

診 療

射出精子を用い顕微授精にて妊娠した

Klinefelter 症候群の双胎妊娠 2 症例

IVF 大阪クリニック

河内総合病院産婦人科*

中岡 義晴 岩本 英熙 岡田 英孝 奥 裕嗣
福田 愛作 森本 義晴 河田 淳*

Birth of Twin Babies after Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) with Ejaculated Spermatozoa of Two Men with Klinefelter's Syndrome

Yoshiharu NAKAOKA, Hideki IWAMOTO, Hidetaka OKADA, Hirotsugu OKU, Aisaku FUKUDA,
Yoshiharu MORIMOTO and Atsushi KAWATA*

IVF Osaka Clinic, Osaka

*Department of Obstetrics and Gynecology, Kawachi General Hospital, Osaka

Abstract Klinefelter's syndrome is a major cause of male infertility due to chromosome abnormality. Two successful twin pregnancies from mosaic and non-mosaic males with Klinefelter's syndrome are reported. They were accidentally diagnosed by chromosome analysis because of repeated miscarriages after successful pregnancy obtained by intracytoplasmic sperm injection (ICSI). These couples were informed of an increased risk of sex chromosome aneuploidies in the offspring and the next treatment was performed. Each couple had a twin pregnancy and delivered normal babies. These two cases suggest the importance of chromosome analysis for a male with impaired semen quality to reveal chromosome abnormality.

Key words : Klinefelter's syndrome · Ejaculated sperm · Oligozoospermia · ICSI · Chromosome analysis

症 例 1

症例は、夫 30 歳、妻 26 歳。既往歴、家族歴に特記すべきことなし。

平成 9 年の結婚の後、挙児希望にて平成 10 年他医を受診した。精液所見が悪いために顕微授精 (ICSI) を 1 回実施されたが妊娠しないため、平成 11 年 5 月 IVF 大阪クリニック (以下、当院) を受診した。精液検査所見は、精液量 1.6ml, 精子濃度 $21.0 \times 10^6/\text{ml}$, 運動率 45.2%, 奇形率 33.3% であった。夫のホルモン検査では、テストステロン; 396 ng/dl (正常値: 250~1,100), LH; 2.2mIU/ml, FSH; 12.5mIU/ml, プロラクチン; 6.5ng/ml (正常値: 2.1~11.7) であった。妻の不妊検査では、ホ

ルモン検査 (LH; 3.6mIU/ml, FSH; 3.3mIU/ml, PRL; 15.0ng/ml), 超音波検査等で異常を認めなかった。

平成 11 年 7 月に当院での通常のプロトコールに基づき ICSI を実施した。GnRHa600ug/日を前周期月経 21 日目より HCG 投与日まで使用し、月経周期 3 日目より FSH および HMG で卵巣刺激を行い卵胞径が 18mm 以上となり、E2 値の上昇を確認した後に、HCG5,000 単位を投与し 36 時間後に採卵した。採卵数 11 個のうち ICSI により 8 個受精し、Day3 で Veeck の分類での Grade (G)3 の 11 分割胚を 3 個移植した。胚移植後 14 日目の尿中および血中 HCG は陽性であったが、その後

の超音波検査で子宮内に胎嚢が認められず、妊娠5週で chemical abortion となった。平成11年11月にホルモン補充周期下で凍結胚3個(G3の6分割胚2個、G3の4分割胚1個)(Day3)を移植し、前回同様に妊娠5週で chemical abortion となった。

流産を2回繰り返したために、不育症の検査を実施した。夫婦の末梢血リンパ球を用いた染色体検査を実施したところ、妻は正常核型であったが、夫の核型は47,XXY [23] /46,XY [7] の mosaic 型 Klinefelter 症候群と診断された。Klinefelter 症候群である場合には精子の性染色体異数性異常の頻度が上昇することについて十分説明した後、挙児希望があることを確認し、同様の治療を続けることとした。

平成12年7月にICSIを行い、採卵数10個のうち8個受精し、胚2個(G3の14分割胚2個)(Day3)を移植したが妊娠しなかった。平成12年10月に自然周期下で凍結胚2個(G3の10分割胚2個)(Day3)を移植し双胎妊娠が成立した。妊娠経過は良好で、妊娠36週6日帝王切開により、2,150gの女児と2,420gの女児を分娩した。児には奇形を認めず、生後の発育経過も良好である。

