

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

生殖医療ガイドラインの適切な運用と今後の改良に向けた研究（健やか次世代育成総合研究事業）

令和3年度～令和4年度 総括研究報告書

（資料2）次期ガイドライン改訂 クリニカルクエスション追加候補のエビデンス調査報告書

CQ 追加候補項目

(CQ 追加候補 - 1) 新鮮胚移植は行わず全胚凍結を行うべきかどうか。

生殖補助医療(assisted reproductive technology, ART)において、元来初回胚移植は新鮮胚移植で行われてきた。凍結融解方法が slow freezing より vitrification に移行し凍結融解の技術が向上したことで、胚生存率が上昇し凍結融解胚が一般的に行われるようになった。さらに、全胚凍結は controlled ovarian stimulation が子宮内膜におよぼす影響や、卵巣過剰刺激症候群(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)のリスクを低減すると考えられ、新鮮胚移植は行わず全胚凍結 (freeze all embryo, freeze all)を行いすべての胚移植を凍結融解胚移植で行うことが広がってきている。Freeze all のメリットとデメリットを評価し、採卵周期は全胚凍結あるいは新鮮胚移植のどちらを行うべきなのかを検討する必要がある。

凍結胚移植(新鮮胚移植は行わず全胚凍結)と新鮮胚移植を比較した 2021 年 Cochrane レビュー (1)では OHSS 発症リスクの観点からは freeze all が優れていると言えそうだが、治療成績の指標である cumulative live birth rate (CLBR)と cumulative ongoing pregnancy rate の観点からは同等であると考えられる。ただし症例を OHSS 発症リスク毎に分けた場合の治療成績の解析は Cochrane レビューではなされておらず、その後の報告からは OHSS ハイリスク群ではこれらの妊娠成績の指標が freeze all 群で優れている可能性がある。少なくとも freeze all を全症例に行うことを勧める理由はなさそうであるが、OHSS ハイリスク群など、freeze all を行うメリットのある集団を今後検討する必要があると考えられる。一方、周産期予後の観点について Cochrane レビューとその後の主だった報告の結果をまとめると、freeze all で妊娠中の高血圧疾患リスクが高くなる可能性、児の出生時体重が重くなる可能性があり、さらなる検討の必要がある。また最近 ART において妊娠成立に要する時間 (time to pregnancy)が指標として注目されてきているが、これについては fresh ET のほうが有利である可能性があり、今後の検討が待たれる。

以下に個々のアウトカムについて考察する。

* 2021 年 Cochrane レビューは 2020 年 9 月 23 日までの文献を対象としている。

卵巣過剰刺激症候群(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)

Cochrane(2021) (1) では、OHSS 発生リスクは 'freeze all' では 1%、conventional *in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection (conventional IVF/ICSI)では 3%で、freeze all で OHSS リスクは低下するかもしれないと報告されている[odds ratio (OR) 0.26, 95% confidence interval (CI) 0.17 to 0.39; I2 = 0%; 6 randomized controlled trials (RCTs), 4478 women; low-quality evidence]。ただし Cochrane では全ての OHSS(mild/moderate/severe)が含まれており、かつ、様々な OHSS リスクの人が含まれている。

Freeze all の初回 thaw embryo transfer (thaw ET)(n=307)と fresh embryo transfer (fresh ET)(n=309)を比較した前向きランダム研究(2, 3)では、全 OHSS の発症リスクに有意差はなかった[freeze 11(3.6%) vs fresh 25 (8.1%): relative risk (RR) 0.44 (0.18 to 1.10) Adjusted 0.44 (0.15 to 1.30, p=0.051)]。

Moderate/severe OHSS に限った報告では、freeze all と fresh ET でのリスクは一定していない。

Thaw ET(n=2627)と fresh ET(n=2703)を含め 11 論文のメタアナリシス(4)では、moderate/severe OHSS は thaw ET で低い(RR = 0.42; 95% CI: 0.19-0.96; I2 = 76%; P = 0.04)。

Frozen single embryo transfer (SET)(n=825)と fresh SET(n=825)を比較した前向きランダム研究(5)で、

moderate/severe OHSS は有意差がなかった [frozen 4/825 (0.5%) vs fresh 9/825(1.1%) RR 0.44 (0.14–1.44), p=0.16]。

抗ミュラー管ホルモン(anti-mullerian hormone, AMH) 0.88 ng/ml 以上を対象とした前向きランダム研究(6)で、freeze all して modified natural cycle で blastocyst SET した群(n=223)と、fresh blastocyst SET した群(n=230) (11mm 以上の卵胞 18 個以上で fresh-ET なし)では、fresh blastocyst SET 群に重症 OHSS 1 例を認めるのみだった。

一方で、OHSS ハイリスク群別かつ moderate/severe OHSS に限った検討では、採卵 11 個以上の fresh ET では moderate/severe OHSS が増加すると報告されている。つまり、freeze all(n=1,475)と fresh ET(n=2,523)をした人を対象とし、採卵数によって 4 グループに分けて検討した後ろ向きコホート研究(7)で、moderate/severe OHSS は fresh ET 群では採卵数 11–15 個、16–25 個で増加していた[採卵数 11–15 個 12/348 (3.4%) vs 0/460 (0%), p<0.001][採卵数 16–25 個 38/348 (10.9%) vs 3/625 (0.5%), p<0.001]。

Cumulative ongoing pregnancy rate (採卵あたりの ongoing pregnancy rate)

Cochrane(2021) (1)では'freeze all' と conventional IVF/ICSI で有意差なし(OR 0.95, 95% CI 0.75 to 1.19; I2 = 31%; 4 RCTs, 1245 women; moderate-quality evidence)。

freeze all (n=103)と conventional IVF/ICSI (n=102)を対象とした前向きランダム研究(8)では、freeze all 群で低く[freeze 19/103(19%) vs fresh 32 (31%), RR 0.59 (95% CI 0.36–0.98)p=0.036]、初回 ET での ongoing pregnancy rate は freeze all 群で低かった[freeze 8(8%) vs fresh 25 (25%), RR 0.32 (95% CI 0.15–0.68) P=0.001](thaw ET はホルモン補充周期)。ただし、この研究の妊娠反応陽性(hCG \geq 2 mIU/ml)は fresh ET 35/102 (35%)なのに対して freeze all 15/103(15%)と著明に低いので凍結技術が疑問である。

Live birth rate (LBR)

Cochrane(2021) (1)では'freeze all' と conventional IVF/ICSI とでは、初回の ET あたりの LBR は'freeze all' の方が高い(OR 1.17, 95% CI 1.06 to 1.28; 13 RCTs, 7766 women)。

しかし、freeze all の初回 thaw ET(n=307)と fresh ET(n=309)を比較した前向きランダム研究(2, 3)では、live birth episode 有意差を認めなかった[freeze 87(28.3%) vs fresh 106(34.3%), RR 0.83 (0.61 to 1.13), adjusted 0.83 (0.65 to 1.06), p=0.054]。

後ろ向き研究ではあるが OHSS ハイリスク群(AMH 高値や採卵数が多い)集団では freeze all 群の LBR が高いという報告があるため、OHSS ハイリスク群がどれぐらい含まれているのかで報告が変わるのかもしれない。

Fresh ET(n=13,503)と freeze all 初回 thaw ET(n=2,237)の後ろ向きコホート研究(9)で、predicted life birth rate は AMH 7 ng/ml 以上で、freeze 群で高くなると報告されている。

Freeze all(n=1,475)と fresh ET(n=2,523)をした人を対象とし、採卵数によって 4 グループに分けて検討した後ろ向きコホート研究(7)で、初回 ET での LBR は採卵数 11–15 個、16–25 個では freeze all 群で増加していた[採卵数 11–15 個 fresh 45.7% (59/348) vs freeze 58.3% (268/460), p<0.001][採卵数 16–25 個 fresh 46.3% (161/348)

vs freeze 58.2% (364/625), $p < 0.001$]

AMH 0.88 ng/ml 以上を対象とした前向きランダム研究(6)で、freeze all して modified natural cycle で blastocyst SET した群($n=223$)と、fresh blastocyst SET した群($n=230$)で比較すると、LBR に有意差はなかった[freeze all (27.4% (61/223) vs fresh ET 28.7% (66/230); RR 0.98, 95% CI 0.87 to 1.10, $P=0.83$)]

Cumulative live birth rate (採卵あたりの Live birth rate)(CLBR)

Cochrane(2021) (1) では、'freeze all' と conventional IVF/ICSI で CLBR は有意差なし(ほとんど変わらない) (OR 1.08, 95% CI 0.95 to 1.22; $I^2 = 0\%$; 8 RCTs, 4712 women; moderate-quality evidence) ('freeze all' 57-63% vs conventional IVF/ICSI 58%)。

Freeze all($n=1,475$)と fresh ET($n=2,523$)をした人を対象とし、採卵数によって 4 グループに分けて検討した後ろ向きコホート研究(7)で、CLBR は採卵数 11-15 個、16-25 個で freeze all 群で増加していた[採卵数 11-15 個 freeze 328/460 (71.3%) vs fresh 201/348 (57.8%), $p < 0.001$][採卵数 16-25 個 freeze 447/625 (71.5%) vs fresh 227/348 (65.2%), $p = 0.04$]。

妊娠中の高血圧疾患 Hypertensive disorder (Chronic hypertension, pregnancy-induced hypertension, pre-eclampsia, eclampsia)

Cochrane(2021) (1) では 'freeze all' と conventional IVF/ICSI の比較で 'freeze all' でリスク高い (OR 2.15, 95% CI 1.42 to 3.25; $I^2 = 29\%$; 3 RCTs, 3940 women; low-quality evidence)。

Freeze all の初回 thaw ET($n=307$)と fresh ET($n=309$)を比較した前向きランダム研究(2, 3)では、有意差がなかった[freeze 8(2.6%) vs fresh 7(2.3%), RR 1.15(0.31-4.28), $p=0.79$]。

Freeze SET($n=825$)と fresh SET($n=825$)を比較した前向きランダム研究(5)で、臨床妊娠あたりの pre-eclampsia が freeze SET で増加した[freeze 16/512 [3.1%] vs fresh 4/401(1.0%), RR 3.13, 95% CI 1.06-9.30, $p=0.029$]。

Freeze thaw ET($n=2,627$)と fresh ET($n=2,703$)を含め 11 論文のメタアナリシス(4)では、pregnancy-induced hypertension のリスクは 2 群で差がなかった (RR = 1.03; 95% CI: 0.48-2.18; $I^2 = 17\%$) が、pre-eclampsia は freeze thaw ET で増加していた (RR = 1.79; 95% CI: 1.03-3.09; $I^2 = 13\%$; $P=0.04$)。

Large-for-gestational age baby

Cochrane(2021) (1) では 'freeze all' と conventional IVF/ICSI の比較で 'freeze all' で多くなる (OR 1.96, 95% CI 1.51 to 2.55; $I^2 = 0\%$; 3 RCTs, 3940 women; low-quality evidence)。

Freeze SET($n=825$)と fresh SET($n=825$)を比較した前向きランダム研究(5)で、freeze SET で増加した[freeze 84/452(18.6%) vs 41/353(11.6%) RR 1.60(1.13-2.26) $p=0.0067$]。

一方で freeze all の初回 thaw ET($n=307$)と fresh ET($n=309$)を比較した前向きランダム研究(2, 3)では、large-for-gestational age に有意差はなく[freeze 9/307(2.9%) vs fresh 10/309(3.2%), RR 0.91 (0.28-2.90), $p=0.83$]、単胎分娩 with 正期産正常体重にも有意差がなかった[freeze 62(20.3%) vs fresh 75(24.4%), RR 0.83(0.62 to 1.12)

adjusted 0.84(0.62 to 1.15), p=0.28]。

出生時体重

Cochrane(2021) (1)では'freeze all'とconventional IVF/ICSIの比較で'freeze all'で重くなる(mean difference 127 g, 95% CI 77.1 to 177.8; I2 = 0%; 5 RCTs, 1607 singletons; moderate-quality evidence)。

AMH 0.88 ng/ml以上を対象とした前向きランダム研究(6)で、freeze allしてmodified natural cycleでblastocyst SETした群(n=223)と、fresh blastocyst SETした群(n=230)で比較すると、出生時体重はfreeze all群で重かった[3586g(SD610) 3117g(SD 641) p <0.001]。

Freeze all(n=1,475)とfresh ET(n=2,523)をした人を対象とし、採卵数によって4グループに分けて検討した後ろ向きコホート研究(7)で、出生時体重はfreeze all群で重かった[freeze all 3,201g vs fresh ET 3,064g (p<0.001)]。

Time to pregnancy

AMH 0.88 ng/ml以上を対象とした前向きランダム研究(6)で、freeze allしてmodified natural cycleでblastocyst SETした群(n=223)と、fresh blastocyst SETした群(n=230)で比較すると、freeze all群で長かった [(86 days, interquartile range 77–107) compared with the fresh transfer strategy group (28 days, interquartile range 27–30; P<0.001)]。

(参考文献)

1. Zaat T, Zegers M, Mol F, Goddijn M, van Wely M, Mastenbroek S. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021;2(2):CD011184.
2. Maheshwari A, Bell JL, Bhide P, Brison D, Child T, Chong HY, et al. Elective freezing of embryos versus fresh embryo transfer in IVF: a multicentre randomized controlled trial in the UK (E-Freeze). *Hum Reprod.* 2022;37(3):476–87.
3. Maheshwari A, Bari V, Bell JL, Bhattacharya S, Bhide P, Bowler U, et al. Transfer of thawed frozen embryo versus fresh embryo to improve the healthy baby rate in women undergoing IVF: the E-Freeze RCT. *Health Technol Assess.* 2022;26(25):1–142.
4. Roque M, Haahr T, Geber S, Esteves SC, Humaidan P. Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. *Hum Reprod Update.* 2019;25(1):2–14.
5. Wei D, Liu JY, Sun Y, Shi Y, Zhang B, Liu JQ, et al. Frozen versus fresh single blastocyst transfer in ovulatory women: a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2019;393(10178):1310–8.
6. Stormlund S, Sopa N, Zedeler A, Bogstad J, Praetorius L, Nielsen HS, et al. Freeze-all versus fresh blastocyst transfer strategy during in vitro fertilisation in women with regular menstrual cycles: multicentre randomised controlled trial. *BMJ.* 2020;370:m2519.
7. Boynukalin FK, Turgut NE, Gultomruk M, Ecemis S, Yarkiner Z, Findikli N, et al. Impact of elective frozen

vs. fresh embryo transfer strategies on cumulative live birth: Do deleterious effects still exist in normal & hyper responders? *PLoS One*. 2020;15(6):e0234481.

8. Wong KM, van Wely M, Verhoeve HR, Kaaijk EM, Mol F, van der Veen F, et al. Transfer of fresh or frozen embryos: a randomised controlled trial. *Hum Reprod*. 2021;36(4):998–1006.

9. Hu KL, Yang R, Xu H, Mol BW, Li R, Wang R. Anti-Mullerian hormone in guiding the selection of a freeze-all versus a fresh embryo transfer strategy: a cohort study. *J Assist Reprod Genet*. 2022;39(10):2325–33.

(CQ 追加候補 - 2) ART により出生した児の長期予後についての文献レビュー

1. はじめに

生殖補助医療(Assisted Reproductive Technology, ART)は、現在、不妊症治療において中心的な位置を占めており、全世界で年間約 300 万治療周期の治療が行われている。一部の国では、ART によって生まれた児が全出生数の8%を超える国もある(1)。日本においても、2020 年には 6 万人以上の児が ART により出生しており、全出生数の 7.2%を占めている(2)。

これだけ多くの児が ART によりに出生しているものの、ART によって出生した児の長期予後については不明な点が多く、現在まで、様々な疾患と ART 治療の関係について報告されている。今回、生殖医療ガイドラインの次回改訂に向け、ART で出生した児の長期予後について調査を行った。

2. 方法

PubMed(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)に収載された英語文献を対象に、2022 年 12 月に文献検索を行い、対象となる文献を検索した。検索式は、Medical Subject Headings(MeSH)を用いて作成し、以下の条件を満たすものとした。

<治療要因(下記のいずれかを含む)>

- 1) Assisted reproductive technology
- 2) In vitro fertilization (IVF)
- 3) Intracytoplasmic sperm injection (ICSI)
- 4) Embryo transfer

<児の成長段階(下記のいずれかを含む)>

- 1) Neonatal period
- 2) Infant period
- 3) Childhood
- 4) Adolescent

<除外対象>

- 1) Fertility preservation
- 2) Oocyte donation
- 3) Oncofertility
- 4) Uterine transplantation
- 5) Pregnancy outcome
- 6) Congenital anomaly
- 7) Obstetric outcome
- 8) Multiple birth
- 9) Preimplantation genetic testing

上記条件を満たす文献を検索するとともに、関連のある文献をハンドサーチし、対象文献に含めた。メタ解析を含むレビュー文献については対象文献には含めずに、代わりに考察で報告することとした。

3. 結果

文献検索の過程を図1に示す。検索式を用いてPubMedで検索した所、2,694の文献がヒットした。抽出した文献をタイトルおよびアブストラクトによるスクリーニングを行い、2580文献を除外した。またハンドサーチにより98文献を追加し、212文献を全文精査した。症例報告やstudy protocol、除外基準に当てはまる文献を除き、最終的に155文献をレビュー対象とした。

対象となる155文献のアウトカムのカテゴリー分類を図2に示す。最も多い研究はART後に生まれた児の発育・神経学的発達について評価したものであり、90文献(58%)を占めた。続いて精神疾患(17文献、11%)、生理機能(15文献、10%)、癌(11文献、7%)が続いた。以下、主要なアウトカムについて結果を記す。

3.1 発育・神経学的発達(90文献)

ARTで生まれた児の発育・神経学的発達について調査した90文献のうち、身長や体重等の発育について調査した研究が27文献、児の認知機能や行動、学業等の神経学的発達を調査した研究が63文献認められた。

3.1.1 児の発育について(27文献)

児の発育について調査した論文(27文献)における、調査対象としている児の年齢の分布を図3に示す。最も多く調査されていた年齢層は3-5歳および6-12歳(学童期)でありいずれも11文献認められた。ほとんどの文献は身長、体重、body mass index(BMI)のいずれかの指標について調査していたが(3, 4, 5, 6, 7, 8)、head circumference(HC)を調査しているものや(4, 9, 10)、思春期の児ではpubertal developmentを評価したもの(11, 12)も2文献認められた。また、児の代謝の指標である体脂肪率やskin fold thickness等の代謝関連の指標について調査したのも5文献認められた(9, 12, 13, 14, 15)。

主に調査している暴露要因では、IVF、ICSI、凍結融解胚移植(Frozen-thawed Embryo Transfer, FET)等のARTを調査しているものが19文献あり排卵誘発等の不妊治療全般(Medically Assisted Reproduction, MAR)を調査したものが4文献認められた(6, 8, 15, 16)。ARTについて調査している19文献の内、14文献は自然妊娠を比較対象としていたが、コントロール群がないものや(17, 18, 19)、national referenceを用いたもの(7)、不妊経験者を対象としている文献も1文献認められた(12)。対象群と比較して有意差を認めなかった文献は10文献あり、残る9文献はBMIや身長等のいずれかの指標で暴露群と対象群に有意差を認めた。

3.1.2 児の神経学的発達について(63文献)

神経学的発達を調査した論文63文献における、調査対象としている児の年齢の分布を図4に示す。最も多く調査されていた年齢層は、発育と同様に3-5歳(25文献)であり、続いて6-12歳(21文献)であった。調査内容は認知機能(cognitive function)や行動(behavior)を調査したものがほとんどであるが、用いられている評価尺度が様々であった。一方、学童期の児童では、学校での成績(school performance)を比較した文献が8文献認められた(20, 21, 22, 23, 24, 25, 26)。

主に評価している暴露要因は、IVF、ICSI、FET等のART全般を対象としているものが35文献であり、続いて

ICSIについて評価したものが10文献認められた(22, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35)。

ART全般を評価している35文献における比較対象として、最も多かったものは自然妊娠群であり、32文献であった。中には、MARを含めているものや(36)、不妊経験者、modified natural IVF等の異なる刺激法としている文献も認められた(37)。また、IVF妊娠における双胎を対象としたものや(38, 39, 40)、MARを対象としたもの(41, 42)、妊娠までの期間 (time to pregnancy, TTP)を評価したのも認められた(43, 44)。ART全般について評価している35文献のうち、19文献ではコントロール群と比較して有意差を認めず、6文献ではむしろARTにおいて比較対象よりも有意に良かった(24, 25, 26, 45, 46, 47)。一方、8文献では何らかの評価項目においてART後妊娠において、比較対象に比べ有意に低い結果であった(20, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54)。

3.2 精神疾患(17文献)

最も多く調査されていた疾患は自閉症(autism spectrum disorder)であり8文献認められた(55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62)。ART全体では自然妊娠と比較し有意差がないとする報告が多いものの(56, 59, 60, 61)、8文献中5文献でICSIや卵巣刺激等の何らかの治療要因と自閉症との有意な関連を報告していた(55, 57, 58, 59, 62)。

最もサンプルサイズの大きい研究は2013年にスウェーデンから報告されたpopulation-based studyであり(59)、1982年から2007年に生まれた児(250万人)を対象として(内30,959人がART後妊娠)自閉症のリスクを算出している。自閉症は自然妊娠と比較してART後妊娠では調整後リスク比(risk ratio, RR)が1.14(95%信頼区間(95% CI), 0.94-1.39)であり、単胎妊娠に限った解析においても有意なリスク上昇を認めなかった。一方、外科的精子採取によるICSIにおいて、IVFで生まれた児に比べ有意なリスク上昇を認めた(RR = 4.60, 95% CI, 2.14-9.88; 135.7 vs 29.3 per 100,000 person-years)。しかし、単胎妊娠に限った解析では、有意なリスク上昇は認めなかった(RR = 0.95, 95% CI, 0.13-7.09)。

2011年にデンマークから報告されたpopulation-based studyでは(62)、1995年から2003年に生まれた588,967人の児(内、ARTは33,139人)を対象として妊娠方法別の自閉症のリスクを算出している。ART後妊娠では0.68%の児が自閉症の診断であったのに対し、自然妊娠では0.61%であり、交絡因子(母親の年齢、教育歴、出産歴、喫煙、出生体重および複産)を調整した後のハザード比(hazard ratio, HR)は1.13(95% CI, 0.97-1.31)と有意なリスク上昇は認めなかった。一方、FSHを用いた刺激に限ったサブグループ解析では、自然妊娠に比べて有意に高いリスク上昇を認めた(adjusted HR = 1.44, 95% CI, 1.16-1.88)と報告している。

ICSIと自閉症との関連について、Kissinらは米国のNational ART Surveillance Systemと各種データベースをリンケージし、1997年から2006年にカリフォルニア州でART後に生まれた児(42,383名)の5年間のフォローアップデータを用いて解析結果を報告し、ICSI後妊娠では、IVF後妊娠と比べ、単胎妊娠(adjusted HR = 1.65, 95% CI, 1.08-2.52)、および多胎妊娠(adjusted HR = 1.71, 95% CI, 1.10-2.66)いずれにおいても自閉症のリスクが有意に高かったと報告している(58)。男性因子の有無で層別化した解析結果も報告しているが、男性因子に対して行われたICSIや、外科的精子採取によるICSIでは有意な上昇は認めず(adjusted HR = 1.23, 95% CI, 0.92-1.64)、一方男性因子がない場合のICSIにおいて有意なリスク上昇を認めた(adjusted HR = 1.57, 95% CI, 1.18-2.09)。その他に、原因不明不妊では、そうでない場合に比べ有意にリスクが低かった(adjusted HR = 0.38, 95% CI, 0.15-0.94)。男性因子に対するICSIにおいて自閉症のリスク上昇を認めなかった点については、前述のスウェーデンからの報告とは異なり(59)、サンプルサイズが小さいことを一つの理由としているが、今後さらなる検討が必要と記載している。

