゲノムの活性化が始まると考えられており、胚性ゲノムの活性化、特にミトコンドリア機能に関わる遺伝子発現が十分でないことが発育遅延を引き起こす原因であると考え、今後、ミトコンドリア機能を中心に解析を進める予定である。

### 【参考文献】

Hashimoto et al., Hum Reprod. 2013;28:1528-35.

Morimoto et al., J Assist Reprod Genet. 2020;37(8):1815-1821.

くは精液検査正常値を満たさない症例を男性不妊症例 (10 症例) とし、実験に供した。採取された精液を密度遠心勾配法にて処理し、 $37^{\circ}\text{C}$ 、 $6.0\% \text{CO}_2$ 、 $5.0\% \text{O}_2$  気相下で 1 時間 Swim up を行い、上清を回収し、24 時間後まで培養した。精子浮遊液を原精液、Swim up 直後、30 分、1 時間、3 時間、6 時間、24 時間にそれぞれスライドガラスに塗抹後固定し、免疫蛍光染色法を行った。1 次抗体は抗 HSPA2 抗体を、2 次抗体は Alexa Fluor<sup>TM</sup> 標識抗体を使用し、共焦点レーザー顕微鏡でそれぞれ 100 個の精子の局在変化を観察した。

### 【結果】

HSPA2 は尾部、全頭部、先体部、赤道部、赤道部より後方部、中片部、尾部に発現していた。原精液において HSPA2 が先体部に位置する割合は健常症例で  $13.7 \pm 13.9\%$ 、男性不妊症例で  $16.6 \pm 10.3\%$  で有意差はなく、他の局在の割合にも有意差はなかった。健常症例では精子調整直後に先体部に位置する割合は  $52.9 \pm 14.5\%$  となり、3 時間後には  $50.9 \pm 13.6\%$ 、6 時間後には  $42.5 \pm 21.7\%$ 、24 時間後には  $29.9 \pm 19.1\%$  と時間依存的に低下した。一方、男性不妊症例では精子調整直後に先体部に位置する割合は  $30.5 \pm 10.7\%$  であり健常症例と比較し有意に低く ( $P < 0.01$ )、3 時間後に  $48.5 \pm 15.9\%$  となりピークに達し、6 時間後には  $46.8 \pm 21.2\%$ 、24 時間後には  $32.5 \pm 23.2\%$  に低下した。

### 【結論】

*In vitro* の検討において HSPA2 の局在は精子調整後の培養時間とともに変化することが明らかとなり、精子頭部の先体領域へ位置することで、卵子透明帯結合や先体反応などの現象に関与する可能性が示唆された。男性不妊症例においては先体領域に位置する割合のピークが健常症例より遅く、受精現象へ何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられた。

## 0-3 セロトニンとトリプトファンによる精子超活性化運動の促進

藤ノ木 政勝

獨協医科大学実験動物センター

### 【目的】

セロトニンは神経伝達物質としてよく知られているが、生殖機能の調節にも関与していることが知られている。齧歯類精子においてセロトニンは先体反応の惹起や超活性化運動の促進を促し、さらに体外受精の成績を向上させる。ヒトとウマ精子からセロトニン代謝酵素が検出されていることから精子でトリプトファンからセロトニンが産生され、自己分泌されたセロトニンにより先体反応の惹起や超活性化運動の促進、体外受精の成績の向上が起きている可能性が考えられた。そこでハムスター精子を用いてトリプトファンからセロトニンが産生・自己分泌されて超活性化運動の促進が起こるか検討した。なお、ハムスター精子には5-HT<sub>2</sub>受容体と5-HT<sub>4</sub>受容体が存在し、濃度依存的に刺激され超活性化運動の促進を引き起こすことが分かっている。

### 【方法】

精子は精巢上体尾部から採取され、mTALP培地に懸濁され、通常の培養条件下で培養されることで受精能獲得が起こされた。運動状態をビデオ位相差顕微鏡で記録し、目視で超活性化運動の惹起率を解析した。セロトニン代謝酵素はウエスタンブロッティングで、セロトニンはELISA法で検出した。

## 0-4 IVMFした SOD1 欠損マウス卵における第二極体放出障害の解析

王 玲玲, 川口 菜摘, 木村 直子

山形大学農学部

### 【目的】

高度生殖補助医療や家畜生産では体外成熟-体外受精-体外培養(IVMFC)が汎用されている。しかし、酸素濃度が高い体外環境では卵子あるいは精子が酸化ストレスの蓄積によって質が低下し、異常受精や発生障害が起きることが報告されている。我々は以前、20%酸素濃度下で培養したSOD1遺伝子欠損マウス(SOD1KO)の体外成熟-体外受精(IVMF)卵は、酸化ストレスにより、ほとんどが第二減数分裂終期(TII期)で停止することを見出している。本研究では、SOD1KOマウス由来卵を受精障害のモデルとし、TII期停止の原因を解明するために、第二極体放出の細胞膜陥入に関するP-MLC2の局在、IVMFあるいは活性化処理を行い、近位皮質と紡錘体の角度を調査した。

### 【方法】

実験1: 過排卵処理した1~2か月齢ICR系野生型(WT)およびSOD1KOの雌からGV期卵を採取し、IVM後18時間のMII期卵を

### 【成績】

トリプトファンを培地に添加する事により超活性化運動の促進が認められた。この超活性化運動の促進は5-HT<sub>4</sub>受容体の阻害剤により、そしてセロトニン代謝酵素の阻害によっても抑制された。また精子にはセロトニン代謝酵素が存在することが確認された。さらにトリプトファンを添加した精子懸濁培地よりセロトニンを検出することで、セロトニン代謝酵素を阻害すると検出できなくなった。

### 【結論】

ハムスター精子においてトリプトファンからセロトニンの合成が行われており、自己分泌されたセロトニンが5-HT<sub>4</sub>受容体を刺激することで超活性化運動の促進が起こると考えられる。ハムスター精子では濃度依存的にセロトニンは5-HT<sub>2</sub>受容体と5-HT<sub>4</sub>受容体を刺激して超活性化運動の促進を起こすことが分かっている。5-HT<sub>2</sub>受容体は低濃度で5-HT<sub>4</sub>受容体は高濃度で刺激される。精子で自己分泌されるセロトニンは局所的に高濃度で存在すると推定され、高濃度で刺激される5-HT<sub>4</sub>受容体が自己分泌されるセロトニンに反応することは矛盾がない。卵丘細胞でセロトニン合成と分泌が起こることから卵管液中には卵丘細胞由来のセロトニンが存在する。5-HT<sub>2</sub>受容体は自己分泌されたセロトニンには反応することなく、また低濃度のセロトニンで刺激されることから卵丘細胞由来のセロトニンが5-HT<sub>2</sub>受容体を刺激するものと推定される。以上のことから、セロトニンによる精子超活性化運動の調節経路には精子からの自己分泌による経路と卵丘細胞からの分泌による経路があることが分かった。

IVF後3あるいは6時間でサンプリングし、 $\gamma$ -tubulinによる免疫蛍光染色で、核相を評価した。実験2: 実験1と同様IVMF後に、3時間でサンプリングし、細胞膜陥入に関連するP-MLC2の免疫蛍光染色による比較解析をした。実験3: 実験1と同様にIVM後18時間のMII期卵をIVF後3時間あるいは活性化処理後2時間でサンプリングし、 $\gamma$ -tubulin抗体による免疫蛍光染色とファロイジン染色を行い、近位皮質と紡錘体の角度を評価した。

### 【結果】

実験1: 媒精後3時間では、TII期である卵がWTで62.9%、SOD1KOで55.9%、媒精後6時間では、二前核期である卵がWTで82.1%、SOD1KOは10.6%で、SOD1KOの63.5%はTII期で停止していた。実験2: p-MLC2の局在は、媒精後3時間のWT卵TII期では紡錘体中央の皮質部位や紡錘体の二極に局在がみられたが、SOD1KO卵では、その局在が明確にはみられなかった。実験3: TII期の紡錘体とその近位皮質の角度が概ね垂直(90~120度程度)に近いものが、WT卵ではIVFで41.7%、活性化処理では81.8%に対し、SOD1KO卵ではほぼがみられなかった。

### 【考察】

SOD1KO IVMF卵はTII期まで進行するものの、その後紡錘体回転と第二極体放出ができず、発生停止していることが考えられた。その原因として、細胞膜陥入に関与するp-MLC2の局在が、TII期で紡錘体の周囲と皮質にみられないことが関与すると考えられた。

## 0-5 *TUBB8* 遺伝子のミスセンス変異か？胚発生に与える影響

向田 直人<sup>1)</sup>, 大月 純子<sup>1,2)</sup>, 魏 興強<sup>1)</sup>, 江夏 国宏<sup>1)</sup>, 山田 愛<sup>1)</sup>, 林 奈央<sup>1)</sup>, 山田 聡<sup>1)</sup>, 水澤 友利<sup>1)</sup>, 中塚 幹也<sup>2)</sup>, 塩谷 雅英<sup>1)</sup>

1) 英ウィメンズクリニック  
2) 岡山大学保健学研究所

### 【目的】

*TUBB8*(tubulin beta 8 class VIII) は、霊長類の卵および初期胚に特異的に発現する遺伝子であり、これまでに100を超える変異が報告されている。また、卵成熟に問題を抱える不妊女性の約30%が有害変異を有していることが報告されている。これらの有害変異の多くは常染色体顕性遺伝であり、ヘテロ接合体において有害性を示すが、良性のミスセンス変異であってもホモ接合体はほとんど存在しない。そこで本研究では、「ホモ接合体のミスセンス変異を有する受精卵において、不受精、胚発生停止、または着床後の発育停止が生じる」という仮説を立て、その検証を目的とした。

### 【方法】

45名（ART反復着床不成功例30名，原因不明不育症4名，正常コントロール11名）を対象に全ゲノムシーケンス解析を実施した。影響の少ないイントロン変異や同義変異等を除くすべての*TUBB8*遺伝子変異を抽出し，Human Genetic Variation Database（HGVD）を用いて各変異のホモ接合体およびヘテロ接合体の分布を調べた。ART反復不成功患者のうち，後の治療で妊娠・出産に至った11名と正常コントロール11名を妊娠・出産群，他の23人を不妊・不育群と分類し，各

個人の*TUBB8*遺伝子変異箇所数を比較した。変異の有害性はPolyPhen2, SIFT, MutationTaster, FATHMM, PROVEANで評価し，AlphaFold2でタンパク質の構造変化を調べた。なお，本研究は英ウィメンズクリニックおよび岡山大学倫理委員会の承認を得て，JSPSによる基盤研究C:20K09620およびC:23H08799の一環として実施した。

### 【成績】

妊娠出産群における*TUBB8*変異の平均数は $0.32 \pm 0.48$ ，不妊・不育群では $0.87 \pm 0.87$ であり，不妊・不育群における*TUBB8*変異数が有意に多いことが明らかになった（ $p = 0.012$ ）。45名のNGS解析により7箇所のミスセンス変異が検出され，バイオインフォマティクス解析でp.C303Rおよびp.R306Cの2変異が有害と判定され，不妊群の1名が両方の変異を有していた。HGVD登録者38名および本研究の45名（計93名）において，これら7箇所の変異にホモ接合体は確認されなかった。p.C303R&p.R306Cのタンパク質構造解析では，303番目のシステインのチオール基と306番目のアルギニンのグアニジン基が相互に入れ替わり，水素結合部位が303番目のシステイン残基で2箇所から1箇所に，306番目のアルギニン残基で4箇所から2箇所に減少することが確認された。

### 【結論】

*TUBB8*遺伝子のミスセンス変異の多くは常染色体顕性であり，ホモ接合体の受精卵が発生段階で停止し，出生に至らない可能性が示唆される。夫婦が同一の変異を2箇所所有する場合，ホモ接合体の受精卵が25%の確率で形成され，2箇所では43.8%と確率が上昇するため，*TUBB8*遺伝子変異の有無を調べることが有益である可能性がある。今後は夫婦のペア解析および発生停止胚の変異を調べることで，この仮説の検証を行いたい。また，本研究で新たに発見された*TUBB8*遺伝子の2箇所の新規変異による構造変化と機能への影響についても，さらに調査する予定である。

## 0-6 *RNASE9* 遺伝子変異による精子運動性低下に関する研究

佐伯 信一郎<sup>1)</sup>, 大月 純子<sup>1,2)</sup>, 江夏 徳寿<sup>1)</sup>, 魏 興強<sup>1)</sup>, 千葉 公嗣<sup>3)</sup>, 苔口 昭次<sup>1)</sup>, 藤原 靖浩<sup>4)</sup>, 中塚 幹也<sup>2)</sup>, 国枝 哲夫<sup>5)</sup>, 塩谷 雅英<sup>1)</sup>

1) 英ウィメンズクリニック  
2) 岡山大学保健学研究所  
3) 神戸大学大学院医学研究科腎泌尿器科学分野  
4) 東京大学定量研究所  
5) 岡山大学環境生命自然科学研究科

### 【背景と目的】

男性不妊症の原因の多くは造精機能障害（無精子症・精子減少症等）であり，その主な原因として精索静脈瘤，性染色体異常（XXY, XX male, AZF領域の欠失など）が知られているが，約半数以上は原因不明である。近年，ヒトにおいても*RNF212*, *STAG3*などの遺伝子変異に起因する無精子症が報告されており，精子減少症や精子無力症も遺伝子変異に起因する可能性が考えられる。そこで，本研究では，全ゲノムシーケンス解析から精巣上体特異的に発現する遺伝子を調査することを目的とした。

### 【材料と方法】

英メンズクリニックにて本研究に関するインフォームドコンセントを得た91人（全ゲノムシーケンス解析20人，サンガーシーケンス71人）を対象とした。全ゲノムシーケンス解析データから，アレル頻度が0.1以下かつタンパク質構造を大きく変える可能性のあるHigh impact変異（フレームシフト変異等）をホモ接合体で有する遺伝子を抽出し，正常精子所見の患者に存在しない遺伝子を特定した。このうち，精巣上体特異的に発現する*RNASE9*遺伝子変異について，さらに71人（外国人，

染色体異常，精巣萎縮，精巣上体炎，精巣腫瘍，前立腺癌を除外）の*RNASE9*(c.1+1G>A, splice donor variant & intron variant) 変異の有無をサンガーシーケンスで確認した。高速前進運動精子濃度が400万/mL（正常精子濃度1600万/mL×0.25）以上を正常とし，それ未満を精子無力症と定義した（2回以上の精子検査の平均値を使用）。東北メディカル・メガバンク機構（ToMMo）の日本人データベース（14KJPN）と正常群，精子無力症群の間で有意差検定を行った。なお，本研究は英ウィメンズクリニックおよび岡山大学倫理委員会の承認を得て，JSPSによる基盤研究C:20K09620および基盤研究A:20H00446の一環として行った。

### 【結果】

精子無力症患者31人における*RNASE9*遺伝子変異（c.1+1G>A）のアレル頻度は0.177であり，日本人データベース（14KJPN: 0.088）に比べて有意に高かった（ $p = 0.022$ ）。また，正常所見の12人には*RNASE9*遺伝子の上記領域の変異は見られず（アレル頻度: 0.000），精子無力症患者群との間にも有意な差が認められた（ $p = 0.029$ ）。なお，無精子症患者47人におけるアレル頻度は0.089であり，本遺伝子変異との関連性は認められなかった（無精子症群 vs. 14KJPN:  $p = 0.852$ ，無精子症群 vs. 正常群:  $p = 0.195$ ）。

### 【考察】

本研究において，*RNASE9*遺伝子変異（c.1+1G>A）がヒトにおける精子運動性低下の原因の一因であることが示唆された。*RNASE9*遺伝子はマウスでは精巣上体特異的に発現しており，*RNASE9*遺伝子KOマウスでは精子成熟が損なわれることが報告されている。ヒトにおいても，*RNASE9*は精巣上体特異的に発現し，射出精子および精巣上体内精子頭部に発現するが，精巣内精子頭部には発現しないことが確認されている。本研究の結果は，*RNASE9*遺伝子変異が精子運動性低下に寄与する可能性を示す新知見となった。今後は，さらに詳細な研究や臨床試験に基づいた確認を行う予定である。

## 0-7 SURF1 遺伝子変異と不妊症に関する見解

魏 興強<sup>1)</sup>, 大月 純子<sup>1,2)</sup>, 古橋 孝祐<sup>1)</sup>, 岡本 遼太<sup>1,2)</sup>, 吉村 沙織<sup>1)</sup>, 山田 弘次<sup>1)</sup>, 岡本 恵理<sup>1)</sup>, 苔口 昭次<sup>1)</sup>, 中塚 幹也<sup>2)</sup>, 塩谷 雅英<sup>1)</sup>

1) 英ウィメンズクリニック  
2) 岡山大学保健学研究所

### 【目的】

ATP生成の主要な役割を担うミトコンドリアの機能障害の原因として、ミトコンドリアDNAの変異が知られているが、それ以外にもミトコンドリアを標的とする核DNAの変異が存在する。一方、卵母細胞内のミトコンドリア機能低下による胚発生の低下が不妊の原因となる可能性が考えられることから、本研究ではこれらの遺伝子変異に起因する不妊を網羅的に解析することを目的とした。

