

# 当院における未受精卵子凍結の現状とその予後

○今井 和美、奥 裕嗣、永井 孝尚、金森 真希、山口 晶子、吉本 哲也

医療法人紀映会 レディースクリニック北浜



## 目的

未受精卵子凍結の社会的情勢が大きく変化をしている中、今後の課題として本法の安全性を確立する必要があると考えられる。卵子は胚と比較し凍結による影響を受けやすいと考えられるが、現在までに多くの報告はなく、現状報告を行うまでには経過年数が必要である。今回、当院で2015年より卵子凍結を開始して、9年経過後の採卵時の現状と、融解後の成績とその予後を報告する。

## 患者背景

未受精卵子凍結の適応の内訳は、社会的適応95例、採卵時精子採取不可2例であった。社会的適応における初診問診時の卵子凍結目的を図1に示した。未婚率は100% (95/95)で、パートナーありで婚姻予定がある5.3%(5/95)、未定94.7%(90/95)となり多くは未定であった。未定のうちパートナーありが22.2%(20/90)であった。採卵時平均年齢は38.8±3.0歳でその割合は、35歳未満6.2%(n=6)、35-39歳58.8%(n=57)、40歳以上35.0%(n=34)であった(図2)。AMH値は17.7±13.6pm/mlで、それぞれ年齢別に14.0±13.6pm/ml、21.2±14.2pm/ml、12.5±11.2pm/mlとなり、35~39歳と比較し40歳以上では有意に低かった。