続いて多かった疾患は注意欠陥多動性障害(Attention-Deficit Hyperactivity Disorder, ADHD)であり、3文献

認められた(63, 64, 65)。全体では 2 文献が有意に ART 後に生まれた児においてリスクが高かった報告しており、1 文献ではリスク上昇を認めなかったと報告している。

最新の報告は 2022 年のカナダからの報告であり、2006 年から 2014 年にかけてオンタリオ州で生まれた 4 歳以上の児を対象とした population-based study である($n = 925,488$)。平均のフォローアップ期間 6 年において、自然妊娠に比べ、不妊経験群(治療なし)で adjusted HR = 1.19, 95% CI, 1.16–1.22、排卵誘発/IUI 群(adjusted HR = 1.09, 95% CI, 1.01–1.17)、IVF/ICSI 群(adjusted HR = 1.12, 95% CI, 1.04–1.22)いずれにおいても有意なリスク上昇を認め、不妊治療の有無にかかわらず不妊症そのものが児の ADHD リスク上昇と関連していることが示唆された(63)。

一方、スウェーデンの national register を用いた 1,600 万人を超える児(1986–2012 年生まれ)を対象とした検討では、ART 後に生まれた児では、それ以外で生まれた児に比較して ADHD リスクはむしろ低下する傾向にあった(crude HR = 0.83, 95% CI, 0.80–0.87)。同研究では、ICSI/IVF、新鮮胚移植/FET 別でリスクの違いがないかも検討しており、いずれにおいても有意なリスク上昇は認めなかった(64)。

3.3 生理機能について(15 文献)

生まれた児の生理学的指標を評価した文献は 15 文献認められた。そのうち最も多く調べられていたアウトカムは児の血圧であり、6 文献あった(66, 67, 68, 69, 70, 71)。

ART で生まれてきた児の血圧を調査した 6 つの報告のうち、5 文献では ART で生まれた児の血圧が、自然妊娠で生まれた児に比べて有意に高かったことを報告している(66, 67, 69, 70, 71)。最も初期の報告は 2008 年のオランダの研究で、8–18 歳の ART 後妊娠(225 名)と年齢と性別を調整した同数のコントロールの血圧値を比較した論文であり、収縮期・拡張期血圧ともに ART 後に生まれた児において高値であった(109 ± 11 vs. 105 ± 10 mmHg, $P < 0.001$; and 61 ± 7 vs. 59 ± 7 mmHg, $P < 0.001$)。

最新の報告は 2021 年に中国から報告された研究であり、386 名の 6–10 歳の ART 後妊娠と、年齢と性別をマッチさせた同数のコントロールにおいて、血圧とともに心エコーによる心機能の評価がおこなわれている。ART 後に生まれた児では、自然妊娠後の児に比べ、身長と BMI が有意に高く、血圧も前出の研究同様に有意に高かった(mean [SD] systolic blood pressure, 105.5 [6.9] mmHg vs 103.5 [8.4] mmHg; adjusted $P < 0.001$; mean [SD] diastolic blood pressure, 67.2 [5.6] mmHg vs 62.2 [6.3] mmHg; adjusted $P < 0.001$)。同研究では、エコーを用いて心機能についても評価しており、左室の収縮不全(mean [SD] left ventricular ejection fraction, 64.61% [3.20%] vs 66.70% [3.89%]; adjusted $P < 0.001$)、拡張不全や左室の過形成の頻度が高かった(67)。ART 後の胎児や小児期における心機能の異常は他にも報告されており(72, 73)、こうした ART 後妊娠の児における cardiac remodeling の要因として、1) 排卵誘発にともなう高エストロゲン環境によるエピジェネティックな影響や 2) 胎児への妊娠期の酸化ストレス、3) 生まれた児の脂質や糖代謝異常が寄与している可能性が示唆されている。

3.4 小児期の癌のリスクについて(11 文献)

ART で有意に小児期の癌のリスクが上昇するという報告は 4 文献(74, 75, 76, 77)、有意差なしとする文献が 6 文献(78, 79, 80, 81, 82, 83)、一部の癌種で有意差ありとする報告を 1 文献認められた(84)。有意差があると報告した研究においても、ART と比較対象とのリスク差はわずかであり、リスク上昇の程度はごく軽度と結論づけているものがほとんどであった。以下に代表的なものを示す。

Hargreave らはデンマークの population-based registry data を用いて、1996 年から 2012 年に生まれた児

(1,085,172 人)を対象とし、使用された薬と ART の各種治療技術別の癌のリスクを自然妊娠後に生まれた児と比較して算出している(77)。自然妊娠後の児における癌のリスクは 1 万人あたり 17.5 人であったのに対し、FET 後に生まれた児においてのみ、癌の発生率が 10 万人あたり 44.4 人と有意なリスク上昇を報告している(FET 後の癌は 14 例、adjusted HR = 2.43, 95% CI, 1.44–4.11)、リスク上昇の主な癌種は白血病(5 例、adjusted HR = 2.87, 95% CI, 1.19–6.93)であった。

2019 年に報告された米国の registry data を用いた報告では、ART では自然妊娠に比べて癌のリスクがわずかに高く(adjusted HR = 1.17, 95% CI, 1.00–1.36)、主なリスク上昇の癌腫は肝がん(100 万人あたり 18.1 vs. 5.7, adjusted HR = 2.46, 95% CI, 1.29–4.70)であった。同報告では FET と新鮮胚移植を比較して有意なリスクの上昇は認めなかった(76)。

William らは 1992 年から 2008 年に英国で ART により生まれた児(106,013 人)を対象に 15 歳までに発症した癌との関連を検討している(84)。108 例の癌が認められ、想定された癌の発生率と比べ全体では明らかになりリスク上昇を認めなかった(standardized incidence ratio = 0.98, 95% CI, 0.81–1.19)。一方、肝芽腫(standardized incidence ratio = 3.64, 95% CI, 1.34–7.93, absolute risk difference = 6.21 cases per 100 万人年)、横紋筋肉腫(standardized incidence ratio = 2.62, 95% CI, 1.26–4.82, absolute risk difference = 8.82 cases per 100 万人年)において有意なリスク上昇を認めた(84)。

3.5 その他(児の生殖機能について)

ART 後に生まれた児の生殖機能について調べた研究は2報あり、いずれも ART 後に生まれた男児における精液所見について報告しており両者の結果は異なっている(85, 86)。

2016 年にベルギーで行われた 56 人の ICSI 後の男性(18–22 歳)の精液検査所見を、57 名の自然妊娠後の男性と比較し、有意に精子数が少なく($17.7 \times 10^6/\text{mL}$ vs. $37.0 \times 10^6/\text{ml}$)、総運動精子数(12.7×10^6 vs. 38.6×10^6)も少なかった。交絡因子(年齢、BMI、泌尿生殖器系の先天異常の有無、禁欲期間、射出から検査までの時間)を調整後も有意差を認め、ICSI により出生した男児では有意に WHO(2010 年)の基準である 15 万/mL を下回るリスクが高かった(adjusted odds ratio (OR) 2.7; 95% CI 1.1–6.7)。

他方の研究は 2022 年にオーストラリアから報告された研究であり(86)、120 名の ICSI 後の男性(18–25 歳)と 356 名の自然妊娠後の男性の精液所見を比較している。主要評価項目は重度乏精子症(精子濃度 $< 5 \times 10^6/\text{mL}$)としており、両群で有意な有病率の差は認めなかった(9.0% vs. 5.3%)、精子濃度、総精子数、総運動精子数についても両群で有意差は認めなかったが、前進運動精子率(progressive motility) (adjusted coefficient, -9.9; 95% CI, -16.7–3.0)が有意に低く、一方で、正常な形態を有する精子の割合は ICSI 後の男性において有意に高かった。前述のベルギーの報告と異なる結果の理由として、研究参加の際の選択バイアスや、コントロールの選定の問題(ベルギーの研究では、ICSI 群の友人がコントロールとしてリクルートされている)、高い泌尿・生殖器系の先天異常割合(ICSI 群で 14.8%、コントロール群で 10.7%)を挙げている。

4. 考察

上記結果をふまえた上で、過去のシステマティックレビューの結果について以下に記載していく。

4.1 発育および神経学的発達について

ART 後に生まれた児の発育についてのシステマティックレビューは 2019 年に報告されている(87)。Bay らは

IVF または ICSI 後に生まれた単胎児の身長と体重を、自然妊娠と比較した文献を検索し、13 文献のメタ解析を行なった。3,972 人の ART 後に生まれた児と 11,012 人の自然妊娠後の児を比較し、全体として体重に有意差は認めなかったものの (mean difference (MD) in weight of -160 g; 95% -360-3)、5 歳未満の児では有意に ART 群で自然妊娠群と比較し体重が少なく (MD -180 g; 95% CI -320-4)、一方 5 歳以降では有意差を認めなかった (MD -160 g; 95% CI -580-260) と報告している。

神経学的発達についてのシステマティックレビューについては、いくつか報告されているものの (88, 89, 90, 91)、いずれの報告においても評価尺度が異なることに起因する heterogeneity のため、メタ解析までは行われていない。

2017 年に報告された ART で生まれた児の神経学的発達について評価した文献のシステマティックレビューでは、レビュー対象となった 35 文献の中から high quality と判断された 7 文献についての結果を報告している (89)。IVF で生まれた児では自然妊娠と比べ神経学的な発達にいずれの文献においても差を認めなかった。一方 ICSI で生まれた児では、自然妊娠と比較した 3 つの文献の内 1 つにおいて、児の知能指数が有意に低かったことを報告しており (92)、さらに ICSI と IVF で生まれた児を比較した 3 文献において、1 文献では ICSI 後では有意に精神発達遅滞の割合が多かったことを報告している (59)。その後のシステマティックレビューでは、ICSI と IVF を比較したもの (90) や自然妊娠と比較したもの (88) がそれぞれ 2017 年と 2018 年に報告されているが、以降は報告されていない。

4.2 精神疾患について

ART と自閉症のリスクについて調査したシステマティックレビューはこれまでに 6 報報告されている (93, 94, 95, 96, 97, 98)。最近のレビューでは、2020 年末までに出版された 18 報告についてメタ解析を行い、ART 後妊娠と自閉症には有意な関連性を認めなかったと報告している (OR = 1.04, 95% CI: 0.88-1.21) (97)。一つのレビューでは (95)、ICSI と自閉症のリスクについてもメタ解析を行っているが、前述の 2 報 (58, 59) のみのメタ解析で、IVF 後の児に比べ、ICSI 後の児では pooled OR = 1.49 (95% CI, 1.05-2.11) と有意にリスクが高かったことを報告している。

ADHD についてはこれまで 3 報のみの報告であり、システマティックレビュー文献は認めなかった。

4.3 生理機能について

ART 後に生まれた児と自然妊娠後の血圧について検討したシステマティックレビューは 2017 年に 1 報のみ報告されている (99)。Guo らは ART で生まれた児の血圧について調べた 10 報告 (872 名の ART 後妊娠と 3,034 名の自然妊娠) のメタ解析を行い、ART 後の児では収縮期 (1.88 mm Hg, 95% CI, 0.27-3.49) および拡張期血圧 (1.52 mm Hg, 95% CI, 0.34-2.70) とともに有意に ART 後の児で高かったと報告している。同報告では、心エコーによる心機能の評価を行った 5 文献 (402 名の ART 後妊娠と 382 名の自然妊娠) についてもレビューを行い、ART 後妊娠では自然妊娠に比べ、一貫して心機能がコントロール群に比べ標準以下であったと報告している。

4.4 癌について

ART 後の児における癌のリスクについて検討したシステマティックレビューは 3 報認めた (100, 101, 102)。最新のものは 2020 年に報告されており、11 のケース・コントロール研究と 16 のコホート研究をレビューし、各種 ART 治療技術別にメタ解析を行っている。IVF 後の児では、ケース・コントロール研究 (RR = 1.09, 95% CI, 0.74-1.58)

およびコホート研究(RR = 1.01, 95% CI, 0.80-1.28)いずれにおいても有意なリスク上昇は認めなかった。ICSI や 排卵誘発等についても検討を行い、自然妊娠と比較し有意な上昇はみとめなかったと報告している。同報告では、FET で生まれた児においてのみ、自然妊娠に比べ癌のリスクの有意な上昇を認めた(RR = 1.37, 95% CI, 1.04-1.81)。

一方、2019 年に報告されたシステマティックレビューでは、ART 後妊娠での有意なリスク上昇を報告している(101)。同報告は 16 のコホート研究と 13 のケース・コントロール研究をメタ解析し、全癌で有意なリスク上昇を認め、(RR: 1.16, 95% CI, 1.01-1.32)、癌腫別のメタ解析においても、血液がん(RR: 1.39, 95% CI, 1.21-1.60)、神経系を除くその他の固形癌(RR: 1.57, 95% CI, 1.14-2.16)でリスク上昇を認めた。

4.5 本報告の限界

本報告の限界を以下に述べる。今回、生殖医療ガイドライン収載にむけて、ART で生まれた児の長期予後について特定のアウトカムを設定せずに網羅的に調査した。そのため PubMed での検索結果がタイトルとアブストラクトによるスクリーニングが現実的ではないほど膨大になってしまったため、対象をコホート研究とし、いくつかの除外基準を設定せざるを得なかった。そのため本報告では、ケース・コントロール研究についてはその多くが除かれている可能性があり、また着床前遺伝学的検査や妊孕性温存等の目的で ART を実施したの特定のポピュレーションについても今回の検索対象から外れているため、注意が必要である。すべての報告を網羅することは事実上困難であるが、本報告ではそれぞれの疾患について現在までの程度報告があるか、システマティックレビューも含めて検討しており、これらの報告を踏まえ、今後特定のアウトカムに絞った上で、システマティックレビューおよびメタ解析を行うことが望ましいと考えられる。

今回調査した疾患で報告の多い疾患は自閉症、癌についてであり、これらについてはシステマティックレビューも複数報告されていた。しかし、癌についてのシステマティックレビューでは、近年報告されている2報においても結果が異なっており(101, 102)、エビデンスとして確立したものというには十分とはいえない。またいずれの疾患も有病率は非常に低く、たとえリスクが上昇したとしても、ART と比較対象とのリスク差はわずかであり、リスク上昇の程度はごく軽度と結論づけているものがほとんどであった。この点については、ART で生まれた児の長期予後について説明・解釈する際には大変重要な点であると思われる。

5. まとめ

今回、PubMed を対象に検索式を用いて ART で生まれた児の長期予後について調査を行った。疾病では自閉症や癌等で報告が多い傾向にあり、システマティックレビューも複数報告されていた。しかし、いずれの疾患においてもエビデンスとして十分に集積されているとは言い難く、今後さらなる研究の集積によって既存のシステマティックレビューとは結果が異なってくる可能性も十分に考えられる。また、どの疾患も有病率は非常に低いため、たとえリスクが上昇していたとしても、比較対象とのリスク差はわずかでありリスク上昇の程度はごく僅かである点についても留意する必要がある。本報告を踏まえ、今後特定の疾患に対するシステマティックレビューが必要であると考えられる。

6. 参考文献

1. Chambers GM, Dyer S, Zegers-Hochschild F, de Mouzon J, Ishihara O, Banker M, et al. International

Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: assisted reproductive technology, 2014dagger. *Hum Reprod.* 2021;36(11):2921–34.

2. Katagiri Y, Jwa SC, Kuwahara A, Iwasa T, Ono M, Kato K, et al. Assisted reproductive technology in Japan: A summary report for 2020 by the ethics Committee of the Japan Society of obstetrics and gynecology. *Reprod Med Biol.* 2023;22(1):e12494.
3. Elhakeem A, Taylor AE, Inskip HM, Huang J, Tafflet M, Vinther JL, et al. Association of Assisted Reproductive Technology With Offspring Growth and Adiposity From Infancy to Early Adulthood. *JAMA Netw Open.* 2022;5(7):e2222106.
4. Wennerholm UB, Albertsson-Wikland K, Bergh C, Hamberger L, Niklasson A, Nilsson L, et al. Postnatal growth and health in children born after cryopreservation as embryos. *Lancet.* 1998;351(9109):1085–90.
5. Basatemur E, Shevlin M, Sutcliffe A. Growth of children conceived by IVF and ICSI up to 12 years of age. *Reprod Biomed Online.* 2010;20(1):144–9.
6. Hinchely Ebdrup N, Hohwu L, Bay B, Obel C, Knudsen UB, Kesmodel US. Long-term growth in offspring of infertile parents: A 20-year follow-up study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2021;100(10):1849–57.
7. Takeshige Y, Takahashi M, Hashimoto T, Kyono K. Six-year follow-up of children born from vitrified oocytes. *Reprod Biomed Online.* 2021;42(3):564–71.
8. Yeung EH, Sundaram R, Bell EM, Druschel C, Kus C, Xie Y, et al. Infertility treatment and children's longitudinal growth between birth and 3 years of age. *Hum Reprod.* 2016;31(7):1621–8.
9. Kai CM, Main KM, Andersen AN, Loft A, Chellakooty M, Skakkebaek NE, et al. Serum insulin-like growth factor-I (IGF-I) and growth in children born after assisted reproduction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(11):4352–60.
10. Fallah R, Jalalian MT, Golestan M, Dehghani-Firouzabadi R. Comparison of growth parameters of 5-year-old singleton children born in assisted versus natural conception. *Ann Acad Med Singap.* 2013;42(2):80–4.
11. Ernst A, Lauridsen LLB, Brix N, Arah OA, Olsen J, Olsen LH, et al. Parental time to pregnancy, medically assisted reproduction and pubertal development in boys and girls. *Hum Reprod.* 2019;34(4):724–32.
12. Ceelen M, van Weissenbruch MM, Vermeiden JP, van Leeuwen FE, Delemarre-van de Waal HA. Pubertal development in children and adolescents born after IVF and spontaneous conception. *Hum Reprod.* 2008;23(12):2791–8.
13. Belva F, Painter R, Bonduelle M, Roelants M, Devroey P, De Schepper J. Are ICSI adolescents at risk for increased adiposity? *Hum Reprod.* 2012;27(1):257–64.
14. Zandstra H, Brentjens L, Spauwen B, Touwslager RNH, Bons JAP, Mulder AL, et al. Association of culture medium with growth, weight and cardiovascular development of IVF children at the age of 9 years. *Hum Reprod.* 2018;33(9):1645–56.
15. Mintjens S, Menting MD, Gemke R, van Poppel MNM, van Wely M, Bensdorp AJ, et al. The effects of intrauterine insemination and single embryo transfer or modified natural cycle in vitro fertilization on offspring's health—Follow-up of a randomized clinical trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2019;242:131–8.
16. Makhoul IR, Tamir A, Bader D, Rotschild A, Weintraub Z, Yurman S, et al. In vitro fertilisation and use of ovulation enhancers may both influence childhood height in very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*

Ed. 2009;94(5):F355–9.

17. Olivennes F, Kerbrat V, Rufat P, Blanchet V, Fanchin R, Frydman R. Follow-up of a cohort of 422 children aged 6 to 13 years conceived by in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1997;67(2):284–9.
18. Pruksananonda C, Israsena T, Boonkasemsanti W, Virutamasen P. Growth and development of infants conceived by in vitro fertilization: a preliminary report. *J Med Assoc Thai*. 1993;76(2):93–7.
19. Olivennes F, Schneider Z, Remy V, Blanchet V, Kerbrat V, Fanchin R, et al. Perinatal outcome and follow-up of 82 children aged 1–9 years old conceived from cryopreserved embryos. *Hum Reprod*. 1996;11(7):1565–8.
20. Spangmose AL, Malchau SS, Schmidt L, Vassard D, Rasmussen S, Loft A, et al. Academic performance in adolescents born after ART—a nationwide registry-based cohort study. *Hum Reprod*. 2017;32(2):447–56.
21. Spangmose AL, Malchau SS, Henningsen AA, Forman JL, Rasmussen S, Loft A, et al. Academic performance in adolescents aged 15–16 years born after frozen embryo transfer compared with fresh embryo transfer: a nationwide registry-based cohort study. *BJOG*. 2019;126(2):261–9.
22. Norrman E, Petzold M, Bergh C, Wennerholm UB. School performance in children born after ICSI. *Hum Reprod*. 2020;35(2):340–54.
23. Al-Hathlol K, Al-Obaid OM, Al-Gholaiqa TS, Al-Hathlol B, Abdulaal AE, Al-Hajress RI, et al. School performance and long-term outcomes of very preterm children conceived via in vitro fertilization. *JBRA Assist Reprod*. 2020;24(1):61–5.
24. Mains L, Zimmerman M, Blaine J, Stegmann B, Sparks A, Ansley T, et al. Achievement test performance in children conceived by IVF. *Hum Reprod*. 2010;25(10):2605–11.
25. Luke B, Brown MB, Ethen MK, Canfield MA, Watkins S, Wantman E, et al. Third grade academic achievement among children conceived with the use of in vitro fertilization: a population-based study in Texas. *Fertil Steril*. 2020;113(6):1242–50 e4.
26. Luke B, Brown MB, Ethen MK, Canfield MA, Watkins S, Wantman E, et al. Sixth grade academic achievement among children conceived with IVF: a population-based study in Texas, USA. *J Assist Reprod Genet*. 2021;38(6):1481–92.
27. Papaligoura Z, Panopoulou-Maratou O, Solman M, Arvaniti K, Sarafidou J. Cognitive development of 12 month old Greek infants conceived after ICSI and the effects of the method on their parents. *Hum Reprod*. 2004;19(6):1488–93.
28. Sutcliffe AG, Saunders K, McLachlan R, Taylor B, Edwards P, Grudzinskas G, et al. A retrospective case-control study of developmental and other outcomes in a cohort of Australian children conceived by intracytoplasmic sperm injection compared with a similar group in the United Kingdom. *Fertil Steril*. 2003;79(3):512–6.
29. Tanaka A, Suzuki K, Nagayoshi M, Tanaka A, Takemoto Y, Watanabe S, et al. Ninety babies born after round spermatid injection into oocytes: survey of their development from fertilization to 2 years of age. *Fertil Steril*. 2018;110(3):443–51.
30. Bonduelle M, Ponjaert I, Steirteghem AV, Derde MP, Devroey P, Liebaers I. Developmental outcome at 2 years of age for children born after ICSI compared with children born after IVF. *Hum Reprod*. 2003;18(2):342–50.
31. Barnes J, Sutcliffe AG, Kristoffersen I, Loft A, Wennerholm U, Tarlatzis BC, et al. The influence of assisted reproduction on family functioning and children's socio-emotional development: results from a European study. *Hum*

Reprod. 2004;19(6):1480–7.