### 【方法】

ART反復不成功患者30名、および正常出産コントロール11名を対象に全ゲノムシーケンス解析を行った。ART反復不成功患者30名のうち、その後のARTにて妊娠出産に至った11名とコントロール10名の計21名を出産群、その後も妊娠出産に至っていない19名を不妊群とした。不妊に関連する遺伝子変異を検索する目的の一つとして、ミトコンドリアゲノムデータベース(MitoCarta)による1,136のミトコンドリア関連遺伝子のうち、出産群に存在しない遺伝子変異を抽出した。さらに、東北メディカル・メガバンク機構の14KJPNデータベースを用い、アレル頻度0.1以下かつPolyPhen2, SIFT, MutationTaster, FATHMM, PROVEANによるバイオインフォマティクス解析のうち、4つ以上で有

害と判定された遺伝子を抽出した。なお、本研究は英ウィメンズクリニックおよび岡山大学倫理委員会の承認を得て、JSPSによる基盤研究C:20K09620の一環として行った。

### 【結果】

*ECH1* (p.G217R), *RDH13* (p.S32G), *SLC25A41* (p.G144S), *SURF1* (p.D202H), *ZADH2* (p.K35N) 遺伝子のミスセンス変異が検出された。14KJPNデータベース(*SURF1* (p.D202H) に関しては情報なし) と不妊群のアレル頻度に有意な差は見られなかった ( $p > 0.05$ )。 *SURF1* (p.D202H) 遺伝子変異においてはLeigh症候群との関連性が示唆されているが、不妊群19名のうち2名(22.2%)がホモ接合体でこの変異を有することが判明した。両患者はいずれも30回以上のART不成功後に治療を断念している。

### 【考察】

*SURF1*はミトコンドリア内膜に局在し、ヒトの電子伝達系においてシトクロムcオキシダーゼ(COX)の安定化を維持するためのアセンブリ因子をコードしている。Leigh症候群を引き起こす*SURF1*の遺伝子変異は60種類以上報告されているが、今回検出された*SURF1* (p.D202H) ホモ接合型変異はLeigh症候群患者にも見られる一方で、*SURF1*欠損細胞にp.D202H変異を持つ*SURF1*をトランスフェクションすると*SURF1*の安定性やCOX活性がある程度回復することから、*SURF1* (p.D202H) とLeigh症候群との関連は中立的であるとする報告もある。しかしながら、*SURF1*の変異は、ミトコンドリアのATP産生能力を低下させるため、エネルギー需要が高い卵母細胞や受精胚においては細胞分裂や成長、発達に必要なプロセスが適切に行われず、胚発生が低下する可能性が考えられる。よって*SURF1* (p.D202H) ホモ接合型変異については今後も注視する必要があると考えられた。また、今回見つかった*ECH1* (p.G217R), *RDH13* (p.S32G), *SLC25A41* (p.G144S), *ZADH2* (p.K35N) 遺伝子変異もミトコンドリア機能低下を引き起こす可能性が考えられることから、更なる研究が望まれる。

## 0-8 胚盤胞画像1枚からのAI妊娠予測：Day6胚盤胞を含むデータへも応用可能か

木田 雄大, 福永 憲隆, 辻 暖永, 吉田 静香, 徳田 愛未, 浅田 義正  
浅田レディースクリニック

### 【目的】

ARTにおいて胚培養士が形態評価に基づいて移植胚選択を行うことが一般的だが、術者間・施設間で評価に差が生じる。この差は移植胚の選択やARTの安定的提供に影響を及ぼす。そのため近年AIによる客観的で安定した胚評価の開発が進んでおり、タイムラプス画像からの自動妊娠予測が可能になってきた。当院では胚盤胞画像1枚から妊娠予測を行うPresagen社のAI「Life Whisperer (LW)」Viability (Via) と、正倍数性胚予測を行うGenetics (Gen) の2つのAIを検証している。これらのAIスコアと妊娠率及び正倍数性胚率との相関を報告し、さらにViaとGenを組み合わせることで妊娠予測パフォーマンスが有意に向上することも示している(日本卵子学会2023, 2024, 生殖医学会2023)。しかし、LWによる解析はDay5胚盤胞に限定されており、Day6胚盤胞には適用できていない。そこで、Day6胚盤胞を含めたデータセットで、組み合わせスコアを用いてAIの妊娠予測パフォーマンスを維持できるか後方視的に解析した。また、Day6胚盤胞はDay5胚盤胞に比べ妊娠率やeuploid率が低いことが知られている。そのため、Day6胚盤胞に対するマイナスの重み付けが妊娠予測パフォーマンスに有効か検証した。

### 【方法】

2018～2021年にタイムラプスインキュベーターにて培養し培養5日目の6日目に胚盤胞形成(Gardner分類 $\geq 3$ )した胚のうち、当院で単一凍結融解胚盤胞移植を行った919胚(うちDay6胚盤胞226胚)を対象とした。Day5胚盤胞はDay5時、Day6胚盤胞はDay5時とDay6時の胚画像を各々1枚抽出しGenとViaにてスコア化し、Gen:Viaを8:2の割合で組み合わせスコアを算出し、アウトカムを妊娠結果(胎児心拍)としてデータセットを作成した。推奨の4区に分類(Low, Medium, High, Very High)し妊娠率とスコアの傾向性の評価と、AUC (Area Under the Roc Curve)の解析を行った。

### 【成績】

Day6胚盤胞の解析対象画像としてDay5区・Day6区に分けAUCとグラフを評価した結果、両区ともスコア上昇に伴う妊娠率の上昇傾向が確認できた。妊娠予測のAUCに有意差は無かったが、Day6区の方が高かった(0.644 vs. 0.654  $P=0.538$ )。また、Day6胚盤胞スコアへの重み付けが有効であるか評価したところ、Day6胚盤胞のスコアに $\times 0.9$ を行うことでDay5区と比べ、Day6区のAUCが有意に高くなり(0.642 vs. 0.663  $P=0.0384$ )、最大値をとった。

### 【結論】

LWは胚盤胞画像1枚から妊娠予測を行うため、時間軸がDay5の一つしか存在せず、Day6胚盤胞は早期胚盤胞として低いスコアリングをされる。しかし、Day6胚盤胞でも胚盤胞時のスコアが高スコアであれば、Day5胚盤胞の低スコアよりは妊娠率が高い。そのため、Day6胚盤胞は、Day6時の画像を用い得られたスコアにマイナスの重み付けを行うことで予測精度を適切に調整することができた。これにより、Day6胚盤胞を含むデータセットでも、LWを有効に適用できることが示された。

## 0-9 培養4日目にて凍結した胚盤胞の臨床成績について

青井 英里, 野手 健造, 河知 美佳, 川野 広大,  
吉田 敏哉, 長谷川 麻理, 坂井 和貴, 伊木 朱有美,  
鍋田 基生  
つばきウイメンズクリニック

### 【目的】

近年, タイムラプス画像からAIによって予測する胚評価法が多くの施設で用いられている。ただし, 現時点でDay4胚についてはスコアが算出されないものもあり, より精度の向上したiDAScore version2では4日目にはスコア算出されない。これは学習データの蓄積量によるものと考えられる。今回は, Day4胚に着目し, 当院にてこれまでscore4まで拡張するのを待たずに凍結保存された胚盤胞の妊娠成績について後方視的に検討を行う。

### 【方法】

2021年1月から12月の間に単一凍結融解胚移植を行った748周期を対象とした。Day4(200周期), Day5(459周期), Day6(89周期)に

凍結した胚盤胞を, 胚齢および形態的評価によってDay4/score4良好胚をD4-L (Large), Day4/score3良好胚をD4-S (Small), Day4/Cを含む不良胚をD4-P (Poor)とし, Day5胚, Day6胚も同様にD5-L, D5-S, D5-P, D6-L, D6-S, D6-Pとして計9群に分類し, 臨床妊娠率と流産率について検討した。

### 【成績】

臨床妊娠率はDay4胚55.5%, Day5胚37.3%, Day6胚18.0%で各間で有意差が認められた ( $p<0.01$ )。また, 流産率はDay4胚20.7%, Day5胚35.1%, Day6胚62.5%とDay4胚が他と比較し有意に低かった ( $p<0.01$ )。D4-SとD5-Lを比較した場合, D5-SとD6-Lを比較した場合は, ともに臨床妊娠率に有意差は見られなかった。また, D4-Pについてその有用性を確認するために, 臨床妊娠率をD5-LおよびD5-Sと比較すると有意差なし, D5-PおよびD6-Pと比較するとD4-Pが有意に高かった。

### 【結論】

score4まで拡張を待たずDay4にてscore3で凍結した胚盤胞を用いた移植では, 臨床妊娠率, 流産率について成績が低下することはなかった。現在, 保険適用での胚移植には回数制限があるため, 移植胚の選択にはより慎重な判断が必要となっている。Day4胚についてAIによる予測が困難な場合でも, 移植胚選択の指標になり得ると考える。

## 0-10 AIスコアリングの評価を優先した移植胚決定の影響

和泉 広樹<sup>1)</sup>, 中野 達也<sup>1)</sup>, 佐藤 学<sup>1)</sup>, 中岡 義晴<sup>1)</sup>,  
森本 義晴<sup>2)</sup>

1) IVFなんばクリニック

2) HORAC グランフロント大阪クリニック

### 【目的】

胚の評価にはガードナー分類等の形態学的評価に加えて, タイムラプスインキュベーターによる動態的評価も普及している。最近では機械学習に基づいた胚のAIスコアリングも行われるようになり, 胚培養士の器量に関わらず客観的な評価も可能となっている。当院ではAIスコアリングであるiDAScore v2.0 (Vitrolife) を導入し, 移植胚決定の方法を形態学的評価から, iDAScoreを優先した方法に変更した。今回iDAScoreのcut off値による成績および, 従来の形態学的評価を考慮した場合の成績を後方視的に調べ, 評価法変更による影響を検討した。

### 【方法】

2024年1月から2024年5月にEmbryoScope+ (Vitrolife) にて観察後に凍結し, 単一融解胚盤胞移植を実施した188周期を対象とした。ROC解析により胎児心拍率と流産率のiDAScoreのcut off値を設定し,

cut off値未満と以上での胎児心拍率 (/ET) と流産率 (/GS) を比較した。次にcut off値に加え, 形態学的評価における移植可能胚 (BL3BB未満) および形態良好胚 (BL3BB以上) を考慮した4群 (cut off値未満+可能胚 (①), cut off値未満+良好胚 (②), cut off値以上+可能胚 (③), cut off値以上+良好胚 (④)) で比較を行った。

### 【成績】

ROC解析によるiDAScoreのcut off値は胎児心拍率ではiDAScore 7.0, 流産率ではiDAScore 6.0となり, 今回cut off値をiDAScore 7.0と設定した。また, iDAScore 7.0未満での胎児心拍率は44.2% (42/95), 流産率は24.0% (12/50), iDAScore 7.0以上での胎児心拍率は60.2% (56/93), 流産率は10.2% (6/59) で, 胎児心拍率がiDAScore 7.0以上で有意だった。さらにCut off値に形態学的評価も考慮した比較では, 胎児心拍率は①38.5% (15/39), ②48.2% (27/56), ③25.0% (1/4), ④61.8% (55/89), 流産率は①27.8% (5/18), ②21.9% (7/32), ③0% (0/1), ④10.3% (6/58) でいずれも差は見られなかった。

### 【結論】

今回設定したiDAScoreのcut off値以上の群において胎児心拍率が高いとの結果に加えてほとんどが形態良好であった。そのため形態学的評価を十分に反映し, 評価法の変更による悪影響はないと考えられた。一方でcut off値未満の場合は, 形態学的評価を必ずしも反映しているとはいえず, 形態学的評価も加味して移植胚を決定することで妊娠率向上につながることを示唆された。

## 0-11 多角的AIアプローチによる胚画像解析における妊娠予測精度向上

辻 暖永, 木田 雄大, 福永 憲隆, 徳田 愛未, 瀧澤 祥太, 井原 一步, 浅田 義正  
浅田レディースクリニック, 浅田生殖医療研究所

### 【目的】

近年, AIによる胚画像解析を利用した妊娠予測や正倍数性予測ツールの開発が目覚ましい。当院ではこれまでにPresagen社のAIである“Life Whisperer (LW)”を用い, AIスコアが妊娠率および正倍数性率に関連することを報告した(木田ら.2023年日本卵子学会, 徳田ら.2023年日本生殖医学会)。また“LW”の視点の異なる2つのAI (ViabilityおよびGenetics) を組み合わせることで妊娠予測精度が向上することを明らかにした(木田ら.2024年日本卵子学会)。さらに, “LW”とVitrolife社の“iDAScore (iDA)”は同等の妊娠予測精度であることも報告しているが(木田ら.2023年IVF学会), これら2つのAIの組み合わせによる影響は不明である。そこで本研究では, 妊娠予測AIであるiDAと正倍数性予測AIであるLW Geneticsという異なるAIツールの組み合わせが, 妊娠予測精度にどのような影響を与えるかを検討した。

### 【方法】

2018～2021年にEmbryoScope+8にて培養しDay5に胚盤胞形成(Gardner分類 $\geq 3$ )した胚のうち, 当院での移植初回で単一凍結融解胚移植を行った662胚を対象とした。胚画像からiDAおよびLW Genetics用いてスコア化した。胎児心拍を転写としiDAとLWの重みの比率を10:0から0:10まで変化させ, それぞれのAUCを解析した。

### 【成績】

AUCはiDA単体で0.658, LW単体で0.649であった。組み合わせではiDA:LW=6:4の際に最大値(0.672)となり, iDA単体と比較して有意差は見られなかったが高い傾向があり( $P=0.07$ ), LW単体と比較して有意に高い精度を示した( $P=0.04$ )。iDA:LW=6:4の妊娠率を四分位数で分けて傾向検定を行ったところ, 妊娠率はそれぞれ22.4%, 42.2%, 48.2%, 62.1%と推移し, スコア上昇に伴う妊娠率の統計的に有意な上昇傾向が見られた( $P<0.0001$ )。iDA単体, LW単体の四分位数分けでも最大値はそれぞれ57.9%および57.8%で, iDA:LW=6:4より低い値であった。

### 【結論】

2社の異なる特徴を持つ胚画像解析ツールを組み合わせることで, 妊娠予測のパフォーマンスが向上することが明らかとなった。これは各AIが胎児心拍(iDA)と正倍数性(LW)を予測するという別の観点を持ち, さらに胚盤胞までの成長過程を含むTime-lapse画像(iDA)と胚盤胞画像1枚(LW)を解析するという異なるプロセスを持つことで, 相乗効果をもたらしたと考えられる。これにより, AIツールの組み合わせが移植胚選択の精度を向上させる可能性が示され, 胚画像解析におけるAIの新たな有効性を提供する。

## 0-12 胚移植時のGM-CSF培養液使用はTE grade 良好な胚盤胞へ有効

菅野 弘基, 岸田 理英, 結城 笑香, 坂本 葵,  
戸石川 柊輔, 富樫 浩一, 西澤 圭織, 淵之上 康平,  
片桐 未希子, 吉田 仁秋  
仙台ARTクリニック

### 【目的】

GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) は, サイトカインとして機能し, 細胞分化・増殖等多くの働きを持つ。不妊治療においてGM-CSFは胚盤胞の細胞増殖や着床後の免疫寛容へ正の影響を与え, 反復不成功例に効果的と報告されている。着床には内部細胞塊よりも栄養外胚葉(TE)の細胞数が重要であるため, TE gradeにより胚移植時のGM-CSFが臨床成績に及ぼす影響について後方視的に比較検討した。

### 【方法】

2022年4月から2024年4月までにGardner分類4BB以上の単一胚盤胞移植を実施した513症例742周期を対象とした。胚融解後の回復培養および胚移植時の注入培養液により, 高ヒアルロン酸含有培養液(高HA群)とGM-CSF(GM群)へ分類した。検討1)高HA群とGM群の妊娠率, 流産率, 継続妊娠率を比較した。検討2)TE grade別にTE-A(AA/BA), TE-B(AB/BB)における高HA群とGM群の同項目を検討した。さらに妊娠, 流産, 継続妊娠を目的変数,

GM-CSF使用を説明変数, 妻および夫年齢, 過去移植回数, 胚移植時子宮内膜厚, 流産既往回数を調整変数とし, ロジスティック回帰分析を行った。

### 【結果】

検討1)高HA群, GM群の妊娠率38.2%, 46.0%, 流産率31.5%, 26.2%, 継続妊娠率26.1%, 33.8%であり, 高HA群と比較し, GM群の妊娠率, 継続妊娠率が有意に高かった( $P<0.05$ )。検討2)高HA群, GM群におけるTE-Aの妊娠率39.7%, 52.4%, 流産率28.8%, 24.7%, 継続妊娠率28.3%, 39.3%, TE-Bの妊娠率35.4%, 32.2%, 流産率37.1%, 31.2%, 継続妊娠率22.2%, 21.9%であり, TE-Aは高HA群と比較し, GM群の妊娠率, 継続妊娠率が有意に高かった( $P<0.05$ )。ロジスティック回帰分析における調整オッズ比(95%信頼区間上限-下限:CI)はTE-Aの妊娠1.58(1.08 - 2.30,  $P<0.05$ ), 流産0.92(0.48 - 1.76,  $P=0.794$ ), 継続妊娠1.54(1.03 - 2.31,  $P<0.05$ ), TE-Bの妊娠0.81(0.46 - 1.40,  $P=0.441$ ), 流産0.67(0.25 - 1.77,  $P=0.415$ ), 継続妊娠0.94(0.51 - 1.76,  $P=0.855$ )であり, TE-Aの妊娠および継続妊娠が有意な正の変数であった。

