診療 (依頼稿)

ヒトの体外受精・胚移植

Human in Vitro Fertilization and Embryo Transfer

Alan TROUNSON, Peter A.W. ROGERS, Peter J. LUTJEN, Henry SATHANANTHAN,
Hans-Otto HOPPEN, Chris YATES, David de KRETZER, John LEETON,
David HEALY and Carl WOOD

Department of Obstetrics & Gynaecology, Monash University, Queen Victoria Medical Centre, Australia

訳 鈴木雅洲・佐藤 章・星合 昊 (東北大学医学部産科学婦人科学教室)

Key words: In vitro fertilization・Infertility・Superovulation・Egg and embryo freezing

緒 言

体外受精・胚移植 (IVF & ET) は現在では種々の原因による不妊症の治療法として臨床的に確立している。近年, 人の IVF & ET に関する基礎的・臨床的発表が急激に多くなつて来ている³⁵⁾。まず IVF は基礎的・臨床的な熟練と共に多種の技術の訓練が必要な方法であると認識するべきである。また同時に IVF & ET のように急速に進歩してきている基礎的・臨床的研究は倫理的問題と関わり大きな心理学的・社会学的問題となつてきている。このように考えると現在までの IVF & ET に関するすべての分野での review をすることは困難であり, ここでは常時高い妊娠率を得るために大きな影響を与えると考えられる基礎的研究について言及したい。

IVF & ET に関する基礎的研究の主な問題点

IVF & ET の基礎的研究は次のように大別することが出来る。

1. 過排卵, 排卵調節, 妊娠の確立に対する内分泌学的研究。
2. 体外受精, 培養, 受精卵の発育と胚移植に関する研究。
3. 卵・受精卵の凍結に関する生物学的研究。
4. 配偶子の移送・受精・胚発育・着床に関する生化学的研究。
5. 精子の成熟・受精, 男性不妊に関する研究。
6. 受精および早期胎芽の発育に関する形態学的 (電顕的) 研究。
7. 受精・胎芽・胎児に対する遺伝的および分子

レベルでの研究。

我々の研究グループはこれら上記の基礎的研究を行ない, IVF & ET の技術的向上がこれらの分野のいくつかに得られた。

IVF & ET に対する臨床的評価は“単純な IVF の症例”に集中している。単純な IVF 症例とは夫の方は正常であるが, 妻の方に両側卵管閉塞がある夫婦のケースである。もともとの人 IVF & ET が開発された目的はこのような症例のための治療法であつた。これらの症例とは卵管閉塞の状態がひどく, マイクロサージャリーによる卵管形成術の不能例や不成功のため妊娠しない症例である。このような症例に対し, 過排卵をおこさせ 1~3 個の卵を得, 夫の精子と受精させ, 受精卵を子宮にもどす方法である。このような症例の場合, IVF & ET を 4~5 cycle 施行するうちに妊娠成立を期待できる³⁾⁶⁾⁴⁴⁾。これは IVF & ET 治療で 4~5 cycle で 50% の妊娠と同じことである²⁹⁾。最初の 2~3 cycle で胚移植をしても妊娠が得られない場合には, 夫婦が希望するならばつと IVF & ET を施行すべきと考えている。

“単純 IVF 症例”での障害

1. 過排卵に対する異常反応の結果, 満足すべき数の成熟した卵胞が得られない場合。
2. 精子の障害のために受精ができない場合。
3. 受精卵の発育や胚移植後の失敗を繰り返す場合。
4. 妻自身に障害がある場合, つまり (a) 子宮内膜症のため, (b) 卵巣のう腫がある場合, (c) 腹腔

鏡下または超音波断層下において採卵できない場合、(d)もともと卵巣に障害があつたり、卵巣機能が完全でない場合、(e)妻の年齢が40歳以上の場合、(f)一回の胚移植では1～3個の受精卵を移植するのが普通であるが、これ以上(4個以上)の受精卵を移植した場合。

男性側にとつても精子運動率の低下、精子濃度の低下、異常精子の増加など、精子に障害のある場合も“単純 IVF 症例”にとつて障害になる¹⁴⁾。さらに、もし夫が無精子症ならば受精には他人の精子を使用せねばならないが¹⁴⁾、睾丸より外科的に精子を採取し、受精させることも可能である²⁷⁾。

我々は“単純 IVF 症例”のこれらの合併症に対し、積極的に治療している。また、これらの問題に関し、適切な相談・助言が重要である⁴²⁾。

IVF & ET における社会的・心理的重要性

IVF 治療に対する社会的、心理学的効果、妊娠に失敗した場合、流産、正常な児を得られるかどうかに関する研究は、Monash 大学の IVF programme や他の世界中の多数のセンターにおいて、IVF を施行するにあたっては重要な問題である。なぜ IVF を続けることを患者達が希望しないか¹⁷⁾、どのようにして胚移植する数や、凍結卵の使用や他人の受精卵を使用することを決意したか¹⁸⁾の調査では、費用の問題と、IVF 治療に対するストレスに関係する種々の原因が治療を続けることをやめている主な理由である。また、胚移植をする際の受精卵の数の決定については、余剰の卵子や受精卵を他の患者に与えるというよりは、むしろ患者自身のために凍結卵を使用してでも妊娠する機会を多くしたいという理由で決めている。これらの調査から得られた情報は将来の IVF はどのような方向に進むかを決定すると思われる。