32. Meijerink AM, Ramos L, Janssen AJ, Maas-van Schaaijk NM, Meissner A, Repping S, et al. Behavioral, cognitive, and motor performance and physical development of five-year-old children who were born after intracytoplasmic sperm injection with the use of testicular sperm. *Fertil Steril.* 2016;106(7):1673–82 e5.
33. Ponjaert-Kristoffersen I, Tjus T, Nekkebroeck J, Squires J, Verte D, Heimann M, et al. Psychological follow-up study of 5-year-old ICSI children. *Hum Reprod.* 2004;19(12):2791–7.
34. Place I, Englert Y. A prospective longitudinal study of the physical, psychomotor, and intellectual development of singleton children up to 5 years who were conceived by intracytoplasmic sperm injection compared with children conceived spontaneously and by in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2003;80(6):1388–97.
35. Leunens L, Celestin-Westreich S, Bonduelle M, Liebaers I, Ponjaert-Kristoffersen I. Cognitive and motor development of 8-year-old children born after ICSI compared to spontaneously conceived children. *Hum Reprod.* 2006;21(11):2922–9.
36. Raoul-Duval A, Bertrand-Servais M, Letur-Konirsch H, Frydman R. Psychological follow-up of children born after in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1994;9(6):1097–101.
37. Schendelaar P, Heineman KR, Heineman MJ, Jongbloed-Pereboom M, La Bastide-Van Gemert S, Middelburg KJ, et al. Movement variation in infants born following IVF/ICSI with and without ovarian hyperstimulation. *Early Hum Dev.* 2013;89(7):507–13.
38. Olivennes F, Golombok S, Ramogida C, Rust J, Follow-Up T. Behavioral and cognitive development as well as family functioning of twins conceived by assisted reproduction: findings from a large population study. *Fertil Steril.* 2005;84(3):725–33.
39. Kuiper D, Bennema A, la Bastide-van Gemert S, Seggers J, Schendelaar P, Haadsma M, et al. Neurodevelopmental and cardiometabolic outcome in 4-year-old twins and singletons born after IVF. *Reprod Biomed Online.* 2017;34(6):659–67.
40. Tully LA, Moffitt TB, Caspi A. Maternal adjustment, parenting and child behaviour in families of school-aged twins conceived after IVF and ovulation induction. *J Child Psychol Psychiatry.* 2003;44(3):316–25.
41. Bay B, Mortensen EL, Kesmodel US. Fertility treatment and child intelligence, attention, and executive functions in 5-year-old singletons: a cohort study. *BJOG.* 2014;121(13):1642–51.
42. Zhu JL, Obel C, Basso O, Henriksen TB, Bech BH, Hvidtjorn D, et al. Infertility, infertility treatment and behavioural problems in the offspring. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2011;25(5):466–77.
43. Seggers J, Schendelaar P, Bos AF, Heineman MJ, Middelburg KJ, Haadsma ML, et al. Increased time to pregnancy is associated with suboptimal neurological condition of 2-year-olds. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2013;98(5):F434–6.
44. Zhu JL, Obel C, Basso O, Olsen J. Parental infertility and developmental coordination disorder in children. *Hum Reprod.* 2010;25(4):908–13.
45. Ramoglu M, Kavuncuoglu S, Aldemir E, Yazar C, Eras Z. Neurodevelopment of preterm infants born after in vitro fertilization and spontaneous multiple pregnancy. *Pediatr Int.* 2016;58(12):1284–90.
46. Barbuscia A, Mills MC. Cognitive development in children up to age 11 years born after ART—a longitudinal cohort study. *Hum Reprod.* 2017;32(7):1482–8.

47. Punamaki RL, Tiitinen A, Lindblom J, Unkila-Kallio L, Flykt M, Vanska M, et al. Mental health and developmental outcomes for children born after ART: a comparative prospective study on child gender and treatment type. *Hum Reprod.* 2016;31(1):100–7.
48. Goldsmith S, McIntyre S, Badawi N, Hansen M. Cerebral palsy after assisted reproductive technology: a cohort study. *Dev Med Child Neurol.* 2018;60(1):73–80.
49. Boutet ML, Eixarch E, Ahumada-Droguett P, Nakaki A, Crovetto F, Civico MS, et al. Fetal neurosonography and infant neurobehavior following conception by assisted reproductive technology with fresh or frozen embryo transfer. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2022;60(5):646–56.
50. Aoki S, Hashimoto K, Ogawa K, Horikawa R, Sago H. Developmental outcomes in Japanese preschool-age children conceived through assisted reproductive technology. *J Obstet Gynaecol Res.* 2022;48(11):2847–52.
51. Vo MT, Le TMC, Le TQ, Do DV, Ngo MX. Comparison of psychomotor development among children conceived through icsi in-vitro-fertilisation and naturally at 5 through 30 months of age, Vietnam. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2021;258:157–61.
52. Drenth Olivares M, Kuiper DB, Haadsma ML, Heineman KR, Heineman MJ, Hadders-Algra M. IVF procedures are not, but subfertility is associated with neurological condition of 9-year-old offspring. *Early Hum Dev.* 2019;129:38–44.
53. Norrman E, Petzold M, Bergh C, Wennerholm UB. School performance in singletons born after assisted reproductive technology. *Hum Reprod.* 2018;33(10):1948–59.
54. Abdel-Latif ME, Bajuk B, Ward M, Oei JL, Badawi N, Nsw, et al. Neurodevelopmental outcomes of extremely premature infants conceived after assisted conception: a population based cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2013;98(3):F205–11.
55. Robinson SL, Parikh T, Lin T, Bell EM, Heisler E, Park H, et al. Infertility treatment and autism risk using the Modified Checklist for Autism in Toddlers (M-CHAT). *Hum Reprod.* 2020;35(3):684–93.
56. Diop H, Cabral H, Gopal D, Cui X, Stern JE, Kotelchuck M. Early Autism Spectrum Disorders in Children Born to Fertile, Subfertile, and ART-Treated Women. *Matern Child Health J.* 2019;23(11):1489–99.
57. Davidovitch M, Chodick G, Shalev V, Eisenberg VH, Dan U, Reichenberg A, et al. Infertility treatments during pregnancy and the risk of autism spectrum disorder in the offspring. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2018;86:175–9.
58. Kissin DM, Zhang Y, Boulet SL, Fountain C, Bearman P, Schieve L, et al. Association of assisted reproductive technology (ART) treatment and parental infertility diagnosis with autism in ART-conceived children. *Hum Reprod.* 2015;30(2):454–65.
59. Sandin S, Nygren KG, Iliadou A, Hultman CM, Reichenberg A. Autism and mental retardation among offspring born after in vitro fertilization. *JAMA.* 2013;310(1):75–84.
60. Lehti V, Brown AS, Gissler M, Rihko M, Suominen A, Sourander A. Autism spectrum disorders in IVF children: a national case-control study in Finland. *Hum Reprod.* 2013;28(3):812–8.
61. Bay B, Mortensen EL, Hvidtjorn D, Kesmodel US. Fertility treatment and risk of childhood and adolescent mental disorders: register based cohort study. *BMJ.* 2013;347:f3978.
62. Hvidtjorn D, Grove J, Schendel D, Schieve LA, Svaerke C, Ernst E, et al. Risk of autism spectrum disorders

in children born after assisted conception: a population-based follow-up study. *J Epidemiol Community Health*. 2011;65(6):497–502.

63. Fine A, Dayan N, Djerboua M, Pudwell J, Fell DB, Vigod SN, et al. Attention-deficit hyperactivity disorder in children born to mothers with infertility: a population-based cohort study. *Hum Reprod*. 2022;37(9):2126–34.
64. Wang C, Johansson ALV, Rodriguez-Wallberg KA, Almqvist C, Hernandez-Diaz S, Oberg AS. Assisted Reproductive Techniques, ADHD, and School Performance. *Pediatrics*. 2021;148(1).
65. Levin S, Sheiner E, Wainstock T, Walfisch A, Segal I, Landau D, et al. Infertility Treatments and Long-Term Neurologic Morbidity of the Offspring. *Am J Perinatol*. 2019;36(9):949–54.
66. Zhu Y, Fu Y, Tang M, Yan H, Zhang F, Hu X, et al. Risk of Higher Blood Pressure in 3 to 6 Years Old Singleton Born From OHSS Patients Undergone With Fresh IVF/ICSI. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:817555.
67. Cui L, Zhao M, Zhang Z, Zhou W, Lv J, Hu J, et al. Assessment of Cardiovascular Health of Children Ages 6 to 10 Years Conceived by Assisted Reproductive Technology. *JAMA Netw Open*. 2021;4(11):e2132602.
68. Kuiper D, Hoek A, la Bastide-van Gemert S, Seggers J, Mulder DJ, Haadsma M, et al. Cardiovascular health of 9-year-old IVF offspring: no association with ovarian hyperstimulation and the in vitro procedure. *Hum Reprod*. 2017;32(12):2540–8.
69. Seggers J, Haadsma ML, La Bastide-Van Gemert S, Heineman MJ, Middelburg KJ, Roseboom TJ, et al. Is ovarian hyperstimulation associated with higher blood pressure in 4-year-old IVF offspring? Part I: multivariable regression analysis. *Hum Reprod*. 2014;29(3):502–9.
70. Ceelen M, van Weissenbruch MM, Vermeiden JP, van Leeuwen FE, Delemarre-van de Waal HA. Cardiometabolic differences in children born after in vitro fertilization: follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(5):1682–8.
71. La Bastide-Van Gemert S, Seggers J, Haadsma ML, Heineman MJ, Middelburg KJ, Roseboom TJ, et al. Is ovarian hyperstimulation associated with higher blood pressure in 4-year-old IVF offspring? Part II: an explorative causal inference approach. *Hum Reprod*. 2014;29(3):510–7.
72. Valenzuela-Alcaraz B, Crispi F, Bijnens B, Cruz-Lemini M, Creus M, Sitges M, et al. Assisted reproductive technologies are associated with cardiovascular remodeling in utero that persists postnatally. *Circulation*. 2013;128(13):1442–50.
73. Bi W, Xiao Y, Wang X, Cui L, Song G, Yang Z, et al. The association between assisted reproductive technology and cardiac remodeling in fetuses and early infants: a prospective cohort study. *BMC Med*. 2022;20(1):104.
74. Weng SS, Huang YT, Huang YT, Li YP, Chien LY. Assisted Reproductive Technology and Risk of Childhood Cancers. *JAMA Netw Open*. 2022;5(8):e2230157.
75. Bal MH, Harlev A, Sergienko R, Levitas E, Har-Vardi I, Zeadna A, et al. Possible association between in vitro fertilization technologies and offspring neoplasm. *Fertil Steril*. 2021;116(1):105–13.
76. Spector LG, Brown MB, Wantman E, Letterie GS, Toner JP, Doody K, et al. Association of In Vitro Fertilization With Childhood Cancer in the United States. *JAMA Pediatr*. 2019;173(6):e190392.
77. Hargreave M, Jensen A, Hansen MK, Dehlendorff C, Winther JF, Schmiegelow K, et al. Association Between Fertility Treatment and Cancer Risk in Children. *JAMA*. 2019;322(22):2203–10.
78. Spaan M, van den Belt-Dusebout AW, van den Heuvel-Eibrink MM, Hauptmann M, Lambalk CB, Burger CW,

et al. Risk of cancer in children and young adults conceived by assisted reproductive technology. *Hum Reprod.* 2019;34(4):740–50.

79. Gilboa D, Koren G, Barer Y, Katz R, Rotem R, Lunenfeld E, et al. Assisted reproductive technology and the risk of pediatric cancer: A population based study and a systematic review and meta analysis. *Cancer Epidemiol.* 2019;63:101613.

80. Sundh KJ, Henningsen AK, Kallen K, Bergh C, Romundstad LB, Gissler M, et al. Cancer in children and young adults born after assisted reproductive technology: a Nordic cohort study from the Committee of Nordic ART and Safety (CoNARTaS). *Hum Reprod.* 2014;29(9):2050–7.

81. Kallen B, Finnstrom O, Nygren KG, Olausson PO. In vitro fertilization in Sweden: child morbidity including cancer risk. *Fertil Steril.* 2005;84(3):605–10.

82. Brinton LA, Kruger Kjaer S, Thomsen BL, Sharif HF, Graubard BI, Olsen JH, et al. Childhood tumor risk after treatment with ovulation-stimulating drugs. *Fertil Steril.* 2004;81(4):1083–91.

83. Lerner-Geva L, Toren A, Chetrit A, Modan B, Mandel M, Rechavi G, et al. The risk for cancer among children of women who underwent in vitro fertilization. *Cancer.* 2000;88(12):2845–7.

84. Williams CL, Bunch KJ, Stiller CA, Murphy MF, Botting BJ, Wallace WH, et al. Cancer risk among children born after assisted conception. *N Engl J Med.* 2013;369(19):1819–27.

85. Belva F, Bonduelle M, Roelants M, Michielsen D, Van Steirteghem A, Verheyen G, et al. Semen quality of young adult ICSI offspring: the first results. *Hum Reprod.* 2016;31(12):2811–20.

86. Catford SR, Halliday J, Lewis S, O'Bryan MK, Handelsman DJ, Hart RJ, et al. Reproductive function in men conceived with in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2022;117(4):727–37.

87. Bay B, Lyngso J, Hohwu L, Kesmodel US. Childhood growth of singletons conceived following in vitro fertilisation or intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis. *BJOG.* 2019;126(2):158–66.

88. Catford SR, McLachlan RI, O'Bryan MK, Halliday JL. Long-term follow-up of ICSI-conceived offspring compared with spontaneously conceived offspring: a systematic review of health outcomes beyond the neonatal period. *Andrology.* 2018;6(5):635–53.

89. Rumbold AR, Moore VM, Whitrow MJ, Oswald TK, Moran LJ, Fernandez RC, et al. The impact of specific fertility treatments on cognitive development in childhood and adolescence: a systematic review. *Hum Reprod.* 2017;32(7):1489–507.

90. Catford SR, McLachlan RI, O'Bryan MK, Halliday JL. Long-term follow-up of intra-cytoplasmic sperm injection-conceived offspring compared with in vitro fertilization-conceived offspring: a systematic review of health outcomes beyond the neonatal period. *Andrology.* 2017;5(4):610–21.

91. Bay B, Mortensen EL, Kesmodel US. Assisted reproduction and child neurodevelopmental outcomes: a systematic review. *Fertil Steril.* 2013;100(3):844–53.

92. Knoester M, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP, van der Westerlaken LA, Walther FJ, Veen S, et al. Cognitive development of singletons born after intracytoplasmic sperm injection compared with in vitro fertilization and natural conception. *Fertil Steril.* 2008;90(2):289–96.

93. Andreadou MT, Katsaras GN, Talimtzis P, Doxani C, Zintzaras E, Stefanidis I. Association of assisted reproductive technology with autism spectrum disorder in the offspring: an updated systematic review and meta-

analysis. *Eur J Pediatr.* 2021;180(9):2741–55.

94. Conti E, Mazzotti S, Calderoni S, Saviozzi I, Guzzetta A. Are children born after assisted reproductive technology at increased risk of autism spectrum disorders? A systematic review. *Hum Reprod.* 2013;28(12):3316–27.
95. Djuwantono T, Aviani JK, Permadi W, Achmad TH, Halim D. Risk of neurodevelopmental disorders in children born from different ART treatments: a systematic review and meta-analysis. *J Neurodev Disord.* 2020;12(1):33.
96. Hvidtjorn D, Schieve L, Schendel D, Jacobsson B, Svaerke C, Thorsen P. Cerebral palsy, autism spectrum disorders, and developmental delay in children born after assisted conception: a systematic review and meta-analysis. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2009;163(1):72–83.
97. Jenabi E, Bashirian S, Khazaei S, Farhadi Nasab A, Maleki A. The Association between Assisted Reproductive Technology and the Risk of Autism Spectrum Disorders among Offspring: A Meta-analysis. *Curr Pediatr Rev.* 2022;19(1):83–9.
98. Liu L, Gao J, He X, Cai Y, Wang L, Fan X. Association between assisted reproductive technology and the risk of autism spectrum disorders in the offspring: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2017;7:46207.
99. Guo XY, Liu XM, Jin L, Wang TT, Ullah K, Sheng JZ, et al. Cardiovascular and metabolic profiles of offspring conceived by assisted reproductive technologies: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2017;107(3):622–31 e5.
100. Hargreave M, Jensen A, Toender A, Andersen KK, Kjaer SK. Fertility treatment and childhood cancer risk: a systematic meta-analysis. *Fertil Steril.* 2013;100(1):150–61.
101. Wang T, Chen L, Yang T, Wang L, Zhao L, Zhang S, et al. Cancer risk among children conceived by fertility treatment. *Int J Cancer.* 2019;144(12):3001–13.
102. Zhang Y, Gao R, Chen H, Xu W, Yang Y, Zeng X, et al. The association between fertility treatments and the incidence of paediatric cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2020;138:133–48.

図 1. 文献検索の Flow diagram

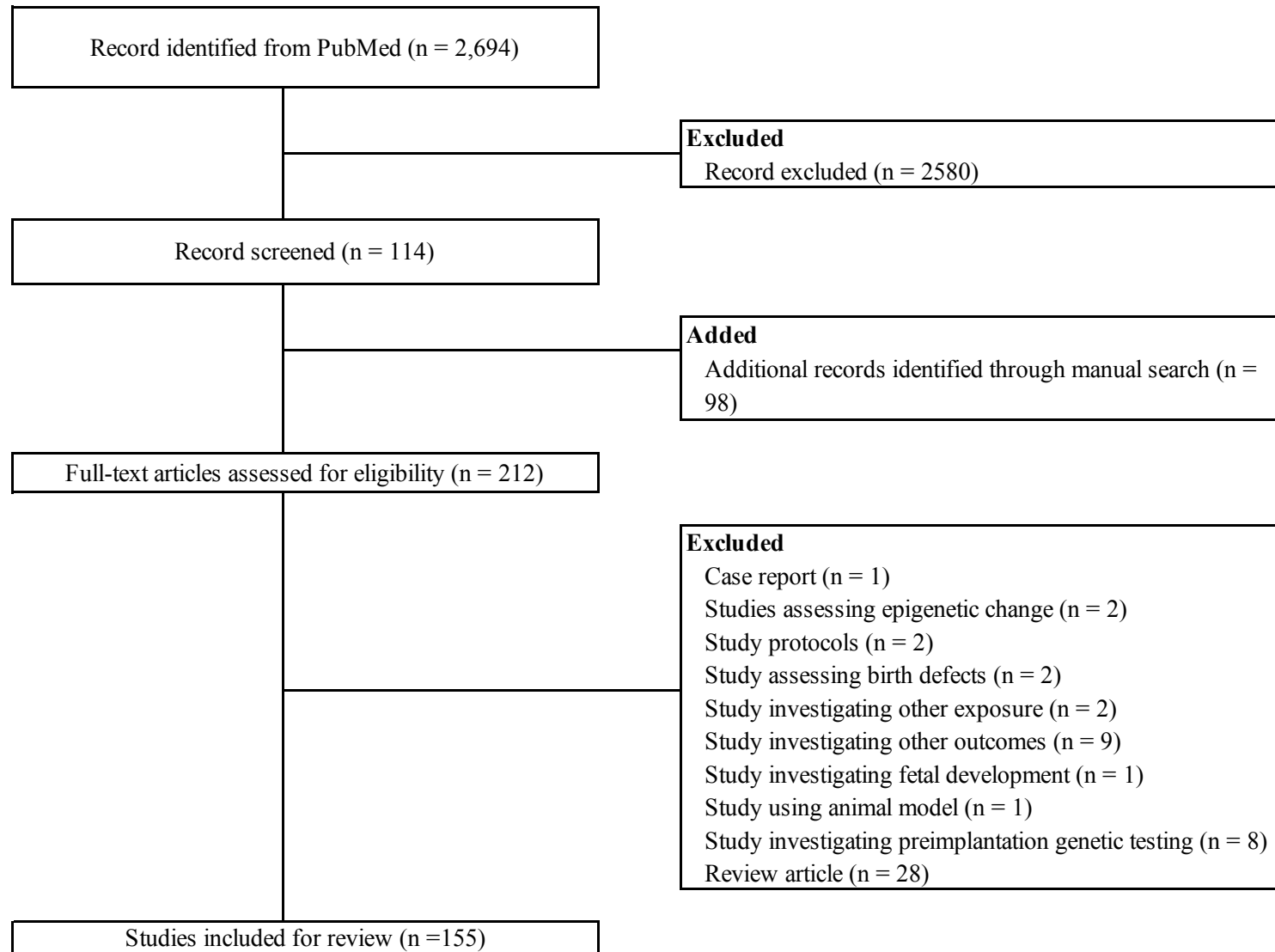


図 2. 対象文献のカテゴリ分布 (n = 162)

