

2013/2005A

厚生労働科学研究費補助金

成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

生殖補助医療により出生した児の長期予後と
技術の標準化に関する研究

平成25年度研究報告書

平成26年3月

主任研究者 苛原 稔

目 次

I 総括研究報告書

生殖補助医療により出生した児の長期予後と技術の標準化に関する研究

苛 原 稔 …………… 2

II 分担研究報告書

1. 我が国におけるARTの実情と変化に対応したARTデータベースの構築

苛 原 稔 …………… 13

2. ART児の予後調査体制の实地運用

梅 澤 明 弘 …………… 22

3. 周産期・新生児データベースとの連携

竹 下 俊 行 …………… 24

4. ART児の予後調査体制の实地運用

－ARTにより出生した児の出生体重と移植周期の卵胞期エストロゲン補充に関する検討－

齋 藤 英 和 …………… 30

5. ART出生児のコホート抽出・発育・発達調査体制の構築

田中 温、宇津宮隆史、久慈 直昭 …………… 35

6. ART出生児の発育・発達に関する研究

－調査参加者の選択バイアスに関する検討－

山 縣 然太朗 …………… 47

7. 乳児期における母体妊娠合併症及びART児の粗大運動発達の検討

橋 本 圭 司 …………… 50

8. ARTの遺伝的安全性の検証：Prader-Willi症候群発症における
生殖補助医療のリスク評価

緒 方 勤 …………… 52

9. ARTのインプリンティング異常例などの遺伝的安全性の検討

秦 健一郎 …………… 58

10. ARTのインプリンティング異常例などの遺伝的安全性の検討

有 馬 隆 博 …………… 61

11. 予後調査の問題点の抽出 ARTの品質管理

(着床前遺伝子診断の安全性と出生児の予後調査)

末 岡 浩 …………… 66

12. 生殖医療の新たな枠組み構築

～非配偶者間人工授精における告知と出自を知る権利に関する研究～

久 慈 直 昭 …………… 77

13. 第三者の関与する生殖補助技術の調査と検討

大須賀 穰 …………… 95

生殖補助医療により出生した児の長期予後と
技術の標準化に関する研究（H25 - 次世代 - 一般 - 001）

総括研究報告書

主任研究者 苛原 稔（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授）

（研究要旨）

生殖補助医療（Assisted Reproductive Technology、ART）により出生した児の長期予後と技術の標準化に関する研究（H25-次世代一般001）として、まず、我が国におけるARTの現状把握、長期予後調査の基盤となるデータベース構築、周産期データベースとの連結、周産期事象との関連性を検討した。2011年の全国ART実施登録施設は586施設、総治療周期数269,659周期、総出生児数32,426人で前年に比し27,498周期、3,482人の出生児増加し、特に凍結融解胚移植の増加が顕著であった。ART分娩の17.5%で周産期データベースと連結が可能であった。凍結融解胚移植では、自然周期に移植する症例と比べてHRT周期で移植した場合に、児体重が増加し、分娩週数が延長し、経膈分娩率が低くなる可能性が示唆された。

ART児の長期予後コホート調査では、2008年度ART児を対象とした3歳時発育発達調査回収数は2,041例（回収率68%）であり、現在、その解析を進めるとともに、2011年追加症例に対する調査も始めている。調査群と調査非参加群で患者背景、母体妊娠合併症、生後12カ月までの運動発達に差を認めないことが明らかとなった。

ARTとインプリンティング疾患の関連性の検討では、一般集団に比べてPrader-Willi症候群（PWS）患者群でART児の頻度が高く、母親年齢が高齢であった。ART児13例を含むPWS患者138例の検討で、ART群でUPD（15）matの発症頻度が高かった。また、ART児でインプリンティング疾患を認める患者7例の検討では86%でインプリント異常を認めるなど、ARTとインプリンティング疾患の関連性を示唆する報告がある。一方、ART児のDNAメチル化状態を広範に検証し、自然妊娠と差が無いことが報告されるなど、今後も詳細な検討が必要であることが明らかとなった。

平成24年10月から平成25年9月の間に国内での実施されたPGDの現状調査では、大半は染色体均衡型転座保因者に対するものであり、76周期、46症例が施行されていた。重篤な遺伝性疾患に対するPGDは3施設で23症例に対して実施されていた。対象疾患はデュシェンヌ型筋ジストロフィー、筋緊張性ジストロフィーがそれぞれ11症例、8症例で、それ以外はオルニチントランスカルバミラーゼ欠損症（OTC）、福山型筋ジストロフィー（FCMD）、骨形成不全症（OI）、先天性表皮水疱症（CEB）各1症例であった。PGD実施施設と分娩施設が異なる事例が多く、児の長期予後も含めた長期フォローアップシステムの構築の必要性が指摘された。

AIDにおける告知と出自を知る権利に関しては、ニュージーランドでの経験から、親子関係を確定する法整備を前提に、出自を知る権利を認める立法が無くても非匿名性のAIDが可能となる可能性や、オランダでの経験から、匿名性AIDにより生まれた子に対する登録機関運営には経済的基盤が不可欠である事が示唆された。

第三者の関与するARTに関するWebアンケートにより第三者の関与するARTについての明確な指針や法制化に向けた意識に影響を与える因子を抽出して、社会全体で考えることができたために、更なるデータを提供する必要性が指摘された。

1. 生殖補助医療により出生した児の長期予後調査

1) 我が国におけるARTの実情と変化に対応したARTデータベースの構築（苛原 稔）

我が国における生殖補助医療（Assisted Reproductive Technology、ART）の現状を把握するため2011年の全国ART登録データベースを用いて、その現状と近年の変化を検討した。全国のART実施登録施設は586施設、治療報告施設は551施設であり、2011年の総治療周期数は269,659周期、総出生児数は32,426人、前年に比べて周期数が27,498周期増加し、出生児が3,482人増加していた。特に凍結融解胚移植により出生した児は前年に比べ3,451人増加しており、ART出生児の増加のほとんどは、凍結融解胚移植ART児の増加によるものであった。