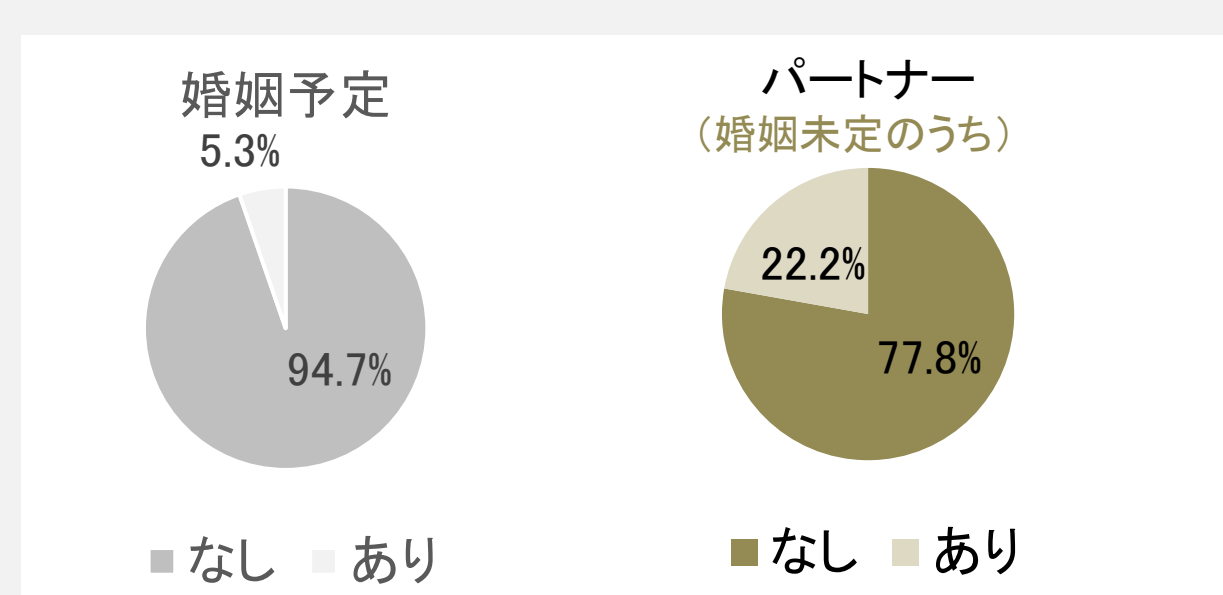


図1 未受精卵子凍結の目的

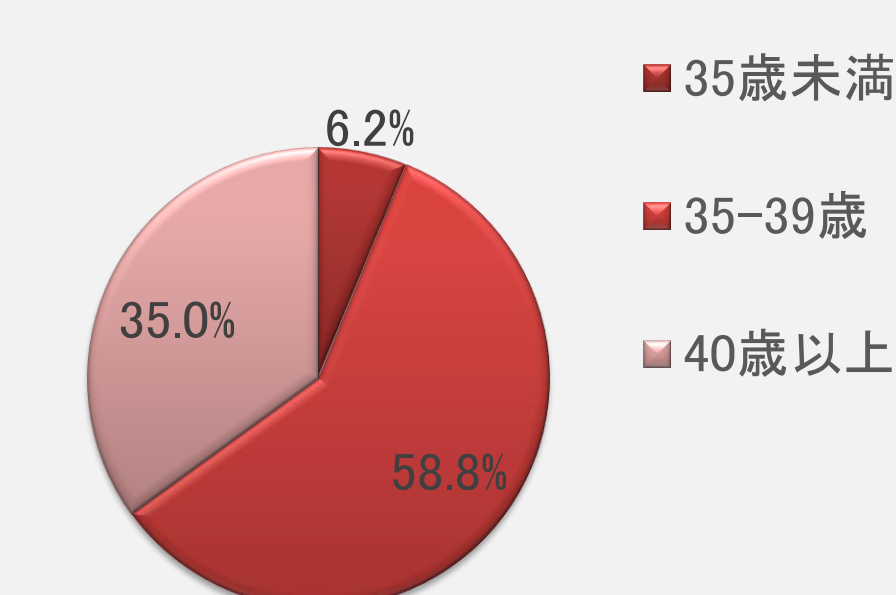


図2 年齢別患者割合

## 対象

2015年2月から2024年2月の9年間に、自然周期またはアンタゴニスト法にて採卵を行い、未受精卵子凍結保存した97症例171周期を対象とした。

## 方法

### 卵子凍結

Cryotec®(REPROLIFE®)を用いたVitrification法で行った。ESでの卵子平衡化時、体積が回復し置換完了を確認するため、凍結前に囲卵腔幅の確認を行い、透明帯との比率を記録した(図3)。VSでは脱水・収縮し、胚が浮き上がってこない2点を確認した。凍結保存はMIIのみとし、1本のデバイスに最大2個凍結保存を実施した。

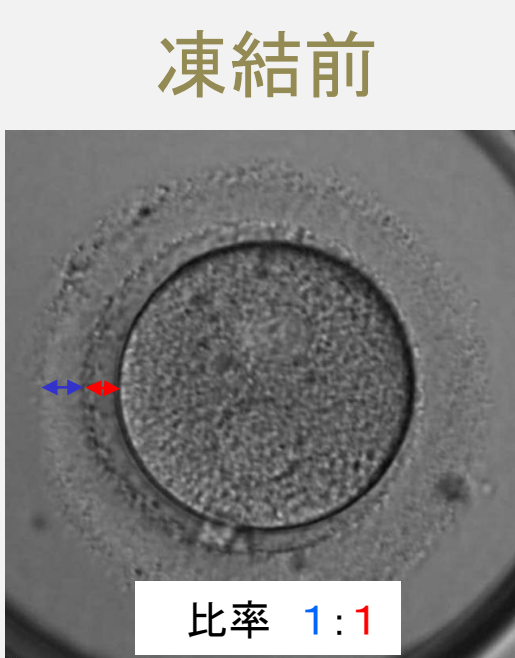


図3 囲卵腔と透明帯の比率

### 卵子融解

ホルモン補充周期Day12にて内膜厚を確認したのち、Day14でCryotec®にて卵子融解を実施した。融解する卵子個数は、周期あたり4個程度とした。融解後の生存確認はW1にて行った。

### 精子調整および顕微授精

ICSI開始時間に合わせ、精子処理が完了するよう採取し、密度勾配法とSwim-up法にて処理を行った。卵子を融解後、回復培養を2時間行い、Piezo-ICSIを用いてICSIを行った。細胞膜が脆弱な場合を考慮しより慎重に穿孔を行った。培養はICSI後からタイムラプスシステムを用いて観察を行った。ICSI終了時点で明らかに移植胚数に満たない場合は、追加融解を行い、同様に回復培養後ICSIを実施した。

