

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18190

研究課題名（和文）難治性不妊治療の臨床応用を目的とした雄性生殖細胞の改良法に関する研究

研究課題名（英文）Improving male germ cells for clinical application in refractory infertility treatment

研究代表者

岸田 和美（Kishida, Kazumi）

奈良県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：50582631

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では難治性不妊治療の改善を目的として(1)反復不成功例に対する治療方針の再考時期 (2)ヒト精子の先体損傷率と体外受精成績の影響について検討を行い、次の成果を得た。(1)ヒト体外受精による累積生児獲得率は年齢に関わらず4-5回で横這いとなり、6回目以降採卵を続けても生児および移植可能胚が得られないことが示された。(2)ヒト精子の先体損傷率が高率である場合、正常受精率、胚盤胞到達率に影響することが示された。今回の研究期間では精子の改善法について更なる検討ができなかったが、精子先体の機能を改善するための研究は体外受精による生児獲得率の向上に寄与すると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト体外受精において、生児を獲得できる治療回数を明らかにし、治療の再考時期を提示することができた。この成果により、終わりの見えない不妊治療において、今後の方針に悩む患者さんの意志決定や治療方針の再考を共に考える医療側の支援の導入につながると考えられる。また、ヒト精子先体の機能の改善は胚盤胞移植および生児獲得率の向上に寄与すると示唆される。

研究成果の概要（英文）：In this study, I investigated (1) the statistical significance of the relationship between the duration of treatment for patients who failed repeated ART, aiming to improve the treatment of refractory infertility. (2) I examined the acrosomal conditions of human ejaculated spermatozoa individual differences in the distribution of lectin staining among patients with infertility and examined their possible impact on the outcomes of conventional in vitro fertilization (IVF). The obtained results were listed below.

The results showed that the cumulative rate of IVF remained constant at 4~5 times, regardless of age. (2) It was shown that when the acrosome damage of human sperm is high, it affects the normal fertilization rate and the blastocyst attainment rate.

Therefore, further studies should investigate methods to improve the condition of sperm acrosomes, as this may contribute to the success of live births in patients undergoing repeated infertility treatments.

研究分野：Assisted Reproductive Technology

キーワード：難治性不妊治療 体外受精 胚発生 精子 ヒト

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 高度生殖補助医療 (Assisted Reproductive Technology; ART) は不妊症患者に児を得るという福音をもたらしたが、治療を通して必ず生児を得ることができるとは言いきれない。多くの ART 患者は希望をもって治療をされるが、女性に非生理的な量のホルモン剤を投与することや、採卵の痛み、採卵の後遺症など身体的な負担を伴う。また、時間的な拘束や高額な治療費の捻出、焦りや不安など大きなストレスを感じながら治療を続けている。ヒト不妊治療は精神的疾患の有病率が高くなる可能性も示唆されており、長期治療が必ずしも ART 患者にとって最善とは言えない可能性があると考えた。

(2) ヒト体外受精 (IVF) においては、胚の発育過程で大部分が変性し、胚盤胞移植に到達できない採卵周期が多数であることが問題として挙げられる。私はこれまでにヒト精子先体において IVF 成績を予測できる分子バイオマーカーとして有効である新規分子性状検査法を見出した (Kishida et al., Zygote. 2016; 24: 654-661.)。ヒト精子先体の機能について更なる検討により、IVF における生児獲得率の向上を目指せるのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、不妊治療の身体的・精神的負担の要因を軽減させるべく、ART治療の継続または治療方針を再考する時期について調査した。また、不妊要因と生児獲得率の影響について調べることを目的とした。

(2) ヒト精子先体の損傷率を FITC- peanut agglutinin /propidium iodide (PNA-PI) 染色法に従って調べ、従来の精液検査、精子断片化率 (DFI)、精子未熟率 (HDS) との関連を分析することを目的とした。さらに、ヒト精子先体の損傷が IVF での胚発生能に影響するか検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 対象患者

2015年1月から2020年12月までに当院で初回の採卵を開始した409症例1050周期を対象とした。研究目的(2)に対する検討患者は、13症例13周期を対象とした。

胚移植は同一周期に新鮮初期胚、または、ホルモン補充周期に凍結融解胚を用いた。採卵時に凍結可能胚を獲得できなかった周期も採卵周期に数え、最終受診日から1年以上の来院がない場合は治療打ち切りとした。新鮮初期胚、凍結融解胚を用いた胚移植の結果、生児を獲得した症例を生児獲得群、未妊娠および流産症例は非生児獲得群とした。累積生児獲得率は生児獲得症例数/治療開始時症例数とし、採卵回数毎に累積した。これらのデータを40才未満と40才以上に分けて解析した。

#### (2) 実験手法

以下の手法を用いて本研究を実施した。なお、手順の詳細については引用文献に記載されておりである。

➤ 精液性状検査 (Kishida et al., Zygote. 2016; 24: 654-661.)

