

## 1. レクチャーシリーズ

# 1) 産婦人科医療における最近のトピック (3) 難治性受精障害への対応

国際医療福祉大学教授  
柳田 薫

座長：東京慈恵会医科大学教授  
田中 忠夫

### はじめに

受精障害は体外受精(IVF)や顕微授精(ここでは卵細胞質内精子注入法:ICSI)を実施して、初めて明らかになる不妊の一原因である。IVFやICSIを行う前に受精障害を診断できる検査がなく、ARTを実施して初めて突然に受精障害が認められるので、治療を受ける夫婦の心身に与える影響が大きい。ここでは、IVFとICSIに認められる受精障害について、その臨床像と対処法について述べる。受精障害は討議されることが少ない領域であるので、その内容についてはコンセンサスが十分に得られていないものも含まれる。なお、ここでは、受精障害を受精率0%の場合とした。

### IVFの受精障害

受精のプロセスを図1に示したが、これらのどの部位が障害されても受精障害が起こりうる。

#### 1. 頻度

1998年から5年間のIVF例で受精障害の頻度を調べると、媒精を行い得た919治療周期中、全体での受精障害周期は124周期(13.5%)であった。また、919周期491例のうち初回のIVFであったのは311周期(33.8%)311例(63.3%)であり、この中での受精障害例は13.8%となった。初回到IVFを実施し、さらに2回目のIVFを行った例で受精障害が繰り返された例が40%に認められた。初回以外のIVFで受精障害を認めた場合、その次に実施されたIVFで受精障害は29%に認められていた。いずれにしても、一度受精障害を認めた場合では、次回のIVFで再度受精障害となるリスクがかなり(29~40%)あることがわかる。よって、採卵等の侵襲的手技に伴う副作用のリスクも考慮すると、受精障害を認めたら、次回はIVFでなくICSIを選択すべきと思われた。

#### 2. 媒精卵数と受精率の関係

媒精した卵の数別に受精障害例の発現頻度を調査すると、媒精卵数が3個以内では受精障害の発生頻度が19%以上(1個:26%, 2個:19%, 3個:19%)あるが、4個以上では10%以下(0~9%)となることわかる。さらに、15個以上では0%となる。よって、媒

Best Plan to Fertilization Failure after ICSI

Kaoru Yanagida

Clinical Medicine Research Center, International University of Health and Welfare, Tochigi

Key words : Fertilization failure · ICSI · Oocyte activation · Rescue ICSI

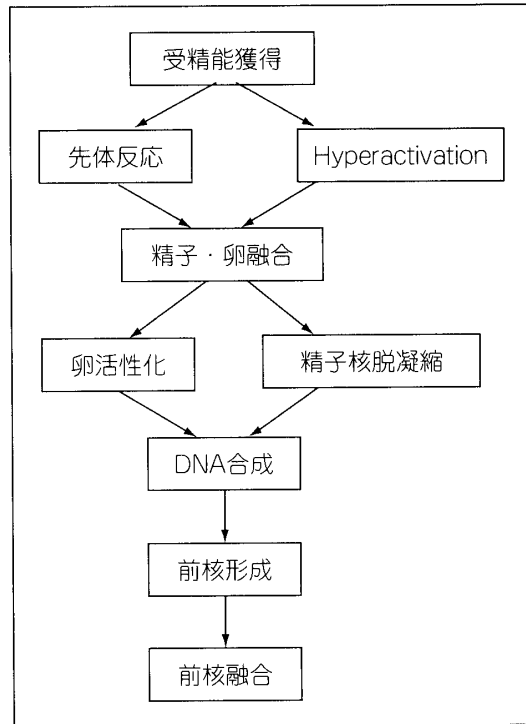
精卵数を4個以上に設定することも受精障害のリスクを減らす、一つの工夫といえる。

### 3. Split ICSI

精液所見や前回のIVFの受精成績により、計画されているIVFでの受精障害が懸念される場合、採取された(成熟)卵の半数でIVFを、半数でICSIを行う方法である。採取された成熟卵が8個以上の場合は、半数ずつにIVFおよびICSIを実施する。この場合、IVFを行う卵は4個以上となるので、受精障害のリスクを少なくできる。後述するがICSIにても同様である。採取された成熟卵が8個未満の場合では、IVFを行う卵数が3個以内となるので、受精障害のリスクが増加し好ましくないため、すべての卵に対してICSIを行うべきと思われる。

