

1. レクチャーシリーズ—クリニカル update—

5) ICSI による妊娠の次世代への影響

山梨医科大学
産婦人科教授
星 和彦

座長：東邦大学教授
久保 春海

はじめに

優れた排卵誘発剤の開発などにより不妊治療は飛躍的な進歩を遂げたが、重度の卵管性不妊症と男性不妊症が難治性不妊症として取り残されていた。1978年にはじめて成功した体外受精・胚移植により卵管性不妊症は解決をみたが、重症男性不妊症に対しては1992年の顕微授精法の登場¹⁾を待たねばならなかった。顕微授精法なかでも卵細胞質内精子注入法 (intracytoplasmic sperm injection : ICSI) は熟練した操作法を必要とする方法であるが、他の顕微授精法に比べ成功率は高く、実施施設も対象となる症例も年々直線的な増加をみている。ICSIの特色は極めて高度の乏精子症例に適應できることで、精液中のみならず精巣上体や精巣中から1個でも精子がみつければ応用することができる。さらにその精子に運動性は必要なく、精子が完全に成熟している必要もない。動物実験では精子細胞 (spermatid)²⁾や精母細胞 (spermatocyte)³⁾からですら産仔が獲得され、将来は spermatogenic arrest による無精子症症例への応用も夢ではない。このように男性不妊症にとって ICSI はそれこそ究極の治療法に違いないが、多くの問題を抱えていることも事実である。

生殖補助医療技術の問題点

生殖補助医療技術 (assisted reproductive technology : ART) の抱える問題は3つに分類できる。ひとつは ART に限らず不妊治療全般にいうさまざまな副作用の問題であり、二つめは生命倫理に関する問題、そして三番目が次の世代に与える影響である。

不妊治療の副作用としては、卵巢過剰刺激症候群の発症、流早産・子宮外妊娠の増加、多胎の増加、先天異常発生の心配があげられている。生命倫理に関するものとしては、第三者の配偶子あるいは第三者の子宮を用いた ART が、親子関係や家族関係のありかたに複雑な問題を生じせしめている。

次の世代に及ぶ影響は、特に顕微授精の登場でクローズアップされてきたものである。ICSI では、通常は妊娠できない (あるいは妊娠させないような仕組みになっているのかもしれない) 症例をかなり強引に受精させることになるため、自然の淘汰が起こらないことが当初から心配されていた。この点を少し整理して述べてみたいと思う。

The Effect of the Pregnancy after Intracytoplasmic Sperm Injection on the Next Generation

Kazuhiko HOSHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Yamanashi Medical University, Yamanashi

Key words : Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) · Sperm · Congenital anomaly · Chromosomal aberration · Azoospermia factor (AZF)

(表1) ICSI 児の先天奇形発生に関する報告

報告者	年	国	先天奇形発生率
Liebaers, et al. ⁴⁾	1993	ベルギー	3.3% (5/150) □唇口蓋裂 1 全前脳胞症 1 □蓋裂 2 臍帯ヘルニア +鼠径ヘルニア 1
Bonduelle, et al. ⁵⁾	1996	ベルギー	3.3% (14/423) 大奇形
Palermo, et al. ⁶⁾	1996	アメリカ	2.6% (15/578) 大奇形 9, 小奇形 6
Kurinczuk & Bower ⁷⁾	1997	オーストラリア	ICSI による大奇形の発生率は一般集団に比べ 2 倍の危険性がある (心血管系, 泌尿生殖器系, 消化器系)
一般集団の奇形発生率 2.0 ~ 3.8%			

(表2) ICSI 後妊娠の流産

治療法	症例数	preclinical pregnancy loss	clinical pregnancy loss
ICSI	136	26%	21%
IVF-ET	71	28%	18%
donor egg	35	3%	11%
凍結胚 ET	19	11%	21%

preclinical pregnancy loss : ET 後 11 日目に hCG > 5 mIU/ml のみが確認され, その後流産. clinical pregnancy loss : GS 確認, first trimester までの流産.

Coulam CB, et al. Fertil Steril 1996, 65

ICSI の問題点

(1) ICSI と先天異常

ICSI 児の先天奇形発生に関する諸家の報告を表 1 にまとめた. 世界ではじめて ICSI を成功させたベルギーの報告⁴⁾⁵⁾によると ICSI で生まれた児の重度先天奇形の発生率は 3.3%, アメリカからの報告⁶⁾では重度・軽度併せた奇形発生率は 2.6% (重度:軽度=3:2) となっている. いずれにせよこれら^{4)~6)}の数値は一般集団の発生率 (2.0~3.8%) や従来の IVF-ET での発生頻度 (2.7%) を越えるものではない. しかし, オーストラリアの研究者がベルギーのデータを再検討して, 重度の先天奇形は ICSI 児の方が 2 倍多いと警告している⁷⁾. 先天異常の分類の方法や地域性に差があるため, 「多くなっている」あるいは「変わりはない」と単純に結論を出すことは難しいが, ICSI 後の妊娠に流産の多いことはよく知られており (妊娠極早期の流産いわゆる化学的妊娠 26%, first trimester までの流産 21% : 表 2)⁸⁾, 妊娠早期に異常胚が淘汰されている可能性は否定できない. 異常胚とくに染色体異常を示す胚と ICSI との関連性を検討した報告が散見される.