### 胚移植

ICSI後翌日受精確認を行い、Day2胚移植を行った。移植後、余剰胚がある場合はDay2にて再凍結保存を行い、次周期以降に凍結融解胚移植を行った。

### 検討項目

- 検討① 年齢を35歳未満、35-39歳と40歳以上に分け、採卵回数、採卵数と貯卵数の検討
- 検討② 2016年1月から2024年2月に卵子を融解後、Piezo-ICSIを実施し、ホルモン補充周期にてDay2胚移植を行った12症例36周期を対象とし、利用率、凍結時年齢、凍結期間、融解年齢、生存率、正常受精率、変性率とDay2良好胚率(veek分類G2以上)の検討
- 検討③ 凍結融解胚移植の成績と生児獲得症例と非獲得症例におけるパラメーターの後方視的な比較検討  
検定はχ<sup>2</sup>乗検定およびt検定で行い、<0.05を有意差ありとした

## 結果

【結果①】採卵回数1.9±1.3回、採卵数7.4±5.5個であった。貯卵数は11.1±7.4個となり6-10個で最多であった(図4)。年齢別では、35歳未満、35-39歳と40歳以上それぞれ採卵数7.4±3.4個、9.0±6.2個、5.3±4.0個、貯卵数9.8±11.7個、12.4±6.6個、8.9±7.5個、採卵回数1.7±1.1個、1.7±1.1個、2.1±1.4個、であった。35~39歳と比較して40歳以上では、採卵数は有意に少なく採卵回数が有意に多くなったが、最終的に貯卵数は有意に少ない結果となった(図5)。

