

され、把握しうる限りで少なくとも 8 社以上が、運搬を含めた保存管理、品質管理を行っている。培養皿等の消耗品については、海外での製造・販売は、FDA 等により厳しく管理されているが、日本に輸入された後の品質管理や安全性確保はこれからの課題である。

さらに、現在生殖補助医療において使用される培養液に添加される種々の微量成分についてはマイナス効果の論文は、ごく僅かであった。しかし、Negative データが論文になりにくいことやマイナス効果についてはメーカーも言及しない可能性も考えられることから、今後、視点、切り口を換えて標記の文献検索を継続する予定である。

#### F. 参考文献

- 1) 矢野温美・阿部慎一郎：FDA の認可の意味するところ—ART 用機器・消耗品に関する米国での規制：市販前届出 [510(k)] J. Mamm. Ova Res. Vol. 22:255-259, 2005.
- 2) Robert Lovins, Ph. D. (In Vitro Care; 培養液製造・販売会社社長)からの私信。
- 3) Cook 社の日本代理店（東機貿）から入手した資料。
- 4) Kay Elder, Ph. D. (Bourn Hall Clinic)からの私信。
- 5) Medi-cult 社の日本代理店（日本農産工業）から入手した資料。
- 6) Marc Van den Bergh からの私信。
- 7) 中澤昭喜他。胚培養用ミネラルオイルの品質および品質に影響する因子に関する検討。日本受精着床学会雑誌 21(1) : 76-81, 2004
- 8) 荒木康久他。体外受精に使用される培養液。産婦人科の世界 56 : 90-98, 2004
- 9) 柳田薫。精子調整・媒精。臨婦産 60(1) : 53-57, 2006
- 10) Sjoblom et al., 2005 “Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor alleviates adverse consequences of embryo culture on fetal growth trajectory and placental morphogenesis” Endocrinology 146:2142-2153
- 11) Martin et al., 1998, “Heparin-binding epidermal growth factor significantly improves human blastocyst development and hatching in serum-free medium” Hum Reprod 13: 1645-1652
- 12) Spanos et al., 2000 “Anti-apoptotic action of insulin-like growth factor-1 during human preimplantation embryo development” Biol Reprod 63:1413-1420
- 13) 浜田淳一 秋山記念生命科学振興財団研究成果報告集 22 “EGF 刺激による参加的 DNA 損傷の蓄積と癌細胞の非

- 可逆的悪性化機構の解明 “ 64: 1-12
- 14) Laverge et al., 1997 “Prospective randomized study comparing human serum albumin with fetal cord serum as protein supplement in culture medium for in-vitro fertilization” Hum Reprod 12: 2263-2266
- 15) Laverge et al., 2001 “A prospective, randomized study comparing day 2 and day3 embryo transfer in human IVF” Hum Reprod 16: 476-480
- 16) Esfandiari et al., 2005 “Protein supplementation and the incidence of apoptosis and oxidative stress in mouse embryos” Obstetrics & Gynecology 105:653-660
- 17) Weathersbee et al., 1995 “Synthetic serum substitute (SSS): a globulin-enriched protein supplement for human embryo culture” J Assisted Reprod Genet 12: 354-360
- 18) Deng et al., 2005 “Effects of different concentrations of amino acids in the culture medium on preimplantation mouse embryo development in vitro” Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao. 25: 241-245
- 19) Van Winkle 2001 “ Amino acid transport regulation and early embryo development” Biol Reprod 64: 1-12
- 20) Summers et al., 2000 “IVF of mouse ova in a simplex optimized medium supplemented with amino acids” Hum Reprod 15: 1791-1801
- 21) Ali et al., 2000 “Formulation of a protein-free medium for human assisted reproduction” Hum Reprod 15: 145-156
- 22) Quinn 2004 “The development and impact of culture media for assisted reproductive technologies” Fert Steril 81: 27-29
- 23) Wang and Day 2002 “Development of porcine embryos produced by IVM/IVF in a medium with or without protein supplementation: effects of extracellular glutathione” Zygote 10: 109-115
- 24) Staessen et al., 1994 “Fertilization and early embryology: Controlled comparison of Earle’s balanced salt solution with Menezo B2 medium for human in-vitro fertilization performance” Hum Reprod 9: 1915-1919
- 25) Lim et al., 1999 “Development of in-vitro-derived bovine embryos cultured in 5% CO<sub>2</sub> in air or in 5%O<sub>2</sub>, 5%CO<sub>2</sub> and 90% N<sub>2</sub> “ Hum Reprod 14: 458-464

- 26) 安松、吉澤 他, 1995 ” 発生培地への  $\beta$ -ME 添加がウシ体外受精由来胚の染色体へ与える影響について” 第 90 回日畜学会大会
- 27) Noda 1992 “Evaluation of environmental factors affecting embryo development in vitro”
- Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi 44: 96-970)
- 28) Beker et al., 2002 “Effect of 17beta-estradiol on the in vitro maturation of bovine oocytes” Theriogenology 58: 16663- 1673

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）  
（分担）研究報告書

生殖補助医療の安全管理および心理的支援を含む統合的運用システムに関する研究

生殖補助医療により出生した児の予後調査に関する研究

分担研究者 齊藤 英和 国立成育医療センター周産期診療部 医長

（研究要旨）2003年治療分の生殖補助医療により出生した児の調査・検討した。

2003年治療分の体外受精治療周期21,089周期中、採卵に至った周期は17,671周期であり、胚移植をした周期は11,633周期であった。この胚移植をした周期中の一個胚を移植した周期は3,365周期あり、このうち胎嚢を認めた妊娠周期は600周期あった。また、胎児を2つ以上認めた周期は6周期(1.0%)あった。

顕微授精では、治療周期15,761周期中15,199周期に採卵を行い、このうち10,101周期に胚移植した。一個胚移植した周期は2,727周期でありこのうち、妊娠した周期は306周期であった。また、胎児を2つ以上認めた周期は7周期(2.3%)あった。

