

当科における人工受精ならびに体外受精胚移植の成績

木下俊彦・笠井剛・小川恵吾
奥野隆・安水洸彦・加藤順三
山梨医科大学産婦人科学教室

抄録：不妊治療における人工受精ならびに体外受精胚移植の成績を検討する目的で、山梨医科大学産婦人科における過去2年間の成績を分析した。人工受精は78例255周期に施行した。妊娠率は症例当たり10.3%，周期当たり3.1%であった。原精子濃度 $20 \times 10^6/ml$ 以下の高度乏精子症においても1例が妊娠した。精液をswim up法を用いて処理することで精子運動率に有意な改善が認められた。しかし、乏精子症、精子無力症例では改善率が乏しかった。体外受精胚移植は39例55周期に行った。胚移植は28症例39周期に行われ、胚移植率は症例当たり71.8%，周期当たり71.0%であった。妊娠は3例に認められ、移植回数当たりの妊娠率は7.7%であった。そのうち1例は健児を分娩した。当院での人工受精、体外受精胚移植における妊娠率はいまだ充分なものとはいえず、その改善には排卵誘発方法の改善、採卵時期の変更などが必要と考えられた。

最近の不妊治療の進歩には著しいものがあるが、男性に原因の存在する男性不妊や、原因の明らかでない機能性不妊などの場合その治療は困難な場合が多い。その理由は、いずれも原因に対する根本的治療が困難であるためである。そこで、男性不妊に対しては得られた精子でいかに妊娠を成立させるかという観点から、比較的少数の運動精子で治療が成立すると考えられる人工受精 (artificial insemination with husband, AIH) が主に用いられているが、近年は体外受精・胚移植 (in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET) もその適応とされることが多い。長年の機能性不妊の場合も同様な治療法が選択される。しかしながらその成績はいまだ満足できるものではない。

当科では、1991年1月より運動精子の回収を目的としてswim up法を用いたAIHを導入し、同時にIVF-ETも導入し治療に当たっているが、1992年12月で2年を経過したのでこれ

までの成績を報告したい。

対象と方法

1) 対象

山梨医科大学産婦人科不妊外来において受診者の基礎体温測定、内分泌学的検索、子宮卵管造影、精液検査をルーチン検査として、さらに腹腔鏡検査を症例によっては加え不妊因子の解析を行った。その結果を各々排卵因子、卵管因子、男性因子、さらに原因が明らかでない機能性不妊に分類し、治療に供した。

そこで今回は、1991年1月より1992年12月までの間に山梨医科大学産婦人科不妊外来において治療し、予後が明らかであるAIH 78例、255周期およびIVF-ET 39例55周期を対象として、その治療成績を検討した。

2) 精液検査

精液は一定期間禁欲したのち用手的に採取し、約一時間室温下に放置したのち十分に液化した。精子数、運動率はマクラー精子カウントチェンバーを用いて主観的に判定した。これら

表1. 精液所見 (WHO 1987)

乏精子症 Oligozoospermia	精子濃度 $20 \times 10^6 / \text{ml}$ 未満
精子無力症 Asthenozoospermia	前進する精子が50%未 満または高速に直進す る精子が25%未満
乏精子 精子無力症 Oligoasthenozoospermia	精子濃度, 運動率がと もに異常

の結果を Normozoospermia, Oligozoospermia, Asthenozoospermia, Oligoasthenozoospermia の4群に分類した(表1)。なお, 診断は数回の検査を繰り返すことによって行った。

3) 人工受精 (AIH)

適応

夫に Oligozoospermia, Asthenozoospermia, Oligoasthenozoospermia が認められた例, および機能性不妊例を適応とした。

方法 (swim up 法)

精液は一定期間禁欲したのち用手的に採取し, 約一時間室温下に放置したのち十分に液化した。精液を培養液 5 ml に混和したのち, 3,000回転15分遠心分離した。上清を除去し, 沈殿した pellet 上に約 1 ml の培養液を静かに上層した後, 30°に傾斜させ60分間 CO₂95%, 37°C 下に静置した。その後上層した培養液を回収し, 子宮内に注入した。培養液としては Human Tubal Fluid (HTF, GIBCO 社) を用いた。

女性側には排卵誘発剤の投与を併用した。

排卵時期の同定には経膈超音波検査を用いて卵胞測定を行い, 主席卵胞径が20~25 mm になった時点を排卵期として AIH を行った。

4) 体外受精・胚移植 (IVF-ET)