### 【結論】

胚融解後の回復培養および子宮内注入における培養液にGM-CSFを使用することは, 高ヒアルロン酸含有培養液と比較し臨床成績へ正の影響を与え, 特にTE grade Aで影響が顕著であった。GM-CSFの受容体はTEへ発現が認められ, 胚盤胞においてGM-CSFが作用するとオートクラインによりGM-CSFが分泌される可能性が報告されている。そのため, 胚盤胞へのGM-CSF効果は受容体の数により亢進すると考えられ, TE grade Aは細胞数が多く, GM-CSF受容体も多くなることで顕著に正の影響が得られたと推察される。

## 0-13 Ex utero 培養システムによる異常分割胚の着床周辺期発生の理解

辻 暖永<sup>1,2)</sup>, 福永 憲隆<sup>2)</sup>, 浅田 義正<sup>2)</sup>, 杉村 智史<sup>1)</sup>

1) 東京農工大学大学院連合農学研究所

2) 浅田レディースクリニック

### 【目的】

ヒトARTでは、Time-lapse インキュベーターの普及により、胚の形態動態的評価が進み、移植胚の選択が一般的になりつつある。特にDirect cleavage(DC)などの第一分割様式は重要なバイオマーカーとされているが、DC胚が胚盤胞に成長すれば、そのグレードに応じた妊娠率が得られるとされている。しかし、分割様式が子宮内での胚発生や着床シグナル伝達に与える影響は、依然として解明されていない。当該研究が進展しない理由として、子宮内胚発生や着床のリアルタイム観察の技術的制約、分子基盤の理解不足、そしてヒト胚研究に伴う倫理的制約が挙げられる。近年、子宮外でウシ胚を長期間培養できるシステムが開発され、特にアガロースゲルを用いた気液界面培養(on-gel培養)により、胚の着床周辺期の発生が体外で再現できることが示されている。また、着床周辺期のウシ胚、特に栄養外胚葉の遺伝子発現プロファイルがヒト胚とそれと類似していることも報告されている。本研究では、ウシ胚をモデルとし、on-gel培養の条件を系統的に最適化し、さらに第一分割様式ごとの胚発生およびRNA-seqによる発現プロファ

イルを解析することで、異常分割胚の子宮内での動態および分子基盤の理解を目指した。

### 【方法】

食肉処理場由来の卵巣から卵子卵丘細胞複合体を採取し、体外成熟および体外受精後、BO-IVC液ならびにCCM-iBISで培養した(38.5°C, 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>)。on-gel培養は、Day 8の孵化胚盤胞をRPMI1640とKSRを基本とした培養液と1.5%アガロースゲルで行い、Day 16まで培養した。培養後の評価には、胚の生存率と面積を計測し、栄養外胚葉をサンプルとしたSMART-seqによるRNA-seqを実施した。

### 【成績】

on-gel培養では、複数胚の同時培養が胚の生存率向上に寄与することが明らかとなった。培養液としてはRPMI1640と高グルコースDMEMが最適であり、グルコースとイノシトールが孵化胚盤胞の成長に重要な役割を果たしていることが示された。酸素濃度は10%が最適であった。正常分割胚と異常分割胚の生存率にDay 16時点で有意差はなかったが、異常分割胚は胚の面積が有意に小さいことが確認された。しかし、階層的クラスタリングや主成分分析による遺伝子発現プロファイルには、正常分割胚と異常分割胚の間で顕著な差は見られなかった。

### 【結論】

本研究は、孵化胚盤胞の発育に影響を与える因子について新たな知見を提供し、異常分割胚の細胞増殖が遅延する一方で、遺伝子発現プロファイルには異常がないことを明らかにした。この結果は、ヒトにおける異常分割胚が胚盤胞まで発生すれば産児を得られる可能性を裏付けるものである。

## 0-14 精子クロマチン分散試験(SCD)検査による精子DNA断片化評価と喫煙歴

古井 憲作, 古井 達人, 川口 由佳, 皆元 裕子, 鈴木 範子, 安藤 寿夫

豊橋市民病院総合生殖医療センター

### 【目的】

喫煙習慣による酸化ストレスは何年も先の未来にがんをはじめ様々な成人病を生じ得ることが知られているが、精子DNA断片化(SDF)への影響は明らかでない。DNA断片化が著しい精子でも支障なく受精は成立するものの、断片化修復にエネルギーを費やしてとりわけ老化卵子では胚発生ポテンシャルが低下するとされる。そこで今回、喫煙歴の精子DNA断片化への影響を明らかにすることを目的として研究を行った。

### 【方法】

WHO精子検査マニュアル第6版(2021)に初めて詳細に掲載された精子の「質」に関する検査においてSDF検査の中で精度・感度ともに良好とされた数種類の検査のうち、患者目線でも「見える化」が特長な精子クロマチン分散試験(SCD)検査としてハロースパーム検査を

採用した。今回、ART54症例の中から喫煙歴ありの男性を喫煙歴群、喫煙歴なしでも正常受精卵6個以上でタイムラプス胚発生が不良だった症例、少数採卵数で不成功を繰り返している症例、初回採卵周期前でも5年以上の不妊歴を有する症例の非喫煙歴男性を対照群として、喫煙歴とSCD検査結果を詳細に分析した。対照群には、喫煙同様に酸化ストレスの要因となる肥満(BMI30超)や精液中に細菌が存在する事が証明された男性を除外した。

### 【成績】

画像認識で評価され自動カウントされる精子数からSDFが最も少ないBigハロー精子とMediumハロー精子の割合を算出した「正常率」は、喫煙歴群と対照群いずれにおいても加齢によるSCD検査結果への影響が顕著であり、個人差もあって喫煙の有無で差異を認めなかった。しかし、男性年齢43歳未満に限定したところ、「正常率」95%以上かつBigハロー率45%以上の男性は、非喫煙群では1例(全体17例中)にすぎず対照群では7例(全体19例中)となった( $P=0.03$ )。

### 【結論】

生殖医療において喫煙歴の悪影響は一般にも周知が広まりつつあり、正確な問診情報が得られ難くなってきているが、SCD検査における独自の新しい指標で明確に喫煙歴の悪影響を示すことができた。検査結果の「見える化」により男性には禁煙の徹底を女性には胚発生不良や着床不全や流産に対するストレスを軽減する事に貢献することが期待できる本検査は、カップルのモチベーションを高めて間接的にART成績を向上させる可能性もあると推察された。

## 0-15 毎日の朝食摂取は良好な生殖補助医療の治療成績に貢献する

小野 政徳<sup>1)</sup>, 林崎 優子<sup>1)</sup>, 濱田 千代<sup>1)</sup>, 北水 万里子<sup>1)</sup>,  
上野 啓子<sup>1)</sup>, 藤原 智子<sup>2)</sup>, 毎田 佳子<sup>3)</sup>, 藤原 浩<sup>4)</sup>,  
久慈 直昭<sup>5)</sup>, 西 洋孝<sup>1)</sup>

1) 東京医科大学  
2) 京都ノートルダム女子大学  
3) 金沢大学  
4) おち夢クリニック名古屋/麻布大学  
5) Noah ARTクリニック武蔵小杉

### 【目的】

生殖医療の治療成績は薬剤・胚培養・凍結技術の改善とともに進歩してきた。さらなる治療成績の改善のために新たな視点で介入法を探る必要があり、時間生物学に着目した。生物の生体リズムは時計遺伝子群の周期的な発現によって形成され、多くの標的遺伝子の発現を制御している。この生体リズムは、視床下部の視交叉上核にある中枢時計と、全身の細胞にある末梢時計によって制御されており、これまでに時計機能の異常が糖尿病、脂質異常症、高血圧やうつ病の発症率を上げることが報告されてきた。最近では、頻繁に夜勤のあるシフトワークが、排卵障害、不妊症および不育症のリスクを増加させることも報告された。これまでに我々のグループは、マウス子宮で時計遺伝子が24時間の発現リズムを有し、摂食刺激で子宮時計遺伝子の周期的な発現がリセットされること、28時間周期の時間制限給餌で子宮時計遺伝子の発現が静止すること、子宮特異的な時計遺伝子Bmal1欠損マウスで

は流死産が起きること、ヒト卵巣顆粒膜細胞における性ステロイド合成は時計遺伝子の影響を受けることを明らかにしてきた。本研究では不妊症患者における朝食摂取頻度とART成績との関連を検討した。

### 【方法】

本研究は、2022年2月から2024年1月にかけて東京医科大学病院で実施した。脳血管障害、心疾患、悪性腫瘍、糖尿病の既往のない不妊症の女性患者101人が本研究に登録された。質問票から抽出された因子は、ART前および20歳時の食事摂取頻度、喫煙状況、飲酒状況などであった。年齢、肥満度、抗ミューラー管ホルモン値、妊娠分娩歴等のデータは、医療記録から収集した。評価した臨床転帰は、移植胚数、臨床妊娠率、継続妊娠率、生産率、流産率とした。統計解析には一般化推定方程式(GEE)法を使用した。食事摂取頻度に関連する群指標と測定された交絡因子を説明変数として含めた。P<0.05で統計的に有意とした。

### 【成績】

年齢、喫煙状況、飲酒状況、肥満度、抗ミューラー管ホルモン値、妊娠分娩歴を含む潜在的交絡因子を調整した後、ART転帰の多変量解析を行った。患者を1週間の朝食、昼食、夕食の摂取頻度に基づいてグループに分類し解析したところ、毎日朝食を摂取する群は、それ以外の群と比較してART治療後の生産率が高く、流産率が低かった。

### 【結論】

毎日朝食を摂取することは、良好なART成績と関連していた。本研究結果は、ARTにおいて毎日朝食を摂取することの重要性を示唆している。

## 0-16 子宮内Lactobacillusを増加させるサプリメントとその投与方法による効果の違い

坂井 和貴<sup>1)</sup>, 伊木 朱有美<sup>1)</sup>, 河知 美佳<sup>1)</sup>, 川野 広大<sup>1)</sup>,  
吉田 敏哉<sup>1)</sup>, 野手 健造<sup>1)</sup>, 長谷川 麻理<sup>1)</sup>, 細川 忠宏<sup>2)</sup>,  
鍋田 基生<sup>1)</sup>

1) つばきウイメンズクリニック  
2) 株式会社パートナーズ

### 【目的】

我々はこれまで、凍結融解胚移植周期の子宮内環境についてLactobacillus占有率が高いと臨床妊娠率が有意に高く、子宮内細菌叢の改善は妊娠成績の向上に非常に重要であることを報告した。子宮内フローラ検査でLactobacillus占有率が低値であった患者に対する子宮内環境の改善策として、乳酸菌サプリメント投与の有用性と適切な投与経路を検討する。

### 【方法】

2022年2月から2023年2月の子宮内フローラ検査でLactobacillus占有率が10%未満であった患者のうち、同意の得られた40症例を対象とした。抗菌薬治療後に乳酸菌サプリメント「プロバイオティクス」を

1日1カプセル1か月間、経口投与もしくは経膣投与を行い、再検査を実施し投与前後の変化の違いやLactobacillus占有率を比較した。尚、Lactobacillus占有率が90%以上に増加した症例を「治癒」、10%以上90%未満に増加した症例を「改善」、10%未満のままを「変化なし」とした。

### 【成績】

経口投与後は17.6%が治癒、17.6%が改善したのに対して、経膣投与後は57.1%が治癒、28.6%が改善し、経口投与に比べ経膣投与の方がLactobacillus属が増加した症例が有意に多かった。また、Lactobacillus占有率を投与経路ごとに投与前後で比較すると、経膣投与の症例で有意に増加し、経口投与では有意差は認められなかった。子宮内フローラ検査結果について解析を行い投与前後で比較すると、投与前はGardnerella, Bifidobacterium, Streptococcusが半分以上を占めていた。投与後は、投与経路によって菌種の組成が異なり、経膣投与後はサプリメント含有菌種であるLactobacillus acidophilusおよびLactobacillus rhamnosusの増殖が認められ、定着していることが明らかになった。

### 【結論】

子宮内のLactobacillus占有率が10%未満の患者に対して、乳酸菌サプリメントの経膣投与が有用であることがわかった。投与方法による効果の差があり、経口投与より経膣投与の方が子宮内細菌叢の改善により有効である可能性が示唆された。

## 0-17 不妊治療患者におけるPRP卵巣注入治療を受ける患者の意識

藤井 美喜, 岡本 恵理, 苔口 昭次, 塩谷 雅英  
英ウィメンズクリニック

### 【目的】

2022年3月から卵巣機能の改善や卵の質の向上に向けてPRP卵巣注入を開始した。PRP卵巣注入治療に対する患者の意識を明確にし、患者が効果的に治療を受けられることを目的にアンケートを実施した。

### 【方法】

2022年3月～2024年3月に初回PRP卵巣注入治療を受けた患者に対して、治療当日にアンケートをお渡しし、アンケートBOXにて回収した。注入時の痛みはFace Rating Scale (FRS) スコアを用いて評価した。

### 【結果】

PRP卵巣注入治療を受けた患者45名の年齢は40.7(±4.3)歳、不妊治療期間3.8(±2.9)年、採卵回数7.9(±8.0)回、移植回数1.4

(±2.1)回、治療当日のAMHは0.4(±1.0)ng/mlであった。アンケート回収は19名であった(回収率42.9%)。PRP卵巣注入治療を受けた理由は、「卵を多く成長させたい」が最も多く、次は「卵の質の向上」であった。治療の情報源は「医師」57.8%が最も多く、次に「インターネット」15.8%であった。注入時の痛みは、「痛みなし」0%、「ほんの少し痛い」31.6%、「少し痛い」42.1%、「もっと痛い」21.1%、「かなり痛い」5.2%、「最大の痛み」0%と軽度痛みを感じた人が多かった。治療に望むことは、「卵が成長して欲しい」「妊娠率や出産率の向上」「費用の改善」などの意見がみられた。パンフレットの内容については78.9%の人が「わかりやすい」と返答していたが、「効果の持続性」「どこまで効果があるのか」を知りたいという意見があった。「治療の流れ」の説明に対しては84.2%の人が「わかりやすい」と返答していたが、「治療後のタイムスケジュール」を知りたいという意見があった。

### 【考察】

PRP卵巣注入時の患者は、卵の成長や質の向上に対する切実な思いがみられた。その思いを理解して、ケアに関わることが大切である。また、PRP卵巣注入の痛みは軽度みられた。注入時には付き添い、声かけやタッチングなどから痛みの軽減に努めたい。また、治療に対する効果について知りたいという意見がみられた。今後データを積み重ねていくことで有効性をお伝えできるようにしていきたい。

## 0-18 原疾患寛解後の精液検査の有用性と妊孕性温存の重要性

安藤 光里<sup>1)</sup>, 幸池 明希子<sup>1)</sup>, 宮本 有希<sup>1)</sup>, 佐藤 学<sup>2)</sup>, 森本 義晴<sup>1)</sup>

1) HORAC グランフロント大阪クリニック

2) IVF なんばクリニック

### 【目的】

2017年に設立された「大阪がん・生殖医療ネットワーク(OO-net)」を機に、当院での妊孕性温存目的の男性患者数が年々増加している。本研究では、原疾患寛解後の精液検査の有用性と妊孕性温存の重要性について検討した。

### 【方法】

2016年2月から2024年4月までに妊孕性温存目的で当院に紹介・問い合わせのあった149症例について、年齢、原疾患の割合、原疾患治療後の精液検査実施の有無、凍結精子融解の有無を後方視的に調べた。

### 【成績】

患者年齢は13歳から58歳(平均29.2±10.2歳)で、AYA世代(15-29歳)が71例と最も多かった。原疾患は悪性リンパ腫(25%)、急性白血病(20%)、骨肉腫(11%)、精巣がん(8%)の順に多く見られた。凍結保存できた140例のうち、原疾患治療後に来院したのは8.5%(12/140例)であった。全例で総精子濃度の低下がみられたが、7例で造精機能の回復が見られ、うち1例が自然妊娠、1例が人工授精で妊娠した。5例は無精子症であり、体外受精からの治療を行った。凍結精子融解率は50%(6/12例)で、4例は体外受精胚移植法を実施し産児を得た。

### 【結論】

原疾患寛解後の精液検査は、造精機能の回復状況を評価し、適切な治療法を選択する上で有用であることが示された。半数以上で造精機能の回復が見られ、自然妊娠や人工授精での妊娠も認めたことから、挙児希望時には必ず精液検査を実施が望ましいと考えられる。一方、無精子症例や造精機能が回復しなかった症例でも、事前に凍結保存した精子を用いることで産児を得られていることから、原疾患治療前の精子凍結による妊孕性温存の重要性が再確認された。今後は、ネットワークを通じて地域連携を強化し、原疾患治療側にも妊孕性温存療法の必要性を引き続き発信していく必要がある。

## 0-19 運動精子選別装置「ミグリス」と密度勾配遠心分離法における妊娠成績の比較

野村 瑠莉, 岸 加奈子, 鈴木 理恵, 籠橋 茜, 松浦 まき, 中居 由稀, 古橋 孝祐, 江夏 徳寿, 岡本 恵理, 苔口 昭次, 塩谷 雅英  
英ウィメンズクリニック

### 【目的】

精子調整で用いられる密度勾配遠心分離法 (DGC) は精子に対する物理的ダメージやDNA fragmentation Index (DFI) の増加が懸念されている。過去当院で行った検討では、遠心分離を行わず運動良好精子を選別する装置「ミグリス」(株式会社メニコン) の使用により、DGCと比較してDFIが有意に低下することを報告した(鈴木ら, 2021)。そこで本検討では、ミグリスによる妊娠成績への影響について後方視的に検討を行った。