今年度は凍結融解胚移植による治療に関しても調査した。凍結融解胚移植治療周期9,461周期中、胚融解した周期は9,311周期であり、胚移植をした周期は8,895周期であった。この胚移植をした周期中の一個胚を移植した周期は3,896周期あり、このうち胎嚢を認めた妊娠周期は1,331周期あった。また、胎児を2つ以上認めた周期は14周期(1.1%)あった。

体外受精・顕微授精・凍結融解胚移植の3つ治療法を合計すると、一個胚移植した周期は9,988周期で、このうち妊娠が2,237周期となり、多胎妊娠となった周期は27周期(1.2%)であった。これは、日本での一卵性双胎の自然発生率の0.402%と比較し高値を示していた。

胚移植数が2個以上の場合は、胚移植数より胎児数が多い治療周期のみが、1つの胚が2つに分割し、一卵性多胎を起こした周期ではないが、胚移植数より、胎児数が多い治療周期を検討した。全部で19周期存在し、内訳は2個胚移植し3児となった周期は15周期、2個胚移植し5児となった周期は2周期、3個胚移植し4児となった周期は2周期であった。

一個胚移植し、多胎となった症例で、出産までの予後が判明している症例のうち、出産児が1児となった児は2症例(8.3%)、すべて流産となった症例は5例(20.8%)であり、二個胚移植し、3胎以上となった症例での出産児数が2または1児となった症例13症例(72.2%)、すべて流産となった症例は1例(5.6%)であった。

生殖医療で治療し出生した児の予後、特に一卵性多胎の頻度は全治療中1.4%

と自然発生率の0.4%に比較し高値を示していた。一個移植し多胎となった症例では、すべての児が流産した率は高値となっている。

2個以上胚移植、胚移植数以上の確認胎児数となった症例では、その多くは生産胎児数が2児以下となっていた。

多胎妊娠は周産期予後に大きく関わる因子であり、特に一卵性多胎の予後は悪い。生殖補助医療は一卵性多胎を発生する率を高めるため、この発生率を考慮して生殖補助医療を行う必要がある。

#### A. 研究目的

生殖補助医療の基本となる出生した児の安全性に関して我が国におけるまとまったデータベースは日本産科婦人科学会の報告が主であり、全国規模で、1歳児までの発育調査をした研究は平成2年に治療された1,168児にとどまっている。また、昨年、日本受精着床学会が平成9年治療分で出生した児809人の5年間の発育・発達を調査しており、学会誌における報告が待たれている。しかし、継続的に小児期までの発育・発達を含めた調査を行っている機構は存在しない。

そこで、本年度は2003年に生殖医療で治療し出生した児の予後、特に一卵性多胎の頻度について調査研究を行った。

#### B. 研究方法

2003年の生殖補助医療治療分の調査を行ない、一卵性多胎の発生について検討した。

#### C. 研究結果

体外受精治療周期21,089周期中、採卵に至った周期は17,671周期であり、胚移植をした周期は11,633周期であった。この胚移植をした周期中の一個胚を移植した周期は3,365周期あり、このうち胎嚢を認めた妊娠周期

は600周期あった。また、胎児を2つ以上認めた周期は6周期(1.0%)あった。

顕微授精では、治療周期15,761周期中15,199周期に採卵を行い、このうち10,101周期に胚移植した。一個胚移植した周期は2,727周期でありこのうち、妊娠した周期は306周期であった。また、胎児を2つ以上認めた周期は7周期(2.3%)あった。

今年度は凍結融解胚移植による治療に関しても調査した。凍結融解胚移植治療周期9,461周期中、胚融解した周期は9,311周期であり、胚移植をした周期は8,895周期であった。この胚移植をした周期中の一個胚を移植した周期は3,896周期あり、このうち胎嚢を認めた妊娠周期は1,331周期あった。また、胎児を2つ以上認めた周期は14周期(1.1%)あった(表1)。

体外受精・顕微授精・凍結融解胚移植の3つ治療法を合計すると、一個胚移植した周期は9,988周期で、このうち妊娠が2,237周期となり、多胎妊娠となった周期は27周期(1.2%)であった。これは、日本での一卵性双胎の自然発生率の0.402%と比較し高値を示していた。

表1. 2003年治療分の生殖補助医

療の成績（周期）

	IVF	ICSI	Freeze
治療数	21,089	15,761	9,461
採卵	17,671	15,199	9,311
胚移植	11,633	10,101	8,895
1 個胚移植	3,365	2,727	3,896
妊娠	600	306	1,331
多胎妊娠	6 (1.0%)	7 (2.3%)	14 (1.1%)

胚移植数と確認胎児数からみた予後をみると、1 個胚移植して 2 胎児を確認した 26 症例では 5 症例が流産し、18 症例が生児を得ており、3 例が予後不明であった。1 個胚移植して 3 胎児を確認し 1 症例では 1 症例が生児を得た。2 個胚移植して 3 胎児を確認した 15 症例では 1 症例が流産し、14 症例が生児を得た。2 個胚移植して 5 胎児を確認した 2 症例では 1 症例が生児を得ており、1 例が予後不明であった。3 個胚移植して 4 胎児を確認した 2 症例では 2 症例とも生児を得ていた(表 2)。

表 2. 胚移植数より、確認胎児数が多い症例の予後(周期数)

ET 数 屋 → 胎 児 数	症 例 数	す べ て 流 産	生 産 数	予 後 不明
1→2	26	5	18	3
1→3	1		1	
2→3	15	1	14	
2→5	2		1	1
3→4	2		2	

胚移植数が 1 個で確認胎児数が 2 個となった症例で生産数が 18 症例あったが、そのうち 16 症例が 2 児を出産し、残りの 2 症例は 1 児の出産であった。胚移植数が 1 個で確認胎児数が 3 個となった症例は 1 症例あったが、3 児を出産した。胚移植数が 2 個で確認胎児数が 3 個となった症例で生産数が 14 症例あったが、そのうち 6 症例が 2 児を出産し、残りの 4 症例は 1 児の出産、4 症例が 3 児の出産であった。胚移植数が 2 個で確認胎児数 5 個となった症例では生産数が 1 症例あったが、2 児を出産した。胚移植数が 3 個で確認胎児数が 4 個となった症例では生産数が 2 症例あったが、2 症例とも 2 児を出産した(表 3)。