症例2

症例は、夫37歳、妻32歳。既往歴、家族歴に特記すべきことなし。

平成4年の結婚の後、平成9年より他医にて不妊検査・治療を行っていたが、精液所見が悪く体外受精が必要といわれ、平成10年7月当院受診した。精液検査所見は、精液量0.4ml、精子濃度 $2.2 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率31.8%、奇形率35.1%であった。夫のホルモン検査は、テストステロン；321ng/dl、LH；19.8mIU/ml、FSH；29.6mIU/ml、PRL；3.8ng/mlであった。妻はプロラクチン；27.2ng/ml(正常値：2.4~19.0)と高プロラクチン血症を認め、テルグリド1mg/日により治療を行った。

平成10年8月に当院での通常のプロトコールに基づきICSIを実施した。採卵数6個のうち5個受精し、胚2個(G2の4分割胚とG3の5分割)(Day2)を移植したが妊娠しなかった。平成11年1

月にホルモン補充周期下で凍結胚2個(G3の4分割胚2個)(Day2)を移植し、妊娠6週で胎嚢は認めたが胎児心拍は認めず流産となった。平成11年11月にICSIを行い採卵23個のうち17個受精し、5日目にGardnerの分類で4AA、3BBの胚盤胞2個を移植し、前回同様に妊娠6週で胎嚢は認めたが胎児心拍は認めず流産となった。

不育症の検査として夫婦の末梢血リンパ球を用いた染色体検査で、妻は正常核型であったが、夫の核型は47,XXY(20細胞すべて)で non-mosaic 型 Klinefelter 症候群と診断された。Klinefelter 症候群である場合には精子の性染色体異数性異常の頻度が上昇することについて十分説明し後に、挙児希望があることを確認し、同様の治療を続けることとした。

平成12年4月に自然周期下に凍結胚2個(G1の7分割胚、G3の7分割胚)(Day3)を移植し妊娠成立したが、妊娠8週で流産となった。胎児絨毛染色体検査での核型は47,XX,+22であった。平成12年11月に自然周期下で凍結胚3個(G3の5分割胚3個)(Day2)を移植し、双胎妊娠が成立した。妊娠36週0日、2,152gの女児と1,970gの男児を経膈分娩した。女児は単一臍動脈であったが2児とも奇形は認めず、また、末梢血リンパ球による染色体検査も2児とも正常であった。

考 察

Klinefelter 症候群は2個以上のX染色体と1個以上のY染色体を含む細胞を有する性染色体異常症で、約85%が47,XXYの non-mosaic 型であり、残り約15%が46,XY/47,XXYを主とする mosaic 型である。出生男児500~1,000人に1人の頻度で認められ、男性不妊症例の染色体異常のなかで最も頻度の高い疾患である。吉田ら¹⁾は無精子症症例の10.7%がKlinefelter 症候群であると報告している。

Klinefelter 症候群の臨床所見は非常に変化に富み、典型的な症例では睾丸萎縮、女性化乳房、無精子症を認めるが、mosaic 型ではそれらの症状を呈さないことも多く、精液所見も高度乏精子症から正常精液所見までさまざまである²⁾³⁾。そのため、ほとんどの症例は不妊検査ではじめて診断さ

表 1 Klinefelter 症候群の精子性染色体異常率

(FISH 法による)					
	核型	XY	XX	YY	合計
Okada et al. (1999) ¹²⁾	46, XY (正常)	0.22	0.19	0.01	0.42
Ohashi et al. (2001) ¹¹⁾	46, XY (正常)	0.18	0.11	0.11	0.40
Guttenbach et al. (1997) ¹³⁾	47, XXY	1.4	1.2	0.1	2.7
Foresta et al. (1998) ¹⁴⁾	47, XXY	15.6	6.9	0.2	22.7
Okada et al. (1999) ¹²⁾	47, XXY	1.3	1.0	0.2	2.5
	46, XY/47, XXY	1.0	1.1	0.2	2.3
Rives et al. (2000) ¹⁵⁾	47, XXY	0.5	0.4	0.4	1.3
	46, XY/47, XXY	0.6	0.2	0.2	1.0