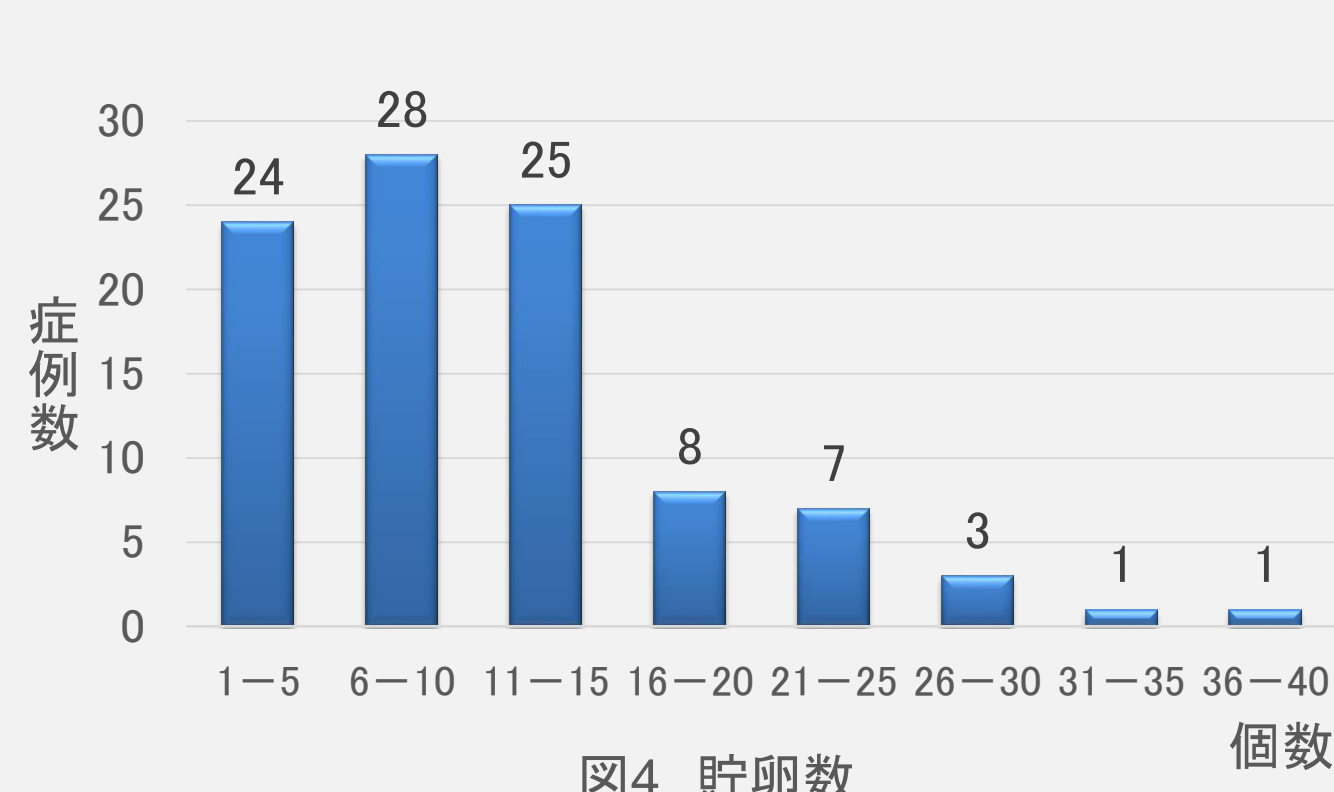


図4 貯卵数

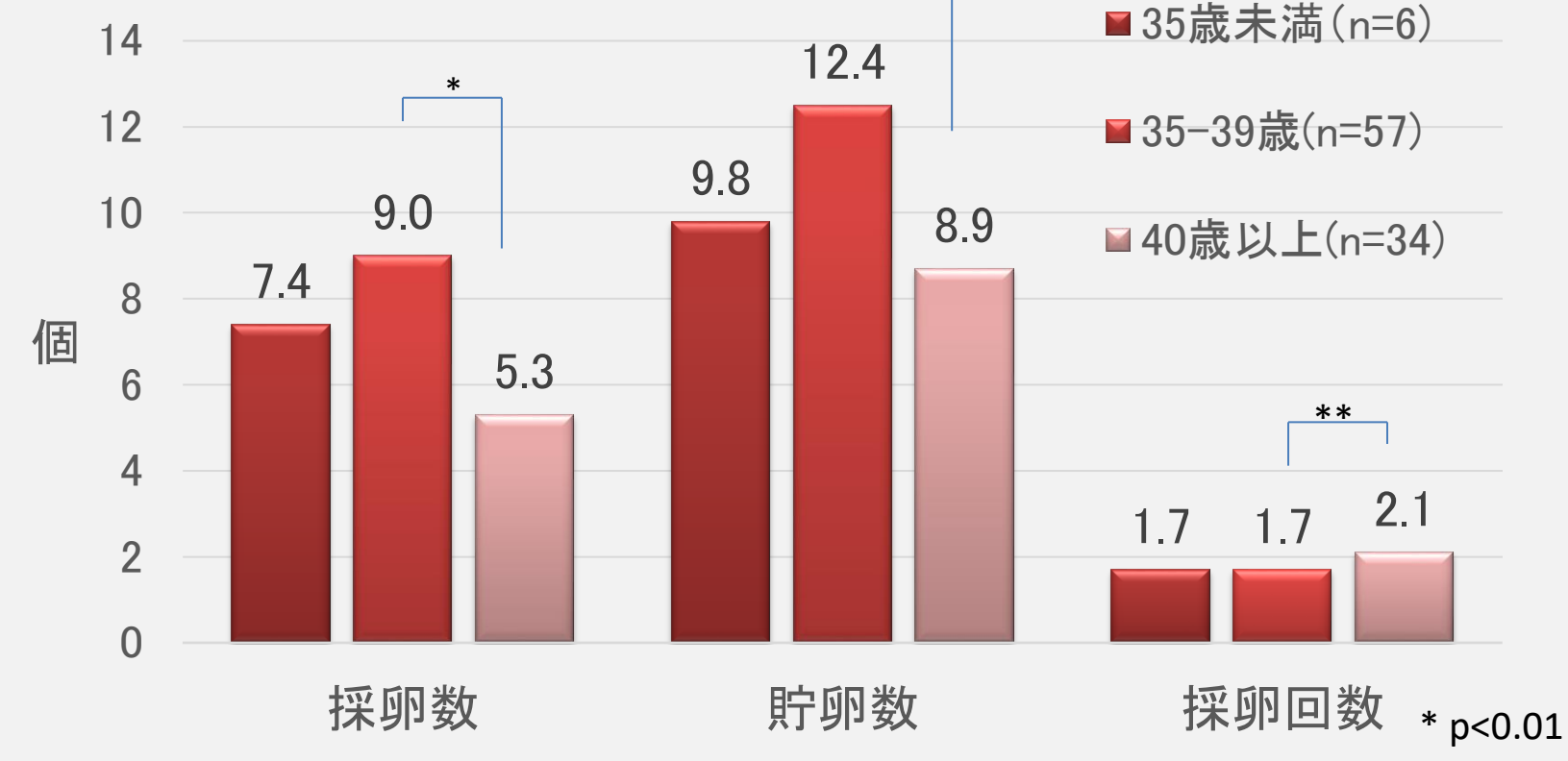


図5 年齢別成績

【結果②】他院へ未受精卵子を移送した症例を除いた93症例のうち、12症例36周期が卵子を融解しIVFを実施した。卵子利用率は12.9%(12/93)であった。凍結時年齢38.7±2.8歳、凍結期間3.4±1.5年、融解時年齢41.9±1.8歳であった。融解後生存率94.9%(94/99)、正常受精率67.0%(63/94)、変性率12.8%(12/94)、D2良好胚率54.0%(34/63)であった(図6)。