表 3. 胚移植数より、確認胎児数が多い症例で出産した児の数と周期数

ET 数 屋 → 胎 児 数	症 例 数	生 産 数		
		1 児	2 児	3 児
1→2	26	2	16	
1→3	1			1
2→3	15	4	6	4
2→5	2		1	
3→4	2		2	

D. 考察

単胎妊娠に比較し、多胎妊娠の周産期予後は悪い。一卵性多胎は周産期の予後は双胎児間輸血症候群などの合併症が多く、予後はさらに悪い。

以前より、生殖補助医療による、1 卵性双胎の発生頻度が高くなるとの報告があり、我々も、以前より報告してきた<sup>1)</sup>。2002 年分の報告でも体外

受精で 6.1%、顕微授精で 1.1%、両治療を合わせて、4.2%と報告した。今回の 2003 年分では両治療を合わせると 1.1%であり、2002 年分よりは低く、年度ごとの変動があるものの自然の発生率 0.4%に比較すると、高値であった。年ごとの変動の原因は、一卵性双胎の上昇が明らかに指摘されている胚盤胞移植による胚移植の頻度によるものかもしれない。

今年、初めて、凍結・融解胚移植を検討したが、凍結胚融解胚移植での一卵性双胎頻度(1.1%)は新鮮胚移植(1.4%)とほぼかわらなかった。このことは、凍結融解操作では一卵性多胎発生に影響しないことを示していると考えられる。

予後がはっきりした症例で検討すると、一個移植し多胎となった症例のうち、すべての児が流産した率(21.7%)は 2 個以上移植し 3 児以上の多胎となった症例の流産率(5.9%)よりも高かった。この原因ははっきりしないが、もう少し、症例を重ね検討しなければならない。

一個胚移植し、確認胎児数が 2 または 3 の症例で、生産した症例は 19 症例であったが、出産児数が 1 となった症例は 2 例(11%)と低値であった。これは、一卵性多胎の場合には、児への影響を考慮し、意図的には減数手術をすることはないこともひとつの理由であり、また、双胎なら妊娠・分娩もリスクが少ないと考えていることも理由のひとつ考えられる。

2 個以上胚移植、胚移植数以上の確認胎児数となった生産症例 17 例のなかで、13 症例(76%)において生産胎児数が確認胎児数よりも低かった

(2 児または 1 児)。これには何らかの胎児数減少のための操作が行われていたと推測される。

## E. 結論

生殖医療で治療し出生した児の予後、特に一卵性多胎の頻度は全治療中 1.4% と自然発生率の 0.4% に比較し高値を示していた。一個移植し多胎となった症例のうち、すべての児が流産した率は高値となっている。

2 個以上胚移植、胚移植数以上の確認胎児数となった症例では、その多くは生産胎児数が 2 児以下となっていた。

多胎妊娠は周産期予後に大きく関わる因子であり、特に一卵性多胎の予後は悪い。生殖補助医療は一卵性多胎を発生する率を高めるため、この発生率を考慮して生殖補助医療を行う必要がある。

## F. 文献

1) Saito H, et al. Do assisted reproductive technologies have effects on the demography of monozygotic twinning? *Fertil Steril*, 74: 178-179, 2000

## G. 健康危険情報

特になし

## H. 研究発表

特になし

## I. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

# 厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

## 分担研究報告書

### 生殖補助医療の遺伝的安全性の検討：

### 生殖補助医療により出生した Silver-Russell 症候群患者におけるメチル化異常

分担研究者 緒方 勤 国立成育医療センター研究所 小児思春期発育研究部 部長

#### A. 研究目的

近年、生殖補助医療により出生した児において、低出生体重や先天奇形の発症率が高いこと、および、インプリンティング異常疾患を招くメチル化異常の発症率が有意に高いことが報告され、大きな問題となっている。しかし、生殖補助医療に伴うメチル化異常は Beckwith-Wiedemann 症候群や Angelman 症候群など、過成長を呈するインプリンティング疾患において認められ、生殖補助医療における低出生体重や先天奇形とメチル化異常の関連性は明確となっていない。

本研究の目的は、生殖補助医療により出生した Silver-Russell 症候群（SRS）患者において、メチル化異常の有無を解析し、生殖補助医療における低出生体重や先天奇形とメチル化異常の関連性を検討することである。SRS は、低出生体重と奇形徴候により特徴づけられる先天奇形症候群であり、約 7% の患者では、インプリンティング異常を意味する第 7 染色体の母親性ダイソミーが同定されている。したがって、SRS は、本研究目的に合致するシツ間と考えられる。

#### B. 研究方法

##### 症例

生殖補助医療により双胎第 2 子として出生した SRS 女児である。双胎第 1 子の女児は正常である。両親の生殖補助医療の原因は不明で、10 年間妊娠しなかったために *in vitro* fertilization を受けた。双胎出生後、自然妊娠で正常男児が生まれている。

本症例は、在胎 37 週、身長 36.5 cm (−6.0 SD)、体重 1.25 kg (−4.6 SD) で出生し、3 歳児に低身長 (−3.6 SD) で来院し、逆三角顔貌、

小顎症、第 5 指屈曲短縮から SRS と診断された。

##### メチル化解析

患者、双胎姉妹。両親の末梢血からゲノム DNA を採取し、第 7 染色体長腕に存在する父親性発現（母親性インプリント）遺伝子 PEG1/MEST のメチル化可変領域（DMR）を解析した。DMR 上の CpG islands の cytosine 残基は、親由来により発現アリルでは非メチル化、非発現アリルではメチル化されており、インプリンティング遺伝子の発現パターンを反映する。そして、PEG1/MEST の DMR に存在する CpG islands は、発現パターンに一致して、父親由来アリルでは非メチル化、母親由来アリルではメチル化されている。このメチル化状態は、bisulphite 処理により非メチル化 cytosine 残基のみが uracil を経て thymine に変換されることから、bisulphite 処理前後においてメチル化配列特異的プライマー、非メチル化配列特異的プライマー、両者を同時に増幅するプライマーを用いて直接シーケンス法で解析することで検討できる。本研究では、この方法を使って 31 個の CpG islands における cytosine 残基のメチル化状態を解析した（図 1-A）。コントロールとして、第 7 染色体の母親性ダイソミーを有する SRS 患者検体を用いた。また、第 15 染色体の DMR も同様に解析した。