IVF & ET に関する倫理的問題は IVF を施行しているすべての世界各国において重大なことである。社会倫理的考えはそれぞれの国によつて異なっている。つまり、現在まで開発されたすべての技術を支持するところもあれば、他人の卵・受精卵を使用することや、凍結卵の使用は禁止しているところもあり、また“単純な IVF 症例”での操作でさえも禁止しているところもある。各々

特殊な国の医療組織は、自分達の社会および政府に対し、IVF & ET の真の技術について説明し、不妊症夫婦に対する治療に対し、選択の自由を認めさせる努力が必要である。

体外受精での superovulation (過排卵) 処置における内分泌学的検討

Edwards & Steptoe et al.⁴⁾によつて確立された初期の IVF & ET では、自然排卵周期を採用しており、その中での内分泌学的変動の把握を必要とした。そのため、血中や尿中の estrogen 値の測定、超音波による卵胞径の計測、さらに尿あるいは血中での内因性の LH surge 発来を検出がなされた。この自然排卵周期での方法に代り、clomiphene citrate (clomid) の使用による軽い過排卵誘発がなされるようになった。また human chorionic gonadotropin (hCG) の投与も、排卵時刻や採卵のための腹腔鏡施行のタイミングを正確なものにする目的で行なわれ始めた³⁶⁾。この時点での clomiphene 投与法は、周期 2～5 日目より 50～100mg を 5 日間連続投与するというものであつた。しかし IVF & ET における妊娠率は、発育卵胞数、採取卵数、移植受精卵数と相関することが明らかとなつて以来⁴⁴⁾、human menopausal gonadotropin (hMG) の投与⁷⁾あるいは hMG と clomiphene の併用³⁰⁾により、卵巣での成熟卵胞数を多くする方法がとられるようになった。hCG の投与は、卵胞の最終成熟期および腹腔鏡施行時刻をコントロールするべく、現在でも広く行なわれている。

妊娠成功例、不成功例を retrospective に比較することにより、最良の卵巣の反応を得る方法として、いくつかの刺激法が提唱されている。しかし現在のところ最良の方法が確立されているとは言い難いものの、clomiphene を使用する際には子宮の受容能低下に起因する妊娠障害作用のあることが認識されつつある²⁹⁾。我々は現在、胚の生存性および子宮の受容能をそれぞれ最大にする方法を試行しており、卵巣刺激の最良の方法を模索中である。

我々の行なつた clomiphene+hMG による刺激法を retrospective に分析したところ、hMG 量

の増加にともない成熟卵胞数, 採取卵数, 移植卵数, そして妊娠率の増加をみた。しかし, hMG の大量投与によつても十分な反応が得られない例も存在し, これらでは gonadotropin に対する卵巣の感受性低下があり, そのため妊娠率も低くとどまると考えられた。このような例には gonadotropin-releasing hormone (Gn-RH) またはその analogue を用いた研究より, Gn-RH を一定期間投与することが必要と考えられる²²⁾。

卵胞成熟の monitoring には, 尿・血中の estrogen の変動の観察, また超音波断層法がなされる。そしてこれらによつて把握された卵胞発育度あるいはその数により, clomiphene あるいは hMG の投与量, 期間が決定される。この場合卵巣過剰刺激を予防することは重要なことである。また投与初期の施用量によつて発育卵胞数が影響され, また成熟卵胞数も変わる。一般的に clomiphene は 100mg/day が 4~8 日間投与され, また hMG は 150~225IU FSH/day (この 1 日量は 2 回にわけて投与できる) が投与され, 卵胞の急速発育期 (rapid growth phase: 卵胞径 13mm 以上, estrogen 値が 800pg/ml 以上で倍増を開始した時期) まで続けられる。その他の卵巣刺激法は文献より見出せるが, 適当な過排卵法の選択には, 技術上での経験も考慮されるべきであるし, また施設における monitoring の設備の状態も関与してこよう。

過排卵処置として hMG そして hCG を使用する際, とくに hMG 単独では未熟卵が多く得られると言われている³⁸⁾。それに対し, clomiphene を単独あるいは hMG と併用すれば, 未熟卵数は多くはなつてこない。このような未熟卵は丘細胞の状態によつて判定でき, 追加成熟のために, 媒精に先立ち 24~40 時間培養される³⁸⁾。卵自体の成熟をみることは, 現在のところ丘細胞を hyaluronidase 処理で除去するしかなく, そうすれば卵の正常な成熟は阻害される。このような hMG 単独投与による難点は, とくに IVF & ET を始めたばかりの施設では避けたいところであり, また技術面での経験の確立によつて初めて卵成熟のための種々の刺激法を克服できるようになると言え

る。

過排卵処置によつて, 着床前期の子宮内膜が如何に影響を受けるかの詳細は不明である。しかし hMG 単独投与の場合, clomiphene 単独あるいは clomiphene+hMG 併用時に比較して, 着床期子宮内膜がよりよい状態になると言われている。これは米国あるいはオーストラリアの主要施設で, 種々の刺激法における胚の生存性や子宮内膜の受容能を比較検討した結果に基づいている²³⁾。すなわち, hMG 単独投与では, 高い着床率が得られるものの, 卵の未熟性による胚の生存率は低く抑えられ, それに対して clomiphene を使用した場合には, その anti-estrogenic な作用によつて, 子宮内膜の状態がよいとは言えず, 胚移植後の妊娠率は低くとどまるというものである。現在我々は, hMG および clomiphene 投与による子宮内膜の生化学的, 形態学的変化について検討中である。