凍結融解胚移植の実施数が増加し、成功率も上昇した結果、凍結融解胚移植に由来する妊娠・出産が増加し、2011年データではART出生児の69.2%が凍結融解胚移植周期に由来している。凍結融解胚移植周期が増加する理由としては、多胎妊娠予防を目的とした単一胚移植（SET）周期が普及したことに加えて、全ての胚を凍結し採卵した周期で胚移植を行わない全胚凍結周期が増加していることもあげられる。具体的に2011年データで解析すると、新鮮採卵周期で移植可能胚が得られた周期111,563周期のうち、46,492周期（42%）で全胚凍結が選択されていた。新鮮周期における治療の評価である妊娠率や生産率に、全胚移植周期の実施数も含まれるのが現状であり、全胚凍結が増加している現在、実施あたりの妊娠率や採卵あたりの生産率では、ARTの実体を把握できないことが懸念される。

ART治療を卵巣刺激治療や採卵手術による卵巣への侵襲としてとらえ、ART治療が与える卵巣機能への影響を検討するために、徳島大学病院で2012年7月～2013年12月の間にARTを行った症例の内、同意の得られた48例を対象に、ART治療前後でAMHを経時的に測定した。測定はAMH Gen ELISA kit（MBL社）を用いた。測定内誤差は3.07%、測定間誤差は11.1%であった。年齢や採卵数とAMH値に有意の相関を認めた。ART治療前後および次回ART治療前のAMH値に有意差は無く、卵巣刺激治療や採卵手術が卵巣機能に大きな影響を与える可能性は少ないことが明らかとなった。

2) ART児の予後調査体制の実地運用（梅澤 明弘）

ARTに対する評価は、生まれてくる子供達のフォローアップが社会遺伝学や医療福祉の見地からも重要な意味を持つ。そこで本研究においては、本邦におけるART由来出生児の長期予後調査の基盤となるデータベース構築を目的とし、データベース基盤型（ウェブデータベース型とAccess型）を想定し、長期フォローアップのためのデータベース構築に向けた検討を行った。特に、入力パラメータ（データベース登録項目）の抽出とブラッシュアップ、実際に運用・管理を行う者とシステムを整備する必要があるARTにかかる母親情報とART児の情報のリレーショナル長期フォローアップデータベースを構築し、その有用性と問題点の抽出に注力した。

3) 周産期・新生児データベースとの連携 (竹下 俊行)

ARTが妊娠・分娩などの周産期予後に及ぼす影響、並びに新生児の影響を調べるひとつの方策として、ARTデータベースと周産期データベースの連結が考えられる。日本産科婦人科学会が集計するARTデータベースと周産期登録データベースの連結が可能であるか検証した。出産日、児性別、分娩週数、母体年齢、児体重の5項目を比較し、周産期登録データベースとARTデータベースを照合した結果、60.3%の症例でこれらの項目が完全に一致した。しかし、照合可能であった症例は、ARTによる妊娠分娩例の17.5%に過ぎず、母集団の状態を十分反映しているとはいえない。今後、ARTデータと周産期登録データを連結する照合明日ID発行などを検討するとともに、周産期登録施設の増加による周産期登録データベースの充実を図ることが必要と考えられた。

4) ART児の予後調査体制の实地運用 – ARTにより出生した児の出生体重と移植周期の卵胞期エストロゲン補充に関する検討 – (齊藤 英和)

前年までの研究で生殖補助医療により妊娠し出産した児の体重が治療方法による影響を受けることが判明した。その原因として治療周期の母体の内分泌環境の差や、胚の培養や凍結融解操作に伴う遺伝子発現の変化などが想定されるものの、未だ明らかな原因は特定されていない。本年度は引き続き生殖補助医療により出生した児の出生体重に対する治療内容の影響の検討を行う事とし、胚移植周期の卵胞期エストロゲン製剤の使用の有無およびその使用薬剤と児の出生体重の関係、胚の凍結融解操作の有無による出生児の体重の変化につきそれぞれ検討した。

2011年ARTオンライン登録データ269,659周期を対象に解析を行った。このうち確認された妊娠数は45,597妊娠であり、出生児のデータの入手可能な正期産の単胎妊娠を対象として、凍結融解胚のホルモン補充周期(以下HRT周期)移植の群、凍結融解胚の自然周期移植の群、凍結融解胚の自然周期移植で黄体補充を行った群に分けて比較検討した。

凍結融解胚のHRT周期、自然周期、自然+黄体補充の周期での妊娠数はそれぞれ、2,398例、3,206例、2,782例であり、出生体重は3,115.9g, 3,078.6g ($p=0.000315$, HRT周期と比較), 3,079.7g ($p=0.000729$, HRT周期と比較) であり有意差を認めた。しかし自然周期での黄体補充において対象をエストロゲン製剤およびプロゲステロン製剤を併用した群315例に限定した場合には、出生体重は3,077.5g ($p=0.0524$) でありHRT周期との間に有意差を認めなかった。また胚の凍結融解操作による児の出生体重への影響を評価するために、凍結融解胚と新鮮胚の自然周期での移植を比較した。これらの妊娠数はそれぞれ3,206例、609例であり、出生体重は3,078.6g、3,052.2gと2群の間で有意な差は認めなかった ($p=0.108$)。以上よりHRT周期における卵胞期エストロゲンの補充は児の出生体重を増加させる可能性があるものの、黄体期におけるエストロゲン製剤使用の影響に関してサンプルを増やして再度の解析が必要であると考えられる。

凍結融解胚の移植で妊娠した児の出生週数に関してはHRT周期38.72週、自然周期38.56週と両群間で有意な差を認めた ($p=0.000815$)。これらのうち経膈での分娩となった症例はHRT周期で56.80%、自然周期で65%であり、有意差を認めた ($p<0.01$)。移植周期における治療内容により分娩様式が影響を受ける機序は明らかでないものの、周産期予後に関わる可能性があるため、より詳細な検討が必要であると考えます。

今回の解析においては各治療周期における患者背景や治療内容などの因子による影響を検討する必要があります。今後統計解析の対象を2年3年と増やすことにより、詳細なサブ解析に耐えうるデータが得られるものと考えます。さらに症例数の増加は胚の培養期間、移植胚のグレードなど、登録されていないデータの均質化も期待できるものと期待されます。

5) ART出生児のコホート抽出・発育・発達調査体制の構築 (田中 温、宇津宮隆史、久慈 直昭)

