

厚生労働科学研究費補助金
子ども家庭総合研究事業

超少子化時代のわが国における新たな不妊症原因の究明と
社会に即した治療システムの開発

平成18年度 総括研究報告書

主任研究者 阿久津 英憲

平成19(2007)年4月

目 次

I 総括研究報告書

- 超少子化時代のわが国における新たな不妊症原因の究明と社会に即した
治療システムの開発3
阿久津 英憲

II 分担研究報告書

1. 子宮・卵巣疾患の不妊症メカニズム解明及び治療体系に関する研究
—卵巣性子宮内膜症における Steroid Receptor Coactivators (SRCs) 発現様式
の検討—11
佐藤 章
2. 子宮・卵巣疾患の不妊症メカニズム解明及び治療体系の研究
—生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究—13
吉村 泰典
久慈 直昭
3. 女性の妊孕性維持ならびに不妊症における子宮内膜症の問題点に関する臨床的研究
および、子宮内膜症治療についての基礎的研究19
矢野 哲
大須賀 穰
4. 男性不妊症感受性遺伝子同定のための連鎖不平衡マッピング25
井ノ上 逸朗

III 研究成果に関する一欄表27

IV 研究成果の刊行物・別冊31

I 総括研究報告書

超少子化時代のわが国における新たな不妊症原因の究明と社会に即した
治療システムの開発

阿久津 英憲

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

総括研究報告書

超少子化時代のわが国における新たな不妊症原因の究明と社会に
即した治療システムの開発（H18-子ども一般-004）

主任研究者 阿久津英憲

国立成育医療センター研究所 生殖医療研究部生殖技術研究室長

研究要旨：わが国では生殖補助技術を中心とした不妊症治療を享受する症例は年々増加し、生殖補助技術による出生児は全出生の1.5%以上を占めるようになってきている。一方で、超少子化社会で出産年齢の高齢化にあるわが国では、より社会に即した生殖医療システムを提示する必要がある。結婚及び出産年齢の高齢化にともない生殖年齢の期間に好発する子宮内膜症、子宮筋腫などの生殖器疾患が不妊症治療に影響を与えることが増えており、これらの疾患の基礎的・臨床的研究と生殖補助医療の適正な供給体制に関する臨床的研究は急務の課題である。まず発症頻度が高く不妊症女性の20～30%でその原因となっている子宮内膜症について体系的にその治療と妊孕性改善に対する臨床データを検討し治療の最適化・標準化を目指した臨床研究を開始した。同時に基礎的研究からのアプローチとして子宮内膜症の病態に関して新たな分子機構を発見し将来の診断、治療法に役立つ有用な成果を得ている。子宮内膜症合併不妊に対してこの社会に即した管理・治療システムの構築が本研究班により提示されてきた。今後更に臨床データを共有することで、生殖器疾患合併不妊症に対する治療を最適化し社会へ提示することを目指す。もう一つの課題として、生殖と加齢の問題がある。特に卵の質の低下に関して社会の中で理解の混乱があるため、まずは卵細胞の加齢への影響を示すエビデンスが必要とされている。この研究は実験動物マウスを用いて個体の加齢にともなった卵の質への影響を解析する。ライフスタイルの変化により出産時年齢は高齢化し生殖と加齢との関連性に係わる疾患や現象に対して、科学に基づいたエビデンスを与えこの社会に即した生殖医療システムを構築し国民に提供することを目指す。

A. 研究目的

我が国における体外受精を中心とする生殖補助技術の利用は50,000例に達し、また生殖補助技術由来の出生児は全出生の1.5%以上を占めるようになっており、出生率（合計特殊出生率）が低下し続けている。現在、国民の多くが、医学的、社会的、経済的にも何らかの形で不妊症と関連していると認識できる。生殖年齢の期間に好発している子宮内膜症、子宮筋腫、多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）が、出産年齢の上昇とともに不妊症の原因としても大きな割合を占めるにいたっている。しかしこれまで、不妊症とこれら疾患との治療法を体系的に検討してきた報告はない。本研究班では、こ

れら3疾患の治療法を最終的には不妊症を改善し挙児にいたることを目的とした治療の最適化・標準化を図る。同時に、病態機序解明と不妊症に至る機序を解析していき、これら疾患の不妊機序の分子メカニズムに迫り、新たな治療法の展開に繋げたい。例えば、子宮内膜症の治療はこれまでエストロゲンを抑制する方法が中心であり、更年期症状や骨量減少などの副作用が強いため長期に使用することは不能であった。また、使用中は妊娠できないなどの制約があり、不妊症に対して効果の期待できないものであった。本研究班では子宮内膜にアディポネクチン受容体が存在し、子宮内膜に対しアディポネクチンが生理作用を発揮するこ

とを明らかにした。これらアディポネクチンの作用はAMPキナーゼを介していることが示唆され、AMPキナーゼを活性化するメトフォルミンは糖尿病治療薬であるが、多嚢胞性卵巣症候群に対して広くもちいられており、投薬中に妊娠が可能である。基礎的研究成果を時代に即した治療ストラテジーの構築、展開に役立てる。社会の趨勢である結婚年齢、出産年齢高齢化していることより加齢と卵細胞の質への影響は早急に解明しなければならない問題である。実験動物マウスを用いて、加齢と卵の質について基礎研究からエビデンスを抽出していき、社会への認識の一助を担う。

B. 研究方法

1) 子宮内膜症・子宮筋腫治療の妊孕性改善に対する影響の臨床的検討

これまでの研究では手術療法と体外受精・胚移植が独立に扱われ、両者を総合的に検討し、不妊治療の最適化を図った研究はない。また、子宮筋腫の治療においても、薬物療法・手術療法・体外受精と各々が個別に検討されているのみである。ここでは、まず後方視的な検討により各々の疾患がどのような治療により妊娠に至ったかを時間軸とともに解析し、各治療の利点・欠点も視野に入れ、組み合わせによる治療の最適化についていくつかのモデルを作成する。次に、このモデルをもとに前方視的に無作為比較試験を行い、治療の最適化・標準化を図る。

2) 子宮内膜症・子宮筋腫不妊機序の解明

子宮内膜症患者の遺伝子多型を調べた。腹腔鏡下手術を施行する際に同意を得られた患者において、子宮内膜症の病巣が確認された症例群と、子宮内膜症を発症していない健常群において、特定遺伝子の多型ハプロタイプ解析を行った。なお子宮内膜症および子宮筋腫などのリプロダクティブヘルスに関連する疾患と特定遺伝子との関連性について検討を行う研究については、課題名「子宮内膜症および子宮筋腫の遺伝子診断・発症予測に関する研究」として、慶應義塾大学医学部倫理委員会にて承認済みである。このときに承認された患者説明書および同意書を用いて、同意をえられた患

者の検体のみから遺伝子研究を行った。

子宮内膜症・子宮筋腫の不妊機序を体外受精・胚移植を含めた臨床検体の解析により検討する。本研究において卵巣性子宮内膜症及び子宮内膜症を有する婦人の子宮内膜にエストロゲンレセプター (ER) の転写活性化因子である SRC family が正常子宮内膜に比較しどのように発現しているかを解析した。また ER α との共発現についても解析した。

子宮内膜症性卵巣嚢胞の手術検体より子宮内膜症性間質細胞 (ESC) を分離培養した。ESC に metformin (10, 100, 1000 nM) と IL-1 β を添加し、培養上清中の IL-8 産生量を ELISA にて測定した。また、ESC に metformin と cAMP を添加し、aromatase の遺伝子発現を定量的 PCR で、活性はアンドロステンジオン添加後のエストロン産生を EIA で測定し評価した。さらに、ESC に metformin を添加し、細胞増殖能を BrdU 取り込みで、細胞毒性を LDH 放出により評価した。

3) 将来を見据えた不妊症感受性遺伝子同定のための連鎖不平衡マッピング

不妊症の原因究明に関し、女性側要因のみでなく男性側要因へのアプローチも重要である。もとより、不妊の原因として男性要因が 25% 程度を占めるといわれている上、最近では環境ホルモンの影響もあり男性不妊症の増加が危惧されている。

本研究では疾患感受性遺伝子の解明に不可欠な連鎖不平衡マッピング法を、より実践的なマッピング法として確立するためにヒトの遺伝子における連鎖不平衡の成り立ち、ヒトゲノムの多様性を明らかにしようとするものである。そのモデル研究として、今回は ADP-ribosyltransferase (ART) 遺伝子の連鎖不平衡の解明を行うことでヒト不妊症関連遺伝子のゲノムの多様性を明らかにすることを目的とした。なおサンプルの取り扱いについては生命倫理的な手続きを経てとりおこなわれた。

