

Clomiphene-HMG 卵巣刺激法による体外受精・胚移植法の検討

東京歯科大学市川病院産婦人科

小田 高久 吉村 慎一 角 ゆかり 椎名 正樹
矢作 みき 松本 千秋 大野虎之進

慶應義塾大学医学部産婦人科

原 澄子 中村 幸雄 飯塚 理八

Clomiphene-HMG Ovarian Stimulation in Human in Vitro
Fertilization and Embryo Transfer

Takahisa ODA, Shinichi YOSHIMURA, Yukari SUMI,
Masaki SHIINA, Miki YAHAGI, Chiaki MATSUMOTO
and Toranoshin OHNO

Department of Obstetrics and Gynecology, Tokyo Dental College, Ichikawa Hospital, Chiba

Sumiko HARA, Yukio NAKAMURA and Rihachi IIZUKA

Department of Obstetrics and Gynecology, Keio University School of Medicine, Tokyo

概要 高度卵管性不妊を適応として、36症例、40周期を対象に体外受精胚移植(in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET)を施行した。全周期 clomiphene citrate (CC) 100mg/day を月経周期第3日より5日間内服せしめ、第7日より human menopausal gonadotropin (hMG) 150~300IU/day を連日投与した。血中 estradiol (E_2)及び卵胞径計測により卵胞発育を追跡し、十分な成熟の確認後 human chorionic gonadotropin (hCG) 5,000IU を筋注し、腹腔鏡下に採卵を行つた。更に IVF 予定患者13症例、14周期を control 群とし、CC-hMG により IVF 群と同様の卵巣刺激を行い、luteinizing hormone (LH) surge 開始時間と血中 E_2 及び卵胞径との関係を検討した。

control 群の LH surge 開始直前の leading follicle の最大径は 20.2 ± 0.7 (Mean $\pm$ S.E.)mm であり、卵胞1個あたりの血中 E_2 値は 384.1 ± 16.3 pg/ml であった。

IVF 施行40周期における hCG 投与前の leading follicle の最大径は 20.6 ± 0.3 mm であり、卵胞1個あたりの E_2 値は 305.8 ± 13.3 pg/ml であり、また hCG 投与直後では各々 21.5 ± 1.8 mm, 403.0 ± 19.2 pg/ml であった。採卵時の卵胞の大きさに関し検討した結果、吸引卵胞液量3ml以上の卵胞が、採卵率、成熟度の高い卵の得られる割合、受精率及び分割率とも全て良好であった。IVF 40周期の成績は、152個(3.8/周期)の卵が採取され、96個(63.2%)が受精し、79個(52.0%)が分割した。35周期(87.5%)において、平均2.3個の分割卵が得られ、その全ての周期において胚移植を行つた結果、3周期に妊娠が成立した。

以上の結果より、CC-hMG 法は CC 単独法と比較した場合、IVF-ET において優れた卵巣刺激法であると結論づけられた。

Synopsis In a program for in vitro fertilization and embryo transfer, laparoscopies for oocyte aspiration were performed in 40 cycles in 36 normally menstruating women with irreparable tubal diseases (IVF patients) who received clomiphene citrate (CC) and human menopausal gonadotropin (hMG). An intramuscular injection of human chorionic gonadotropin (hCG) was given to all patients after completion of follicular maturation. Fourteen cycles in 13 spontaneously ovulating women (control patients), also stimulated with CC and hMG, were adequately monitored to identify the appearance of the spontaneous luteinizing hormone (LH) surge. The follicular maturation was followed by daily ovarian ultrasonographic examination and serum estradiol estimations. Just before the LH surge the diameter of the leading follicle was 20.2 ± 0.7 (mean $\pm$ S.E.) mm and the serum estradiol concentration per follicle was 384.1 ± 16.3 pg/ml in the control patients. In the IVF patients the former was 20.6 ± 0.3 mm and the latter was 305.8 ± 13.3 pg/ml prior to hCG administration. When the relationship of follicular size to the rates of oocytes recovery, maturation, fertilization and cleavage was examined, larger follicles (3ml $\leq$ follicular fluid volume) showed

good results. Of the 152 oocytes that were recovered from these IVF patients, 96 (63.2%) were fertilized and 79 (52.0%) cleaved. Three pregnancies resulted from 35 embryo transfers.