れることが多く、染色体検査が行われなければ診断されないこともある。

Klinefelter 症候群は、①不分離により生じた 24, XY 精子が 23, X の正常卵子に受精する場合、②不分離によって生じた 24, XX 卵子に 23, Y 精子が受精する場合、③正常に受精した 46, XY の胚が第一卵割時に 47, XXY と 45, Y に分離し、その後 45, Y の発生が停止する場合に生じる。また、mosaic 型は体細胞分裂が進んだ時期に、ある細胞が 47, XXY と 45, Y に分離し、45, Y が消滅することから 46, XY と 47, XXY が混在する mosaic となる。

non-mosaic 型 Klinefelter 症候群のほとんどは、無精子症から乏精子症を呈する。そのため妊娠・分娩の報告の多く^{4)~7)}が精巣内精子を用いた ICSI によるもので、射出精子を用いた報告⁸⁾⁹⁾は少ない。今回の症例は射出精液中に精子を認め ICSI により通常と同様の受精率・胚グレードを得ることができた。また、mosaic 型では精子所見がよいことが多く、自然妊娠した症例も報告¹⁰⁾されている。

FISH 法を用いた精子染色体分析では、正常男性の場合 Ohashi et al.¹¹⁾は XX 精子、XY 精子、YY 精子の性染色体異数性異常の頻度はそれぞれ 0.18%、0.11%、0.11% であり、それらの合計は 0.4% と報告している。Klinefelter 症候群症例の精子では、XX 精子、XY 精子、YY 精子の頻度はそれぞれ 0.5~15.6%、0.2~6.9%、0.1~0.4% であり、それら異常の合計は 1.0~22.7% と報告例^{12)~15)}によりかなりばらつきがあるが、正常男性と比較し高率である。また、Okada et al.¹²⁾や Rives et al.¹⁵⁾の報告では non-mosaic 型と mosaic 型との間で異

常率に差は認められなかった。

Klinefelter 症候群における精子の性染色体異常が増加するメカニズムには、47, XXY などの異常細胞が減数分裂することによって生じるとする報告と、異常な精巣内環境によって正常細胞が減数分裂するときに異常が多く生じるとする報告がある。Blanco et al.¹⁶⁾は、Klinefelter 症候群の精巣内細胞において、減数分裂前の細胞では 47, XXY がかなりの割合で認められるが、第一減数分裂前期のパキテン期の細胞はすべて 46, XY であり、第二精母細胞や精子細胞は XY 細胞が認められるが、精子には XY 精子は認めなかったと報告している。つまり、47, XXY の異常生殖細胞は減数分裂が起きず、減数分裂に入った 46, XY の正常生殖細胞が異常な精巣環境により不分離が高頻度で生じ、さらに XY を有する異常な第二精母細胞や精子細胞は精子にまで発生せずに淘汰されているとしている。異常な卵巣内環境には高 FSH 濃度¹⁷⁾などが関与していると考えられている。リンパ球染色体検査で non-mosaic 型 Klinefelter 症候群と診断された症例も、精子形成が認められる場合は性腺は mosaic 型であると考えられている。Palermo et al.¹⁸⁾は末梢リンパ球を用いた染色体分析でどのくらいの数を分析すれば mosaic 型を除外することができるかという基準は意味がないとしている。mosaic 型と non-mosaic 型を末梢血リンパ球を用いて分類することの意味は少なく、射出および精巣内を問わず精子が存在するかどうかが重要である。