本研究は成育医療センター倫理委員会の承認のもとに行われ、個人情報の管理は三省指針を順守して行われた。

##### マイクロサテライト解析

本症例が、第 7 染色体の母親性ダイソミーを有するか否かを、同染色体上の多数のマ



マイクロサテライト座位のジェノタイピングにより解析した。

### C. 研究結果

#### メチル化解析

代表的なシーケンス結果は図1-Bに、解析した領域のまとめは図1-Cに示す通りである。患児では、解析した領域に存在する31個の cytosine 残基のうち8個において異常メチル化が認められた。さらに、父親でも、31個の cytosine 残基のうち4個において異常メチル化が認められた。母親と姉妹のメチル化パターンは正常であった。第7染色体の母親性ダイソミーを有するSRS患者では、全ての cytosine 残基がメチル化されていた。第15染色体上のDMRのメチル化パターンは患児および姉妹、両親において正常であった。

#### マイクロサテライト解析

第7染色体の母親性ダイソミーは否定された(図2)。

### D. 考察

以上の成績は、生殖補助医療により出生した児において、PEG1 遺伝子のDMRにおいて過剰なメチル化が存在することを示すデータである。Peg1 遺伝子ノックアウトマウスが変異を雄から受け継いだときのみ重度の成長障害を生じることから、本症例では、PEG1 遺伝子の発現低下がSRSに特徴的な成長障害や先天奇形発症に関与する可能性が推測される。したがって、本研究は、世界で初めて生殖補助医療がインプリンティング異常を介して成長障害や先天奇形発症を招くことを示唆するが関連しうることを示唆するものである。

しかし、生殖補助医療におけるインプリンティング異常と成長障害や先天奇形発症では、いくつかのことを今後検討する必要がある。第一に、本症例におけるメチル化異常が直接的にSRS発症と関連するか否かは不明である。父親にも軽度ながら同様のメチル化異常が認められたことから、この過

剰メチル化は妊孕性低下に関係するかもしれない。第二に、このメチル化異常がPEG1 遺伝子のDMRに限局する否か不明である。第15染色体上のDMRのメチル化パターンは正常であったが、他にもDMRは多数存在する。第三に、もし、インプリンティング異常が限局して生じるならば、なぜ特定のDMRがメチル化異常を受けるか判然としない。第四に、生殖補助医療がインプリンティング異常を招く機序は未解決である。これについて、培養液や培養条件などが関与するという報告が散見され、これは今後の検討課題である。最後に、現在までの生殖補助医療と関連して見出されたメチル化異常は通常低メチル化であり、本症例では過剰メチル化である。したがって、生殖補助医療が異なるタイプのメチル化異常を招くか否か検討する必要がある。これに関連して、最近、第11染色体短腕の低メチル化がSRSを発症することが報告され、この領域を検討する必要がある。

以上、様々な課題は見られるが、本成績は、今後の生殖補助医療における遺伝的安全性を考える上で貴重なデータと考えられる。

### E. 研究発表

#### 論文発表

1. Kagami M, Nishimura G, Okuyama T, Hayashidani M, Takeuchi T, Tanaka S, Ishino F, Kurosawa K, Ogata T. Segmental and full paternal isodisomy for chromosome 14 in three patients: localization of the critical region and implication for the clinical features. *American Journal of Medical Genetics A*138 (2):127-132, 2005
2. Kagami M, et al. (執筆中)
3. 堀川玲子, 鏡雅代, 内木康博, 田中敏章, 緒方勤. 7番染色体母性片親性イソダイソミーを認め特異な臨床像を呈するSilver Russell症候群(SRS)の1例. *ホルモンと臨床* 52 (小児内分泌学の進歩2004): 59-63, 2004.

学会発表

1. 深見真紀, 緒方勤, 鏡雅代, 大橋博文, 佐藤直子, 永井敏郎. 7q11 領域の微小 segmental maternal isodisomy と PEG1/MEST プロモーター部位の異常メチル

化パターンを有する人工授精で出生した Silver-Russel 症候群の女兒例. 第 26 会小児遺伝学会, 2003.

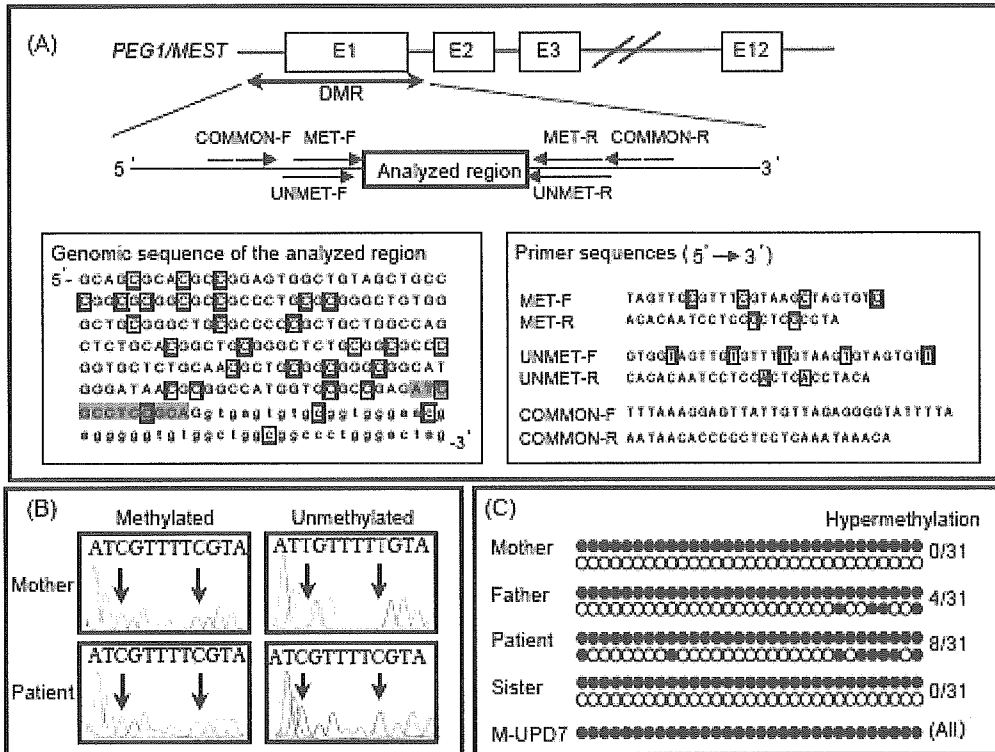


図 1. 本症例におけるメチル化解析.