Key words: In vitro fertilization • Clomiphene citrate • Human menopausal gonadotropin • Estradiol • Follicular diameter

緒 言

東京歯科大学市川病院では、慶應義塾大学医学部産婦人科の体外受精胚移植 (in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET) プロジェクトの一環として、昭和58年2月より IVF-ET の臨床応用に着手し成果を上げている。我々の IVF-ET プログラムは、その基本を諸外国の先達に学び、若干の独自の工夫を加えているが、未だ満足いく妊娠率に至っていない。最近、複数個の胚を移植することによつて IVF-ET の妊娠率が飛躍的に向上するとする報告^{13)~15)}が見られている。多数の胚を移植するためには当然多数の成熟卵を採取することが必要となり、そのための卵巣刺激法が非常に重要となつてくる。当初我々は clomiphene citrate (CC) 単独による卵巣刺激法を採用し、その成績については既に報告したが²⁾⁴⁾⁵⁾、その後卵巣周囲の癒着が高度で採卵が困難な例に対し、CC-human menopausal gonadotropin (hMG)法を取り入れ、最近では一般的な症例にも適応を拡大してきている。そこで今回我々は、IVF-ET における CC-hMG 卵巣刺激法及びその採卵時期の決定法を、採卵状況、卵の成熟度及び受精、分割率より評価し検討を加えたので報告する。

研究対象ならびに方法

1. 研究対象

東京歯科大学市川病院において、昭和58年9月より昭和59年11月までの期間に IVF を施行した36症例、40周期を対象とした。対象例は全例自然排卵を有しており、その年齢分布は23歳より40歳迄 (平均31.9歳) であつた。IVF の適応は、両側の卵管閉鎖、卵管欠損で卵管形成術が不可能あるいは卵管形成術が不成功に終つた高度の卵管性不妊とした。本研究においては、採取卵の成熟度及び受精分割状況より、卵巣刺激法及び採卵時期に関し検討を加えることを目的としているため、高度の乏精子症等の男性不妊の合併例または、卵巣

周囲の高度の癒着により最大の卵胞 (leading follicle) を吸引できなかつた症例は除外した。

更に CC-hMG による卵胞の発育と spontaneous luteinizing hormone (LH) surge の開始時期を検討するため、自然排卵を有する IVF 予定患者を対照群 (control) として、IVF 例と同様の卵巣刺激を行つた。control は13症例、14周期で、年齢は24歳より37歳迄 (平均33.1歳) であつた。

2. 研究方法

(1) 卵巣刺激法：CC (Clomid, 塩野義製薬) 100 mg/day を月経周期第3日より5日間内服せしめ、更に hMG (Pergonal, 帝国臓器製薬, 1A: 77~82IU・follicle-stimulating hormone (FSH), 73~86IU・LH) を月経周期第7日より連日午前11時に筋注投与した。hMG は2A/day より開始し、反応により3~4A/day に増量し、3~7日間投与した。

(2) 卵胞発育のモニターリング

① 超音波断層法 (ultrasonography, USG) による発育卵胞数、卵胞径の計測：月経周期第9日以降連日、1日1回、午前10~11時及び腹腔鏡施行30分前に実施し、発育卵胞の数とその最大内径を計測した。

② 血中 estradiol (E_2) 測定：月経周期第9日以降連日、1日1回、午前6~9時に採血し、 ^{125}I - E_2 radioimmunoassay kit (第一ラジオアイソトープ社) を用いた迅速簡便法³⁾により測定した。この迅速法は約4時間で結果が得られるのが特徴であり、原法と高い相関 ($r=0.950$) を有するが、測定値が原法と比較し高値となる傾向がある ($y=0.957x+143.57$, y : 迅速法, x : 原法)。また intra-assay precision は7.9%, inter-assay precision は12.2% であつた。

③ 採卵時期の決定及び採卵：血中 E_2 level 及び卵胞径より十分に卵胞が成熟したことを確認した後、LH surge 開始前に human chorionic gonadotropin (hCG, Gonatropin 帝国臓器製薬)