### 【方法】

2020年から2022年に単一胚盤胞移植を行った症例を対象とした。採卵時の精子調整法によりDGC群(2380周期)およびミグリス群(104周期)に分け、臨床妊娠率、流産率及び出生児性比について比較検討した。両群間において採卵時年齢(DGC群35.9±4.1歳 vs. ミグリス群35.6±4.0歳)に有意な差は認めなかったが、平均ART回数(DGC

群1.8±1.7回vs. ミグリス群2.3±2.0回)は、ミグリス群が有意に多かった( $p<0.01$ )。有意差検定には $\chi^2$ 検定を用いた。出生児性比を比較するにあたり2021年の日本の出生児性比を基準値とした。また、出生児性比は女兒を1.0とした時の男児の比率で示した。

### 【成績】

臨床妊娠率(DGC群36.8% vs. ミグリス群40.4%)、流産率(DGC群22.8% vs. ミグリス群28.6%)に有意な差は認めなかった。2021年の日本の出生児性比は1.1(男児415,903人 vs. 女児395,719人)であり、DGC群は1.0(男児343人 vs. 女児340人)、ミグリス群は2.0(男児20人 vs. 女児10人)であった。ミグリス群において、日本の出生児性比およびDGC群と比べ有意な差はないものの男児が多い傾向にあった( $p=0.09$ ,  $p=0.08$ )。

### 【結論】

DGC群とミグリス群を比較したところ、ミグリス群のART回数が有意に多いにもかかわらず、両群間の妊娠成績に有意差を認めなかった。当院では移植胚が得られない症例や移植の反復不成功症例に対して、精子へのダメージを軽減することを目的として、ミグリスでの調整を推奨している。そのためミグリスにより精子のDFIが低下し、妊娠率が向上したことが考えられた。出生児性比は、日本の出生児性比およびDGC群と比較してミグリス群で高い傾向にあった。Y染色体精子よりもX染色体精子の頭部の密度が高いこと(Cui and Matthews, 1993)やY染色体精子の前進速度が速いこと(Ericsson et al. 1973)が知られている。Y染色体精子の方がより早く遠くまで進むことが可能であり、ミグリスの精子回収部分により多く集まるのではないかと考えられた。このことから、ミグリスを用いた精子調整ではY染色体を含む精子が選別されやすい可能性が示唆された。

## 0-20 当院における膜構造を用いた生理学的精子選択術(ZyMot)の有用性

宮村 知子, 清水 佑菜, 石川 立, 和泉 香菜子, 日野 沙也加, 川合 優菜, 星田 汐美, 榎原 由佳, 山口 和香佐, 俵 史子  
俵IVFクリニック

### 【目的】

膜構造を用いた生理学的精子選択術(以下ZyMot)による精子回収方法は、当院で従来行っている密度勾配遠心法+Swim up(以下DGCS)と比較し、ICSI後の良好胚盤胞率が向上することが報告されている一方、受精発生率に差がないという報告もあり、その有用性は十分に明らかにされていない。本研究では、当院において過去にDGCSによるICSIを行い、その後の周期でZyMotを用いた同一患者症例において治療成績の改善が見られるかを後方視的に検討し、その有用性および適応となる具体症例を提示することを目的とした。

### 【方法】

2024年1-7月に当院にてZyMotを実施した33症例を対象とした。

ZyMot適応となる患者は、他院での採卵を含めICSIを実施していること、総運動精子数が $0.1 \times 10^6$ 以上の新鮮精子を使用した症例であることを条件とした。同一患者におけるZyMot周期とその前周期(ICSI周期)を、検討1. 原精液の運動精子濃度と培養成績および臨床成績、検討2. 採卵時の妻年齢と培養成績および臨床成績、検討3. 高度乏精子症における症例の詳細、予後について比較した。

### 【成績】

検討1. 原精液の運動精子濃度 $10 \times 10^6$ /ml未満の症例において、ZyMot施行周期の凍結率(38.5% vs 18.7%,  $p=0.103$ )、良好胚盤胞発生率(31.2% vs 16.3%,  $p=0.235$ )がDGCS周期よりも高い値を示した。検討2. 妻年齢が40歳以上において、ZyMot施行周期の良好胚盤胞発生率がDGC周期よりも有意に高い値を示した(17.8% vs 5%,  $p=0.05$ )。検討3. ZyMotによる精子回収後の精子濃度が $0.1 \times 10^6$ /ml以下の症例において、DGCS-ICSIにより得られた胚盤胞を移植したものの、妊娠に至らなかったが、ZyMot-ICSIにより得られた胚を移植後、妊娠、現在妊娠継続中である症例が確認された。

### 【結論】

DGCS周期と比較し、ZyMot周期において胚盤胞凍結率、良好胚盤胞凍結率、臨床妊娠成績が高い傾向がみられた。また運動精子濃度が低い症例、妻年齢が40歳以上である症例において、高い培養成績が得られたことから、ZyMotは培養成績の改善に向けたオプションとなりうることが示唆された。

## 0-21 ZyMot™Multiスパームセパレーターの有効性についての検討

森田 恵理華, 濱野 絵理香, 山城 恵美, 渡邊 英明,  
白井 安砂子, 田畑 さくら, 木村 将貴, 堀川 隆,  
丸山 哲夫, 高見澤 聡, 中川 浩次, 杉山 カー  
杉山産婦人科新宿

### 【目的】

マイクロ流体技術を用いた非遠心型精子調整デバイスであるZyMot™Multiスパームセパレーターは、遠心処理を行わずに短時間で良好運動精子を回収することが可能である。遠心処理を行わないため精子DNAへのダメージが軽減され、培養成績や妊娠率の向上、また流産率の低下などが報告されている。当院では2023年9月よりZyMot™Multiスパームセパレーターを導入したので、その有用性を検討した。

### 【方法】

2023年1月～12月に当院にてICSIを行った1204症例1968周期を対象として、以下の検討を行った。検討1：ZyMot™Multiスパームセパレーターを使用し調整を行ったZ群（276症例317周期）と遠心処理を行う方法にて調整を行った通常群（1048症例1651周期）の培養成績（正常受精率・胚盤胞率・良好胚盤胞率）を後方視的に比較検討した。検討2：検討1のそれぞれの周期より得られた胚盤胞の凍結融解胚移植による臨床成績（臨床妊娠率・流産率）を比較検討した。検討3：検

討1より男性不妊因子が関与している症例のみを抽出し、培養成績・臨床成績を比較検討した。統計には $\chi^2$ 検定を用いた。

### 【成績】

検討1：Z群と通常群の正常受精率は、83.6%（1439/1721）、84.0%（6223/7405）であり有意差は認めなかった（ $p=0.66$ ）。Z群の胚盤胞率は58.2%（838/1439）であり、通常群と同等（59.8%[3722/6223]、 $p=0.27$ ）であったが、良好胚盤胞率は31.3%（451/1439）と通常群より有意に高くなった（23.8%[1482/6223]、 $p<0.01$ ）。検討2：妊娠率はZ群で50.4%（62/123）、通常群で42.8%（413/964）、流産率はZ群で22.6%（14/62）、通常群で22.5%（93/413）であり、いずれも有意差は認めなかった（ $p=0.11$ 、 $p=0.87$ ）。検討3：Z群と通常群の正常受精率は、78.0%（351/450）、81.8%（1522/1860）であり有意差は認めなかった（ $p=0.07$ ）。Z群の胚盤胞率は67.6%（238/351）であり、通常群と同等（63.7%[969/1521]、 $p=0.32$ ）であったが、良好胚盤胞率は36.9%（130/351）と通常群より有意に高くなった（25.4%[387/1521]、 $p<0.01$ ）。一方、妊娠率においてはZ群で64.3%（27/42）と通常群より有意に高くなった（42.1%[117/280]、 $p<0.01$ ）が、流産率はZ群で14.8%（4/27）と通常群と同等であった（11.1%[13/117]、 $p=0.59$ ）であった。

### 【結論】

通常群と比較しZ群において、良好胚盤胞が有意に高率であったことから、ZyMot™Multiスパームセパレーターの使用は胚発育において有用であると考えられた。一方、融解胚移植の臨床成績では、全体としては妊娠率、流産率に差は認めなかったが、男性不妊因子ありの症例では臨床妊娠率が有意に高率であった。今後は患者背景を揃えて再度検討していこうと考えている。又、良好胚盤胞率が高いことから、PGT-A症例での検討も行いたい。

## 0-22 2細胞期多核胚の核の数とサイズが妊娠成績に及ぼす影響

中井 康弘, 堅田 千晶, 大橋 いく子, 中東 久子,  
永井 美緒, 岡本 明子, 矢野 浩史  
矢野産婦人科

### 【目的】

胚の形態動態的特徴に基づく移植胚の選択は、Time to Livebirthを短縮する上で重要である。分割期胚における多核は頻りに観察されるが、その臨床的転帰への影響については依然として議論が続いている。タイムラプスインキュベーターを用いた観察により、異なる核の数や大きさを持つ多核胚が確認されるが、これらの核数や核サイズが臨床的転帰に与える影響を詳細に検討した研究は少ない。本研究では、2細胞期胚における核数および核サイズの均等性が、妊娠率および流産率に与える影響を検討した。

### 【方法】

2018年1月から2024年4月までに当院で採卵および単一融解胚盤胞移植を実施した341例、744周期を対象に後方視的検討を行った。タイムラプス画像を用いて2細胞期胚の核数および核サイズの均等性を評価し、ロジスティック回帰分析を用いて交絡因子を調整した上で、臨床妊娠率、継続妊娠率および流産率への影響を解析した。

### 【成績】

2細胞期における核数を1、2、3、4、5個以上の5群、および核サイズの均等、不均等の2群に分類して解析を行ったが、臨床妊娠率、継続妊娠率および流産率のいずれにおいても統計的有意差は認められなかった。

### 【結論】

本研究では、2細胞期胚の核数および核サイズの均等性が臨床的転帰に及ぼす影響を検討したが、いずれも統計的に有意な関連は認められなかった。これにより、2細胞期胚の核数および核サイズの均等性は、移植胚の選択において考慮する必要性はないことが示唆される。

## 0-23 紡錘体不可視卵における経時的变化の観察とその培養成績の検討

岩瀬 寛子, 寄田 朋子, 後藤 優介, 原田 祐紀,  
戸水 桐子, 梶田 新, 近藤 希衣, 和田 龍, 向田 哲規  
広島HARTクリニック

### 【目的】

当院ではICSI施行の際、第一極体の有無による成熟性判断に加えて、全症例紡錘体の観察を行っている。紡錘体の位置観察ではICSI穿刺で紡錘体を傷つけるのを防ぎ、紡錘体可視卵にICSIすることで正確なICSI至適時期の判断が可能となる。これまで年齢別の紡錘体可視化率とその後の胚発育について発表してきた(2018年日本受精着床学会他)。今回症例を追加し更なる紡錘体観察の有用性について検討したので報告する。

### 【方法】

2023年1月～12月にICSIを施行した796症例6577個の卵子を対象とし、トリガーから39～40時間後に卵丘細胞を除去した後、第一極体の有無を確認後、紡錘体観察を施行した。妻年齢を39歳以下と40歳以上の二群に分け、検討1:紡錘体可視化率、検討2:紡錘体不可視卵を1時間後に再観察した際の変化率、検討3:紡錘体可視卵を+群(A群)、紡錘体不可視卵のうち、1時間後に紡錘体が観察された卵を-→+群(B群)、観察されなかった卵を-→-群(C群)、紡錘体の変化を待たずにICSI施行した卵を-群(D群)とし、それぞれの受精率、Day5胚盤胞到達率について解析した。

### 【成績】

検討1:紡錘体可視化率は39歳以下で88.4%(2955/3344)、40歳

以上で83.3%(2025/2432)となり、39歳以下で有意に高かった( $P<0.001$ )。検討2:紡錘体不可視卵の1時間後可視化率は39歳以下で64.7%(130/201)、40歳以上で58.4%(160/274)となり、有意差は認められなかった。検討3:39歳以下においてA群、B群、C群、D群の受精率は86.1%(2543/2955)、76.9%(100/130)、35.2%(25/71)、59.2%(58/98)となり、全ての群間で有意差が認められた( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ )。Day5胚盤胞到達率は57.0%(1449/2543)、34.0%(34/100)、12.0%(3/25)、37.9%(22/58)となり、A群は他の群と比較して有意に高く( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ )、D群はC群と比較して有意に高かった( $P<0.05$ )。40歳以上においてA群、B群、C群、D群の受精率は84.0%(1700/2025)、80.6%(129/160)、36.8%(42/114)、59.1%(26/44)となり、A・B群はC・D群と比較して有意に高く( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ )、D群はC群と比較して有意に高かった( $P<0.05$ )。Day5胚盤胞到達率は38.4%(652/1700)、20.2%(26/129)、14.3%(6/42)、19.2%(5/26)となり、A群はB・C群と比較して有意に高く( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ )、B群はC群と比較して有意に高かった( $P<0.001$ )。

### 【結論】

裸化処理直後の紡錘体可視化率は39歳以下で有意に高くなった。しかし、両群において紡錘体不可視卵の約6割が1時間後に紡錘体可視化卵へと変化しており、紡錘体不可視卵の1時間後可視化率は年齢による差は無かった。また39歳以下、40歳以上の両群においてB群はC群、D群と比較して受精率が有意に高くなった。D5胚盤胞到達率には紡錘体変化の差による有意な差はなかったがC群で低い傾向にあった。これらのことから、裸化処理後に紡錘体が不可視状態のMII期卵であっても、可視状態へ変化した後にICSIを施行することで、受精率が向上し、それに伴って獲得できる胚盤胞数が増加することが示唆された。紡錘体の経時的な変化は卵子の質の評価に反映でき、受精結果や胚発達を考察する際の一つのツールとなる。

## 0-24 ICSI由来の1PN胚の臨床的有用性について

宮崎 孔龍, 齋藤 雅人, 佐藤 恵, 中島 いくみ,  
福田 晋也, 朱 丞華, 榎谷 法生, 田中 智基,  
原口 広史, 松本 玲央奈  
松本レディースIVFクリニック

### 【目的】

臨床において1前核(1PN)胚に遭遇することがある。しかし、1PN胚の取扱いについて明確な基準が定められていない。顕微授精(ICSI)由来の1PN胚は、単為発生であり生児を得られないという報告や、ICSI由来の1PN胚は全てモザイク胚であるという報告から、移植を実施しない方針の施設も多い。一方、ICSI由来の1PN胚を移植し正常産児を得た報告もある。当院ではICSI由来の1PN胚は凍結し、十分なインフォームドコンセントの後に胚移植をおこなっている。そこで当院におけるICSI由来の1PN胚の臨床的有用性を検討した。

### 【方法】

2020年2月から2024年5月までのICSIを実施した採卵周期を対象とした。1PNの発生への影響を検討するために、一般化線形混合モデル(GLMM)を用いた。モデルでは採卵時年齢、胚盤胞への発生、Day5凍結、Day6凍結、良好胚(Gardner Grade BB以上)であるか、を13,546個の胚毎にデータを抽出し変数とした。さらに患者毎

の胚を対応のあるデータとして調整するために、各患者のIDをランダム効果としてモデルに組み入れ、1PNを目的変数として解析を行った。またICSI由来の1PN胚を用いた20周期の移植を対象に予後調査した。本研究における有意水準は $\alpha<0.05$ とした。

### 【成績】

ICSI由来の1PN胚の凍結率は9.7%(43/443)であった。1PNに対して関連が見られた変数は年齢(推定値 $-0.001$ ,  $P<0.01$ )、胚盤胞への発生(推定値 $-0.063$ ,  $P<0.01$ )、Day5凍結(推定値 $-0.015$ ,  $P=0.01$ )であった。その他の変数では有意な関連は見られなかった。ICSI由来の1PN胚移植を20周期(Day5良好胚/Day5凍結胚=7/8, Day6良好胚/Day6凍結胚=6/12)行い、3周期(Day5 4BA, Day6 4AA, Day6 4AA)で臨床妊娠が確認された(妊娠率15.0%)。妊娠に至った3例については男児2人、女児1人の正常産児が得られ先天性異常は出産報告時点では確認されなかった。

### 【結論】

本研究において1PN胚は、胚盤胞への発生とDay5凍結へ悪影響を及ぼしていた。既に報告されている1PN胚は2PN胚と比較して胚盤胞発生が不良である報告と一致した。さらに当院において、ICSI由来の1PN胚移植を実施後、出産報告時点で正常産児3例を得ることができた。ICSI由来の1PN胚移植後の正常産児獲得率は4.0%(1/25)であると先行研究において示されている。従ってICSI由来の1PN胚は胚発生が不良であるが、胚盤胞になった場合は凍結し、十分なインフォームドコンセントをもとに移植を実施することで、臨床的に有用であると考えられる。

## 0-25 脂肪酸添加融解液が臨床成績に与える影響

森田 恵理華, 山城 恵美, 渡邊 英明, 白井 安砂子,  
田畑 さくら, 堀川 隆, 高見澤 聡, 中川 浩次,  
杉山 カー  
杉山産婦人科新宿

### 【目的】

胚発生のエネルギー源である脂肪酸が、凍結過程において流出し融解後の胚発育に影響を与えることが指摘されている。また、近年脂肪酸が添加された融解液を使用した報告は散見されるが、その結果は一樣ではない。そこで今回、脂肪酸添加融解液が単一融解胚移植における臨床成績に与える影響について比較検討を行った。

### 【方法】

2021年1月から2024年4月の間に当院にて単一融解胚移植を施行した12,021周期を対象とした。従来から使用していた脂肪酸非添加融解液を使用した群（以下、非添加群）8,957周期〔分割胚期862周期（平

