

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2006.12) 7巻1号:13~18.

生殖医療補助技術の現状と展望

千石一雄

依頼論文

生殖医療補助技術の現状と展望

千石 一雄*

【要 旨】

世界初の体外受精児の誕生からわずか20数年の間に、生殖医療補助技術 (Assisted reproductive technology: ART) は不妊治療法として急速に臨床に普及し、従来、妊娠が困難であった難治性不妊患者に多くの福音をもたらした。一方、多胎妊娠、未熟児出産の増加、卵巣過剰刺激症候群発症などの弊害も生まれた。また、新たな生命倫理に関わる問題も提起されるようになり、早急に解決すべき多くの課題が残されている現状にある。近年、胚移植、assisted hatching 技術の導入により妊娠率の向上を認めるが、本邦における生産率は未だ20%前後と低値である。さらには、高齢婦人、精子、卵子が先天的、後天的に欠如した症例、悪性腫瘍で抗癌剤治療を必要とする患者の妊孕性の確保・温存など今後のさらなる技術革新が期待される。

キーワード 生殖医療補助技術、体外受精、卵細胞質内精子注入法

はじめに

不妊は約10-15%の夫婦に認められ、近年の晩婚化などの影響により増加傾向を示すとされている。従来より、排卵誘発、人工授精などの一般不妊治療が施行されてきたが、治療に抵抗性を示す難治例も多く認められる。このような難治例に対する不妊治療法として体外受精・胚移植 (IVF-ET: In vitro fertilization and embryo transfer) 技術が考案され、1978年、Edward & Steptoe により世界で初めての体外受精児が誕生した。本邦においても1983年に体外受精児が誕生し、その後の20数年の間に体外受精・胚移植は急速に臨床に普及し、現在我が国における体外受精登録施設は627施設にのぼる。近年、体外受精とその関連した顕微授精、胚凍結などの技術は生殖医療補助技術 (Assisted reproductive technology: ART) と総称され、この技術の進歩により、従来では拳児を望めなかった卵管閉塞、高度の乏精子症、無精子症患者に多くの福音をもたらされた。しかし、現在に至っても、予想されたほどの妊

娠率の向上が認められず、また、多胎妊娠の増加、卵巣過剰刺激症候群発症など早急に解決すべき問題も指摘されている。本稿では最初に ART 手技の実際に関し概説し、つづいて本邦における ART の現状ならびに問題点、今後の展望に関し概説する。

1. ART の実際

体外受精は排卵直前の成熟卵胞より卵子を採取し、体外にて精子とともに培養し(媒精)受精させ、分割した卵を子宮内に移植し妊娠をはかる方法であり、原理的には極めて simple な技術と言える¹⁾。IVF-ET の手順は図1に示すように、成熟卵子の採取、媒精、受精の確認、分割胚の子宮への移植であり、妊娠率の向上をめざしこれまで多くの改良が加えられてきた。具体的には移植胚数に比例し妊娠率が上昇することから多数の成熟卵子を回収するため排卵誘発が行われる。前周期の黄体中期、または月経初期より GnRH (gonadotropin releasing hormone) アゴニストを投与し、月経開始3-4日目より hMG (human menopausal gona-