Locus	Product size (bp)			
	Patient	Sister	Father	Mother
D7S531	245/249	N.E.	245/249	245/247
D7S484	99/101	N.E.	101/105	97/99
D7S2846	169/185	177/185	169/177	185/189
D7S519	260/262	N.E.	260/262	260/262
D7S1830	204/212	N.E.	208/212	204/208
D7S672	133/151	131/151	131/133	135/151
D7S1870	107/119	107/117	117/119	107/121
D7S669	118/126	118/130	126/130	118/126
D7S634	139	137/139	137/139	137/139
D7S527	271/279	N.E.	271/275	279/295
D7S515	157/161	155/161	155/157	151/161
D7S684	168/180	168/184	180/184	168/180
D7S1824	169	N.E.	169/173	169/173
D7S550	188/200	N.E.	188/200	186/188

図 2. 本症例におけるマイクロサテライト化解析.

## 厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

### 分担研究報告書

#### 生殖補助医療における調節卵巣刺激のための ゴナドトロピン製剤の自己注射の検討

分担研究者

苛原 稔 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部女性医学 教授

#### 研究要旨

##### 目的

現在、不妊症患者に対してゴナドトロピン製剤が用いられることが多くなっている。本剤は補助生殖医療(ART)における調節卵巣刺激(controlled ovarian stimulation;COS)においても用いられ、優れた治療効果が示されている。しかし、本邦では不妊治療のためのゴナドトロピン製剤の自己注射は認められておらず、注射のために連日の通院を要することが治療上の大きな制約となっている。本研究では、体外受精または顕微授精(IVF/ICSI)の調節卵巣刺激におけるゴナドトロピン製剤の自己注射の安全性と効果について検討した。

##### 方法

男性因子のために IVF/ICSI を行う患者 3 名を対象とした。封筒法によりゴナドトロピン製剤の投与を医療従事者が行う方法(通院注射)と患者自身で行う方法(自己注射)に無作為前方視的に振り分けた。自己注射周期の開始日に自己注射手技について十分説明し、問題無く行えることを確認した。

IVF/ICSI は GnRH agonist を使用した long protocol 法を用いて行った。採卵周期に recombinant FSH(フォリスチム®)を連日皮下投与し、採卵が可能となった時点で、hCG 製剤を投与した。

前周期および採卵周期の各時期に血中 LH、FSH、E<sub>2</sub> を測定した。また、発育卵胞数、採卵数、受精卵数、副作用の発症、通院日数などを検討した。自己注射周期では、受診時に担当医が注射部位の局所反応の評価を行い、治療終了後に自己注射手技と自己注射の賛否についてのアンケート調査を行った。

なお、本研究は院内の倫理委員会の承認をうけ、治療実施医師による十分な説明と書面による患者の同意の下に行った。

##### 結果

対象 3 例のうち 2 例に自己注射による ICSI、1 例に通院注射による IVF を施行した。rFSH の総使用量、採卵数および受精卵は自己注射と通院注射で大きな差はなく、全例とも胚盤胞移植を施行した。自己注射手技に関する問題は発生せず、OHSS などの副作用も発症しなかった。卵巣刺激開始日から採卵日までの通院日数は、自己注射の 2 例はともに 4 日、通院注射は 10 日であった。治療周中の血中 LH 濃度および血中 FSH 濃度は自己注射と通院注射で同様の推移を示した。自己注射を行った症例に対するアンケートは、2 例とも自己注射の導入に肯定的であった。

## 考察

本研究では、IVF/ICSI の調節卵巣刺激に目的を絞って、ゴナドトロピン製剤の自己注射の安全性と効果について検討した。その結果、自己注射は通院注射と同じ様に、副作用を発症することなく採卵、胚移植まで実施でき、十分な臨床効果を得ることができた。また、自己注射は通院注射に比べて、通院日数が半分以下に短縮されていた。このように、自己注射による ART の COS は、安全かつ有効に行え、通院回数を減らすことが可能であることが示唆された。

## 共同研究者

松崎利也(徳島大学大学院女性医学講師)

桑原 章(徳島大学大学院女性医学助手)

岩佐 武(徳島大学大学院女性医学)

## 研究目的

現在、不妊症患者に対してゴナドトロピン製剤が用いられることが多くなっている。本剤は補助生殖医療(ART)における調節卵巣刺激(controlled ovarian stimulation;COS)においても、多数の良好な卵を得る目的で用いられ、優れた治療効果が示されている。しかし、ゴナドトロピン製剤は注射薬であり、本邦では不妊治療のためのゴナドトロピン製剤の自己注射は認められておらず、注射のために連日の通院を要することが治療上の大きな制約となっている。一方、海外ではゴナドトロピン製剤の自己注射が既に一般化しており、自己注射専用の製品も発売されている。本研究では、体外受精または顕微授精(IVF/ICSI)の調節卵巣刺激におけるゴナドトロピン製剤の自己注射の安全性と効果について検討した。

## 方法

### 対象

男性因子のために IVF/ICSI を行う患者 3 名を対象とした(表 1)。いずれ

の症例も、卵巣機能に異常を認めず、内分泌疾患等の合併症は無かった。また、BMI は正常範囲であった。LH、FSH、PRL の血中濃度は正常範囲内であった。各症例は、前治療として 2~6 周期の排卵誘発および人工授精(AIH)を施行されていた。