本年度の研究では、第一に2012年度発送した2008年ART施行分ART出生児の3歳時発育発達調査を回収・解析準備を行い、第二に、2011年度ART施行分ART出生児に対して調査票及びKIDSスケールの発送を行う予定である。3歳児調査の発送数はART出生児群、非ART不妊治療後出生児群、自然妊娠由来出生自軍それぞれ3,001、722、671例、返送数はそれぞれ2,041、466、496例であり、回収率はそれぞれ68、65、74%であった。また、2011年にARTを施行した児に対して、1歳時点での追加調査を行う予定であり、現在976例に対して発送準備中である。

6) ART出生児の発育・発達に関する研究 — 調査参加者の選択バイアスに関する検討 — (山縣然太朗)

平成22年度に、ART児の長期予後調査として行われた、日産婦登録データベースに登録されたART児集団から抽出されたART児コホートデータと、一般の産科医療施設でARTを用いずに出生した児のデータを用いて、平成23年度、平成24年度は、ART児と、それ以外の児における出生体重・身長、18ヶ月時のBMI、また発達の指標であるKIDSスケール得点についての比較、またARTが低出生体重児、Small for gestational age (SGA) 児、早産児といった周産期予後に与える影響についても検討してきた。しかしながら、このような調査において、調査参加者が一般集団を代表しているかどうかは、これまでに得られた結果を一般化するうえで重要であるが、調査参加児についての選択バイアスについては検討されていない。そこで今年度は、各協力医療機関において同時期にARTを施行した症例を含む日本産科婦人科学会オンライン登録データ (以下日産婦データ) を用いて、調査参加者とそうでない症例における、背景、また周産期予後についての違いを検討した。

追跡調査の対象者は、全国の不妊治療を行っている23医療施設および、1つの一般産科医療施設から調査票を郵送し、調査に同意し返信があった4,398例である。今回は、上記の参加者と同時期に各協

力医療機関においてARTを実施した症例のうち、ARTで児を出生した症例について、日産婦データを利用し、調査参加者（ARTで児を出産した母とその児）とそうでない症例（不参加者）について、治療開始時の年齢、不妊治療の適応、卵巣刺激法など治療内容、出産児数、分娩様式、児の性別、在胎週数、出生体重、先天異常の有無に違いがあるかどうかを検討した。

調査に同意し参加したのは4,398人、日産婦データが存在し、調査に参加していない、あるいは同意しなかったのは延べ27,249人であった。上記のうちARTで児を出生したのは調査参加群で2,777人、不参加群で1,798人であった。治療開始時の母親の年齢や、不妊治療の適応、帝王切開の割合、児の性別や出生体重、在胎週数については有意差を認めなかった。一方で、治療内容については参加群と不参加群でやや違いが認められた。さらに、第1子における先天異常の割合は、参加群で1.07%だったのに対し、不参加群では2.60%と参加群で有意に少ない傾向を認めた（ $P=0.0001$ ）。なお、単胎のみで検討した場合も、ほぼ同様の結果が得られた。

児の性別や在胎週数、出生体重については、参加者と不参加者で大きな違いがなかったことから、これまでに検討してきたART児と不妊治療以外で出生した児の比較については、この選択バイアスが結果に与える影響は少ないと考えられた。さらに、交絡因子として考えられる母親の年齢に関しても、有意差を認めなかったことから、この点についても結果に与える影響は大きくないと考えられる。一方で、治療内容についてのバイアスが結果に与える影響については、治療に使用した受精卵の種類などとも関連することが考えられ、これまでに得られた結果を説明する場合に、考慮する必要があると思われる。しかし、第1子における先天異常の割合が調査参加者で有意に少ないなど、比較的周産期予後のよかった症例が参加している可能性もあり、今後の追跡などにおいても、結果の解釈を慎重に行う必要性が示唆された。

7) 乳児期における母体妊娠合併症及びART児の粗大運動発達の検討（橋本 圭司）

乳児期における母体妊娠合併症及びARTによる妊娠で生まれたART児の予後の指標として、粗大運動発達の経過を明らかにする。国立成育医療研究センターで妊娠・分娩管理を行った症例で同意を得た症例1,115名のうち、母体妊娠合併症・ART群410名とコントロール群396名を対象とした。純粋に母体要因による児の発達への影響を検討することを目的に、早産児、低出生体重児は対象から除外した。粗大運動の評価は、小児基本動作評価スケール（ABMS-C）を用い、母親への質問紙調査によって行った。粗大運動の評価は、乳幼児基本動作スケール（Ability for Basic Movement Scale for Children; ABMS-C）を用い、児の両親への質問紙調査によって行った。ABMS-Cは、日常の診療において、医師及び他のメディカルスタッフが、乳幼児の粗大運動の達成度を簡便に評価する方法で、評価項目は「頸部保持」「座位保持」「平面移動」「立位保持」「歩行」の5項目で、それぞれを0、1、2、3の4段階のグレードで評価する。各項目とも乳幼児がその時点で発揮できる最大限の能力によって評価点をつける。たとえば「平面移動」において、四つバイ・背バイができなくても、殿部を挙げて

の膝バイが可能であれば、「平面移動」のグレードは3となる。図1にABMS-Cを示した。統計ソフトは、IMB社製のPASW®Statistics 17.0を用いた。

ABMS-Cの評価結果では、月齢1カ月、3カ月、6カ月、9カ月、12カ月時の粗大運動発達は、両群間に有意差を認めなかった。(Mann-WhitneyのU検定; $p > 0.05$)。日本版DENVER II (デンバー発達判定法) においては、児の90%達成年月齢として、「首がすわる」3.9カ月、「支えなしにすわれる、5秒以上」8.1カ月、「寝返りをする」6.1カ月、「つかまり立ちをする、5秒以上」10.5カ月、「一人で立つ2秒」14.0カ月、「上手に歩く」17.4カ月などと記載されている。また、新版K式発達検査2001においては、「座位」で頭を直立安定が3~4カ月、「立位」でつかまらせて立ちが7~8カ月、つたい歩きが10~11カ月、一人立ちが11~12カ月が通過の目安となっている。本研究のコントロール群の粗大運動の達成時期がそれぞれ、「頸部保持」の首すわりが3~6カ月、「座位保持」のひとり座りが6~9カ月、「平面移動」の寝返りが6~9カ月、「立位保持」のつかまり立ちが6~9カ月、一人立ちが9~12カ月という結果であったこと、またコントロール群の12カ月の時点での「歩行」がつかまり歩きレベルであることは、既存の発達検査と一致しており、母親によるABMS-C評価の妥当性を示している。母体妊娠合併症及びART群の乳児では、コントロール群と比較して月齢1~12カ月時の頸部保持・座位保持…平面移動・立位保持・歩行などの粗大運動発達に有意差を認めなかった。