IVF & ET のための卵採取法

腹腔鏡は卵採取法として便利で効率的な方法であり, IVF を試みる人達が通常おこなっている方法である。卵吸引針と実施法については確立された方法⁴²⁾に施設毎に若干のモディフィケーションをしている。しかしいまだに腹腔鏡の際の気腹に使用するガスは炭酸ガスが良いか混合ガスが良いか (5%CO₂, 5%O₂, 90%N₂) は明確でない。炭酸ガスは培養液の pH を酸性にするしその結果卵にとっては有害に違いない。しかし患者にとつては混合ガスは炭酸ガスよりもガス塞栓を作る危険性が高い。腹腔鏡下採卵の適当な吸引針は既に医療器械店で販売されている。膀胱を充満させ局所麻酔か全身麻酔でおこなわれる超音波断層下採卵法も段々普及し始めている¹⁰⁾³⁹⁾。超音波断層下採卵を局所麻酔で実施するようになり, 本来手術場でなされてきた採卵を外来まで可能にしている⁵⁾。この技術は患者の入院期間を減じ, 料金を安くするだけでなく, 患者の不安やストレスも減少させる。しかしこの方法も痛みを強く訴える患者には使えない。一部の施設では全ての採卵を超音波断層下で実施しているが, 一般的には腹腔鏡下と超音波断層下採卵の両者が行なわれている。

超音波断層下に経皮的に卵胞穿刺する方法によ

る成功率は腹腔鏡下採卵の成功率に近づいてきている⁴⁰⁾。しかし、腹腔鏡下に卵巣に到達し得ない症例に対しては超音波断層下採卵をしなくてはならない。最近では超音波断層下に経腔的に採卵する報告もある。この方法は経腹的な採卵と同様の効果があり、患者にとって痛みも少ないし、より受け入れ易い方法である。一般的に腔前壁から卵巣までは腹壁からよりも近いため、吸引穿刺針が卵巣まで短い距離ですむ。この二つの方法の長所の比較は近々報告されるだろう。超音波断層下採卵を始めたばかりの施設では採卵率、妊娠率とも減少することを経験する。このことは妊娠率と移植胚数に深い関係があるためである⁴⁴⁾。すなわち超音波断層下採卵と腹腔鏡下採卵の成功率は熟練した術者が実施すれば成功率は同じになる⁵⁾⁴⁰⁾。

超音波断層装置は経頸管的胚移植法の際、困難な症例、頸管の曲がりくねつたような症例にガイド的役割を果たし、胚移植の際の外傷を減少させるだろう⁹⁾。更に超音波断層下で正確な位置に移植カテーテルを挿入し胚移植を実施すれば5~10%といわれる子宮外妊娠の頻度も減るであろう。

採卵時の卵の状態

卵は通常は卵胞吸引液の中に粘着性をもつた卵丘細胞に囲まれた状態で発見される。卵胞腔をヘパリン添加の培養液で洗滌を繰り返すことにより採卵率は10~20%上昇する。一般的には卵丘細胞の状態で卵が正常か、退行卵か極端に未熟かが解る。退行卵は透明な卵胞液の中で暗い砂利のような卵丘細胞に囲まれている。未熟卵は極少量の卵胞液の中にあり、固い卵丘細胞に囲まれている。しかし、良く分散した卵丘細胞に囲まれた卵でも一部は卵胞吸引時に完全な成熟卵ではないことがある。これらの卵を確かめる唯一の方法は、ヒアルロニダーゼを使つて卵丘細胞を剥すことである。私達はヒアルロニダーゼを使つて卵丘細胞を剥すことは受精・分割・妊娠率に何の影響もないことを確かめている¹⁵⁾。しかしながらヒアルロニダーゼで処理した未熟卵を培養しても成熟してくるようには思えない。われわれは剥離された顆粒膜細胞と裸卵とは培養することにより正常な成熟

卵になることを証明しようとしている。

採卵後媒精前に4~8時間卵を培養することは今や当然のこととなつている。この方法は完全な細胞質成熟を起し、受精率・妊娠率を上昇させ得る³⁷⁾。

採卵時に得られる卵胞液に含まれる物質については多数の報告がある。これらの報告にはインヒビン、卵成熟阻害物質、ステロイドホルモンの組成、蛋白ホルモン、プロスタグランディンなどがIVF成功のための濃度として報告されている。卵の生存能力との関係でも卵胞液中のステロイド、蛋白やその他の物質が検討されているが、現在の所、存否、量的問題で卵の生存能力の指標となるものはほとんどない。近い将来これらの指標は確立されるであろうが、多分ひとつの物質(因子)ではなくて幾つかの物質の比で解るのではないだろうか。Templeton et al. は卵の成熟が卵胞液とは無関係であることを次のように証明した。すなわち内因性のLHサーージまたはhCG注射以前に採取した卵をゴナドトロピンのない培養液で培養し、これらの卵が成熟し8細胞期または胞胚期まで成長することを確認したのである。もし卵の成熟過程の最期がこのように卵胞液内物質と関係なく、非特異的環境下でなされるとすれば、採卵後媒精前に追加成熟培養をすることで良いだろう³⁷⁾。

