

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

晩婚化と育児希望年齢の上昇に伴い、妊娠を希望する婦人における、子宮筋腫および子宮内膜症の発症頻度は増加している。子宮筋腫は主として物理的な占拠により妊孕能を障害するが、子宮内膜症は、骨盤内の癒着病変などの器質的障害とともに、腹腔内のケミカルメディエーターを増加させることなどにより、卵子の質的低下・受精障害・着床障害を含めた妊孕能への影響を及ぼしていると考えられている。また、子宮内膜症は慢性炎症性疾患であり、病巣を除去しても、すでに障害されている卵巣機能が回復しないことも生じるといった問題点も存在し、外科的治療後の再発が多いことも妊孕能の温存において極めて大きな問題である。

このような背景のもとに、本研究においては（１）妊孕能へ子宮筋腫および子宮内膜症が与える影響と外科的治療効果についての検討（２）子宮内膜症の発症予測にかかわる遺伝的因子の探索 および（３）子宮内膜症発症と進展に関わる分子の探索 を行った。

子宮筋腫の外科的治療の妊孕能への影響をあたえる因子としては、筋腫の大きさ、個数などではなく、子宮内膜症を合併している症例においては術後妊娠率が低い傾向を認めた。子宮内膜症の術後妊娠と与える因子として、卵巣嚢腫の大きさや rASRM スコアなどとの関連性は認められなかった。また、子宮内膜症の発症に関わる遺伝的因子として、P300 の多型を検索したが、P300 の遺伝子多型と子宮内膜症の発症とは関連性は認められなかった。一方、AHRR の遺伝子多型と、子宮内膜症に対する外科的治療開始年齢との関連性が認められた。腹水を試料とした子宮内膜症の因子探索においては、子宮内膜症患者において特異的に低い濃度の低分子群が検出された。

子宮筋腫および子宮内膜症は、いずれも発症頻度が高く、かつ妊孕能を障害する疾患であるが、ことに子宮内膜症は妊孕性を温存する治療においては、卵巣機能を障害する可能性があり、また、再発が多いことが問題である。そのため、子宮内膜症という疾患に対して、早期に発症することが予測される診断方法を確立することが必要である。本研究により一部の遺伝子多型が子宮内膜症の早期発症に関連する可能性が示されたため、今後、包括的な解析により、早期発症の診断が可能になれば、リプロダクティブヘルスという観点から、予防的経口避妊薬の投与あるいは、妊娠を試みる年齢のコントロールなど、女性のライフプランへの一助となるであろう。また、一旦発症した症例に対して外科的治療は妊孕能を改善する上では重要な手技ではあるが、外科的治療の術後再発もまた、問題となる。そのため、本研究で検出された、腹腔内低分子群から、再発の早期発見が可能となる新たなマーカーや、子宮内膜症の進展予防に影響を及ぼす代謝物質が同定されることにより、子宮内膜症の術後管理の面で、選択肢が広がると考えられた。

本研究が手がかりとなり、子宮筋腫および子宮内膜症患者の妊孕能温存と改善にむけた新たな戦略が確立されることが望まれる。

検討項目 1. 妊孕能へ子宮筋腫および子宮内膜症が与える影響と外科的治療効果についての検討

研究方法

子宮筋腫の検討においては、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除き、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、術後の妊孕性に関与する因子につき検討を行った。また、子宮内膜症の検討においては、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 症例を対象として検討した。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、卵巣腫瘍の大きさ、rASRM スコアなどについて比較検討を行った。

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。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（表1）。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（表2）。

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）による妊娠が増加する傾向にある。

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（ $\phi 4$ cm以下）に対しては、焼灼を行った。不妊症をとま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（図3）。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。

検討項目 2. 子宮内膜症の発症予測にかかわる遺伝的因子の探索

研究方法

腹腔鏡で骨盤内を詳細に検討した症例のみを対象とし、腹腔内に子宮内膜症の存在した症例と子宮内膜症が発症していない症例において、遺伝子多型の解析を検討した。子宮内膜症発症症例は 149 症例、子宮内膜症の非発症症例は 153 症例、計 302 症例を対象とした。対象とした遺伝子は、EP300 (E1A binding protein p300) と AHRR (aryl-hydrocarbon receptor repressor) である。EP300 の SNP は 3 か所、EP300 SNP1 (SNP ID: rs20554)、EP300 SNP2 (SNP ID: rs2076577)、EP300 SNP3 (SNP ID: rs2076578A) に対して検討を行い、AHRR の SNP は一か所 (SNP ID: rs2292596) を探索した。

研究結果

子宮内膜症の発症の有無と、検討した EP300 の遺伝子多型は統計学的な有意差は認められなかった。また、SNP1~3 各塩基の組み合わせのうち頻度の高い組み合わせ (ハプロタイプ) を推定して各ハプロタイプの検定を行った。対象数 300 名に対してハプロタイプ推定を行い、4 つのハプロタイプが推定されたが、各ハプロタイプ間で子宮内膜症を有する割合に有意差を認めなかった。

子宮内膜症の有無と、AHRR (SNP ID: rs2292596) の各遺伝子型で統計学的有意差を認めなかった ($P>0.05$)。子宮内膜症中等症 (Ⅲ期+Ⅳ期) の発生と多型塩基ホモ接合体の間で統計学的有意差は認められなかった ($P>0.05$)。子宮内膜症重症 (Ⅳ期) の発生と多型塩基ホモ接合体の間で統計学的

有意差は認められなかった ($P>0.05$)。30 歳以下の子宮内膜症発症群と子宮内膜症非発症群を比較した場合、前者で有意に GG ホモ接合体を多く認めた ($P>0.05$)。子宮内膜症を有する患者のうち 30 歳以下の群と 31 歳以上の群を比較した場合、30 歳以下の群で有意に GG ホモ接合体を多く認めた ($P<0.05$)。

検討項目3. 子宮内膜症発症と進展に関わる分子の探索

代謝経路の解析を今後施行する予定である。

研究方法

腹腔鏡で骨盤内を詳細に検討した症例のみを対象とし、腹腔内に子宮内膜症の存在した症例と子宮内膜症が発症していない症例において、腹水中の低分子物質を網羅的に解析した。腹水の採取は、当院倫理委員会にて承認された説明書をもとに説明を行い、承諾がえられた症例に対してのみ行った。子宮内膜症発症症例は23症例、子宮内膜症の非発症症例は21症例、計43症例を対象とした。キャピラリー電気泳動時間飛行型質量分析装置(CE-TOFMS)による網羅的低分子解析は、最新のメタボローム解析技術の一つであり、微量のサンプルから多数のイオン性低分子物質を包括的に測定することができる。腹水中の低分子物質で、疾患特異的な分子を探るとともに、疾患特異的代謝経路を網羅的に探索した。

研究結果

子宮内膜症のある患者腹水と子宮内膜症のない患者腹水のCE-TOFMS解析によって、合計485のピークが検出された。その中で、27個が子宮内膜症特異的分子であると推定された。差が検出されたピークのなかで、子宮内膜症患者の方が濃度が高かったのは2ピークであり、子宮内膜症患者の方が低かったのは25ピークであった。図7に検出されたピークの例を示した。このピークでは、子宮内膜症患者の腹水中よりも子宮内膜症がない患者腹水の方がピークが大きい傾向が認められた。また、図8に差が検出されたピークの一部を列記している。いずれも物質の同定はまだなされていないが、低分子化合物の同定と、その

D. 考察

子宮内膜症と子宮筋腫といった頻度の高い疾患群と妊孕能障害との関連性に関して多くの報告や指摘はあるが、本報告の結果からも、両疾患に対する従来の外科的治療が有効な治療手段であると考えられた。一方、外科的治療を施行しかつ ART などの不妊治療を行っても妊娠に至らない症例も存在する。子宮筋腫および子宮内膜症といった疾患に対して外科的治療が行われる適応としては、過多月経・圧迫症状・月経困難症などの臨床症状がある場合、悪性所見の有無について病理的な検索が必要な場合、妊孕能の改善を期待する場合の3とおりの適応が存在する。挙児希望のみが治療適応となった場合、外科的治療のリスクとベネフィットを考慮する必要がある。そのような観点からも、今後、外科的治療により妊孕能が改善される見込みが術前評価可能な指標を新たに構築する必要性があると考えられた。

子宮内膜症は、卵巣にも大きな病変を生じ、卵巣機能を障害する可能性がある疾患である。外科的治療の有効性はあるものの、両側卵巣の外科的治療によって卵巣機能不全になるリスクも指摘されている。また、子宮内膜症性嚢胞の存在そのものが、すでに卵巣皮質の障害を起こし、卵胞数が減少している可能性もある。本研究では、AHRRの遺伝子多型の一つが、子宮内膜症によって外科的治療をうける年齢との関連性があることが明らかになった。子宮内膜症は外科的治療により機能障害を起こす可能性のある疾患であるため、将来的な発症リスクが明らかになる方法が開発されることは、妊孕能の温存という目的からは有望な方法である。若年発症のリスクが高い群が判断されることにより、予防的薬剤投与（ピル