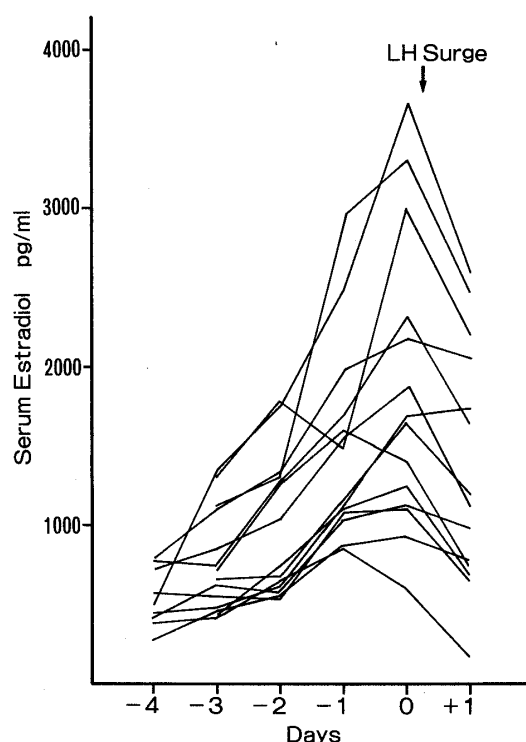
表1 採取卵の成熟度の分類

		卵の直径	放射冠の透明度	卵丘細胞の粘調度
I.	A. immature	100 μm >	B以下	大
II.	B. intermediate	約100 μm	スリガラス様	↓ 小
	C. fairly good mature	約100 μm	BとDの間	
III.	D. good mature	約100 μm	透明	
	E. very good mature	約100 μm	D以上	
IV.	F. just ovulated	ダグラス窩より吸引		

5,000IU を筋注投与した。この際 hCG 投与前に LH surge が開始していないことが条件であるため、hCG 投与直前に尿中 LH を測定した (Higonavis, 持田製薬)。尿中 LH が tonic level の 4 倍以上となった場合は LH surge が開始したと判定し採卵は中止した。hCG は最終 hMG 投与の 36 時間後の午後 11 時に投与した。hCG 投与 34 時間後の午前 9 時前後に、全身麻酔下 (酸素, 笑気, フローセン) にて 100% CO₂ で気腹し、腹腔鏡により採卵した。採卵針は内径 16G の single needle で、吸引圧 100~150mmHg で卵胞液とともに採卵し、即座に実体顕微鏡下で卵を捜し、卵が認められない場合には培養液にて卵胞内を洗浄した。

④ 培養及び体外受精: 培養液は modified Ham F-10 を基本とし, insemination medium (IM) には 10% の growth medium (GM) には 20% の inactivated human cord serum を, embryo transfer medium には 20~100% の inactivated patient's serum を加えた。培養条件は、温度 37°C, ガス相 5% O₂, 5% CO₂, 90% N₂ とした。採取された卵は実体顕微鏡下にて卵の大きさ、卵丘細胞の性状、放射冠の透明度等の形態的観察により、atretic なものを除外して 6 段階に成熟度を分類した (表 1)。成熟度によつて卵の前培養の時間は異なるが、最も成熟度の高い卵に至適な媒精時間を選択したため、4~6 時間の前培養となった。用手法により得られた精液は室温に静置し十分に液化せしめ、IM を加え遠沈洗浄して高濃度精子浮遊液を作製した。それを 30分~1 時間培養した後、所定の時間前培養した卵に、卵あたりの最終精子濃度が $1.0 \sim 8.0 \times 10^5$ になるように加えた。媒精後約 18 時間で卵に付着している顆粒膜細胞を除去し受精の有無を確認し、受精卵を GM 中に移し

図1 Control 群における血中 estradiol の推移



て更に培養を続けた。媒精後約 40 時間で分割の状態を観察し、胚移植を施行した。

研究成績

1. control 群の卵胞発育

CC-hMG 刺激による卵胞発育と LH surge の関係を検討するための、control 群 14 周期の結果は以下の通りであつた (図 1)。USG により測定した leading follicle (発育卵胞のうち最大と思われる卵胞) の最大径は、LH surge 開始の 24~36 時間前では 16~22mm ($18.5 \pm 0.6\text{mm}$, Mean $\pm$ S.E. 以下同様) であり、LH surge 開始の 0~12 時間前では 17~25 ($20.2 \pm 0.7\text{mm}$) であつた (表 3)。発育卵胞の数は 2 個であつたものが 1 周期、3 個が 3 周期、4 個が 4 周期、5 個が 2 周期、6 個が 1 周

表2 卵胞径計測, 血中estradiol測定とhMG, hCG投与, 腹腔鏡との時間的關係

	Number and diameter of follicles by ultrasound	Serum estradiol
-2 day	Just before last hMG	2-5 hrs. before last hMG
-1 day	12 hrs. before hCG	17 hrs. before hCG
0 day	12 hrs. after hCG	7 hrs. after hCG
+1 day	Just before laparoscopy	3 hrs. before laparoscopy

表3 IVF群およびcontrol群におけるleading follicleの最大径

Day	IVF (n=40)	Control (n=14)
	Range (Mean±SE)	Range (Mean±SE)
-2	mm 15-21 (17.9±0.3)	mm 16-22 (18.5±0.6) ^a
-1	18-26 (20.6±0.3)	17-25 (20.2±0.7) ^b
0	19-28 (21.5±1.8)	