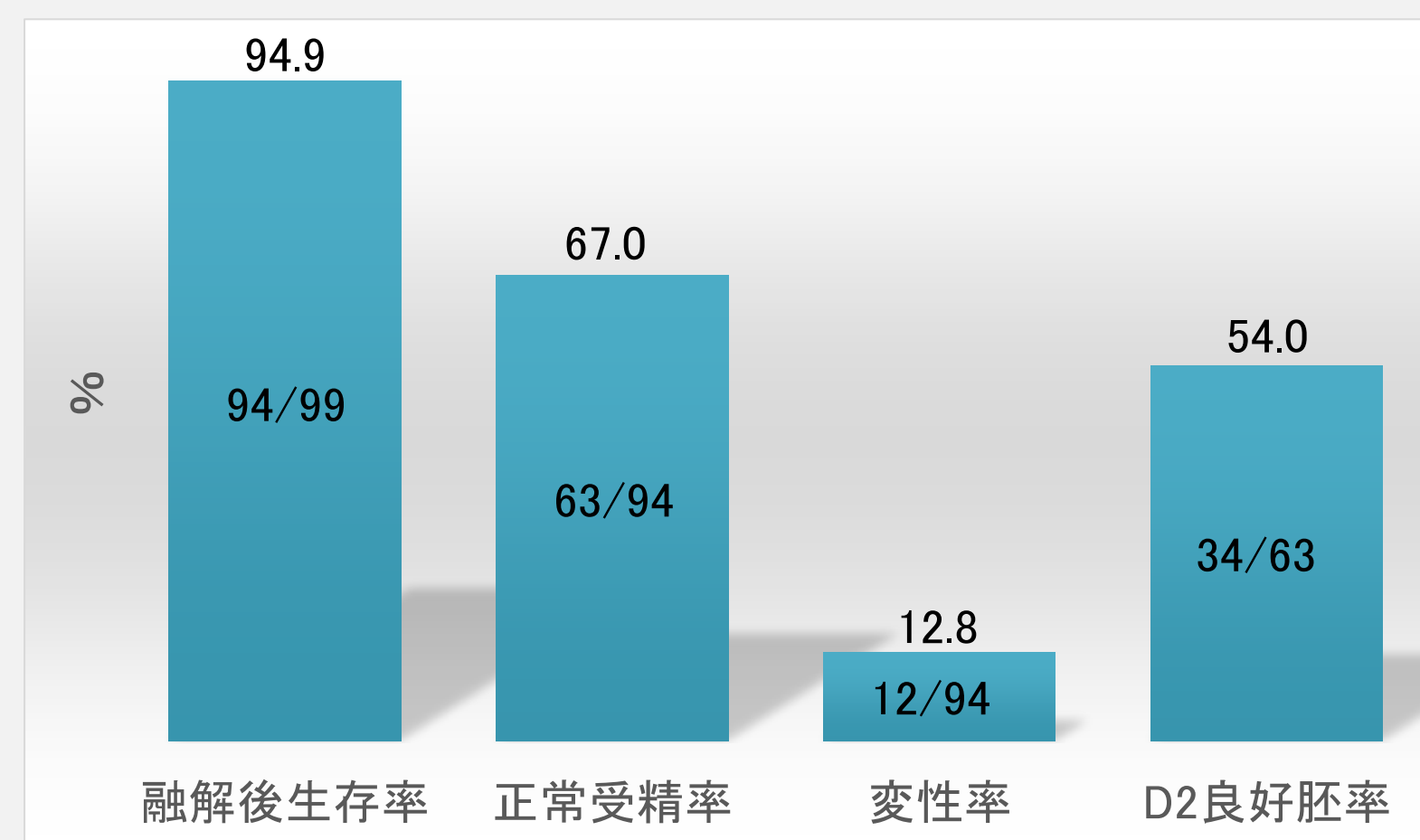


図6 融解成績

【結果③】12症例36周期の移植回数は3.1±1.3回、移植胚数1.7±0.5個であった。胚移植キャンセル周期は認めなかった。臨床妊娠率(胎囊確認)25.0%(9/36)、流産率33.3%(3/9)となり、生産率66.7%(6/9)で、4症例が出産に至り、児の異常は認めていない。出産した1症例は2回移植、双胎含む3子出産に至った。年齢別では35-39歳と40歳以上で着床率16.7%(1/6)、16.7%(9/54)、臨床妊娠率33.3%(1/3)、24.2%(8/33)、流産率0.0%(0/1)、37.5%(3/8)、生産率100.0%(1/1)、62.5%(5/8)なり、すべてにおいて有意差はなかった。35歳未満で胚移植した症例はいなかった(図7)。採卵時の年齢は38.3±1.2歳、38.4±1.5歳で凍結年齢に差はなかった。