など）が計画されることも選択枝となり、また、発症が若年であることが予想される場合、妊娠時期を早めるなど、女性のライフプランにも大きな影響を与えることになる。今後、疾患の発症のみならず、発症時期や、発症部位に関連した因子（遺伝子多型、生活習慣など）を探索することが、疾患予防と疾患による妊孕能障害の予防に寄与すると考えられた。

子宮内膜症は外科的治療が有効であるとはいっても、妊孕能を温存する外科的治療においては再発が大きな問題となっている。再発の早期発見と、妊孕能を温存しながら、かつ再発を予防するための治療方法の開発が望まれている。本研究において、CE-TOFMSによる探索によって子宮内膜症を発症した患者腹水中に、疾患特異的に低濃度の低分子物質が検出された。現在使用されている子宮内膜症の血清マーカーは CA125 が主たるマーカーであるが、早期再発の検出は困難である。今回検出されたピークにおける分子の同定は現在行っているが、これらの候補分子の中に、子宮内膜症の早期再発を検出できる分子が含まれている可能性がある。また、現在同定を進めている候補分子の中には、増殖抑制効果が報告されているものもあり、代謝経路の同定と、腹水中の濃度維持機構などが明確になることにより、子宮内膜症再発抑制効果をもつ薬剤開発の手がかりとなると考えている。

E. 結論

妊孕能を障害する因子として子宮筋腫と子宮内膜症があるが、子宮筋腫は外科的治療によって、治療後1年間は妊娠率向上を期待することができる。一方、子宮内膜症は外科的治療による妊孕能向上があるものの、子宮内膜症によって障害される妊孕能

は物理的な異常のみではなく、慢性炎症による卵巣・子宮への影響であると推測される。そのため、ある程度の妊孕能改善はあるものの、一度損傷された卵巣機能などは、外科的治療により回復することは困難であるため、発症予測と発症予防が今後の課題となってくる。また、妊孕能温存あるいは、不妊症治療として子宮内膜症の治療を行う場合、外科的治療が選択となることが多いが、その場合、術後の再発が大きな問題である。今後、術後再発を抑制する方法の開発が必要であると考えられた。

子宮内膜症の発症に関しては、ダイオキシン関連分子と子宮内膜症の発症の関連性について提示されてから久しいが、いまだ証明されるには至っていない。しかし、本研究で示されたように、単なる発症のみでなく、若年発症に関わる因子が明らかになることにより、特定の個人における、将来の発症予測が可能となれば、予防的経口避妊薬の投与などの選択枝が生じ、妊孕能の温存が可能となる可能性が示唆された。

子宮内膜症の発症と進行にかかわる分子を探索するために腹水を試料とした網羅的の低分子解析を行ったが、これにより子宮内膜症特異的低分子物質が複数検出された。今後の解析が必要ではあるが、子宮内膜症の発症予測と再発の検出に関わる分子が同定される可能性が高い。また、現在同定中の候補分子に、子宮内膜症の進展に関わる可能性がある分子が含まれているため、外科的治療後の予防にむけて、あらたな治療戦略を提示できる可能性があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Uchida, H., Yoshimura, Y., et al. (2006). "Human endometrial cytodifferentiation by histone deacetylase inhibitors." *Hum Cell* 19(1): 38-42.

Masuda, H., Yoshimura, Y., et al. (2007). "Noninvasive and real-time assessment of reconstructed functional human endometrium in NOD/SCID/gamma c(null) immunodeficient mice." *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(6): 1925-30.

Uchida, H., Yoshimura, Y., et al. (2007). "Histone deacetylase inhibitors stimulate cell migration in human endometrial adenocarcinoma cells through up-regulation of glycodeclin." *Endocrinology* 148(2): 896-902.

丸山哲夫, 吉村泰典, et al. (2006). "【内分泌症候群(第2版) その他の内分泌疾患を含めて】女性性機能 子宮筋腫." 日本臨床 別冊(内分泌症候群 II): 477-484.

浅田弘法, 吉村泰典, et al. (2006). "【妊孕能温存のための内視鏡下手術】子宮腺筋症に対する内視鏡手術." 産婦人科の世界 58(4): 337-345.

浅田弘法, 吉村泰典, et al. (2006). "【月経困難症に対する治療戦略】子宮腺筋症の疼痛対策." 産婦人科の世界 58(7): 647-654.

浅田弘法, 吉村泰典, et al. (2007). "【不妊症 臨床と研究の最前線】子宮内膜症・子宮腺筋症 子宮腺筋症の治療." 医学のあゆみ 223(1): 49-54.

丸山哲夫, 吉村泰典, et al. (2008). "子宮内膜症の病因に関する基礎研究 子宮内膜症関連遺伝子同定のための新しいアプローチ." エンドメトリオーグス研究会会誌 29: 42.

浅田弘法, 吉村泰典, et al. (2008). "【子宮内膜症の診療】異所性子宮内膜症." 産婦人科治療 96(3): 241-247.

2. 学会発表

梶谷宇, 吉村泰典, et al. "子宮内膜症・子宮腺筋症における骨盤疼痛発症および疼痛慢性化に関与する遺伝子の解析." 第51回 日本生殖医学会総会(大阪) 2006年11月9日-10日.

羽田智則, 吉村泰典, et al. (2006). "腹腔鏡下子宮筋腫核出術後の妊孕性に関する検討." 第51回 日本生殖医学会総会(大阪) 2006年11月9日-10日.

奥田茂男, 吉村泰典, et al. (2007).

"R2*画像による子宮筋腫の血流評価
GnRHa 使用効果予測への応用." 第 66 回
日本医学放射線学会学術集会 (横浜)
2007 年 4 月 13 日-15 日.

梶谷宇, 吉村泰典, et al. (2007). "疼
痛関連因子 Nerve Growth Factor の子宮
内膜症・腺筋症における発現解析." 第
80 回 日本内分泌学会総会 (東京)
2007 年 6 月 14 日-16 日.

升田博隆, 吉村泰典, et al. (2007). "ヒ
ト子宮内膜再生モデルマウスを用いた
内膜幹細胞解析システムの開発." 第
59 回日本産科婦人科学総会学術講演会
(京都) 2007 年 4 月 14-17 日.

羽田智則, 吉村泰典, et al. (2007). "MRI R2*画像による子宮筋腫血流量評価
法の検討." 第 59 回日本産科婦人科学総
会学術講演会 (京都) 2007 年 4 月 14-17
日.

丸山哲夫, 吉村泰典, et al. (2008). "子
宮内膜症の病因に関する基礎研究. 子
宮内膜症関連遺伝子同定のための新し
いアプローチ." 第 29 回エンドメトリ
オーシス研究会 (高知) 2008 年 1 月 19
日-20 日.

古谷正敏, 吉村泰典, et al. (2008). "精
査により診断に至った重症慢性骨盤
痛を伴う異所性子宮内膜症の 2 例." 第
29 回エンドメトリオーシス研究会 (高
知) 2008 年 1 月 19 日-20 日.

梶谷宇, 吉村泰典, et al. (2008). "子
宮内膜症・腺筋症由来疼痛に関連する遺
伝子の発現解析." 第 29 回エンドメトリ
オーシス研究会 (高知) 2008 年 1 月
19 日-20 日.

浅田弘法, 吉村泰典, et al. (2008). "腹
腔鏡下ダグラス窩子宮内膜症病巣切
除術の疼痛緩和効果に関する検討." 第
48 回 日本産科婦人科内視鏡学会学
術講演会 (横浜) 2008 年 7 月 31 日-8 月
2 日.

古谷正敏, 吉村泰典, et al. (2009). "腸
閉塞を来した回腸子宮内膜症の 2
例." 第 30 回 日本エンドメトリオーシス学
会 (仙台) 2009 年 1 月 17 日-18 日.

川田洋子, 吉村泰典, et al. (2008). "CE-TOFMS による子宮内膜症患者腹水の
メタボローム解析." 第 30 回 日本エン
ドメトリオーシス学会 (仙台) 2009 年 1
月 17 日-18 日.

辻 紘子, 吉村泰典, et al. (2008). "子
宮内膜症の発症に対して EP300 および
AHRH 遺伝子多型がおよぼす影響." 第
30 回 日本エンドメトリオーシス学
会 (仙台) 2009 年 1 月 17 日-18 日.

梶谷宇, 吉村泰典, et al. (2008). "子
宮内膜症組織におけるリポキシゲナ
ーゼ経路関連遺伝子の発現解析." 第 30

回 日本エンドメトリオーシス学会 (仙
台) 2009 年 1 月 17 日-18 日.