^a24-36 hours before beginning of LH surge^b0-12 hours before beginning of LH surge

期そして8個が2周期であつた。血中E₂の推移を図1に示したが、LH surge開始の24~41時間前が850~2,945pg/ml, LH surge開始の0~17時間前が610~3,650pg/mlであり、周期により大きな差が認められた。このE₂ levelの差異は発育卵胞数の差に起因しており、卵胞数が多数の周期ほど高値を示した。発育卵胞1個あたりのE₂値(E₂/発育卵胞数)はほぼ一定しており、LH surge開始の24~41時間前では323.6±15.9pg/ml, 0~17時間前では384.1±16.3pg/mlであつた(表5)。LH surgeは2周期でE₂が軽度下降した後を開始しているが、他は全てE₂のpeakまたはplateauの後に開始した。

2. IVF群の卵胞発育と採卵, 受精, 分割成績

IVFを目的として腹腔鏡により採卵した40周期の結果を以下に述べるが、投与hCGのpeak levelの日を0dayと設定し、それ以前を-day, 以後を+dayとした。各測定値の時間的關係を表2に示した。

(1) 発育卵胞数と卵胞径: IVF 40周期のUSGにより観察した-1dayにおける直径12mm以上の卵胞数は3個から15個であり、3個8周期, 4個5周期, 5個4周期, 6個2周期, 7個5周期, 8個9周期, 9個4周期, 10個, 11個, 15個が各々

1周期であつた。leading follicleの最大内径は-2dayで15~21 (17.9±0.3)mm, -1dayで18~26 (20.6±0.3)mm, 0dayで19~28 (21.5±1.8)mmであつた(表3)。

(2) 血中E₂値: 血中E₂ levelの推移は、-2dayで720~2,820pg/ml, -1dayで765~3,550pg/ml, 0dayで1,115~4,940pg/ml, +1dayで340~2,285pg/mlであり、排卵前期に急激に増加し、-1~0dayにpeakを形成し(-1day: 2周期, 0day: 38周期), 以後急激に減少した。-1dayにおける直径12mm以上の卵胞を発育卵胞とし、その数と血中E₂値の關係を検討したところ、E₂値と発育卵胞数は正の相関を示した。

$$-1\text{day}: y = 168.7x + 713.5, r = 0.678$$

$$0\text{day}: y = 244.5x + 846.9, r = 0.717$$

y: E₂, x: 発育卵胞数 これより各周期を発育卵胞数により分け、そのE₂値の平均を図2, 表4に示した。また発育卵胞1個あたりのE₂値は、-1dayでは305.8±13.3pg/ml, 0dayでは403.0±19.2pg/mlであつた(表4, 表5)。

(3) 採卵, 受精, 分割成績: 40周期における採卵成績は(表6), 全周期において成熟卵が採取され、採卵数は1~10個, 総計152個, 周期あたり平均3.8個であつた。全ての卵に媒精を行つた結果、37周期(92.5%)において1~7個, 平均2.6個の卵が受精した。総受精卵数は96個であり、受精率は63.2%であつた。また35周期(87.5%)において1~6個, 平均2.3個の分割卵が得られ、総分割卵数は79個, 分割率は52.0%であつた。分割卵が得られた35周期の全てにおいて1~4個の胚を移植した結果、3周期(8.6%)に妊娠が成立した。

表7は採卵時の吸引卵胞液量と採卵率, 採取された卵の成熟度及び受精, 分割率を示したものである。卵の成熟度と受精分割の關係をみると、成

表4 IVF 周期における発育卵胞数と血中 estradiol 値

No. of fol ^a	No. of lap ^b	E ₂ (Mean±SE) pg/ml					E ₂ /fol (Mean±SE) pg/ml	
		-3 day	-2 day	-1 day	0 day	+1 day	-1 day	0 day
3	8	702.9±116.5	865.6± 50.1	1086.3± 91.9	1523.8±150.6	775.6± 67.1	362.1±30.6	490.0± 56.3
4	5	733.8± 71.3	1240.0±158.1	1442.0±128.9	1817.0±156.4	1017.0± 81.9	360.6±32.2	454.6± 39.1
5	4	723.8± 82.1	1083.8±130.6	1515.3±114.1	1708.8±159.6	1048.8±195.8	303.0±22.8	346.3± 30.0
6	2	1150.0±425.0	1982.5±442.5	2290.0±335.0	2862.5±737.5	1437.5±472.5	382.0±56.0	477.0±123.0
7	5	1142.0±180.7	1706.0±213.7	2150.0±212.0	2662.0±239.3	1341.0±243.7	307.2±30.3	412.2± 49.2
8	9	1250.0±153.9	1681.2±195.2	2099.4±181.5	2829.4±263.4	1401.9±153.7	266.8±20.7	334.2± 24.8
9	4	1116.7±187.7	1628.8±277.8	2400.0±403.8	3461.3±597.8	1668.8±116.9	266.3±44.9	408.5± 64.6
1-15	40						305.8±13.3	403.0± 19.2