均38.9歳）、胚盤胞期8,095周期（平均37.0歳）〕と、脂肪酸添加融解液を使用した群（以下、添加群）3,071周期〔分割胚期97周期（平均40.3歳）、胚盤胞期2,974周期（平均36.5歳）〕の2群に分け、移植胚のステージ別にそれぞれの臨床成績を後方視的に比較検討した。統計学的処理は、 $\chi^2$ 乗検定を用いて行った。

### 【成績】

分割胚期胚移植では、非添加群、添加群の臨床妊娠率に有意差は認められなかった（非添加群23.2%〔200/862〕、添加群24.7%〔24/97〕、 $p=0.69$ ）。流産率も両群に有意差は認められなかったが、添加群で低率であった（非添加群23.5%〔47/200〕、添加群4.2%〔1/24〕、 $p=0.055$ ）。胚盤胞移植では、非添加群、添加群の臨床妊娠率に有意差は認められなかった（非添加群58.5%〔4733/8095〕、添加群57.4%〔1706/2974〕、 $p=0.93$ ）ものの、流産率は添加群で優位に低率であった（非添加群21.0%〔778/3694〕、添加群16.7%〔230/1376〕、 $p<0.01$ ）。

### 【結論】

今回の検討では、凍結融解胚移植時に脂肪酸添加融解液を使用することにより、有意な流産率の低下が認められた。諸家の報告でも、融解後の胚発生の改善（分割期）、臨床妊娠率の改善などが認められており、今後も症例数を増やし更なる検討を進めたい。

## 0-26 ワンステップ急速融解法による胚盤胞移植の臨床成績

加藤 麗夏, 糸井 史陽, 大野 望, 中村 早紀,  
森 香菜江, 渡邊 鈴美香, 田中 梨央, 秋田 真央,  
東山 雛乃, 鎌田 美佳, 服部 幸雄  
なごやARTクリニック

### 【目的】

近年、Thawing solution (TS) のみを用いたワンステップによる胚の急速融解法は、4ステップによる融解法（従来法）に比べて良好な成績が得られるとともに操作時間の短縮が出来ると報告された（Liebermann, 2024）。当院でも、ワンステップ急速融解法（ワンステップ法）の有用性および複数種類のTSによるワンステップ法について検討したので報告する。

### 【方法】

2022年1月から2024年6月の期間に女性年齢42歳以下で凍結融解胚盤胞移植を行った1380周期を対象とした。従来法は室温下にて4ステップで融解し回復用培養液に移した。ワンステップ法は37°CでTSに1分間浸漬後、回復用培養液に移した。さらに数時間後にどちらも移植用培養液に移し移植に供した。【検討1】従来法で融解した

1101周期とワンステップ法で融解した279周期における各群の臨床成績を比較した。【検討2】ワンステップ法において、異なるメーカーのTS（A社：77周期、B社：77周期、C社：92周期）で融解し各群の臨床成績を比較した。

### 【成績】

【検討1】各方法の臨床成績（臨床妊娠率、妊娠継続率）は、ワンステップ法（64.2%、52.0%）で、従来法（56.1%、42.9%）よりも有意に高かった（ $P<0.01$ ）。流産率に有意差はなかった。また、単一胚盤胞移植における各方法の臨床成績（臨床妊娠率、妊娠継続率）においても、ワンステップ法（69.4%、57.7%）で、従来法（57.8%、46.0%）よりも有意に高かった（ $P<0.01$ ）。胚盤胞1個を融解する操作時間は、従来法が約6分30秒に比べ、ワンステップ法で1分と短縮された。

【検討2】異なるメーカーのTSを用いた臨床妊娠率は、A社で63.6%（49/77）、B社で67.5%（52/77）、C社で64.1%（59/92）と差はなかった。また、妊娠継続率は、A社で54.5%（42/77）、B社で53.2%（41/77）、C社で52.2%（48/92）と差はなかった。各群の流産率に有意差はなかった。

### 【結論】

ワンステップ急速融解法は、従来法と比べて臨床成績が向上するだけでなく、操作時間の短縮につながった。複数種類のTSでもワンステップ急速融解法が可能であることが示唆された。しかし、まだ症例数が少ないことから今後も継続して検討していく。

## 0-27 ガラス化凍結時の胚盤胞の 平衡液浸漬時間が臨床成績に 及ぼす影響

糸井 史陽, 大野 望, 森 香菜江, 渡邊 鈴美香,  
田中 梨央, 加藤 麗夏, 秋田 真央, 東山 雛乃,  
中村 早紀, 鎌田 美佳, 服部 幸雄

なごやARTクリニック

### 【目的】

2024年にLiebermannらにより、胚盤胞のガラス化凍結時にEquilibration solution (ES) の浸漬時間を6分、Vitrification solution (VS) に1分の計7分に短縮および融解時にThawing solution (TS) 中に1分浸漬すると従来の複数ステップによる凍結融解に比べ臨床成績が向上することが報告された。当院でも凍結に要する操作時間の短縮を目的にESへの浸漬時間を短縮し、従来の凍結時間と臨床成績を比較したので報告する。

### 【方法】

2023年1月から2024年7月までに当院で凍結融解単一胚盤胞移植

を行った妻年齢42歳以下の218周期を対象とし、ES浸漬時間を11～13分(L群:135周期)と6～10分(S群:83周期)に分けて臨床成績を比較した。各凍結方法で2個の胚盤胞を凍結する場合、L群ではESに3～4分おきに胚盤胞を1個ずつ入れ、それぞれ11～13分後にVSに移し1分後にクライオトップに載せた。S群ではESに2個同時に入れ、6～10分後にVSに移し、それぞれ1分後にクライオトップに載せた。また、L群では、胚盤胞直径が $170\mu\text{m}$ 以上でAssisted shrinkage(AS)をレーザーにて行った。S群では、全ての胚盤胞にASを行った。融解は、ワンステップ急速融解法にてTSに1分間浸漬し、数時間の回復培養後、移植に供した。L群とS群で、操作時間、移植時の回復率(凍結時の形態に戻った状態)および妊娠成績を比較した。

### 【結果】

凍結操作時間は、2個凍結する場合、S群では7～9分と、L群の12～19分よりも短縮された。移植時の回復率は、L群(94.8%)とS群(96.4%)で差はなかった。臨床妊娠率は、S群(78.3%)とL群(74.1%)で差はなかった。妊娠継続率においても、S群(58.2%)とL群(62.9%)で差はなかった。

### 【考察】

胚盤胞凍結時のES浸漬時間の短縮は、臨床成績に負の影響を及ぼさずに操作時間の短縮に繋がった。しかし、まだ症例数が少ないことから、今後も継続して検討していく必要がある。

## 0-28 胚盤胞における凍結時の 収縮度合と培養時の虚脱回数は 関連するか?

田中 啓子, 水本 茂利, 長尾 洋三, 渡辺 瞳,  
戸野本 知子, 大坪 可奈子, 影山 美桜, 氏福 幸来,  
北島 真優子, 蔵本 武志

蔵本ウイメンズクリニック

### 【目的】

当院ではこれまでに胚盤胞凍結時の収縮度合が臨床成績に影響することを報告している(第62回日本卵子学会)。一方、培養時に虚脱と拡張を繰り返す胚盤胞は臨床成績に負の相関があるとされている。本研究では、胚盤胞における凍結時の収縮度合と培養時の虚脱との関連性について調べるとともに、臨床成績への影響について後方視的に調査した。

### 【方法】

2018年4月から2022年3月までに単一融解胚盤胞移植を実施した39歳以下の初回胚移植周期(506周期、平均年齢 $34.3 \pm 3.2$ 歳)を対象とした。

検討1.凍結処理時の胚盤胞の収縮度合を収縮の大きさにより、A群(胚全体が透明帯に接触)、B群(胚が透明帯に非接触で胞腔腔の確認が可能)、C群(胚が透明帯に非接触で胞腔腔の確認が不可)に分

類し、それぞれの胚盤胞の凍結時の収縮率と培養時における虚脱の回数調べた。虚脱の程度として胞腔腔直径の30%以上のものは強虚脱とし、総虚脱回数と共に調べた。なお、培養5日目に直径 $160\mu\text{m}$ 以上で凍結した胚盤胞のみを対象とした。

検討2. A群, B群, C群における臨床的妊娠(CP)率, 生児獲得率を調べた。

### 【成績】

検討1. A群(151周期), B群(284周期), C群(71周期)における凍結時の平均収縮率はそれぞれ、84.8%, 72.9%, 60.7%であった。3群間での胚盤胞培養時の平均総虚脱回数はそれぞれ $1.6 \pm 1.2$ ,  $2.1 \pm 1.3$ ,  $2.9 \pm 1.8$ でA群はB群, C群に比べ有意に少なかった( $p < 0.005$ )。このうち、強虚脱の回数はそれぞれ $0.08 \pm 0.29$ ,  $0.12 \pm 0.36$ ,  $0.24 \pm 0.49$ であり、A群がC群に比べ有意に少ない結果だった( $p < 0.05$ )。検討2. A群, B群, C群でのCP率はそれぞれ68.9%, 62.7%, 59.2%で収縮度合が小さいほど良好ではあるものの有意差は認めなかった。しかし、生児獲得率ではそれぞれ60.3%, 50.4%, 40.8%で、A群はB群, C群に比べ有意に高い結果だった(A群vs B群: $p < 0.05$ , A群vs C群: $p < 0.01$ )。

### 【結論】

胚盤胞凍結時の収縮度合が大きいほど培養時の虚脱の頻度も高く、臨床成績は低かった。この結果は、虚脱頻度と臨床成績との負の相関に関する報告を支持しており、凍結液中での胚の変化はTEの破綻によるものと考えられる。一方で、凍結時の収縮度合の小さい胚では良好な臨床成績が得られることから、凍結時の収縮度合を観察することは生児獲得に繋がる良好胚を選択する上で有効な手段であると思われる。

## 0-29 凍結胚移植（HR法）と凍結胚移植（NC法）および新鮮胚移植の治療成績と妊娠経過について

小野 香奈子, 人見 裕子, 田村 明日香, 小川 優紀,  
久保田 健, 田村 出, 山口 剛史, 渡邊 由美子,  
石川 弘伸, 渡邊 浩彦  
醍醐渡辺クリニック

### 【目的】

近年、本邦では凍結胚移植が増加している。しかし、凍結胚移植の中でもホルモン補充による凍結胚移植（HR法）が種々の産科合併症の増加を来す可能性が指摘されており、新鮮胚移植や自然周期による凍結胚移植（NC法）を見直す動きが見られている。また2023年本学会において、HR法の凍結胚移植に比して新鮮胚移植の流産率が低く、さらに凍結胚移植の方法別においてもHR法に比してNC法の流産率が低い傾向であったことを報告した。その結果、現在当院では、採卵周期に条件が適していれば新鮮胚移植、凍結胚移植では採卵周期の翌周期であっても条件が適していればNC法を積極的に行っている。今回は追加報告として、移植方法別の産科合併症の発生状況（検討1）、また前回報告後にNC法凍結胚移植を積極的に行った臨床成績（検討2）について報告する。

### 【方法1】

2021-2022年、当院の体外受精後に分娩した症例における産科合併症の発生状況を移植方法別に比較検討した。

## 0-30 SEETを用いた凍結融解胚移植の臨床的妊娠率

鎌倉 沙樹, 早川 夢乃, 小熊 惇平, 佐藤 渚, 小川 奈津,  
野尻 由香, 野村 昌男, 古井 憲司  
クリニックママ

### 【目的】

胚の着床には胚と子宮内膜のシグナル交換（クロストーク）が必要であると考えられている。体外で発生した胚盤胞の移植は胚と子宮内膜のクロストークが不十分であり、着床環境が不完全であると考えられる。そこで、胚盤胞移植において良好な着床環境を整える方法としてSEET（Stimulation of Endometrium Embryo Transfer）が開発された。SEETは胚盤胞移植を行う2-3日前に胚盤胞の発生過程で得られた胚由来因子が含まれた培養液を注入し、子宮内膜を刺激する方法で妊娠率の上昇が期待されている。今回、SEETの有効性を検討するためにSEET実施の有無における臨床的妊娠率について比較を行った。加えて、SEETに使用した培養液中の胚由来因子の量を考慮し培養した胚数における臨床的妊娠率について検討した。

### 【方法】

2022年4月1日から2024年6月30日までにHRT周期または排卵周期で凍結融解胚移植を施行した732周期を対象とした。SEETは体外受精または顕微授精施行後、5-6日間培養し胚盤胞が得られた培養液（約90 $\mu$ l, CSCM-NX, IrvineScientific）を胚盤胞移植施行の2-3日前

### 【成績1】

分娩時出血量は新鮮胚移植770.0 $\pm$ 536.6g, HR法凍結胚移植1144.9 $\pm$ 735.0g, NC法凍結胚移植541.5 $\pm$ 286.9gとなり、新鮮胚およびNC法凍結胚移植に比してHR法凍結胚移植の出血量が有意に多い結果となった（ $p < 0.05$ ）。また今回の調査のうち癒着胎盤をおこした25例は全てHR法凍結胚移植による妊娠であった。

### 【方法2】

2023年10月～2024年5月の間、全胚凍結後にHR法凍結胚移植375周期、NC法凍結胚移植129周期において妊娠率、流産率を胚移植時の年齢別に比較検討を行った。

### 【成績2】

HR法とNC法の移植あたりの妊娠率は、各35歳以下74.4%（151/203）、64.0%（32/50）、36～39歳では60.0%（60/100）、54.8%（23/42）、40歳以上50.0%（36/72）、32.4%（12/37）と有意差は無かった。流産率は、各35歳以下13.2%（20/151）、9.4%（3/32）、36～39歳では23.3%（14/60）、8.7%（2/23）、40歳以上33.3%（12/36）、50.0%（6/12）となり有意差はないものの39歳以下の流産率はNC法において低い傾向となった。

### 【結論】

HR法凍結胚移植において産科合併症が増加していることが示唆された。またNC法凍結胚移植を積極的に行った結果HR法より流産率は低い傾向となった。今後、検討を重ね、患者様が安心して出産を迎えられるよう、より良い治療を選択できるようなりたい。

に子宮内に注入した。統計解析はt-test, chi-square test, fisher's exact test, Mann-Whitney U-testを適宜使用しP<0.05を以って有意差ありとした。

### 【成績】

【検討1：全周期の比較検討】両群間における妻の平均年齢において有意差は認められなかったが、SEET施行群において既往移植回数が有意に少なかった。臨床的妊娠率はSEET施行群（57.2%）、SEET非施行群（58.0%）であり有意差は認められなかった。【検討2：初回胚移植の比較検討】既往移植回数に有意差が認められたので、初回胚移植に限定し、比較検討した。両群間における妻の平均年齢において有意差は認められなかった。臨床的妊娠率はSEET施行群（60.4%）、SEET非施行群（56.5%）であり有意差は認められなかった。【検討3：SEETに使用した培養液内の胚数における初回胚移植の臨床的妊娠率】2PN数：1個（25.0%）、2-3個（54.3%）、4-5個（64.9%）、6-7個（64.9%）、8-9個（59.1%）、10個以上（65.4%）、良好胚盤胞数：1個（48.1%）、2-3個（61.6%）、4-5個（70.6%）、6-7個（66.7%）、8-9個（64.3%）、10個以上（66.7%）と培養した胚数に関わらず有意差は認められなかった。次に培養した胚数を1個と2個以上で比較すると2PN数：1個（25.0%）、2個以上（61.9%）（ $p=0.06$ ）、良好胚盤胞数：1個（48.1%）、2個以上（64.9%）（ $p=0.08$ ）と2PN数が2個以上で臨床的妊娠率が上昇する傾向にあった。

### 【結論】

本検討においてSEETによる臨床的妊娠率の上昇は認められなかったが、培養液中の2PN数が2個以上において臨床的妊娠率が上昇することが示唆された。今後は症例数を増やし検討を重ねてゆく。

## 0-31 保険診療下でスクリーニングとして の子宮鏡検査は初回凍結胚移植の 成績に寄与するか

折田 有史<sup>1)</sup>, 岩川 富喜子<sup>2)</sup>, 山口 亜衣子<sup>1)</sup>,  
桑鶴 ゆかり<sup>1)</sup>, 福元 由美子<sup>1)</sup>, 溝部 大和<sup>1)</sup>, 黒木 裕子<sup>1)</sup>,  
徳留 茉里<sup>1)</sup>, 燃脇 晴恵<sup>1)</sup>, 竹内 一浩<sup>1)</sup>

1) 竹内レディースクリニック  
2) 竹内レディースクリニックART 鹿児島院

### 【目的】

子宮鏡検査は不妊症の子宮因子検索に重要な検査であるが、ユニバーサルスクリーニングの有用性については十分な根拠が乏しい。保険診療となり移植回数の制限がある中、これまで以上に早く生児獲得という結果につなげることが求められており、ユニバーサルスクリーニングとしての子宮鏡検査が生児獲得率に寄与するかについて検討した。

### 【方法】

2022年4月～2023年3月に保険診療下に初回凍結胚移植を行った285例(平均年齢34.6歳)を対象に移植前の子宮鏡あり221例(平均年齢34.5歳)、子宮鏡なし64例(平均年齢34.6歳)で群別化し後方視的に臨床成績を比較した。子宮鏡で異常所見を認めた場合、子宮形態異