浅田弘法, 吉村泰典, et al. (2008). "腹
腔鏡下ダグラス窩子宮内膜症病巣切
除術の定型化と疼痛緩和効果に関する
検討." 第 30 回 日本エンドメトリオー
シス学会 シンポジウム (仙台) 2009 年
1 月 17 日-18 日.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

I. 倫理面への配慮

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
伝子および蛋白などの分子群との関連性
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発症因子、
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。
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を用い
て研究を行った。

生殖器疾患の不妊症機序に関する基礎的・臨床的研究

研究分担者 大須賀 穰 東京大学医学部 講師
矢野 哲 東京大学医学部 准教授

研究要旨

子宮内膜症は生殖年齢に好発し、不妊症の大きな原因となっている。本疾患は発症機序をはじめとして不明な点が多く、そのため治療にも苦慮している疾患である。この疾患の現時点での治療等における問題点を明らかにするとともに、今後の治療の向上にむけて病態解明をすすめることを本研究の目的とした。臨床における現状での子宮内膜症の治療予後を調査した結果、子宮内膜症卵巣のう胞において手術後の再発率が約30%と高いことが判明した。すなわち、手術療法のみでは長期の管理が不能であると考えられ、適切な薬物療法とのコンビネーションの必要性が示唆された。しかしながら、従来の薬物療法は副作用等の面でいまだ十分とは言えず、新規の薬剤の開発が期待される。そのためには、本疾患の発症機序を明確にする必要がある。本研究の基礎的な部分として、子宮内膜症発症機序について多くの新しい知見を得ることができた。さらに、アポトーシスやT細胞免疫に新たな分子標的を見出すことができ、不妊症の治療につながる子宮内膜症治療に新たな展開をもたらした。

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。特に、子宮内膜症は種々の機序で妊孕性を低下させており、子宮内膜症を治癒させるべく種々に介入していくことが、妊娠率向上に大きく寄与することが示唆されている。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。しかしながら、手術後の再発が少なからず認められることが知られている。そこで、卵巣子宮内膜症性のう胞の術後再発率とその危険因子をあきらかにする目的で臨床研究をはじめに施行した。一方、薬物療法として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。よって新たな治療法が期待されるわけであるが、子宮内

膜症の発症機序がほとんどわかっていないため、これまでは分子標的による治療戦略が立てられなかった。本研究では新たな治療法に向けて子宮内膜症の発症機序を探求するとともに可能性のある治療法についての基礎的評価を行った。

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. 培養子宮内膜症間質細胞を使用して、新規のプロゲステロンであるジェノゲストとインスリン抵抗性改善薬であるメトフォルミンの子宮内膜症細胞に対する作用を検討した。
3. 正所性の子宮内膜、卵巣、子宮内膜症組織の切片をつくり、Th2細胞の特異的サイトカインであるIL-4とTh17細胞の特異的サイトカイン

であるIL-17の免疫組織染色を施行した。子宮内膜症患者の腹腔内貯留液より、CD14ビーズをもちいてリンパ球系細胞を分離したのちに、フローサイトメーターでCD4陽性かつIL-17陽性のTh17細胞の存在を調べた。つぎに、培養子宮内膜間質細胞を使用してIL-4ならびにIL-17のIL-8産生に対する作用、COX-2発現に対する作用などを検討した。

4. 子宮内膜症におけるTRAIL誘導性アポトーシスの意義を検討した。子宮内膜症間質細胞にツニカマイシン(2ug/ml)を添加し、TRAIL受容体であるDR5 mRNAの経時的発現を定量的PCRにて測定した。子宮内膜症間質細胞および正所性子宮内膜間質細胞にツニカマイシン(2ug/ml)を16時間添加した後、TRAIL(200ng/ml)を24時間添加し、アポトーシスをflow cytometryにて定量した。またTRAIL添加の1時間前にz-VAD-fmk(caspase阻害剤、30uM)を添加して同様の実験を施行した。さらに、DR5 siRNA(50nM)を24時間導入の後、同様の実験を施行した。
5. CD44はヒアルロン酸に結合する膜貫通接着分子で、種々の生理・病理学的現象に関与し、近年、子宮内膜症での重要性もいわれている。このCD44には可溶性のsCD44もあるが、子宮内膜症においての意義は不明な点も多い。子宮内膜症患者と非子宮内膜症患者の腹腔内貯留液中sCD44濃度をELISAにより測定した。

(倫理面への配慮)

研究は本施設の倫理委員会の承認をうけ、患者検体を使う場合は本人より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
2. ジェノゲストは子宮内膜症間質細胞における24時間でのBrdU取り込みを10⁻⁷Mで平均7%、10⁻⁶Mで平均16%抑制した。48時間においても同様に抑制効果が認められた。メトホルミンの添加は、子宮内膜症間質細胞培養上清中の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。
3. 子宮内膜症組織の間質にIL-4陽性細胞が認められ、その頻度は約14%であった。これらの細胞はCD3との蛍光2重染色によってTh2細胞であることが確かめられた。一方、子宮内膜症間質細胞にはIL-4受容体の遺伝子発現が確認された。IL-4(0.1-10ng/ml)添加により子宮内膜症間質細胞の細胞数とBrdU取り込みは用量依存性に有意に増加した。IL-4の増殖作用は抗IL-4受容体抗体により抑制された。IL-4はp38MAPK、JNK、ERKの各MAPキナーゼをリン酸化した。また、各MAPキナーゼの阻害剤はIL-4の子宮内膜症間質細胞増殖作用を抑制した。また、子宮内膜症患者腹腔内貯留液中にCD4陽性、CD17陽性のTh17が存在した。IL-17陽性細胞は、正常子宮内膜に比較し子宮内膜症病変に著明に多く存在し、腺上皮の直下に多く局在していた。培養子宮内膜間質細胞においてIL-17受容体mRNA、IL-17受容体が発現していた。子宮内膜症間質細胞は1ng/ml以上のIL-17刺激により有意にIL-8の産生を亢進した。また、IL-17受容体の中和抗体は、このIL-8産生を抑制した。IL-17刺激は、1ng/ml以上で子宮内膜症間質細胞のBrdUの取り込みを有意に増加させた。
4. 子宮内膜症組織では正所性子宮内膜と比較してDR5の発現が40%程度と有意に低下していた。ツニカマイシンは子宮内膜症間質細胞におけるDR5 mRNAの発現を12時間で対照の3.7倍に増加させた。ツニカマイシンの前処置により子宮内膜症間質細胞におけるTRAIL誘導性アポトーシス(85.2%)は対照(6.1%)に比し著明に増加した。しかし、正所性子宮内膜間質細胞ではこのような増加は認めなかった。子宮内膜症間質細胞で認められた増加はz-VAD-fmk添加により29.8%まで抑制され、caspase依存性と考えられた。また、DR5 siRNA導入によりツニカマイシンによるDR5 mRNA発現の増加が抑制されるとともにTRAIL誘導性アポトーシスも

33.5%まで有意に抑制された。

5. sCD44の濃度は増殖期と分泌期では差を認めなかった。子宮内膜症患者において腹腔内貯留液中sCD44は子宮内膜症でない患者のそれより有意に高値であった。rASRMのスコアと腹腔内貯留液中sCD44値は正の相関を認めており、臨床進行期との関係を見るとIII/IV期でI/II期より有意に高値であった。

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。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。今回の検討からは術前の薬物療法はむしろ再発率を上げるかも知れないという結果となっており、今後は術後の適切な薬物療法により長期的な管理を目指すべきであると考えられる。ジェノゲストは最近市場に登場した新規のプロゲステン製剤であるが、子宮内膜症細胞に対して直接増殖抑制効果が確認されたことより多様な作用機序が期待される。また、今回の研究で子宮内膜症に対しメトフォルミンが抑制効果を持ち、治療薬となる可能性が示唆された。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ため、今後の更なる検討が期待される。さて、子宮内膜症におけるT細胞免疫に関してはこれまでほとんど不明であったが、本研究よりTh2細胞とTh17細胞が子宮内膜症で重要な役割を果たしていることが示唆された。特に、Th2細胞からのIL-4とTh17細胞からのIL-17がともに子宮内膜症の増殖を促進することが示唆されており、これは今後の治療戦略を考える上でも興味深い。すなわち、一部のアレルギー性疾患で試みられているIL-4アンタゴニストの使用のようにIL-4の働きをおさえることが子宮内膜症の治療となる可能性も考えられ、今後の研究の発展が期待される。また、同様に各種MAPキナーゼ阻害剤がIL-4による子宮内膜症間質細胞の増殖を抑制したことより、このような薬剤も今後の治療への応用が考慮される。MAPキナーゼ阻害剤はIL-17による子宮内膜症の促進効果も阻害することが示唆されているので、子宮内膜症を促進する複数の経路を同時に阻害する可能性も期待され一層の研究が期待される。子宮内膜症の発症機序とアポトーシスの関係については、子宮内膜症の組織でDR5の発現低下が示されたことよりTRAIL誘導性アポトーシスに対する抵抗性

がより明確となった。そこで、アポトーシス抵抗性を改善させる方法としてツニカマイシンの影響を見たわけであるが、ツニカマイシンはDR5の発現を増加させるとともに、TRAIL誘導性アポトーシスを著明に増加させた。別の見方をすると、ツニカマイシン以外のDR5を誘導する物質も同様の効果を発揮する可能性があり、新たな治療法の展開が期待される。最後に、子宮内膜症患者の腹腔内貯留液中sCD44の上昇は腹腔内の子宮内膜細胞からの炎症などによる遊離と考えることもできる。子宮内膜に発現するCD44は腹膜中皮細胞のヒアルロン酸との接着を介して子宮内膜症発症に寄与すると考えられており、実際にヒアルロン酸をもちいた動物実験ではこの接着の抑制が子宮内膜症の進行を抑制するデータが得られている。CD44を標的とした治療も今後検討されるべき課題の1つである。