*旭川医科大学 産婦人科学教室

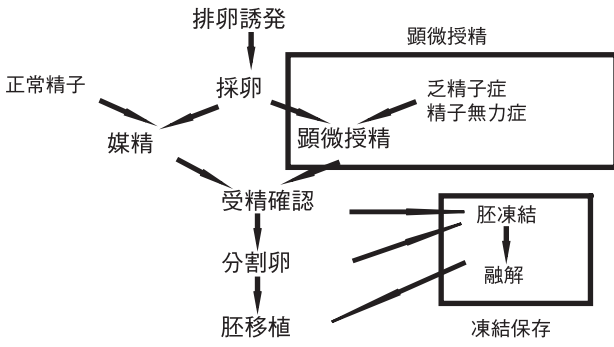


図1 体外受精・胚移植の手順

dotropin) または FSH 製剤を投与、経膈超音波で卵胞径をモニタリングし、卵胞径18mm前後で hCG (human chorionic gonadotropin) を投与する。hCG 投与34-36 時間後に経膈超音波下に卵丘細胞に囲まれた卵子を吸引採取する。GnRH アゴニストを併用することにより下垂体の down regulation が成立し、内因性の LH サージが抑制されるため任意の時間に hCG の投与が可能となり、採卵時間のコントロールが容易となる。最近では、早発排卵防止薬として GnRH アンタゴニストの使用も可能になり、患者のコンプライアンスが高く、よりシンプルな排卵誘発も試みられている。精子は採取後液化し swim-up 法、percol 法等により運動良好精子を回収し 5-10 万/ml の濃度で媒精する。媒精後 16-18 時間後に卵丘細胞を機械的に除去し前核を観察することにより受精を確認し、さらに 24-48 時間培養し 4-8 細胞期で子宮内に移植する。

顕微授精

高度の乏精子症、精子無力症症例の場合、通常の精子回収法では十分な数の運動精子が回収されず、受精を期待することができなかった。そこで、受精を促進すべく種々の方法が考案された(図2)。透明帯切開法 (partial zona dissection: PZD)、透明帯開孔法 (zona drilling: PZ) 法は受精を制御する透明帯の一部を機械的に切開、または酸性溶液により透明帯の一部を溶解する方法であるが、期待したほど受精率が上昇せず、また、受精した場合に多精子受精が多く認められた。微細なガラス管内に精子を数匹吸引し围卵腔内に直接放出する围卵腔内精子注入法 (subzonal insemination of sperm: SUZI) も同様の欠点を有していた。現在では一匹の精子を直接卵細胞質内に注入する卵細胞質内精子注入法 (intracytoplasmic sperm injection: ICSI) が

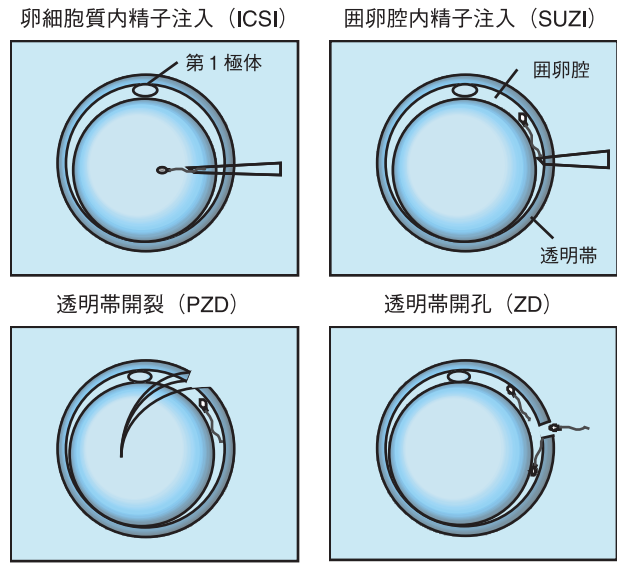


図2 Methods of microfertilization

汎用され受精率も通常の IVF と相違が見られない程度に技術的にも向上している²⁾。理論的には一匹の精子が得られれば受精卵が取得可能であり、無精子症例に対し、精巣上体精子、辜丸組織内の精子を用いた MESA-ICSI, TESE-ICSI も盛んに行われている(図3)。また、安全性の問題から日本産婦人科学会では許可していないが、精子細胞 (円型精子細胞)、さらには、より未熟な精母細胞を利用した ICSI も可能である。

胚凍結

体外受精時の多胎妊娠発生を防止するためには移植胚数の制限が求められる。従って、余剰胚の安全かつ効率の良い凍結保存法の確立が重要となる。胚の凍結法として種々の方法が報告されているが、プログラムフリーザーを用いた緩徐凍結-急速融解法が広く用いられ、現在では、新鮮胚移植と同程度の妊娠率が得ら