適応

卵管性不妊。

長期間不妊の子宮内膜症。

乏精子症, 精子無力症が認められ AIH を5~10回以上実施しても妊娠に至らないもの。

抗精子抗体陽性のもの。

機能性不妊で3年以上妊娠に至らないもの。

方法

月経開始1~2日目からゴナドトロピン放出ホルモンアナログ (gonadotropin releasing hormone analog, GnRHa) を900 μg 連日投与し, 十分に血中エストロゲン値が抑制されたことを確認した後にゴナドトロピン (human menopausal gonadotropin, hMG) を275~300 IU/日連日筋肉内に投与した。卵胞計測は経膈超音波断層法にて行い, 卵胞直径が15 mm を越えた日に hMG の投与を中止し, human chorionic gonadotropin (hCG) を10000 IU 投与した。hCG 投与の約36時間後に卵胞を経膈超音波下に穿刺し卵を回収した。

受精および胚発育には, 10%と20%の非働化患者血清加 HTF をそれぞれ用いて, 37°C, 5% O₂, 90% N₂の気相下でおこなった。

媒精後18時間で受精を確認した後, その翌日に受精卵を子宮内に移植した。

5) 妊娠の確認

子宮内に胎嚢を確認したものを妊娠例とした。

結果

1) 人工受精の成績

人工受精は Oligozoospermia, Asthenozoospermia, Oligoasthenozoospermia のいずれかを認めた症例32例, 機能性不妊症37例, 射精障害例2例, その他7例の計78例延べ255周期に対して施行した。その結果, 8例に妊娠が成立し, 妊娠率は症例当たり10.3%, 周期当たり3.1%であった。8例の内訳は Oligoasthenozoospermia を適応としたものが3例, 射精障害例1例, 機能性不妊症2例, 排卵障害を伴った長期不妊例2例であった。妊娠経過としては稽留流産2例, 子宮外妊娠1例, 品胎妊娠1例, 単胎妊娠4例が認められた(表2)。7例は3回以内の人工受精で妊娠したが, 1例は7回目の人工受精で妊娠した。

妊娠例は7例が hMG 製剤を併用し, 1例が clomiphene による排卵誘発を併用していた。

2) swim up 法による精液調整の結果

swim up 法による調整前後の精子濃度及び

表2. AIHによる妊娠例

症例	適応因子	妊娠転帰
1	乏精子症	単胎妊娠
2	乏精子症	単胎妊娠
3	乏精子症	稽留流産
4	射精障害	子宮外妊娠
5	機能性不妊	単胎妊娠
6	機能性不妊	稽留流産
7	長期不妊	品胎妊娠
8	長期不妊	単胎妊娠

表3. swim up 法による精子所見の変化

	調整前	調整後
精子濃度 ×10 ⁶ /ml	63.0 ± 47.1	24.4 ± 33.3
精子運動率 %	54.2 ± 23.5	80.3 ± 28.2
奇形率 %	13.3 ± 9.7	1.8 ± 7.8

n=260

表4. 乏精子症における swim up 法による精子所見の変化

	調整前	調整後
精子濃度 ×10 ⁶ /ml	10.9 ± 5.8	7.5 ± 13.8
精子運動率 %	48.4 ± 26.4	69.2 ± 36.8

n=45

精子運動率の変化をみたところ、精子濃度は63.0±47.1×10⁶/mlから24.4±33.3×10⁶/ml、精子運動率は54.2±23.5%から80.3±28.2%と精子運動率が明らかに改善した。同時に、奇形精子濃度も13.3±9.7%から1.8±7.8%に減少した(表3)。

原精子濃度が20.0×10⁶/ml以下で行った45回のAIHでは精子濃度は10.9±5.8×10⁶/mlから7.5±13.8×10⁶/ml、精子運動率は48.4±26.4%から69.2±36.8%であり、重度の乏精子