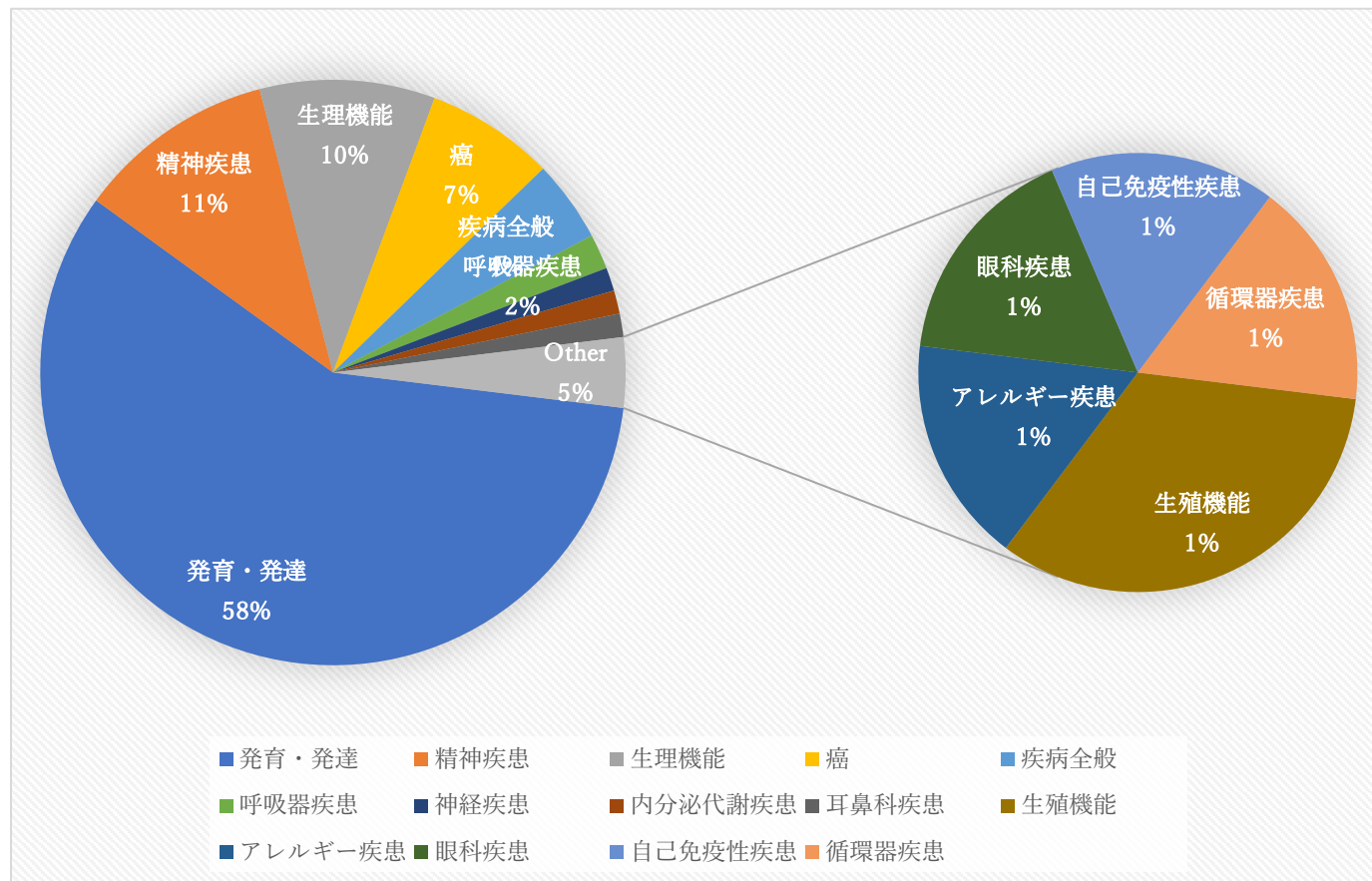


図3. 児の発育調査研究(27 文献)における調査対象年齢分布

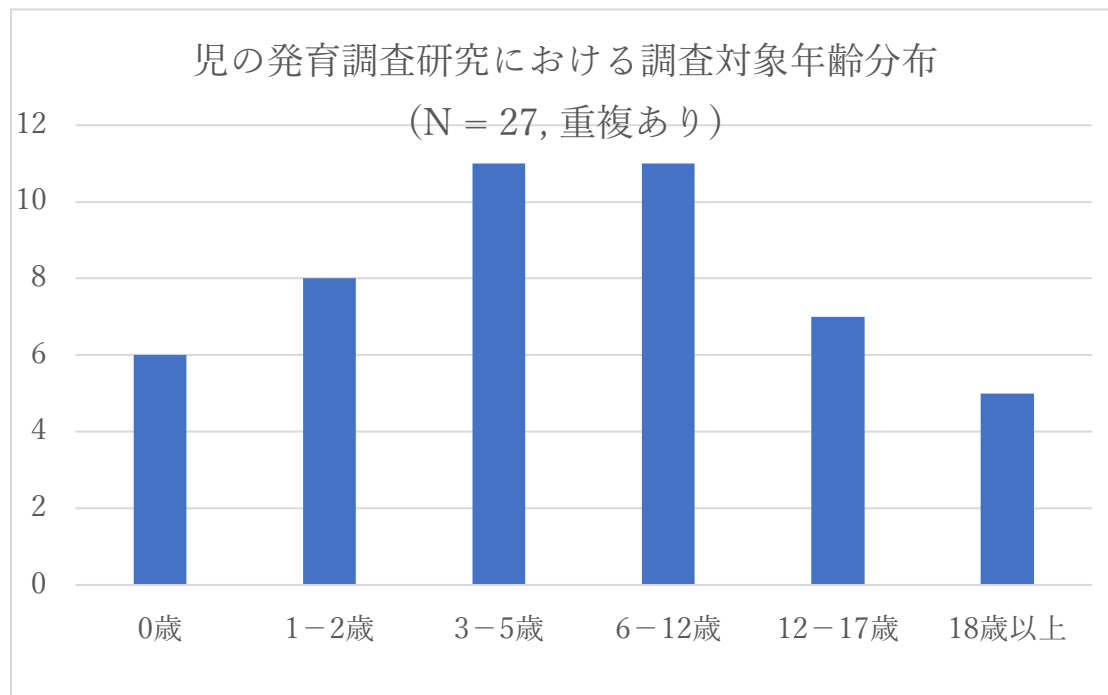
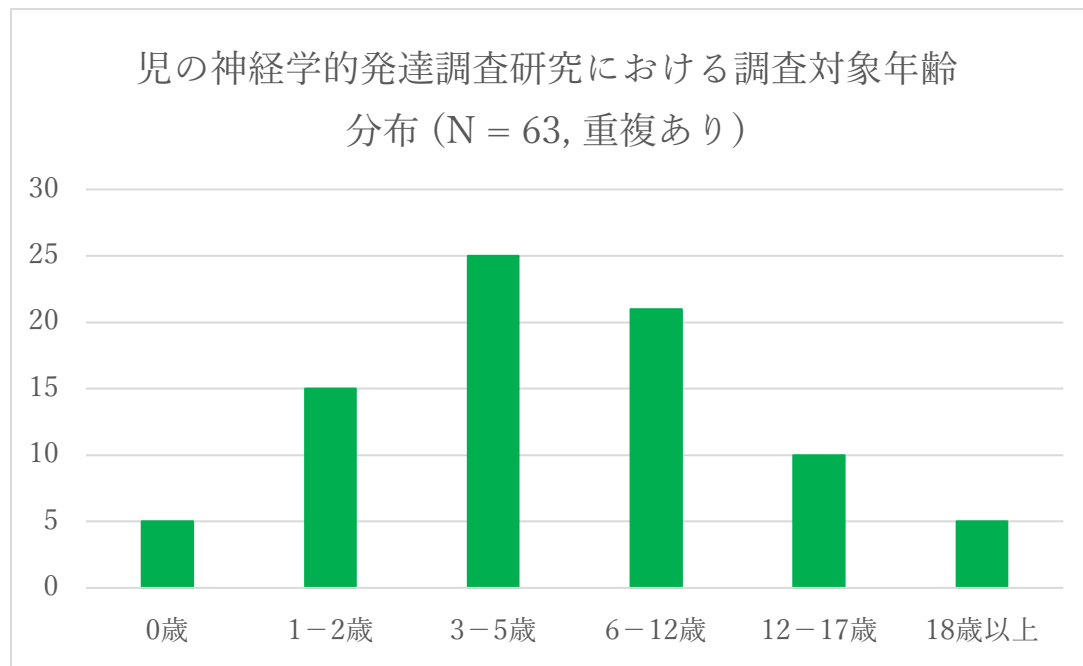


図 4. 児の神経学的発達調査研究(63 文献)における調査対象年齢分布



(CQ 追加候補 - 3) 反復着床不全患者を対象とした子宮鏡検査は、妊娠成績の改善に有効か？

Answer

1. 反復着床不全患者は、子宮の解剖学的構造の評価を受けることが望ましい。(B) evidence level II
2. 反復着床不全患者を対象にルーティンで外来子宮鏡検査を実施しても、体外受精の成績を向上させる効果は認められない。(B) evidence level I
3. 子宮鏡検査実施により子宮内腔の陽性所見が認められる場合には、外科的治療あるいは抗菌薬による加療により体外受精の成績の向上が期待される。(B) evidence level II

解説

反復着床不全 (recurrent implantation failure: RIF)は体外受精の胚移植が2回以上成功しなかった場合と定義され、生殖医療にいて困難な問題になっている。成績改善のためにいくつかの介入が提案されている。

1. 子宮内病変は、RIF患者の最大33.6% (80/238)¹-44.9% (75/157)²において報告されている。体外受精開始前に子宮鏡検査を行うことにより、子宮頸管と子宮腔の異常の診断と治療が可能となり、体外受精の成績が向上すると期待されている。しかし既報は研究間の heterogeneity が高いことが課題となっている。
2. RIFの患者を対象として、外来子宮鏡検査の実施が体外受精の成績を向上に寄与するかについて調べた TROPHY trial と呼ばれる試験の報告がある³。これは、4ヶ国・8の施設が参加した多機関共同のランダム化比較試験 (RCT)であり、超音波検査で異常を指摘されておらず、かつ2-4周期までに着床不全を繰り返す患者を子宮鏡検査実施群 (350名)と非実施群 (352名)とに割り付け、主要評価項目である生産率を intention to treat 解析を用いて比較している。子宮鏡検査により子宮内腔の器質的異常を指摘された患者を34人 (11%)に認めており、うち15人が何らかの外科的処置を受けている。いずれの群においても29%の女性が生産に至ったことから、RIF患者に対する外来子宮鏡検査は生児獲得率を改善しないと結論している (オッズ比: 1.0; 95% CI 0.79-1.25; p=0.96)。近年報告された、中国のグループによるメタアナリシスの報告がある⁴。3つのRCT、3つの非ランダム化前向き研究および2つの後向きコホート研究の、総計3932人のRIF患者を対象としている。子宮鏡検査実施群および非実施群は、それぞれ1841人と2091人であった。着床率 (オッズ比: 1.22, 95% CI: 1.02-1.45, P = 0.025)および臨床的妊娠率 (オッズ比: 1.64, 95% CI: 1.30-2.07, P < 0.001)については、子宮鏡実施群が対照群に比して有意に高かったが、生児獲得率 (オッズ比: 1.30, 95% CI: 0.90-1.88, P = 0.168)および流産率 (オッズ比: 0.94, 95% CI: 0.66-1.35, P = 0.744)では、有意差がなかったと結論されている。したがって、現時点ではRIF患者を対象とするIVFの成績向上を目的とした子宮鏡検査の実施を支持する高いレベルのエビデンスは存在しない。
3. ただし、TROPHY trialにおいては子宮鏡手術を受けた研究協力者の数が少ないため、一般的な子宮内腔の異常 (ex. 子宮内膜ポリープ・粘膜下筋腫・中隔子宮の隔壁・癒着等)への介入が体外受精成績を改善するかという疑問には答えられていない。その後、同様に超音波検査で子宮内腔の異常を指摘されてない女性で、初回胚移植が不成功であった患者の334人を対象とする後向き研究の結果が報告されている⁵。そのうち137人が2回目の胚移植に先立って子宮鏡検査実施群に割り付けられており、生児獲得率は検査実施群で有意に高かった (58/137 vs. 52/197 p = 0.0025)。子宮鏡検査実施により判明した子宮内腔の陽性所見は、30% (41人)までに認められており、その全例に対して外科的治療あるいは抗菌薬による加療がなされ

ている。TROPHY trial と比較して子宮内腔の器質的異常を指摘された患者の割合が高い本研究において、検査後の生児獲得率の有意な上昇が観察されたことは、子宮鏡検査の実施による IVF の成績向上の効果には、検査自身が引き起こす内膜の炎症促進作用による着床の改善効果等の機能面でのメカニズムよりは、むしろ加療による子宮内腔の形態的な是正が主として寄与することを示している可能性がある。

References

1. Moini A, Kiani K, Ghaffari F, Hosseini F. Hysteroscopic findings in patients with a history of two implantation failures following in vitro fertilization. *Int J Fertil Steril* 2012; 6: 27-30. (II)
2. Cenksoy P, Ficicioglu C, Yildirim G, Yesiladali M. Hysteroscopic findings in women with recurrent IVF failures and the effect of correction of hysteroscopic findings on subsequent pregnancy rates. *Arch Gynecol Obstet* 2013; **287**: 357-60. (II)
3. El-Toukhy, T. et al. Hysteroscopy in recurrent in-vitro fertilisation failure (TROPHY): a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet* 387, 2614-2621 (2016). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00258-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00258-0) (I)
4. Mao, X., Wu, L., Chen, Q., Kuang, Y. & Zhang, S. Effect of hysteroscopy before starting in-vitro fertilization for women with recurrent implantation failure: A meta-analysis and systematic review. *Medicine (Baltimore)* 98, e14075 (2019). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014075> (I)
5. Zikopoulos, A. et al. Is Hysteroscopy Prior to IVF Associated with an Increased Probability of Live Births in Patients with Normal Transvaginal Scan Findings after Their First Failed IVF Trial? *J Clin Med* 11 (2022). <https://doi.org/10.3390/jcm11051217> (II)

(CQ 追加候補 - 4 - 1) ランダムスタート法 報告書

緒言

IVF/ICSI において一般的な調節卵巣刺激では、卵胞期初期から卵巣刺激を開始するが、ランダムスタート法は、月経周期に関わらず卵巣刺激を開始し、LH サージ抑制目的に GnRH アンタゴニスト製剤を併用する方法である(Cakmak H, et al. 2013)。不妊治療においては比較的若年で、ある程度の卵巣予備能が期待され、採卵周期での新鮮胚移植を想定しない症例に用いられるが、高齢女性など採卵を急ぐ必要のある場合にも考慮される。また、妊孕性温存目的では原疾患への早期の治療介入を要するがん患者の未受精卵子凍結にも用いられる。

エビデンス

最近のシステマティックレビュー(Lu BJ, et al. 2021)では、normal responder と poor responder を含む症例に対し、卵胞期初期から卵巣刺激を開始した通常法と卵胞期後期または黄体期から卵巣刺激を開始したランダムスタート法を比較したところ、ランダムスタート法では刺激日数が有意に延長し、ゴナドトロピン(Gn)総投与量は有意に多かった。採卵数はランダムスタート法で多くなったが、とくに poor responder での採卵数が増加したことに起因し、normal responder に絞って比較した場合の採卵数は同等であった。

ET 可能胚数は全体としてはランダムスタート法で有意に増加したが、ばらつきは大きく、サブ解析では normal responder、poor responder とともに通常法とランダムスタート法は同等であった。臨床妊娠率と生児獲得率はランダムスタート法で高い傾向にあった(オッズ比 1.15 と 1.17)。しかし、対象患者の 76.3%を占める 1 つの研究(最大規模研究)を除外した場合の臨床妊娠率と生児獲得率は通常法とランダムスタート法は同等であった。

ランダムスタート法における臨床妊娠率や生児獲得率が上昇するという結果は 1 つの研究(最大規模研究)を除外すると得られず、この論文の中ではランダムスタート法の有意性はその研究におけるレトロゾールの使用や誘発期間延長、Gn 投与量増加に起因する可能性が高いと考察している。

また、別のシステマティックレビュー(Alexandar VM, et al. 2021)は、同様に卵胞期初期から卵巣刺激を開始した通常法と卵胞期後期または黄体期から卵巣刺激を開始したランダムスタート法の成績を比較したものである。この中には poor responder を含むかどうかについては述べられていない。

刺激期間と Gn 総使用量は 4 つの研究では有意差が認められなかったが、6 つの研究ではランダムスタート法で有意に多かった。採卵数については、2 つの研究においては、ランダムスタート法で有意に多かったが、全ての研究結果からは採卵数、受精率、凍結胚数などの臨床成績には有意差は認められなかった。成熟卵子採取数に関して評価を行っているものは 7 つの研究であり、そのうち 1 つの研究ではランダムスタート法が有意に成熟卵子/全卵子の比率が高い結果であったが、全体として有意差は認められなかった。

また、同等の成熟卵子採取数でありながら、ランダムスタート法ではトリガー時の血中 E2 濃度が有意に低く、OHSS 発症に対する安全性が確認された。

考察

ランダムスタート法は通常法と比較して、刺激期間の延長や Gn 投与量が増加した。一方、採卵数や受精率、凍結胚数などの臨床成績には差は認められなかったが、poor responder では採卵数が増加することも否定はできないため、不妊治療における卵巣機能低下症例やがん患者の妊孕性温存における卵巣刺激法として重要な

選択肢になりうる可能性は残されている。しかし、着床と妊娠を評価した成績の報告はいまだ乏しいのが現状である。今後は対象症例を絞ることや、妊娠予後を含めたさらなる検証を継続していくことが不可欠である。また全例が凍結融解胚移植となることについてもランダムスタート法の有効性を議論するうえで考慮が必要であろう。

現在、IVF/ICSI の調節卵巣刺激においてランダムスタート法の普遍的な使用をサポートするエビデンスは不十分であり、ランダムスタート法を標準としたプロトコールはない。ESHRE のガイドライン(Bosch H, et al. 2020)においても調節卵巣刺激におけるランダムスタート法の使用は推奨されていないのが現状である。ランダムスタート法における研究のエビデンスレベルは、ランダム化比較試験は 1 つのみで、主に前向きコホート研究と後ろ向きコホート研究に基づいており、有効性を証明するためには将来的にはより適切に設計されたランダム化比較試験による解析が必要と思われる。

考えられる CQ

調節卵巣刺激にランダムスタート法は推奨されるか？

参考文献

Cakmak H, et al. Effective method for emergency fertility preservation: random-start controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril* 100: 1673–1680, 2013

Lu BJ, et al. ART outcomes following ovarian stimulation in the luteal phase: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 38: 1927–1938, 2021

Alexandar VM, et al. Ovarian stimulation for fertility preservation in women with cancer. A systematic review and meta-analysis comparing random and conventional starts. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* 50: 102080, 2021

Bosch E, et al. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Hun Reprod Open* 1–13, 2020

(CQ 追加候補 - 4 - 2) DuoStim 法に関するエビデンスについて

緒言

DuoStim は、Double ovarian stimulation のことであり、通常の卵胞期に卵巣刺激をして採卵を行い、さらに数日後から黄体期に卵巣刺激を行い、採卵を行う方法である。すなわち、同じ周期に 2 回卵巣刺激し、採卵を行う方法のことである。

がん患者の妊孕性温存の際に用いられており、限られた時間において採卵数を確保する目的で行われた(1)。Poor responder に対しては、2014 年に Kuang らが初めて報告している(2)。その後、Vaiarelli らのグループも poor responder に対する DuoStim の治療成績を報告している(3-5)。

エビデンスについて

RCT は 1 件のみで、38 歳以上で PGT-A を行う女性 80 人を対象とした、アンタゴニスト法による卵巣刺激による採卵周期を 2 連続周期で行う群と DuoStim の群での RCT による検討である。この 2 群の比較において、正数性胚盤胞を得る率については、有意差がなかったが、正数性胚盤胞を得るまでの日数は、DuoStim の方が有意に短かった(44.1 ± 2.0 日 VS 23.3 ± 2.8 日, P < 0.001)。

また、後方視的、前方視的検討の meta-analysis が 2 報ある(6, 7)。Sfakaianoudis らの報告によると、4 件の後方視的 cohort 研究と 1 件の前方視的 cohort 研究のメタアナリシスを行った。Poor responder を mixed population での検討となった。DuoStim と conventional stimulation と比較した場合に、採卵数は DuoStim で有意に多く、MII 卵子の数も DuoStim で有意に多かった。しかしながら、これは、DuoStim では同じ周期に 2 回卵巣刺激と採卵を行うのに対し、Conventional stimulation では 1 回の採卵となるので、それによる差であると考えられる。受精率、臨床妊娠率、出生率/妊娠継続率、流産率には有意差はみられなかった。Glujovsky らの報告では、DuoStim が 1 回の conventional stimulation に比較して、MII 卵子数が有意に多かったという報告のみである。いずれの study においても、bias が大きいため、conclusive な結果とは考えられない。

実際、Poor responder に対して DuoStim を用いて卵巣刺激を行うことは、理論的根拠、エビデンス、長期追跡調査が欠けており、十分な根拠は現時点ではないという opinion も掲載されている。(8) RCT 1 件、観察研究のメタアナリシス 2 件のみであり、総じて、どの集団においても、現時点では、DuoStim が conventional stimulation に比較して推奨されるとは言えない。今後、RCT による検討が望まれる。

1. Tsampras N, Gould D, Fitzgerald CT. Double ovarian stimulation (DuoStim) protocol for fertility preservation in female oncology patients. *Human fertility* 2017;20:248-53.
2. Kuang Y, Chen Q, Hong Q, Lyu Q, Ai A, Fu Y *et al*. Double stimulations during the follicular and luteal phases of poor responders in IVF/ICSI programmes (Shanghai protocol). *Reproductive biomedicine online* 2014;29:684-91.
3. Vaiarelli A, Cimadomo D, Gennarelli G, Guido M, Alviggi C, Conforti A *et al*. Second stimulation in the same ovarian cycle: an option to fully-personalize the treatment in poor prognosis patients undergoing PGT-A.

Journal of Assisted Reproduction and Genetics 2022;39:663–73.

4. Vaiarelli A, Cimadomo D, Conforti A, Schimberni M, Giuliani M, D' Alessandro P *et al.* Luteal phase after conventional stimulation in the same ovarian cycle might improve the management of poor responder patients fulfilling the Bologna criteria: a case series. *Fertility and sterility* 2020;113:121–30.
5. Vaiarelli A, Cimadomo D, Trabucco E, Vallefucio R, Buffo L, Dusi L *et al.* Double stimulation in the same ovarian cycle (DuoStim) to maximize the number of oocytes retrieved from poor prognosis patients: a multicenter experience and SWOT analysis. *Frontiers in endocrinology* 2018;9:317.
6. Sfakianoudis K, Pantos K, Grigoriadis S, Rapani A, Maziotis E, Tsioulou P *et al.* What is the true place of a double stimulation and double oocyte retrieval in the same cycle for patients diagnosed with poor ovarian reserve? A systematic review including a meta-analytical approach. *J Assist Reprod Genet* 2020;37:181–204.
7. Glujovsky D, Pesce R, Miguens M, Sueldo CE, Lattes K, Ciapponi A. How effective are the non-conventional ovarian stimulation protocols in ART? A systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 2020;37:2913–28.
8. Tocci A, Barad D, Łukaszuk K, Orvieto R, IVF IDNHGi. Routine double-ovarian-stimulation (DuoStim) in poor responders lacks rationale, evidence, and follow-up. *Human Reproduction* 2023:dead002.

(CQ 追加候補 - 5) 婦人科良性疾患および他科併存疾患と不妊治療

背景と目的

近年、生殖補助医療(ART)を含む不妊治療は高度に専門化し、不妊治療専門施設で実施されることが一般的である。こうした施設では自施設で分娩を取り扱うことが少なく、婦人科良性疾患に対する手術療法を実施する施設も多くはない。一方、産婦人科専門研修を行う基幹施設では、自施設で大規模な不妊治療を実施することは少ない。

こうした現況を背景として、本稿では、併存疾患が不妊症の予後に及ぼす影響について文献的に考察した。不妊治療に携わる医療者は、併存疾患を治療・管理するために、子宮や卵巣に対する手術適応について十分に検討し、他科とも適切に連携しなければならない。

代表的な婦人科良性疾患である子宮筋腫、子宮腺筋症、子宮内膜症はエストロゲン依存性疾患であり、高エストロゲン環境をもたらす不妊治療によって増悪する可能性がある。不妊治療が長引くことにより治療成績が悪化するばかりでなく、子宮や卵巣に対する手術が新たに必要になることがあり得る。逆に、手術が必要な状態であるにもかかわらず不妊治療にこだわることも避けなければならない。婦人科良性疾患が不妊症や妊娠の予後に及ぼす影響については多くの報告があるが、本稿では主として ART の治療成績に及ぼす影響について検討した。

不妊治療の目的は妊娠そのものではなく、母児にとって安全な出産であることは言うまでもない。近年、プレコンセプションケアの重要性が報告されているが、他科併存疾患を適切に診断・治療・管理しないまま不妊治療を実施することは、妊娠した場合の母児の予後を悪化させるばかりでなく、不妊治療成績をも悪化させる可能性がある。また、不妊症専門施設で妊娠した患者が、他科併存疾患のために出産施設を探すのに苦慮したり、周産期医療関係者に負担を強いたりすることは最小限に留めるべきであろう。本稿では注意すべき代表的な他科併存疾患について検討した。

・方法と結果

婦人科疾患と他科併存症について包括的なクリニカルクエスチョンを想定し、それぞれ代表的な疾患について関連ガイドラインおよび文献検索によりエビデンスを収集した。

1. 婦人科疾患(子宮筋腫、子宮腺筋症、子宮内膜症)が IVF 治療成績に及ぼす影響は？

1-1. 子宮筋腫

参考ガイドライン：ASRM 2017

PubMed 検索式：(IVF or ICSI) and (FIBROID or LEIOMYOMA or MYOMA) and (META-ANALYSIS or SYSTEMATIC REVIEW or RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL or CLINICAL TRIAL): 36

Article type 別うちわけ(MA:11, SR:13, RCT:18, CT:24)

MA の対象疾患・テーマ内訳は、内膜変形のない筋層内筋腫が不妊治療成績に及ぼす影響を検討したもの 3 つ、子宮鏡の有用性に関する検討 4 つ、ソノヒステロの有用性に関する検討 1 つ、子宮筋腫が自然妊娠に及ぼす影響を検討したもの 1 つ、女性生殖における生物工学を検討したもの 1 つ、女性生殖における手術一般を検討したもの 1 つであった。

A1. 内膜変形を来す粘膜下筋腫は LBR と cPR を低下させ、MR を上昇させる。

Pritts 2009 らは IVF 治療を受けた不妊症女性のメタ解析にて、子宮粘膜下筋腫を有する女性は筋腫を持たない女性と比較して、臨床的妊娠率は 0.363 倍(95%CI: 0.179-0.737, $p=0.005$)、生産率は 0.318 倍(95%CI: 0.119-0.850, $p<0.001$)と低下し、流産率は 1.678 倍(95%CI: 1.373-2.051, $p=0.022$)と上昇することを報告している。また不妊症女性において、子宮粘膜下筋腫を子宮鏡下切除した女性は子宮粘膜下筋腫を切除しなかった女性と比べ、臨床的妊娠率が 2.03 倍(95%CI:1.08-3.82, $p=0.028$)と報告しており、2017 年 ASRM のガイドラインでも子宮粘膜下筋腫の子宮鏡下切除を推奨している(Grade B)。