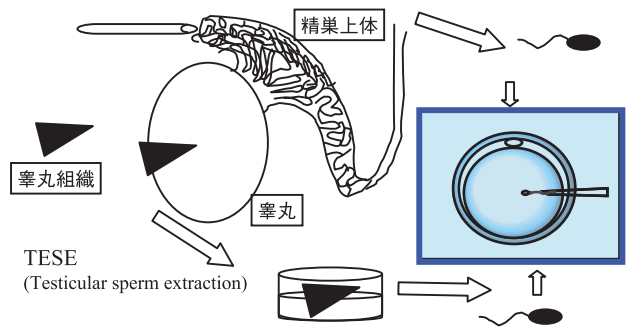


図3 TESE, MESA (Microsurgical epididymal sperm aspiration)

れている³⁾。従って、一回の採卵で複数回の胚移植が可能となり、患者の肉体的、精神的負担の軽減、症例当たりの妊娠率の向上に寄与している。また、最近ではガラス化法 (Vitrification) が開発され、従来は困難であった未受精卵の凍結保存も可能になり、妊娠例も数多く報告されている。

2. 本邦における ART の現状

我が国における IVF 登録施設数は年々指数関数的な増加を示し、2004年度の登録施設数は627施設に達し、北海道においても34施設が登録している。同様に ART の施行件数も年々増加し2004年度の IVF の採卵周期数は39,397周期、顕微授精39,822周期、凍結胚移植も30,174周期行われている (図4)。IVF の妊娠率の年次推移は図5に示すように1991年頃までは順調に妊娠率の増加を認めたが、その後は期待されたほどの上昇は認められず生産率 (take home baby rate) は20%程度である (図5)⁴⁾。顕微授精法は図4に示したように採卵周期数は年々増加し、現在では通常の体外

受精より多く行われており、妊娠率、生産率も IVF と同等の成績に達している。凍結胚移植も多胎妊娠の予防を目的として日本産婦人科学会より移植胚数を3個までに制限する会告が出された1996年から急激に増加し妊娠率も上昇してきている。現在までの ART 全体の累積出生児数は135,757人に上り2004年の出生児数は18,168人と報告されている。この数字は本邦の年間出生児数の約1.6%が ART により誕生していることを示しており、今後も増加していくことが予想される (表1)。

しかし、本邦においては年間の治療周期数が100周期以下である施設が約80%を占める現状にあり、年間治療周期数が1000周期以上施行している施設が多い米国、ヨーロッパ諸国と大きな相違が認められる。この状況を反映しているためか本邦の妊娠率は米国、ヨーロッパ諸国と比較し低率である (表2)。

3. ART の問題点

ART に起因する主な問題点として多胎妊娠の増加、卵巣過剰刺激症候群 (ovarian hyperstimulation syndrome: OHSS) の発生および低い妊娠率が挙げられる。不妊治療法として排卵誘発ならびに IVF が普及するに伴い多胎妊娠が急激に増加し、これに伴う早産、未熟児出産の増加による NICU の不足が大きな社会問題となってきた。1996年に日本産婦人科学会より移植胚数を制限する会告が出されたが、IVF による多胎妊娠