常を除く疾患については治療後に胚移植を行った。また、胚性因子の影響を考慮し、35歳以上と35歳未満に層別化し追加で検討を行った。

### 【成績】

子宮鏡の異常所見を19.9%に認め、内膜ポリープ13.1%、慢性子宮内膜炎5.0%、血流不良3.2%、子宮形態異常2.7%、子宮内腔癒着0.9%、粘膜下筋腫0.5%の順に多かった。全症例の臨床妊娠率は63.2%、生産率は48.4%であった。子宮鏡あり群の生産率は51.1%であり、子宮鏡なし群の生産率39.1%と有意差は認めなかったが子宮鏡あり群で良好な結果であった。35歳未満においては子宮鏡あり群の生産率は66.7%、子宮鏡なし群の生産率45.9%と有意に子宮鏡あり群の成績が良かったが( $p=0.032$ )、35歳以上においては子宮鏡あり群の生産率は36.4%、子宮鏡なし群の生産率は29.6%と有意差を認めなかった。初回移植前に子宮鏡を行わず妊娠成立しなかった症例でその後に子宮鏡を行った症例では慢性子宮内膜炎を12.5%、内膜ポリープを4.7%に認めた。

### 【結論】

約20%の患者に異常所見を認め、初回移植前に子宮鏡を行った群の生産率が、特に35歳未満で有意に高く、生産率に約20%の差を認めた。35歳未満では35歳以上に比較して子宮因子の割合が胚性因子に比較して多いことに起因すると考える。35歳以上でも有意差はないものの生産率は高い傾向にあり、初回胚移植前の子宮鏡検査は有用であることが示唆された。保険診療下では移植回数に限られている点からも、子宮鏡検査は有効であると考えられる。

## 0-32 Direct cleavage (DC) と Reverse cleavage (RC) が Day5 胚盤胞 (BL) 率と融解胚盤 胞移植での臨床成績に及ぼす影響

瀬底 亜里沙<sup>1)</sup>, 沖津 摂<sup>2)</sup>, 喜名 咲子<sup>1)</sup>, 内間 美奈<sup>1)</sup>,  
門馬 友香<sup>1)</sup>, 松原 恵美梨<sup>1)</sup>, 平敷 美海<sup>1)</sup>, 新里 聡子<sup>1)</sup>,  
村吉 茉穂子<sup>1)</sup>, 寺田 陽子<sup>1)</sup>, 徳永 義光<sup>1)</sup>

1) 空の森クリニック  
2) 楠原ウィメンズクリニック

### 【目的】

タイムラプスインキュベータの導入以降に記録しているDCとRCがBL率、胚移植当たりの妊娠率、iDA Scoreに及ぼす影響を検討した。

### 【方法】

検討1. 2023年1月から12月の採卵842周期における正常受精胚4479個を対象とした。Day5までにDCを起こした胚(DC群)、RCを起こした胚(RC群)およびDCとRCを併発した胚(DC+RC群)とこれらが生じなかった胚(Control群)間でBL率、良好BL率、iDA Scoreの比較を行った。

検討2. 2019年以降にDay5凍結し、2022年1月から12月に単一融解胚移植を実施した43歳以下の266症例を対象として全移植周期と良好BL移植周期に分け、Control群と各群で妊娠率、流産率を比較した。

### 【成績】

検討1. BL率は、Control群(50.1%)と比較してDC群(23.1%)、RC群(27.5%)、DC+RC群(23.2%)で有意に低かった( $p<0.01$ )。良好BL率は、Control群(14.8%)と比較してDC群(1.6%)、RC群(4.6%)、DC+RC群(2.1%)で有意に低かった( $p<0.01$ )。BLのiDA Scoreは、Control群(8.3)と比較してDC群(7.5)、RC群(7.5)、DC+RC群(8.1)で有意に低くなった( $p<0.01$ )。良好BLのiDA Scoreは、Control群(9.0)がDC群(8.7)より有意に高くなったが( $p<0.05$ )、RC群(8.7)とDC+RC群(9.0)ではControl群と差はなかった。

検討2. 妊娠率は全移植周期でControl群(50.7%)、DC群(65.6%)、RC群(60.0%)、DC+RC群(55.0%)となり、良好BL移植周期ではControl群(61.8%)、DC群(81.8%)、DC+RC群(71.4%)となり各群とControl群間に有意差はなかった。RC群の移植周期はなかった。流産率は全BL移植周期でControl群(20.8%)と比較してDC群(47.6%)で有意に高くなり( $p<0.01$ )、RC群(33.3%)、DC+RC群(27.3%)との差はなかった。良好BL移植周期ではControl群(19.1%)、DC群(44.4%)、DC+RC群(0%)となり、各群とControl群間に差はなかった。RC群の移植周期はなかった。

### 【結論】

DCやRCがあるとBL率、良好BL率、iDA Scoreが有意に低くなった。良好BLでのiDA ScoreはDCによって有意に低くなった。DCやRCがあっても全BL移植、良好BL移植では妊娠率に有意差はなく、全BL移植ではDCが起こした胚で流産率が有意に高くなった。以上より、BL移植ではDCを起こしていない胚を優先することが望ましい。症例数を増やして追加検討する必要がある。

## 0-33 精子運動解析システムSMASを用いた体外受精における正常受精指標の探索

朝香 未来<sup>1)</sup>, 佐藤 学<sup>1,2)</sup>, 森本 義晴<sup>1)</sup>

1) HORAC グランフロント大阪クリニック  
2) IVF なんばクリニック

### 【目的】

体外受精 (C-IVF) において、精子濃度や運動率のみでは受精率低下や多精子受精の問題を予測するには不十分である。本研究では、精子運動解析システム (SMAS) を用いて精子運動性パラメーターを解析し、C-IVF でより多くの正常受精を得るための新たな指標を探索した。

### 【方法】

2022年3月から2023年9月に採卵を行い、C-IVF 予定で精子調整・受精操作を行った305症例2012個を対象とした。卵子1個これらのデー

タを、A群 (正常受精 vs 正常受精以外)、B群 (正常受精 vs 多精子受精)、C群 (正常受精 vs 非受精) の3群に分け、各パラメーターを比較した。

### 【成績】

全体の受精率は73.4%、多精子受精は11.6%であった。A群では、曲線性が正常受精で有意に高く ( $P<0.05$ )、直線速度、曲線速度、平均速度、頭部振幅は正常受精以外で有意に高かった ( $P<0.05$ )。B群では、SMV、直線速度、曲線速度、平均速度、頭部振幅が多精子受精で有意に高かった ( $P<0.05$ )。C群では、運動率、前進運動率、曲線性が正常受精で有意に高く ( $P<0.05$ )、頭部振幅は非受精で有意に高かった ( $P<0.05$ )。

### 【結論】

本研究の結果から、曲線性の高さが正常受精の獲得と関連することが示唆された。また、精子運動パラメーターの全体的な亢進状態が多精子受精を引き起こす可能性があることが分かった。しかし、SMAS パラメーターだけでは多精子受精を防ぐ手掛かりは得られず、従来の媒精濃度調整などの工夫が依然として必要であると考えられる。

## 0-34 SMAS計測パラメータからcIVFにおいて胚盤胞形成率が低くなる要因を探る

内堀 翔<sup>1)</sup>, 中野 達也<sup>1)</sup>, 佐藤 学<sup>1,2)</sup>, 中岡 義晴<sup>1)</sup>, 森本 義晴<sup>1,2)</sup>

1) IVF なんばクリニック  
2) HORAC グランフロント大阪クリニック

### 【目的】

体外受精における受精方法の適切な選択は、受精率低下や多精子受精を防ぐことにつながる。受精方法の選択は、精子濃度や運動率を指標に決められることが一般的である。しかし、受精は問題がなくとも胚盤胞を得ることができない場合があり、先述の指標だけでは受精やその発生について予測するには不十分である。精子運動解析装置 (SMAS, デイテクト社) を用いることで、計測データから胚盤胞形成率が低くとなりうる症例を予想できるのではないかと考え、SMASより算出されたパラメータから予想因子になり得る条件を後方的に検討した。

### 【方法】

2023年1月から12月に採卵を行い、c-IVF 予定にて精液を調整・受精操作をした症例のうち、採卵時の妻年齢40歳未満で成熟卵数が6個以上であった206周期を対象とした。胚盤胞形成率が50%未満をA群、50%以上75%未満をB群、75%以上をC群とした。検討1. 精液所見と精子運動性について3群間で比較した。原精液と処理後でSMASにて計測し、各パラメータ (直線速度、曲線速度、平均速度、直進性、直線性、頭部振幅、頭部振動数、曲線性) を比較した。検討2. 直線速度と曲線速度において、精子の速度別に分布割合を比較した。また、中央値以上の割合を3群間で比較した。

### 【成績】

結果1. 原精液の液量、精子濃度、運動率に差はなく、処理後の精子濃度、運動率も差はなく、SMASより算出された各パラメータにも差はなかった。結果2. 原精液では差はなかったが、処理後では直線速度において10  $\mu$  m/s以上20  $\mu$  m/s未満の割合がA群で高くなり、40  $\mu$  m/s以上50  $\mu$  m/s未満の割合がA群で低くなった ( $p<0.01$ )。また、処理後における直線速度の中央値は30.57となり、中央値以上の運動精子の占める割合はA群が低くなった。

### 【結論】

精子の直線速度が胚盤胞形成率に影響を与える可能性が示唆された。今後、さらなる条件を検討する必要がある。

### 【考察】

本研究の結果から、精子の直線速度が胚盤胞形成率に影響を与える可能性が示唆された。特に、直線速度が低い精子が多い場合、胚盤胞形成率が低くなる傾向が見られた。このことは、精子の運動性が受精後の胚発生に重要な役割を果たしている可能性を示している。

従来の精子濃度や運動率だけではなく、精子の運動パラメータ (特に直線速度) を詳細に解析することで、胚盤胞形成率の予測精度を向上させることができると考えられる。SMASを用いた精子運動解析は、精子の運動性を詳細に評価するための有用なツールであり、今後のIVF治療において重要な役割を果たす可能性がある。

### 【結論】

本研究は、SMASを用いた精子運動解析が胚盤胞形成率の予測に有用であることを示唆している。特に、直線速度が低い精子が多い場合、胚盤胞形成率が低くなることが明らかになった。今後の研究では、さらに多くの症例を対象にした検討が必要であり、精子運動性の詳細な解析がIVF治療の成功率向上に寄与することが期待される。

## 0-35 胚質不良改善目的で人為的透明帯除去術を実施し妊娠に至った一例

入江 真奈美<sup>1)</sup>, 樽井 幸与<sup>1)</sup>, 湯本 啓太郎<sup>2)</sup>,  
水野 里志<sup>1)</sup>, 福田 愛作<sup>1)</sup>, 森本 義晴<sup>3)</sup>

1) IVF大阪クリニック  
2) ミオ・ファティリティ・クリニック  
3) HORAC グランフロント大阪クリニック

### 【はじめに】

IVFでは、採卵を繰り返してもフラグメントの発生が顕著で良好胚が得られない、胚質不良症例が存在する。そのような症例では、透明帯と卵細胞膜の癒着や、透明帯と卵細胞膜の間に存在する繊維状構造(Perivitelline threads: PT)がフラグメント発生の原因の一つであることが明らかにされ、人為的透明帯除去術を実施することが良好胚獲得に有用であると報告されている。今回、人為的透明帯除去術が有効であった1症例について報告する。

### 【症例】

初診時妻年齢35歳、妊娠歴なし、不妊期間1年、不妊治療歴なし。原因不明の不妊により、IVFの適応となった。IVF1回目: long法にて5個採卵。ICSIとcIVFを併用し3個受精。胚盤胞移植予定であったが胚盤胞へ到達せず移植キャンセルとなった。IVF2回目: アンタゴニスト法にて9個採卵。成熟卵8個にICSIを実施し7個受精。Day2にて分割期胚1個(Veeck分類2 G2)を移植したが、妊娠は成立しな

かった。IVF3回目: アンタゴニスト法にて8個採卵。6個にICSIを実施し6個受精。Day2にて移植可能胚得られず移植キャンセルとなった。IVF1から3回目において、移植を実施した1個の胚以外すべてがDay2におけるフラグメントが25%以上の胚質不良胚であり、人為的透明帯除去術の適応である可能性が考えられた。医師によるインフォームドコンセントを実施後、人為的透明帯除去術を希望され、4回目のIVFで実施することとなった。アンタゴニスト法にて8個採卵。8個にICSIを実施し8個受精。受精卵を高張液に浸し、PTおよび癒着の有無を観察することで人為的透明帯除去術が必要な受精卵を選別した。その結果、受精卵7個に対して適応と判断した。レーザー照射にて透明帯を大きく開口し、培養液を吹きかけることで細胞質から透明帯を外した。人為的透明帯除去術を実施しなかった1個については、患者希望によりDay2で新鮮胚移植を実施したが(Veeck分類2 G2)、妊娠は成立しなかった。人為的透明帯除去術を実施した受精卵7個はタイムラプスインキュベーターでDay5まで培養を継続した。その結果、4個が胚盤胞へ到達し、移植可能胚3個を凍結保存した。翌周期に、人為的透明帯除去術実施胚盤胞1個(BL6BB)を融解し、自然排卵周期にて移植した。胚移植10日後、血中HCG190.7 IU/mlにて妊娠反応を確認した。さらに、6w4dで胎児心拍を確認し、2024年8月現在、妊娠継続中である。

### 【結論】

当該症例の受精卵は、高張液浸漬時、ほとんどにPTや透明帯と卵細胞膜の癒着が確認された。このため、IVF1から3回目における胚質不良の原因がPTおよび透明帯と卵細胞膜の癒着であったことが推測され、IVF4回目では人為的透明帯除去術による透明帯と卵細胞膜の分離が、胚発育改善に有効に機能したと考えられた。

## 0-36 当院における15年間の妊孕性温存凍結精子の保管状況および使用実績

三浦 貴弘, 畑 景子, 渡邊 陽子, 頼 英美, 原 鐵晃,  
兒玉 尚志

県立広島病院成育医療センター生殖医療科

### 【背景】

当院では2008年より妊孕性温存(FP)治療を行っており、15年間保管を行う中で、凍結精子を使用する妊孕性温存後治療が近年増加傾向である。今回、当院で保管している妊孕性温存精子の保管状況および使用実績を調べた。

### 【方法】

2008年1月から2023年12月までに当院において、FP目的の精子凍結を行った142症例について、保管継続状況、凍結時の精液所見および、原疾患治療後の精液所見、使用までの保管期間、凍結精子を使用したART成績について検討を行った。原疾患治療後の精液検査は患者の希望するタイミングで当院に受診を行った。保管継続の意思確認は1年後毎に当院から郵送する書類の返信にて確認した。

### 【結果】

FP目的の精子凍結を行った142症例の患者の原疾患は血液疾患42

例(29.6%)、精巣腫瘍21例(14.8%)、精巣外胚細胞性腫瘍19例(13.4%)、骨軟部腫瘍19例(13.4%)、消化器がん16例(11.3%)、慢性肉芽腫6例(4.2%)、その他19例(13.4%)であった。精子凍結時の平均年齢は26.9歳、精液所見は精子濃度3770万/ml、運動率49.6%であった。このうち41例に対し、原疾患治療後、平均27.6ヶ月後に精液検査を行い、うち19例(46.3%)が凍結時より精液所見が低下しており、精子濃度がWHO基準値1600万/ml未満となっていた。また9例(22.0%)が無精子症となっていた。保管終了となった症例は64例(45.1%)、保管終了までの平均保管期間は48.1ヶ月であった。終了となった理由として、本人希望(使用せずに廃棄)15例(23.4%)、本人希望(使用後に廃棄)8例(12.5%)、本人死亡15例(23.4%)、音信不通21例(32.8%)、年齢制限(50歳)越え3例(4.7%)、他院へ移送2例(3.1%)であった。ART治療にて凍結精子を使用した症例は17例(12.0%)、使用までの平均期間は35.8ヶ月であった。使用時、男性平均年齢は35.8歳、パートナーの平均年齢は32.9歳であった。凍結精子使用ART成績は受精率79.7%、分割率87.6%、胚盤胞発生率52.9%、臨床妊娠率44.8%、生産率44.8%であった。使用患者のうち12例(70.6%)が挙児を得ていた。

### 【考察】

FP目的の精子凍結を行い、原疾患治療後、精液検査を受けた患者の68.0%と多くの症例で凍結時と比較し、精液所見の低下、あるいは無精子となっていた。また、温存後ART治療を行った患者の70.6%が挙児を得ることができており、FP目的の精子凍結保存の有用性を確認できた。しかし、保管中の患者のうち32.6%が音信不通なことから、長期にわたり保管意思を確実に確認できるシステムの構築が必要であると考えられた。

## 0-37 全例単一胚移植から正確に算出された胚移植妊娠の一卵性多胎発生率

古井 達人, 安藤 寿夫, 姜 真以乃, 黒柳 雅文,  
古井 憲作, 山田 友梨花, 諸井 條太郎, 甲木 聡,  
梅村 康太, 岡田 真由美  
豊橋市民病院

### 【目的】

多胎妊娠は母児全員が予後不良となるため単一胚移植 (SET) が推奨されるが, 最も回避したい一絨毛膜二羊膜性二胎 (MD 双胎) と一絨毛膜一羊膜性二胎 (MM 双胎) は単一胚のみから発生するとされるので, MD/MM 双胎の発生は単純計算上 SET では二胚移植 (DET) の半分程度と予測できる。この研究では, 卵巣刺激や体外培養の影響で増加するとされる一卵性二胎 (MZT) 妊娠を全例にタイムラプス胚培養後 SET を行い生殖・周産期医療全体から正確に評価した成績を示すことを目的とした。

