

採卵当日の血清 progesterone 値と 体外受精の妊娠成績について

池田真妃, 尾上洋樹, 熊谷 仁, 馬場 長

岩手医科大学医学部, 産婦人科学講座

(Received on December 20, 2018 & Accepted on January 17, 2019)

要旨

体外受精 (in vitro fertilization; IVF) 採卵周期における premature luteinization (PL) は新鮮胚移植の妊娠率を低下させる. human chorionic gonadotropin (hCG) 投与日の血清 progesterone 値 [P4 (hCG)] を PL の指標とし, 新鮮胚移植の妊娠率を予測する試みがあるが, 実臨床では hCG 投与日の測定は容易ではない. そこで, 採卵当日の血清 P4 値 [P (Oocyte Pick Up; OPU)] と妊娠成績との関係について検討した. 2012 年 2 月から 2017 年 10 月の間に gonadotropin releasing hormone agonist 法を用い conventional IVF を施行した 152 症例 230 周期を対象とした. 本

研究では P4 (OPU) と血清 estradiol 値, 採卵数, 2 pronuclear 発生率, P4 (OPU) と妊娠の関係について検討した. その結果, P4 (OPU) が 12 ng/ml 未満の群の新鮮胚移植における妊娠率は 18.1%, 12 ng/ml 以上の群の妊娠率は 6.3% と 10% 以上の差を認めた. 一方, 凍結解凍胚移植では P4 (OPU) の高低による妊娠率には差を認めなかった. P4 (hCG) でも同様の結果が得られており, P4 (OPU) は「受精卵の質」ではなく, 「子宮内膜への作用」を反映する指標として新鮮胚移植の可否を判断し得ることが示唆された.

Key words : pregnancy rate, progesterone, cIVF, premature luteinization

I. 緒 言

in vitro fertilization (IVF) により得られた受精卵は, ①新鮮胚移植②凍結解凍胚移植の 2 種類の方法により子宮内に移植される. 新鮮胚移植とは採卵周期にそのまま胚移植をする方法で, 凍結解凍胚移植とは一旦胚を凍結保存して, 採卵周期以降の後続周期に子宮内膜を調整して移植する方法である. 以前は新鮮胚移植が主流であったが, 胚凍結技術が確立後, 多胎や卵巣過剰刺激症候群の回避の有用性から, 2015 年の本邦の統計では体外受精での出生数の約

80% を凍結解凍胚移植が占めている¹⁾.

IVF-embryo transfer (ET) のための卵巣刺激周期において gonadotropin releasing hormone (GnRH) agonist の投与は早発 luteinizing hormone (LH) サージの抑制に効果をもたらしている²⁾. しかし, 卵胞期に血清 progesterone (P4) 濃度が軽度上昇する周期が 12-38% ほど存在し, その周期では妊娠率が低下することが明らかとなった^{3,4)}. それ以降, IVF-ET 周期の様々なタイミングにおける P4 濃度と妊娠率との関係が検討されてきた. 本来 P4 濃度は排卵後に上昇すべきであるが, 排卵前に P4 値が上昇する現象を premature luteinization (PL) といい, P4 (hCG) > 1.5

Corresponding author: Maki Ikeda
ikedama@iwate-med.ac.jp

ng/ml がその判断基準となっている^{5,8)}. 一方, 排卵日以降に P4 濃度が上昇する現象は mature luteinization (ML) である.

受精卵が子宮内膜に着床するには最適の時期があり, 少しでもずれていると着床が難しくなる. その時期は, 排卵直前に LH が大量に分泌される LH サージ後 6~8 日間と推定され, 『implantation window』と呼ばれている. implantation window は P4 依存性であり, P4 濃度が一定レベルを超えると子宮内膜で胚受容を可能とする分子の発現が開始される. PL により implantation window のズレが生じ, 新鮮胚移植の妊娠率が低下する, と考えられている⁹⁾. これまで卵胞期の P4 値上昇と妊娠率との関連については議論があったが, 現在は human chorionic gonadotropin (hCG) 投与日の P4 値を用い妊娠率への影響を検討する傾向にあり, メタアナリシス解析では, 採卵前の P4 値上昇は IVF の妊娠率低下につながると結論づけられている¹⁰⁾. また, 前述のメタアナリシスの結果から estradiol (E2) 高値, 卵胞数が多い, 採卵数が多い, といった卵巣の反応が良好な場合には P4 値が高くなる傾向があり, 新鮮胚移植での妊娠率に影響を及ぼす可能性が高い. 一方, 卵子の質への影響はなく, 凍結胚移植による妊娠率へは影響を与えないことが報告されている¹⁰⁾.