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。新規の治療薬としてジェノゲストがあげられるが、その作用機序が中枢のみにとどまらず、病巣局所に作用することがわかったため、今後は局所療法も含めた治療法の拡大が期待される。また、既に他領域で広く使用されているメトフォルミンが今後の治療法の選択肢の一つとなる可能性が示された。また、子宮内膜症の病態にはT細胞が深く関与しており、Th2およびTh17細胞の分泌するサイトカインが子宮内膜症を進展させると考えられる。よって、今後はT細胞免疫を考慮した治療戦略を考える必要がある。一方、子宮内膜症の病態としてアポトーシス抵抗性はやはり重要な概念であることが再認識されたが、アポトーシス誘導因子の受容体を誘導することにより子宮内膜症を治療しえるという新たな概念が本研究により提唱できたことは大きな前進と考える。さらに、CD44という新たな治療標的が示唆されたことも意義深い。

以上、本研究は今後の子宮内膜症治療に大きく寄与するとともに、同疾患を合併する多くの不妊症患者の治療に新たな道しるべを樹立した。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Hirata T, Osuga Y, Fujimoto A, Oishi H, Hiroi H, Fujiwara T, Yano T, Taketani Y. Conjoined twins in a triplet pregnancy after ICSI and blastocyst transfer: Case report and review of the literature. *Fertil Steril*. 91:e9-12, 2009
- Fu L, Osuga Y, Yano T, Takemura Y, Morimoto C, Hirota Y, Schally AV, Taketani Y. Expression and possible implication of GHRH receptor splice variant 1 (SV1) in endometriosis. *Fertil Steril* (in press)
- Hasegawa A, Osuga Y, Hirota Y, Hamasaki K, Kodama A, Harada M, Tajima T, Takemura Y, Hirata T, Yoshino O, Koga K, Yano T, Taketani Y. Tunicamycin enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-induced ligand (TRAIL)-induced apoptosis in endometriotic stromal cells. *Hum Reprod* 24:408-14, 2009
- Hirota Y, Osuga Y, Hasegawa A, Kodama A, Tajima T, Hamasaki K, Koga K, Yoshino O, Hirata T, Harada M, Takemura Y, Yano T, Tsutsumi O, Taketani Y. IL-1 β stimulates migration and survival of first trimester villous cytotrophoblast cells through endometrial epithelial cell-derived IL-8. *Endocrinology* 150:350-6, 2009
- OuYang Z, Hirota Y, Osuga Y, Hamasaki K, Hasegawa A, Tajima T, Hirata T, Koga K, Yoshino O, Harada M, Takemura Y, Nose E, Yano T, Taketani Y. Interleukin-4 stimulates proliferation of endometriotic stromal cells. *Am J Pathol*. 173: 463-9, 2008
- Yanai Y, Hiroi H, Osuga Y, Fujimoto A, Momoeda M, Yano T, Taketani Y. Androgen insensitivity syndrome with serous gonadal cyst. *Fertil Steril* 90:2018, 2008
- Hirota Y, Tranguch S, Daikoku T, Hasegawa A, Osuga Y, Taketani Y, Dey SK. Deficiency of Immunophilin FKBP52 Promotes Endometriosis. *Am J Pathol* 173:1747-57, 2008
- Osuga Y. Novel therapeutic strategies for endometriosis: a pathophysiological perspective. *Gynecol Obstet Invest*. 66 Suppl 1:3-9, 2008
- Osuga Y, Hirota Y, Taketani Y. Basic and translational research on proteinase-activated receptors: proteinase-activated receptors in female reproductive tissues and endometriosis. *J Pharmacol Sci*. 108:422-5, 2008
- Hirata T, Osuga Y, Hamasaki K, Yoshino O, Ito M, Hasegawa A, Takemura Y, Hirota Y, Nose E, Morimoto C, Harada M, Koga K, Tajima T, Saito S, Yano T, Taketani Y. Interleukin (IL)-17A Stimulates IL-8 Secretion, Cyclooxygenase-2 Expression, and Cell Proliferation of Endometriotic Stromal Cells. *Endocrinology*. 149: 1260-1267, 2008.
- Fu L, Osuga Y, Morimoto C, Hirata T, Hirota Y, Yano T, Taketani Y. Dienogest inhibits BrdU uptake with G(0)/G(1) arrest in cultured endometriotic stromal cells. *Fertil Steril*. 89:1344-7, 2008
- Hasegawa A, Yoshino O, Osuga Y, Hirata T, Yano T, Taketani Y. High soluble CD44 concentration in peritoneal fluid in endometriosis. *Fertil Steril*. 89:1267-8, 2008
- Osuga Y, Koga K, Hirata T, Hiroi H, Taketani Y. A case of hydrosalpinx associated with the menstrual cycle. *Fertil Steril*. 90:199, 2008
- Hirota Y, Osuga Y, Nose E, Koga K, Yoshino O, Hirata T, Yano T, Tsutsumi O, Sakuma S, Muramatsu T, Taketani Y. The presence of milkine and its possible implication in human ovarian follicles. *Am J Reprod Immunol*. 58: 367-373, 2007.
- Takemura Y, Osuga Y, Yoshino O, Hasegawa A, Hirata T, Hirota Y, Nose E, Morimoto C, Harada M, Koga K, Tajima T, Yano T, Taketani Y. Metformin suppresses interleukin (IL)-1 β -induced IL-8 production, aromatase activation, and proliferation of endometriotic stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 92: 3213-3218, 2007.
- Hirata T, Osuga Y, Hamasaki K, Hirota Y, Nose E, Morimoto C, Harada M, Takemura Y, Koga K, Yoshino O, Tajima T, Hasegawa A, Yano T, Taketani Y. Expression of Toll-like receptors 2, 3, 4, and 9 genes in the human endometrium during the menstrual cycle. *J Reprod Immunol*. 74:53-60, 2007
- 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
- Hirota Y, Osuga Y, Koga K, Yoshino O, Hirata T, Morimoto C, Harada M, Takemura Y, Nose E, Yano T, Tsutsumi O, Taketani Y. The expression and possible roles of chemokine CXCL11 and its receptor CXCR3 in the human endometrium. *J Immunol*. 177:8813-21, 2006
- 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.
- Takemura Y, 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.
- Yoshino O, Osuga Y, Koga K, Hirota Y, Hirata T, Ruimeng X, Na L, Yano T, Tsutsumi O, Taketani Y. FR 167653, a p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor, suppresses the development of endometriosis in a murine model. *J Reprod Immunol*. 72: 85-93, 2006.
- Takeuchi T, Tsutsumi O, Ikezaki Y, Kamei Y, Osuga Y, Fujiwara T, Takai Y, Momoeda M, Yano T, Taketani Y. Elevated serum bisphenol A

levels under hyperandrogenic conditions may be caused by decreased UDP-glucuronosyltransferase activity. *Endocr J*. 53: 485-491, 2006.

2. 学会発表

田島敏樹, 廣田泰, 濱崎かほり, 長谷川亜希子, 平田哲也, 森本千恵子, 原田美由紀, 大須賀穰, 矢野哲, 武谷雄二, 婦人科腹腔鏡下手術における予防的抗生剤投与の効果についての検討, 第54回日本化学療法学会西日本支部総会

原田美由紀, 大須賀穰, 竹村由里, 吉野修, 甲賀かをり, 廣田泰, 平田哲也, 森本千恵子, 矢野哲, 武谷雄二, 子宮筋の蠕動運動は, 子宮内膜間質細胞の脱落膜化の制御を介して着床機序に関与している可能性がある, 第51回日本生殖医学会

平田哲也, 大須賀穰, 廣田泰, 甲賀かをり, 吉野修, 原田美由紀, 森本千恵子, 竹村由里, 田島敏樹, 長谷川亜希子, 矢野哲, 武谷雄二, 子宮内膜におけるTLR2,3,4,9mRNAの発現と月経周期による局在の変化についての検討, 第51回日本生殖医学会

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

大須賀穰, 傅莉, 森本千恵子, 竹村由里, 原田美由紀, 平田哲也, 廣田泰, 吉野修, 甲賀かをり, 矢野哲, 武谷雄二, 新規子宮内膜症治療薬ジェノゲストの子宮内膜症細胞に対する直接効果, 第51回日本生殖医学会

廣田泰, 大須賀穰, 甲賀かをり, 吉野修, 平田哲也, 森本千恵子, 原田美由紀, 竹村由里, 長谷川亜希子, 田島敏樹, 濱崎かほり, 矢野哲, 堤治, 武谷雄二, ケモカイン受容体CXCR3とそのリガンドがヒト胚の遊走・侵入に関与する, 第51回日本生殖医学会

竹村由里, 大須賀穰, 原田美由紀, 平田哲也, 森本千恵子, 廣田泰, 田島敏樹, 長谷川亜希子, 矢野哲, 武谷雄二, 子宮内膜症および子宮内膜におけるアディポネクチンの意義についての検討, 第11回生殖内分泌学会