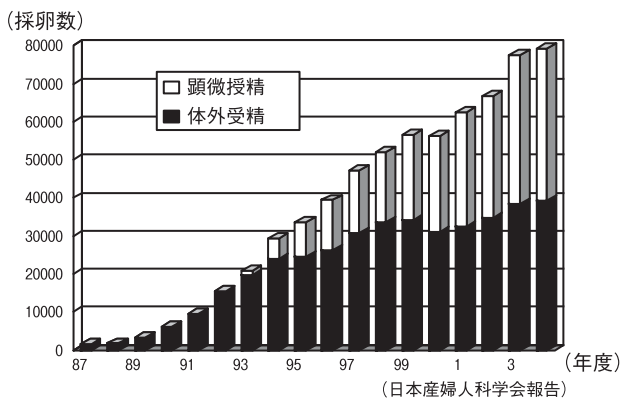


図4 体外受精、顕微授精の採卵周期数の年次推移

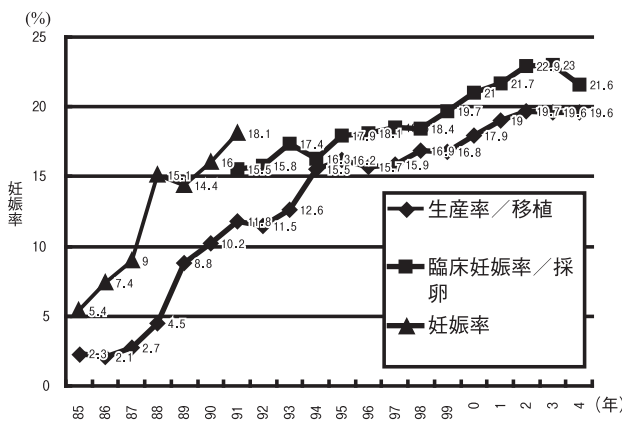


図5 体外受精の妊娠率の年次推移

表1 ART による出生児数 (平成16年度)

	治療周期数	出生児数	累積出生児数
新鮮胚を用いた治療	41,619	6,709	69,005
凍結胚を用いた治療	30,287	5,538	23,652
顕微授精を用いた治療	44,698	5,921	43,100
合計	101,905	18,168	135,757

平成16年度分の臨床実施成績
18,168/1,110,721 (平成16年度の出生数)=1.6%

表2 体外受精の国際比較 (2000年)

	日本	アメリカ	ヨーロッパ
施設数	449	383	569
採卵周期数	69,699	99,989	279,267
妊娠率 (%)	21.0	29.9	24.7
単胎妊娠率 (%)	29.0	35.4	26.4

率はその後も明らかな減少を認めるには至っておらず、多胎率はここ数年16-17%程度で推移している。したがって、年間の治療周期数が増加しているため、実際の双胎分娩数は年々増加している現状にある。最近では、さらに胚移植数を制限し、1個の胚のみを移植する方法 (single embryo transfer) においても良好な妊娠率が報告されるようになってきており、今後、1個胚移植の普及、少なくとも移植胚数は2個に制限することを早急に行う必要がある。

OHSS は場合により致死または高度の後障害を残す重篤な病態である。ART による排卵誘発の約1/3に発症するとされ、治療を必要とする例も0.5-10%程度認められる。OHSS を予防すべく種々の方法が工夫されている。血中E2が減少するまでhMGの投与を中止し、その後hCGを投与するcoasting法の有用性が報告されているが、我々は、OHSS発症が予想される症例にはすべての受精卵を凍結保存し、別の周期で胚移植する方法を採用し、中等症以上のOHSSの発症が従来の1/5まで減少可能であった。

妊娠・着床率向上のためには体外培養システムの改善による培養胚の質の向上、生存性の高い胚の選択的移植、また、子宮の胚受容能の改善が課題としてあげられる。従来より、他の細胞と一緒に胚を培養する共培養法により胚発育が良好となり、妊娠率が向上することが種々報告されてきた。しかし、細胞をあらかじめ準備しておかなければならない煩雑性、virus汚染の問題などで普及するに至らなかった。最近、胚の発育段階で培養液を変化させる、sequential medium が市販され、5日間培養し胚胚期で移植する方法が導入され高い妊娠率が報告されるようになった⁵⁾。体外での長期間培養でも生き残る胚は極めて良質であり、良好胚を数を制限して移植することにより、高い妊娠率と多胎妊娠の減少が期待される。実際に当科における凍結胚の胞胚移植においても4細胞期胚の移植に比べ妊娠率の向上を認めた (図6)。しかし、胞胚までの発育率は40%程度であり、得られた受精卵数が少ない場合は胚移植ができない例が存在することから、さらなる培養液の改善が望まれる。