当施設では現在, hCG 投与日 P4 値 [P4 (hCG)] および採卵当日 P4 値 [P4 (oocyte pick up, OPU)] を測定している. しかし, 今後 recombinant hCG の自己注射による投与を導入予定であり, hCG 投与日の採血を全例に実施することが出来なくなると予想される. そこで本研究では, P4 (OPU) と血中 E2 値, 採卵数, 雌雄前核 (2 prenuclear, 2PN) 発生率と妊娠率を検討し, P4 (OPU) と新鮮胚移植による妊娠率, および P4 (OPU) と凍結解凍胚移植の妊娠率の関連を明らかにすることを目的とした.

II. 研究方法

2012 年 2 月から 2016 年 10 月までの間に岩手医科大学産婦人科外来を受診した不妊患者のうち conventional IVF (cIVF) を施行された 152 症例 230 周期を対象とした. なお, 女性年齢 40 歳以上と顕微授精の適応となる重症男性因子をもつ患者は対象から除外した. 卵巣刺激法は long protocol では高温相 5-7 日目の黄体中期より, short protocol では月経 2 日目より GnRH agonist (900 μ g/day 鼻腔内投与) を開始し, hCG 投与日まで使用した. 月経 3 日目より recombinant FSH (ゴナールエフ皮下注ペン, Merck Serono S.A., スイス) 150-225 単位を自己注射により投与し, 経膈超音波診断装置 (ソノビスタ C3000, 持田シーメンス, 東京) を用いて卵胞発育のモニタリングを行い, 平均卵胞径 18 mm 程度となったところで hCG (HCG[®], 持田製薬, 東京) 10,000 単位を筋注し, 34~35 時間後に採卵した. 正常受精の判定は, 媒精後 18 時間経過した段階でパスツールピペットを用いて卵丘細胞を除去し, 2PN を確認できた場合を受精と判定した. 妊娠 5 週の時点で子宮内に胎嚢を認めた場合のみを臨床的妊娠と判定した. P4 (hCG) と E2 値は hCG 投与前に測定し, P4 (OPU) と E2 値は採卵直前に測定した. P4 値と各種パラメーター (E2 値, 採卵数, 2PN 発生率等) との関係について検討した. 有意差検定は spearman の順位相関係数行列においては順位相関係数の検定, その他においては χ 二乗検定を用い, $p < 0.05$ をもって有意差ありとした.

本研究は岩手医科大学医学部倫理委員会の審査において承認を得ている (H29-184).

III. 結果

対象患者の背景を表 1 に示す. 対象患者年齢の中央値は 36 歳であり, 原発性不妊が 60.9% と続発性不妊が 39.1% であった. 対象患者の不妊原因は卵管因子 (卵管閉塞・卵管留水腫な

表 1. 患者背景

女性年齢 (中央値)	36.0 歳
卵管因子	109/230 周期 (47.4%)
原因不明	57/230 周期 (24.8%)
子宮内膜症	30/230 周期 (13.0%)
子宮因子	21/230 周期 (9.1%)
卵巣因子	13/230 周期 (5.7%)

表 2. P (hCG) および P (OPU) の平均値, IVF 治療成績

P4 (hCG) 平均値	0.75 ng/ml (0.2-2.1)
P4 (OPU) 平均値	7.12 ng/ml (0.9-35.8)
新鮮胚移植あたりの妊娠率	16.9% (28/165)
採卵あたりの妊娠率	26.1% (60/230)