(2) ICSI と染色体異常

極めて細いとはいえ ICSI ではガラス針を直接卵子に刺入するので, 細胞骨格や紡錘体に全く危険が及ばないわけではない. しかし, 多くの研究者は ICSI の操作そのものが異常を引き起こす危険性は少ないと考えている. 問題とされているのは男性不妊患者の精子である. 精液中の精子濃度と核型異常を示す精子の割合との間に負の相関のあることが従

(表 3) 不妊症男性精子の染色体検査

性染色体の異常を示す精子の割合 (24,XY, 24,XX, 24,YY, 3 個以上の性染色体を含む)		
Control		0.86%
原因不明不妊		0.75%
重度男性不妊	1.35%	前二者と有意差あり
Bernardinin L, et al. Mol Hum Reprod 1997, 3		
染色体異常精子含有率(24,XY, 24,XX, 24,YY)		
精液所見	良好群	0.78%
	不良群	1.58% 有意差あり
ICSI でのみ受精可能精液	2.01% (24,XY 1.26%, 24,XX 0.25%, 24,YY 0.50%)	
IVF-ET で受精可能精液	0.59% (24,XY 0.37%, 24,XX 0.06%, 24,YY 0.16%)	
Storeng RT, et al. Acta Obstet Gynecol Scand 1998, 77		
染色体異常精子の割合(18, 21, X, Y 染色体)		
Control		1.8%
乏精子症, 奇形精子症		2.7%
Colombero LT, et al. Fertil Steril 1999, 72		

(表 4) ICSI を受けるカップルの染色体異常

報告者	年	調査カップル数	染色体異常の頻度	
			男性	女性
Persson, et al.	1996	32	6.3%	—
Testart, et al.	1996	261	4.2%	1.2%
Mau, et al.	1997	150	12%	6%
Van der Ven, et al.	1997	158	3.8%	—
Pauer, et al.	1997	142	7.0%	0.8%
Van der Ven, et al.	1998	305	3.3%	3.3%
Meschede, et al.	1998	434	2.1%	5.5%
Tuerlings, et al.	1998	1,792	4.0%	—
Scholtes, et al.	1998	1,140	4.48%	9.79%

性染色体の数的異常, 構造異常

相互転座, ロバートソン転座, 逆位, マーカー染色体

来から知られており, 精子数が少なくなればなるほど染色体に異常のある精子の割合の増えることが確かめられている^{9)~11)} (表 3)。また, ICSI を必要とするようなカップルの不妊原因が染色体や遺伝子の異常に起因する男性不妊である可能性も高い。染色体や遺伝子の異常は当然精子にも及び, その精子を介して染色体異常・遺伝子異常が胚や児に現れることになる。現に ICSI が行われているあるいは予定されているカップルの男性パートナーについて染色体検査を実施した多くの研究者によると^{12)~20)}, 染色体の数的異常や構

造異常を有する頻度はモザイク型を含めて2.1~12%で、一般集団（1%未満）に比べ高頻度であることが報告されている（表4）。Klinefelter 症候群のような（多くはモザイク型）性染色体の数的異常を示す症例が全般的に多く認められるが、相互転座、ロバートソン転座、逆位、マーカー染色体など常染色体の構造異常もみられる。何人かの報告者が予想外であっ

たと述べているのは、同時に調べた女性パートナーに認められる染色体異常の多さである。中には6%、9.79%も発見されたという報告もあり（0.8~9.79%）、カップルの多くが女性因子でなく男性因子が原因で ICSI を受けていることを考えると、これはかなりの高率といわざるを得ない。男性側に原因があると考えられている不妊カップルにも、女性の染色体異常が比較的高い頻度で隠れていることを念頭に置いておかねばならない。

ICSI 後の妊娠例における染色体異常の頻度は、検査した時期が異なること（妊娠初期、中期あるいは出生後）、またスクリーニングする対象も異なっているため、報告者によって1.2~12.7%とまちまちである⁴⁾⁵⁾²¹⁾²²⁾（表5）。5/15に異常が認められたとする報告もみられるが、これは症例数が少なすぎる。多くの報告が、胎児に認められた染色体異常のほとんどは父親あるいは母親由来のものであることを示しており、それらの結果を踏まえて、ICSI 施行前に男女両パートナーの染色体分析を行うこと、異常が認められた場合には出生前診断を行うことが勧められている。遺伝学的カウンセリングも必要であろう。