平田哲也, 大須賀穰, 廣田泰, 森本千恵子, 原田美由紀, 竹村由里, 矢野哲, 武谷雄二, 子宮内膜症患者の腹水におけるCXCL16に関する検討, 第27回炎症再生学会

中澤学, 大石元, 福島寛子, 藤原敏博, 大須賀穰, 百枝幹雄, 久具宏司, 竹内亨, 矢野哲, 武谷雄二, 低用量HRTとビタミンKまたはビスフォスフォネートの併用療法が骨代謝に及ぼす効果, 第58回日本産科婦人科学会

大須賀穰, 廣田泰, 甲賀かをり, 吉野修, 平田哲也, 森本千恵子, 原田美由紀, 竹村由里, 矢野哲, 堤治, 武谷雄二, Protease-activated receptor-2(PAR2)が子宮内膜症の進展に関与する, 第58回日本産科婦人科学会

廣田泰, 大須賀穰, 和田修, 藤原敏博, 甲賀かをり, 大石元, 矢野哲, 武谷雄二, 子宮腺筋症がARTの成績に与える影響, 第58回日本産科婦人科学会

原田美由紀, 大須賀穰, 竹村由里, 吉野修, 甲賀かをり, 廣田泰, 平田哲也, 森本千恵子, 矢野哲, 武谷雄二, 生理的子宮収縮は子宮内膜の脱落膜化を

調節している可能性がある:着床機序への関与, 第58回日本産科婦人科学会

平田哲也, 大須賀穰, 廣田泰, 甲賀かをり, 吉野修, 原田美由紀, 森本千恵子, 矢野哲, 武谷雄二, 子宮内膜における各種Toll-like Receptor(TLR)の発現についての検討, 第58回日本産科婦人科学会

竹村由里, 大須賀穰, 平田哲也, 原田美由紀, 甲賀かをり, 廣田泰, 森本千恵子, 吉野修, 田島敏樹, 長谷川亜希子, 矢野哲, 武谷雄二, 子宮内膜におけるadiponectin receptorの発現とその意義, 第58回日本産科婦人科学会

趙琳, 矢野哲, 中川俊介, 大須賀穰, 大石元, 和田修, 久具宏司, 武谷雄二, GnRH IIによるヒト子宮内膜癌細胞株におけるG2期停止に関する検討, 第58回日本産科婦人科学会

平田哲也, 大須賀穰, 廣田泰, 吉野修, 森本千恵子, 原田美由紀, 竹村由里, 長谷川亜希子, 田島敏樹, 濱崎かほり, 矢野哲, 武谷雄二, 子宮内膜間質細胞(ESC)におけるToll-like receptor(TLR)を介するサイトカイン産生能とそのIFN γ による制御についての検討, 第59回日本産科婦人科学会

竹村由里, 大須賀穰, 平田哲也, 廣田泰, 森本千恵子, 原田美由紀, 田島敏樹, 長谷川亜希子, 甲賀かをり, 吉野修, 矢野哲, 武谷雄二, Metforminは, 子宮内膜症細胞において, IL-8産生, 細胞増殖, aromatase発現を抑制する, 第59回日本産科婦人科学会

長谷川亜希子, 大須賀穰, 吉野修, 廣田泰, 平田哲也, 原田美由紀, 竹村由里, 田島敏樹, 濱崎かほり, 児玉亜子, 矢野哲, 武谷雄二, 子宮内膜および子宮内膜症細胞における小胞体ストレスマーカーsXBP1mRNAの発現, 第12回日本生殖内分泌学会

長谷川亜希子, 大須賀穰, 平田哲也, 濱崎かほり, 廣田泰, 森本千恵子, 原田美由紀, 竹村由里, 田島敏樹, 矢野哲, 武谷雄二, 子宮内膜症患者の腹腔内貯留液中における可溶性CD44についての検討, 第52回日本生殖医学会

児玉亜子, 大須賀穰, 吉野修, 濱崎かほり, 長谷川亜希子, 田島敏樹, 森本千恵子, 平田哲也, 矢野哲, 武谷雄二, ヒト子宮内膜におけるBMP7の発現および機能に関する検討, 第12回日本生殖内分泌学会

趙琳, 矢野哲, 大須賀穰, 中川俊介, 大石元, 和田修, 久具宏司, 武谷雄二, 新規GHRH(growth hormone-releasing hormone)アンタゴニストMZ-5-156のヒト子宮内膜癌細胞株に対するアポトーシス誘導効果の検討, 第59回日本産科婦人科学会

Yutaka Osuga. Implication of immunological and inflammatory mediators in the development of endometriosis. The 10th Korea-Japan Joint Conference of Obstetrics and Gynecology

Yutaka Osuga. New aspects in the pathogenesis of endometriosis. International Symposium on Translational Research in Uterine Biology

欧陽卓, 廣田泰, 大須賀穰, 濱崎かほり, 長谷川亜希子, 田島敏樹, 平田哲也, 甲賀かをり, 吉野修, 原田美由紀, 竹村由里, 矢野哲, 武谷雄二, 子宮内膜症におけるTh2細胞とIL-4の意義について, 第53回日本生殖医学会

藤本晃久, 大石元, 平田哲也, 原田美由紀, 廣井久彦, 大須賀穰, 矢野哲, 武谷雄二, 40歳以上で不妊

治療を開始した症例の成績と治療方針に関する検討、第53回日本生殖医学会

平田哲也、大須賀穰、濱崎かほり、吉野修、伊藤実香、長谷川亜希子、竹村由里、廣田泰、能瀬栄美、森本千恵子、原田美由紀、甲賀かをり、斎藤滋、矢野哲、武谷雄二、子宮内膜症の発症、進展におけるIL-17の意義、第53回日本生殖医学会

吉野修、施佳、大須賀穰、矢野哲、西井修、武谷雄二、ヒト卵巣におけるbone morphogenetic protein(BMP)-6の発現と機能に関する検討、第53回日本生殖医学会

大須賀穰、子宮内膜症の診断・治療における腹腔鏡の意義、子宮内膜症合併不妊における腹腔鏡の適応と意義についての諸問題、第48回日本産科婦人科内視鏡学会

平田哲也、大須賀穰、濱崎かほり、吉野修、原田美由紀、長谷川亜希子、田島敏樹、児玉亜子、伊藤実香、斎藤滋、矢野哲、武谷雄二、子宮内膜症におけるTh17の発現とその意義、第60回日本産科婦人科

学会

大須賀穰、子宮内膜症、第60回日本産科婦人科学会

Osuga Y, Current understanding of the pathogenesis of endometriosis, 13th Seoul International Symposium

Osuga Y, Progress in the management of endometriosis, 94th Annual Meeting of the Korean Society of Obstetrics and Gynecology

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

研究要旨

ADP-ribosyltransferase 3(*ART3*)は、男性不妊症の一病型である非閉塞性無精子症の感受性遺伝子として同定された遺伝子である。日本人集団を対象とした患者-対照関連解析において、*ART3*遺伝子の複数SNPやハプロタイプが非閉塞性無精子症に有意に関連することが示されているが、日本人以外の集団での関連解析は行われていない。本研究では、*ART3*遺伝子の人類集団における遺伝的多様性および集団構造を明らかにする目的で、疾患感受性SNPのリスクアレル頻度やハプロタイプの頻度分布を調べた。更に我々は、非閉塞性無精子症の遺伝的要因を探るため、Y染色体の微小ゲノム構造異常をAgilent社のCGH (Comparative Genomic Hybridization)アレイを用いて、網羅的に検出する方法を確立した。その結果、数kb程度の微小欠失を精度よく検出することができた。関連解析の結果、微小欠失は患者群で有意に多かった。

A. 研究目的

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側要因が25%程度を占めるといわれている。Okadaらにより、ADP-ribosyltransferase 3 (*ART3*) 遺伝子が男性不妊症に関連する遺伝子であることが同定された。

本研究では、*ART3*遺伝子の人類集団における遺伝的多様性および集団構造を明らかにする目的で、疾患感受性SNPのリスクアレル頻度やハプロタイプの頻度分布を調べた。

次に、我々はAgilent社のCGH (Comparative Genomic Hybridization)アレイを用いて、Y染色体転写領域における構造異常の網羅的な検出方法を確立した。病態の詳細に迫るため新たなCGHデザインにより微小構造異常解析を行い、男性不妊症原因解明を目指す。

B. 研究方法

1. 男性不妊症感受性遺伝子*ART3*の集団遺伝学的解析

1-1. 対象

アフリカ3集団、ユーラシア6集団、東アジア2集団からなる合計11の男女混成一般集団(567人)のゲノムDNA。

1-2. ヒト*ART3*遺伝子を含む48kbにわたる領域のSNPのタイピング

データベース上のヒトのこの領域の塩基配列を基に、必要なPCRおよびシーケンスプライマーを作成した。ゲノムDNAをPCRで増幅し、自動シーケンス解析装置(ABI PRISM 3700)を用いたダイレクトシーケンス法、または、TaqMan® SNP Genotyping Assaysにて、SNPのタイピングを行った。