体外受精

正常精液所見の男性より媒精のための精子調整法は確立した手技である。試験管またはミネラルオイル下での培地内で 10^4 /mlのmotile spermで媒精を行なう。手技は比較的簡単で媒精に先立ちpreincubationを必要とはしない。しかし、精液所見が不良である男性不妊の場合は、精子調整に注意する必要がある。例えば、精子凝集抗体のあるcaseでは精子を遠心してはいけない。なぜならclumpingや凝集をおこすことになるからである。運動率が悪いときにはmotile spermを回収するために精液静置法にかける時間を長くすることなど注意深い配慮が必要であろう¹⁶⁾。また、奇形率の高い場合はPercoll gradientを用いることにより正常形態で運動率良好の精子を集める²⁾。われわ

れの IVF & ET のプログラムでは精液所見不良の患者に対しては専門の andrologist がいて成功率が高い。

男性不妊症は私たちは WHO criteria で単独もしくは複合型の quality defect であるかを分類している⁸⁾。私たちは IVF における男性不妊の適応をきめるために使う quality criteria を決定する分類を研究中である。たとえば、単独の quality defect では正常精液所見の患者の受精率に近づきつつあるし、複数の quality defect の場合は体外における受精率はかなり低下するであろう。我々は精子運動率を改善する物質や capacitation stimulator を使い、受精率が良くなるか検討中である。また透明帯除去ハムスター卵子を使う受精能力をみる検査の有用性についての情報もある。この方法で IVF の patient selection の screening を行ない得る。ただ、この方法でパートナーの卵を受精させることができないこととはつきり判定できるかどうかは疑問がある。

精子頭部の膜表面の変化についての研究も開始され、精子-卵子の接触、受精過程を理解することができ、膜の欠損にともなう受精障害を克服する方法を発見できるだろう。

また、vas deferens and epididymis の閉塞の患者より epididymal spermatozoa を回収することもはじめている²⁷⁾。採卵の時間にあわせて外科的に sperm を採取して媒精を行なうものである。これらの場合、受精率は低いが1例は epididymal sperm で受精した卵を8細胞期で ET し妊娠となつた例があり、期待できる。この例では epididymis の mid-cauda section から精子を採取した。ご存知のように精子の受精能力は epididymis にそつて進むにつれ、この部より上昇する²¹⁾。わたしたちは体外成熟した epididymal sperm が受精能力をもつかどうかを in vivo, in vitro で検討中である。

不妊症の生化学的側面

頸管粘液中のシアル酸の欠損のため、精子の非免疫的凝集がおこることにより、生化学的な不妊になることがわれわれの研究室でわかつた¹¹⁾。これにより、腔より上部へ精子が上昇することがさ

またげられる。シアル酸の欠損による凝集は頸管粘液中の糖タンパクにシアル酸を加えることにより可逆的なものである (in vitro)。in vivo においても粘液にシアル酸を単純に加えても可逆的となる。たぶん、配偶子の transport や配偶子の interaction を抑える多くの生化学的物質があるものと考えられる。

機能性不妊症といわれる状態で男性、女性ともに正常と考えられても、cervix, uterus, 卵管において分泌物のちよつとした変化で in vivo において transport や fertilization をさまたげているのかもしれない。これらの患者においては受精率が13%で両側卵管閉塞の患者より低率である¹⁴⁾。これらの患者で in vivo において受精・分割が正常であるのはなんらかの生化学的な因子が作用していることを意味するのかもしれない。

また、精子成熟、受精能力の発達、配偶子の移送の機序を支配する因子の解明により、原因不明の生化学的問題が解明されるであろう。

胚の発育・生命力・構造

ヒト胚の発育の評価は分割率³⁷⁾、電顕上構造²⁵⁾、細胞内酵素活性¹⁹⁾、染色体¹⁾²⁴⁾などで試されてきた。これによつて我々のヒト胚の発育に対する理解は深まつたが、ヒト胚の生命力に対する理解、評価には大きなギャップがある。胚の異常については光顕・電顕による記述がある³¹⁾。しかし従来よりある実体顕微鏡で正常であると判定される胚の90%は生産児に到らない。このことはたとえ生体内のヒト胚の比較的高い消失率を考慮してもかなり高値である²⁶⁾。

Sathananthan et al.²⁵⁾によつてヒトの受精および初期胚発生の限外構造アトラスが作られているが、現時点での形態学上の我々の理解の表現でもある。すでにある手法を用いて胚の生命力を評価することの問題点は、少なくとも8細胞期までの胞胚の全能性にある。すなわち、この様な初期分割胚を分断しても、必ずしも正常発育を阻害し得ない点である。このことは次の点でも示される。4~8細胞期胚は凍結・解凍で50%まで壊されるが、それを子宮に戻すと全く正常と同じ生産児を得られるのである²⁰⁾³²⁾。生命力のある胚には正

常・異常の分割球が共に存在し、このことは胚の生命力を侵襲なくテストすることの困難性を示す。

受精・培養の条件の適正化は重要である。現在使われている培養液はマウス胚の実験や他の種の経験により開発された。最近我々の示したところでは培養液より蛋白を除去してもマウス・ヒト胚の受精・発育・妊娠率に影響をおよぼさない。我々は現在、高分子等を培養液に加えることにより改良できるか研究中である。