### 4. Rescue ICSI

IVFを行った場合、翌日に受精判定を行うが、この時に受精していない卵に対してICSIを行い受精を図りレスキューする方法である。1日後に行うことから古くから「1 day old ICSI」と呼ばれていたものである。1993年からこの方法の報告がなされており<sup>1)</sup>、受精はするが、妊娠率が極端に低いため、臨床に用いるべきでなく研究やICSIの練習に意義があるとされていた。自験例でもrescue ICSIの受精率は通常のICSIと同等(82.5%)であるが、妊娠率は極端に低く、1例の妊娠しか認められなかった。このような低個体発生率の理由として、1日近く培養された卵が老化し細胞としての機能が劣化していることが考えられる。ヒト卵が老化によって受ける影響として、第二減数分裂中期紡錘体の構造異常(極間距離の短縮、紡錘糸の異常など)、染色体やDNA鎖の断片化、細胞質の断片化、極体の放出障害、透明帯の硬化などが報告されている。特に、rescue ICSIの成績を論ずる場合には、採卵後からrescue ICSIを実施するまでの時間が問題となろう。自験例の報告は22~24時間であった。これが、17~18時間となれば個体発生能がやや高いことも予想される。また、rescue ICSIに用いる精子の新鮮度も重要である。1 day oldの精子では個体発生能が低下していることが十分に予測できる。受精・初期胚発生は壊れたDNAを持つ配偶子によっても可能であるので、受精したからといって個体発生能を持つ受精卵とはいえない。前述したように、現在のrescue ICSIの評価は否定的であるが、有効との報告もわずかであるが存在する。今後の論点はrescue ICSIを実施するタイミングと思われる。



(図1) 受精のプロセス

## ICSIの受精障害

ICSIは受精過程の受精能獲得、生体反応、Hyperactivation、精子・卵融合をバイパスするので、それらの異常の場合でも有効であるが、卵活性化に始まるそれら以後の過程の異常では受精障害となる。頻度は少ないが、最後の砦ともいえるICSIでの受精障害は

対応策がないだけに与えるインパクトが大きい。

### 1. 頻度

ICSIでの受精障害の発生頻度を調査すると5.6% (100/1,779治療周期：ICSIを実施した周期)に認められた。初回のICSIでの受精率が0%であって、2回目のICSIで再度受精障害となるのは13%であった。全周期中での頻度は0.7%となった。

### 2. 媒精卵数と受精率の関係

媒精した卵の数別に受精障害例の発現頻度を調査したところ、媒精卵数が2個以内では受精障害の発生頻度が1個では29%、2個では16%であるが、3個以上では10%以下(3~9%)で、5個以上では5%となる。さらに、14個以上では0%であった。よって、媒精卵数を3~5個以上に設定することも受精障害のリスクを減らす、一つの工夫といえる。採取卵には約15%に未熟卵が含まれているので、目標とすべき採取卵数は4~6個となる。

### 3. 受精障害の原因と対応策

受精障害の原因としては卵活性化、脱凝縮、前核形成 DNA 合成および前核融合の異常などが考えられる。具体的に受精障害を起こす、あるいは起こすと予測される報告されている事象は精子が持っている卵活性化因子(sperm factor と呼ぶ)異常、DNAの断片化および紡錘体異常である。

#### 1) Sperm factor 異常

ICSI後の非受精卵をアセトオルセイン染色などのクロマチン染色法によって調べると、86%には精子が卵細胞内に確認できるにもかかわらず卵活性化が起きていなかった。そのような卵に妊孕能が確認されているボランティア精子をICSI(1 day old ICSI)すると、68.6%の受精率が得られた。つまり、卵活性化異常のおおかたの原因は精子側にあると予測される。そのような精子ではsperm factorが障害されていると考えられ、この障害を卵活性化法で補うのが、卵活性化法併用ICSIである。