1-3. 解析ツール

AMOVA (Analysis of molecular variance)により、集団構造の地理的階層性を分析した。ハプロタイプの推定には、PHASE v2.1を用いた。

2.Y染色体を中心とした微小構造異常解析

2-1. DNA検体

検体に関しては、子供を持ち精子数及び運動能が正常な男性と、非閉塞性無精子症患者男性を、それぞれ約650人を揃えた。

2-2. アソシエーション・スタディ

検出された微小構造異常に関しては、PCR法によるバリデーション法を確立し、構造異常の存在をCGH法とは異なる手法で確認した。すべての検体においてPCR方法によるタイピングを行った。欠失に関してはmultiplex PCR、増幅に関しては定量PCRを行った。患者及び対照における微小構造異常頻度の違いをカイ検定で検定した。初期有意水準は < 0.05 に規定した。

(倫理面への配慮)

本研究は新潟大学医学部倫理審査委員会で承認を得ている(2006年10月24日付け)。かつ東海大学医学部医の倫理委員会でも承認を受けている(2006年10月27日付け)。今回の研究は不妊治療というかなりプライバシーと関連しているもので、個人情報管理には当初より特別な配慮がなされている。各協力施設で収集された検体は新潟大学医学部産婦人科で通常の匿名化される。個人情報は新潟大学の個人情報管理者のスタンドアロンコンピュータに保管されている。そして匿名化された検体のすべてが東海大学に送られ、東海大学で再符号化した検体を東海大学、新潟大学(再送付)で研究に用いている。ここで2重に匿名化されているので、研究結果に伴う個人情報が漏れることはないと考えて良い。

C. 研究結果

1. 男性不妊症感受性遺伝子ART3の集団遺伝学的解析

分析した15個の感受性SNPのうち14個において、11集団間における有意な遺伝的分化を認めた。地理的階層性に関する分析から、各地域集団内の遺伝的分化は顕著ではなく、人類集団内の集団構造は、主として、地域集団間の違いに基づくことが明らかになった。他方、ユーラシア、東アジア集団における疾患感受性ハプロタイプの頻度は4.9%~29.5%と推定されたものの、アフリカ人集団における推定頻度は2.3%であり、ハプロタイプレベルでの集団分化も認めた。

2.Y染色体を中心とした微小構造異常解析

我々はプローブデザインアルゴリズム(CGH probes via eArray online microarray design tool, Agilent社提供)を用いて、NCBI database(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview>)に登録されているY染色体の477転写領域(短腕も含む)にprobeを配置して4×44kカスタムCGHアレイを作成し、微小構造異常を検出できるかどうかを検討した。その結果、数kb程度の数微小欠失を精度よく検出できることが確認された。Multiplex PCR法で、患者及び対照由来のDNAより、微小欠失の有無を確認し、微小欠失の有無を確認し、頻度を算定した。その結果、NOA患者群では406人中18人(4.43%)の欠失、対照群では571人中11人の欠失(1.93%)が観察された。関連解析の結果、オッズ比が2.30(95%信頼区間1.05-5.60、p-valueが 3.35×10^{-2})であり、微小欠失は患者群で有意に多かった。

D. 考察

1. 男性不妊症感受性遺伝子ART3の集団遺伝学的解析

ART3遺伝子と非閉塞性無精子症との関連追試において、東アジア集団では日本人での疾患感受性SNPやハプロタイプを用いた関連解析が可能であるが、ユーラシアや

アフリカの集団では遺伝子レベルでの追試を行う必要があることが示唆された。

2. Y染色体を中心とした微小構造異常解析

我々は、CGHアレイを用いて、Y染色体転写領域における構造異常の網羅的な検出法を確立した。その結果、非閉塞性無精子症 (NOA)患者でAZF領域の構造異常を確認でき、Y染色体微小構造異常を検出することが可能になった。発見された微小欠失の患者及び対照群解析を行った結果、AZFaとAZFbの間に存在する微小欠失は患者群で有意に多かった。更に、検出されたゲノム構造異常と Mean germinal epithelium score (Johnsen's score)との関連を調べることにより、男性不妊症の原因解析を試み、そこから得られる病態解明から男性不妊症への新たな治療法開発を探ることが期待される。

E. 結論

本研究では、男性不妊症の疾患感受性遺伝子として同定された、*ART3*遺伝子領域における世界の多様な集団における詳細な遺伝子多型の検討を行った。今後、この見地をもとに男性不妊症の感受性遺伝子の同定を効率よく進めていくことが可能であると考えられる。

更に、カスタムCGHアレイを作成してY染色体の欠失を網羅的に検出し、Y染色体の微小欠失を検出することを可能とした。更に、検出された微小欠失と非閉塞性無精子症との関連を検討した。今後、この見地をもとに精巣組織の遺伝子発現プロファイル、細胞・組織レベルでの機能解析、非閉塞性無精子症患者におけるCGH解析を乏精子症患者へと拡張し乏精子症における射出精子でのde novo微小欠失の検出を検討しており、微小欠失と非閉塞性無精子症 (NOA)との関連を効率よく調べていくことが可能

であると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

井ノ上 逸朗, 最新医学 2007年9月号 (別冊) 臨床医工学'07 - ゲノム科学の臨床へのインパクト - 多因子病の遺伝要因をどのように考えるべきか

2. 学会発表

A. Tajima, H. Okada, M. Sekine, K. Shichiri, A. Tanaka, K. Tanaka, I. Inoue, Candidate-gene association study of non-obstructive azoospermia (NOA): ART3 as a genetic susceptibility to NOA, ASHG meeting, 2007, October, San Diego

井ノ上 逸朗 (シンポジウム) 「男性不妊症解明に向けたゲノム医学からのアプローチ」 日本人類遺伝学会第53回大会 (横浜) 2008年9月

高橋朋子、田嶋敦、井ノ上逸朗 (口頭発表) 「男性不妊症感受性遺伝子 *ART3* の人類遺伝学的解析」 日本人類遺伝学会第53回大会 (横浜) 2008年9月

秋山康一、塚本秀雄、田嶋敦、井ノ上逸朗、田中憲一、井ノ上逸朗 (ポスター発表) 「二次元電気泳動法を用いた精子無力症関連遺伝子の探索」 第31回日本分子生物学会年会、第81回日本生化学会大会 合同大会 (神戸) 2008年12月

H. 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

子宮内膜症を合併する不妊症患者の合理的な 生殖補助医療の治療体系に関する研究

分担研究者 柳田 薫 国際医療福祉大学
臨床医学研究センター 教授

研究要旨

子宮内膜症は生殖年齢層の女性の10%に認められる。子宮内膜症女性の30%に不妊症が合併し、原因不明不妊症の50%に子宮内膜症が存在する。子宮内膜症は経年的に進行し、妊娠を望む夫婦において、婦人の卵管障害、卵巣障害、腹膜障害などの原因により不妊症の原因として問題を提起する。生殖医療は卵巣機能が重要であり、子宮内膜症の治療は卵巣機能を低下させることにあり、相反する事態に治療に苦慮するところとなる。子宮内膜症を合併する不妊症例では、腹腔鏡検査(手術)を積極的に選択し、病変の確定とIVFなどの治療法選択をより適切に行う。腹腔鏡による原因検索および外科的治療は、適切な治療法選択の判断に必要である。IVFの適応がない場合も、術後に積極的な不妊治療を行う。タイミング法や人工授精の有効な治療期間(治療周期数)を考慮して、術後6ヶ月以内で妊娠に至らない場合には、体外受精の適応と考慮して治療に望むことが必要である。テンポのよい治療と治療成績の評価により、経年的なageingの影響も加味して柔軟な治療法選択の姿勢が重要で、妊娠に至らない場合には早期にIVFの適応として考慮する必要がある。治療としてIVFを選択した場合、期待される妊娠率は通常のIVFの成績と同等である。

○研究協力者

片寄治男 国際医療福祉大学病院
リプロダクションセンター

A. 研究目的

子宮内膜症のおおよその頻度は生殖年齢層の女性では10%¹⁾、開腹手術時に偶発的に発見される場合も含め5%、不妊症の女性では30~50%と報告されている。子宮内膜症女性の30%に不妊症が合併し、原因不明不妊症の50%に子宮内膜症が存在する。そして経年的に進行し¹⁾、妊娠を望む夫婦において、婦人の卵管障害、卵巣障害、腹膜障害などの原因により不妊症の原因として問題を提起する。生殖医療は卵巣機能が重要であり、子宮内膜症の治療は卵巣機能を低下させることにあり、相反する事態に治療に苦慮するところとなる。子宮内膜症を合併する不妊症例では、治療法として体外受精を採択することも多々ある。日本産科婦人学会の調査ではIVF症例の8%に子宮内膜症が合併している²⁾。ここでは子宮内膜症を合併する不妊症患者の合理的な生殖補助医療の治療の流れをチャート化することとした。また、実際の子宮内膜症合併不妊症の治療成績を調査し、作成した指針が合理的かつ有効なものかを、実際の臨床成績から検証し、治療指針を治療エビデンスの点からも検討を加え、作成した指標との整合性を整えて最終的なガイドラインを作成した。