将来、ヒト初期胚の発生を研究するグループに課せられる規制により、ヒト IVF で用いられる手技、製剤の評価、改良が阻害されるかも知れない。許可されない研究域のうち重要なものはヒト胚のゲノムの研究である。マウスとヒトで示されるところでは、初期胚の遺伝子表現において、極めて特異的一連の変化が起こっている。これらの新しい蛋白の合成は胚の発育段階だけでなく、培養条件や各種化合物によっても影響を受ける。もし、遺伝子表現の正常な連鎖が中断されると、異常な発育をするか胚の死に到る。我々が正常の発育連鎖を解明できないとか、異常発育に到る変化を明確にできないと、胚の生命力を改善するのに必要な手技上の変化を見つけるのが非常に困難となる。

生体内の発育、in vitro での受精・培養における卵・精子・胚においては多くの染色体異常が起こり得る。これらの染色体異常は普通、胚の発育に致命的であり、初期流産となる。染色体異常をもつ胚を見つけることは重要であり、それらを ET しなくてすむ。つけ加えるに、単一の遺伝子欠如は分娩100に1例の割合で起こり得る。これらの単一遺伝子欠如は生命は維持するが、厳しいハンディキャップや短命に到る。胚を生検することによりこれらのいくつかの遺伝子欠如を見つけられるかも知れず、そうすればその様な欠陥の発生率を少なくできる。この様な技術は遺伝子病の家族歴をもつカップルに適用され、もし異常が見つければ妊娠を中絶するかどうかカウンセリングを求められる。IVF 技術のこの様な将来における応用の可能性は全てヒト胚の研究が許可されるかどうかにか

左右される。

卵・胚の凍結

ヒト胚の凍結・保存は我々の IVF クリニックにおいて重要な手法であり、これにより正常の妊娠・分娩を得ている²⁰⁾³²⁾³³⁾。過排卵処理により得られた過剰卵よりこの手法が生まれた。この手法はまた、腹腔鏡時や ET の前に患者が病気になつたり、ケガをした時に直ちに発育卵を戻せないときにも用いられる。3～4胎を避けるため1回に2～3個の卵しか我々は ET しない。残りの卵は普通、凍結され、引き続く次の周期に患者の求めに応じて解凍する。これにより効果的に1回の IVF での妊娠率を高めたり、冷凍しない卵で妊娠した場合には第2子を得る可能性が生じる。

我々の IVF クリニックでは30%以上の人が冷凍卵を望み、今までに5例の単胎、1例の双胎を得ており、さらに現在、冷凍しない卵の妊娠・分娩後に冷凍・解凍卵を移植し妊娠中の1人の患者がいる。

胚の冷凍・解凍の手法はすでに詳しく述べており、IVF における冷凍保存の体制・役割は、Trousseau と Freemann が述べている³³⁾。これらの手法により4細胞期から胞胚期に胚を凍結できる。我々は現在全く新しい方法により未受精卵の凍結・解凍を試みている。胚の凍結を未受精卵に用いることは今まで不成功に終わっている。未受精卵の凍結は患者に受け入れられる程度に胚の凍結と同程度の成功率であらねばならない。しかしながら、未受精卵の凍結は倫理上および実地上の利点がある。未受精卵の凍結保存は、すでに言われている倫理的な反対意見に対することができ、もし患者が未受精卵を望まねば、卵をとれないカップルに与えることが可能となる。

卵または受精卵提供

卵または受精卵を提供する方法は、われわれのグループにより確立された。この対象となる患者は大きく二つのカテゴリーに分類される。

1) 卵巣機能のある症例：このカテゴリーの症例は遺伝性疾患の家族歴のあるもので卵巣が腹腔鏡下または超音波断層下に採卵不能のものや、通常の IVF の手順に禁忌のものである。われわれの

施設ではこのカテゴリーの症例は大部分遺伝性疾患を持った症例である。このような婦人達は遺伝性疾患を持った子供が生まれないように不妊手術を受けていることも多い。これらの症例は通常の月経周期を持ち、匿名のまたは患者の知り合いで卵を提供する人と月経周期を同調させる必要がある。これらの提供者にも被提供者にも、実施方法やこのことの持つ意味、社会的・精神的問題について特別なカウンセリングがなされる。患者達は Templeton et al.の方法で月経周期と同調させるのだが²⁸⁾、われわれは通常提供者と被提供者の排卵が24時間以内に起こるように同調させている。この月経周期の同調すなわち卵と子宮内膜の同調が妊娠成功のための秘訣である³⁴⁾。

2) 原発性卵巣機能不全の症例：このカテゴリーには閉経期直前のもの、ターナー症候群、卵巣発育不全、疾病または手術による卵巣機能を失った症例が含まれる。このような症例に対してホルモン補充療法を施行することにより子宮内膜の状態を排卵性周期が妊娠前半期とほとんど変わらないようにすることができる。この方法で卵巣機能の完全でない症例を妊娠させ継続することができる¹²⁾。この方法で原発性の卵巣機能不全の症例3例に正常な児を出産させている。この方法によれば卵巣機能のある婦人の卵を寄贈することは困難でない¹³⁾。この方法は動物実験による成功に基づき、不妊症に対する体外受精療法の可能性を拡大している。

卵巣機能のない症例を内分泌学的に検索した結果、ステロイドホルモン補充療法により LH・Estrogen・Progesterone は正常周期と同様にコントロールできるが、FSH はコントロールできないことが解つた。このことは多分、卵胞卵のないこと、インヒビンのような FSH 放出抑制作用のある物質等によるものであろう。Estrogen や Progesterone のような卵巣性ステロイドは妊娠前半期には必要であるが、その後は胎盤がステロイドを生成し分娩まで妊娠維持に十分な程分泌できる。Howard Florey Reserch Institute の研究者によれば、このカテゴリーの症例は通常の分娩機転が起こらず帝王切開でなくては分娩できない