^afollicles, ^blaparoscopies

表5 IVF 群および control 群における卵胞 1 個あたりの血中 estradiol 値

Control (n=14)		IVF (n=40)	
Day	E ₂ (Mean±SE) pg/ml	E ₂ (Mean±SE) pg/ml	Day
24-41 hrs. before LH surge	323.6±15.9	305.8±13.3	17 hrs. before hCG
0-17 hrs. before LH surge	384.1±16.3	403.0±19.2	7 hrs. after hCG

図2 IVF 周期における発育卵胞数と血中 estradiol の平均値の推移

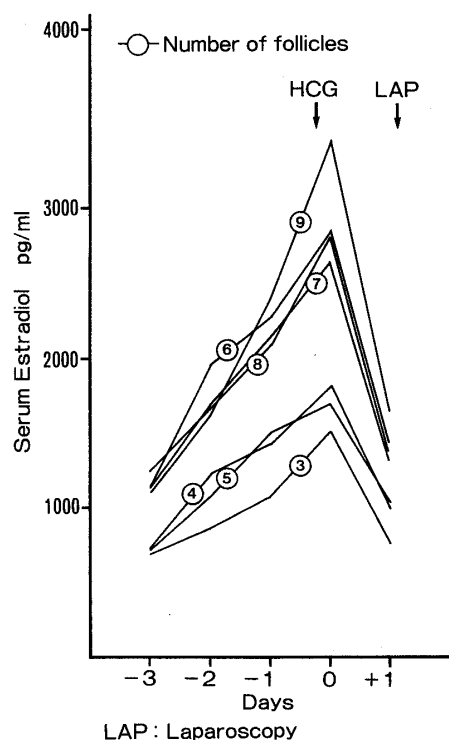


表6 IVF 周期の採卵, 受精, 分割成績

Laparoscopies	40
Follicles aspirated	271 (6.8/lap ^a)
Eggs recovered	152 (3.8/lap)
Laparoscopies yielding at least one egg	40 (100%)
Eggs fertilized	96 (63.2%) (2.6/pat ^b)
Laparoscopies yielding at least one fertilized egg	37 (92.5%)
Eggs cleaving	79 (52.0%) (2.3/pat)
Transfer patients	35 (87.5%lap)
Total pregnancies	3 (7.5%lap) (8.6%tr pat ^c)

^aLaparoscopies, ^bPatients, ^cTransfer patients

であつた。成熟度Ⅲの卵は81個 (D: 80個, E: 1個)採取され, 受精率は70.4%, 分割率は61.7%であり, 成熟度ⅡとⅢの間には分割率において有意な差 ($p<0.05$) が認められた。

吸引卵胞液量 (V) が1ml 未満の小卵胞は35個吸引されたが, 卵が得られたものは5個 (14.3%) に過ぎなかつたが, それより大きい卵胞の採卵率は52.6~88.9%であつた。

1≦V<3ml の卵胞は全卵胞の42.1%を占める

熟度Ⅰの卵は5個採取され, 2個 (40%) が受精, 分割した。成熟度Ⅱの卵は66個 (B: 25個, C: 41個) 採取され, 受精率は56.1%, 分割率は40.9%

表7 吸引卵胞液量および卵の成熟度よりみた採卵, 受精, 分割成績

Follicular fluid volume (ml)	Follicles aspirated	Oocytes recovered	Oocyte maturation			Oocytes fertilized	Oocytes cleaving
			I (A)	II (B + C)	III (D + E)		
V < 1	35	5 (14.3%)		3	2	1 (20.0%)	1 (20.0%)
1 ≤ V < 3	114	60 (52.6%)	3	31	26	35 (58.3%)	29 (48.3%)
3 ≤ V < 5	67	39 (58.2%)		16	23	28 (71.8%)	22 (56.2%)
5 ≤ V < 10	46	40 (87.0%)	2	14	24	25 (62.5%)	21 (52.5%)
10 ≤ V	9	8 (88.9%)		2	6	7 (87.5%)	6 (75.0%)
Total	271	152 (56.1%)	5	66	81	96 (63.2%)	79 (52.0%)
Oocytes fertilized		96 (63.2%)	2 (40.0%)	37 (56.1%)	57 (70.4%)		
Oocytes cleaving		79 (52.0%)	2 (40.0%)	27 (40.9%)	50 (61.7%)		