- 4) 加齢化モデル由来胚の多分化能性解析
胚盤胞期胚の将来胎児となる内部細胞塊から樹立される胚性幹細胞を加齢化モデルの胚より樹立しその特性解析から加齢化卵の多分化能性へ寄与する性質を体外培養系で探る実験系を構築する。それより得られた加齢卵由来胚性幹細胞の未分化能維持機構、組織分化能に及ぼす影響を免疫組織学的及び分子生物学的に解析していく。

C. 研究結果

1) 子宮内膜症・子宮筋腫の治療の妊孕性改善に対する影響の臨床的検討

子宮内膜症性卵巣嚢胞の核出後の再発について検討した結果、再発率は30.4%であった。再発に影響を与える因子の探索として、様々な因子をロジスティック回帰分析を行ったところ子宮内膜症に対する薬物既往、大きい最大嚢胞径の2因子があげられた。子宮腺筋症と子宮内膜症の有無により不妊症治療効果に影響がどうか解析した結果、着床率、臨床妊娠率、流産率ともに両群間で有意差は認められなかった。子宮筋腫合併不妊に対する腹腔鏡下筋腫核出術の妊娠率は約54%であった。手術後の積極的に不妊症治療を行うことで妊娠率が向上した。

2) 子宮内膜症・子宮筋腫不妊機序の解明

子宮内膜症の病巣が確認された症例群と、子宮内膜症を発症していない健康群において、多型ハプロタイプ解析の結果、ハプロタイプごとの分布に有意な差は検出されなかった。

Metforminの添加は、ESC培養上清中のIL-8産生量を対照に比べ濃度依存性に67%まで低下させた。また、aromataseの遺伝子発現および活性を濃度依存性に最大58%と66%に抑制した。さらに、metforminの添加は、細胞増殖能を濃度依存性に最大22%に抑制したが、細胞毒性は認められなかった。

子宮内膜症を有する婦人の正所性子宮内膜では子宮内膜症を有しない婦人に比べると特に腺細胞において明らかにSRC family全てで強発現していた。

卵巣性子宮内膜症はER α 蛋白を発現しており、連続切片を用いた免疫組織化学では共発現をしていることが推測された。RT-PCR法においても同様の傾向が認められた。

3) 将来を見据えた不妊症感受性遺伝子同定のための連鎖不平衡マッピング

ヒトART遺伝子に対して、遺伝子多型による連鎖不平衡の解析を行った結果、特定の集団では連鎖不平衡が保たれていることが示された。各々の大陸集団で特異的な遺伝子頻度、ハプロタイプ頻度を示すことが確認され人種間の差が指摘された。

4) 加齢化モデル由来胚の多分化能性解析

胚性幹(ES)細胞は正常核型を保ちつつ、高い多分化能性を持った細胞でほぼ無限に増殖することができる。実験動物マウスを用いて研究を行った。まず、ES細胞の機能検定を的確に行うために安定的なES細胞樹立・培養維持システムを確立することができた。ES細胞の機能検定には免疫染色法、RT-PCR法等分子レベルでの解析とin vivoでの多分化能解析としてキメラマウス作成での解析を行い確実に多分化能性を検定することができた。世界の趨勢を把握するために情報解析と他国の研究者との共同研究によりレビューとして報告することができた。

D. 考察

子宮内膜症合併不妊の治療は腹腔鏡手術を行った後に、保存的療法ならびに体外受精をおこなうのが妥当と考えられるが、今回の研究結果が示すように子宮内膜症性卵巣嚢胞の摘出後に約3割が再発することを考慮しなくてはならない。すなわち、現在不妊治療中である場合にはできるだけ早期の妊娠を目指して短期間に治療をステップアップする必要があると考えられる。女性のQOLの低下を引き起こし、不妊症治療と併用できない抗エストロゲン療法とは異なるメトフォルミンが子宮内膜症の治療薬となる可能性が示唆され、女性のQOL低下を引き起こさ

ない社会の即した治療方法となる可能性が高い。子宮腺筋症は社会状況の変化によりますます不妊との関係で重要な疾患となると考えられる。今回の研究では子宮腺筋症が明かに体外受精の成績を低下させるというデータは得られなかったが、子宮腺筋症を合併する不妊症に対しては体外受精が治療のよい選択肢になるともいえる。

更に、子宮筋腫以外に不妊症の原因を認めない症例において、不妊症の検索も同時に行う目的で、腹腔鏡下子宮筋腫核出術を行うことは、術後の妊孕能を改善する可能性があると考えられた。基礎的研究として、子宮内膜症におけるステロイド受容体コファクター (SRC) の発現様式を検討し、卵巣性子宮内膜症では SRC family の一つである SRC-1 が強く発現していること及び子宮内膜症を有する婦人の正所性子宮内膜においても正常の正所性子宮内膜と SRC 発現様式のプロファイルが異なることを明らかにした。これは子宮内膜症の病態に対して極めて新規的な事項であり、現在、子宮内膜症の治療薬として GnRH アナログ、ダナゾール、低容量ピルなど用いられているが副作用の点からもさらなる効果のある創薬が期待される。SERM など薬品開発にも共役因子は重要な鍵となり、子宮内膜症などホルモン依存性といわれる疾患との関連を明らかにすることは意義があると思われる。ヒトゲノム解析では、連鎖不平衡の強さは集団サンプルによって異なり、疾患感受性遺伝子の同定には日本人を対象とした詳細な連鎖不平衡の検討が不可欠であると考えられる。

超少子化時代となり社会の様々な方面に切実な問題を投げかけているが、その中でも生殖医療が関連する事象は重要であるが解明されていなかったり、国民への適切な啓蒙が不足している現状がある。例えば、卵子の質の低下に関しても、広く認識されていないが故に国民の一部に大きな誤解を招いている。基盤的、科学的データの裏付けのある誠実な情報を提示することは我々研究者が社会に対して行うべき責務である。

E. 結 論

子宮内膜症合併不妊、子宮筋腫合併不妊による不妊治療に手術療法と体外受精は有効であるが、いまだ効果は十分でなく更なる妊娠率向上のためには手術療法の限界まで踏まえた管理が必要である。子宮内膜症卵巣嚢胞の保存手術では約3割の再発があり、再発率をあげる要因として嚢胞の大きさなどがあることを見いだした。今後は再発まで考えた長期管理の指針を検討していく必要がある。子宮腺筋症は体外受精の成績を低下させなかったため、子宮腺筋症の適切な管理と体外受精を組み合わせることにより妊孕性の向上が期待できると考えられた。さらなるデータの検討には、症例の積み重ねとメタ解析が必要となる。目的である生殖器疾患合併不妊症の治療法の最適化・標準化に向けて、専門に解析する人員を補充しより明確な治療ストラテジーを提示していく。基礎的研究においては、子宮内膜症における病態に関してアディポカインの関わりを突きとめ、新たな治療法の展開へ向けて研究を進めている。更には、SRC が新たなキープレイヤーである可能性を突きとめ、子宮内膜症の進展に SRC がホルモン依存性の観点から関与していることが示唆された。本研究班により子宮内膜症に関して新たな分子メカニズムが解明でき、今後は更に基礎的研究を推進するとともに、臨床研究を治療法の最適化・標準化の確立に向け展開していく基盤が確立できた。

F. 健康危険情報

なし

G. 倫理面への配慮

1. 臨床研究に対する倫理面への配慮

「子宮内膜症および子宮筋腫の遺伝子診断・発症予測に関する研究」として、慶應義塾大学医学部倫理委員会にて承認済みである。なお、研究協力者に倫理専門家を加え、本研究遂行にあたって新たな倫理的問題が生じないよう、常にモニタリングを行い、必要に応じて意見交換を行った。

2. 実験動物に対する倫理

実験動物を用いる研究については、国立成育医療センター研究所動物実験指針に準拠して研究を実施した（承認番号2003-002, 2005-003）。特に、動物愛護と動物福祉の観点から実験動物使用は、目的に合致した最小限にとどめ、またその際、麻酔等手段により苦痛を与えない等の倫理的配慮をおこなった。

H. 研究発表

論文発表

Sullivan, S. Egli, D. Akutsu, H. Melton, D. Eggan, K. Cowan, CA.: Derivation of human ES cells. Human Embryonic Stem Cells: A Practical Handbook (in press).

Tanaka, TS. Lopez de Silanes, I. Sharova, LV. Akutsu, H. Yoshikawa, T. Amano, H. Yamanaka, S. Gorospe, M. Ko, MS.: Esgl, expressed exclusively in preimplantation embryos, germline, and embryonic stem cells, is a putative RNA-binding protein with broad RNA targets. Dev Growth Differ. 48:381-90. 2006.