ことから、これらの症例には relaxin が欠如しているようだと云っているのは非常に興味深い。

冷凍受精卵の技術が進歩と共に卵の提供の可能性について大きな問題が起こってきた。通常の IVF の患者は自分の分娩の機会を最高にしたいため冷凍卵の技術を利用したいという強い希望からめつたに自分の卵を提供することはない。一部の患者は卵を提供することに同意した家族や友人がいるが、大部分の患者は匿名の卵提供者が現われるのを待っている。希望による不妊手術を施行した人達はしばしば卵を寄贈することに同意することが解つたので将来はこれらの人々が卵の提供者の供給源となると思われる。

将来への展望

IVF & ET の現在の最も重要な問題は成功率を上げることにある。現時点での成功率は種々報告があるが、総じて周期あたり10~15%の出生率であり、腹腔鏡または超音波断層による採卵あたりでは20~30%の妊娠率であろう。IVF & ET の種々の技術に多大なる改良が加えられたが、胚の生存能力には未だ改良ができない。胚の生存能力や子宮の受け入れ能についてはわれわれの施設を含め努力はしている。胚の生存能力の改善のためには多分胚の生長を知る分子レベルの研究が必要であろう。一方着床するための子宮内環境の理想的状態も作り出さねばならない。そのためには現在われわれの知っている着床(準備)可能状態よりも正確な着床過程に対する知識が必要である。この方面の研究は刺激排卵周期についても自然排卵周期についても生化学的および形態学的方法による子宮内環境に対する研究が必要であろう。IVF を希望する患者は現在の IVF 技術に対しては成功率の上昇を進歩としてみている。

カウンセリングは IVF プログラムとは別なものだが、患者にとって必要なことである。コンサルタント達は独自のグループで構成されるべきだが、その人たちは不妊夫婦と何等かのかかわりを持つ立場の人々、サイコロジストやソーシャルワーカー、医療従事者、家族計画指導員、および一般社会や他の不妊夫婦のような素人たちも含まれると良い。不妊夫婦の理解や援助の進歩は不妊

症の精神的研究の興味を増大させる。

IVFの男性不妊症への応用は、この分野のより明確な研究と不妊症に対する重要な視点を持つてIVFの適応を拡大する必要がある。現在のところこの分野には余り努力されておらず、この分野の進歩のためにはIVFのための精子処理法を改良しなくてはならない。近い将来に未受精卵に非運動精子を挿入するマイクロマニプレーションの技術は可能となる。実際この技術はわれわれの所で動物実験で試みている。裸にしたハムスター卵に非運動精子を挿入した実験の報告はあるが、この技術を使つて実際ヒトで試みられることだろう。

一方、IVFの研究の過程で新しい避妊法が考案されている。これらには精子細胞膜、女性生殖管での分泌物、卵周囲にある透明帯の改造などである。精子および卵子の受容体を特別に改造することすなわち精子や透明帯の糖蛋白の糖鎖を変換することにより、簡単に効果的に受精を阻止できるであろう。このような研究はわれわれの研究室も含めて世界中でなされている。

更に近い将来遺伝性疾患の家族歴を持つ人達を含めてIVF患者の遺伝相談もなされるようになる。例えばタラセミアのような遺伝子問題の引き起こされるような遺伝子を消す方法の開発にわれわれのグループは興味を持つている。また近い将来通常のIVF患者に対する遺伝相談も可能となる。また胎児発育や分化を司る遺伝子に関する研究も分化障害、例えば流産してしまつたり重症障害を生ずる神経障害などを引き起こす遺伝子についての理解のためわれわれは実施している。妊娠初期に避けられるべき薬や化学物質に対する注意の進歩のためにも、胎児発育障害を起こす催奇形性物質についても研究されるだろう。更には胚の異常を引き起こすような環境や物質についてもこの領域の研究で進歩するだろう。なぜならば遺伝的発育障害は種特異性があり、この領域の多くの研究は将来人々がこの研究に価値を認めればヒト胚により確かめられねばならないからである。

おわりに

IVFの技術は現在では、不妊症の種々の面での日常臨床の手段と考えられるようになってきた。

IVFの技術は原発性卵巣疾患、原因不明不妊症、子宮内膜症による不妊症やある種の男性不妊症に対して広く利用されるようになってきている。しかしながら、現在までのIVF手技の改善には良好な受精卵を得ることと、着床の困難さという2点の問題点がある。そのため、臨床的手技として十分な改善を得るためにはこの二つの分野での研究努力が必要である。また倫理的・社会的な反論や将来可能性のあるIVF技術の開発利用に対し立法処置がなされ、IVF施行を管理することが多くなつてきている。例えば、IVF技術を子宮のない婦人から卵をとりvolunteerの婦人の子宮を借りて妊娠させる、所謂借り腹法に対し、現在ではオーストラリアの我がビクトリア州や、英国および米国の多数の州において法律で禁止されている。その他の制限に、実際上における制限、とくに着床させる以前の受精卵に対する取り扱いの制限がある。これについてはIVF技術の進歩改善を妨げることになり、ひいては人類にとって有益と思われる他の医学的見地からも進歩を阻害しているかもしれない。