### 治療法の振り分け

封筒法によりゴナドトロピン製剤の投与を医療従事者が行う方法(通院注射)と患者自身で行う方法(自己注射)に無作為前方視的に振り分け、1 例に通院注射、2 例に自己注射による COH を用いた IVF/ICSI を行った。

### 被験者への説明

自己注射周期の開始日に、無菌操作、アンプルのカット、製剤の注射器への吸引を十分に説明し、実際に皮下注射を担当看護師の指導のもと被験者に行わせ、問題無く行えることを確認した。さらに自己注射手技に関する説明文書、投与日程を示した書面、および器具一式を手渡した。

### 治療日程

GnRH agonist を使用した long

protocol 法により IVF/ICSI を行った (図 1)。前月経周期の高温相 5~7 日目より採卵日の前々日までの間、GnRH agonist 製剤(スプレキュア® ; )400mg を 1 日 4 回、経鼻投与した。採卵周期に recombinant FSH(フォリスチム®)150~225 単位を 4 日間連日皮下投与し、超音波検査を施行した。その後も、rFSH の連日投与を継続し、超音波検査にて 3 方向平均が 17mm 以上の卵胞を 3 個以上認めた時点で、翌々日を採卵日と定め、採卵の 35 時間前に hCG 製剤 5000 単位を単回筋肉内投与した。

#### 検討項目

前周期の 3 日目(MCD3)、採卵周期の卵巣刺激の初日(day3)、5 日目(day7)、8 日目(day10)に血中 LH、FSH、E<sub>2</sub> を測定した。また、発育卵胞数、採卵数、受精卵数、副作用の発症、通院日数などを検討した。自己注射周期では、受診時に担当医が注射部位の局所反応の評価を行った。自己注射周期を行った症例に、自己注射手技と自己注射の賛否についてのアンケート調査を行った。

なお、本研究は院内の倫理委員会の承認をうけ、治療実施医師による十分な説明と書面による患者の同意の下に行った。

#### 結果

対象 3 例のうち 2 例に自己注射による ICSI、1 例に通院注射による IVF を施行した(表 1)。全例が 9 日間の卵巣刺激で採卵に至った。rFSH の総使用量は、自己注射では 1,500IU および 2,025IU、通院注射では 2,025IU、採卵数は自己注射で 13 個および 18

個、通院注射では 17 個であった。受精卵は、自己注射で 11 個および 14 個、通院注射では 17 個で、全例とも採卵後 6 日目に胚盤胞移植を施行した。自己注射手技に関する問題は発生せず、異常な局所反応は認めなかった。OHSS などの副作用も発症しなかった。卵巣刺激開始日から採卵日までの通院日数(採卵前の hCG の投与日を含む)は、自己注射の 2 例はともに 4 日、通院注射は 10 日であった(表 2)。治療周中の血中 LH 濃度は治療周期を通じて 0.8~1.8mIU/ml で推移していた。一方、血中 FSH 濃度は rFSH 投与前で 4.2~6.3mIU/ml、投与開始後は 13.7~26.6mIU/ml で推移していた。血中 E<sub>2</sub> 濃度は治療開始後から採卵前にかけて上昇した(図 2)。妊娠は成立していない。自己注射を行った症例に対するアンケートは、2 例とも自己注射の導入に肯定的であった。

#### 考察

現在、不妊症患者に対してゴナドトロピン製剤が用いられており、生殖補助医療(ART)における調節卵巣刺激(COS)にも汎用されている。しかし、本邦では不妊治療を目的としたゴナドトロピン製剤の自己注射は認められておらず、ART の COS においても通院による注射が一般的であり、注射のために連日の通院を要することが患者の負担となっている。一方、海外では排卵誘発と ART の COS の両方でゴナドトロピン製剤の自己注射が既に一般的な方法として普及しており、患者の負担の軽減につながっていることから、今後、本邦においても自己注射の導入を目指す必要

があると思われる。しかし、ゴナドトロピン製剤の所用量は症例により、また周期により一定でなく、製剤の過量投与による副作用がおりやすいため、自然に近い排卵を目指す排卵誘発の場合には十分に安全性の検討を行う必要がある。一方、ARTのCOSでは、原理的に多数の卵胞の発育を目指すものであり、一般排卵誘発に比べると投与時の管理は容易であり、ある程度プログラム化されたプロトコルが存在する。また、保険診療でないため、安全性と効果について十分な検討が報告されれば、早期に自己注射導入がなされる可能性がある。本研究では、皮下注射が可能で、アレルギー反応の副作用が出にくい rFSH 製剤を用いて、IVF/ICSI の調節卵巣刺激に目的を絞って、ゴナドトロピン製剤の自己注射の安全性と効果について検討した。その結果、少数例であるが、自己注射は通院注射と同じ様に、副作用を発症することなく採卵、胚移植まで実施でき、十分な臨床効果を得ることができた。また、自己注射周期の血中ホルモン濃度も通院注射周期と同様で、注射部位の局所反応も認めなかったことから、自己注射の手技に問題は無かったと考えられる。自己注射は通院注射に比べて、通院日数が半分以下に短縮されていた。このように、自己注射による ART のCOSは、安全かつ有効に行え、通院回数を減らすことが可能であることが示唆された。今後は、症例を集積することで、治療効果や副作用の発生に問題がないことを更に確認し、自費診療で行われている ART の

COS が、患者のニーズに合わせて自己注射によって行うことに一日でも早く道を開く必要があると考えられる。

表1 患者背景およびFSH投与法の割り振り

年齢	妊娠歴	不妊原因	治療歴	治療方法**	FSH投与法
症例1	35 G(1)P(0) [自然妊娠 →自然流産]	男性因子	COH-AIH 2回	ICSI	自己注射
症例2	27 G(0)P(0)	男性因子	COH-AIH 3回	ICSI	自己注射
症例3	30 G(1)P(0) [自然妊娠 →自然流産]	男性因子 抗精子抗体陽性	COH 6回(前医)* laparoscopy	IVF	通院注射