#### 2) その他の異常

最近の報告では、受精不成立卵に卵側あるいは精子側のDNA断片化が多く(それぞれ25%)認められ、脱凝縮異常と関連づけがなされている。紡錘体異常についても成熟卵の約5%に欠損が認められ、受精障害の原因となる。しかし、これらの異常については対応策がない。

### 4. 卵活性化併用ICSI

卵活性化法は単為発生の研究、未熟卵を用いた受精の研究、未熟精子を用いた受精の研究などに古くから用いられ、正常産仔が多数得られ、畜産学では評価されている手法である。本稿ではヒトへの臨床応用がなされ妊娠例が存在する方法について紹介する。

#### 1) 種類と概要

##### ①カルシウムイオノフォア処理法

Hoshi et al.(1994)が妊娠分娩例を報告した<sup>2)</sup>。A23187の10 $\mu$ M処理液に卵を約10分間浸ける方法である。最近になって globozoospermia, 受精障害例などへの臨床報告が数編なされている。

##### ②電気刺激法

Yanagida et al.(1999)によって妊娠分娩例が報告された<sup>3)</sup>。2本の電極の間に卵を置き細胞融合装置で1個のパルス状直流電圧(電界強度：1.5kV/cm, 印加時間：100 $\mu$ sec)を印加する。33周期に実施し7例(21.2%)の妊娠例が得られた。その中で6例が正常児を分娩した。印加のタイミングはICSIの30~60分後であった。マウスモデルでは、ICSIの60分前に電気刺激を行ってからICSIを実施した場合に、精子染色体に異常が誘起され

る率が最も少なかった。至適タイミングの検討が必要である。

### 2) Assisted Activation

卵活性化法が活性化を補助するので、非受精障害例の ICSI に併用する (assisted activation) と受精率を増加させ、ひいては妊娠率を増加させるのではないかという考え方である。受精障害のリスクが増加する 2 個以下の ICSI で assisted activation を行ったところ、受精率の増加を認めたが、有意差なく、妊娠率においても差を認めず、結論としては有効性を認め得なかった。

### 3) Rescue Activation

Rescue ICSI と同じように 1 day old で受精不成立卵 (卵活性化していない) に卵活性化法を実施する方法である。自験では 52 例に実施し、78% の受精率を得、2 例の妊娠を得たが、すべて流産となった。IVF と同様に配偶子の劣化が問題になると思われた。

## 総 括

結論は以下ようになる。

### 1. IVF での受精障害

- 発現頻度：13.5%
- 再現率：29~40%
- 媒精卵数との関係：4 個以上で受精障害のリスクが低下
- 対応：受精障害を認めたら次回は ICSI を予定する
- Rescue ICSI の意義：実験・研究の域を出ない

### 2. ICSI での受精障害

- 発現頻度：5.6%
- 再現率：13%
- 採卵数との関係：3 個以上で受精障害のリスクが低下
- 対応：コンセンサスが得られた方法がない
- 受精障害例への Assisted Activation は有効
- 非受精障害例への Assisted Activation は無効
- Rescue Activation は無効

### 《参考文献》

- 1) Nagy ZP, Joris H, Liu J, Staessen C, Devroey P, Van Steirteghem AC. Intracytoplasmic single sperm injection of 1-day-old unfertilized human oocytes. Hum Reprod 1993 ; 8 : 2180—2184
- 2) Hoshi K, Yanagida K, Yazawa H, Katayose H, Sato A. Pregnancy and delivery after intracytoplasmic injection of an immobilized, killed spermatozoon into an oocyte. J Assist Reprod Gene 1994 ; 11 : 325—326
- 3) Yanagida K, Katayose H, Yazawa H, Kimura Y, Sato A, Yanagimachi H, Yanagimachi R. Successful fertilization and pregnancy after completely failed intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1999 ; 14 : 1307—1311