P4 (hCG): hCG 投与日の血清 progesterone 値

P4 (OPU): OPU 当日の血清 progesterone 値

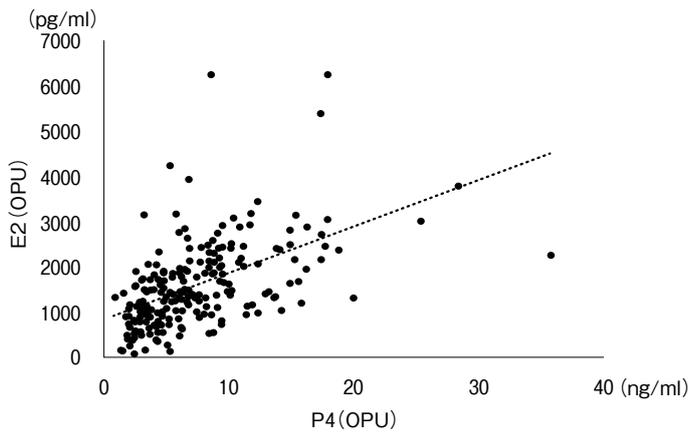


図 1. P4 (OPU) と E2 値の関係

各採卵周期の P4 (OPU) を横軸に E2 値を縦軸にプロットしたグラフを示す。

E2, 血清 estradiol 値; P4, 血清 progesterone 値; OPU, oocyte pick up

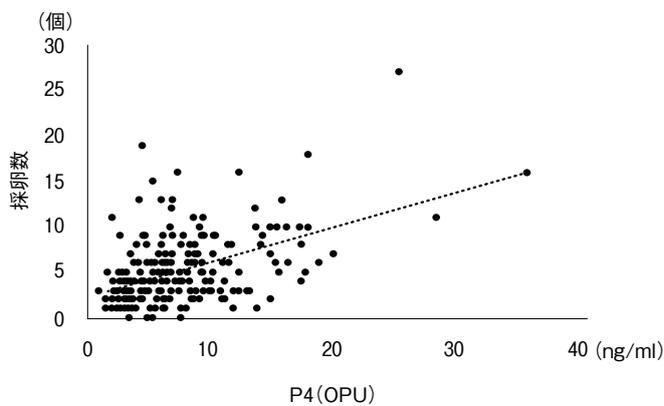


図 2. P4 (OPU) と採卵数の関係

各採卵周期の P4 (OPU) を横軸に採卵数を縦軸にプロットしたグラフを示す。

P4, 血清 progesterone 値; OPU, oocyte pick up

ど) が 47.4% でもっとも多く, 次いで原因不明 24.8%, 子宮内膜症 13.0%, 子宮因子 (子宮筋腫・子宮腺筋症・子宮奇形など) 9.1%, 卵巣因子 (多嚢胞性卵巣症候群など) 5.7% の順であった。対象採卵周期の卵巣刺激法は long protocol が 26.5%, short protocol が 73.5% であった。

P4 (hCG) の平均は 0.75 ng/ml, P4 (OPU) の平均は 7.12 ng/ml, 新鮮胚移植の妊娠率は 16.9%, 凍結胚移植の妊娠率は 33.8% (26/77), および新鮮胚移植および凍結胚移植を含めた採卵あたりの妊娠率は 26.1% であった (表 2)。

各採卵周期の P4 (OPU) と E2 値をプロットしたグラフにおいて P4 (hCG) に関する従来の報告と同様に P4 (OPU) と E2 値の間には相関係数 $r = 0.61$ で有意な相関性が認められた ($p < 0.05$) (図 1)。

各採卵周期の P4 (OPU) と採卵数の関係をプロットしたグラフにおいて P4 (hCG) に関する従来の報告と同様に P4 (OPU) と採卵数の間には相関係数 $r = 0.43$ で有意な相関性が認められた ($p < 0.05$) (図 2)。

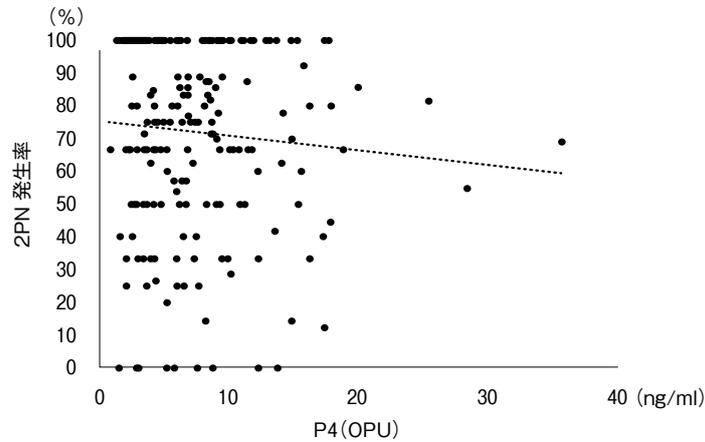


図3. P4 (OPU) と2PN 発生率の関係

各採卵周期のP4 (OPU) を横軸に2PN 発生率を縦軸にプロットしたグラフを示す。
P4, 血清 progesterone 値; OPU, oocyte pick up; 2PN, 2 prenuclear