8) ARTの遺伝的安全性の検証：Prader-Willi症候群発症における生殖補助医療のリスク評価 (緒方 勤)

近年、ARTにおける遺伝的安全性が重要な課題として挙げられている。そして、種々のインプリンティング疾患の発症頻度が、生殖補助医療出生児において、一般集団よりも高いというデータが集積されつつあるが、これらのデータは、単純にその発症頻度を比較したのみであり、生殖補助医療に関連する交絡因子(両親因子や環境因子)を考慮した解析が必要である。これに関して、われわれは、昨年度、代表的インプリンティング疾患であるPrader-Willi症候群(PWS)患者を対象とする検討により、減数第一分裂時の不分離を介するtrisomy rescueタイプの15番染色体母性ダイソミー(UPD(15)mat)が、高齢出産により有意に増加していることを報告した。

本年度は、ART出生児13例を含むPWS患者138例を対象として、UPD(15)matの発症とART施行との関連について解析した。その結果、以下の成果が得られた。(1)全解析患者の発症原因:138例中、欠失が103例、減数第一分裂時の不分離によるUPD(15)matが19例、減数第二分裂時の不分離によるUPD(15)matが9例、精子の異常によるUPD(15)matが3例、エピ変異が2例において同定された。(2)ART出生児13例の発症原因:全例において排卵誘発(COS)がなされ、5例において減数第一分裂時の不分離によるUPD(15)matが、2例において減数第二分裂時の不分離によるUPD(15)matが見出された。通常、UPD(15)matはPWSの25%程度であることから、このUPD(15)matの発症頻度は、ART出生群において高かった。(3)PWS患者集団におけるART出生群と自然妊娠出生群間の出産年齢比較:出産年齢は、ART群、中央値38歳、範囲26-45歳で、自然妊娠群、

中央値31歳、19-42歳で、ART群において有意に高かった ($P=0.001$)。(4) PWS患者集団におけるART出生群と自然妊娠出生群間のTR/GC [M1] + TR/GC [M2] の発症頻度比較：ART出生患者では減数分裂後のTR/GCによるUPD (15) matの相対的頻度が有意に高かった ($P=0.004$)。母親出産年齢が29歳以上の時、母親年齢が1歳上昇することにTR/GC [M1] + TR/GC [M2] によるUPD (15) mat発症リスクが1.366倍に上昇していた ($P=3.1 \times 10^{-6}$)。一方、ARTの有無は、TR/GC [M1] + TR/GC [M2] 発症に有意な影響を与える因子ではなかった ($P=0.2$)。(4) PWS患者集団と一般集団におけるART出生児頻度の比較：本邦一般集団におけるART統計は、1989-2011年において存在する。1989-2011年にARTにより出生した児の頻度は、PWS患者集団において、一般集団より顕著に高かった ($P=4.3 \times 10^{-7}$)。しかし、出産時母親年齢は、一般集団に比しPWS群で有意に高年齢であった ($P=2.2 \times 10^{-16}$)。

以上の結果は、(1) 高齢出産を発症危険因子とするダイソミー陽性患者がART出生児において相対的に高くなっていること、(2) PWS患者群では、ART出生児におけるTR/GC [M1] + TR/GC [M2] の発症増加は、高齢出産で説明できること、(3) PWS患者群でART出生児頻度が高いのは、高齢出産の影響を強く受けているためであること、を示唆するデータである。したがって、症例数が少ないことから現時点では、明確な結論は導けないが、ARTに関連するUPD (15) matの増加には、高齢出産が関与すると推測される。

9) ARTのインプリンティング異常例などの遺伝的安全性の検討 (秦 健一郎)

ARTに伴う胚操作が、胚発生に与える影響の可能性は、様々な角度から繰り返し検証されている。最近、特殊な先天奇形症候群であるゲノムインプリンティング異常症の集団では、一般集団よりもARTにより出生した児が多く含まれる可能性を示唆する症例報告が散見される。モデル生物では、長期の胚培養などは胚のエピジェネティックな修飾を乱し、ゲノムインプリンティングをはじめ様々な遺伝子発現状態を変化させることが示されているが、ヒトでは因果関係が示されるに至っていない。そこで、ヒトART出生児のDNAメチル化状態を、特定領域（胎児胎盤の発生に重篤な影響を与えるゲノムインプリンティング領域）に限定せず広範に検証し、DNAメチル化状態（エピジェネティックな修飾状態）のばらつきを自然妊娠による出生群と統計的に比較し、ARTの遺伝的安全性を検討する。

本年度は、ARTで出生した群と自然妊娠で出生した群の臍帯血を用い、ほぼすべての遺伝子プロモーター領域を網羅した約47万か所のDNAメチル化定量解析を行った。事前情報なしにこれらのDNAメチル化値をクラスター解析すると、両群は別れず、外れ値を示す症例も検出されなかった。少なくともこれらの解析では、ARTで出生した児に明らかなDNAメチル化異常を見出すことはできなかった、すなわち、ARTに起因すると推測されるDNAメチル化の変化は見当たらなかった。ゲノムの多様性と同様に、エピゲノム状態にも多様性が存在する。また最近、遺伝的背景に起因するエピゲノム多様性の存在も明らかになってきた。次年度は、これらの症例の遺伝的背景も加味した更に詳細な解析を進める。