Akutsu, H. Cowan, CA. and Melton, D.: Human embryonic stem cells. Methods Enzymol. 418:78-92. 2006.

I. 知的財産権の出願・登録状況

1) 特許取得

なし

2) 実用新案登録

なし

3) その他

なし

II 分担研究報告書

1. 子宮・卵巣疾患の不妊症メカニズム解明及び治療体系に関する研究
— 卵巣性子宮内膜症における Steroid Receptor Coactivators (SRCs) 発現様式の検討—
佐藤 章
2. 子宮・卵巣疾患の不妊症メカニズム解明及び治療体系の研究
— 生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究—
吉村 泰典
久慈 直昭
3. 女性の妊孕性維持ならびに不妊症における子宮内膜症の問題点に関する臨床的研究
および、子宮内膜症治療についての基礎的研究
矢野 哲
大須賀 穰
4. 男性不妊症感受性遺伝子同定のための連鎖不平衡マッピング
井ノ上 逸朗

子宮・卵巣疾患の不妊症メカニズム解明及び治療体系に関する研究
—卵巣性子宮内膜症における Steroid Receptor Coactivators (SRCs) 発現様式の検討—

分担研究者 佐藤 章
福島県立医科大学 産科婦人科学講座 教授

研究要旨：子宮内膜症は性成熟女性の代表的婦人科疾患である。月経困難症、慢性骨盤痛、性交痛などの症状をひきおこし、不妊の原因にもなりうる。この疾患はエストロゲン依存性であるため、卵巣性子宮内膜症（異所性子宮内膜）及び子宮内膜症を有する婦人の子宮内膜（正所性子宮内膜）においてエストロゲンレセプター（ER）の転写活性化因子である SRC を中心としたホルモン環境を解析した。SERM なども含め転写共役因子を標的とする薬品開発もすすめられており今後この疾患に応用される可能性も含め研究を施行している。

A. 研究目的

子宮内膜症は不妊をひきおこす代表的疾患である。エストロゲン依存性であることは周知されておりホルモン環境を明らかにすることは重要であると考えられる。本研究において卵巣性子宮内膜症及び子宮内膜症を有する婦人の子宮内膜にエストロゲンレセプター（ER）の転写活性化因子である SRC family (SRC-1, SRC-2, SRC-3) が正常子宮内膜に比較しどのように発現しているかを解析した。また ER α との共発現についても解析した。

B. 研究方法

インフォームドコンセントを得た患者の組織を手術時採取し 10%ホルマリン液にて固定する。また RNA 抽出用として-80℃にて使用まで保存する。固定した組織からパラフィンブロックを作製し免疫組織化

学法にて SRC-1、SRC-2、SRC-3 蛋白の発現の有無、局在について解析した。RNA については凍結切片から抽出しバンドの輝度から半定量化した。

（倫理面への配慮）

本研究に関しては当大学の倫理委員会の承認の下、患者様には本研究の必要性を十分理解を求めた。個人情報については漏洩のないようにすること、個人を特定できないようにすることを厳守したため倫理面の問題はないと判断した。

C. 研究結果

卵巣性子宮内膜症は SRC family の中で性周期にかかわらず SRC-1 が腺細胞、間質細胞ともに強発現しており、SRC-2、SRC-3 は弱い発現を認めるのみであった。子宮内膜症を有しない正常婦人の子宮内膜では SRC-2、SRC-3 が SRC-1 に比較し強く発現していた。性周期では SRC-2、SRC-3 とも

に分泌期が増殖期に比較し強かった。また、腺細胞が間質細胞に比較し有意に強く認められた。子宮内膜症を有する婦人の正所性子宮内膜では子宮内膜症を有しない婦人に比べると特に腺細胞において明らかに SRC-1, SRC-2, SRC-3 とも強発現していた。卵巣性子宮内膜症は ER α 蛋白を発現しており、連続切片を用いた免疫組織化学では共発現をしていることが推測された。RT-PCR 法においても同様の傾向が認められた。

D 考察

SRC は ER など転写因子の活性化に重要な分子であることが基礎医学の分野で数多く報告されてきた。近年、臨床的にも卵巣癌などの発症原因に転写活性化因子が関与していることが明らかにされている。本研究では子宮内膜症における SRC の発現様式を検討し、卵巣性子宮内膜症では SRC-1 が強く発現していること及び子宮内膜症を有する婦人の正所性子宮内膜においても正常の正所性子宮内膜症と SRC 発現様式のプロファイルが異なることを明らかにした。現在、子宮内膜症の治療薬として GnRH アナログ、ダナゾール、低容量ピルなど用いられているが副作用の点からもさらなる効果のある創薬が期待される。SERM など薬品開発にも共役因子は重要な鍵となり、子宮内膜症などホルモン依存性といわれる疾患との関連を明らかにすることは意義があると思われる。

E 結論

卵巣性子宮内膜症において SRC-1 が SRC-2, SRC-3 に比較し強く発現を認めた。

子宮内膜症を有する正所性子宮内膜では正常の子宮内膜に比較し SRC-1, SRC-2, SRC-3 ともに強く発現していた。ER は SRC-1 と共発現していることが推測された。子宮内膜症の進展に SRC がホルモン依存性の観点から関与していることが示唆された。

F 健康危険情報

特になし

G 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

第 58 回日本産婦人科学術講演会

第 51 回日本生殖医療学会

H 知的財産の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得 現在のところ予定なし

2. 実用新案登録 現在のところ予定なし

3. その他 特になし

子宮・卵巣疾患の不妊症メカニズム解明及び治療体系の研究

—生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究—

分担研究者 吉村 泰典 慶應義塾大学産婦人科 教授

久慈 直昭 慶應義塾大学産婦人科 講師

研究要旨：体外受精をはじめとする生殖補助医療の進歩にともない、不妊症治療は着実に進歩してきた。一方、少子化の傾向と晩婚化が進む我が国では、生殖補助医療による出生児数は総出生児の約1%までになってきた。晩婚化にともない、卵巣機能の低下による不妊症のみならず、妊娠年齢が上昇することにより、子宮筋腫および子宮内膜症といった疾患を合併した不妊症患者が増加しているのが現状である。本研究では、#1 腹腔鏡下子宮筋腫切除術が妊娠能に与える影響 #2 子宮内膜症嚢胞が妊娠能に与える影響および#3 子宮内膜症の発症に与える、エストロゲンレセプター関連遺伝子の与える影響について検討した。

子宮筋腫術後の総妊娠率は術後2年で48.4%となり、プラトーに達する傾向にあった。また、術後6ヶ月以上で成立した妊娠は自然妊娠以外、すなわち、ARTによる妊娠が多数を占めていた。なお、今回の妊娠群のうち当院で経過観察できた症例においては、帝王切開38回、経膈分娩3回、他院での分娩11名、子宮外妊娠1回、人工妊娠中絶1回、流産17回であり、分娩にいたった症例において、妊娠中の子宮破裂兆候および子宮破裂の症例はなかった。

子宮内膜症性嚢胞を合併する不妊症患者にたいする治療については、術前の卵巣嚢腫の最大径が1~3cm、4~6cm、7cm以上の3群に分類して術後の妊娠率を比較検討したが、嚢胞の大きな症例の方が術後の妊娠率が高い傾向を示したものの、有意な術後妊娠率の差は認められなかった。rASRMスコアと術後妊娠率については、子宮内膜症2期の症例がやや術後妊娠率が高い傾向は認められたが、rASRM分類の期別によって、術後妊娠率には有意差は認められなかった。

結論として、とくに比較的若年者の筋腫・子宮内膜症を合併した不妊患者の治療において、体外受精を考慮するまでに適切な（タイミング法、あるいは人工授精による）治療周期数を検討するとともに、ART治療前に治療を行うべきかどうかを診断する指標を確立することが必要であると考えられた。

A. 研究目的

挙児希望年齢の上昇にともない、不妊症患者における子宮筋腫および子宮内膜症の合併頻度がより高くなってきている。また、子宮筋腫・子宮内膜症の有無にかかわらず、年齢上昇にともなう、機能性不妊（卵子の加齢、卵子のpick up障害、卵管内輸送障害、着床不全など）も増加している。これまで、妊娠能と子宮筋腫、妊娠能と子宮内膜症という観点では議論がなされていて多数の報告が存在するものの、我が国において、体外受精を代表とするARTに於ける子宮筋腫や子宮内膜症の影響、および、それぞれの疾患にたいする外科的治療がARTの治療成績に及ぼす影響に関しては詳細な分析がなされていなかった。妊娠を希望する年齢が上昇している我が国においては、ARTの施行のタイミングが不妊治療において、よりはやくなる傾向があり、外科的治療が妊娠能ことにART治療に与える影響を分析することは肝要である。

そこで、本研究においては、子宮筋腫の腹腔鏡下手術術後の、特にARTを含めた治療を

行った場合の妊娠能に与える影響を検討するとともに、子宮内膜症と子宮筋腫を合併している症例とそれぞれの疾患独自の症例を分離して評価することにより、妊娠能に於ける、両者の疾患の影響と、治療効果を検討することとした。また、子宮内膜症の発症要因としてダイオキシンの関連が指摘されて久しいが、いまだに、エストロゲンレセプターおよびダイオキシンの関連性については、明確な結論を見ていない。遺伝子多型と子宮内膜症の発症に関しては数多くの研究があり、aryl hydrocarbon receptor (AhR)、aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (Arnt)、aryl hydrocarbon receptor repressor (AHRR)などのダイオキシン関連遺伝子群をはじめとして、エストロゲンレセプターについても報告があるが、ことに、AHRRの発現と子宮内膜症の発症に関しては報告によって結論が異なっている。本研究では、エストロゲンレセプター関連遺伝子に注目して、子宮内膜症との発症について関連性があるかどうか検討することを目的とした。

検討項目 1.