A2. 内膜変形のない筋層内筋腫は、LBR と cPR を低下させる可能性がある。

近年のメタ解析やシステマティックレビューは、子宮内膜変形を伴わない筋層内筋腫が IVF 成績に及ぼす影響を検討したものが多く、Wang 2018 らや Sunkara 2010 らによるメタ解析では、LBR はそれぞれ 0.81 と 0.79 倍、cPR はそれぞれ 0.86 と 0.85 倍に低下するという同様な低下率を報告している。最近に行われた Rikhraj 2019 らのメタ解析では、より低い LBR と cPR を示した Behbahani 2018(それぞれ 0.56 倍と 0.53 倍)と Yan 2018(それぞれ 0.51 倍と 0.49 倍)の報告が加わった。さらに Rikhraj らは、少なくとも 1 つの筋層内筋腫を有し子宮内膜変形を伴わない女性を対象とし、子宮筋腫核出術後の女性はコントロールに含まない研究のみを検討した。Rikhraj らの報告では、内膜変形のない筋層内筋腫のみを有する女性は筋腫のない女性と比較し LBR は 0.62 倍で cPR は 0.70 倍、対象群に漿膜下筋腫合併例も含めた場合はコントロールと比し LBR は 0.56 倍で cPR は 0.68 倍と、より低い値となると報告している。

1-2. 子宮腺筋症

検索式: (IVF or ICSI) and (ADENOMYOSIS) and (META-ANALYSIS or SYSTEMATIC REVIEW or RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL or CLINICAL TRIAL): 10

Article type 別うちわけ(MA:4, SR:5, RCT:3, CT:4)

A3. 子宮腺筋症を有する女性では、生産率 LBR、臨床的妊娠率 cPR は低下し、流産率 MR は上昇する。

子宮腺筋症合併不妊における IVF 治療成績を検討したメタ解析は4つあり、直近の報告は Cozzolino 2022 と Nirgianakis 2021 である。Cozzolino らは、cPR と LBR のオッズ比はそれぞれ 0.66、0.59 と低下し、MR は OR2.11 に上昇すると報告しており、Nirgianakis らも同様な値を報告している。メタ解析で検討された論文の多くは、子宮筋腫を持つ女性を除外していたが、Cozzolino らが検討した 15 の研究のうち、子宮内膜症合併症例を除外していたのは 4 つのみであった。このため、子宮腺筋症に合併することが多い子宮内膜症が、子宮腺筋症の上述の結果に及ぼす影響は明らかでない。

A4. 子宮腺筋症を有する女性が IVF 治療にて妊娠成立した場合、その周産期予後において、早産および妊娠高血圧症候群のリスクが上昇する。

Nirgianakis 2021 は、IVF 治療を受ける女性を年齢で調整したうえで、子宮腺筋症のある女性をない女性と比較したところ、早産率は OR4.49 倍(95%CI: 1.89-10.64, $p=0.0006$)と有意に上昇し、自然妊娠においても OR3.25 倍(95%CI: 1.50-7.01, $p=0.003$)と有意差をもって高値を示した。妊娠高血圧症候群も IVF 妊娠により OR3.45 倍(95%CI: 1.12-10.61, $p=0.03$)と有意に上昇した一方、自然妊娠では有意差を認めなかった。子宮腺筋症は IVF 妊

娠の予後も悪化させる可能性がある。

A5. 子宮腺筋症を有する女性は子宮腺筋症のない女性と比べて、採卵数及び受精率に差はない。

Cozzolino らが検討した 14 の研究のうち、9の研究で採卵の評価を行っている。全てにおいて、腺筋症のありなしで採卵数と受精率に差はみられなかった。

1-3. 子宮内膜症

検索式:(IVF or ICSI) and (ENDOMETRIOTIC CYST or ENDOMETRIOMA or ENDOMETRIOSIS) and (META-ANALYSIS) and (2015/1-2022/12): 19

上記 MA のうち内容別内訳は、IVF への影響:8, IVF 向上のための治療:9, IVF が内膜症に及ぼす影響:1, であった。

A6. 卵巣子宮内膜症性嚢胞を有する女性では、採卵数は減る。

Qu 2022 は 70 の研究を含むメタ解析で、子宮内膜症のある女性をない女性と比較し、採卵数は OR0.84 倍 (95%CI: -2.06, -0.95, $p < 0.00001$)と有意に低下すると報告している。また、Alshehre 2021 は 8 つの研究を含むメタ解析で、手術歴のない卵巣子宮内膜症性嚢胞を有する女性を卵巣手術歴も子宮内膜症もない女性と比較し、採卵数は(加重平均の差 weighted mean difference; WMD)WMD-2.25 (95%CI: 3.43, -1.06, $p = 0.0002$)と有意に低下すると示している。Yang 2015 も、Alshehre 2021 同様に手術歴のない卵巣子宮内膜症性嚢胞を有する女性を卵巣手術歴も子宮内膜症もない女性と比較した、13 の研究を含むメタ解析を行っているが、採卵数は(mean difference; MD) MD-1.50 (95%CI:-2.84, -0.15, $p = 0.03$)と有意に低下することを示している。一方で、Alshehre らは受精卵数や良質受精卵数に有意な差はなく(それぞれ WMD0.16; 95%CI: 0.57-0.88, $p = 0.67$ と WMD-0.12; 95%CI: 0.45-0.22, $p = 0.50$)、子宮内膜症が採卵に量的影響はあるものの質的影響はない可能性を示唆している。

A7. 重症子宮内膜症を有する女性では、子宮内膜症のない女性と比べ cPR は低下する。

Rossi 2016 は子宮内膜症の stage 分類に言及した 9 つの研究を含むサブ解析 (I^2 値は 67%)を行っている。Stage I・II では内膜症のない女性と比べて、患者あたりの cPR も周期あたりの cPR も、それぞれ OR0.99 (95%CI: 0.63-1.56)、OR0.96 (95%CI: 0.74-1.24)と差はなかったのに対し、stage III・IV では内膜症のない女性と比べて患者あたりの cPR も周期あたりの cPR も、それぞれ OR0.45 (95%CI: 0.29-0.70)、OR0.47 (95%CI: 0.30-0.74)と有意に低かった。Qu 2022 は stage III・IV と内膜症のない女性における LBR を比較し、有意差はなかった (OR0.67; 95%CI: 0.18-2.56, $p = 0.56$)と報告しているが、このサブ解析は 4 つの研究を含み、 I^2 値は 96%と異質性が高かった。

2. 不妊治療開始時にスクリーニングを考慮する他科併存症にはどのようなものがあるか？

不妊治療の現状と各併存症の頻度を鑑みて、肥満、糖尿病、高血圧、甲状腺機能低下症を対象として①併存症が ART 成績に及ぼす影響、②併存症が妊娠予後に及ぼす影響の観点から現存するエビデンスを検証した。

2-1. 肥満

検索式:(IVF or ICSI) and (obesity or “overweight”) and (“meta-analysis” or “systematic review”)により 26 件

が抽出された(MA 15、SR 10、その他 1)。さらに関連文献をハンドサーチで追加した。

参考 GL: NICE guideline, Weight management before, during and after pregnancy (PH27)

A1. 肥満(BMI \geq 30)は ART 成績に悪影響を及ぼす

Sermondade らは 2007–2017 年の期間に報告された論文のメタ解析により、肥満患者は標準体重(BMI 18.5–24.9)の患者と比較して生産の可能性が低下する(RR 0.85, 95% CI 0.82–0.87)ことを報告した。また Ribeiro らは 2019 年までに報告された論文も含めてメタ解析し、肥満患者は BMI25 以下の患者と比較して妊娠しない可能性が高まる(RR 1.07, 95% CI 1.03–1.16)ことを報告している。

A2. 体重過多(BMI 25.0–29.9)は ART 成績に悪影響を及ぼす

1966–2010 年の論文を対象としたメタ解析では、体重過多の患者は BMI25 未満の患者と比較して臨床妊娠(RR 0.91, $p < 0.01$)、生産(RR 0.91, $p = 0.01$)の可能性が低下し、流産のリスクが上昇する(RR 1.24, $p < 0.01$)ことが報告されている。前述の Sermondade らのメタ解析でも体重過多の患者は生産の可能性が低下し(RR 0.94, 95% CI 0.91–0.97)、Ribeiro らの報告でも生産にならない可能性が上昇した(RR 1.07, 95% CI 1.01–1.12)。また NICE guideline(PH27)では、肥満患者に対しては母児の予後に与える影響について情報提供することを推奨している。まずは 5–10%程度の減量を目指し、可能であれば標準体重を目指すのが望ましいとしている。また肥満と新生児の二分脊椎の関連が報告されていることから、妊娠前からの葉酸接種を勧める Review が複数存在する。

2-2. 糖尿病

検索式: (IVF or ICSI) and (DM or “diabetes mellitus”) and (“meta-analysis” or “systematic review”)により 11 件が抽出された(MA 8、SR 2、その他 1)。さらに関連文献をハンドサーチで追加した。

参考 GL: 糖尿病治療ガイド 2022–2023, NICE guideline, Diabetes in pregnancy: management from preconception to the postnatal period (NG3)

A3. 糖尿病が ART 成績に及ぼす影響に関するエビデンスは存在しない

検索した文献のスクリーニングおよび追加のハンドサーチでは、糖尿病が ART 成績に及ぼす影響について解析した論文は存在しなかった。

A4. 糖尿病は母児の妊娠予後に影響を及ぼす

糖尿病が母児の予後に及ぼす影響については多数のガイドラインで注意が喚起されている。糖尿病女性が拳児を希望する場合には①児の先天異常、②糖尿病合併症の悪化、③妊娠合併症のリスクの上昇に注意が必要である。これらのガイドラインでは、妊娠前の目標血糖指標を HbA1c 6.5%とし、網膜症や腎症のスクリーニングを行うと共に、妊娠中の増悪の可能性についての事前説明を推奨している。また、妊娠に向けて治療薬の事前調整も必要となるため、妊娠前から糖尿病治療医と不妊治療担当医師が連携することが望ましい。

2-3. 高血圧

検索式: (IVF or ICSI) and (DM or “diabetes mellitus”) and (“meta-analysis” or “systematic review” or “clinical trial” or “randomized control trial”) により 41 件が抽出された (MA 24, SR 3, RCT 4, CT 10)。さらに関連文献をハンドサーチで追加した。

参考 GL: 妊娠高血圧症候群の診療指針 2021 Best Practice Guide, NICE guideline, Hypertension in pregnancy: diagnosis and management (NG133)

A5. 高血圧が ART 成績に及ぼす影響のエビデンスは存在しない

検索した文献のスクリーニングおよび追加のハンドサーチでは、高血圧が ART 成績に及ぼす影響について解析した論文は存在しなかった。

A6. 高血圧は母児の妊娠予後に影響を及ぼす

高血圧合併妊娠は正常血圧妊娠と比較して加重型妊娠高血圧腎症 (RR 7.7, 95% CI 5.7–10.1)、帝王切開 (RR 1.3, 95% CI 1.1–1.5)、37 週未満の早産 (RR 2.7, 95% CI 1.9–3.6)、2500 g 未満の低出生体重児 (RR 2.7, 95% CI 1.9–3.8)、新生児死亡 (RR 4.2, 95% CI 2.7–6.5) などのリスクが上昇することが報告されている。ACE 阻害薬や ARB などの薬剤は妊娠中は避けることが望ましく、事前に薬剤を調整したうえでの計画的な妊娠が望ましい。

2-4. 甲状腺疾患

検索式: (IVF or ICSI) and (hypothyroidism) and (“meta-analysis” or “systematic review” or “clinical trial” or “randomized control trial”) により 11 件が抽出された (MA 5, SR 3, RCT 2, CT 1)。さらに関連文献をハンドサーチで追加した。

参考 GL: 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum, 2021 European Thyroid Association Guideline on Thyroid Disorders prior to and during Assisted Reproduction

A7. 顕性および潜在性甲状腺機能低下症 (SCH) の治療は妊娠予後を改善する

ATA のガイドライン 2017 では、顕性の甲状腺機能低下症では胎児の神経発達への影響などを考慮して L-T₄ 補充が推奨されている。また SCH も妊孕性や流産・早産と関連するため、ART を行う女性では TSH < 2.5 mIU/L を目標に L-T₄ 補充が勧められている。しかし TSH < 2.5 mIU/L は妊娠初期の基準値であるため、不妊治療患者の基準値として適正かについては十分な根拠はない。実際に、ヨーロッパ甲状腺学会のガイドラインでは、ART 予定の患者は TSH > 4.0 mIU/L の場合に L-T₄ を補充し、TSH 2.5–4.0 mIU/L かつ甲状腺自己抗体 (TAI) 陽性の場合には患者ごとに L-T₄ の補充を検討することを推奨している。

検索された報告のうち、ART 患者の SCH ないし TAI 陽性例における L-T₄ 投与を検討した論文は 7 報 (MA 3, SR 1, RCT 2, CT 1) であった。2 つの RCT (Kim 2011, Abdel Rahman 2010) では、SCH 症例において L-T₄ 内服は placebo ないし無治療群と比較して流産率が低下し、臨床妊娠率ないし生産率が上昇した。また Rao 2018 らの RCT 4 報 787 患者を対象とした MA では、SCH ないし TAI 陽性例に対する L-T₄ 投与は臨床妊娠率 (RR 1.46, 95% CI 0.86–2.48) と生産率 (RR 2.05, 95% CI 0.96–4.36) を改善しないものの、流産率を低下させた (RR 0.51, 95% CI 0.32–0.82)。2019 年のコクランレビューでも SCH に対する L-T₄ 投与は流産率を改善しないものの

(RR 0.11, 95% CI 0.01-1.98)、生産率を改善した(RR 2.13, 95% CI 1.07-4.21)。しかし甲状腺機能正常かつ TAI 陽性例においては、L-T₄ 投与は生産率も流産率も改善しなかった。2020 年の Venables らの RCT14 報の MA では甲状腺機能正常例における TAI の有無による ART 成績の差を検討しており、臨床妊娠(OR 0.88, 95% CI 0.69-1.12)、生産(OR 0.84, 95% CI 0.67-1.06)、流産(OR 1.18, 95% CI 0.52-2.64)のいずれにおいても差を認めなかった。

・考察とまとめ

そもそもの体外受精の適応となった両側卵管閉塞や、顕微授精に際し精巣内精子採取が必要な症例など、一部には絶対的と言える適応疾患もわずかに存在するが、生殖補助医療は妊娠の確率を高める手法として、その適応を拡大することによって広く普及してきたという現状がある。妊娠成立は個体全体に関わるイベントであり、ゆえに関係する臓器は多岐に渡り、不妊症の原因も多様かつ複雑であるが、不妊治療としての生殖補助医療は、これらの問題を機械的に一定程度バイパスできる技術としての地位を獲得したとも換言することができる。さらに一般不妊治療では全くのブラックボックスであった卵子成熟、受精、胚発育に関する多くの知見を提供し、これらを新しいターゲットとして、さらなる妊娠率・生産率向上を目的とした新技術の開発・導入が絶え間なく研究されている。2021年に上梓された生殖医療ガイドラインはこのような技術の有効性についての議論を中心としてまとめられたものである。

このような背景は不妊因子を軽視する状況を産みだしかねないが、一方で、生殖補助医療の適応と普及の拡大により、生殖補助医療成績に影響を与える身体的要因と疾患等について情報がもたらされることとなった。また妊娠予後および周産期リスクについても、長らく議論のある ART 自身の影響に加えて、代表的な不妊因子のひとつである子宮内膜症、潜在性を含む甲状腺機能低下症などについて妊娠方法別の報告がなされるようになったのも生殖補助医療症例の増加によるものと推測される。本検討はこのような知見の蓄積を背景に冒頭に述べた目的に沿ってエビデンスを収集した。

婦人科疾患としては、子宮筋腫、子宮腺筋症、子宮内膜症のそれぞれが生殖補助医療成績へ影響を及ぼすことがメタ解析において示唆されている。周産期リスクについては子宮腺筋症を対象とした IVF 妊娠における早産、妊娠高血圧症候群の増加が報告されている。子宮内膜症の周産期リスクについては、すでに複数のメタ解析が存在していることがよく知られており今回の検討からは除外したが、ガイドラインに採用する場合には再度エビデンス収集が必要であろう。これら疾患については、妊孕性改善目的の手術療法も重要な選択肢であるが、手術介入の有効性の議論は本調査範囲を超えるものであり、本報告書では有用性が明らかな粘膜下筋腫の切除に言及するにとどめた。

一方、他科併存症では、肥満と甲状腺機能低下症の ART 成績への影響が報告されている。肥満女性の減量については、不妊治療成績以外の観点からも推奨されることに異論はないであろうが、不妊治療成績改善に有効とする明らかなエビデンスは収集されなかった。一方で、潜在性を含む甲状腺機能低下症について、レボチロキシン Na 投与が有用であるとする結果が得られたが、投与基準の明確化は課題として残されている。比較的頻度の高い糖尿病と高血圧については、不妊治療成績への影響の有無に関するエビデンスは収集されなかったが、妊娠時の周産期リスクの観点からは、十分な注意と管理が必要であることが示唆されている。

診療ガイドラインには「健康に関する重要な課題について、医療利用者と提供者の意思決定を支援するために、システマティックレビューによりエビデンス総体を評価し、益と害のバランスを勘案して、最適と考えられる推奨を提示する文書(Minds 診療ガイドライン作成マニュアル編集委員会)」との定義があり、主要な診療ガイドラインは、健康に関する重要な課題として特定の疾患を対象に作成されている。生殖医療ガイドラインにおける健康に関する重要な課題とは言うまでもなく不妊症であるが、前述したように不妊症の原因疾患は多様かつ時に複

合的である。また生殖補助医療のほとんどは、不妊因子の直接的解決を目指すものではない。ゆえに PICO に則り、個々の医療技術を不妊因子別対象に分けて議論することには限界があると言わざるを得ない。

一方で、不妊治療のゴールが健全な育児の開始であると考えれば、治療成績および周産期リスクと関連する併存疾患について、いわゆる害としての影響を軽視することができないのも厳然とした事実である。本検討では、不妊因子となる代表的な器質的婦人科疾患と比較的頻度の高い全身性の併存症について、不妊治療成績に与える影響および周産期リスクについてのエビデンスをまとめることができた。これらは不妊治療における意思決定に際し、患者カップルに提供されるべき情報であり、ガイドラインの背景疑問として採用される意義があると考えられる。

厚生労働省からご提案の課題

(厚生労働省からご提案の課題 - 1)

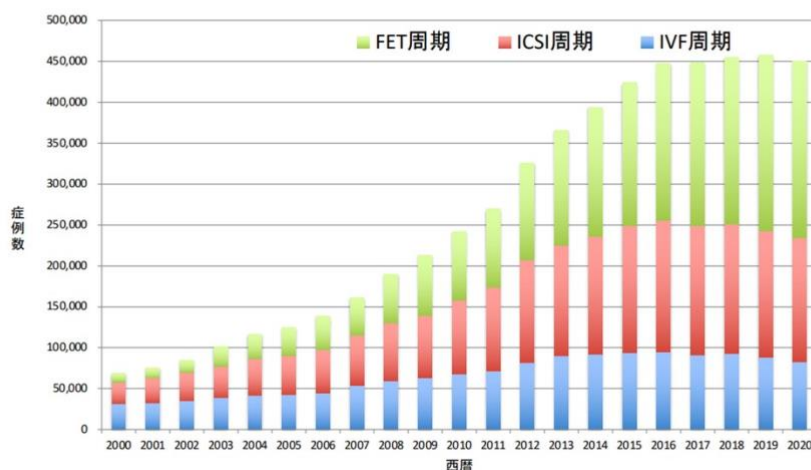
生殖補助医療での年齢別妊娠・出産率、流産率、累積妊娠率・分娩率

●不妊治療の実施件数の年次推移

2020年の日本の総治療周期数は449,900件であり、2019年の458,101件をピークにやや低下している。IVF(体外受精)周期数、ICSI(顕微授精)周期数ともに低下している。一方、FET(凍結胚移植)周期数は215,285件であり、増加し続けている。

不妊治療の実施件数の年次推移(2000-2020年)

2020年
449,900件

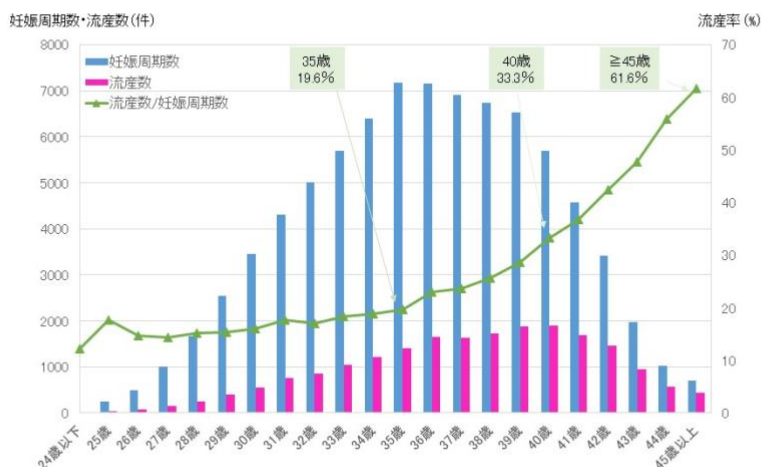


日本産科婦人科学会2020年データ

●不妊治療における年齢と流産率

一般的に加齢により流産率は上昇することが知られている。2020年の体外受精・胚移植における妊娠周期数と流産数を見ても、同様の結果であることがわかる。35歳までの流産率は20%以下だが、36-39歳は22-29%、40歳になると33.3%、45歳を超えると61.6%と上昇する。

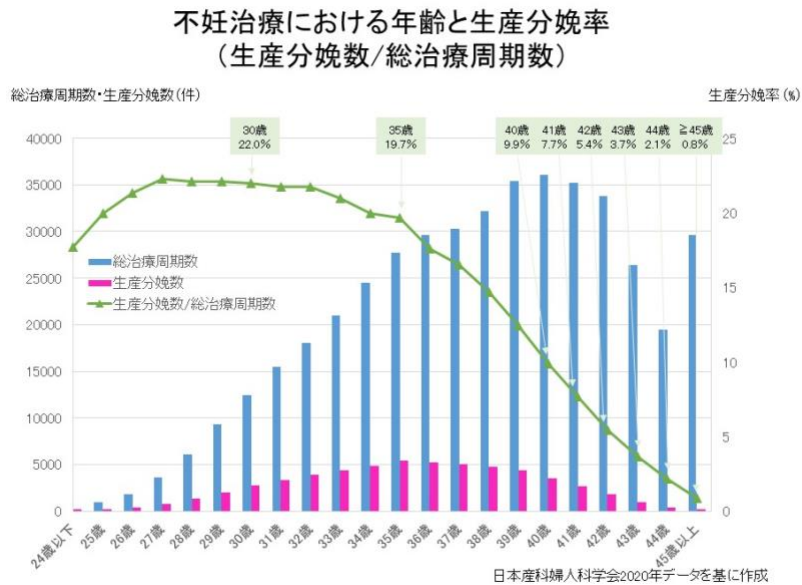
不妊治療における年齢と流産率
(流産数/妊娠周期数)