先進国においては不妊症患者が増加している。増加している不妊の種類調査と、その増加の原因については世界中の不妊を取り扱う施設からの情報でわかるようになるであろう。どうして、どのようにして不妊症が増加しているかについて、その筋に助言するために、我々がオーストラリアに於いて周産期登録委員会へおこなつていくように情報ならびにその研究結果を集積させておく必要がある。このようにしてまたIVFは、増加傾向のある不妊症を防止する見地からも発達していくと思われる。

本原稿は、オーストラリア政府の財団である豪日交流基金より招待され日本で講演(1985年5月18日、仙台市)した時の内容である。

文 献

1. Angell, R.R., Aitken, R.J., Van Look, P.F.A., Lumsden, M.A. and Templeton, A.A.: Chromosome abnormalities in human embryos after in vitro fertilization. *Nature, Lond.*, 303: 336, 1983.
2. Braude, P.R. and Bolton, V.N.: The prepara-

- tion of spermatozoa for in vitro fertilization by buoyant centrifugation. In: *Recent Progress in Human in Vitro Fertilization*, (eds., W. Feichtinger and P. Kemeter), 125. Cofese, Palermo, 1984.
3. Edwards, R.G., Fishel, S.B., Cohen, J., Fehilly, C.B., Purdy, J.M., Slater, J., Steptoe, P.C. and Webster, J.M.: Factors influencing the success of in-vitro fertilization and embryo transfer. *J in Vitro Fert. Embryo Transfer*, 1: 3, 1984.
  4. Edwards, R.G., Steptoe, P.C. and Purdy, J.M.: Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br. J. Obstet. Gynaec.*, 87: 737, 1980.
  5. Feichtinger, W. and Kemeter, P.: Organization and computerized analysis of in vitro fertilization and embryo transfer programs. *J. in Vitro Fert. Embryo Transfer*, 1: 34, 1984.
  6. Jones, H.W., Acosta, A.A., Andrews, M.C., Garcia, J.E., Jones, G.S., Mayer, J., McDowell, J. S., Rosenwaks, Z., Sandow, B.A., Veeck, L.L. and Wilkes, C.A.: Three years of in vitro fertilization at Norfolk. *Fertil. Steril.*, 42: 826, 1984.
  7. Jones, H.W. Jr., Acosta, A.A., Andrews, M.C., Garcia, J.E., Jones, G.S., Mantzavinos, T., McDowell, J., Sandow, B., Veeck, L., Whibley, T., Wilkes, C. and Wright, G.: The importance of the follicular phase to success and failure in in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 40: 317, 1983.
  8. de Kretser, D.M., Yates, C.A., Leeton, J.F., Southwick, G.J., Temple-Smith, P.D., Trounson, A.O. and Wood, C.: The use of in vitro fertilization in the management of male infertility. In: *Gamete Quality and Fertility Regulation*, (ed. R. Rolland), in press, Excerpta Medica, Amsterdam, 1985.
  9. Leeton, J., Trounson, A., Jessup, D. and Wood, C.: The technique for human embryo transfer. *Fertil. Steril.*, 38: 156, 1982.
  10. Lenz, S. and Lauritsen, J.G.: Ultrasonically guided percutaneous aspiration of human follicles under local anesthesia—A new method of collecting oocytes for in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 38: 673, 1982.
  11. Lutjen, P.J., Handley, C.J. de Witt, M.T., Trounson, A.O. and McBain, J.C.: Biochemical changes in cervical mucus factor infertility. *Gamete Res.*, 1985a, in press.
  12. Lutjen, P., Trounson, A., Leeton, J., Findlay, J., Wood, C. and Renou, P.: The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. *Nature Lond.*, 307: 174, 1984.
  13. Lutjen, P., Leeton, J., Trounson, A., Renou, P., Wood, C. and Findlay, J.: Pregnancy without ovarian function. *J. in Vitro Fert. Embryo Transfer*, 2: 1985b, in press.
  14. Mahadevan, M.M., Trounson, A.O. and Leeton, J.F.: Relationship of tubal blockage, infertility of unknown cause, suspected infertility and endometriosis to success of in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil. Steril.*, 40: 340, 1983.
  15. Mahadevan, M.M. and Trounson, A.O.: Removal of the cumulus oophorus from the human oocyte for in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 43: 263, 1985.
  16. Mahadevan, M.M. and Baker, G.: Assessment and preparation of semen for in vitro fertilization. In: *Clinical In Vitro Fertilization*, (eds. C. Wood and A. Trounson), 83. Springer-Verlag, Berlin, 1984.
  17. Mao, K. and Wood, C.: Barriers to treatment of infertility by in vitro fertilization and embryo transfer. *Med. J. Aust.*, 140: 532, 1984.
  18. Mao, K. and Wood, C.: Decisions about the use of embryos. *Lancet*, 2: 1306, 1983.
  19. Mohr, L.R.: Assessment of human embryos. In: *In Vitro Fertilization and Embryo Transfer*, (eds. A. Trounson and C. Wood), 159. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1984.
  20. Mohr, L.R., Trounson, A. and Freemann, L.: Deep-freezing and transfer of human embryos. *J. in Vitro Fert. Embryo Transfer*, 2: 1985, in press.
  21. Moore, H.D.M., Hartman, T.D. and Pryor, J. P.: Development of the oocyte-penetrating capacity of spermatozoa in the human epididymis. *Int. J. Androl.*, 6: 310, 1983.
  22. Porter, R.N., Smith, W., Craft, I.L., Abdulwahid, N.A. and Jacobs, H.S.: Induction of ovulation for IVF using Buserelin and gonadotrophins. *Lancet*, 1: 1284, 1984.
  23. Rogers, P.A.W., Milne, B.J. and Trounson, A. O.: A model to show human uterine and embryo viability following ovarian stimulation for in vitro fertilization. *J. in Vitro Fert. Embryo Transfer*, 1985, in press.
  24. Rudak, E., Dor, J., Mashiach, S., Nebel, L. and Goldman, B.: Chromosome analysis of multipronuclear human oocytes fertilized in vitro.