大濱と岡本¹⁹⁾は自然流産児の染色体分析で

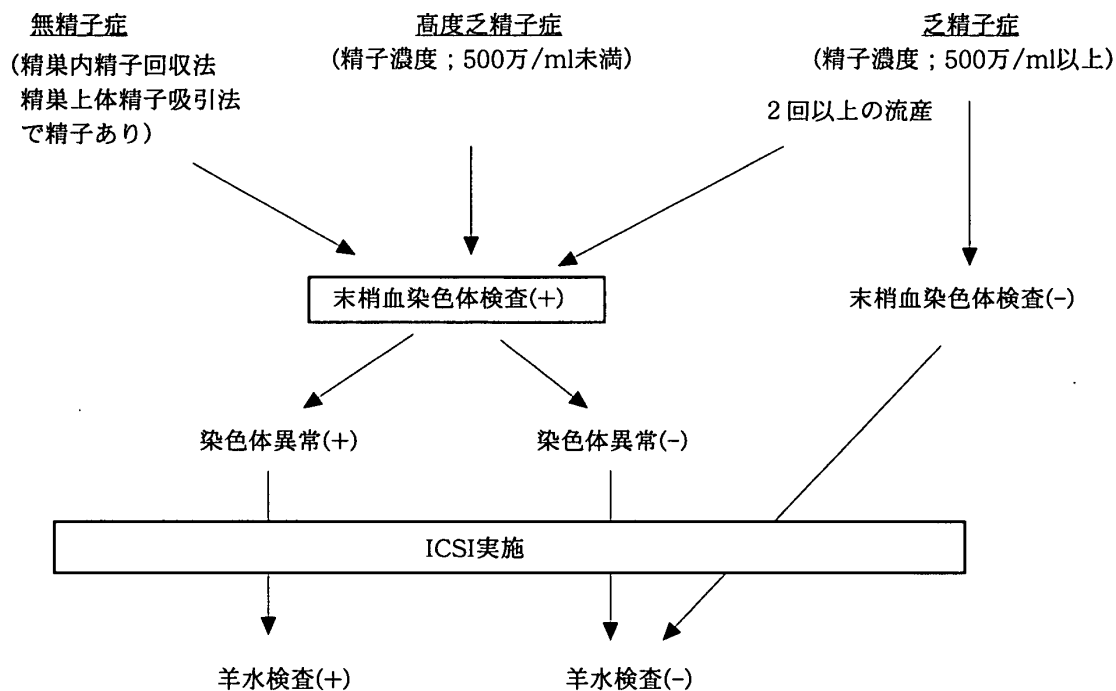


図1 無精子症・乏精子症による ICSI 対象症例の染色体検査実施の流れ

Klinefelter 症候群はごくまれにしか認められないとしている。他の大部分の常染色体異常症やターナー症候群と異なり、Klinefelter 症候群は妊娠初期に流産として自然淘汰が生じないことを示している。その結果、妊娠が継続している場合、児は出生にまで至ると考えられる。今回の反復流産は児の性染色体異常により生じたとは考えにくい。

Hennebicq et al.²⁰⁾は、non-mosaic 型 Klinefelter 症候群の精子染色体検査で 1 番染色体 disomy 精子の頻度は増加しなかったが、21 番染色体 disomy 精子が高頻度で認められたと報告している。21 番染色体以外の染色体異常が増加する可能性も考えられ、さらに二倍体精子の頻度が上昇するとの報告²¹⁾もあり、流産の増加につながる可能性が考えられる。今までに Klinefelter 症候群と流産との関連を報告したものはないが、今回の 2 症例はいずれも 2 回以上の流産を認めており、絨毛染色体検査を実施した 1 回は 22 番トリソミーであったことより、今後は Klinefelter 症候群と染色体異常による流産との関連を調べることが必要である。

Klinefelter 症候群では精子の性染色体異数性異常の頻度が上昇することから、妊娠経過が良好な

場合にも羊水検査などの出生前染色体検査の実施について夫婦に十分なインフォームドコンセントを行う必要がある。実際、出生前染色体検査の危険性、児が Klinefelter 症候群と診断された場合の対応をどのように行うかなどの十分なインフォームドコンセントが必要である。今回の 2 症例はともに双胎妊娠のために羊水検査は実施されなかった。

今回、2 回の流産を契機として夫婦の染色体検査を実施し、Klinefelter 症候群を診断することができた。吉田²²⁾は精子濃度が 500 万/ml 未満の場合に有意に染色体異常が増加すると報告している。さらに、ICSI による出生児は、自然妊娠により出生した児より性染色体異常率が高いとの報告²³⁾がある。その理由として、ICSI を行った症例の中には Klinefelter 症候群の割合が多い可能性がある。十分なインフォームドコンセントの後に無精子症や高度乏精子症および流産を 2 回以上認める症例に対して染色体検査を行う必要があると考えられた(図 1)。