表5. 妊娠例における swim up 法による精子所見の変化

精子乏無力症例	調整前	調整後
精子濃度 ×10 ⁶ /ml	33.0 ± 13.1	23.0 ± 8.5
運動率 %	66.2 ± 6.5	93.8 ± 5.8

n=3

表6. 妊娠例における swim up 法による精子所見の変化

正常精子症例	調整前	調整後
精子濃度 ×10 ⁶ /ml	95.0 ± 36.0	29.4 ± 23.0
運動率 %	63.1 ± 25.9	93.2 ± 7.3

n=5

症では精液所見の改善が乏しかった(表4)。しかし、19.0×10⁶/mlであったにもかかわらず妊娠した例が1例存在した。

一方、妊娠症例中でOligoasthenozoospermiaを適応とした3例の調整前後の精子濃度及び精子運動率の変化を検討した。精子濃度は33.0±13.1×10⁶/mlから23.0±8.5×10⁶/ml(範囲17×10⁶から86×10⁶/ml)に変化し、精子運動率は66.2±6.5%から93.8±5.8%(範囲88.4%から100%)に上昇した(表5)。Oligoasthenozoospermia以外に適応とした5例では精子濃度は95.0±10⁶/mlから29.4±23.0×10⁶/ml(範囲5×10⁶/mlから64×10⁶/ml)に変化し、精子運動率は63.1±25.9%から93.2±7.3%(範囲82.1%から100%)に上昇した(表6)、妊娠症例では特に運動率の改善が著しかった。

3) IVF-ETの成績

39症例に対し55周期の採卵を実施したが、胚移植を行ったのは28症例、39周期であった。すなわち、胚移植率は症例当たり71.8%、周期当たり71.0%であり、約29%は受精に至らず移植が行われなかった(表7)。胚移植の行われなかった症例のうち64%(7/11)は不妊原因と

表 7. IVF-ET の成績 (1991.1~1992.12)

患者総数	39
治療周期総数	55
採卵総回数	55
移植総回数	39
移植回数/採卵回数百分比	71.0%
妊娠数	3
移植当たり妊娠率	7.7%
流産率	33.3%
生産分娩数	1
生産率	2.6%

して男性因子を有していた。

実施症例の年齢は27才から42才に分布しており、平均34才であった。

妊娠は3例に認められた。これは移植回数当たりで7.7%であった。1例はすでに健児を得ているが、1例は妊娠継続中であり1例は自然流産となった。したがって、移植当たりの生産率は2.6%であった。

健児を得た症例を以下に示す。

症例 H.D. 35才

長期間の不妊(原因不明6年間)を適応として体外受精・胚移植を行った。今回が2回目の施行であった。

GnRHaを併用しながらhMGを計1,800 IU投与したところでhCG 10,000 IUに切り替え、3個の卵を採取した。3個すべてが受精したことを確認し、全受精卵(4分割卵)を移植した。

黄体期にはhCG 3,000 IUを3回筋注し、さらにジドロゲステロン30 mgを連日投与した。

採卵後21日目に子宮内に胎嚢を確認した。その後の妊娠経過は順調であり、妊娠40週に2,858 gの女児を正常分娩した。児には外表奇形を初め異常所見は認めなかった。

考 察

1959年にKazakarelisら¹⁾によって精液を希釈し、遠心分離したものを人工受精することが試みられた。しかし、遠心中に受ける器械的損傷により運動率が低下し良好な妊娠率は得られなかった。その後、swim-up法が報告され、

Honigら²⁾はswim-up法を人工受精に応用し有用との報告をしている。

不妊治療におけるAIHは従来男性因子が認められる不妊カップルに対してのみがその適応とされていた。しかし、現在ではその適応は長期間の機能性不妊症例の治療としても用いられている。当科では1992年1月よりそれまで用いていた無処理精子を使っての人工受精をswim up法を導入した人工受精に変更した。その結果、症例当たり10.3%の妊娠率を得ることができた。しかし、人工受精による妊娠率は症例当たり20.5~32.1%と報告されており³⁾⁴⁾、当科の成績は決して高いものではない。

一般に人工受精の成績に影響する因子として、各種の洗浄精子の使用や、女性側への排卵誘発剤使用によるsuperovulationの有無などがあげられている。今回我々は洗浄精子法としてswim up法を用いることにより、精子運動率に有意な増加を認めた。しかも高度乏精子症($19 \times 10^6/m\bar{l}$)にも妊娠例が認められたことは、全体の妊娠率としては不十分ではあるものの、今回の我々の操作にも意義が認められるといえる。