また、体外培養により透明帯が硬化し、胚が透明帯より脱出 (hatching) できなくなることにより着床障害がもたらされる可能性が指摘されており、人工的に hatching を促進する Assisted hatching を加えることに

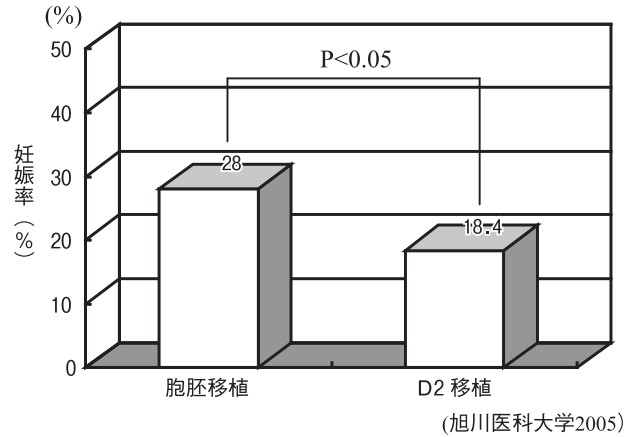


図6 胞胚移植の成績 (凍結胚移植)

よる妊娠率の上昇が報告されている⁶⁾。Assisted hatching は機械的に透明帯に切開を加える方法、蛋白分解酵素で透明帯を非薄化する方法などが考案されているが (図7)、当科でのレーザーを用いた assisted hatching の検討成績では Assisted hatching を施行しない対照群に比較し、有意な着床率および妊娠率の上昇が認められている (図8)。

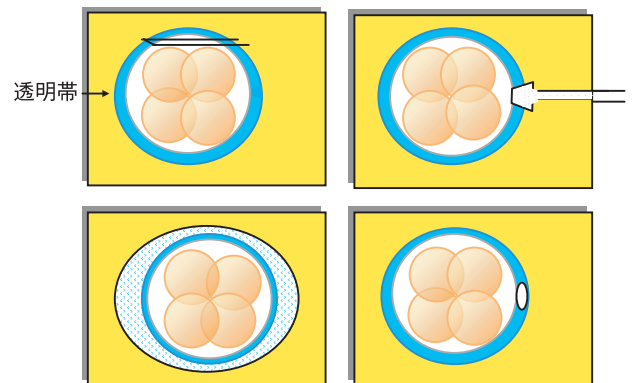


図7 Assisted Hatching

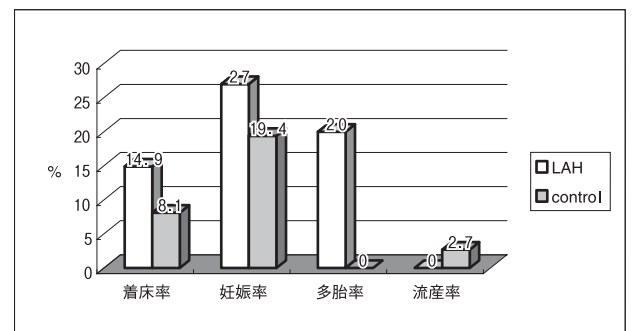


図8 Assisted Hatching の妊娠成績

4. ART の展望

高度男性不妊による受精不成功例は ICSI 法の改良・普及により造精機能関連遺伝子の男子への遺伝的伝搬の問題をのぞけば、技術的にはほぼ克服された感がある。しかしながら、精巣内に精母細胞を認めない症例では現在のところ妊娠が望めない。OHSS 防止の究極の方法として、排卵誘発を行わず未熟な小卵胞より卵を採取し、体外で成熟させた後に受精させる体外成熟法が報告されている。現在のところ体外成熟卵子の着床率は低率であり、種々の改良が試みられている段階にある。