文 献

1. 吉田 淳, 三浦一陽, 原 啓, 西見大輔, 永尾光一, 白井将文. 無精子症における染色体異常の研究

- 究. 日不妊会誌 1996; 41: 164—169
2. Skakkebaek NE, Hulten M, Jacobsen P, Mikkelsen M. Quantification of human seminiferous epithelium. II. Histological studies in eight 47,XXY men. *J Reprod Fertil* 1973; 32: 391—401
3. Sharara FI. Klinefelter's syndrome. In *encyclopaedia of Reproduction*. New York: Academic Press, 1999; 2: 938—941
4. Tournaye H, Staessen C, Liebaers I, Van Assche E, Devroey P, Bonduelle M, Van Steirteghem A. Testicular sperm recovery in nine 47, XXY Klinefelter patients. *Hum Reprod* 1996; 11: 1644—1649
5. 見尾保幸. クラインフェルター症候群に起因する無精子症に対する顕微授精の有用性と限界. *日産婦誌* 1999; 51: S-227
6. Ron-el R, Friedler S, Strassburger D, Komarovsky D, Schachter M, Raziel A. Birth of a healthy neonate following the intracytoplasmic injection of testicular spermatozoa from a patient with Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod* 1999; 14: 368—370
7. Bergere M, Wainer R, Nataf V, Bailly M, Gombault M, Ville Y, Selva J. Biopsied testis cells of four 47, XXY patients: fluorescence in-situ hybridization and ICSI results. *Hum Reprod* 2002; 17: 32—37
8. 本田徹郎, 玉井彦明, 梅岡弘一郎, 中堀 隆, 高橋 晃, 大久保和俊, 小倉啓司, 荒井陽一, 磯崎八重子, 高橋 司. 非モザイク型 Klinefelter 症候群男性の精液内精子を用いた ICSI による男性出産の 1 症例. *日不妊会誌* 2000; 45: 49—52
9. Bourne H, Stern K, Clarke G, Pertile M, Speirs A, Baker HW. Delivery of normal twins following the intracytoplasmic injection of spermatozoa from a patient with 47,XXY Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod* 1997; 11: 2447—2450
10. Cozzi J, Chevret E, Rousseaux S, Pelletier R, Benitz V, Jalbert H, Sele B. Achievement of meiosis in XXY germ cells: study of 543 sperm karyotypes from an XY/XXY mosaic patient. *Hum Genet* 1994; 93: 32—34
11. Ohashi Y, Miharuru N, Honda H, Samura O, Ohama K. High frequency of XY disomy in spermatozoa of severe oligozoospermic men. *Hum Reprod* 2001; 16: 703—708
12. Okada H, Fujioka H, Tatsumi N, Kanzaki M, Okuda Y, Fujisawa M, Hazama M, Matsumoto O, Gohji K, Arakawa S, Kamidono S. Klinefelter's syndrome in the male infertility clinic. *Hum Reprod* 1999; 14: 946—952
13. Guttenbach M, Michelmann HW, Hinney B, Engel W, Schmid M. Segregation of sex chromosomes into sperm nuclei in a man with, 47, XXY Klinefelter's karyotype: a FISH analysis. *Hum Genet* 1997; 99: 474—477
14. Foresta C, Galeazzi C, Bettella A, Stella M, Scandellari C. High incidence of sperm sex chromosome aneuploidies in two patients with Klinefelter's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 203—205
15. Rives N, Joly G, Machy A, Simeon N, Leclerc P, Mace B. Assessment of sex chromosome aneuploidy in sperm nuclei from 47, XXY and 46, XY/47, XXY males: comparison with fertile and infertile males with normal karyotype. *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 107—112
16. Blanco J, Egozcue J, Vidal F. Meiotic behaviour of the sex chromosomes in three patients with sex chromosome anomalies (47, XXY, mosaic 46, XY/47, XXY) assessed by fluorescence in-situ hybridization. *Hum Reprod* 2001; 16: 887—892
17. Vendrell JM, Garcia F, Veiga A, Calderon G, Egozcue S, Egozcue J, Barri PN. Meiotic abnormalities and spermatogenic parameters in severe oligoasthenozoospermia. *Hum Reprod* 1999; 14: 375—378
18. Palermo GD, Schlegel PN, Sills ES, Veeck LL, Zaninovic N, Menendez S, Rosenwaks Z. Births after intracytoplasmic injection of sperm obtained by testicular extraction from men with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *N Eng J Med* 198; 338: 588—590
19. 大濱紘三, 岡本悦治. 流産と先天異常. *周産期医学* 1992; 22: 1235—1239
20. Hennebicq S, Pelletier R, Bergues U, Rousseaux S. Risk of trisomy 21 in offspring of patients with Klinefelter's syndrome. *The Lancet* 2001; 357: 2104—2105
21. Egozcue S, Blanco J, Vendrell JL, Garcia F, Veiga A, Aran B, Barri PN, Vidal F, Egozcue J. Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 93—105
22. 吉田 淳. 無精子症と Y 染色体異常. 鈴木秋悦編 *生殖ジェネティックス* 東京: メジカルビュー社, 1999; 62—70
23. ESHRE Task Force. European Society of Human Reproduction and Embryology task force on intracytoplasmic sperm injection (1998) Assisted reproduction by intracytoplasmic sperm injection: a survey on the clinical experience in 1994 and the children born after ICSI, carried out until 31 December 1993. *Hum Reprod* 1998; 13: 1737—1746 (No. 8246 平 14・4・22 受付, 平 14・8・5 採用)