佐藤ら⁵⁾は妊娠に最適な精子濃度の観点から人工受精での妊娠例と非妊娠例の精子濃度、精子運動率を洗浄前後で比較しているが有意差を認めていない。つまり精子洗浄濃縮による精子性状の改善のみが必ずしも妊娠に結びつくとは限らず、女性側の不妊因子が存在する場合その治療が不可欠であると述べている。さらに、IVF-ETや配偶子卵管移植(GIFT法)などのいわゆるassisted reproductive technologyから得られた経験から、hMG製剤などを用いたcontrolled ovarian hyperstimulationの併用が人工受精の成績を上昇させるとも報告されている⁶⁾。controlled ovarian hyperstimulationの併用は女性側の不妊因子が存在しない場合でも有効とされているが、その機序については明らかではない。

我々も今回排卵誘発を併用したが、hMG製剤の使用には卵巣過剰刺激症候群の発生、多胎

妊娠の危険や、高価であることなどの点から、我々は clomiphene の併用を原則とした。しかしながら、clomiphene の使用よりは hMG 製剤の使用を勧める報告が多く、事実我々の治療での妊娠例においても 8 例中 7 例 (87.5%) は hMG 製剤を併用していた。したがって今後は、妊娠率の向上のためには排卵誘発法の選択を考慮すべきであると考えられた。

不妊患者の流産率は一般より少し高く、Mochimaru⁷⁾ は 17% と報告している。当科の不妊外来における初期流産率は約 19% であるが、今回の検討では AIH における初期流産が 3 例 (37.5%) と高値であった。流産の原因は多岐に渡り、原因の同定は困難であるが、全例に排卵誘発剤が使用されており、排卵誘発剤の使用がその一因である可能性は否定できないであろう。

また、今回の人工受精ではほとんどが 3 回までに妊娠していることから、多数回の人工受精を続けていくことは、少数の例外を除いて妊娠に結び付くことは少ないと思われる。累積妊娠率から安江ら⁸⁾ は 5 回以上の人工受精をしても妊娠の成立しない場合には次の治療段階を考慮することを報告している。佐藤ら⁵⁾ も早期のうちに妊娠の成立することを報告しているが、同時に 13 周期でも理論的には 65% に妊娠が期待できると述べている。実際には費用対効果の点からも徒に長期間の人工受精に固執することは望ましくなく、我々は 5 回をめどに次の治療を検討する方針としている。

IVE-ET は当初、卵管性不妊に対する治療法として開発されたが、その後子宮内膜症性不妊、男性不妊、原因不明長期不妊などのいわゆる難治性不妊にまで適応が拡大されているのが現状と思われ、我々も IVF-ET 開始当初からこれらを適応としてきた。

現在の IVF-ET プログラムは開発当初に比べ、大きく変化している。中でも採卵法および卵巣刺激法の進歩が重要であったと思われる。まず、採卵法では当初腹腔鏡下であったものが超音波ガイド下経膈採卵へと変化し、これによ

り容易に採卵が可能となった。また、卵巣刺激法では GnRH analog を併用することで LH サージ発現の抑制が可能となり、hCG 投与により採卵時間を自由に設定し良質の卵を採取できるようになった。我々もこの様な系統化されたプログラムを用いて IVE-ET を実施してきた。しかしながら妊娠率は 7.7% にとどまっており、わが国における IVF-ET の成績が移植当たりの妊娠率は 21.1%、採卵当たりの妊娠率で 16.0% と報告されていることから⁹⁾、当院における成績は著しく低値である。

良質の卵を得ることは IVF-ET の成績向上における重要な因子であるが、そのためには適時に採卵が行われねばならない。当院では採卵手術は中央手術室で行うのであるが、この場合他科との関係上緊急手術としての扱いは得られない。現在は定時手術として行っているのであるが、得られた卵の状態からみて採卵時期を逸したのではないかと感じるものがしばしばである。したがって、採卵時期の調整は妊娠率向上のために、今後解決すべき重要な点であると考えている。

男性不妊では IVF-ET の成績は、一般に低率であることが報告されている。これは男性不妊例の多くを占める乏精子症や精子無力症での受精率が低いと判断されているが、当科の IVF-ET でも胚移植に至らなかった、すなわち未受精であった症例のうちの 64% は男性因子を有していた。さらに全体の 41% は男性因子を有した症例であったことから、今回の我々の IVF-ET の成績は男性因子によって影響を与えられたと考えられる。