腹腔鏡下子宮筋腫切除術が妊孕能に与える影響についての検討

B. 研究方法

子宮筋腫核出術の手術適応(表1)は、子宮筋腫による圧迫症状がある場合、子宮内腔の変形や拡大により、過多月経などの臨床症状が出現している場合、子宮筋腫が原因とおもわれる疼痛が出現している場合、および、他の原因がみあたらない不妊症症例で、通常の不妊治療を行っても妊娠にいたらない場合、などである。

晩婚化と少子化の影響で、子宮筋腫および子宮内膜症を合併した妊娠症例が増加しているが、同時に、不妊症患者の中でも、子宮筋腫と子宮内膜症を合併した症例は増加してきている。本研究では、2000年5月から2005年5月までの5年間に、慶應義塾大学病院で施行した、腹腔鏡下子宮筋腫核出術201症例を対象として検討を加えた。この症例のなかで、挙児希望のない患者をのぞき、かつ、6ヶ月以上経過観察を行っていた124症例に対して、術後妊娠率、術後の妊孕能に関与する因子につき検討を行った。なお、今回対象としたのは、不妊症の適応で子宮筋腫核出術になった症例で、筋腫の最大径は12cmであり、子宮筋腫の位置や個数については限定していない。

C. 研究結果

今回対象とした症例について、術後妊娠した群と妊娠に到らなかった群において、関連する因子について検討を行った。結果は表2、表3に示した通りである。術後6ヶ月以上の経過観察が可能であった症例では、術後妊娠率は、術後の不妊症治療の有無を問わなければ、全体で54%が妊娠にいたった(図1)。摘出筋腫個数は妊娠群で 3.8 ± 2.8 個、非妊娠群で 3.7 ± 3.5 個、摘出した、最大筋腫径は妊娠群で 5.4 ± 2.4 cm、非妊娠群で 5.2 ± 2.7 cm、摘出筋腫重量は妊娠群で 137 ± 100 g、非妊娠群で 185 ± 152 g、手術時間は妊娠群で 172 ± 67 分、非妊娠群で 176 ± 62 分、術前の不妊期間は妊娠群で 2.8 ± 2.5 年、非妊娠群で 3.5 ± 2.6 年といずれも両群で差を認めなかった。一方、妊娠群の平均年齢は 35.7 ± 3.6 歳、非妊娠群の平均年齢は 37.2 ± 3.7 歳と有意な差が検出された。また、子宮内膜症の合併率は、妊娠群で30%、非妊娠群で49%と、非妊娠群の方が子宮内膜症の併発率が高いことが検出された。

また、術後の妊娠にいたる期間を図1に示した。術後の総妊娠率は約2年で約50%で横ばいになっている。また、術後約半年を経過からの妊娠は自然妊娠以外、すなわち、ART(人工授精、体外受精などの不妊治療)による妊娠が多数を占めている。

なお、今回の妊娠群における総妊娠回数は72回であり、当院で経過観察できた症例においては、帝王切開38回、経膈分娩3回、他院での分

娩11名、子宮外妊娠1回、人工妊娠中絶1回、流産17回であった。分娩にいたった症例において、妊娠中の子宮破裂兆候および子宮破裂の症例はなかった。

D. 考察

腹腔鏡下子宮筋腫核出術後の妊娠率は54%であり、従来の不妊症患者に対する開腹子宮筋腫核出術の術後妊娠率と比較して遜色がなかった。子宮筋腫以外に不妊症の原因を認めない症例において、不妊症の検索も同時に行う目的で、腹腔鏡下子宮筋腫核出術を行うことは、術後の妊孕能を改善する可能性があると考えられた。開腹手術と腹腔鏡下手術を厳密に比較した研究報告からは、腹腔鏡下手術において、術後炎症所見が少なく、短期的には患者にメリットがあるとされている。また、術後の腹腔内癒着も開腹手術に比して腹腔鏡下手術は少ないと報告されているため、妊孕能温存の必要がある場合、腹腔鏡下筋腫核出術は有効な治療方法であると考えられた。子宮筋腫に対する治療方法としては、現在、開腹手術、腹腔鏡下手術、子宮鏡下手術、子宮動脈塞栓術(UAE)、集束超音波治療(FUS)などがある。妊孕能という面では、今後FUSも治療の候補となる可能性もあるが、病理結果が得られること、卵巢機能が障害されないこと、理論的に内膜血流の改善効果が高いと考えられることや、最終的な目的である術後の妊娠率などから推測すると、外科的治療は、子宮筋腫の治療法補として、今後ますます重要な手技となっていくと考えられる。より安全に腹腔鏡下子宮筋腫核出術が施行できる施設が、ある程度広域の医療圏には存在していることが望ましい。

一方、近年の不妊症患者においては、結婚年齢の高齢化とともに、妊娠を試みる年齢の高齢化も生じている。今回の検討で、妊娠群と非妊娠群で差が認められたのは年齢であったが、これは、体外受精における妊娠率への年齢の影響と同様に、年齢の妊孕能に与える影響は女性の場合極めて重要であるということが確認された。晩婚化と少子化が指摘されて久しいが、不妊症として治療を行っているカップルのかなりの割合が、従来は不妊症ではなかったのに、年齢が上昇したために妊孕能が障害されているにすぎないのではないかと推測される。妊孕能温存の手術手技の確立と普及も重要であるが、一方、妊娠分娩の時期がある程度若い年齢に行っても、女性としてのキャリアが継続できるようなサポート体制が、不妊症という観点からも重要であると考えられた。

妊娠群と非妊娠群で差をみとめたもう一つの因子は子宮内膜症の合併である。これは、年齢との関連もあり、一概に妊孕能に与える影響として評価するのは困難である。しかし、今回検討した症例においては、腹膜病変は原則として焼灼および切除を行い、また、卵巢病変も切除(一部の症例は焼灼)を行っているので、子宮

内膜症に対する標準的治療は同時に行っている症例である。子宮内膜症病巣の治療によって妊娠能が改善されることは指摘されているが、今回の症例からは、治療によって改善するとしても、子宮内膜症が存在しない症例より妊娠率が低いことが予測される結果となった。

妊娠にいたった症例においては、術後半年で24%、術後1年で39%が妊娠となっている。しかし、その後の妊娠率向上はほとんどがARTからとなっている。加療を開始した年齢にもよるが、術後6ヶ月から1年で妊娠にいたらない場合、積極的にARTによる不妊症治療を行うことが、妊娠率の改善という点からは有効であることが示唆された。

検討項目2.