10) ARTのインプリンティング異常例などの遺伝的安全性の検討（有馬 隆博）

近年、ART技術の普及により、これまで非常に希少疾患として知られる先天性ゲノムインプリンティング異常症の発生頻度の増加が世界中で注目されている。これには、ARTが、ゲノムインプリンティングが確立、維持される時期の配偶子や受精卵を操作する事が原因であると推察されている。全国多施設共同研究により、Beckwith-Wiedemann 症候群（BWS）、Silver-Russell 症候群（SRS）は、体外受精（IVF）や顕微授精（ICSI）などの治療を受けた児にその発症頻度が約10倍高く、またDNAメチル化の異常（エピゲノム変異）を高頻度に起こすことを明らかにしてきた。今年度は、DNA多型を含む22領域のメチル化インプリント領域を同定し、ヒトメチル化インプリント領域のDNAメチル化の解析を正確に行い、メチル化異常のパターンについて分析した。その結果、ART治療を受けた患者では、86%（7例中6例）において、複数のインプリント領域で異常を認めた。これらの症例は全例、精子型と卵子型メチル化インプリンティングの両方に異常を認めた。また、同一症例で、高メチル化と低メチル化を示し、またその程度は、完全型ではなく、モザイク型を示す事が特徴にみられた。一方、非ART群においては、SRSでは3例（10例中）、BWSでは1例（6例中）のみ、複数領域にメチル化異常を示すことが判明した。これらの複雑なメチル化異常は、受精以降のプロセス（受精卵培養、凍結胚操作など）で異常が起こり、疾患を発症へと導いた可能性が高いと推察された。

2. ARTの標準化

1) 予後調査の問題点の抽出 ARTの品質管理（着床前遺伝子診断の安全性と出生児の予後調査） （末岡 浩）

生殖医療の新たな展開として重篤な遺伝病を対象に開始された着床前遺伝子診断（PGD）に関して、これまでに実施された施設による出生児の予後を含め、詳細な実態調査の実施が行われてこなかった。これに対し、平成23年4月～平成25年3月に厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）「生殖補助医療により生まれた児の長期予後の検証と生殖補助医療技術の標準化に関する研究（主任研究者：吉村泰典）」における分担研究として、「着床前遺伝子診断の安全性と出生児の予後調査」を行い、これまで日本で行われてきたPGDの実施状況の詳細を明らかにする作業を開始した。PGDについては、出生児の長期予後を含む、継続的な全国調査が必要であることから、今回の調査では、前回の調査項目をさらに精査し、修正を加え、平成24年10月1日から平成25年9月30日までに実施されたすべてのPGD実施症例のデータを集計し、現状の把握とともに問題点を抽出した。

前回の結果と同様、わが国におけるPGDの大部分は染色体均衡型転座保因者に対するPGDであり、単一遺伝子病などの重篤な遺伝性疾患に対するPGDを実施した施設は3施設であった。単一遺伝性疾患に対するPGDは、合計26採卵周期、23症例に対して施行された。この期間に実施されたPGDの対象

疾患としてはデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）、筋緊張性ジストロフィー（DM1）、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症（OTC）、福山型筋ジストロフィー（FCMD）、骨形成不全症（OI）、先天性表皮水疱症（CEB）の計6疾患であり、DMDおよびDM1がそれぞれ11症例、8症例であり、その他の疾患はすべて1症例であった。

転座保因者に対するPGDは、合計76採卵周期、46症例に対して施行された。対象疾患としてはロバートソン転座および相互転座保因者であり、それぞれ男性保因者と女性保因者に分けて比較した。採卵周期数および症例数は、相互転座女性保因者（33周期、22症例）と同男性保因者（34周期、19症例）は、ほぼ同数で、ロバートソン転座はすべて女性保因者（9周期、5症例）であった。今後PGDの適応については科学的な見地からも議論が必要と考えられた。PGDの実施施設と妊娠成立後の分娩施設が異なる事例が多く、児の長期予後も含めた、妊娠後のフォローアップを確立するシステムの構築が必要と考えられた。

2) 生殖医療の新たな枠組み構築 ～非配偶者間人工授精における告知と出自を知る権利に関する研究～ (久慈 直昭)

本研究では、第一に出自を知る権利を認める立法以前に非匿名での提供による治療を実施していたニュージーランドの歴史的な経緯と現状、第二に匿名性廃止以前の情報開示をすすめているオランダの経緯と現状を調査し、我が国においてAID出生者の提供者情報を得る権利を今後どのように扱っていくべきか、また匿名での提供で生まれたAID出生者に対する情報自主登録制やドナーリンクを実施する場合の課題について考察した。

ニュージーランドは、出自を知る権利を強制する法律が成立する以前から子どもが提供者に会うことが出来るシステムへの移行が、医療者やカウンセラーの努力によってという点で、非常に特殊な国である。この国のAIDに関係する法体系の変遷を見ると、まず1985年に発効したthe Adult Adoption Information Actという、養子が20歳に至ったときに元々の出生証明書と、生物学的な親の情報を得られる権利があるとした法律が成立し、これがAIDで生まれた子どもに提供者の情報を与えるという動きを大きく後押しした。さらに子どもの権利を強化するための法であるStatus of children actが1987年に改正され、AIDによって生まれた子どもの親子関係が、「不妊治療をしようとした夫が父であり、提供者は父ではない」と明確に規定されている。これらの法律の成立後、AID治療に於いてまず提供者に対して非匿名の提供を求める動きが強まり、1998年には不妊治療機関が匿名での提供は受け付けないと言う自主規制を始めている。これを追認する形で、2004年の法改正で出自を知る権利の明文化が完成したという。

オランダの経験からは、匿名でおこなわれたAIDによる出生者の情報自主登録機関は、登録者のDNA情報を長期にわたって管理したり、当事者を心理面や社会面から継続的にサポートすることが求められるが、そのためには安定かつ継続性のある資金調達が不可欠であり、運営資金をいかに長期にわ

たり安定的に調達できるかどうか、重要な課題であることが明らかになった。

結論として、ニュージーランドでの経験から、親子関係を確定する法整備が行われていれば、出自を知る権利を認める立法無しでも非匿名性の配偶子提供治療体系を構築出来る可能性が示された。オランダの経験からは、匿名性でおこなわれたAIDによって生まれた子どもに対する任意登録機関の運営には、これを安定して計測運営させるための経済的基盤が不可欠である事が示唆された。

3) 第三者の関与する生殖補助技術の調査と検討 (大須賀 穰)

生殖補助医療が進歩し、体外受精が可能になったことにより、多くの不妊症患者に大きな福音をもたらした。一方で、技術的には、第三者の卵子、子宮を使っての妊娠が可能となり、従来の倫理規範のみで一律に解決できない問題も発生した。具体的には、技術的にできることが即実践可能な医療となる訳ではなく、それにより派生する社会的倫理的問題点の検証、社会的な合意形成が必要となる。