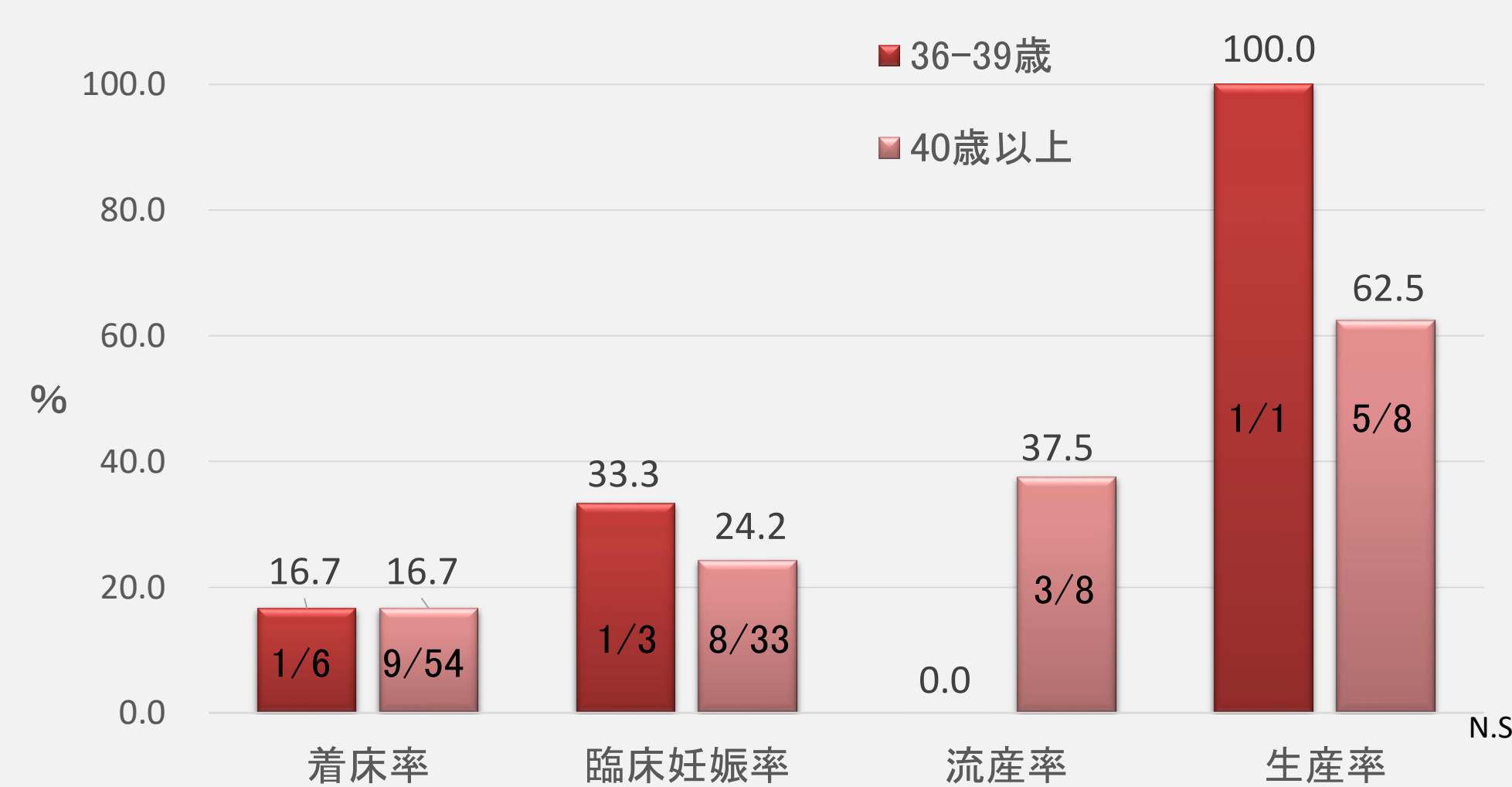


図7 融解時年齢別の臨床成績

生児獲得症例4症例と非獲得症例8症例それぞれの凍結時年齢37.5±1.0歳、39.4±1.8歳、融解時年齢41.9±1.9歳、41.9±1.9歳、保管期間4.2±1.2年、2.9±1.4年、貯卵数20.0±8.1個、8.4±5.1個、Day2良好胚率78.3%(18/23)、40.0%(16/40)、移植胚数1.6±0.5個、1.7±0.6個、移植回数3.3±1.0回、3.0±1.4回であった(表1)。生児獲得した症例が早くに凍結を開始しており、貯卵数は有意に多く、Day2良好胚率においても有意に高かった。生児獲得に至らなかった全例が卵子をすべて融解し、未受精卵子による治療を終了した。

表1 生児獲得症例と非獲得症例との比較検討

	生児獲得	非獲得	P値
症例数(n)	4	8	
周期数(n)	12	24	
凍結時年齢(歳)	37.5±1.0	39.4±1.8	<0.05
融解時年齢(歳)	41.9±1.9	41.9±1.9	N.S.
保管期間(年)	4.2±1.2	2.9±1.4	<0.01
貯卵数(個)	20.0±8.1	8.4±5.1	<0.01
Day2良好胚率(%)	78.3(18/23)	40.0(16/40)	<0.01
移植胚数(個)	1.6±0.5	1.7±0.6	N.S.
移植回数(回)	3.3±1.0	3.0±1.4	N.S.

## まとめ

- 本法における未受精卵子の生存率は94.9%であり、児の予後についても異常は認めなかった
- 採卵時40歳以上では採卵数の低下を認め、それに伴い採卵回数が増加した。しかし、採卵回数が増加したにも関わらず貯卵数の低下を認めた
- 移植時年齢が40歳以上でも36~39歳と比較して同等の妊娠率が得られた
- 生児獲得症例と非獲得症例を比較検討した結果、凍結時年齢、貯卵数およびDay2良好胚率に有意差が認められた

## 考察

- 未受精凍結は安全で確立された方法である可能性が示唆された。未受精卵子は水分含量が多く凍結時の氷晶形成が起こりやすいと考えられるため、今後も引き続き温度、時間と液量を厳守し、平衡化時の体積変化に十分気をつけ、操作を正確に行うことが重要である。
- 凍結時年齢が重要であることは明らかで、早期に未受精卵子凍結を行うことにより、貯卵数の増加および融解後の成績につながると考えられた
- 生児獲得症例と非獲得症例の検討から、有用性を考えると37歳をめどに20個程度貯卵することが結果的に、良好胚を確保し胚移植の機会を増やすことに繋がると考えられた。一方で事前に目標の貯卵数を患者に示しているが、採卵における身体的・精神的負担また費用面での負担により、目標以下で貯卵を終了する患者がいたことが推察された
- 未受精卵子による治療は12症例であり未だ十分な症例数とはいえない。今後さらなる症例の蓄積とその予後についての検討を続け、その有用性を確認していきたい