子宮内膜症嚢胞が妊娠能に与える影響

卵巣嚢腫が妊娠能を障害することは、卵管のpick up障害から類推されて説明されている。また、子宮内膜症による妊娠能障害機序については、腹腔内の慢性炎症という因子からおこる、受精障害、精子機能障害、また、炎症によって生じた癒着による、卵管によるpick up障害など、多方面における影響が推測および検証されている。以上のような障害因子が複合的に影響し、子宮内膜症性嚢胞は妊娠能に対して影響をおよぼしていると考えられている。しかし、子宮内膜症性嚢胞のみが妊娠能に与える影響に関して検討はこれまでなされてはいなかった。そこで、本研究においては、子宮内膜症性嚢胞が妊娠能に及ぼす影響を手術症例から検討することを計画した。

研究方法

対象は、2000年1月から、2005年4月までに慶應義塾大学病院で腹腔鏡下手術により子宮内膜症の治療を行った不妊症104症例である。術後に妊娠にいたった群（妊娠群）と妊娠に到らなかった群（非妊娠群）において、卵巣嚢腫の有無、卵巣腫瘍の大きさについて比較検討を行った。

研究結果

子宮内膜症患者に対する手術は原則的に、病巣切除を行い、比較的小さな内膜症性嚢胞（ ϕ 4cm以下）に対しては、焼灼を行っている。不妊症をともなう子宮内膜症患者において、子宮内膜症嚢胞の有無が術後の妊娠率に差を生じさせることは無かった（図2）。また、子宮内膜症嚢胞がある症例についても術後妊娠率について検討を加えた。術前の卵巣嚢腫（子宮内膜症性嚢胞）の最大径が1~3cm、4~6cm、7cm以上の3群に分類して術後の妊娠率を比較検討したが、嚢胞の大きな症例の方が、術後の妊娠率が高い傾向を示したものの、有意な術後妊娠率の差は認められなかった。また、rASRMスコアと術後妊娠率についても評価を行った。子宮内膜症2期の

症例がやや術後妊娠率が高い傾向は認められたが、rASRM分類の期別によって、術後妊娠率には有意差は認められなかった。

考察

過去の報告例においては、子宮内膜症に対して外科的治療を行うことにより妊娠能が改善することを示唆する報告が多い。しかし、病型を子宮内膜症嚢胞、腹膜病変、子宮腺筋症などに詳細に分類して、妊娠能に対して議論がなされているものは少ない。ここでは、特に、子宮内膜症性嚢胞に注目して妊娠能に与える影響について検討を加えた。

今回の結果からは、子宮内膜症が存在した時点で、さらに子宮内膜症性嚢胞が存在するかどうかは、妊娠能への影響は少ないと推測された。子宮内膜症による妊娠能障害のなかで最も大きな因子は、海外におけるoocyte donationの検討結果より、卵子の質の低下が示唆されている。今回の我々の結果は、卵巣嚢腫のある子宮内膜症のみならず、腹膜病変を主体とする子宮内膜症においても、同様の障害がおこっている可能性が示唆された。また、子宮内膜症性嚢胞に術後妊娠率については、今回の検討では嚢胞の大きさによる術後妊娠率の差は検出されなかった。一方、皮様嚢腫のみが存在して他に不妊症となる原因がないような症例においては、術後の妊娠率は比較的高い。子宮内膜症においては、嚢胞が大きくなることにより卵巣実質への障害も起こり、そのため、卵巣の大きさが正常化されることによる卵管のpick up障害の改善が卵巣機能の障害によって打ち消されている可能性が推測された。また、rASRMのスコアは、従来より骨盤痛や妊娠率との関連性は少ないことが指摘されているが、我々の検討結果にても同様に、明確な妊娠能との関連は認められなかった。rASRM分類は子宮内膜症の重症度の一つの指標であるが、子宮腺筋症が分類に含まれていないことや、子宮内膜症性嚢胞があまりにスコアが高いことなど問題点もある。スコア化は必要であるが、子宮内膜症においては、腹膜病変・卵巣病変・子宮腺筋症（子宮体部およびその他の深部病変）に分類して、疼痛および妊娠能について再評価する必要がある。

検討項目3.

子宮内膜症の発症に与える、エストロゲンレセプター関連遺伝子の与える影響

子宮内膜症の発症には、エストロゲン関連遺伝子群の関与が示唆されて久しい。また、アカゲザルの実験により、ダイオキシン類の長期暴露により子宮内膜症を発症する可能性が示唆されている。アカゲザルの実験に関する解釈はその後議論があるところであるが、ダイオキシン受容体抑制遺伝子多型が性分化（小陰茎）との関連が示唆されたり、あるいは、エストロゲンレセプター α と子宮内膜症の発症との関連性も

示唆されている。一方、エストロゲンレセプターの活性化には多種の共役因子が関与している(図5)。ダイオキシン類の毒性作用はダイオキシン受容体(AhR)を介して発現するとされ、AhR/Arnt 複合体は p300 と結合されることが知られている。AhR/Arnt コアクチベーター複合体はエストロゲンレセプターに結合し、p300/CBP が、複合体の一部を形成しているとされている。そこで、我々は、子宮内膜症と p300 の関連性について検索する発想にいたった。

研究方法

腹腔鏡下手術を施行する際に同意を得られた患者において、子宮内膜症の病巣が確認された34症例と、子宮内膜症を発症していない健常群34症例において、p300の多型ハプロタイプ解析を行った。

なお子宮内膜症および子宮筋腫などのリプロダクティブヘルスに関連する疾患と特定遺伝子との関連性について検討を行う研究については、課題名「子宮内膜症および子宮筋腫の遺伝子診断・発症予測に関する研究」として、慶應義塾大学医学部倫理委員会にて承認済みである。このときに承認された患者説明書および同意書を用いて、同意をえられた患者の検体のみから遺伝子解析を行った。

研究結果

今回我々は、p300の5つのハプロタイプについて解析を行ったが、今回検討した症例においては子宮内膜症の発症群と、正常コントロール群でハプロタイプごとの分布に有意な差は検出されなかった。

考察

エストロゲンレセプターの多型解析については、Pvu II site と子宮内膜症の発症の関連性が報告されている。ダイオキシン関連遺伝子群に関しては AHRR の多型において、子宮内膜症と関連があるという報告と、関連がないという報告が同時に存在している。多型解析においては症例の背景がきわめて重要であるため、報告によって有意差の有無について、相反する結果が得られている。

エストロゲンレセプターと子宮内膜症の発症に関する要因に関しては、症例の背景をできるだけ均一にするとともに、症例数を増加させ、より包括的に評価することが必要である。また、エストロゲンレセプターの関与が疾患に対してある場合、エストロゲンレセプターにかかわる転写共役因子が多数あるため、エストロゲンレセプターのみならず、それに関わる因子群についても同時に解析することが必要であると考えている。今回の検討では症例数が少ないことが、ハプロタイプに有意差が検出されなかった可能性もあるため、今後、症例数を増加させ、継続して検討を加えていきたい。

E. まとめ

子宮筋腫が妊孕能を障害しているかどうか、また障害しているとしてその機序が子宮・卵管内での受精障害によるものなのか、筋腫による着床障害によるものかについては、明確な診断方法がないのが現状である。

今回の検討で、筋腫合併不妊婦人のうちタイミング法・人工授精で一定期間妊娠に到らない症例においては、筋腫核出術の術後において約50%が術後2年で妊娠に到った。しかし、この妊娠率は術後早期よりの体外受精による治療症例が多く含まれているため、これが生体内での受精障害によるものなのか、着床障害によるものなのかは結論できない。このため子宮筋腫が存在する場合、外科的治療と体外受精のどちらを先にするかは今回の検討からは結論が出ないが、年齢が比較的高い症例においては、少なくともその不妊機序が受精障害であれ着床障害であれ、体外受精を先じるとともに、全胚凍結→子宮筋腫核出術→胚移植といった方法も考慮することにより相当数の妊娠例を得ることができると考えられた。

いまだに、子宮筋腫の大きさや位置からは外科的治療による妊孕能改善について推測することはできない。しかし、少なくとも今回の検討からは、腹腔鏡下手術後妊娠での子宮破裂症例などの重篤な合併症が見られなかったことから、今後とくに30代以上の不妊患者の相当数が、開腹を要しないこの手術を考慮する事になると推測される。今後の課題としては、比較的若年者の筋腫合併妊娠での術後の自然妊娠、あるいは人工授精による最終的な妊娠率、および体外受精を考慮するまでに必要な治療周期数を検討するとともに、子宮内膜の血流量や子宮内膜着床期特異的物質の測定などによって、ART治療前に切除すべき筋腫かどうかに対して指標となる検索方法を確立することが必要である。

子宮内膜症が妊孕能を障害することは明らかであるが、子宮内膜症は腹膜病変、卵巣嚢腫、子宮腺筋症と病型が多彩である。それぞれの病型において妊孕能に与える影響は個別に議論されるべきであると考えられた。エヴィデンスによる診療が普及することは望ましいことであるが、子宮内膜症に対する治療として、病巣の根治的切除が有効であることがあまりに強調され、または、誤解され、再発症例や両側卵巣嚢胞の症例に対しても適応されてしまうことがある。特に、卵巣への外科的治療により、卵巣機能不全などの取り返しのつかない加療がなされてしまう可能性もあり、エヴィデンスに基づいた治療の適応とともに、個別に必要な治療が食い違うこともあることを理解しておく必要がある。また、体外受精に移行することを前提として、卵巣に対する治療方法はなにが望ましいかも再検討する必要がある。子宮内膜症性嚢胞に対する治療として一般的には嚢胞切除であるが、切除によってやや妊孕能は改善する傾向があるも