- IVF方法およびIVF成績の比較(Kishida et al., Zygote. 2016; 24: 654-661.)
- FITC-PNA/PI染色法による精子先体の形態観察(Harayama et al., Mol Reprod Dev. 2010; 77:910-921.)
- 精子断片化率の測定(WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, Sixth Edition)  
精子クロマチン構造検査(SCSA)は株式会社北里検査センターに依頼した。

#### 4. 研究成果

##### (1-1) 累積生児獲得率と採卵回数との関係

40歳未満において生児獲得率は1回目の採卵で33.2%であり、2, 3回目と上昇し、4回目に49.8%に到達した。しかし、5回目以降、累積妊娠率は変わらず、横這いとなった。また、40歳以上の生児獲得率は12.5%であり、1回目5.8%、4回目で11.7%に到達し、その後横這いとなった。

このことから、累積生児獲得率は年齢に関わらず4~5回で横ばいとなり、6回目以降採卵を続けても生児獲得率は上がらなかった。

##### (1-2) 移植可能胚数と採卵回数との関係

累積生児獲得率が4~5回で横這いになる背景を探るために、移植可能胚数と採卵回数との関係を検討した。年齢によって獲得できる移植可能胚数に差異はあるが、双方ともに、採卵回数4回目から5回目で移植可能胚がほぼ得られなくなった。移植可能胚を確保できないことが、長期治療につながる結果となった。

##### (1-3) 累積治療中断率と採卵回数との関係

一方で、患者の治療に対する意識を探るために、累積治療中断率と採卵回数との関係について検討した。40歳未満に比べ、40歳以上においては、治療を中断する割合は大きいですが、累積中断率は年齢に関わらず6回程度で横ばいとなり、以降、治療の継続が散見された。

##### (1-4) 不妊要因と生児獲得率との関係

不妊要因は多岐に渡るが、とりわけ卵管因子、原因不明は生児を獲得しやすい結果となった。しかし、早発卵巢不全、高齢は生児を獲得しにくい結果となった。

40歳未満の早発卵巢不全や高齢は治療が長期化することにつながると示唆された。他方、男性因子は生児獲得率との関係に直接的な影響は認められなかった。

##### (2) 精子先体損傷率はPNA-PIの正常率によって 群(30%未満: 4症例)、 群(30~49%: 3症例)、

群(50%以上: 6症例)に分類できた。各群の先体損傷率と精液性状検査、DFIに有意差は認められなかった。しかし、IVF成績の比較では、3群間で正常受精率に有意差が認められ( $P < 0.05$ )、胚盤胞到達率( $p < 0.05$ )、良好胚盤胞到達率( $p < 0.01$ )は 群が有意に高くなった。一方、HDSは統計的な有意差は認められなかったものの3群間で傾向があり( $P < 0.07$ )、精子核が未熟な精子において先体の損傷率が高くなる傾向にあった。

以上より本研究では、IVFにおける累積妊娠率は、年齢に関わらず採卵回数4回目で横這いとなる一方で、約半数の患者が治療を継続し、移植可能胚を得られないことが長期治療につながる結果となった。また、不妊要因は生児獲得に影響を及ぼすことがわかった。本研究の結果を踏

まえて、当院において、ART 治療を継続または今後の方針を検討する時期は累積生児獲得率が横這いとなる採卵 4 回目を目途とし、治療を再考する必要があると考えられた。また、4 回を超えて ART を行う場合は、漫然とした ART の継続を行わず、ART 以外の選択肢を含めた今後の方針を提示する必要があると考えられた。

他方、精子先体損傷率は男性の生殖機能の評価において有用と考えられるが、ART 後の妊孕転帰の予測は更に検討する必要がある。今回の研究期間では雄性不妊症に対する治療法の改善について詳細な検討ができなかった。しかし、精子先体の状態を改善するための研究は、ART 反復不成功患者の生児獲得に寄与すると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 (ア)岸田和美, 辻俊一郎, 竹林明枝, 花田哲郎, 森宗愛菜, 北澤純, 伊津野美香, 村上節
2. 発表標題 反復ART不成功例に対する治療再考時期の検討
3. 学会等名 第63回日本卵子学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------