現在受精率を上げるための工夫として微小環境受精や再媒精などが試みられている。それに加え受精能力に乏しい症例に対しては、最近 microfertilisation が試みられているが、131 症例、771 個の新鮮卵に対し卵胞腔内に精子注入を行った Ng ら¹⁰⁾ の報告をみても、受精率は卵当たり 16.6%、症例当たり 44.3%、移植施行 58 例当たりの妊娠率は 5 例、8.6% であるが、対象症例当たりでは 3.8%、さらに分娩例は 1 例

のみであり妊娠分娩成功率は極めて低く, 本法はいまだ男性因子に対する決定的な治療法とはなり得ていない。そこで現状では男性不妊に対しては, 原精液の改善を目的とした薬物療法, および人工受精と IVF-ET を治療手段とせざるを得ない。

以上, 当科における人工受精と, IVF-ET の成績について報告した。男性不妊と機能性不妊は不妊外来の多くを占めるといわれるが, 決定的な治療法が存在しないことから人工受精と IVF-ET に依存することが多くなるのが現状である。当科においてもその例外ではないが, 成績向上をめざし一層の努力を重ねたい。

文 献

- 1) Kazakarelis E, Comminos A. A critical evaluation of homologous artificial insemination. *Int J Fertil* 1959; 5: 38-41.
- 2) Honig L M, Devroey P, Steirteghem A C. Treatment of infertility because of oligoastheno-ozoospermia by transcervical intrauterine insemination of motile spermatozoa. *Fertil Steril* 1986; 45: 388-392.
- 3) Kernmann E, Bohrer M, Sheider R, *et al.* Active ovulation management increases the monthly probability of pregnancy occurrence in ovulatory women who receive intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1987; 48: 916-922.
- 4) 児玉英也, 加藤充弘, 福田 淳, ほか, Clo-miphene-hMG 刺激周期を利用した percoll 洗浄精子による AIH, *日本不妊会誌*, 1989; 34: 246-251.
- 5) 佐藤博久, 木村裕幸, 斎藤 優, ほか, Percoll 攪拌密度勾配法の AIH (配偶者間人工受精)への応用と Life table 法による妊娠率の検討, *日産婦誌*, 1990; 42: 149-154.
- 6) Sheila JD, Joseph FK, Philip EY, *et al.* Effect of controlled ovarian hyperstimulation on pregnancy rates after intrauterine insemination, *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 1607-1613.
- 7) Mochimaru F. Artificial insemination with frozen donor semen; its current status and follow up studies, *Keio J Med* 1979; 28: 33-39.
- 8) 安江育代, 岡本愛光, 許山浩司, ほか, 排卵 Stimulatio 法と Percoll Preparation 法の併用を中心とした IUI の成績, *日本不妊会誌*, 1990; 35: 60-65.
- 9) 日本産婦人科学会理事会内委員会: 平成 3 年度, 生殖医学の登録に関する委員会報告(第 3 報)(平成 2 年度分の臨床実施成績, 平成元年度分の治療による出生児の追加調査成績), *日産婦誌*, 1992; 44: 499-511.
- 10) Ng S-C Bongo A Ratnam SS. Microinjection of human oocytes: a technique for severe oligoastheno-ozoospermia, *Fertil Steril* 1991; 56: 1117-1122.

**Retrospective Studies and Outcome of Artificial Insemination with Husband and
in vitro Fertilization-Embryo Transfer**

**Toshihiko Kinoshita, Tsuyoshi Kasai, Keigo Ogawa, Takashi Okuno,
Takehiko Yasumizu, and Junzo Kato**

Department of Obstetrics and Gynecology, Yamanashi Medical University

We analyzed the data obtained from 39 *in vitro* fertilization-embryo transfer (IVF-ET) and 78 artificial insemination with husband (AIH), conducted in our clinic between January 1991 and December 1992 to examine the present status and problems of male or unexplained infertility. The pregnancy rate per patient or insemination following AIH was 10.3% and 3.1%, respectively. Pregnancy occurred in 1 case in the group with poor spermatologic findings. During this period, oocytes were retrieved in 55 cases, among which 39 were subjected to embryo transfer. There were 3 pregnancies, the pregnancy rate being 7.7% per embryo transfer. The rate of fertilization following IVF-ET was 71.8%. AIH and IVF-ET are not very effective methods of fertilization for infertile couples. New treatment methods based on the physiology and pathology of the ovulation or spermatogenic function are awaited.

Key words: AIH, IVF-ET