

氏名・(本籍)	ひだか なお み (鹿児島県)			
学位の種類	博士 (医学)			
報告番号	甲第1551号			
学位授与の日付	平成27年3月24日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 (課程博士)			
学位論文題目	抗セントロメア抗体が卵および胚に及ぼす影響			
論文審査委員	(主査)	福岡大学	教授	宮本新吾
	(副査)	福岡大学	教授	白澤専二
		福岡大学	教授	中島 衡
		福岡大学	准教授	吉里俊幸

## 内容の要旨

自己抗体、特に抗核抗体 (antinuclear antibodies : ANA) と不妊の関係が近年報告されている。ANA の1つである CREST 症候群に特徴的な抗セントロメア抗体 (antacentromere antibodies : ACA) と不妊との関係を調べるため、生殖補助医療 (ART) 症例を ACA 陽性患者 (ANA+/ACA+ : AC 群 n=19)、ACA 以外の ANA 陽性患者 (ANA+/ACA- : AN 群 n=59)、ANA 陰性患者 (コントロール ACA-/ANA- : C 群 n=100) の3群に分け、卵の成熟度、正常受精率、多前核胚出現率、胚分割率を後方視的に調査した。IVF (in vitro fertilization) では、AC 群で正常受精率が有意に低く、多前核胚出現率が有意に高かった。分割率は AC 群及び AN 群で低い傾向にあった。ICSI (intracytoplasmic sperm injection) では AC 群で GV (germinal vesicle) 率及び MI (metaphase I) 率が有意に高く、MII (metaphase II) 率は有意に低かった。正常受精率及び分割率は AC 群で有意に低く、多前核胚出現率は有意に高かった。以上より、ACA が卵の体内での成熟及び胚の体外での発生に負の影響を及ぼしていることが示唆された。

## 審査の結果の要旨

本論文は、不妊患者の中で、抗セントロメア抗体陽性患者が生殖補助医療技術 (Assisted Reproductive technology : ART) の成績が不良である事の背景について臨床的に解析したものである。

近年自己抗体、特に抗核抗体 (antinuclear antibodies : ANA) と不妊の関係が報告されている。ANA の1つである CREST 症候群に特徴的な抗セントロメア抗体 (antacentromere antibodies : ACA) と不妊との関係を調べるため、生殖補助医療 (ART) 症例を ACA 陽性患者 (ANA+/ACA+ : AC 群 n=19)、ACA 以外の ANA 陽性患者 (ANA+/ACA- : AN 群 n=59)、ANA 陰性患者 (コントロール ACA-/ANA- : C 群 n=100) の3群に分け、卵の成熟度、正常受精率、多前核胚出現率、胚分割率を後方視的に調査した。IVF (in vitro fertilization) では、AC 群で正常受精率が有意に低く、多前核胚出現率が有

意に高かった。分割率はAC群及びAN群で低い傾向にあった。ICSI (intracytoplasmic sperm injection) ではAC群でGV (germinal vesicle) 率及びMI (metaphase I) 率が有意に高く、MII (metaphase II) 率は有意に低かった。正常受精率及び分割率はAC群で有意に低く、多前核胚出現率は有意に高かった。以上より、ACAが卵の体内での成熟及び胚の体外での発生に負の影響を及ぼしていることが示唆された。

## 1. 斬新さ

ART不成功の原因と考えられるものとして、子宮因子や男性因子、原因不明な因子であるが、その中で最も治療が困難なのは、原因不明の中でも、特に卵に問題がある場合である。卵については未解決の部分が多く残されており、具体的に何が傷害されているかは評価できていない。このようななかで、我々のグループは、2011年に、膠原病でもないのに、抗セントロメア抗体陽性の患者がおり、そのグループではART成績が悪い事を、世界で始めて報告している。そこで、今回は抗セントロメア抗体陽性例では、卵にどのような影響があるのかを詳細に評価し、今後、治療法の確立につなげたいと考え、研究を開始した。