B. 研究方法

検索論文によるエビデンスから子宮内膜症を合併する不妊症患者の合理的な治療指針を検討した。さらに、生殖補助医療への子宮内膜症の影響を自施設の治療成績と文献を調査し、その結果を治療指針に加味してチャートを作成した。

自施設の治療調査については、平成17年4月から平成20年12月までの期間に国際医療福祉大学病院リプロダクションセンターで加療を行った不妊症夫婦を対象として調査した。治療を受けた夫婦は897組であった。この中で不妊症の検査の目的や手術治療目的で腹腔鏡手術を行った婦人が84例であった。手術所見に子宮内膜症を認めたのが20例存在した。20例中7例が生殖補助医療(体外受精)を選択され、治療を受けていた。さらにその7例中4例に妊娠が得られた。臨床的背景、腹腔鏡手術の有無、手術時の子宮内膜症所見を調査した。また、体外受精(IVF)を実施した症例では、controlled ovarian stimulationの種類、採卵数、成熟卵子数、受精卵子数、day3での胚数、day3での形態良好胚数の割合などを調査した。

C. 研究結果

1. 子宮内膜症を合併する不妊症例の生殖補助医療の適応

子宮内膜症が妊孕能に及ぼす影響としては以下の事項が考えられる。

- ① 卵管周囲間の病巣による機能低下
- ② 具体的には卵子の捕獲障害や輸送障害

- ③ 卵巣機能への影響(黄体化未破裂卵胞症候群による排卵障害や内膜症性卵巣嚢胞による卵胞発育障害)
- ④ 腹腔内の炎症に関与するサイトカインによる受精、着床障害

これらの事項以外に、免疫系の異常による場合には流産や着床不全が起こることも考えられる。

一方、生殖補助医療(ここでいう生殖補助医療とは体外受精(IVF)と顕微授精(卵細胞質内精子注入、ICSI)を指す)を実施する適応となるのは卵管因子の場合と男性因子の場合である。前者は子宮内膜症のために卵管周囲癒着や卵管閉塞による。

2. 不妊を伴う子宮内膜症の治療の概要

薬物療法にはピル、ダナゾール、GnRH agonist の投与がある。排卵の抑制や子宮内膜症の諸症状の改善、そして病巣の縮小や進行の予防には有効であるが、妊孕性の回復ができるかについては困難なことが多々ある。手術療法としては、腹腔鏡手術や開腹手術による付属器の癒着剥離・卵管疎通性の回復、そしてチョコレート嚢胞の除去、腹膜病変に対するレーザーや電気凝固による治療がある。これらの手術療法は解剖学的な異常を伴う症例に対しては不妊症治療として意味がある。

3. 不妊症例の子宮内膜症治療の考え方

子宮内膜症は経時的に増悪するものである。薬物療法は子宮内膜症への直接作用もあるが、どちらかというとう進行を一時停止するもの、または再発までの時間延長するものと捉えられる。実際に、進行した子宮内膜症に対しては手術療法でさえ有効でないことが多い。したがって、手術療法は最後の手段ということではなく、手術が有効な初期の子宮内膜症に積極的に実施するものと考えられる。したがって、積極的に腹腔鏡による診断・治療のための手術を行うべきと考えられる。卵巣予備能が保たれている患者であれば、待機的に治療を行う。経時的に子宮内膜症は増悪するので、テンポよく治療を計画する。初めはタイミング法を行うが、4-5 周期で妊娠に至らなければ調節卵周期を併用した人工授精(AIH)を実施する³⁾。これでも妊娠に至らなければ、腹腔鏡手術にて病巣の確認を行い、卵管機能を評価する。チョコレート嚢胞が存在すれば核出を、内膜症の腹膜病変があれば焼灼術を、卵管周囲などに癒着があれば癒着剥離術を実施する。腹腔鏡検査で、卵管因子例と評価されたならば IVF の適応とする。

以下、子宮内膜症に関して、卵巣子宮内膜症性嚢胞の IVF に及ぼす影響、IVF を実施する前の薬物治療の影響、卵巣刺激プロトコールへの影響、腹腔鏡検査(手術)が IVF に及ぼす影響、卵・胚の質への影響についての現在のエビデンスを述べる。

4. 卵巣子宮内膜症性嚢胞(endometrioma)について

卵巣子宮内膜症性嚢胞の妊孕能への影響としては、以下の事項がある。

- ① F₁ 卵管のピックアップ障害
- ② 卵巣実質の血流障害による卵胞、排卵への障害
- ③ 産生されるサイトカインによる配偶子、胚への障害

また、注意すべきは悪性変化が報告されていることである。卵巣子宮内膜症性嚢胞の1%に癌化が起こる。嚢胞のサイズが大きくなるとそのリスクが増加し、直径が6cm以上ではハイリスクと考える。また、40歳以上では4cm以上をハイリスクとする⁴⁾。

手術としての核出術後の問題点は卵巣周囲の再癒着、卵巣予備能の低下、卵巣刺激への低反応がある。

5. IVF を実施する前の薬物治療の影響について

子宮内膜症の不妊症例が IVF/ICSI を受ける場合の IVF の成績は不良で、卵管因子例と比較しても妊娠率が低値である。そこで、IVF/ICSI の実施前に GnRH agonist を投与して、子宮内膜症を治療することが IVF/ICSI の成績向上に寄与するのではないかと考えられている。Ma らも IVF 実施前に GnRH agonist を2ヶ月から3ヶ月間投与して下垂体の down regulation を行うと、その後の IVF の成績が良好となったと報告した⁵⁾。特に2ヶ月間の投与は3ヶ月間の投与より良好であった。採取された卵子の数や良好胚数も2ヶ月間の投与群がもっとも良好であった⁵⁾。Cochrane Library の報告によれば、3つの RCT について検討が加えられ、GnRH agonist による3ヶ月から6ヶ月間の前治療を行った群が、臨床的妊娠率、生産率が有意に高いと評価された⁶⁾。

6. 卵巣刺激プロトコールへの影響について

Yanushpolsky らは45例のチョコレート嚢胞を持った IVF 例(コントロールは57例)について検討し、チョコレート嚢胞が存在すると、採卵数、媒精後48時間での4細胞期胚数が少なくなり、また初期流産が増える(47% VS 14%)ことを報告した⁷⁾。これらの影響は腫瘍としての物理的な影響も考えられるが、疾患としての子宮内膜症そのものの影響も考えなければならぬ。Kumbak らは単純性卵巣嚢腫(直径が1cmから3.5cm)を合併した IVF 例と子宮内膜症性卵巣嚢胞(直径が1cmから5cm)を認める IVF 例の成績を比較した⁸⁾。投与ゴナドトロピン量は子宮内膜症性嚢胞群の方が有意に多かった(約20%増)。採取卵数は子宮内膜症性嚢胞群の方が有意に少なかったが(13.9 vs. 16.4)、卵子の成熟率は同じであった。単純性卵巣嚢腫群で良好胚獲得率が有意に高く、着床率も有意に高値であった(28% vs. 19%)。子宮内膜症性卵巣嚢胞の存在は、妊娠率まで観察すると差がないが、胚の質の低下を招き、着床率も低下する⁸⁾。

子宮内膜症は IVF の結果に影響を与えないが、卵巣刺激法でより多くのゴナドトロピンを必要とする。また、IV 期の子宮内膜症では採卵数が少なくなる⁹⁾。

手術療法の既往がある重症子宮内膜症例での卵巣刺激法では、反応の低下が認められる。しかし、受精率、卵割率、着床率、分娩率については有意差を認めなかった。卵巣の予備能は低下するが、胚の質や着床能は保たれていることを示している¹⁰⁾。

7. 腹腔鏡検査(手術)について

腹腔鏡検査は子宮内膜症治療の gold standard と考えられている。また、子宮内膜症を合併している不妊症例は体外受精を受けることもある。腹腔鏡手術を体外受精の前に行ったときの体外受精の成績への影響を検討した Coccia らは 107 例の体外受精を行う前に子宮内膜症の診断で腹腔鏡手術を受けた例について調査を行った¹¹⁾。腹腔鏡後に IVF を行った例での妊娠率は 56.1% で、腹腔鏡手術だけの場合の 37.4% と比較して有意に高い妊娠率であった。腹腔鏡手術後の 6 ヶ月間の妊娠率は 23.2% であり、6 ヶ月以後での妊娠率と比べると有意に高値であった。また、35 歳以上の例では、それ未満の例より有意に低値となった。したがって、子宮内膜症例では腹腔鏡手術後に IVF を行う場合がもっとも妊娠率が高い。腹腔鏡手術後に妊娠が得られなければ、最長 1 年以内に IVF を計画すべきと思われる¹¹⁾。

Nakagawa らは子宮内膜症性卵巣嚢胞の腹腔鏡下核出術を行った症例について、術後 12 ヶ月まで妊娠の有無を観察した¹²⁾。術後に IVF を実施した場合の妊娠率は 50.0%、IVF が不要と判断され通常の不妊治療を行った場合の妊娠率は 60.9% であった。これらは、腹腔鏡を行っていない IVF 例(コントロール)の妊娠率(41.4%) と比べるといずれも有意に高値であった。したがって、IVF の前に行う腹腔鏡検査は治療方針の決定に役立つのみならず、妊娠に適した骨盤内環境の改善にも有益であることがわかった¹²⁾。