2003年に既に厚生労働科学特別研究として「生殖補助医療技術に対する国民の意識に関する研究」を行っている。今回改めて、この内容を精査し、関連学会の見解などの現在の状況を再度整理することで、現在の生殖補助医療に対する国民の意識を把握するためにはどのようなことが必要となるかを検討した。調査では、一般国民を対象とした調査で、精子提供や卵子提供について必要性を認めるものの、現在行われている精子提供とは本質的に異なるとの意見が多かった。これらの意見は、当時の日本産科婦人科学会の見解に一致するものであった。一方で、昨今の生殖医療環境の変化により実際に生殖補助医療を受ける人の意識が変化している可能性が考えられる。

一般の人のみならず実際に生殖補助医療を受ける人の意識が重要と考えられる事から、今後改めて、無作為に大規模なデータ収集を行い、各年代の男女、不妊で悩んだ経験の有無などのクロスアナライシスを試み、第三者の関与する生殖補助医療についての意識に影響を与える因子を抽出することにより、卵子提供や代理懐胎などの第三者の関与する生殖補助医療に関して社会全体で考えることができるようなデータを提供する必要性があることが明らかとなった。

我が国におけるARTの実情と変化に対応したARTデータベースの構築

分担研究者 苛原 稔 徳島大学産科婦人科 教授
研究協力者 桑原 章 徳島大学産科婦人科 准教授

研究要旨

我が国における生殖補助医療（Assisted Reproductive Technology、ART）の現状を把握するため2011年の全国ART登録データベースを用いて、その現状と近年の変化を検討した。全国のART実施登録施設は586施設、治療報告施設は551施設であり、2011年の総治療周期数は269,659周期、総出生児数は32,426人、前年に比べて周期数が27,498周期増加し、出生児が3,482人増加していた。特に凍結融解胚移植により出生した児は前年に比べ3,451人増加しており、ART出生児の増加のほとんどは、凍結融解胚移植ART児の増加によるものであった。

凍結融解胚移植の実施数が増加し、成功率も上昇した結果、凍結融解胚移植に由来する妊娠・出産が増加し、2011年データではART出生児の69.2%が凍結融解胚移植周期に由来している。凍結融解胚移植周期が増加する理由としては、多胎妊娠予防を目的とした単一胚移植（SET）周期が普及したことに加えて、全ての胚を凍結し採卵した周期で胚移植を行わない全胚凍結周期が増加していることもあげられる。具体的に2011年データで解析すると、新鮮採卵周期で移植可能胚が得られた周期111,563周期のうち、46,492周期（42%）で全胚凍結が選択されていた。新鮮周期における治療の評価である妊娠率や生産率に、全胚移植周期の実施数も含まれるのが現状であり、全胚凍結が増加している現在、実施あたりの妊娠率や採卵あたりの生産率では、ARTの実体を把握できないことが懸念される。

ART治療を卵巣刺激治療や採卵手術による卵巣への侵襲としてとらえ、ART治療が与える卵巣機能への影響を検討するために、徳島大学病院で2012年7月～2013年12月の間にARTを行った症例の内、同意の得られた48例を対象に、ART治療前後でAMHを経時的に測定した。測定はAMH Gen ELISA kit（MBL社）を用いた。測定内誤差は3.07%、測定間誤差は11.1%であった。年齢や採卵数とAMH値に有意の相関を認めた。ART治療前後および次回ART治療前のAMH値に有意差は無く、卵巣刺激治療や採卵手術が卵巣機能に大きな影響を与える可能性は少ないことが明らかとなった。

A. 研究目的

我が国における生殖補助医療（ART）の現状を把握するため2011年のART登録データベースを用いて、その現状と近年の変化を検討した。

加齢に伴う卵巣機能の低下を把握するために、ART治療を行っている症例を対象として血中抗ミュラー管ホルモン（AMH）とART成績の関連性、加えて治療前後でのAMHの変動を検討した。

B. 研究方法

我が国におけるARTデータとして日本産科婦人科学会が公表している年次報告^{1,2)}に加えて、日産婦学会登録・調査小委員会の協力のもと2011年にARTを実施した全国のART実施施設から集められた症例個別データベースを対象に詳細な検討を行った。

ART実施症例における卵巣機能の現状とART治療による影響を検討するために、徳島大学病院で2012年7月～2013年12月の間にARTを行った症例の内、同意の得られた48例を対象に、ART治療のために採血された検体の余剰血清中のAMHを経時的に測定した。採血は各治療周期の卵巣刺激開始前に行い、ELISA(AMH Gen ELISA kit, MBL社)を用いてAMH値を測定した。測定内誤差は3.07%、測定間誤差は11.1%であった。

C. 研究結果と考察

【我が国のARTの特徴】

日本産科婦人科学会2013年の報告に

よると、全国のART実施登録施設は586施設（治療報告施設は551施設）、2011年の総治療周期数は269,659周期、総出生児数は32,426人であり（図1、図2）、前年に比べて周期数が27,498周期増加し、出生児が3,482人増加している（図3、図4）。なかでも凍結融解胚移植により出生した児の増加は顕著であり、前年に比べて3,451人の増加であり、出生児の増加はすなわち、凍結融解胚移植に由来するART児の増加によるものと言える。これは凍結融解胚移植実施数が図3で示されるように増えていることも理由であるが、一方で図5に示すように凍結融解胚移植における移植あたり妊娠率が高くなってきたことが理由として挙げられる。実施数が増え、成功率が上昇しているため、凍結融解胚移植による妊娠、出産は年々増加しており、2011年データで見ると、実にART出生児の69.2%が凍結融解胚移植周期で妊娠していることとなる。

凍結周期の実施数が増加している理由を考察すると、まず2008年の日本産科婦人科学会の多胎妊娠予防に関する見解の公表をきっかけに、それまでは緩やかに増加していた単一胚移植周期が増加したことがあげられる。図6に示すように各患者年齢における単胚移植（SET）実施率は年々増加しており、特に見解で35歳未満の若年者を対象に原則SETとしたことの影響が顕著となっている。SETを実施することで、結果的に凍結される胚の個数は増加する