## 2. 重要性

近年、女性の社会進出にともない、晩婚化がすすみ、高齢妊娠が増加している。女性は30歳を超えると、妊娠率が低下し、流産率が増加する。このため、いざ子供が欲しいと思ったときには不妊になっているというケースが少なくない。そのような現状の中で、最も重度の不妊患者に対する治療法であるARTによって出生する児は年々増加し続け、この30年間に体外受精児が34万人誕生しており、一昨年には、総出生数の27人に1人が体外受精児であった。しかし、実際には体外受精の妊娠率は20-30%で決して高くない。ART治療周期数は年間30万件に達しており、20年以上、出生児数の約10倍の数のART治療が行われている。したがって、今、ART不成功例についてその原因をもう一度見直すことが必要な時代になってきた。

## 3. 研究方法の正確性

採卵、受精、胚培養は確立された技法で施行しており、研究対象も採卵の成績に最も影響を及ぼす年齢、及び代謝性疾患を除くためBMIでマッチングし抽出している。統計学処理にはKruskal-Wallis検定、Tukey-Kramer法、 $\chi^2$ 検定が適切に用いられている。本研究は後方視的研究である。臨床的データであり、卵、胚培養の結果も培養士によるダブルチェック、及びメディカルコーディネーターによるチェック、毎朝の培養士と医師とのカンファレンスでさらにチェックしており、適切に行われている。

## 4. 表現の明確さ

まず、現在の不妊治療の現状を提示した上で、今問題となっている体外受精の問題点から本研究に至った経緯を明確に記載している。研究方法も排卵誘剤の投与方法や体外受精、顕微受精の施行手順、卵や胚の評価法も明確に記載しており、本研究の目的、方法、結果については明確かつ詳細に表現されている。

## 5. 主な質疑応答

(1) Q: 抗セントロメア抗体陽性患者では卵子形成の時点でうまくいっていないが、抗セントロメア抗体がどう影響しているのか?

A: 今回、病因にまでは踏み込んでいないが、抗セントロメア抗体がダイレクトに作用しているの

か、ただのマーカーに過ぎないのか不明である。卵の周囲は無血管であるが、卵胞液中の抗体を測定する事で何か手がかりがつかめるかもしれない。

(2) Q: 30歳以上では、実際染色体異常の出現は多いのか？

A: 流産処置した絨毛を染色体検査すると、実際加齢とともに染色体異常の出現は増えている。

(3) Q: 一般的な女性の抗セントロメア抗体の出現率は？

A: 計算上は、約4000人に一人の割合。

(4) Q: 今回IVFとICSI両方検討した意義は？

A: IVFも検討する事で、受精に問題がある受精障害が多いのかが分かる。

(5) Q: 抗核抗体の中でも、抗リン脂質抗体陽性ではどうか？

A: 今回、抗リン脂質抗体陽性は除外しているが、この場合妊娠はするが、流産が多い。

(6) Q: 抗核抗体陽性例での実際の治療法は？

A: 確立した治療法はなく、試験的に抗体価を下げるためにステロイドを使用したり、着床障害の血流改善を測り低用量アスピリンを使用している。

(7) Q: 男性因子による影響は？

A: 今回は男性の年齢等は検討していない。現在別の研究で、精子のDNAの損傷についての研究をしており、それも組み合わせて検討する事でさらに分かる事があるかもしれないと考えている。

(8) Q: 抗セントロメア抗体に注目した理由は？

A: ART施行前に必ず抗核抗体を測定するが、その際他のtypeと比べ、セントロメア型において明らかに多前核胚が多く、多前核でも、ほとんどが3PNであったのに対し、抗セントロメア抗体陽性では、6~7PNと圧倒的に前核の数が多かったので着目した。

(9) Q: 抗セントロメア抗体の抗体価や年齢による違いは？

A: 抗体価の違いには影響は認めなかった。やはり年齢が上がるにつれART成績は悪かった。

(10) Q: 採卵はどのようにするのか？

A: 経膈エコーガイド下に、モニターを見ながら、卵胞液ごと穿刺吸引して採卵する。

以上、本内容の斬新さ、重要性、研究方法の正確性、表現の明確さ、及び質疑応答の結果を踏まえ、審査員での討議の結果、本論文は学位論文に値すると評価された。