（3）精子形成に関連する遺伝子の問題

男性不妊症の半数以上は特発性精子形成障害によるもので、その病因・病態は必ずしも明らかではないが、近年精子形成障害と関連する種々の遺伝子異常がみつけれ、その原因も解明されつつある。無精子症や重度の乏精子症を呈する男性不妊症例についての遺伝子解析から、ある遺伝子の欠失により精子形成障害が生じるような遺伝子が同定されるようになってきた。そしてその代表といえるものがY染色体の長腕に存在する Azoospermia factor (AZF) 遺伝子と呼ばれるものである。Namiki et al. のグループの報告²³⁾によると無精子症患者の15%にこの欠失が観察され、欠失の長さや部分の違いで臨床像に違いが認められることから、複数の AZF の存在も示唆されている²⁴⁾。AZF などの欠失に起因する造精機能障害の症例に ICSI が行われ妊娠した場合、男児の100%にその形質が伝搬されること、すなわち父親と同様の造精機能障害を呈することを考えておかねばならない。

（4）ICSI 時における遺伝子混入の問題

最近、ICSI の際に精子とともにほかの DNA を卵に注入することにより transgenic mouse が作成できたとの画期的な報告があった²⁵⁾。ICSI を応用したこの方法は新しい遺伝子導入技術として注目を集めている。しかし、これは ICSI の操作時にほかの DNA が混入した場合、遺伝子が容易に移入されてしまう危険性をも示している。DNA の混入による予期しない遺伝子の導入は scientific fiction (SF) を現実にしかねない。

精子とともに注入された培養液あるいは精子調整用溶液の受精や胚発育に及ぼす影響も心配されており、ICSI 操作には十二分な配慮が要求される。

（表5） ICSI 児の染色体異常の頻度

報告者	年	調査数	染色体異常発生率
Liebaers, et al.	1993	166	1.2% 出生前診断
In't Veld, et al.	1995	15	33.3% 出生前診断
Bonduelle, et al.	1996	293	1.7% 出生前診断
Van Opstal, et al.	1997	71	12.7% 出生前診断

性染色体の数的異常、トリソミー、構造異常
多くが父親もしくは母親由来の染色体異常

おわりに

夫婦の強い願望のもとに行われる ART ではあるが、治療の先にはもう一人の個体が存在することを忘れてはならない。ART は、夫婦の間だけの問題で解決するのではなく、生まれてくる子の真の幸福についてよく考慮したうえで臨床応用されるべきであろう。

《参考文献》

- 1) Palermo G, et al. Lancet 1992 ; 340 : 17—18
- 2) Kimura Y, et al. Development 1995 ; 121 : 2397—2405
- 3) Kimura Y, et al. Biol Reprod 1995 ; 53 : 855—862
- 4) Liebaers I, et al. VIIIth World Congress on In Vitro Fertilization and Alternate Assisted Reproduction. Oral Communications Kyoto. 1993
- 5) Bonduelle M, et al. Hum Reprod 1996 ; 11 : 1558—1564
- 6) Palermo GD, et al. JAMA 1996 ; 276 : 1893—1897
- 7) Kurinczuk JJ, et al. BMJ 1997 ; 315 : 1260—1265 ; discussion 1265—1266
- 8) Coulam CB, et al. Fertil Steril 1996 ; 65 : 1157—1162
- 9) Bernardini L, et al. Mol Hum Reprod 1997 ; 3 : 431—438
- 10) Storeng RT, et al. Acta Obstet Gynecol Scand 1998 ; 77 : 191—197
- 11) Colombero LT, et al. Fertil Steril 1999 ; 72 : 90—96
- 12) Persson JW, et al. Hum Reprod 1996 ; 11 : 921—924
- 13) Testart J, et al. Hum Reprod 1996 ; 11 : 2609—2612
- 14) Mau UA, et al. Hum Reprod 1997 ; 12 : 930—937
- 15) van der Ven K, et al. Mol Hum Reprod 1997 ; 3 : 699—704
- 16) Pauer HU, et al. Hum Reprod 1997 ; 12 : 1909—1912
- 17) van der Ven K, et al. Hum Reprod 1998 ; 13 : 48—54
- 18) Meschede D, et al. Hum Reprod 1998 ; 13 : 576—582
- 19) Tuerlings JH, et al. Eur J Hum Genet 1998 ; 6 : 194—200
- 20) Scholtes MC, et al. Fertil Steril 1998 ; 70 : 933—937
- 21) In't Veld PA, et al. Prenat Diagn 1995 ; 15 : 975—980
- 22) Van Opstal D, et al. Hum Reprod 1997 ; 12 : 682—686
- 23) Nagafuchi S, et al. J Urol 1993 ; 150 : 1155—1157
- 24) Vogt PH, et al. Hum Mol Genet 1996 ; 5 : 933—943
- 25) Perry AC, et al. Science 1999 ; 284 : 1180—1183