こととなり、多胎妊娠が減少するとともに、新鮮移植で妊娠しなかった場合に実施される凍結融解胚移植周期が増加することとなっている。

一方、全ての胚を凍結して新鮮周期（採卵した周期）では胚移植を行わない手法（全胚凍結）によって、凍結融解胚移植が増加しているか否かを検討した。2011年の新鮮周期で採卵し受精卵を得た周期は134,532周期あったが、正常な受精ではない周期、胚が発育しなかった周期（移植中止周期）は22,966周期（17.1%）あった。残る111,563周期は移植可能胚が得られている。移植可能な胚がある周期をさらに、全胚凍結周期、移植と余剰胚の凍結を同時に行った周期（選択的新鮮胚移植周期）、新鮮胚移植を行ったが余剰胚は得られなかった周期（非選択的新鮮胚移植周期）の3群に分けると各々、46,492周期、24,846周期、40,225周期となり、3群の比率は42%、22%、36%であった。

余剰胚が得られない症例は妊娠率も低い症例であり、新鮮胚移植での妊娠率が低下する傾向にある理由の一つと考えられる。加えて、現在の統計では採卵のみを行って移植しない全胚移植周期も新鮮周期の実施あたりの妊娠率や採卵あたりの生産率では対象として計算に含まれることになり、全胚凍結が増加している現在、成功率として用いてきた実施あたりの妊娠率や採卵あたりの生産率が実体よりも低下することが懸念される。

【ART治療周期におけるAMH値の変化】

ART実施症例における卵巣機能の評価として現在、多くの施設で用いられている血中AMH値を徳島大学病院でARTを実施した48例で測定したところ、従来から指摘されているとおり、年齢とAMH値(図7)、採卵数とAMH値(図8)には有意の相関を認めた。ART治療を卵巣刺激治療や採卵手術による卵巣への侵襲としてとらえ、ART治療が与える卵巣機能への影響を検討する視点で、ART治療前後および次回ART治療前のAMH値を測定したところ、治療前後で有意の影響はないことが明らかであった(図9)。

D. 結論

我が国におけるARTの現状を把握するため2011年のART登録データベースを用いて、その現状と近年の変化を検討したところ、総治療周期数は269,659周期、総出生児数は32,426人で、前年に比べて27,498周期、3,482人増加していた。凍結融解胚移植実施数が増加し、凍結融解胚移植の成功率（移植あたり妊娠率）が高いため、ART出生児の69.2%は凍結融解胚移植周期に由来することが明らかとなった。多胎予防を目的とした単一胚移植周期が増加したことと、全胚凍結周期が増えていることが、凍結融解胚移植が増加している理由であった。全胚凍結が増加している現在、これまでARTの成績を評価する上で用いられてきた移植あたり

の妊娠率、実施あたりの妊娠率、採卵あたりの生産率では実体を正しく評価できないことが懸念された。

ART 治療を卵巣刺激治療や採卵手術による卵巣への侵襲としてとらえ、ART 治療が与える卵巣機能への影響を検討する目的で血中 AMH 値を測定したところ、年齢や採卵数と相関するものの、ART 治療前後で有意の影響はないことが明らかとなった。

E. 研究発表：なし

F. 知的財産権の出願・登録状況：なし

1. 斎藤英和、平成 24 年度倫理委員会・登録・調査小委員会、平成 24 年度倫理委員会 登録・調査小委員会報告 2011 年分の体外受精・胚移植等の臨床実施成績及び 2013 年 7 月における登録施設名. 日本産科婦人科学会雑誌, 2013. 65(9): 2083-2115.

2. 森崇英 日本産科婦人科学会理事会内委員会、平成元年度 生殖医学の登録に関する委員会報告. 日本産科婦人科学会雑誌, 1990. 42(4): 393-397.