8. 卵の質への影響

子宮内膜症を有する女性から採取される卵子の質は不良であることも報告されているが¹³⁾、卵子の質には影響がないとの報告もあり一定の見解に達していない¹⁴⁾。子宮内膜症例では腹水が貯留し病巣から産生された cytokine が含まれる、あるいは蓄積されており、interleukin-1 β 、interleukin-6、interleukin-8、TNF alpha などについてその影響が調査されているが、子宮内膜症例でそれらの cytokine が卵子や受精、胚の初期発生に悪影響を及ぼしているとの明らかな結果を得るに至っていない¹⁵⁾。

Bergendal らは受精率に関しては、子宮内膜症例で有意に低値となるが、胚発生率、着床率については差を認めないことを報告した¹⁶⁾。したがって、子宮内膜症例では受精率が低下するが、受精した卵子に

ついてはコントロールと変わらない成績となる¹⁶⁾。しかし、着床率、妊娠率の検討では子宮内膜症例はコントロール(卵管因子例、原因不明不妊例)に比べて有意に低値であった¹⁴⁾¹⁷⁾。子宮内膜症の進行期の影響については、minimal-mild と moderate-severe 例での IVF の妊娠率を比較した場合、有意の差を認めない¹⁴⁾。子宮内膜症は胚の質を低下させる。そして、着床率の低下にも関与している。しかし、egg donation を受ける子宮内膜症例での妊娠率はコントロールと変わりなく良好である。このことは、まさしく子宮内膜症が卵子の質に影響を与えていることを示唆する。

9. 不妊症を合併した不妊症例の治療結果の検討

自施設で治療を受けた夫婦 897 組中、不妊症の検査の目的や手術治療目的で腹腔鏡手術を行った婦人が 84 例あった。腹腔鏡手術例の中で 20 例に子宮内膜症病変が確認できた(表 1)。これは 84 例の 24% にあたる。20 例の平均年齢は 33.4 \pm 3.8 歳、IVF 実施例 7 例の平均年齢は 34.1 \pm 4.8 歳、非実施例 13 例の平均年齢は 33.0 \pm 3.3 歳であった。主病変はほとんどが子宮内膜症性卵巣嚢胞(チョコレート嚢胞)であった(85%)。他は blue berry spot などの腹膜病変であった。re-ASRM 分類ではほとんどが 3 および 4 と判断された。2 は 2 例のみであった。当センターでの治療経過からは現在のところ 3 例が妊娠を得た。この 3 例はいずれも IVF が実施され、IVF によって妊娠したものである。IVF は 20 例中 7 例に実施され、3 例に妊娠が成立した(妊娠率 43%)。腹腔鏡手術後、妊娠までの月数は 9 ヶ月から 12 ヶ月であり、総じて 1 年以内であった。IVF を実施していない 13 例は、タイミング法、人工授精(AIH)を実施しているところである。術後 1 年未満の経過の症例が 6 例存在する。また、術後 24 ヶ月を越える症例は 6 例存在するが、これらの症例については IVF のよい適応と考えられる。実際の治療選択の観点から考えると、腹腔鏡手術後 12 ヶ月を経過した時点で妊娠が得られなかった場合には、ステップアップとして IVF を選択すべきと考えられる。

IVF を実施した 7 例について、IVF での卵子・胚の状態について調査した(表 2)。4 症例は 2 回ずつ実施していた。採卵数をみると、平均 2.8 \pm 1.8 個であり、成熟卵子は 27 個であった。成熟率は 87.1% であり、通常成熟率は 85% といわれているので¹⁸⁾、成熟性については子宮内膜症の影響はないものと思われる。しかし、採卵数が少なく、いわゆる poor responder がほとんどであることがわかる。これらの症例の平均年齢は 34 歳であったので、年連的な要因はないも

のと思われる。IVFの施術前に antral follicle 数を検査して controlled ovarian stimulation を計画するが、その時に antral follicle が少ないために、clomid を用いた卵巣刺激を採用されることも多いことがわかった。Ovarian reserve の現象は外科的な治療(腹腔鏡下子宮内膜症性卵巣嚢胞核出術など)の結果ともとれる。IVF を実施した症例はすべて腹腔鏡下子宮内膜症性卵巣嚢胞核出術を受けていた。7 個採卵された症例 3 は片側だけの核出術を受けていた。採卵周期中 31% が clomid を採用していた。媒精卵子に対する受精卵をみると、81.5% の受精率で、良好な数値であり、子宮内膜症の影響はないように思われる。また day3 での胚数も 22 個と良好であった。Day3 において、7-9 細胞で細胞質の断片化の割合が 10% 以下の場合を形態良好胚と定義すると、その割合は 0-100% であり、受精卵の 50% であった。この数値に関しても、通常の場合と同レベルの割合と考えられ、子宮内膜症の影響はないと思われる。

D. 考察

以上の結果より、子宮内膜症合併の不孕症例の合理的な治療体系は以下のように考察できる。

1) 卵管因子例(図1)

子宮内膜症例では経年的に病勢が進行し、種々の障害因子の存在で、いわゆる妊孕能が低下する。さらに生理的な変化としての ageing の影響もあるので、よりテンポの早い治療計画が必要である。早期の腹腔鏡検査(手術)を行い、原因の確認と外科的治療を実施する。IVF の成績を低下させる卵管水腫があれば卵管開口術や状況によっては卵管切除術を行うこともある¹⁹⁾。卵巣子宮内膜症性嚢胞が存在すればチョコレート嚢胞核出術を行う。腹腔鏡手術の後は、その所見より IVF の適応であれば、IVF を選択する。IVF の選択がなければ、6ヶ月間のタイミング法および人工授精(AIH)を主とした治療を行い、妊娠しない場合には IVF にステップアップする。IVF の実施で妊娠が得られなかった場合や、早急な薬物療法が望ましい場合には、IVF の前治療として GnRHagonist などの投与を考える²⁰⁾。

2) 男性因子例および受精障害例(図2)

子宮内膜症を合併しているのであれば、腹腔鏡検査を実施する。ART は IVF で受精障害が起こることが予測される場合には ICSI を予定する。症例によっては、ART 実施の前に薬物療法を少なくとも 2ヶ月間実施する。

D. 結論

経年的に子宮内膜症は増悪し、女性の ovarian reserve は低下する。子宮内膜症の薬物療法では卵巣機能の抑制が必要であり、不妊治療と相反するスタンスである。これらのことから、子宮内膜症を合併している不孕症例に対して、腹腔鏡による原因検索および外科的治療は、適切な治療法選択の判断に必要である。また、子宮内膜症の薬物療法は生殖補助医療の成績を向上させる点でも有益である。腹腔鏡手術の所見により体外受精の適応がないと判断した場合には、術後に積極的な不妊治療を行う。タイミング法や人工授精の有効な治療期間(治療周期数)を考慮して、術後6ヶ月以内で妊娠に至らない場合には、体外受精の適応と考えて治療に望むことが必要である。

(参考文献)

- 1) Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1997; 24:235-258.
- 2) 日本産婦人科学会・生殖内分泌委員会報告 平成 11 年度生殖医学登録報告(第 11 報). 日産婦誌 53:665-682, 2001
- 3) 吉村泰典: 配偶子・胚提供を含む統合的生殖補助技術のシステム構築に関する研究、各種不妊原因に応じた最適な不妊治療の選択指針の確立に関する研究、平成 15 年度厚生科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)研究報告書: pp63-106, 2004.
- 4) 武内裕之、他. : 子宮内膜症、産婦人科診療 Data Book、産婦人科の実際、56:1686-1693, 2007.
- 5) Ma C, Qiao J, Liu P, Chen G.: Ovarian suppression treatment prior to in-vitro fertilization and embryo transfer in Chinese women with stage III or IV endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet.* 2008, 100: 167-170.
- 6) Hart R, Hickey M, Maouris P, Buckett W, Garry R. : Excisional surgery versus ablative surgery for ovarian endometriomas: a Cochrane Review. *Hum Reprod.* 2005, 20:3000-3007.
- 7) Yanushpolsky EH, Best CL, Jackson KV, Clarke RN, Barbieri RL, Hornstein MD. : Effects of endometriomas on oocyte quality, embryo quality, and pregnancy rates in in vitro fertilization cycles: a prospective, case-controlled study. *J Assist Reprod Genet.* 1998, 15:193-197.
- 8) Kumbak B, Kahraman S, Karlikaya G, Lacin S, Guney A. : In vitro Fertilization in Normoresponder Patients with Endometriomas: Comparison with Basal Simple Ovarian Cysts. *Gynecol Obstet Invest.* 2007, 10:65:212-216.
- 9) Al-Fadhli R, Kelly SM, Tulandi T, Tarr SL. : Effects of different stages of endometriosis on the outcome of in vitro fertilization. *J Obstet Gynaecol Can.* 2006, 28:888-891.