### 【方法】

2009年に例外的に DET となった周期が1周期あった (妊娠不成立) ため, 2010年からの SET 全周期で調査した。新鮮胚移植を第1選択とし, タイムラプス胚培養での順位付けに基づき医師が最終的に胚選

択して SET を行った。一般的なグレード評価での余剰胚凍結を行い, 凍結胚移植についても新鮮胚同様のプロセスで SET を行った。多胎リスクを予測する知見の報告はその都度考慮に入れて移植胚選択を行うとともに, 多胎が発生するたびにタイムラプス画像を検証してきた。ごく一部の遠方転居例を除き, 生殖・周産期医療を継続して当院で行い経過をまとめた。

### 【成績】

多胎は全て二胎で多胎妊娠率は1.7%だった。新鮮胚移植 (ET) 臨床妊娠344周期中5周期 (1.4%), 凍結胚移植 (FET) 臨床妊娠445周期中9周期 (2.0%) が MZT で, 凍結解凍による有意な多胎増加は見い出せなかった。移植時の胚ステージやアシステッドハッチングによる多胎発生への影響についても見いだせなかった。二絨毛膜二羊膜性二胎 (DD 双胎) が3例含まれ何れも胚盤胞移植だった。これにより, SET による MD/MM 双胎妊娠率は1.4%と算出された。MD 双胎は10例で3例が流産 (すべて FET 後), 2例が双胎間輸血症候群 (1例は24週早産) となった。MM 双胎は1例で31週早産となった。多胎妊娠14例中, 多胎分娩となったのは8例だった。移植前のタイムラプス評価で多胎が懸念されたもののインフォームド Consent により移植して妊娠が成立した周期はなく, 多胎妊娠となった胚のタイムラプス画像を事後に検証して多胎を予測し得たケースも存在しなかった。

### 【結論】

胚移植後妊娠では自然妊娠よりも早い週数で多胎が診断されることを考えれば, SET 後多胎妊娠率1.7%と MD/MM 双胎妊娠率1.4%は, 発展が著しい ART の現状に照らし合わせれば許容できる数値と考える。

## 学術集会 共催企業(50音順)

ヴィトロライフ株式会社	東京都港区芝公園1-3-1 留園ビル2階
株式会社エイオンインターナショナル	東京都中央区日本橋兜町11-10 兜町中央ビル302
セルソース株式会社	東京都渋谷区渋谷1-23-21 渋谷キャスト11階
フェリングファーマ株式会社	東京都港区虎ノ門2丁目10-4 10階
メルクバイオファーマ	東京都目黒区下目黒1-8-1 アルコタワー4階
株式会社リプロライフ	東京都新宿区新宿2-5-3 AMビル9F

## 学術集会 協賛企業(50音順)

医療法人社団愛慈会	東京都豊島区東池袋1-13-6 ロクマルゲートIKEBUKURO 4-6F
株式会社IVFラボ	東京都文京区小石川5-10-4 ヒルトップ小石川102
医療法人浅田レディースクリニック	愛知県名古屋市中村区名駅4-6-17 名古屋ビルディング3F
あすか製薬株式会社	東京都港区芝浦2-5-1
医療法人杏月会空の森クリニック	沖縄県島尻郡八重瀬町屋宜原229番地の1
池袋えざきレディースクリニック	東京都豊島区池袋2丁目13-1 池袋岸野ビル4F
ヴィトロライフグループ	東京都港区芝公園1-3-1 留園ビル8階
vivola株式会社	東京都渋谷区渋谷3-6-2 エクラート渋谷5F
うすだレディースクリニック	東京都武蔵野市吉祥寺本町2丁目4-14 8・3F メディコープビル
株式会社オフショア	兵庫県神戸市中央区雲井通4-2-2 マークラー神戸ビル6F
オルガノン株式会社	東京都港区南青山1-24-3 WeWork乃木坂
株式会社北里コーポレーション	東京都港区芝大門1-1-8
医療法人蔵本ウイメンズクリニック	福岡県福岡市博多区博多駅東1-1-19
医療法人社団愛育会クリニックママ	岐阜県大垣市今宿3丁目34-1
株式会社グレイスグループ	東京都渋谷区渋谷1-23-16 cocoti SHIBUYA5F
医療法人社団厚仁会	香川県丸亀市通町133
医療法人古賀文敏ウイメンズクリニック	福岡県福岡市中央区天神2-3-24 天神ルーチェ5F
株式会社サリー・ジョイス・ジャパン	東京都千代田区三番町6 三番町KB-6ビル5F
医療法人三慧会	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 15階
システムロード株式会社	東京都中央区新川1丁目3番3号
正晃テック株式会社	東京都千代田区東神田1丁目11-14 TQ東神田4F
全球卵銀股份有限公司	台湾台北市大安區敦化南路2段39號12樓
医療法人翔仁会仙台ARTクリニック	宮城県仙台市宮城野区名掛丁206-13
損害保険ジャパン株式会社	東京都八王子市明神町1-25-6 損保ジャパン八王子ビル6階
醍醐渡辺クリニック	京都府京都市伏見区醍醐高畑町30-15
医療法人仁知会竹内レディースクリニック	鹿児島県始良市東餅田502-2
タック株式会社	岐阜県大垣市小野4丁目35番地の12
つばきウイメンズクリニック	愛媛県松山市北土居5-11-7
田園都市レディースクリニック	神奈川県横浜市青葉区あざみ野1-5-1
株式会社東機貿	東京都品川区東品川2-3-14 東京フロントテラス3階
株式会社ドクターズファーマシー	大阪府大阪市中央区難波2-2-3 御堂筋グランドビル13F
株式会社ナカメディカル	東京都立川市曙町1-18-2 一清ビル別館
医療法人社団啓樹会 西村ウイメンズクリニック	静岡県浜松市中央区上島6-30-3
ニプロ株式会社	大阪府摂津市千里丘新町3-26
株式会社パートナーズ	神奈川県横浜市港北区新横浜2-5-15 新横浜センタービル3階
バイエル薬品株式会社	東京都千代田区丸の内1-6-5 丸の内北口ビル
株式会社B&C Healthcare	東京都港区新橋2-11-10 BUREX FIVE 4F
フェリング・ファーマ株式会社	東京都港区虎ノ門2丁目10-4 10階
富士製薬工業株式会社	東京都千代田区三番町5番地7
富士フィルム和光純薬株式会社	大阪府大阪市中央区道修町3-1-2
扶桑薬品工業株式会社	大阪府大阪市城東区森之宮二丁目3-11
ホロジックジャパン株式会社	東京都文京区後楽1-4-25 日教販ビル
三宅病院	岡山県岡山市南区大福369-8
メディー・コン インターナショナル株式会社	大阪府箕面市船場東1-10-9 5F
株式会社メニコン	愛知県名古屋市中区市場木町390 ミュキビジネスパーク四号館
医療法人社団真高会 両角レディースクリニック	東京都中央区銀座2-5-11 V88ビルディング3階
株式会社ユー・ディー	大阪府大阪市中央区本町2-3-9 JPS本町ビル4階
株式会社リプロライフ	東京都新宿区新宿2-5-3 AMビル9F
株式会社Revorf	大阪府吹田市山田丘3-1

## 学術集会 後援

公益財団法人杉山記念財団

# 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 2025 年 4 月下旬 を予定いたしております。因みに原稿の締め切りは 2025 年 3 月 10 日とさせていただきます。

## 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<sup>※</sup>、著者名<sup>※</sup>、所属<sup>※</sup>、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発するものとする。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、定時社員総会の日の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)
- 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

(2024年8月1日現在)

# 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9月25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：有限会社長谷川印刷

---





受精卵に優しく  
レベルの高い  
培養環境を備えた  
不妊治療専門クリニック

培養室



ビューアー

受付

待合室



婦人科（生殖医療・不妊治療）

浅田レディース品川クリニック

Asada Ladies Shinagawa Clinic

東京都港区港南 2-3-13 品川フロントビル 3F 品川駅 港南口 徒歩 3分  
TEL.03-3472-2203

浅田レディース名古屋駅前クリニック

Asada Ladies Nagoya Clinic  
名古屋市中村区名駅4-6-17名古屋ビルディング3F・4F  
TEL.052-551-2203

浅田レディース勝川クリニック

Asada Ladies Kachigawa Clinic  
愛知県春日井市松新町1-4ルネック5F  
TEL.0568-35-2203

<https://ivf-asada.jp/>

浅田義正（あさだ よしまさ）

医療法人浅田レディースクリニック 理事長

医学博士

日本産婦人科学会認定専門医

日本生殖医学会認定 生殖医療専門医

空  
の  
森

CLINIC



## 診察内容

### 不妊治療

- 体外受精／顕微授精／胚移植
- 人工授精
- 子宮鏡検査・治療
- 子宮卵管造影検査（透視下）
- 選択的卵管造影術（SSG）
- 卵管鏡下卵管形成術（FT）
- 男性不妊外来

理事長  
徳永 義光

生殖医療技術部統括責任者  
医師・医学博士  
寺田 陽子

医師  
木村 剛

院長  
医学博士  
神山 茂

医師  
儀間 貴恵

医師  
芝池 亜貴子

### 婦人科

- 腹腔鏡手術
- 子宮筋腫
- 子宮内膜症
- 卵巣嚢腫
- 子宮脱
- 子宮外妊娠
- 子宮癌検診

名誉院長  
医学博士  
佐久本 哲郎

麻酔科医師  
石垣 敬子

泌尿器科医師（男性不妊）  
慎 武

婦人科内視鏡治療センター長  
医師・医学博士  
高山 尚子

医師  
井坂 亮司

医療法人杏月会 空の森クリニック 〒901-0406 沖縄県島尻郡八重瀬町字屋宜原229番地 1  
TEL 098-998-0011 [www.soranomori.info](http://www.soranomori.info)

空  
の  
森

KYUSHU



## 診察内容

### 不妊治療

- 体外受精／顕微授精／胚移植
- 子宮鏡検査・治療
- 子宮癌検診
- 子宮卵管造影検査（透視下）
- 男性不妊外来

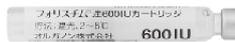
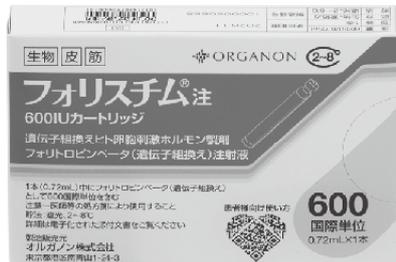
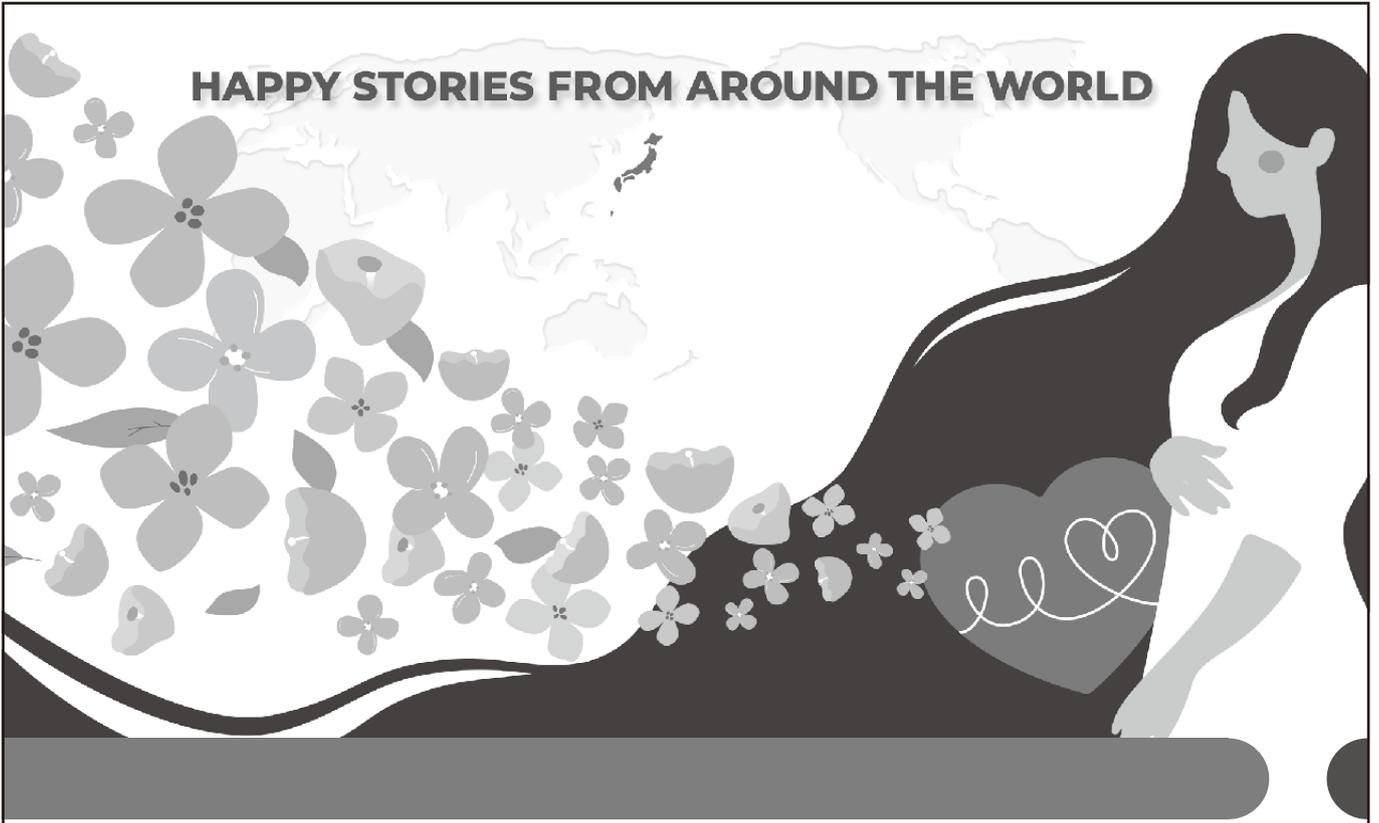
院長  
医学博士  
中島 章

医師  
金沢 衣見子

泌尿器科医師（男性不妊）  
上村 慶一郎

医療法人杏月会 空の森KYUSHU 〒830-0033 福岡県久留米市天神町1-6 FLAG KURUME 2階  
TEL 0942-46-8866 [www.soranomori-kyushu.info](http://www.soranomori-kyushu.info)

HAPPY STORIES FROM AROUND THE WORLD



遺伝子組換えヒト卵胞刺激ホルモン製剤

生物由来製品  
処方箋医薬品：注意—医師等の処方箋により使用すること

**フォリスチム<sup>®</sup>注 300IUカートリッジ** ■薬価基準収載

Follistim<sup>®</sup> Injection 300IU Cartridge フォロトロピンベータ(遺伝子組換え)注射液

**フォリスチム<sup>®</sup>注 600IUカートリッジ** ■薬価基準収載

Follistim<sup>®</sup> Injection 600IU Cartridge フォロトロピンベータ(遺伝子組換え)注射液

**フォリスチム<sup>®</sup>注 900IUカートリッジ** ■薬価基準収載

Follistim<sup>®</sup> Injection 900IU Cartridge フォロトロピンベータ(遺伝子組換え)注射液

効能又は効果、用法及び用量、禁忌を含む  
注意事項等情報等については、電子化され  
た添付文書(電子添文)をご参照ください。

**オルガノン株式会社**  
カスタマーサポートセンター

文献請求先及び問い合わせ先

電話番号 0120-095-213(フリーダイヤル)

受付時間 9:00~17:30(土日祝日 当社休日を除く)

〒107-0062 東京都港区南青山1-24-3 WeWork Nogizaka

www.organon.com/japan

2024年6月作成  
FOL24AD0072



全ての女性が輝けるようにサポートします

# クリニックママ

**体外受精・顕微授精・受精卵凍結保存**

〒503-0807 岐阜県大垣市今宿3丁目34-1

TEL:0584-73-5111 FAX:0584-73-5293

<https://climama.jp>

女性一人一人のライフストーリーを大事にした、  
継続的な関わりを大切にしていきます

## 不妊治療

一般不妊治療  
高度生殖補助医療 (ART)  
選択的卵子凍結



## 胎児診断

胎児ドック  
NIPT  
絨毛検査  
羊水検査



## 栄養・生活改善

分子整合栄養療法  
パーソナルトレーニングジム  
～TAYCAN BODY～



## 育児支援

託児施設 ～KIDS FOREST～  
産後ケア  
(生後2ヶ月から1歳までの母子を対象  
としたデイケア)



古賀文敏ウイメンズクリニック  
KOGA FUMITOSHI WOMEN'S CLINIC

TEL 092-738-7711 (予約制)

〒810-0001 福岡市中央区天神 2-3-24 天神ルーチェ 5F

URL : koga-f.jp E-mail : info@koga-f.jp

# すべての患者様が 子宝に恵まれることを目指して

私たちIVF JAPANグループは、新たな医療技術の研究開発や生殖医学の最先端技術を導入し、高度な不妊治療を実現しています。HORACグランフロント大阪クリニックでは、心理・栄養・運動・東洋医学・補助治療を効果的に組み合わせた「統合医療」を実施。IVF大阪クリニックでは、日本初の「卵管鏡下卵管形成術（FT）」を日帰り手術として実施し、7,000症例以上の実績があります。IVFなんばクリニックでは、着床前診断をはじめとした「不育治療」や、「男性不妊外来」も行っております。IVF JAPAN グループそれぞれの施設の特徴を活かしながら、すべての患者様が子宝に恵まれることを目指しています。患者様の希望を支え、輝かしい未来へと繋いでいくこと、それが私たちIVF JAPANグループの使命です。