A: immature, B: intermediate, C: fairly good mature, D: good mature, E: very good mature

が, 採取卵のうち成熟度Ⅲの卵は43.3%で, 受精率は58.3%, 分割率は48.3%であり, 卵胞としては成熟度が劣ると思われた. $3 \leq V < 5$ ml の卵胞は全卵胞の24.7%を, $5 \leq V < 10$ ml の卵胞は17.0%を占めており, 採取卵のうち成熟度Ⅲの卵は各々59.0%, 60.0%, 受精率は71.8%, 62.5%, 分割率は56.4%, 52.5%であり, 卵胞として十分成熟していると考えられた.

10ml ≤ V の卵胞は, 成熟度Ⅲの卵は75.0%, 受精率87.5%, 分割率75.0%と全て良好で非常に成熟度の高い卵胞と思われたが, 全卵胞に占める割合は3.3%と少数であつた.

各周期ごとに, 最も成熟度の高い卵とそれが吸引された卵胞の大きさとの関係を検討した. 最も成熟度の高い卵が最大の卵胞より得られたものが40周期中19周期(47.5%)であり, 2番目に大きい卵胞の場合が12周期(30.0%), 3番目以下が9周期(22.5%)であつた. 最大の卵胞から必ずしも最も成熟した卵が得られるのではないという結果が得られた.

考 案

IVF-ETの妊娠率が, 複数個の胚移植に併つて著明に上昇することは周知の事実である. Jones et al.¹³⁾, Lopata¹⁵⁾, Kerin et al.¹⁴⁾は, 1個の胚移植の妊娠率は20%以下であるのに対し, 4個以上では30~50%に向上すると報告している. 従つて, 妊娠の可能性を高めるためには, 当然多数の成熟卵を採取する必要性が生じ, 卵巣刺激法が重要なポイントとなる. 初期において Edwards et al.⁷⁾は

自然周期のIVFに関し報告したが, 現在では全ての施設がCCあるいはhMGの単独または併用による卵巣刺激法を採用している. EdwardsのBourn Hallグループが, CC単独により例外的に非常に良好な妊娠率を報告しているが⁹⁾, 一般的にCC単独法は採卵数が少なく妊娠率も低い¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁸⁾, 過去の方法となりつつある. JonesのNorfolkグループは, 当初よりhMG単独法を行つており, 現在では非常に良好な成績を上げているが¹⁰⁾¹²⁾, オーストラリア, ヨーロッパ, アメリカの多くのグループはCC-hMG法を採用している. 我々も当初はCC単独法を行つていたが, 現在では大部分の例にCC-hMG法を取り入れている.

IVF成功の最大のポイントとして, いかにして排卵直前の成熟卵を採取するかという, 採卵のタイミングの問題が挙げられる. 採卵時期の決定には, LH surgeの開始時間を捕える方法と, 卵胞の成熟を確認した後にLH surge開始前にhCGを投与する方法がある. hMG単独法の場合には卵胞が十分成熟してもLH surgeが起こらず, 全例hCG投与が必要とされているが⁹⁾, CC-hMGでは本研究のcontrol群で示したごとく, 卵胞の成熟後にLH surgeが開始している. LH surgeにより採卵時期を決めるためには, LH surgeの開始時間を正確に捕える必要があるが, これは非常に困難であり, またこの方法では採卵時間が昼夜を選ばないことが最大の欠点となつている. そのため我々は全例hCG投与法を採用しており, hCG投与前にLH surgeが開始したと思われる例では採

卵を中止している。Hoff et al.¹¹⁾は、自然周期において LH surge の開始は E_2 peak の時期に一致しており、 E_2 の peak level は LH surge の開始後数時間は持続し、その後急激に減少すると報告している。CC-hMG により卵巣を刺激した場合でも、control 群で示したように、 E_2 が peak あるいは plateau を形成した直後に LH surge が開始している。従つて、 E_2 が peak level で plateau になりかかった時期に、hCG を投与するのが理想である。しかし plateau を捕えることは困難であり、 E_2 が下降し始めてからでは既に LH surge が開始してしまつてることが多いため、 E_2 の peak に近い上昇期に hCG 投与を決定することになる。 E_2 の peak level は周期によつて非常に差異が大きい、これは症例によつて CC-hMG に対する反応が様々で、卵胞の数及び発育度が異なるためである。このように CC-hMG によつて卵巣を刺激した場合、非常に多数の卵胞が発育し、また個々の卵胞の発育度には大きな差が存在するため、単に卵胞の数のみからはその E_2 level が peak に近い可否かは判断できない。図 2、表 4 に示したごとく、ほとんどの例で hCG 投与後に E_2 は peak を形成しているが、hCG 投与前の卵胞 1 個あたりの E_2 値は卵胞数が多いほど低値となつており、これは発育卵胞が多数の周期ほど、未成熟な卵胞の占める割合が高くなつてゐるためと推測される。従つて卵胞数、卵胞径の正確な把握があつて初めて、 E_2 値の評価が可能となる。卵胞あたりの E_2 値を control 群と比較した結果より、今回の IVF 例の hCG 投与の時期は概ね妥当と思われる。これより卵胞 1 個あたり 300pg/ml 前後の E_2 level を、hCG 投与の基準とすることができる。