の、体外受精における採卵数減少はある程度明らかになっている。直後の体外受精の妊娠率により、子宮内膜症嚢胞の治療方法も再検討すべきであると考えられた。

今後、卵巣嚢腫の手術適応、卵巣への外科的侵襲による卵巣機能の評価、再発子宮内膜症性嚢胞の治療方法、子宮筋症に対する治療方法などについて、個別に最適な治療が選択できるようなガイドラインが必要となるであろう。特に挙児希望を主訴とする子宮内膜症患者では、rASRMのような内膜症の拡がりに重きを置いた病期分類ではなく、病巣部位によって症例を個別化し、不妊症治療の治療効果（妊娠成立）を元にした治療方針を明らかにしていかなければならない。この時、子宮筋腫合併の場合と同様、ART治療と嚢胞切除のどちらを先に行うべきか、また術後どの程度の期間自然妊娠（人工授精）をはかるべきかなどの検討を行わなければならない。さらに、子宮内膜症性嚢胞の治療としては嚢胞切除術が治療の第一選択となりつつあるが、一方、術後の卵巣機能不全も報告されているため、ARTの妊娠率を下げてしまうこのようなリスクを考慮に入れた適応決定が必要である。また今回の検討には含めなかったが、術後の卵巣機能は、短期的な妊孕能のみならず、長期的な卵巣機能不全や悪性疾患の発症も含めて、評

価および議論がなされる必要がある。

遺伝子多型と子宮内膜症の関連性については、いまだに明確なものは存在しない。現在のところ、疾患と一定の遺伝子多型（エストロゲンレセプター、IL-1などのケミカルメディエーター、ダイオキシン関連遺伝子群など）は議論がなされている。今回我々の検討では、エストロゲン関連遺伝子の一つを取り上げたが、今後、網羅的検索によりより疾患感受性と関連のある遺伝子を探索していく必要がある。また、このような検討で問題となるのは、診断および病型分類と、発症年齢である。子宮筋腫や子宮内膜症疾患がないという診断が極めて困難である。特定の疾患に罹患していないという意味は、検査を施行した時点において腹腔鏡およびMRIという診断方法において検出されなかったということであり、多型解析においてはバイアスが入りやすい。また、両方の疾患はともに、年齢によって発症頻度がことなり、子宮内膜症にいたっては、病型が腹膜、卵巣、子宮と多種にわたり、いわゆるrASRM分類などでは分類が困難であり、あらたな分類を行う必要がある。今後、再発率、発症部位や疼痛というQOLを障害する因子に関連して、遺伝子多型という観点からも今後の検討を行うことがのぞましいであろう。

女性の妊孕性維持ならびに不妊症における子宮内膜症の問題点に関する臨床的研究、および、子宮内膜症治療についての基礎的研究

分担研究者 大須賀 穰 東京大学医学部 講師
 矢野 哲 東京大学医学部 助教授

研究要旨：少子化、高齢出産の時代に即した不妊症治療のために、生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究と生殖補助医療の適正な供給体制に関する臨床的研究は急務の課題である。生殖年代の女性に頻度が非常に高く、かつ、不妊症の原因として最も重要な疾患の一つである子宮内膜症に焦点をあてた研究を行った。子宮内膜症性卵巣嚢胞の腹腔鏡下手術後の再発を調べた臨床研究では、手術後に約 3 割と高頻度に再発をしていることが認められ、嚢胞の大きさなどが関連していることが判明した。子宮腺筋症の体外受精の成績におよぼす影響についての臨床的研究では、子宮腺筋症は一般には体外受精の成績を低下させないことがわかった。また、子宮内膜症の新規治療薬に関する基礎的研究ではメトフォルミンが子宮内膜症を抑制する可能性が示唆された。これらの研究結果をもとに新たな子宮内膜症管理の可能性が考察され、時代に即した子宮内膜症合併不妊の管理・治療が考えられた。

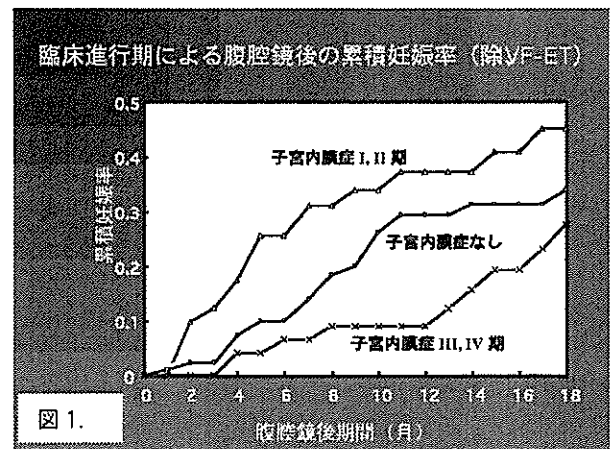
A. 研究目的

不妊症は女性のQOLを医学的、社会的、経済的など多くの側面から低下させる。現在の少子化の時代において不妊症の治療はますます重要となっているが、一方で、結婚年齢、出産年齢の高齢化にともない生殖年齢の期間に好発する子宮内膜症、子宮筋腫などの疾患が不妊症治療に影響を与えることが増えており、これらの疾患と不妊症の関係を適切にとらえて介入していくことが以前にもまして重要となっている。今年度の研究においては、子宮内膜症が不妊治療にあたる影響の解析と、妊娠率向上をめざした新たな子宮内膜症治療に対する基礎研究を主な目的とした。

子宮内膜症はエストロゲン依存性の病理学的には良性の増殖性疾患で、子宮内膜類似の組織が子宮内腔以外の骨盤腹膜、卵巣、腸管、膀胱や、まれではあるが、遠隔の肺、胸膜などに発育する疾患である。約13万人が定期的に通院しているとの報告があり、通院していない患者も含めるとその数倍以上存在すると考えられ、非常に頻度の高い疾患である。エストロゲン依存性のため好発年齢は20～50才くらいである。代表的な症状は不妊、疼痛、腫瘍である。不妊症を惹起する機序としては、癒着や卵巣腫大による解剖学的な異常と病巣からの液性因子、細胞性因子などによる細胞生物学的、生化学的機序が示唆されている。不妊を主訴とした場合の治療については、1990年代のメタ解析の報告などにより、従来の薬物療法単独は効果がないとされており、腹腔鏡などの手術療法が有効であるとされている。このため、各種ガイドラインでは子宮内膜症合併不妊においては腹腔鏡手術が標準的治療となっている。腹腔鏡治療で効果が期待できない場合は体外受精・胚移植を行う。近年の補助生殖医療の進歩により体外受精・胚移植の成績は向上しているが、子宮内膜症の存

在は体外受精・胚移植の成績にも影響するとの報告もある。

当科における不妊症患者186例を対象とした腹腔鏡下手術の妊娠予後に与える検討では、18ヶ月間のフォローアップで子宮内膜症I, II期、子宮内膜症III, IV期、非子宮内膜症患者で各々45.1%、



27.6%、33.8%の累積妊娠率が得られた (図1)。さらに卵管の癒着の有無により層別化し詳細に検討したところ、両側卵管に癒着を認めない症例では、子宮内膜症の有無ならびに進行度に関わらず妊娠率に差を認めなかった。また、初期の子宮内膜症、すなわちI, II期の群についてみると、卵管に癒着が認められた症例において、癒着の認められなかった症例より高い妊娠率が得られていた。これより、初期の内臓病変を合併する不妊症患者のうち内膜症の癒着などによる卵管因子が関与していると考えられる症例は腹腔鏡下手術により高い治療効果が得られることが示唆された。これとは逆に、III, IV期の症例で卵管の癒着を伴うものは術後妊娠率が低く、癒着が片側であっても18ヶ月の累積妊娠率は20%未満であり、手術療法によっても卵管機

能が充分修復されない場合が多いと考えられた。このように、進行期だけでなく卵管癒着などの所見を個別に評価することが腹腔鏡下手術療法の利点である。

当科における体外受精胚移植において腹腔鏡下検査ないし手術の既往のある症例の予後を検討したところ以下の所見が得られている。対象は全体で94症例、男性因子のあるものは除外し、かつ、初回の体外受精胚移植症例に限定した。腹腔鏡手術施行時の卵管癒着の有無と子宮内膜症の有無ならびに進行度で分類し解析したところ、子宮内膜症の手術をした群でも進行度によらず子宮内膜症のなかった群と比較して、採卵数が少ないということもなく、また、妊娠率も36-50%に分布し有意な差を認めなかった。この結果より、子宮内膜症に対する腹腔鏡手術により体外受精胚移植の際の妊娠率を大きく低下させる可能性は少ないと考えられる。