妊孕性に関与する最大の要因は卵子の質であるとされており、特に高令者から採取される卵子は老化が進んでおり妊娠率は極端に低下する。倫理的問題を別にすれば、老化卵子の若返り法として核移植技術の応用が可能である。また、先天的・後天的に卵子や精子が欠如している患者ではクローン技術の応用により embryonal stem cell (ES 細胞) を作成し、自らの精子や卵子を産生することも将来的に可能になることが期待される。現在、マウスで ES 細胞を用い形態上卵子や精子に類似した生殖細胞の作成に成功したとする報告がなされている。また小児期、思春期で白血病や悪性腫瘍により骨髄移植や抗癌剤の投与を余儀なくされる症例があり、将来の妊孕能の温存が課題となっている。卵巣組織の温存に関し、最近、凍結卵巣組織を融解後移植し分娩に至った症例が報告され、今後のさらなる技術革新が期待される⁷⁾。(表 3)

おわりに

ART に代表される生殖医療補助技術の進歩は多くの不妊患者に福音をもたらしたと同時に、多胎妊娠、

未熟児出産増加などの弊害も生まれた。さらには、非配偶者間の体外受精、代理母、借り腹、着床前遺伝子診断など従来予想されなかった、新たな生命倫理に関わる問題も提起されるようになった。また、ART 妊娠の周産期予後、新生児予後への影響に関しては未だ充分とは言えず、今後さらなる症例の集積による検討が必要であり、今後解決すべき課題も数多く残されているのが現状であると考ええる。

参考文献

- 1) 千石一雄：生殖医療の現状と展望 北海道医学雑誌 75：237-242, 2000
- 2) Palermo GD, Cohen J, Rosenwaksz: Intracytoplasmic sperm injection: a powerful tool of fertilization failure. Fertil Steril 65: 899-908, 1996
- 3) Dulioust E, Busnel MC, Carlier M, Roubertoux P, Auroux M: Embryo cryopreservation and development: facts, questions and responsibility. Hum Reprod, 14: 1141-1145, 1999
- 4) 日本産科婦人科学会理事会内委員会：平成16年度診療・研究に関する倫理委員会報告。日産婦誌 58：1554-1579, 2006
- 5) Bongso A: Handbook on blastocyst culture. Sydney Press, Singapore. 1999
- 6) Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology: The role of assisted hatching in in vitro fertilization: a review of the literature. A committee opinion. Fertil Steril, 85: 544-546, 2006
- 7) Meirou et al.: Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. N Eng J Med 353: 318-21, 2005

表 3 不妊治療の今後の展望

老化卵 (高齢者)	卵細胞質移植、核移植
悪性腫瘍患者 (思春期)	卵巣組織、未成熟卵胞、未成熟卵子の凍結保存、体外培養、同種/異種間移植
無精子症 (maturation arrest)	精母細胞、精子細胞を用いた顕微授精
卵子・精子欠如	体細胞を用いた卵子・精子の作成

Present state and future in assisted reproductive technology

SENGOKU Kazuo*

Summary

It has been almost 28 years since the first birth of IVF baby and rapid advances in assisted reproductive technology (ART) have taken place. Today, ART has become an important and popular tools for treatment of infertility patients with several causes. Recently, blastocysts transfer and assisted hatching technology have been developed and good results have been reported. However, the take home baby rates have still been low around 20 %. To improve the results in ART programs, the improvement of embryo viability and the solution of problems of implantation have been required. It has been expected that new technology has been developed to solve the major problem that ART has faced such as the low take home baby rates and high-order multiple pregnancy.

Key words ART: Assisted reproductive technology, IVF: In vitro fertilization and embryo transfer,
ICSI: Intracytoplasmic sperm injection

*Department of Obstetrics and Gynecology Asahikawa Medical College