卵胞の大きさと卵胞の成熟度及び排卵時期の関係は諸家により多数報告されてお¹⁶⁾¹⁷⁾、卵胞径は採卵時期決定の重要な指標となつてゐる。本研究における IVF 周期の leading follicle の最大径よりみた hCG 投与の時期は、control 群と比較した結果はほぼ適切であつたと考えられる。しかしながら、LH surge 開始直前の卵胞径は周期によつて差が大きく、また最も成熟度の高い卵が最大の卵胞以外から採取された例が半数以上あり、lead-

ing follicle が必ずしも dominant follicle であるとは言えない事実が示唆されるため、卵胞径のみから卵胞の成熟度を判定し、hCG 投与の時期を決定することは困難である。更に変性した卵を含む atretic granulosa cell から成る卵胞も、徐々にその径は増大し時には 30mm 以上にもなるとされており¹⁷⁾、 E_2 level と対比しなければ viable follicle の判定は不可能である。

吸引時の卵胞の大きさと採卵、受精、分割の状態を比較検討した結果、卵胞液量が 1ml 未満の小卵胞は発育卵胞である可能性は低く、1ml 以上の卵胞を採卵可能な卵胞とすべきと考えられる。卵胞液 1ml の卵胞の直径は、吸引時の液の損失等を考慮すると 15mm 以上であり、この卵胞の hCG 投与前の直径は約 12mm 程度となる。これより我々が、hCG 投与前の発育卵胞数を判定する際に、12mm 以上のものを基準にしたことは妥当と思われる。採卵率は卵胞液 5ml 以上のものが非常に良好であり、この大きさの卵胞は hCG 投与前には直径が 20~22mm 以上であつた。また受精分割率は卵胞液 3ml 以上、すなわち hCG 投与前に直径 18mm 以上の卵胞では比較的良好であつた。従つて hCG 投与前の leading follicle の径は最低 18mm、できれば 20mm 以上が必要と思われるが、hCG 投与の基準を 20mm 以上とした場合、control 周期からみて約 1/3 の例で hCG 投与前に LH surge が開始し、採卵時期を失つてしまうことになる。更に卵胞液 3ml 以上、すなわち hCG 投与前 18mm 以上の卵胞全体でみると、採卵率は 71.3% であり、採取卵全体の受精率、分割率は各々 69.0%、56.3% であるが、吸引卵胞あたりでみると受精率は 49.2%、分割率は 40.2% となつてしまう。今回の IVF 40 周期においては、35 周期 (87.5%) に少なくとも 1 個以上、平均 2.3 個の分割卵が得られ胚移植を行つたが、これを更に向上させるためには、hCG 投与前に 18mm 以上の卵胞が 3 個以上必要であると言える。以上より、卵胞径よりみた hCG 投与の基準としては、leading follicle 長径が 20mm 以上で、18mm 以上の卵胞が 3 個以上あることが望ましいと結論づけられる。今回採用した採取卵の成熟度分類は、実体顕微鏡

下で短時間に判定しなければならないという制約上、必ずしも clear cut とは言えず、これに関しては異論のあることと思われる。現在我々は形態的観察に加え、卵丘細胞の組織学的検索及び卵胞液中のホルモン濃度などの点より成熟度分類に関し検討を加えており、追って報告する予定である。

我々は既に CC 単独法に関し報告しているが²⁾⁴⁾⁵⁾、本研究と同じ適応例49周期に限ったその成績は、平均採卵数2.0個で、81.6%の周期に受精卵、75.5%の周期に分割卵が得られ、受精率、分割率は各々68.0% (1.3個/周期)、62.9% (1.2個/周期)であり、3例に妊娠 (chemical pregnancy は除く) が成立した。我々の CC 単独法と CC-hMG 法を比較すると、採卵数は後者がはるかに多いが、成熟度の低い卵の割合が高く、また最も成熟度の高い卵に媒精時間を合わせているため、卵全体よりみた受精分割率は前者が高くなっている。しかし最終的に胚移植を行い得た周期の割合、及び移植胚数は CC-hMG 法が良好であり、この方法は IVF-ET において優れた卵巣刺激法であると考えられる。