日本産科婦人科学会2020年データを基に作成

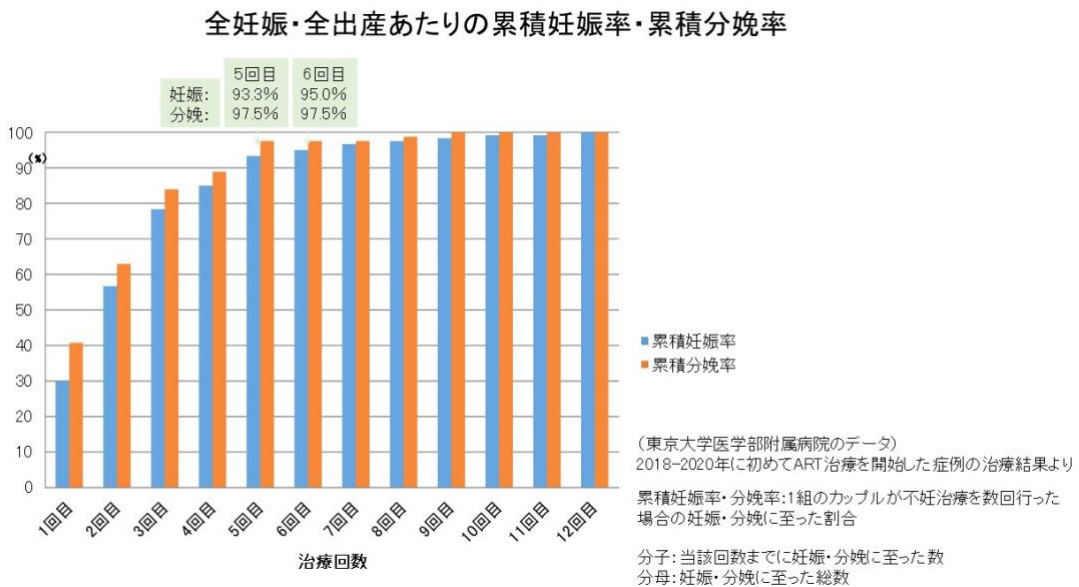
●不妊治療における年齢と生産分婉率

2020年の体外受診・胚移植における生産分婉率(生産分婉数/総治療周期数)は年齢とともに顕著に低下する。35歳までの生産分婉率は20%程度だが、36歳を超えると生産分婉率は急激に低下して、40歳になると10%以下に、43歳になると4%以下となる。



●全妊娠・全出産あたりの累積妊娠率・累積分婉率

東京大学医学部附属病院において2018年から2020年に初めてART治療を開始したカップルを対象に、累積妊娠率・累積分婉率を調べた。妊娠に至ったカップルは最大12回胚移植を施行しているが、93.3%のカップルは5回目までの胚移植で妊娠が得られたことがわかる。分娩に至ったカップルは最大9回胚移植を施行しているが、97.5%のカップルは5回目までの胚移植で分娩に至ったことがわかる。

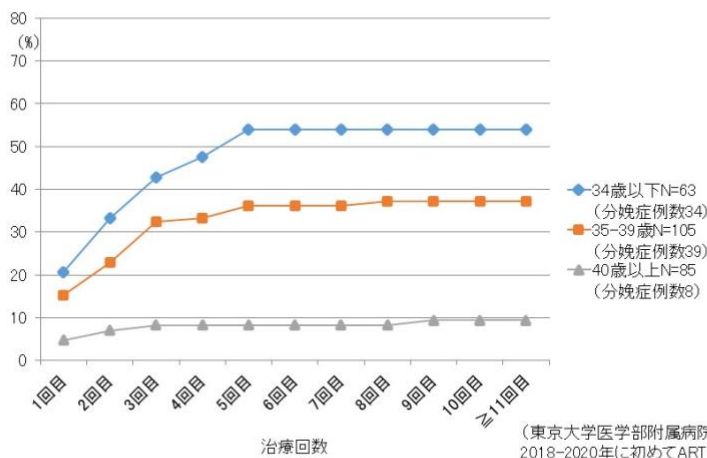


●年齢別にみた累積分娩率

東京大学医学部附属病院において 2018 年から 2020 年に初めて ART 治療を開始したカップルを対象に、年齢別にみた累積分娩率を調べた。

採卵時に 34 歳以下の場合、最大 5 回の胚移植を行うことにより 54%のカップルが分娩に至っている。採卵時に 35-39 歳の場合、3 回の胚移植で 32%、5 回の胚移植で 36%、最大 8 回の胚移植で 37%のカップルが分娩に至っている。採卵時に 40 歳以上の場合、3 回の胚移植で 8.2%、最大 9 回の胚移植で 9.4%のカップルが分娩に至っている。このように、採卵時の年齢が上昇すると、累積分娩率が低下して、分娩に至るまでの胚移植回数が増加することがわかる。

年齢別にみた累積分娩率



(東京大学医学部附属病院のデータ)
 2018-2020年に初めてART治療を開始した253症例の治療結果より
 累積分娩率:1組のカップルが不妊治療を数回行った場合の分娩に至った割合
 分子:当該回数までに分娩に至った数
 分母:分娩に至った総数

(厚生労働省からご提案の課題 - 2)

人工授精時の男性の感染症検査(HB,HC 等)の必要性、検査項目

要約

夫婦間の人工授精では、当該不妊夫婦が性行為を行っていることを前提としている。性行為と比較して粘膜の接触がない人工授精は夫から妻への感染の危険性は一般的に低いと考えられるので、夫婦間の感染防御という意味では人工授精施行前の感染症検査は必要ないという考え方もある。

そのことを考慮した上でも、人工授精・体外受精施行前に一回は感染症スクリーニングの施行が望ましいと考えられる理由は、1)未感染の妻への水平感染、2)胎児・新生児への感染および 3)診療スペースや凍結保存容器内での cross-contamination による第三者への感染、の三つを予防することができると考えられるからである。

このことを根拠として、欧州および合衆国の不妊学会は治療開始前スクリーニングとして HIV,HBV,HCV の三つのウイルス感染症を必須とし、HTLV-1,梅毒などその国特有の感染症についても考慮すべきとの勧告を出している。

我が国の HTLV-1,梅毒の有病率、成人・新生児の疾患発生状況を考えたとき、この二つの感染症も人工授精前のスクリーニング検査として考慮すべきと考えられた。

精液は、それが夫のものであれ、第三者からの提供によるものであれ、妻への感染を起こす危険性がある。これは精液中、特に精しょう中に様々な感染粒子が感染力を持ったまま存在しているためで、性行為を伴わない人工授精であっても男性から女性への水平感染が起こりうる。精液は輸血と同様、異個体に注入(人工授精など)する際には感染に極めて慎重な対応が必要な検体である。

これらの感染者は感染時期が明確ではないことや、自覚症状がないことが多く通常の職場健康診断ではスクリーニング項目に入っていないため、適切な時期に治療を受ける機会がなく、本人が気づかないうちに水平感染をおこしたり、肝硬変や肝がんへ移行する感染者が多く存在することが問題となっている。

特に、不妊治療のひとつである人工授精では、女性への感染が起こった場合、女性から胎児への垂直感染が起こりうる。感染した胎児は持続感染となり、負のサイクルを形成することになる。一方これらの感染症は、あらかじめわかっていたら妊娠前に適切な感染予防策をとることができ、妻への感染率を低減させることができる。

本項では、Human immunodeficiency virus (以下 HIV)、Hepatitis B virus (以下、HBV)、Hepatitis C virus (以下、HCV)を中心に、人工授精前に男性の感染症検査を行うことの是非、行わなかった場合のリスクを述べるとともに、各感染症の現状(有病率、精液を介した水平感染が起こる evidence、精液から女性への感染予防策など)について概説する。

A. 総論

1. 夫婦間人工授精における感染症スクリーニング検査の必要性

夫婦間の人工授精では、当該不妊夫婦が性行為を行っていることを前提としている。性行為と比較して粘膜の接触がない人工授精は夫から妻への感染の危険性は一般的に低いと考えられるので、夫婦間の感染防御という意味では人工授精施行前の感染症検査は必要ないという考え方もある。

そのことを考慮した上でも、人工授精・体外受精施行前に一回は感染症スクリーニングの施行が望ましいと考えられる理由は下記である。

1) 妻が未感染の場合にそれ以降の感染予防

夫の感染時期はいろいろであり、婚姻成立後、あるいは第一子妊娠後に感染する可能性もある。実際我々の外来に精液洗浄による治療を求めて来院する患者(夫)の中でも、第一子、あるいは第二子を作る際の不妊検査などで HIV 感染が発見された例が少なからず見られる。

このような場合、不妊治療前の一回の検査をするだけで、妻や、全く責任のない胎児への垂直感染の危険性を大きく減らすことができる。

2018 年の Cohlen らの review でも¹、evidence の強さは very low であるとしながらも、「(特に低所得の国、あるいはそのような集団の中では)感染防御は大きな意義をもつため、カップルあるいは個人、あるいは人工授精(Artificial insemination with husband' semen、以下 AIH)に精子を提供する男性は感染病原体についてその土地・社会あるいは国の基準によるスクリーニングを受けるべきである」、とされている。

2) 培養室内での他者(他の患者、および医療従事者)への感染予防

感染男性からの精液検体が不妊治療ユニットや培養室に入った場合、①他の患者、②ユニットに出入りする医療スタッフ、への感染の危険性が生じる。

他の患者への感染は、その感染病原体がどの程度感染力があるかによっても異なるが、もっとも危険なのは患者取り違えによる誤った人工授精である。あつてはならないことであるが、ヒトが行う医療である限り、その発生を完全に 0 にすることはできない。

一方、同じ液体窒素凍結容器内に保存してあった感染者の検体から、液体窒素に浮遊したウイルスが他者に感染することも考えられる。このような感染粒子の伝播については、実際急性肝炎患者の血液バッグの破損によって、同じタンクに凍結保存されていた骨髄検体が汚染され、この骨髄の移植を受けた 6 名の患者が肝炎を発症したという事例が Lancet に報告されている²。

Hanson らは、HIV、HBV、HCV 等の感染者から提出された検体については、1) 取り扱う場所を独立した培養室、あるいは培養室内の専用の場所で扱う、2) 検体容器 (tube など) を密閉型とし、かつ凍結検体を他の患者とは別のタンク、また液体窒素蒸気のタンクに保管する(これらのウイルスは液体窒素中で生存していることが確認されている)、ことを推奨している³。

医療者への感染もちろん重要である。ただ、毎回提出される精液検体をすべて、PCR などで検査することは実際上不可能であるため、医療者自身が standard precaution を遵守することが肝要である。

B. 各国のガイドライン

このような懸念を受けて、各国はそれぞれ独自のガイドラインを人工授精や、体外受精の際の夫婦の感染症検査について設けている。

1) 欧州

Wingfield らは、2010 年に夫婦間の不妊治療における、HIV、HBV、HCV など血液感染するウイルス疾患の定期的スクリーニングについて言及している⁴。この論文はその当時 EU の組織移植規定(組織移植全般について必要な手続きを定めた EU 全体の規制)で明確な基準が示されていなかった夫婦間の移植(人工授精)で、そのたび毎に感染症検査(HIV,HBV,HCV)が必要かについて議論しており、この時点で毎回(Ireland)、1-2 年ごと

(Finland)、毎年(England)など各国で対応がそれぞれ異なっていた。ここでは人工授精の場合、初回は検査が必要であることは「good practice」であることが結論として述べられているが、その後の定期的なスクリーニング検査の必要性については明確なエビデンスがないと結論づけている。

この論文では、HFEA の報告では患者の取り違えによる授精や移植は 52000 回に 2 回だけであり殆ど無視すること、培養士など職員への検体からの感染リスクがあること、凍結容器内での cross-contamination が起こりうること、human-error を考えて感染検体と非感染検体は別の培養室で取り扱うのが安全と考えられること、が述べられている。凍結容器内での感染粒子の伝播については、前述した急性肝炎患者検体からのタンク内液体窒素を介した水平伝播の報告はあるものの、この論文では配偶子や受精卵凍結保存の 30 年の歴史の中でこのような感染は 1 例も報告されていないことも強調されている。ただ同時に、凍結前の感染症スクリーニングと、最低限定期的なスクリーニングの必要性、できれば精液は洗浄すること、キャップ付きの cryovial では液体窒素が侵入するために伝播の危険性が高くなること、なども明記されている。

2) EU の組織移植規定

前述の EU の組織移植規定の最新版では、夫婦間の生殖細胞の移植(人工授精、体外受精)において、提供配偶子・提供胚の移植ほどには厳密ではないものの、下記のような疾患について、初回の移植前に検査が必要であることが勧告されている⁵。この規定は不妊治療を含む組織移植全般に関して、EU 加盟国全てで遵守されている。

(検査が必須であるもの)

- a. HIV (抗 HIV-1 および 抗 HIV-2 抗原/抗体)
- b. HBV (HBsAg および HBc 抗原)
- c. HCV (抗 HCV 抗原/抗体)

(各国の事情により検査を考慮すべきもの)

- a. 梅毒(梅毒トレポネーマ特異的及び非特異的検査; RPR、TPHA)
- b. HTLV-1 (抗 HTLV-1 抗体); 特に感染地域で生まれたもの
- c. マラリア, Zika virus, サイトメガロウイルス, クラミジア, トリパノソーマ その他その地方に特有の疾患

EU 加盟国では、血液検査は初回人工授精、胚移植施行前の 3 ヶ月以内に行う必要があり、少なくとも 2 年以内に反復して検査をする必要があると規定されている。

またこれらの感染症検査で陽性反応が出た場合でも、感染症専門家の consult を受けたうえで治療をすることは可能であるが、取扱や保管は一般患者とは異なる場所で行う必要が明記されている。

3) 米国不妊学会 (American Society of Reproductive Medicine、以下 ASRM)

ASRM は人工授精を考える夫婦間でのウイルススクリーニングの必要性について、2020 年に最新の勧告を出している⁶。これは 2013 年に出された同種の勧告の改訂版である。

この中で、夫婦が生殖補助医療を行う際には、夫婦それぞれがウイルススクリーニングを行うことを勧めており、それはパートナーや生まれてくる子どもへの感染を未然に防ぐことと、容器などを区別することにより cross-contamination(他者への感染)のリスクを最小に抑えるためであると明記されている。

スクリーニングの対象とするウイルスについては欧州同様 HIV、HBV、HCV は必須であるが、これ以外のウイルス感染症への留意の必要性についても言及しており、Zika Virus⁷や西ナイル熱ウイルス⁸について別に勧告をしていることが明記されている。

4) NICE

英国の医療保険についてのガイドラインである NICE ガイドラインでは、人工授精については感染症検査の必要性について記載はない。ただ、IVF 施行前に夫婦の HIV、HBV、HCV のスクリーニングをすべきことが明記されている⁹。

C. 感染症各論

各ウイルスの特徴、およびワクチンや精液中への排出、配偶子 DNA への組み込みなどについての現状一覧を表 1 に示す。

1. HIV

1) 有病率

令和 3 年の日本国内の総感染者数は、HIV 感染、AIDS、及び凝固因子製剤による感染を含めて約 32000 人であった¹⁰。年齢階級別にみると、HIV 感染者では 30-34 歳が最も多く、次いで 25-29 歳であり、生殖年齢男性が多く見られる。HIV は AIDS を発病するまで全く無症状のことが多く、無症状の既婚男性の中にも感染者が存在する。前述のように、我々の外来に精液洗浄による治療を求めて来院する患者(夫)の中でも、第一子、あるいは第二子を作る際の不妊検査などで HIV 感染が発見された例が少なからず見られる。

2) 精液を介した水平感染と、感染女性から胎児への垂直感染

ヒト後天性免疫不全ウイルス(Human Immunodeficiency Virus type 1、HIV-1)は、提供された精液から感染が起こっているために、精液を介して感染することが確実である。1985 年にすでに、当時は HTLV-Ⅲと呼ばれていた HIV-1 が提供精液から女性に感染したという報告が Lancet に掲載されている¹¹。これらの提供精液による感染例では、提供精液中の *envelope* 遺伝子 V3 領域(高頻度変異領域)と、感染したレシピエントの V3 領域の塩基配列は 100% 一致しており、他のルートからの感染は考えにくい¹²。

一旦水平感染をおこせば妻の感染症治療が必要となると同時に、(化学療法の普及により 1% 程度と低率にはなったものの)母子感染を一定の確率でおこす。

一方、現在では HIV は抗ウイルス薬の開発により本人の生存だけでなく、他者への水平感染もほぼ防ぐことができるようになってきている。現在では異なる作用部位の抗 HIV 薬を 3 剤以上組み合わせて服用する多剤併用療法が標準治療であり、継続的な治療を受け、HIV-RNA 量が検出感度未満(Undetectable)の状態が最低 6 ヶ月以上持続していれば、相手が HIV 感染男性であっても女性であっても膣、肛門、口腔を使用した性行為で水平感染リスクはない(Untransmittable)とされており、さらにこれは感染者が何らかの性感染症に罹っていた場合でも同様である^{13,14,15}。

そのため感染者の社会的差別を根絶する目的で、全世界において「Undetectable=Untransmittable (U=U)」(検出されなければ感染しない)というキャンペーンが 10 年ほど前から全世界で繰り広げられ、我が国でも 2018 年に日本エイズ学会が U=U キャンペーン支持の方針を公表している。HIV は現在では、感染がわかってさえいれ

ば、治療によってほぼ 100%水平感染、垂直感染を防ぐことができる。

3) 精液から女性への感染予防策

① U=U

前述したように血中 HIV-RNA 量検出感度未満の状態が維持できていれば、U=U キャンペーンの方針に従う。6ヶ月以上この状態が続いていれば、通常の性交による妊娠や、不妊治療を行っても感染の危険性はない。

② 精液洗浄

化学療法が奏功しない、あるいは何らかの理由により化学療法を施行していないためにウイルスが血中から検出される症例に対しては、精液洗浄による AIH、IVF-ICSI が有効な治療法となる。

従来から、密度勾配法と swim up と組み合わせて RT-PCR にて HIV-1 陰性を確認した精子を用いて、人工授精¹⁶、あるいは IVF-ICSI^{17,18}を施行し、妻や児への感染を起こさずに挙児を得たという報告は数多い。我々も 0~80% Percoll の連続密度勾配を使用し精液を遠心分離し、その後 swim up を行うことでウイルスと精子を分離し、得られた精子を用いて顕微授精を行った結果、319 例の胚移植によって 91 児を得ているが、妻・児への水平感染はこれまで一例も起こしていない¹⁹。

なおアメリカは長く洗浄-swim up 精子による人工授精を禁止してきた。これは初期に、不十分な洗浄(密度勾配を除いた)で、人工授精による HIV の水平感染例がでたからであるが、2013 年にはすでにこれを撤回すべきであるという意見も出されている²⁰。

2. HCV

1) 有病率

我が国の HCV 持続感染者は、90 万人~130 万人存在するといわれる²¹。

2) 精液を介した水平感染と、感染女性から胎児への垂直感染

HCV の精液を介した感染リスクは、よくわかっていない。水平感染の多くは血液製剤の注入(輸血など)、あるいは針刺し事故などによっておこる。ただ HIV と異なり、妊娠中投与できる(胎児への安全性が確認されている)化学療法剤がないこともあって、母親が HCV 持続感染者の場合、出生児の 6%が垂直感染する。

HCV 持続感染者の 1/4 程度には精しよう中からウイルスが検出され、2020 年の ASRM の勧告でも、HCV の精液を介した感染は「small but measurable risk(少数であるが測定可能—有意なリスク)」とされている。

3) 精液から女性への感染予防策

① 化学療法

HCV は HIV 同様、有効なワクチンが現在も存在しない。そのため、夫婦間水平感染の予防は特に重要である。

男性が感染者で合った場合、初期治療は抗ウイルス剤(直接型抗ウイルス薬(DAA))による治療である。8-12 週の治療によって、98%の患者は完治(12 週後もウイルスが検出されない)する。注意すべきは、有効な薬剤の一つであるリバビリンには催奇形性の懸念があることで、妊娠中・授乳中の女性患者に対しての投与は禁忌であるばかりでなく、妊娠する可能性のある女性患者、およびパートナーが妊娠する可能性のある男性患者に投与する場合は薬剤投与終了後 6ヶ月まで避妊を指示する必要がある。

② 精液洗浄

HCV に関しても、洗浄が有用かもしれないという報告がある²²。

3. HBV

1) 有病率

我が国の HBV 持続感染者は、110 万人～120 万人存在するといわれる²³。

2) 精液を介した水平感染と、感染女性から胎児への垂直感染

HBV に感染したパートナーと性生活を営んでいるパートナーは、25%の確率で感染するという²⁴。

HBV の感染では、HBV 感染を必要とする HDV 感染の予防の重要で、HDV が重複感染しているとより肝硬変になりやすいと言われている。

現在、HBV の感染予防策として出生直後の免疫グロブリン＋ワクチン投与、その後 1, 6 ヶ月でワクチン投与が行われている。ただ、HBe 抗原陽性妊婦から出生した児に垂直感染予防を確実に実施しても 2-5%に胎内での垂直感染を起こすといわれており²⁵、2020 年の日本でのガイドラインでは記載がないが WHO はウイルス血中濃度が高値の妊婦に対して、生後のワクチンとともに 28 週からの抗ウイルス薬 (tenofovir) 服用を勧めている²⁶。

さらに日本において、5 歳以下の児の B 型肝炎水平感染で最も多い感染源は同居者の父親であるというデータがある²⁷。従って父親がキャリアであることが判明した場合には、たとえ母親が感染していなくても児に対する感染予防策 (HBIG は不要で 0, 1, 6 か月のワクチンのみ) が考慮される。「産婦人科診療ガイドライン—産科編 2017」の CQ606 の解説には、母以外の同居親族に HBV キャリアがいる場合、出生直後からの 3 回 B 型肝炎ワクチン接種を定期接種として行うことを推奨している (なお 2020 年版のガイドラインではこの記載はない)。

3) 精液から女性への感染予防策

HBV の提供精子を用いた人工授精 (AID) を介した水平感染も報告されている²⁸。この症例では、新鮮提供精子による人工授精を受けた女性が、授精の 6 ヶ月後 (妊娠は成立しなかった) に黄疸、昏睡と言う急性肝炎症状で入院、後に提供者が HBsAg 陽性であり、その subtype は adw で患者と一致してことがわかったという。この報告により、アメリカ不妊学会は提供精子スクリーニングにおけるガイドラインを改変している²⁹。

もし不妊カップルで夫のみが HBV キャリアだった場合、理想的には妻にワクチン接種、抗体価上昇を確認してから治療することが望ましい。

4. HTLV-1 (Human T-cell Leukemia Virus type 1)

HTLV は成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (Adult T-cell leukemia: ATL)、HTLV-1 関連脊髄症 (HTLV-1 associated myelopathy: HAM) および HTLV-1 ぶどう膜炎 (HTLV-1 uveitis: HU) などの疾患を引き起こす感染症である。我が国では九州・沖縄地方を含む南西日本に特に多く見られ、先進国の中で唯一 HTLV-1 が風土病として確立している。輸血で HTLV-1 スクリーニングがなされるようになってから、感染経路は母子感染が殆どとなった。

1) 有病率

2008 年度～2010 年度に行われた HTLV-1 キャリア実態調査において、全国のキャリア数が約 108 万人と推定され、九州・沖縄地方のキャリア割合が減少する一方、関東・近畿地方の大都市圏で増加しており、全国に拡散する傾向がある。

HIV と似たようなウイルスであるために、密度勾配—swimup による洗浄が考慮される。

5. 梅毒

1) 有病率

梅毒は届け出感染症であるが、その届出数は 2022 年まで一貫して増えており、男女とも 100 件/週程度で大多数が異性間性感染で、20-60 代超まで広い範囲の年齢で見られる。

妊娠に合併した梅毒の報告も 2019 年は 208 例、2020 年は 185 例(うち 1 例異所性妊娠)あり、先天梅毒と考えられる症例もそれぞれ 23 例、19 例であった。

2) 精液を介した水平感染が起こる evidence

梅毒は、妊娠中の早期発見と適切な治療を行うことで母子感染を防ぐことができるが、妊娠早期の検査で陰性であってもその後陽転する、新たに感染するなどの例もあり、先天梅毒の根絶は難しい。ただ、性風俗従事者以外の女性の感染の大部分は夫からと考えられるため、不妊検査に夫の梅毒検査を含めることは先天梅毒を減少させる一定の効果はあると考えられる。

梅毒に関しては、今回調査した限り提供精子をもちいた人工授精で水平感染を起こした例は明らかでなかった。

3) 精液から女性への感染予防策

夫の抗生剤投与が第一選択となる。

6. その他

その他、胎児に先天奇形や重篤な疾病を起こす病原体として cytomegalovirus、Toxoplasma gondii、および単純ヘルペスウイルスがある。しかし、これらの病原体はいずれも、単回血液検査による感染性の確認が困難であり、現時点ではスクリーニングとして行うことは適切でないと考えられる。

まとめ

人工授精を行う前の男性に対して感染症検査を行う benefit があると判断されるためには少なくとも、

1) 当該感染症が妻への水平感染、あるいは胎児・新生児への垂直感染をおこすこと

2) 血液検査の特異性、感度が十分であること

の、2 つが満たされていなければならない。HIV、HBV、HCV、HTLV-1、梅毒はいずれもこの二つの条件に合致し、多くの参加施設で妊娠中のスクリーニング検査が行われている。

HIV、HBV、HCV の三つのウイルス疾患については、欧州・米国の不妊学会の勧告にもあるとおり妻への水平・胎児への垂直感染の予防とともに、診療スペースや凍結保存容器からの cross-contamination を予防するためにも思考が必須である。

このほか、EU の組織移植の際の規定にも挙げられている HTLV-1、梅毒も考慮すべきであろう。HTLV-1 は我が国に比較的多い感染症であり、HIV と同種のウイルスであるので同種の感染予防策がとれることから、スクリーニング項目に入れるのが妥当と考えられる。また梅毒は、妊娠初期の検査で治療開始すれば先天梅毒や妻の梅毒の進行は防ぐことはできるが、多くの場合の感染源となっている夫の感染を確認することは、妊娠中の新たな感染による先天梅毒を防ぐ意味でも意義がある。

¹ Cohlen B, Bijkerk A, Van der Poel S, Ombelet W. IUI: review and systematic assessment of the evidence that supports global recommendations. Hum Reprod

Update. 2018 May 1;24(3):300-319. doi: 10.1093/humupd/dmx041. PMID: 29452361.