- Fertil. Steril., 41 : 538, 1984.
25. *Sathananthan, A.H., Trownson, A.O. and Wood, C.* : Atlas of Fine Structure of Human Sperm, Eggs and Embryos Cultured In Vitro, Praeger Scientific, Philadelphia, 1985.
  26. *Short, R.V.* : When a conception fails to become a pregnancy. In : Maternal Recognition of Pregnancy, (CIBA Foundation Series No. 64), 377. Excerpta Medica, Amsterdam, 1979.
  27. *Temple-Smith, P.D., Southwick, G.J., Yates, C. A., Trownson, A.O. and de Kretser, D.M.* : Human pregnancy by in vitro fertilization (IVF) using sperm aspirated from the epididymis. *J. in Vitro Fert. Embryo Transfer*, 2 : 1985. in press.
  28. *Templeton, A.A., Van Look, P., Lumsden, M. A., Angell, R., Aitken, R.J., Duncan, A.W. and Baird, D.T.* : The recovery of pre-ovulatory oocytes using a fixed schedule of ovulation induction and follicle aspiration. *Br. J. Obstet. Gynaec.*, 91 : 148, 1984.
  29. *Trownson, A., Hoppen, H.-O., Lutjen, P., Mohr, L.R., Rogers, P.A.W. and Sathananthan, A.H.* : In Vitro Fertilization: The State of the Art. In : Gamete Quality and Fertility Regulation, (ed. R. Rolland), Excerpta Medica, Amsterdam, 1985. in press.
  30. *Trownson, A. and Conti, A.* : Research in human in-vitro fertilisation and embryo transfer. *Br. Med. J.*, 285 : 244, 1982.
  31. *Trownson, A. and Sathananthan, A.H.* : The application of electron microscopy in the evaluation of two- to four-cell human embryos cultured in vitro for embryo transfer. *J. in Vitro Fert. Embryo Transfer*, 1 : 153, 1984.
  32. *Trownson, A. and Mohr, L.* : Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature Lond.*, 305 : 707, 1983.
  33. *Trownson, A. and Freeman, L.* : Role of cryopreservation of human oocytes and embryos in an IVF program. In : Progress in Infertility, 3rd Edition, (eds. G.W. Patton, R. Kistner and J. Behrman), Little, Brown and Co., Boston, 1985. in press.
  34. *Trownson, A., Leeton, J., Besanko, M., Wood, C. and Conti, A.* : Pregnancy established in an infertile patient after transfer of a donated embryo fertilised in vitro. *Br. Med. J.*, 286 : 838, 1983.
  35. *Trownson, A.O. and Lutjen, J.* : In vitro fertilization and embryo transfer in the human. *Biblio. Reprod.*, 44 : B1, 1984.
  36. *Trownson, A.O., Leeton, J.F., Wood, C., Webb, J. and Wood, J.* : Pregnancies in humans by fertilization in vitro and embryo transfer in the controlled ovulatory cycle. *Science, N.Y.*, 212 : 681, 1981.
  37. *Trownson, A.O., Mohr, L.R., Wood, C. and Leeton, J.F.* : Effect of delayed insemination on in-vitro fertilization, culture and transfer of human embryos. *J. Reprod. Fert.*, 64 : 285, 1982.
  38. *Veeck, L.L., Wortham, J.W.E., Witmyer, J., Sandow, B.A., Acosta, A.A., Garcia, J.E., Jones, G.S. and Jones, H.W.* : Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 39 : 594, 1983.
  39. *Wikland, M., Nilsson, L., Hansson, R., Hamberger, L. and Janson, P.O.* : Collection of human oocytes by the use of sonography. *Fertil. Steril.*, 39 : 603, 1983.
  40. *Wikland, M. and Hamberger, L.* : Ultrasound as a diagnostic and operative tool for in vitro fertilization and embryo replacement (IVF/ER) programs. *J. in Vitro Fert. Embryo Transfer*, 1 : 213, 1984.
  41. *Willadsen, S.M.* : The developmental capacity of blastomeres from 4- and 8-cell sheep embryos. *J. Embryol. Exp. Morph.*, 65 : 165, 1981.
  42. *Wood, C., Downing, B., Trownson, A. and Rogers, P.* : Clinical implications of developments in in vitro fertilization. *Br. Med. J.*, 289 : 978, 1984.
  43. *Wood, C., Leeton, J., McTalbot, J. and Trownson, A.O.* : Technique for collecting mature human oocytes for in vitro fertilization. *Br. J. Obstet. Gynaec.*, 88 : 756, 1981.
  44. *Wood, C., McMaster, R., Rennie, G., Trownson, A. and Leeton, J.* : Factors influencing pregnancy rates following in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil. Steril.*, 43 : 245, 1985.