IVF JAPAN CEO  
医療法人三慧会理事長

HORACグランフロント大阪クリニック

院長 森本 義晴

 HORACグランフロント大阪クリニック

〒530-0011  
大阪市北区大深町3-1 グランフロント大阪 タワー-B 15F  
TEL: 06-6377-8824 URL: [www.ivfhorac.com](http://www.ivfhorac.com)

 IVF大阪クリニック

〒577-0012  
東大阪市長田東1-1-14  
TEL: 06-4308-8824  
URL: [www.ivfosaka.com](http://www.ivfosaka.com)



医療法人三慧会副理事長  
IVF大阪クリニック

院長 福田 愛作

 IVFなんばクリニック

〒550-0015  
大阪市西区南堀江1-17-28  
TEL: 06-6534-8824  
URL: [www.ivfnamba.com](http://www.ivfnamba.com)

**2025年1月 開院**  
〒556-0011  
大阪市浪速区難波中2-11-18  
パークスサウススクエア12階13階14階  
TEL: 06-6978-8824  
URL: [www.ivfnamba.com](http://www.ivfnamba.com)



IVFなんばクリニック

院長 中岡 義晴

～あなたの笑顔に会えるその日のために～



西洋医学と代替療法の特性を合わせた統合医療をコンセプトに  
ひとり一人に最も適したオーダーメイドな不妊治療を実現します



仙台ARTクリニック

SENDAI ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY CLINIC

不妊治療 体外受精 男性不妊

宮城県仙台市宮城野区名掛丁 206-13

<https://www.sendai-art-cl.jp> TEL 022-791-8851

# 鹿児島県で世界基準の生殖補助医療を！



プレコンセプション検査・一般治療から高度生殖医療(ART)・男性不妊治療まで

一般不妊治療  
(タイミング・人工授精)

ART  
(体外受精・顕微授精・受精卵(胚)凍結)

AMH外来(卵巣年齢測定)  
※採血後約1時間で結果がわかります。

卵子凍結  
着床前遺伝学的検査  
(PGT-A・PGT-SR・PGT-M)

男性不妊  
顕微鏡下精巣内精子採取術  
(MD-TESE) ※泌尿器科医が対応

不育症・妊活  
月経の相談等

院長 竹内 一浩

(日本産科婦人科学会認定 産婦人科専門医)  
(日本生殖医学会認定 生殖医療専門医)  
(日本人類遺伝学会認定 臨床遺伝専門医)

副院長 岩川 富貴子

(日本生殖医学会認定 生殖医療専門医)

副院長 折田 有史

(日本人類遺伝学会認定 臨床遺伝専門医)

医師 竹内 美穂

医師 田平 満里奈

医師 山口 亜衣子

\*当院は生殖医療専門医制度認定研修施設です。

## 医療法人 仁知会



竹内レディースクリニック  
高度生殖医療センター(始良本院)

〒899-5421 鹿児島県始良市東餅田502-2  
TEL 0995-65-2296 FAX 0995-65-1254  
<https://takeuchi-ladies.jp>



竹内レディースクリニック  
ART鹿児島院

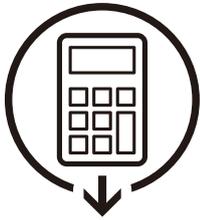
〒890-0051 鹿児島市高麗町43-20 キラメキ南国ビル3F  
TEL 099-208-1155  
<https://art-takeuchi.jp>



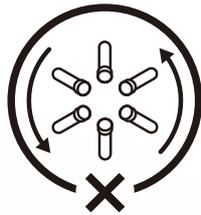
# LensHooke CA0

## スpermセパレーションデバイス

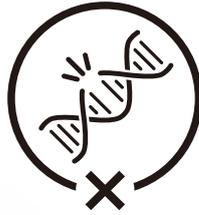
精子のDNAに損傷を与える可能性のある遠心処理を行うことなく、  
質の良い精子を簡単・スピーディに回収することができます。



低コストを  
実現



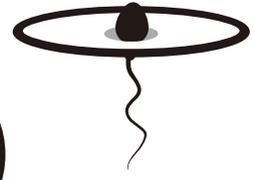
遠心分離  
フリー



DNA  
断片化率 ↓



簡単・スピーディ  
< 30min



特殊な  
膜構造

良質な精子を簡単に。



### 男性不妊をトータルサポートする製品ラインナップ。



**SEED POD**  
精液運搬用保温器



**LensHooke  
X1 PRO**  
精子運動解析装置



**LensHooke  
X12 PRO**  
精子DNA  
断片化アナライザー



**LensHooke  
CA0**  
[NEW]



**MiOXSYS**  
精子酸化ストレス  
アナライザー



**STARTER  
KIT for AIH**  
人工授精用消耗品キット



**GoodSperm®**  
密度勾配遠心法  
キット

※本製品は医薬品医療機器等法の定めるところの「医薬品」「医薬部外品」ではありません。ヒトまたは動物の治療に用いるものではありません。  
※記載の仕様等は、予告なく変更される場合があります。写真と実際の製品とは若干異なる場合があります。※GoodSpermは株式会社ナカメディカルの登録商標です。



**株式会社ナカメディカル** 〒190-0012 東京都立川市曙町1-18-2 一清ビル別館  
Tel.(042)529-9313 Fax.(042)529-9517

<http://www.nakamedical.co.jp>

**消耗品は、翌日にはお手元にお届けします\*。**

\*15時までの受注分の場合。ただし北海道、沖縄県、九州、四国、中国地方は翌々日になります。受付は平日のみで土曜・日曜・祝日・弊社指定休日は除く。



遺伝子組換えヒト卵胞刺激ホルモン (FSH) 製剤 薬価基準収載

# レコベル® 皮下注

12 $\mu$ g/36 $\mu$ g/72 $\mu$ gペン

Rekovel® ホリトロピン デルタ 生物由来製品・処方箋医薬品<sup>注</sup>  
(遺伝子組換え) <sup>注</sup>注意-医師等の処方箋により使用すること

本剤の効能又は効果、用法及び用量、警告・禁忌を含む注意事項等情報については、電子化された添付文書をご参照ください。

製造販売業者等  
製造販売元(輸入)

FERRING  
PHARMACEUTICALS

フェリング・ファーマ株式会社

〒105-0001 東京都港区虎ノ門二丁目10番4号

(文献請求先) くすり相談室

フリーダイヤル: 0120-093-168

レコベル®、Rekovel®はフェリング・ファーマB.V.の登録商標です  
© 2024 Ferring Pharmaceuticals Co., Ltd.

JP-REK-2400031  
2024年3月作成(第4版)

天然型黄体ホルモン製剤

薬価基準収載

# ウトロゲスタン<sup>®</sup>腔用カプセル200mg

## UTROGESTAN<sup>®</sup> vaginal capsules 200mg

プロゲステロン腔用カプセル

処方箋医薬品（注意 — 医師等の処方箋により使用すること）

®：登録商標（BESINS HEALTHCARE LUXEMBOURG S.A.R.L. 所有）



製造販売元（資料請求先）

 **富士製薬工業株式会社**

富山県富山市水橋辻ヶ堂1515番地  
<https://www.fujipharma.jp/>

「効能又は効果」「用法及び用量」「禁忌を含む注意事項等情報」  
等につきましては、添付文書をご参照ください。



ママと生まれてくる赤ちゃんのための  
かかりつけサプリメント



女性を満たすサプリメント

**LAFILL**®

ラフィル



妊娠準備期から  
授乳期の栄養補給に

**葉酸 + ケストース**

他17種類のビタミン・ミネラルを配合

食生活は、主食、主菜、副菜を基本に、食事のバランスを。





# Vit Kit-NX

胚・卵子凍結融解用培地

優れたビトリフィケーションを  
可能にする培地

Vit Kit-NX	VS	従来の 胚・卵子凍結融解用培地
CSCMベース ヒト胚培養用培地		M199ベース ニワトリ胚線維芽細胞用に設計
HEPES/MOPS 二重緩衝剤		HEPES 単一緩衝剤

- DMSO、エチレングリコール
- ゲンタマイシン (抗生物質)
- DSS代替血清
- フェノールレッド不含

胚・卵子のストレスを低減する  
コンティニュアスシステム



Vit Kit-NXは、CSCM、MHMと組み合わせて  
使用することで、ビトリフィケーション時の  
胚と卵子へのストレスを低減します。

販売元: 富士フイルム 和光純薬株式会社

〈製品に関するお問合せ〉

東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号  
TEL: 03-6225-2562 FAX: 03-3242-6501

〈ご注文〉

戸田事業所 〒335-0026 埼玉県戸田市新曽南三丁目17番35号  
TEL: 048-433-2063 FAX: 048-433-2112 ☎0120-41-1581

※本製品は薬機法の定めるところの「医薬品」「医薬部外品」ではありません。

※FUJIFILM Irvine Scientific とそのロゴ、Vit Kit、Continuous Single Culture、およびMHMは、FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.の商標としてさまざまな管轄区域で登録されています。  
他のすべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。



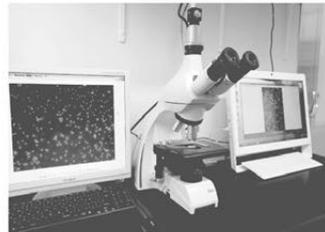
# Morozumi

## Ladies Clinic

患者さまひとりひとりのご希望を伺い、  
体質に合った最適な治療を、  
科学的根拠に基づき提供いたします。

『自分の子供を腕に抱く』という最高の夢をかなえるために、  
患者様の立場に立ち治療のお手伝いするとともに、  
患者様にはリラックスして治療に挑んでいただければ  
と思っております。

院長 両角 和人



〒104-0061  
東京都中央区銀座 2-5-11V88 ビルディング 4F  
TEL: 03-5159-1101  
URL: <https://morozumi-lc.com/>  
東京メトロ銀座線銀座駅、  
有楽町線銀座一丁目駅 徒歩 2分。





お一人おひとりにあわせた  
テーラーメイドの「不妊治療」を  
めざしています。

日本麻酔科学会  
麻酔科専門医による  
安心の「無痛分娩」を  
めざしています。

快適な「自然分娩」を  
めざしています。

女性の健康を一生守る  
「ウイメンズヘルスケア」を  
めざしています。

泌尿器科医師による  
専門性の高い  
「男性不妊」診療を  
めざしています。

女性らしく、健やかに。  
咲きほこる幸せを未来へ。

地域の皆さまに愛される  
かかりつけの産婦人科をめざして。



理事長・院長 鍋田 基生 | 名誉院長 仁位 史建 | 顧問 中橋 徳文  
顧問 柴原 浩章 [兵庫医科大学医学部産科婦人科学講座 名誉教授] | 顧問 吉村 泰典  
[慶應義塾大学 名誉教授・元内閣官房参与] | 学術アドバイザー 大須賀 穰 [東京大学大学院医学系  
研究科産婦人科学講座 教授] | 産婦人科担当医 草薙 康城 [愛媛県立医療技術大学 名誉教授]  
周産期医療部門部長 金石 環 | 女性医療部門部長 鶴久森 夏世 | 生殖医療部門部長  
深川 真弓 | 内視鏡手術部門部長 信田 絢美 | 産婦人科医長 佐々木 容子 | 産婦人科  
担当医 平野 智佳 | 新生児内科部門部長 中矢 紀世 | 麻酔科部門部長 鍋田 多恵子  
麻酔科医長 荻田 綾子 | 臨床遺伝専門医・指導医 江口 真理子 [愛媛大学大学院医学系  
研究科小児科学講座 教授] | 泌尿器科担当医 岡田 弘 [獨協医科大学特任教授] | 産婦人科担当医  
杉本 公平 [獨協医科大学埼玉医療センター 教授] | 研究部門担当医 宮本 新吾 [福岡大学  
医学部産科婦人科学講座 名誉教授] | 産婦人科担当医 四元 房典 [福岡大学医学部産科婦人科学講座  
主任教授] | 内視鏡技術アドバイザー 小林 栄仁 [大分大学医学部産科婦人科学講座 主任教授]  
写真左上から右の順



医療法人 ヒューマンリスログクシオン  
つばきウイメンズクリニック

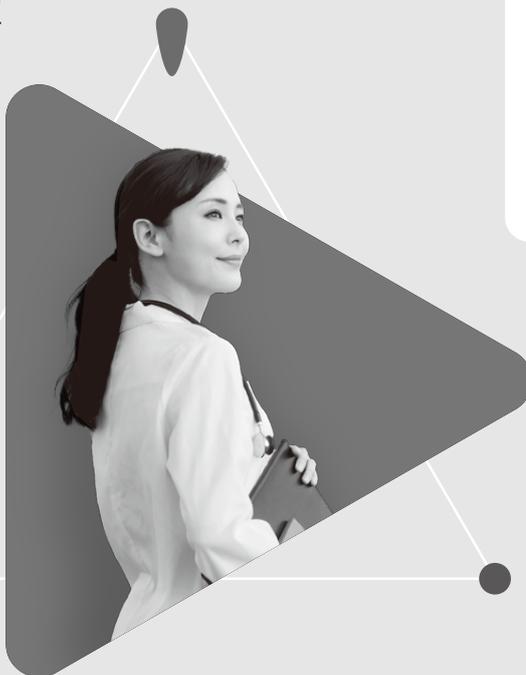
〒791-1104 松山市北土居5丁目11番7号 TEL 089-905-1122  
※本広告は医療広告ガイドラインに準じた作成に努めております。

# 一歩進んだARTラボ

ivf Lab

豊富な経験とノウハウをもとに  
ご依頼を承ります

- ▶ 培養室の管理運営支援 ▶ 技術のトレーニング指導
- ▶ 新たな技術の導入支援 ▶ その他の御相談



株式会社 IVFラボ

〒112-0002 東京都文京区小石川5丁目10番地4-102  
Tel 03-3815-8128 E-mail info@ivf-laboratory.com

ART laboratory 運営 & テクニカル コンサルティング

<https://ivf-laboratory.com/>



黄体ホルモン製剤

**ルテウム<sup>®</sup>** 腔用坐剤400mg

LUTEUM<sup>®</sup> VAGINAL SUPPOSITORIES プロゲステロン製剤

処方箋医薬品<sup>※</sup>

薬価基準収載

**HMG** 注用75単位・150単位「あすか」

HMG INJECTION

ヒト下垂体性腺刺激ホルモン剤

生物由来製品、処方箋医薬品<sup>※</sup>

薬価基準収載

卵胞刺激ホルモン(FSH)製剤

**uFSH** 注用75単位・150単位「あすか」

uFSH INJECTION

精製下垂体性腺刺激ホルモン

生物由来製品、処方箋医薬品<sup>※</sup>

薬価基準収載

注)注意—医師等の処方箋により使用すること

効能又は効果、用法及び用量、警告・禁忌を含む  
注意事項等情報は電子添文をご参照ください。



製造販売元[文献請求先及び問い合わせ先]  
**あすか製薬株式会社**  
東京都港区芝浦二丁目5番1号

販売元  
**武田薬品工業株式会社**  
大阪市中央区道修町四丁目1番1号

2022年4月作成



**B&C Healthcare は、アメリカの PGT を提供する専門エージェント企業です。**

着床前単一遺伝子疾患検査、その他患者様の希望する PGT 検査等  
弊社を通じて米国検査機関にて対応できます。  
日米双方の遺伝カウンセラーと連携し、患者様をサポートいたします。

株式会社 B&C Healthcare  
〒105-0004 東京都港区新橋 2-11-10 BUREX FIVE 4F  
TEL : 03-6868-3166  
E-Mail : bnc-contact@bnc-h.com

お気軽に  
お問合せください



医療法人 **蔵本ウイメンズクリニック** 院長 蔵本 武志  
(日本生殖医学会認定 生殖医療専門医)

〒812-0013  
福岡市博多区博多駅東1-1-19 (JR博多駅より徒歩4分)  
TEL.092-482-5558 URL:<https://www.kuramoto.or.jp>

**婦人科・不妊専門**

一般不妊治療 (タイミング法・人工授精・卵管鏡下卵管形成術)  
高度生殖補助医療 (体外受精・顕微授精・胚 (卵子) 凍結)  
不妊症 男性不妊治療 看護師外来  
遺伝カウンセリング メンタルカウンセリング



ISO 9000:2015  
認証取得



体外受精の品質基準

**JISART 認定**  
2023-2026



待望の!

# 新登場

## Ready to Use

# JUMBO PACK



.....

### よりコンパクトに

.....

めくるだけですぐ卵子/胚の凍結・融解ができる  
次世代のガラス化キット、Ready to Useシリーズ。

胚培養士の使いやすさにこだわったRtUから、ついに大容量パックが新発売。  
より少ない手間で、たくさんのメリットを。

お  
問  
合  
せ

株式会社リプロライフ  
〒160-0022  
東京都新宿区新宿 2-5-3 AMビル 9F

TEL. 03-5925-8937  
(平日 9:00~17:00)  
MAIL. kokunai@reprolife.jp



FOLLOW US!

※ Cryotec製品は、卵子や胚の凍結融解を成功させるため、シンプルで安全かつ効果的な操作性を実現するために設計されております。株式会社リプロライフは、ISO13485の認証を取得するなど、様々な厳しいテストに合格した製品のみを出荷しています。



# 日本IVF学会雑誌

Vol.27 No.2

---

[www.jsar.or.jp](http://www.jsar.or.jp)

---