² Tedder RS, Zuckerman MA, Goldstone AH, Hawkins AE, Fielding A, Briggs EM, Irwin D, Blair S, Gorman AM, Patterson KG, et al. Hepatitis B transmission from contaminated cryopreservation tank. *Lancet*. 1995 Jul 15;346(8968):137-40. doi: 10.1016/s0140-6736(95)91207-x. PMID: 7603227.

³ Hanson BM, Dorais JA. Reproductive considerations in the setting of chronic viral illness. *Am J Obstet Gynecol*. 2017 Jul;217(1):4-10. doi: 10.1016/j.ajog.2017.02.012. Epub 2017 Feb 14. PMID: 28209492.

⁴ Wingfield M, Cottell E. Viral screening of couples undergoing partner donation in assisted reproduction with regard to EU Directives 2004/23/EC, 2006/17/EC and 2006/86/EC: what is the evidence for repeated screening? *Hum Reprod*. 2010 Dec;25(12):3058-65. doi: 10.1093/humrep/deq261. Epub 2010 Oct 17. PMID: 20956268.

⁵ European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care. Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application. 29.5.1. Testing in partner donation. https://freepub.edqm.eu/publications/AUTOPUB_17/detail (2023/1/30 最終 access)

⁶ Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Recommendations for reducing the risk of viral transmission during fertility treatment with the use of autologous gametes: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2020 Dec;114(6):1158-1164. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.09.133. PMID: 33280723.

⁷ American Society for Reproductive Medicine. Caring for Women and Men Of Reproductive Age with Possible Zika Virus Exposure. <https://www.guidelinecentral.com/guideline/8181/> (2023/1/30 最終 access)

⁸ Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and Society for Assisted Reproductive Technology. Electronic address: asrm@asrm.org; Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and Society for Assisted Reproductive Technology. Position statement on West Nile virus: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2018 Oct;110(5):e1-e3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.07.009. PMID: 30316447.

⁹ NICE guidance. Fertility problems: assessment and treatment. 1.3.9 Testing for viral status. <https://www.nice.org.uk/guidance/cg156/chapter/Recommendations#investigation-of-fertility-problems-and-management-strategies> (2023/1/30 最終 access)

¹⁰ 厚生労働省エイズ動向委員会。令和3(2021)年エイズ発生動向 <https://api-net.jfap.or.jp/status/japan/data/2021/nenpo/r03gaiyo.pdf>

(2023/1/30 最終 access)

- ¹¹ Stewart GJ, Tyler JP, Cunningham AL, Barr JA, Driscoll GL, Gold J, Lamont BJ. Transmission of human T-cell lymphotropic virus type III (HTLV-III) by artificial insemination by donor. *Lancet*. 1985 Sep 14;2(8455):581-5. doi: 10.1016/s0140-6736(85)90585-9. PMID: 2863597.
- ¹² Matz B, Kupfer B, Ko Y, Walger P, Vetter H, Eberle J, Gürtler L. HIV-1 infection by artificial insemination. *Lancet*. 1998 Mar 7;351(9104):728. doi: 10.1016/S0140-6736(05)78498-1. PMID: 9504526.
- ¹³ Bavinton BR, Pinto AN, Phanuphak N, Grinsztejn B, Prestage GP, Zablotska-Manos IB, Jin F, Fairley CK, Moore R, Roth N, Bloch M, Pell C, McNulty AM, Baker D, Hoy J, Tee BK, Templeton DJ, Cooper DA, Emery S, Kelleher A, Grulich AE; Opposites Attract Study Group. Viral suppression and HIV transmission in serodiscordant male couples: an international, prospective, observational, cohort study. *Lancet HIV*. 2018 Aug;5(8):e438-e447. doi: 10.1016/S2352-3018(18)30132-2. Epub 2018 Jul 17. Erratum in: *Lancet HIV*. 2018 Oct;5(10):e545. PMID: 30025681.
- ¹⁴ Rodger AJ, Cambiano V, Bruun T, Vernazza P, Collins S, van Lunzen J, Corbelli GM, Estrada V, Geretti AM, Beloukas A, Asboe D, Viciano P, Gutiérrez F, Clotet B, Pradier C, Gerstoft J, Weber R, Westling K, Wandeler G, Prins JM, Rieger A, Stoeckle M, Kümmerle T, Bini T, Ammassari A, Gilson R, Krznaric I, Ristola M, Zangerle R, Handberg P, Antela A, Allan S, Phillips AN, Lundgren J; PARTNER Study Group. Sexual Activity Without Condoms and Risk of HIV Transmission in Serodifferent Couples When the HIV-Positive Partner Is Using Suppressive Antiretroviral Therapy. *JAMA*. 2016 Jul 12;316(2):171-81. doi: 10.1001/jama.2016.5148. Erratum in: *JAMA*. 2016 Aug 9;316(6):667. Erratum in: *JAMA*. 2016 Nov 15;316(19):2048. PMID: 27404185.
- ¹⁵ Rodger AJ, Cambiano V, Bruun T, Vernazza P, Collins S, Degen O, Corbelli GM, Estrada V, Geretti AM, Beloukas A, Raben D, Coll P, Antinori A, Nwokolo N, Rieger A, Prins JM, Blaxhult A, Weber R, Van Eeden A, Brockmeyer NH, Clarke A, Del Romero Guerrero J, Raffi F, Bogner JR, Wandeler G, Gerstoft J, Gutiérrez F, Brinkman K, Kitchen M, Ostergaard L, Leon A, Ristola M, Jessen H, Stellbrink HJ, Phillips AN, Lundgren J; PARTNER Study Group. Risk of HIV transmission through condomless sex in serodifferent gay couples with the HIV-positive partner taking suppressive antiretroviral therapy (PARTNER): final results of a multicentre, prospective, observational study. *Lancet*. 2019 Jun 15;393(10189):2428-2438. doi: 10.1016/S0140-6736(19)30418-0. Epub 2019 May 2. PMID: 31056293; PMCID: PMC6584382.
- ¹⁶ Savasi V, Ferrazzi E, Lanzani C, Oneta M, Parrilla B, Persico T. Safety of sperm washing and ART outcome in 741 HIV-1-serodiscordant couples. *Hum Reprod*.

2007 Mar;22(3):772-7. doi: 10.1093/humrep/del422. Epub 2006 Nov 15. PMID: 17107974.

¹⁷ Chu MC, Pena JE, Thornton MH 2nd, Sauer MV. Assessing the treatment efficacy of IVF with intracytoplasmic sperm injection in human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) serodiscordant couples. *Reprod Biomed Online*. 2005 Jan;10(1):130-4. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60814-0. PMID: 15705309.

¹⁸ Sauer MV, Wang JG, Douglas NC, Nakhuda GS, Vardhana P, Jovanovic V, Guarnaccia MM. Providing fertility care to men seropositive for human immunodeficiency virus: reviewing 10 years of experience and 420 consecutive cycles of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2009 Jun;91(6):2455-60. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.04.013. Epub 2008 Jun 13. PMID: 18555235.

¹⁹ Inoue O, Kuji N, Ito H, Yamada M, Hamatani T, Oyadomari A, Kato S, Hanabusa H, Isaka K, Tanaka M. Clinical efficacy of a combination of Percoll continuous density gradient and swim-up techniques for semen processing in HIV-1 serodiscordant couples. *Asian J Androl*. 2017 Mar-Apr;19(2):208-213. doi: 10.4103/1008-682X.173442. PMID: 26908065; PMCID: PMC5312220.

²⁰ Cohan D, Weber S, Aaron E. CDC should reverse its recommendation against semen washing-intrauterine insemination for HIV-serodifferent couples. *Am J Obstet Gynecol*. 2013 Sep;209(3):284. doi: 10.1016/j.ajog.2013.04.031. Epub 2013 Apr 27. PMID: 23628260.

²¹厚生労働省。肝炎総合対策の推進～肝炎とは https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou09/hepatitis_about.html (2023/1/30 最終 access)

²² Bourlet T, Lornage J, Maertens A, Garret AS, Saoudin H, Tardy JC, Jimenez C, Guerin JF, Pozzetto B, Levy R. Prospective evaluation of the threat related to the use of seminal fractions from hepatitis C virus-infected men in assisted reproductive techniques. *Hum Reprod*. 2009 Mar;24(3):530-5. doi: 10.1093/humrep/den414. Epub 2008 Dec 9. PMID: 19073618.

²³厚生労働省。肝炎総合対策の推進～肝炎とは https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou09/hepatitis_about.html (2023/1/30 最終 access)

²⁴ Mosley JW. The epidemiology of viral hepatitis: an overview. *Am J Med Sci*. 1975 Sep-Oct;270(2):253-70. doi: 10.1097/00000441-197509000-00005. PMID: 192077.

²⁵ American Academy of Pediatrics. Hepatitis B. In *RED BOOK 2015: Report of the Committee on Infectious Diseases*, 30th ed.; Kimberlin, D.W., Brady, M.T., Jackson, M.A., Long, S.S., Eds.; American Academy of Pediatrics: Elk Grove Village, IL, USA, 2015; pp. 400–423.

²⁶ World Health Organization. Prevention of mother-to-child transmission of hepatitis B virus: Guidelines on antiviral prophylaxis in pregnancy.

<https://www.who.int/publications/i/item/978-92-4-000270-8>

(2023/1/30 最終 access)

²⁷ Tajiri H, Tanaka Y, Kagimoto S, Murakami J, Tokuhara D, Mizokami M. Molecular evidence of father-to-child transmission of hepatitis B virus. *J Med Virol*. 2007 Jul;79(7):922-6. doi: 10.1002/jmv.20916. PMID: 17516534.

²⁸ Berry WR, Gottesfeld RL, Alter HJ, Vierling JM. Transmission of hepatitis B virus by artificial insemination. *JAMA*. 1987 Feb 27;257(8):1079-81. PMID: 3806899.

²⁹ American Fertility Society. New guidelines for the use of semen donor insemination: 1986. *Fertil Steril*. 1986 Oct;46(4) Suppl. 2):95S-110S. PMID: 11659031.

(厚生労働省からご提案の課題 - 3)

ヒアルロン酸含有培養液 Hyaluronic acid (HA) enriched transfer media

胚移植における有用性調査

構成

1. 背景
2. 厚労省からの質問と回答
3. 市販商品情報
4. References

1. 背景

生殖補助医療(ART)は国際的にも増加の一途を辿っており、培養技術および体外における胚培養培地組成の改善、および sequential あるいは one step culture media の利用が、最近の ART の進歩に貢献している[1]。ユビキタス細胞外マトリックス分子であるヒアルロン酸(Hyaluronic acid (HA))を有する専用の胚移植培地の使用は、実験及びランダム化比較試験(RCT)を含めた臨床研究において評価されてきた。

マウスモデルを含む *in vitro* 研究では、HA はそのレセプターである CD44 を介して細胞間および細胞とマトリックスの接着を促進し、HA は着床前期胚に発現するとともに[2]、さらに哺乳類の内膜間質にも発現している[3]ことが示唆されている。

着床に対する HA の有効性は Bontekoe らによる 2010 年のコクランレビュー[4]で評価され、胚移植用培地に使用した付着性化合物(ヒアルロン酸・フィブリンシーラント)によって臨床妊娠率が 8%増加したと報告された。3898 人の患者を含むフォローアップレビュー[5]は、臨床的妊娠率および生産率の改善 (1.17-1.69; 6 件の研究; n = 1,950)を報告した。解析の中で、低濃度の HA (l-HA)を含む培地と比較して、高濃度の HA (h-HA)を含む培養液では多胎妊娠のリスクが高くなると報告している。このエビデンスは中程度と評価されている。しかし、ほとんどの研究は新鮮胚移植周期で実施されたものであり、凍結融解胚移植(FET)サイクルに関するデータは非常に限られている。有害事象のリスクは HA の異なる濃度間で有意差はなかった。これらの臨床データの結果、多胎妊娠のリスクを低減するために、選択的単一胚移植 (SET)の際に HA リッチ培地を使用することが広がっている[6]。

一方、有効性を支持しないとする報告も存在する。4 つの研究によるサブグループ解析では、臨床妊娠率(OR 1.14, 95% CI 0.77-1.69, 4 件の研究, n = 506)および出生率(OR 0.97, 95%CI 0.52-1.80, 4 試験 n = 163)に対する治療効果の証拠は示されなかった。2 日目または 3 日目の新鮮胚移植が 169 サイクル、2 日目または 3 日目の凍結融解胚移植が 561 サイクルを対象に、FET サイクルにおける HA の有効性を評価した別の RCT では、凍結融解胚盤胞移植の場合においても妊娠率(l-HA 46.0%, h-HA 41.8%)、着床率(l-HA 45.8%, h-HA 41.3%)、流産率(l-HA 17.6%, h-HA 26.9%)に有意差は認められなかった[7]。Fu らによる 1632 名、1721 サイクルを対象に HA 培地と標準培地を比較した後方視的研究においても、全体として、FET の結果は両群間で同様だった[8]。さらに、h-HA と l-HA を比較した 2021 年の RCT では、h-HA 群と l-HA 群の生児出生率は同等であった(25.5% 対 25.8%, RR 0.99, 95%CI 間 0.74-1.31)[9]。英国の公的機関である Human Fertilization and Embryology Authority は、ほとんどの不妊症患者において生産率を高める効果について矛盾したエビデンスがあり、さらなる研究が必要であると判断している(Amber)[10]。

以上を踏まえて、ヨーロッパ生殖医学会（ESHRE）のガイドライン案では、ARTにおける胚移植用培地への付着性化合物としてのHAの添加は、有害事象に大きな影響を与えることなく、生産率/臨床妊娠率を増加させるようであり、多胎率の増加についてはさらに調査する必要があるが、胚移植用培地へのHA添加はSETの中でのみ実施することが推奨されると結んでいる（ESHRE add-ons working group. Good practice recommendations for add-ons in reproductive medicine）。

本 report では、厚労省よりいただいたヒアルロン酸の濃度に関する定義に触れた上で、製品情報について調査した範囲の結果を記載する。

2. 厚労省からの質問と回答

Question. 培養液、特に「高濃度ヒアルロン酸含有培養液」の定義

- 高濃度ヒアルロン酸とは、何%以上か？
- ガイドラインには、0.5mg/ml を高濃度、0.125mg/ml を低濃度として記載があるが、基本的に濃度はこの2種類しか無いのか。もしこの濃度以外も存在するのであれば、高濃度の線引きはどこであるかご教示願いたい。

Answer a. 高濃度ヒアルロン酸の定義は存在しない

高濃度の明確な定義はなされていない。以下論文等では慣用的に 0.5 mg/ml を高濃度とするエビデンスの蓄積が認められる。エビデンスのほとんどは高濃度 = 0.5mg/ml vs. 低濃度 = 0.125 mg/ml or 添加なし = 0mg/ml or 濃度記載なしの Control 培養液という報告となっている。

引用文献	URL	被験試薬種類/濃度	対象試薬種類/濃度
Friedler et al.	Hum. Reprod. 2007, 22; 2444-2448	EmbryoGlue 記載濃度:0.5mg/ml	HTF+SSS 記載濃度: Contains no HA (0mg/ml)
Nakagawa et al.	J. Assist. Reprod. Genet., 2012, 29: 679-685	EmbryoGlue 記載濃度:0.5mg/ml	HUCUM 記載濃度: Not containing (0 mg/ml)
Urman et al.	Fertil. Steril. 2008, 90(3):604-612	EmbryoGlue 記載濃度:0.5mg/ml	G2v3 記載濃度: 0.125 mg/ml
Balaban et al.	Hum. Reprod., 2011, 26:i24	EmbryoGlue 記載濃度:0.5mg/ml	G2v3 記載濃度: 0.125 mg/ml
Schoolcraft et al.	Fertil. Steril. 2002 Vol. 78 Suppl. 1 S5	EmbryoGlue 記載濃度:0.5mg/ml	G2v3 記載濃度: 0.125 mg/ml

Valojerdi et al.	J. Assist. Reprod. Genet. 2006, 23(5):207–212.	EmbryoGlue 記載濃度:0.5mg/ml	G1v3 記載濃度: 0.125 mg/ml
Heymann et al. (systematic review)	Cochrane Database Syst Rev. 2020, 9: CD007421	記載濃度:0.5mg/ml	記載濃度: 0.125 mg/ml :No(0 mg/ml) :Unknown

Answer b. 0.5mg/ml および 0.125mg/ml 以外の濃度も存在している可能性

0.5mg/ml および 0.125mg/ml 以外の濃度も存在している可能性が考えられる。既報の範囲では上述の通り、高濃度=0.5mg/ml、低濃度=0.125 mg/ml と記載があるものと、濃度記載のない文献が存在している。そのため、0.5mg/ml 以外の濃度に関しては、エビデンス不十分である。高濃度の線引きに関しても不明確である。

3. 市販商品情報

調査範囲において、これまで 4 社が販売している。既存の商品ではヒアルロン酸濃度 0.5mg/ml, および, 0.125mg/ml の2種類のみが販売されている。

高濃度

- Vitrolife Embryo Glue 0.5mg/mL
- ナカメディカル ETM 0.5mg/mL
- Kitazato EmbryoNida 0.5mg/mL
- CooperSurgical (Origio) SAGE 1-step(UTM より高濃度でヒアルロン酸を含有しているが、“高濃度ヒアルロン酸含有培養液”としては販売していない)

低濃度

- Vitrolife G2 medium 0.125mg/mL (Day3～6用シーケンシャル培養液, Embryo Glue と組成はほぼ同じ)
- CooperSurgical (Origio) UTM 非公表(論文からは 0.125mg/mL と読み取れる。)

References

1. Hardarson, T., et al., *Noninferiority, randomized, controlled trial comparing embryo development using media developed for sequential or undisturbed culture in a time-lapse setup*. Fertil Steril, 2015. **104**(6): p. 1452–9.e1–4.
2. Gardner, D.K., H. Rodriegez-Martinez, and M. Lane, *Fetal development after transfer is increased by replacing protein with the glycosaminoglycan hyaluronan for mouse embryo culture and transfer*. Hum Reprod, 1999. **14**(10): p. 2575–80.

3. Behzad, F., et al., *Expression of two isoforms of CD44 in human endometrium*. Biol Reprod, 1994. **51**(4): p. 739–47.
4. Bontekoe, S., et al., *Adherence compounds in embryo transfer media for assisted reproductive technologies*. Cochrane Database Syst Rev, 2010(7): p. Cd007421.
5. Bontekoe, S., et al., *Adherence compounds in embryo transfer media for assisted reproductive technologies*. Cochrane Database Syst Rev, 2014. **2014**(2): p. Cd007421.
6. Harper, J., et al., *Adjuncts in the IVF laboratory: where is the evidence for 'add-on' interventions?* Hum Reprod, 2017. **32**(3): p. 485–491.
7. Nishihara, T. and Y. Morimoto, *Evaluation of transfer media containing different concentrations of hyaluronan for human in vitro fertilization*. Reprod Med Biol, 2017. **16**(4): p. 349–353.
8. Fu, W., M. Yu, and X.J. Zhang, *Effect of hyaluronic acid-enriched transfer medium on frozen-thawed embryo transfer outcomes*. J Obstet Gynaecol Res, 2018. **44**(4): p. 747–755.
9. Yung, S.S.F., et al., *Hyaluronic acid-enriched transfer medium for frozen embryo transfer: a randomized, double-blind, controlled trial*. Fertil Steril, 2021. **116**(4): p. 1001–1009.
10. *Treatment add-ons with limited evidence*. Human Fertilisation and Embryology Authority, 2020.