以上の状況を考えると、明らかな子宮内膜症が存在する場合は腹腔鏡手術をまず施行した後に体外受精まで含めた治療プランを考えるのが現状では妥当と思われる。ここで、問題となるのが、腹腔鏡手術後の子宮内膜症の再発である。再発は不妊症の治療の効果を左右すると考えられるが、これまでの再発に関する明らかなデータはなかった。そこで、今回、腹腔鏡下手術後の子宮内膜症性卵巣嚢胞の再発について検討を行った。一方、子宮腺筋症は子宮内膜症同様に子宮内膜類似の組織が子宮の筋層内にエストロゲン依存性に増殖する良性疾患であるが、これまで不妊症との関係で問題となることは少なかった。これは、子宮腺筋症の好発年齢が子宮内膜症と比較して高齢であるためと考えられる。しかるに、近年の初産年齢および不妊治療の対象年齢の高齢化にともない、子宮腺筋症が不妊症との関係で注目されるようになってきた。しかしながら体外受精との関係でなされた研究は皆無とあってよいため、今回は子宮腺筋症の体外受精に与える影響についても検討した。

つぎに、子宮内膜症の治療はこれまでエストロゲンを抑制する方法が中心であったが、この方法は更年期症状や骨量減少などの副作用が強いため長期に使用することは不能であった。また、使用中は妊娠できないなどの制約があり、不妊症に対して効果の期待できないものであった。我々は最近、子宮内膜にアディポネクチン受容体が存在し、子宮内膜に対しアディポネクチンが生理作用を発揮することを明らかにした。また、腹腔内貯留液ならびに血清中のアディポネクチン濃度が子宮内膜症の患者で正常対照に比較して低下していることを明らかにした。これらアディポネクチンの作用はAMPキナーゼを介していることが示唆された。AMPキナーゼを活性化するメトフォルミンは糖尿病治療薬であるが、多嚢胞性卵巣症候群に対して広くもちいられており、投薬中に妊娠が可能である。我々はこの

現状に注目し、メトフォルミンが子宮内膜症の治療薬としての可能性があるのではないかと考え、メトフォルミンの子宮内膜症細胞に対する作用についての基礎的な検討も行った。

B. 研究方法

1. 子宮内膜症性卵巣嚢胞の核出後の再発について検討した。腹腔鏡下に子宮内膜症性卵巣嚢胞の摘出術を施行し、少なくとも術後2年間の経過観察が可能であった224例を対象とした。再発の定義は超音波断層法により2cm以上の子宮内膜症性卵巣嚢胞を確認したものとした。再発に影響をおよぼす因子として年齢、不妊症、子宮筋腫、子宮腺筋症の有無、子宮内膜症に対する薬物療法既往、子宮内膜症性卵巣嚢胞の手術既往の有無、嚢胞が単数か複数か、最大嚢胞径、片側か両側か、rASRMスコア、術後薬物治療、術後妊娠の有無について検討した。解析は単変量解析をおこなった後、ステップワイズ法により因子を選択し、ロジスティック回帰分析を行った。

2. 子宮腺筋症のIVF-ETに与える影響を検討した。2001~2003年の3年間に当科で施行されたIVF-ET周期のうち、long法を用いて排卵誘発を行った598周期(370症例)を対象とし、これらを以下のA-D群に分類した。AおよびB群を子宮腺筋症合併群とし、A群；子宮内膜症を合併する群(27症例、43周期)、B群；子宮内膜症を合併しない群(44症例、79周期)と細分類した。またCおよびD群を子宮腺筋症非合併群とし、C群；子宮内膜症を合併する群(46症例、65周期)、D群；子宮内膜症を合併しない群(253症例、411周期)と細分類した。これらの分類をもとに子宮腺筋症および子宮内膜症の有無によりART成績を後方視的に比較検討した。子宮腺筋症の診断は経腔超音波法によって行った。

表1. 子宮内膜症性卵巣嚢胞再発に対する諸因子の影響

Factors	Univariate analysis	Logistic regression analysis		
	P values	P values	Odds ratios	95%CI
Age(y)	NS			
Infertility	NS			
Pain	NS			
Presence of uterine myoma	NS			
Presence of adenomyosis	NS			
Previous medical treatment of endometriosis	p < 0.05	p < 0.01	2.324	1.232-4.383
Previous surgery of ovarian endometrioma	NS			
Multiple cysts	NS			
Largest cyst diameter (cm)	p < 0.05	p < 0.05	1.182	1.004-1.391
Bilateral involvement	NS			
Co-existence of deep endometriosis	NS	NS	0.456	0.198-1.052
rASRM score	NS	NS	1.010	1.000-1.021
Postoperative medical treatment	NS			
Postoperative pregnancy	p < 0.05	p < 0.05	0.292	0.028-0.317

CI = confidence interval
NS = not significant

3. 患者の同意の下、子宮内膜症性卵巣嚢胞の手術検体より子宮内膜症性間質細胞 (ESC) を分離培養した。ESCにmetformin (10, 100, 1000 mM) とIL-1 β を添加し、培養上清中のIL-8産生量をELISAにて測定した。また、ESCにmetformin とcAMPを添加し、aromataseの遺伝子発現を定量的PCRで、活性はアンドロステンジオン添加後のエストロン産生をEIAで測定し評価した。さらに、ESCにmetforminを添加し、細胞増殖能をBrdU取り込みで、細胞毒性をLDH放出により評価した。

(倫理面への配慮)

以上のうち、臨床検体をもちいるものについては、本学倫理委員会の承認のもと、患者から書面によるインフォームドコンセントを得て行った。

C. 研究結果

1. 術後再発は全体224例中68例に認められ、再発率は30.4%であった。表1に各因子の再発に及ぼす影響についての単変量解析とロジスティック回帰分析の結果を、p値、オッズ比および95%信頼区間の順に示した。単変量解析では、年齢、不妊症、子宮筋腫、子宮腺筋症の有無、子宮内膜症性卵巣嚢胞の手術既往の有無、嚢胞が単数か複数か、片側か両側か、術後薬物治療の有無はいずれも、再発に有意な影響を与えなかった。子宮内膜症に対する薬物療法既往のある症例、最大嚢胞径の大きい症例、rASRMが高得点の症例では、再発を起こしやすい傾向があり、一方術後妊娠した症例では再発を起こしにくい傾向があった。ロジスティック回帰分析では、他の因子と独立して統計学的に有意に再発率を上げる因子として、子宮内膜症に対する薬物既往、大きい最大嚢胞径の2因子があげられた。rASRMスコア得点は再発率に統計学的に有意な影響は与えなかった。一方術後妊娠は、他の因子と独立して統計学的に再発率を低下させた。

表2. 子宮腺筋症および子宮内膜症の有無で分類したART成績

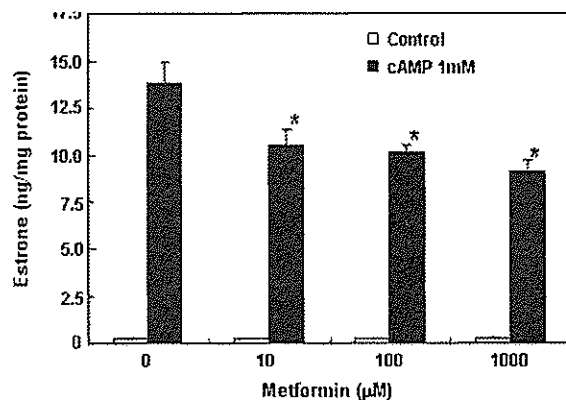
	A群	B群	C群	D群	P value
子宮腺筋症	+	+	-	-	
子宮内膜症	+	-	+	-	
採卵周期数 (周期)	43	79	65	411	N.S
年齢 (歳)	35.8 \pm 3.8	36.9 \pm 3.5	36.1 \pm 3.2	36.2 \pm 4.3	N.S
IVF-ET回数 (回)	2.6 \pm 1.9	3.2 \pm 2.5	3.5 \pm 3.0	3.0 \pm 2.5	N.S
ICSI/IVF (%)	53.5	58.2	44.6	59.4	N.S
FSH基礎値 (IU)	11.8 \pm 9.3	10.1 \pm 3.2	10.2 \pm 5.2	9.7 \pm 3.8	N.S
hCG産生 E2 (pg/mL)	1323 \pm 1210	1850 \pm 1258	1813 \pm 1950	2059 \pm 1710	p<0.05 (A vs D)
hMG総投与量 (IU)	3622 \pm 2195	2962 \pm 1527	2584 \pm 1484	2696 \pm 1531	p<0.05 (A vs B), p<0.005 (A vs D)
ET回率 (%)	13.9	3.8	12.3	10.7	N.S
ET時内視鏡 (mm)	12.8 \pm 3.8	11.4 \pm 3	12.2 \pm 3	11.2 \pm 2.8	p<0.05 (A vs B, C vs D), p<0.005 (A vs D)
ET時出血 (%)	11.8	21.1	15.9	16.3	N.S
卵胞数 (個)	7.0 \pm 5.0	10.8 \pm 6.3	8.8 \pm 4.5	11.7 \pm 6.3	p<0.05 (C vs D), p<0.005 (A vs B, A vs D)
採卵数 (個)	6.1 \pm 4.2	9.3 \pm 5.8	7.0 \pm 4.2	9.5 \pm 5.3	p<0.05 (A vs B), p<0.005 (C vs D), p<0.001 (A vs D)
受精卵数 (個)	4.3 \pm 3.2	6.0 \pm 4.2	5.3 \pm 3.2	6.5 \pm 4.1	p<0.01 (A vs B, B vs C), p<0.02 (C vs D, A vs D)
受精率 (%)	73.7	72.7	79.5	69.7	N.S
移植胚数 (個)	2.0 \pm 1.0	2.3 \pm 0.8	2.1 \pm 1.0	2.1 \pm 1.0	N.S
着床率 (%)	14.0	20.7	22.2	17.1	N.S
臨床妊娠率/採卵周期 (%)	27.9	30.4	36.9	28.5	N.S
流産率 (%)	25.0	37.5	29.2	24.8	N.S