ART治療周期数 2011

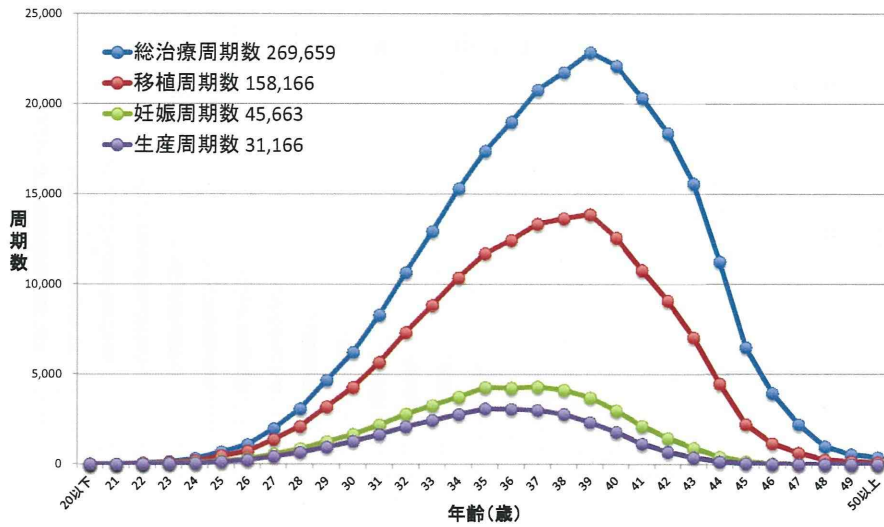


図1

ART妊娠率・生産率・流産率 2011

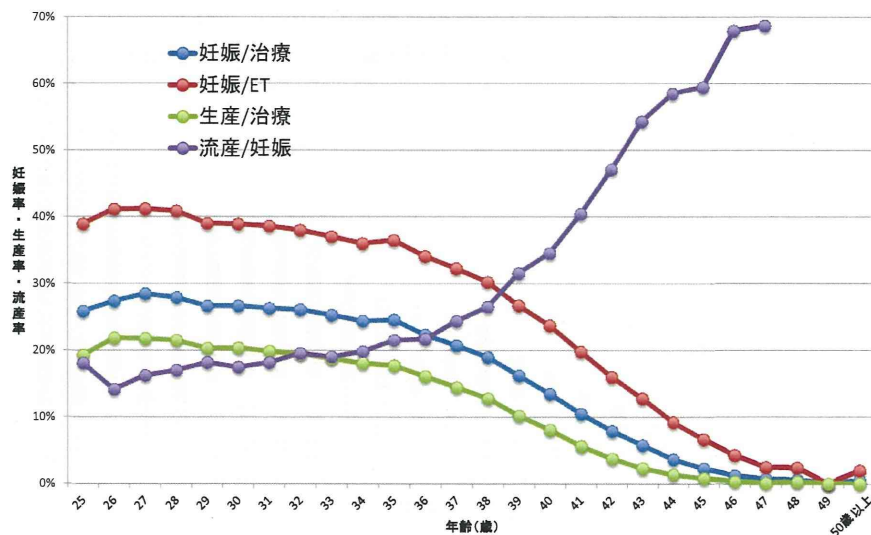


図2

年別 治療周期数

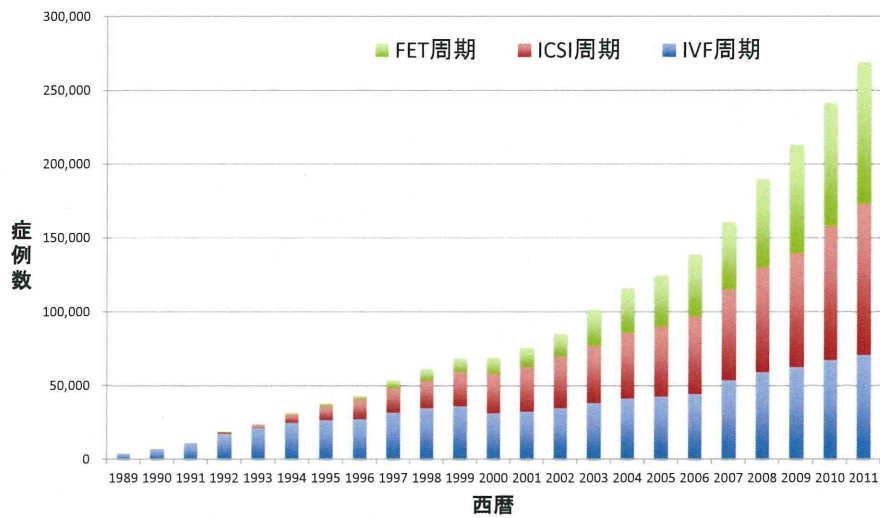


図3

年別 出生児数

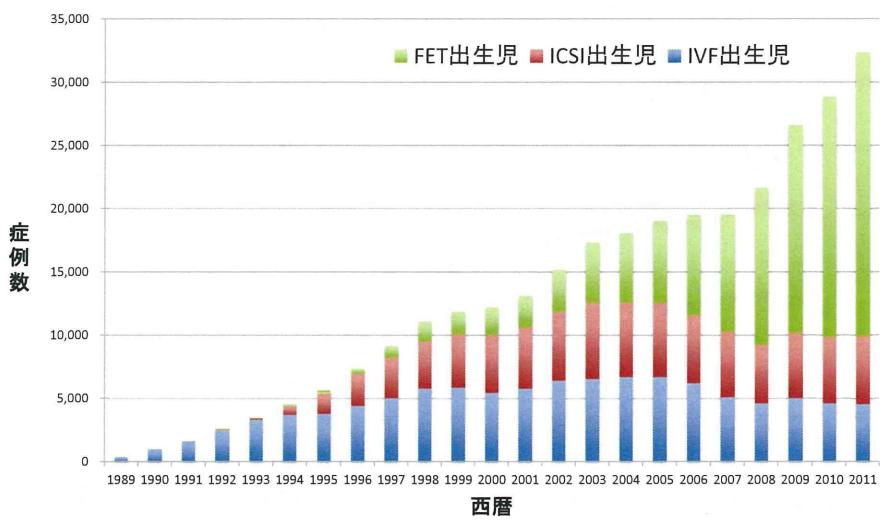


図4

年別 妊娠率・生産率

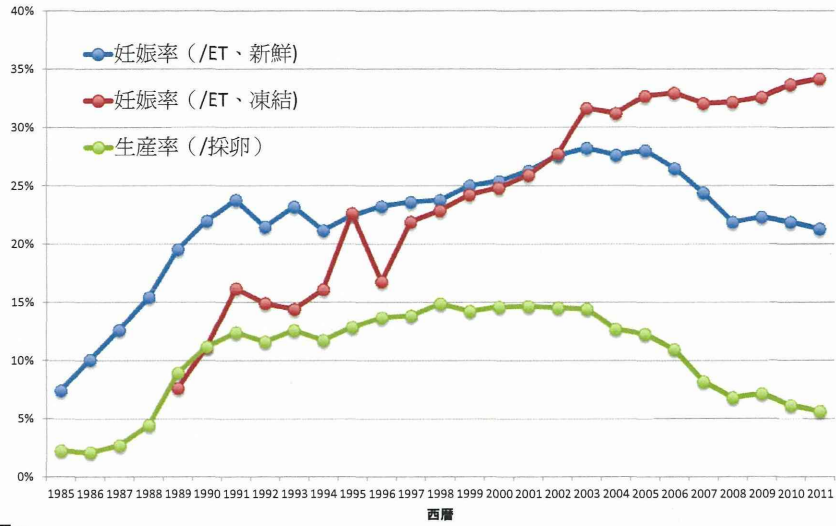


図5

SET実施率 5年間の比較(新鮮胚移植)

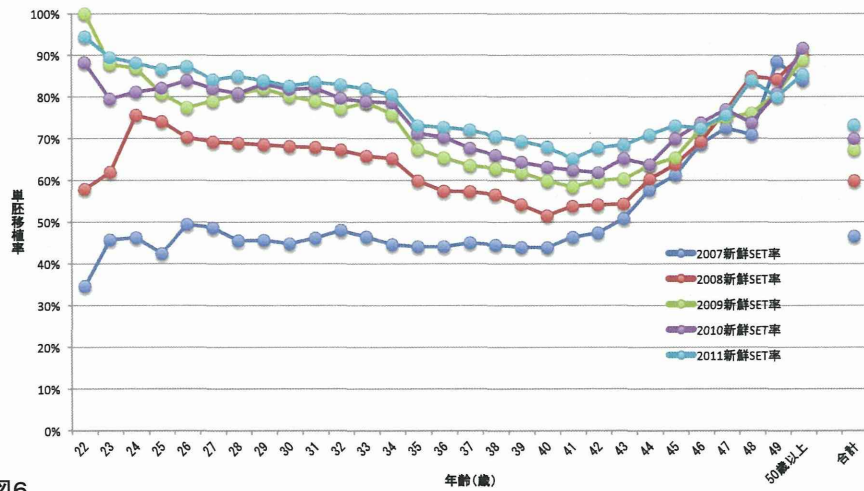


図6