業者回答:ヒアルロン酸含有培地

a. Vitrolife 社回答

“高濃度”の定義は存在していませんが、以下論文等で頻繁に用いられている定義について言及致します。

エビデンスのほとんどは EmbryoGlue0.5 mg vs それ以外(HA 添加なし or HA 低濃度添加 0.125 mgなど)という報告ばかりです。

例えばですが、私の知る限りが一番初期の学会発表では、(再度確認が必要な際は本社の開発部にも問い合わせるのでご用命ください)[https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(02\)03391-5/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(02)03391-5/fulltext) URLの通り、EG 0.5mg vs G2 0.125mg と定義づけております。G2 は弊社の Day3~6用シーケンシャル培養液で EG と組成はほぼ同じため、ヒアルロン酸と組み換えアルブミンの効果のみを比較することに適しているコントロールと考えられております。

その他のエビデンスも添付いたします。

- EG 0.5 mg vs G1 0.125mg [Valojerdi et al., Efficacy of a human embryo transfer medium: a prospective, randomized clinical trial study. J. Assist. Reprod. Genet. 2006, 23\(5\):207-212.](#)
- EG 0.5mg vs G2 0.125mg [Urman et al., Effect of hyaluronan-enriched transfer medium on implantation and pregnancy rates after day 3 and day 5 embryo transfers: a prospective randomized study. Fertil. Steril. 2008, 90\(3\):604-612.](#)
- マウスでの基礎データ濃度検討: 添付 Gardner et al 1999
- 他 Cochran での引用文献に用いられているものもほとんどこの定義で、これ以外を見つける方が難しいと思います。

また、他社製品との比較の場合であっても、添付の通り UTM を低濃度、EG を高濃度と定義しております (Nishihara&Morimoto 2017_UTM (low-HA)vsEG (high-HA): 添付論文の結果については EG の添付文書通りに使用できていないため参考程度に御覧ください)。

Cochran での引用文献や上記文献などのエビデンスから高濃度を定義するとすれば、0.5 mg/ml は、0.125mg 以下の濃度と比べての効果と安全性の報告は存在しているという解釈も可能かと思えます。

他社製品は私の知る限り、UTM(CooperSurgical 社)、ETM(ナカメディカル社)、EmbryoNida (KITAZATO 社から保険適用と同時に販売された??)が現在販売されており、UTM は低濃度 G2:0.125mg と同じ濃度かそれ以下、ETM は EG と同じ 0.5mg と言っているらしい、EN は使用実績を聞いたことがまだありません。という状況の様です。

上記を使用していない施設では、ワンステップ培養液もしくはシーケンシャル培養液をそのまま移植しているケースがほとんどです。

b. Kitazato 回答

1. 高濃度ヒアルロン酸定義

生殖医療ガイドライン、EmbryoGlue を参考にしています。

2. 濃度比較

北里、ヴィトロライフ、ナカメディカルは 0.5mg/mL と公表しています。

オリジオ社は公表しておりません。

3. 商品

他メーカー、他製品に関して 北里、ヴィトロライフを含めて 4 社あります。

・ナカメディカル ET メディウム http://www.nakamedical.co.jp/pdf_img/201706/cata_et010_etm.pdf

・オリジオ UTM

<https://coopersurgicalfertility-jp.com/products/utm/>

・オリジオ GM-CSF

<https://coopersurgicalfertility-jp.com/products/gm-csf/>

培養士個別回答

1. 高濃度ヒアルロン酸の“高濃度”に関する定義はございますか？

申し訳ございません、高濃度の定義は把握しておりません。

メーカーに聞いてみます。返答がありましたら再度ご連絡いたします。

2. Cochrane では 0.5mg/mL, 0.125mg/mL に分けて解析しています。これ以外の濃度の商品というのは他の会社も含めて取り扱いがあるのでしょうか？

高濃度ヒアルロン酸含有培養液として市販されているのは EmbryoGlue (Vitrolife) と UTM (Origio) だけという認識です。

EmbryoGlue のヒアルロン酸濃度は 0.5mg/ml です。

UTM については企業秘密で教えてもらっていません。

濃度 0.125mg/ml の培養液は Vitrolife が販売する G2 medium (Vitrolife) です。

業者によると、SAGE 1-step (Origio) は UTM より高濃度でヒアルロン酸を含有しているが、“高濃度ヒアルロン酸含有培養液”としては販売していないとのことでした。

Cochrane を見直してみたところ、ほとんどの研究では、study group で EmbryoGlue を使用しており、他は自前でヒアルロン酸を添加した研究が 2 例あるだけでした

Control としてヒアルロン酸濃度 0.125mg/ml の G2 medium を使用した研究が最も多く、他は CSCM (0mg/ml, Irvine Scientific), P1 medium (0mg/ml, Irvine Scientific) を使用していました。

3. Vitrolife 以外に当該商品を扱っている業者がありましたらご教示いただけますでしょうか？

Vitrolife 以外では Origio (Cooper Surgical) だけと認識しています。

メーカー: Origio

商品名: UTM

URL: <https://coopersurgicalfertility-jp.com/products/utm/>

メーカー営業: 鶴田 健太郎

連絡先: Mob:070-2806-5556, E-Mail: Kentaro.Tsuruta@coopersurgical.com

(厚生労働省からご提案の課題 - 4)

同一胚に対する凍結・融解を複数回施行の場合の胚移植成績

<はじめに>

現在日本においては、凍結胚融解胚移植が多く行われている。日本産科婦人科学会から公表された 2020 年の ART データブックでは、凍結胚融解胚移植が 211,914 周期であり、IVF と ICSI での胚移植周はそれぞれ 13,362 周期と 19,061 周期であったため、凍結胚融解胚移植が圧倒的に多く行われていることがわかる。さらに、2022 年 4 月から施行された生殖医療が保険収載されたが、胚移植に関しては一定回数が保険適用となることとなった。そのため、今後はさらに良好胚を用いた胚盤胞移植が増加する可能性が考えられる。胚盤胞移植の場合、多胎を防ぐという観点や臨床的妊娠率の観点からも、単一の良好胚盤胞を用いた胚移植を行うことが多い。その場合、複数の凍結胚を融解し、良好な胚盤胞を移植する機会が増加すると考えられる。このような状況に鑑みると、今後、さらに同一胚に対して凍結や融解を繰り返すケースが増加する可能性が考えられる。

そこで、同一胚に対して複数回の凍結・融解を行った場合、その後の妊娠や出産への影響を文献的に考察することとした。

<方法>

1. PICO の設定

今回、システマティックレビューを行うにあたって、以下のような PICO を設定した。

P: 凍結胚融解胚移植を受けた患者

I: 再凍結胚を用いた凍結胚融解胚移植治療

C: 一般的な凍結胚融解胚移植を受けた患者

O: 胚に与える影響(融解後の胚への影響)、臨床的妊娠率、生産率など

以上の PICO をもとに、文献検索の検索式を設定した。

2. システマティックレビュー用の検索式

今回の文献検索で用いた検索条件は以下の通りである。

2.1. 文献検索式

今回の文献検索で用いた検索式を以下に示した。人を対象とした文献のみを検索するように設定を行った。

```
((("freezing"[MeSH Terms] OR "freezing"[All Fields] OR "frozen"[All Fields]) AND ("embryo transfer"[MeSH Terms] OR "embryo"[All Fields] AND "transfer"[All Fields]) OR "embryo transfer"[All Fields])) OR ((("freezing"[MeSH Terms] OR "freezing"[All Fields] OR "frozen"[All Fields]) AND ("embryo transfer"[MeSH Terms] OR "embryo"[All Fields] AND "transfer"[All Fields]) OR "embryo transfer"[All Fields] OR "blastocyst"[All Fields] AND "transfer"[All Fields]) OR "blastocyst transfer"[All Fields])) OR ("embryo transfer"[MeSH Terms] OR "embryo"[All Fields] AND "transfer"[All Fields]) OR "embryo transfer"[All Fields]) OR ((("blastocyst"[All Fields] AND "transfer"[All Fields]) OR "blastocyst transfer"[All Fields]) OR ("blastocyst"[MeSH Terms] OR "blastocyst"[All Fields] OR "blastocysts"[All Fields]) OR ("embryo's"[All
```

Fields] OR "embryoes"[All Fields] OR "embryonic structures"[MeSH Terms] OR ("embryonic"[All Fields] AND "structures"[All Fields]) OR "embryonic structures"[All Fields] OR "embryo"[All Fields] OR "embryos"[All Fields])) AND (("refreeze"[All Fields] OR "refreezes"[All Fields] OR "refreezing"[All Fields]) OR "re-vitrification"[All Fields] OR "Re-cryopreservation"[All Fields]) AND ("human's"[All Fields] OR "humans"[MeSH Terms] OR "humans"[All Fields] OR "human"[All Fields])

2.2. 対象としたデータベース

対象としたデータベースは、Pub Med、Web of Science、医中誌の3つとした。

2.3. 文献検索の対象期間

文献検索の対象期間は、凍結胚融解胚移植が初めて行われた 1983 年の翌年 1984 年 1 月から 2022 年 12 月までとした。

2.4. 対象文献の適格条件

上記の方法で検索した文献より、今回のシステマティックレビューの対象とする文献の抽出を以下の方法で行った。

- ① まず、会議録など本文のない文献を除外
- ② Title および Abstract より関連する文献を選択
- ③ ②で選択した論文を確認し、PICO に一致する論文を選択

上記の方法で対象論文を抽出した。

3. 結果

3.1. 対象とした論文

今回、3つのデータベースで検索をして対象となった論文は、英文 24 編 和文 45 編であった。そのうち、今回のレビューの対象となった論文は、英文 14 編(うち1編は医中誌で検索された英文の文献)であった(表1)。

表1:文献リスト

文献番号	著者	発行年	文献・研究の種類・内容
1	Baker, A.	1996	ケースレポート (再々凍結後の融解胚移植での妊娠例)
2	Chang, C. C.	2008	ケースレポート (凍結提供卵子で ICSI を行い、胚盤胞で再凍結を行い、その後妊娠をした2例)
3	Cimadomo, D	2018	他施設共同後方視的研究 (PGT-A で再生検を行い正常とされた胚盤胞 107 個を再凍結。その後、再融解胚移植をした研究)
4	Farhat, M	2001	ケースレポート (ICSI で初期胚凍結後し、融解後に胚盤胞で再凍結。その後、妊娠成立した 1 例)
5	Kumasako, Y.	2009	後方視的研究 (再凍結胚を融解胚移植した 50 周期。コントロールと比較して有意差なしという報告)
6	Li, J., S.	2021	後方視的研究 (day3 で凍結、再融解後に day3 で再凍結した群 vs day3 で凍結、再融解後に胚盤胞で再凍結 での比較。後者の方の成績が悪かったという報告)
7	Lierman, S.	2014	ケース・コントロール (再凍結をした胚盤胞でも、形態的な変化は認めなかったという報告)
8	Murakami, M.	2011	フォローアップ研究 (再凍結胚 92 周期 vs 一般的な融解胚移植での比較。出生割合は変わらなかったという報告)
9	Otsu, E.	2009	基礎研究 (再凍結を行なった胚でも、第1染色体の異数性などの異常は増加しなかったとする報告)
10	Smith, L. K.	2005	ケースレポート (再凍結胚の胚盤胞移植で妊娠した 1 例)
11	Wang, M.	2021	後方視的コホート研究 (再凍結胚群は、コントロールと比較して、着床率・臨床妊娠率・出産率ともに低下していたとする報告)
12	Yokota, Y.	2001	ケースレポート (再凍結胚の移植で妊娠した 1 例)

13	Zhou, S.	2021	後方視的研究 (PGT-A で複雑型モザイクと診断された胚を再凍結。その後、再度生検。正常胚盤胞を再凍結、融解胚移植した報告)
14	平岡, 謙一郎	2007	後方視的研究 (再凍結を行なっても、着床能は低下しない可能性があるという報告)

3.2. 再凍結胚の再融解後のそれぞれの outcome について

ケースレポートを除いた文献において、再解凍後の胚の生存率や臨床的妊娠率、生産率などに言及があったものについて、以下の表にまとめた(表2)。

表2:凍結・融解を繰り返した胚移植後の成績

文献番号	著者	胚あたりの再融解後の生存割合	胚あたりの着床割合	ET 周期あたりの妊娠割合	出産割合
3	Cimadomo, D				19/49 (38.8%)
5	Kumasako, Y.	53/63 (84.1%)		10/36 (27.8%)	
8	Murakami, M.	106/108 (98.1%)		61/105 (58.1%)	45/61 (73.8%)
11	Wang, M.		94/227 (41.4%)	85/216 (39.4%)	57/85 (67.1%)
13	Zhou, S.	86/89 (96.6%)		7/18 (38.9%)	6/7 (85.7%)
14	平岡, 謙一郎	26/27 (92.9%)	9/26 (34.6%)	7/15 (46.7%)	5/7 (71.4%)

これらの結果を見てみると、

- ① 再凍結胚を再融解した場合、胚の生存割合はおおよそ90%程度(84.1%~98.1%)とする報告が多かった。
- ② ET あたりの妊娠割合は、40%程度(27.8%~58.1%)とする報告が多かった。これらの報告は、年齢や移植胚のグレードなどで調整をされていないが、おおよそ一般的な凍結胚融解胚移植の成績と同様のものと考えられた。
- ③ 出産割合についてもおおよそ70%程度(38.8%~85.7%)とする報告が多かった。これらの報告も、年齢による調整がされていないが、一般的な凍結胚融解胚移植の成績と同様のものと考えられた。
- ④ 上述したが、文献番号13については、一般的な融解胚移植に比べると着床割合、臨床的妊娠割合、出生割合が低下すると報告していた。

3.3. 我々の施設での成績

我々の施設でのデータも確認してみたが、以下のような結果であった(表3)。

表3:我々の施設での成績

ID	年齢	凍結時 日齢	移植時 日齢	胚のグレード	妊娠の有無
1	34	Day5	Day5	3bc	あり
2	31	Day5	Day5	4bc	あり
3	35	Day6	Day6	4cc	なし
4	31	Day4	Day4	良好な桑実胚	なし
5	38	Day5	Day5	2bb	なし
6	45	Day5		融解胚が死滅していたため 胚移植キャンセル	
7	45	Day3	Day5	4bb	なし

我々の施設においては、再融解時の胚の生存割合は 85.7%(6/7)であった。臨床的妊娠割合は 33.3%(2/6)であり、この 2 例とも出産に至っていた。

4. 考察

今回、凍結・融解を複数回行った場合の胚移植成績について、文献的な検索を行った。学会発表などの会議録については、医中誌では数を多く見られたが、原著論文としては Pub Med や Web of Science ではそれほど多くの文献は認めなかった。

研究デザインとして RCT を行うことは困難であると考えられるため、そのほとんどがケースレポートや後方視的な研究であった。また、システマティック・レビューやメタアナリシスの論文も認めなかった。

報告されている文献を見てみると、凍結・融解を複数回行っても、胚の生存割合や妊娠割合、出生割合については、一般的な凍結胚融解胚移植と比較しても低下しないとする報告が多かった。我々の施設でも、おおよそ既報と同様の成績であることがわかった。

PGT-Aに関連した文献が2報あったが、今後、我が国でも PGT がさらに行われるようになると、このような凍結・融解を複数回行った胚を移植するケースも増えてくる可能性があると考えられた。

(厚生労働省からご提案の課題 - 5)

卵子・胚培養の温度、湿度等の培養環境

体外受精において、胚培養環境の選択は体外受精-胚移植の成績へと影響し得る。生体内において人の卵・胚は卵管膨大部で受精した後、卵管を通過して最終的に子宮内へと移行し、その発育段階によって場所を変えるが、もともと体外受精における卵子・胚培養環境の設定は、これらの環境を模倣することことから始まり、その後それぞれの要素に関して条件検討を目的とした研究がなされている。

【培養環境の要素:温度】

不適切な温度は細胞の機能と発達を損なう可能性があるため、細胞の取り扱い及び培養の際に、適切な温度を維持することは重要である。例えば、紡錘体は受精や細胞分割に重要な役割を担うことが明らかとなっているが、温度変化などの環境変化に敏感であることが知られている。顕微授精を行う際の温度を37°Cに保ったシステムと、温度変化が起こりやすいシステムとを比較した研究では、厳密な温度管理は紡錘体を安定させ、顕微授精後の受精率および臨床妊娠率を向上させたという報告がある¹。

培養温度には従来37°Cとされるケースが多いが、これはヒトの体温が37度であることに因む。しかし、ヒトの体温は計測部位により異なることや、性周期に影響されて変化することから、生体内で卵子や発育胚がある卵巣・卵管の温度が常に一定であるかは不明である。ウサギやブタを用いた研究では、同じ生殖器内であっても箇所によって1°C以上の温度勾配があるとする報告もある²。

生体内の胚発育の環境が37°Cより低い可能性から、いくつかのRCTでは37°C未満の培養環境について検討がなされている。受精から胚培養までの一連の温度を37°Cまたは36°Cのいずれかに分け比較した前向きランダム化比較試験(RCT)では、ヒト胚を37°Cで培養した場合は、36°Cで培養した群と比較して3日目胚の平均細胞数が高く、胚盤胞形成率や移植しうる胚盤胞の割合が有意に多かった(37°C 対 36°C, 48.4% vs 41.2%)との報告がなされている³。

培養温度を36.5°Cと37°Cとにそれぞれ設定し、ヒト胚の発育やその後の着床率や妊娠率に与える効果を評価した前向き研究では、着床率や妊娠率には優位差はなかったものの、37°Cでは36.5°Cと比較して受精率が低く、良好胚が少なかったとの報告がなされている⁴。

しかし、より高い出生率につながる胚培養の温度について検討した2019年のコクランレビューでは、上記の研究を含む3つのRCTについて評価を行なっているが、主要評価ポイントである出生率や流産率をはじめ、十分なエビデンスがあると判断されたアウトカムはなく、更なる検討が必要であるとしている⁵。また、欧州ヒト生殖・発生学会(ESHRE)のIVF培養室に関するガイドラインでは、特定の胚培養の温度の推奨はされていない⁶。

【培養環境の要素:湿度】

培養器には湿度が100%になるよう設定された加湿型と、湿度が30~60%程度に保たれる乾燥型の2種類とがある。加湿型では一般的には培養器内に設置した加湿バットによる自然蒸散で湿度を保つため、カビなどによる発生が問題になるが、その一方乾燥型では、培養液の蒸発を促進し、浸透圧を上昇させ、pHの変化を招く。これは結果的に胚にストレスを与え臨床成績に悪影響を与える。体外受精・胚培養に使用される培地は数10~数100μl程度と少量であるため、その蒸発を防ぎ、培地の高浸透圧化を防ぐためにミネラルオイルにより被覆をする。しかしこれは完全に蒸発を防げるものではない^{7,8}。

基礎研究において、培養液の高浸透圧が胚発育の停止や、遺伝子発現やエピジェネティックな変化と関連していると報告されている⁹⁻¹⁰。胚培養における至適浸透圧は明確では無いが、260~270mOsm/L程度に調節されていることが多い。

湿度の高い培養環境・低い培養環境のそれぞれを比較した前向き臨床研究では、湿度の高い環境でされた胚は乾燥状態で培養された胚と比較して、培養3日目での胚の質や、培養5~6日目での胚盤胞率・形態学的評価が良好(加湿型 対 乾燥型, 胚盤胞率 73% vs 51%, 良好胚盤胞率 61% vs 35%, それぞれ $P<0.05$)であり、さらには臨床的妊娠率・妊娠継続率が高い(加湿型 対 乾燥型, 臨床的妊娠率 57% vs 43%, 妊娠継続率 52% vs 37%, それぞれ $P<0.05$)ことが示されている¹¹。

同一の機械で加湿・乾燥培養の双方が可能なタイムラプス培養器を用いて、加湿培養環境(湿度~60%)と乾燥(~35%)とを比較した前向き試験では、5・6・7日目の良好胚獲得率が加湿型で有意に高い(加湿型 対 乾燥型, Day5: 24.1% vs 14.4%, Day6: 49.4% vs 25.6%, Day7: 50.6% vs 31.1%, それぞれ $P<0.05$)という報告がなされている¹²。

欧州ヒト生殖・発生学会(ESHRE)のIVF培養室に関するガイドラインでは、胚培養の湿度に関する推奨等はない⁶。

【培養環境の要素:酸素濃度】

胚培養における酸素濃度は一般的に5%前後とされている。

哺乳動物の子宮腔内の酸素濃度は、大気圧酸素濃度より低く、例えばウサギの子宮や卵管では8.7%と高値であり、さらには着床期には3.5%と低下するとした、性周期により酸素濃度が異なるといった報告もなされている¹³。

多くの研究において、大気圧酸素濃度と低酸素濃度(5% O_2)との培養環境による比較を行い、5% O_2 の優位性を実証している¹⁴。また、低酸素環境は分割期にのみ悪影響を与えるとした仮説に基づいた試験では、0日目から5~6日目を20% O_2 とした群・0日目から2~3日目を5% O_2 としてその後を5% O_2 として培養した群・0日目から5~6日目を5% O_2 とした群の3グループに分け比較をすることで、少なくとも培養0日目から2~3日目の分割期を低酸素とすることこそが重要であるとする報告されている^{15,16}。

また低酸素濃度・大気圧酸素濃度とで培養した胚を移植した際の産科的・新生児予後を後方視的に検討した研究では、その影響は明らかではないとしている¹⁷⁻¹⁸。

参考文献

1. Wang WH, Meng L, Hackett RJ, Oldenbourg R, Keefe DL. Rigorous thermal control during intracytoplasmic sperm injection stabilizes the meiotic spindle and improves fertilization and pregnancy rates. *Fertil Steril*. Jun 2002;77(6):1274-7. doi:10.1016/s0015-0282(02)03117-5
2. Hunter RH. Temperature gradients in female reproductive tissues. *Reprod Biomed Online*. Apr 2012;24(4):377-80. doi:10.1016/j.rbmo.2011.12.007
3. Hong KH, Lee H, Forman EJ, Upham KM, Scott RT. Examining the temperature of embryo culture in in vitro fertilization: a randomized controlled trial comparing traditional core temperature (37° C) to a more

physiologic, cooler temperature (36° C)☆. *Fertility and Sterility*. 2014/09/01/ 2014;102(3):767-773. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.06.009>

4. Fawzy M, Emad M, Gad MA, et al. Comparing 36.5° C with 37° C for human embryo culture: a prospective randomized controlled trial. *Reprod Biomed Online*. Jun 2018;36(6):620-626. doi:10.1016/j.rbmo.2018.03.011

5. Baak NA, Cantineau AE, Farquhar C, Brison DR. Temperature of embryo culture for assisted reproduction. *The Cochrane database of systematic reviews*. Sep 17 2019;9(9):Cd012192. doi:10.1002/14651858.CD012192.pub2

6. De los Santos MJ, Apter S, Coticchio G, et al. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories (2015). *Hum Reprod*. Apr 2016;31(4):685-6. doi:10.1093/humrep/dew016

7. Swain JE, Schoolcraft WB, Bossert N, Batcheller AE. Media osmolality changes over 7 days following culture in a non-humidified benchtop incubator. *Fertility and Sterility*. 2016/09/01/ 2016;106(3, Supplement):e362. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.07.1028>

8. Yumoto K, Iwata K, Sugishima M, et al. Unstable osmolality of microdrops cultured in non-humidified incubators. *J Assist Reprod Genet*. Aug 2019;36(8):1571-1577. doi:10.1007/s10815-019-01515-9

9. Wang F, Kooistra M, Lee M, Liu L, Baltz JM. Mouse embryos stressed by physiological levels of osmolarity become arrested in the late 2-cell stage before entry into M phase. *Biology of reproduction*. Oct 2011;85(4):702-13. doi:10.1095/biolreprod.111.090910

10. Swain JE, Cabrera L, Xu X, Smith GD. Microdrop preparation factors influence culture-media osmolality, which can impair mouse embryo preimplantation development. *Reproductive BioMedicine Online*. 2012/02/01/ 2012;24(2):142-147. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2011.10.008>

11. Fawzy M, AbdelRahman MY, Zidan MH, et al. Humid versus dry incubator: a prospective, randomized, controlled trial. *Fertil Steril*. Aug 2017;108(2):277-283. doi:10.1016/j.fertnstert.2017.05.036

12. Holmes R, Weinberg J, Kalaghan L, Goode B, Schoolcraft WB, Swain JE. Comparison of humidified versus non-humidified incubation with sequential culture media in a time-lapse incubator using sibling oocyte splits. *Fertility and Sterility*. 2019;112(3):e270. doi:10.1016/j.fertnstert.2019.07.801

13. Fischer B, Bavister BD. Oxygen tension in the oviduct and uterus of rhesus monkeys, hamsters and rabbits. *Journal of reproduction and fertility*. Nov 1993;99(2):673-9. doi:10.1530/jrf.0.0990673

14. Bontekoe S, Mantikou E, van Wely M, Seshadri S, Repping S, Mastenbroek S. Low oxygen concentrations for embryo culture in assisted reproductive technologies. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2012;(7)doi:10.1002/14651858.CD008950.pub2

15. Herbemont C, Labrosse J, Bennani-Smires B, et al. Impact of oxygen tension according to embryo stage of development: a prospective randomized study. *Sci Rep*. Nov 16 2021;11(1):22313. doi:10.1038/s41598-021-01488-9

16. Herbemont C, Maurin P, Cedrin-Durnerin I, Grynberg M, Sifer C. What stage of in vitro embryo development is affected by oxygen tension? a randomized clinical trial (RCT). *Fertility and Sterility*. 2018;110(4):e363. doi:10.1016/j.fertnstert.2018.07.1013

17. Rendón Abad M, Serra V, Gámiz P, et al. The influence of oxygen concentration during embryo culture

on obstetric and neonatal outcomes: a secondary analysis of a randomized controlled trial. *Hum Reprod*. Sep 1 2020;35(9):2017-2025. doi:10.1093/humrep/deaa152

18. Gamiz P, Rendon M, de los Santos JM, et al. The use of atmospheric oxygen (O_2) concentration during embryo culture until day 3 of development, does not affect obstetric and perinatal outcomes. *Fertility and Sterility*. 2018;110(4):e51-e52. doi:10.1016/j.fertnstert.2018.07.160