\*:AIHは1回施行

\*\* :全例GnRH agonistのlong protocol

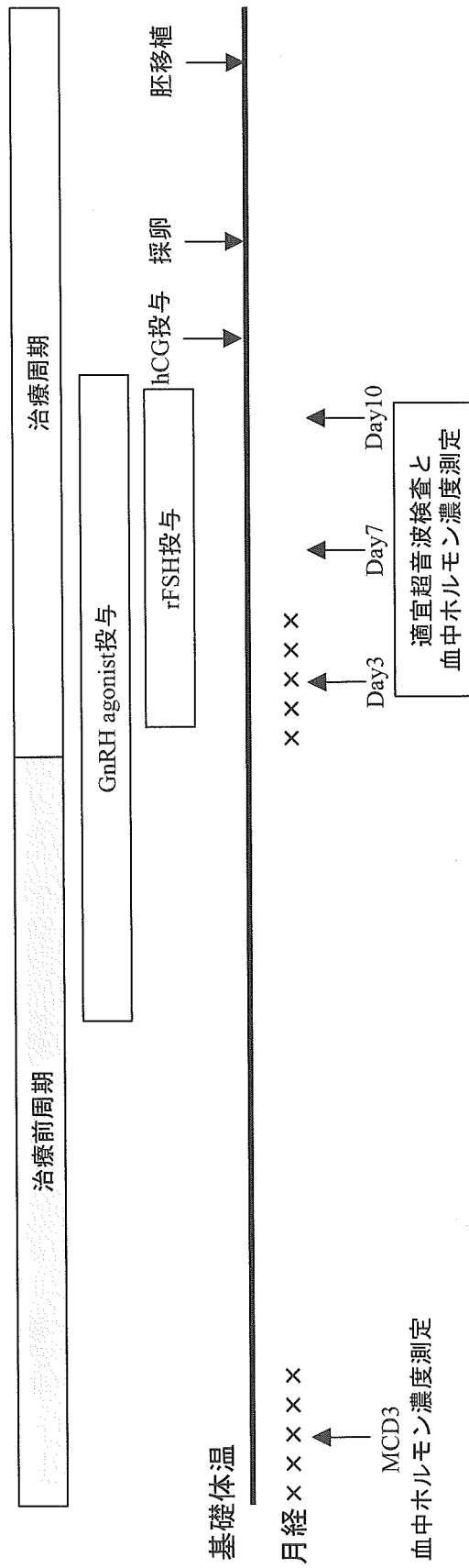


図1 治療日程

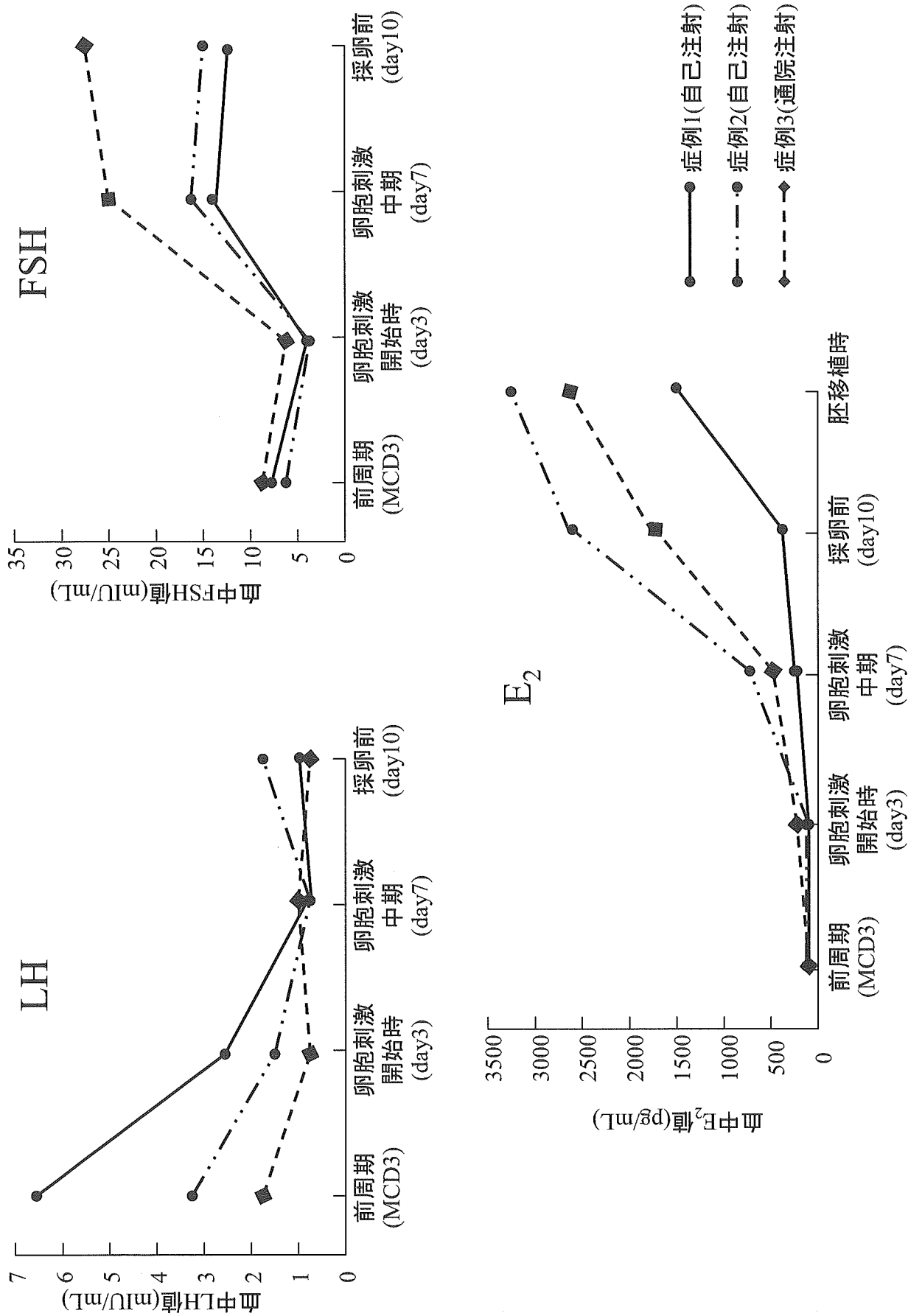


表2 臨床成績

	症例1 (自己注射)	症例2 (自己注射)	症例3 (通院注射)
合計rFSH使用量	1500 IU	2025 IU	2025 IU
採卵数(個)	13	18	20
受精卵数(個)	11	14	17
卵巣径(胚移植時)	右:61×54×32 左:51×39×53	右:55×66×60 左:63×56×79	右:69×71×47 左:52×72×43
合併症	なし	なし	なし
rFSH投与日数(日)	9	9	9
通院日数*	4	4	10

\*:卵巣刺激開始日から採卵前のhCG投与日まで

図2 調節卵巣刺激中の各種血中ホルモン濃度の推移



生殖医療におけるカウンセリング体制の整備

1) カウンセリング供給体制の構築

The Construction of Mental Counselling system on Assisted Reproductive Treatment.

分担研究者；久保春海（Harumi Kubo, MD） 東邦大学医学部第1産婦人科学講座教授

研究要旨

1. 生殖医療カウンセリングには3段階のステップが考えられ、それぞれの段階で生殖医療スタッフは役割を分担してカウンセリングを実施する。通常、わが国の生殖医療におけるカウンセリングの実施内容は、一次カウンセリングが殆ど（77～80%）である。2次カウンセリングを受けるクライアントの割合は約20%であり、3次カウンセリングは0～3%程度となる。

2. 一次カウンセリングでは不妊専門医、不妊専門看護師、コーディネーター、エンブリオロジストなどのチームスタッフが主体となる。1次カウンセリングは、主として生殖医療相談的要素が強く、これらにかかわるスタッフは、心理カウンセリングの専門的知識、技術は習得する必要はないが、各専門制度、認定制度資格を有し、少なくとも、カウンセリングとは何か、カウンセリングマインドのあり方などについての知識を持っていることが必要であり、このためには、日本生殖医療心理カウンセリング学会あるいは日本不妊カウンセリング学会の会員であることが望ましい。

3. 二次カウンセリングを実施する生殖医療専門心理カウンセラー資格としては、日本生殖医療心理カウンセラー学会認定制度における、認定基準がある。臨床心理士の資格を有し、生殖医療の現場で2年以上のカウンセリング経験を有していることが資格条件となる。さらに、毎年開催される研修会で不妊カップルに対するカウンセリングマインド、カウンセリング技術(counseling skill)の訓練や、不妊症の病態生理、治療法、社会心理学的背景などの講義を受け、終了後に認定試験に合格した者でなければならない。

また、