N.S = not significant.

2. 子宮腺筋症と子宮内膜症の有無により分類して比較した成績を表2に示す。hMG総投与量はD群に比べA群で有意に多く、hCG投与時estradiol値はB群、D群に比べA群で有意に少なく、採卵数はB群、D群に比べA群、C群で有意に少なく、受精卵数はB群、D群に比べA群で有意に少なかったが、着床率、臨床妊娠率、流産率は4群間に有意差を認めなかった。

3. Metforminの添加は、ESC培養上清中のIL-8産生量を対照に比べ濃度依存性に67%まで低下させた (図2)。また、aromataseの遺伝子発現

図2



および活性を濃度依存性に最大58%と66%に抑制した (図3)。さらに、metforminの添加は、細胞増殖能を濃度依存性に最大22%に抑制した (図4) が、細胞毒性は認められなかった。

図3

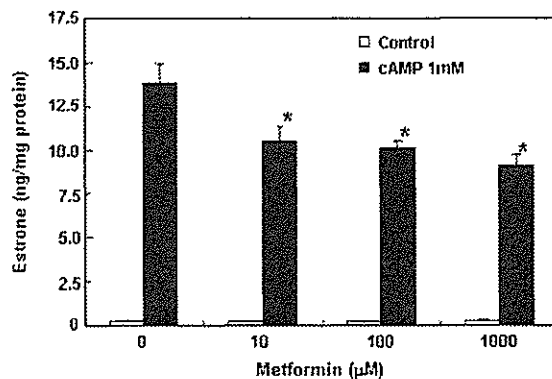
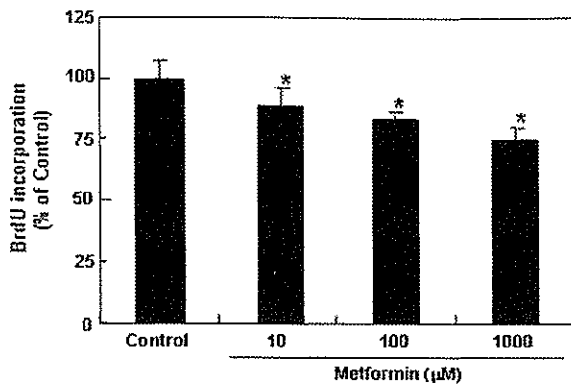


図 4



D. 考察

子宮内膜症合併不妊の治療は腹腔鏡手術を行った後に、保存的療法ならびに体外受精をおこなうのが妥当と考えられるが、今回の研究結果が示すように子宮内膜症性卵巣嚢胞の摘出後に約3割が再発することを考慮しなくてはならない。すなわち、現在不妊治療中である場合にはできるだけ早期の妊娠を目指して短期間に治療をステップアップする必要があると考えられる。一方で、妊娠を先に延ばしたい場合などは再発を予防する方法が必要となってくる。一般に、低用量ピルが子宮内膜症の発症を低下させると言われている。今後、術後に低用量ピルを使用した場合に実際に再発率が低下するか否かのエビデンスを構築し、もし、そうであれば低用量ピルの使用をガイドラインなどに盛り込む必要がでてくるかも知れない。一方、低用量ピルでは不十分な結果が得られたならば、さらに一歩進んだ薬物療法が必要となるであろう。この意味で、今回の研究で子宮内膜症に対しメトフォルミンが治療薬となる可能性が示唆されたため、メトフォルミンの更なる検討が必要かと思われる。メトフォルミンは副作用が少なく比較的長期間使える薬物である。今回はin vitroの研究のみであったが、今後はin vivoの研究も含めてメトフォルミンが子宮内膜症の治療薬となり得るかを一層研究する必要がある。

子宮腺筋症は社会状況の変化によりますます不妊との関係で重要な疾患となると考えられる。今回の研究では子宮腺筋症が明かに体外受精の成績を低下させるというデータは得られなかった。しかしながら、子宮筋腫がそうであるように、子宮腺筋症のなかのあるサブグループが妊孕性を低下させる可能性が残っており、今後より詳細な検討が必要である。他方、今回のデータをポジティブにとらえるなら、子宮腺筋症を合併する不妊症に対しては体外受精が治療のよい選択肢になるともいえる。また、子宮腺筋症は痛みなども伴い子宮摘出を選択する場合も少なくないが、何らかの方法で子宮腺筋症を早期に発見し、発育を抑制しておけば妊娠が可能であるともいえるので、早期発見し薬物療法などで進展を予防するといった長期戦略を各個人に

合わせて考えることができよう。

E. 結論

子宮内膜症による不妊治療に手術療法と体外受精は有効であるが、いまだ効果は十分でなく更なる妊娠率向上のためには手術療法の限界まで踏まえた管理が必要である。子宮内膜症卵巣嚢胞の保存手術では約3割の再発があり、再発率をあげる要因として嚢胞の大きさなどがある。今後は再発まで考えた長期管理の指針を検討していく必要がある。子宮腺筋症は体外受精の成績を低下させなかったため、子宮腺筋症の適切な管理と体外受精を組み合わせることにより妊孕性の向上が期待できると考えられた。

メトフォルミンは子宮内膜症に対し治療効果をもつ可能性が示唆されたので、より研究をすすめる必要性が認められた。来年度以降の研究では、子宮内膜症・子宮腺筋症の妊娠率向上にむけての基礎的・臨床的研究を一層発展させるとともに子宮筋腫に対する治療の適正化、多嚢胞性卵巣症候群に対する治療の適正化も検討したい。

F. 健康危険情報

特記すべき事なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Takemura Y, Osuga Y, Koga K, Tajima T, Hirota Y, Hirata T, Morimoto C, Harada M, Yano T, Taketani Y. Selective increase in high molecular weight adiponectin concentration in serum of women with preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 73:60-5, 2007
2. Hirota Y, Osuga Y, Koga K, Yoshino O, Hirata T, Morimoto C, Harada M, Takemura Y, Nose E, Yano T, Tsutsumi O and Taketani Y. The expression and possible roles of chemokine CXCL11 and its receptor CXCR3 in the human endometrium. *J Immunol.* 177:8813-21, 2006
3. Koga K, Takemura Y, Osuga Y, Yoshino O, Hirota Y, Hirata T, Morimoto C, Harada M, Yano T, Taketani Y. Recurrence of ovarian endometrioma after laparoscopic excision. *Hum Reprod.* 21: 2171-2174, 2006.
4. Takemura ., Osuga Y, Yamauchi T, Kobayashi M, Harada M, Hirata T, Morimoto C, Hirota Y, Yoshino O, Koga K, Yano T, Kadowaki T, Taketani Y. Expression of adiponectin receptors and its possible implication in the human endometrium. *Endocrinology.* 147: 3203-3210, 2006.

2. 学会発表

1. 北麻里子, 大須賀穰, 甲賀かをり, 廣田泰, 平田哲也, 森本千恵子, 原田美由紀, 竹村由里, 田島敏樹, 長谷川亜希子, 濱崎かほり, 子宮筋腫合併不妊症例に対する腹腔鏡(補助)下子宮筋腫核出の意義, 第51回日本生殖医学会
2. 大須賀穰, 傅莉, 森本千恵子, 竹村由里,