本論文の要旨は、昭和59年11月東京にて開催された第2回日本受精着床学会に於いて発表した。

文 献

1. 小林俊文, 小田高久, 島津秀人: Prospective な排卵時期の推定. 産婦の実際, 32: 951, 1983.
2. 小田高久, 大野虎之進, 椎名正樹, 元山鎮雄, 松本千秋, 矢作みき, 吉村慎一, 井合澄子, 飯塚理八: 体外受精における採卵-卵巣刺激法と成熟卵採取の時期. 周産期医学, 14: 869, 1984.
3. 小田高久, 杉村和男, 齊藤和明, 高橋茂雄, 中村幸雄: ¹²⁵I-Estradiol Radioimmunoassay kit 迅速簡便測定法の基礎的・臨床的検討. ホと臨床, 29: 1441, 1981.
4. 小田高久, 吉村慎一, 椎名正樹, 井合澄子, 松本千秋, 大野虎之進, 飯塚理八: 血中 estradiol および卵胞径計測よりみた成熟卵採取の時期について. 受精・着床'83, (飯塚理八ら編), 68, 学会誌刊行センター, 東京, 1984.
5. 吉村慎一: 体外受精における至適卵採取時期に関する研究. 慶応医学, 62: 95, 1985.
6. Bryce, R.L., Shuter, B., Sinosich, M.J., Stiel, J.N., Picker, R.H. and Saunders, D.M.: The value of ultrasound, gonadotropin and estradiol measurements for precise ovulation

- prediction. Fertil. Steril., 37: 42, 1982.
7. Edwards, R.G., Steptoe, P.C. and Purdy, J.M.: Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. Br. J. Obstet. Gynecol., 87: 757, 1980.
8. Ferraretti, A.P., Garcia, J.E., Acosta, A.A. and Jones, G.S.: Serum luteinizing hormone during ovulation induction with human menopausal gonadotropin for in vitro fertilization in normally menstruating women. Fertil. Steril., 40: 742, 1983.
9. Fishel, S.B., Edwards, R.G. and Purdy, J.M.: Analysis of 25 infertile patients treated consecutively by in vitro fertilization at Bourn Hall. Fertil. Steril., 42: 191, 1984.
10. Garcia, J.E., Jones, G.S., Acosta, A. and Wright, G.: Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration. Fertil. Steril., 39: 174, 1983.
11. Hoff, J.D., Quigley, M.E. and Yen, S.S.C.: Hormonal dynamics at midcycle: A reevaluation. J. Clin. Endocrinol. Metab., 57: 792, 1983.
12. Jones, G.S.: Update on in vitro fertilization. Endocr. Rev., 5: 62, 1984.
13. Jones, H.W., McDowell, J., Acosta, A.A., Sandow, B.A., Andrews, M.C., Veeck, L., Garcia, J.E., Whibley, T.W., Jones, G.S., Wilkes, C.A., Mantzavinos, T. and Wright, G.L.: What is a pregnancy? A question for programs of in vitro fertilization. Fertil. Steril., 40: 728, 1983.
14. Kerin, J.F., Warnes, G.M., Quinn, P.J., Jeffrey, R., Kirby, C., Matthews, C.D., Seamark, R.F. and Cox, L.W.: Incidence of multiple pregnancy after in-vitro fertilization and embryo transfer. Lancet, 2: 537, 1983.
15. Lopata, A.: Concepts in human in vitro fertilization and embryo transfer. Fertil. Steril., 40: 289, 1983.
16. Quigley, M.M., Schmidt, C.L., Beauchamp, P.J., Pace-Owens, S., Berkowitz, A.S. and Wolf, D.P.: Enhanced follicular recruitment in vitro fertilization program: Clomiphene alone versus a clomiphene/human menopausal gonadotropin combination. Fertil. Steril., 42: 25, 1984.
17. Trounson, A.: In vitro fertilization. Curr. Top. Exp. Endocrinol., 5: 43, 1983.
18. Vargyas, J.M., Saito, H., Gibbons, W., Sueldo, C., Yee, W. and Marrs, R.: Effect of different methods of ovarian stimulation on the human in vitro fertilization and embryo transfer procedure. Fertil. Steril. (Abstr.), 39: 438, 1983.

(特別掲載 No. 5759 昭60・6・11受付)