4. 三次カウンセリングには、メンタルヘルス専門医（精神科医、診療内科医など）による本格的な心理療法や薬物療法が必要である。一般臨床心理カウンセリングにも限界があり、潜在性の精神疾患が考えられる場合には、速やかにこれらの専門医にコンサルトしなければならない。これらの患者を取り扱う精神科医も生殖医療に関する知識がなければならない。

## A.研究目的

生殖医療カウンセリング供給体制の構築には、その人的資源をどこに求めるかが重要であり、次にその人的資源の教育、研修および認定制度の構築が重要である。そこで、生殖医療に関わるすべてのメンバーが、各カウンセリング・ステップのいずれかに関与できるような、カウンセリング体制の構築を目的として、供給のあり方を研究する。

## B.方法

生殖医療チームスタッフがカウンセリングの各ステップでどのように参画しているかを、主に日本生殖医療心理カウンセリング学会で検討し、諸外国における現状をヨーロッパ生殖医学会(ESHRE)および国際不妊カウンセリング機構(IICO)の代表者らと面談して、海外における生殖医療のカウンセリングシステムの構築状況を調査した。それ以外の部分は主に文献的に検討することにより、さらに本邦において可能なカウンセリング体制の構築について検討した。

## C.結果およびD.考察

### 1:わが国における生殖医療のカウンセリング体制の現状

最近、少子高齢化がクローズアップされているが、その一方で子供を産みたいのに産めないことで悩んでいる不妊カップルも少なくない。20歳から45歳までの生殖年齢にある夫婦の10組に1組は子供ができない悩みを抱えており、その数は140万組に及ぶとも云われている。さらに近年、晩婚化、生殖年齢の女性の子宮内膜症の増加、あるいは青年男子の精子数の減少傾向など不妊症の底辺は広

がる兆しを見せている。これに対して日本におけるART実施登録施設数は600以上であり、全産婦人科施設数の約5%にしか過ぎない。この中で、IVF, ICSI および受精卵凍結保存を実施している施設のうちで各々79%、70%、88%は治療周期数が年間100周期以下の小施設によって占められている。したがって、ART登録施設に従事する平均医師数も5人以下が53%と半数を占め、エンブリオロジストも0~1人であるのが全施設の53%と半数以上を占めている。これに対して、わが国における不妊と考えられるカップルの割合は約140万組いると推定される。このうちで実際に不妊治療を受けているカップルは2003年度の厚生省生殖補助医療技術研究班によれば466,900組であり、不妊カップルの約3組に1組に過ぎない。このような現状に鑑みて、不妊治療の現状および不妊カップルの抱えるさまざまな問題点について、真剣に実情を考える必要が生じている。ART施設の問題点としては、ARTの適応、検査、治療の標準化(クリニカル・パス)がなされていないため、各施設によって不妊カップルに対する治療指針がまちまちであることである。また、地域によりARTの進歩に対する情報不足や、小規模施設のためマンパワーの不足などによる生殖医療技術の限界があることもあげられる。また、生殖医療は日進月歩であり、わが国のART施設では技術面で急速に進んでいるのに対して、不妊カップルへの心理的支援の対応が立ち後れている。不妊カップルがARTを受けるか否か、また受けたらどの