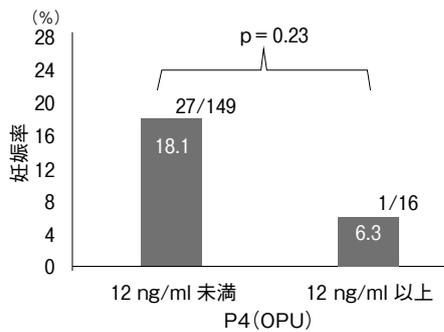


図4. P4 (OPU) と新鮮胚移植による妊娠率

P4 (OPU) 12 ng/ml 未満の群と12 ng/ml 以上の群における新鮮胚移植による妊娠率を示す。

P4, 血清 progesterone 値; OPU, oocyte pick up

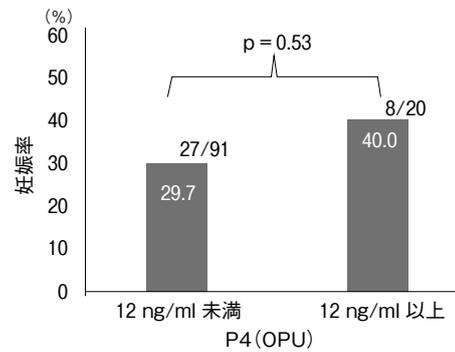


図5. P4 (OPU) と凍結胚移植による妊娠率

P4 (OPU) 12 ng/ml 未満の群と12 ng/ml 以上の群における凍結胚移植による妊娠率を示す。

P4, 血清 progesterone 値; OPU, oocyte pick up

各採卵周期のP4 (OPU) と2PN 発生率の関係をプロットしたグラフにおいてP4 (OPU) と2PN 発生率の間には相関係数 $r = -0.09$ で相関性は認めなかった ($p = 0.13$) (図3)。

P4 (OPU) が12 ng/ml 未満の群と12 ng/ml 以上の群における新鮮胚移植による妊娠率を図4に示す。これまでの報告でP4 (OPU) が12 ng/ml 以上で新鮮胚移植の妊娠率が低下すると報告されていることから、P4 (OPU) が12 ng/ml 未満の群と12 ng/ml 以上の群における新鮮胚移植による妊娠率を検討した。

12 ng/ml 未満の群の妊娠率は18.1% および12 ng/ml 以上の群の妊娠率は6.3%であり、P4 (OPU) 12 ng/ml 以上の群で妊娠率が低下する傾向を認めた ($p = 0.23$) (図4)。

P4 (OPU) 12 ng/ml 未満の群と12 ng/ml 以上の群における凍結胚移植の妊娠率を示したグラフにおいて12 ng/ml 未満の群の妊娠率は29.7% および12 ng/ml 以上の群の妊娠率は40.0%であり、12 ng/ml 以上の群は12 ng/ml 未満の群とくらべて高い妊娠率を示した (図5)。

IV. 考 察

自然周期における卵胞期, FSH の作用により顆粒膜細胞と莖膜細胞は cholesterol を材料に P4 を合成し, さらにそれを原料に E2 を合成している. 卵胞期にも P4 合成は行われているが, FSH の作用により E2 に代謝されるため, 卵胞期の P4 濃度は通常 1.5 ng/ml 以下である¹¹⁾. しかし, GnRH agonist を用いた体外受精・胚移植のための卵巣刺激周期では顆粒膜細胞および莖膜細胞の数が, 自然周期に比べて著しく多くなるため, 卵胞期にも関わらず多量の P4 が合成され, E2 合成に対し過剰となった P4 が血液中に放出され PL が起きると考えられている¹²⁻¹⁵⁾. これまで採卵周期の PL と妊娠率との関係については議論があったが, P4 (hCG) を用いたメタアナリシス解析¹⁰⁾の結果, PL は体外受精の妊娠率低下につながると結論づけられている.

当院では現状 hCG 投与日と採卵当日の 2 点で P4 値および E2 値を測定しているが, 今後, 新薬である recombinant hCG の自己注射を導入した場合, hCG 投与日の採血検査が全例にできなくなると想定している. そこで, 一般に PL の指標として用いられてきた P4 (hCG) に代わり, P4 (OPU) でも評価可能かを検討した. 加えて, P4 (hCG) は採卵時間が一定しておらず 24 時間以内の範囲でばらつきを認めたが, P4 (OPU) は hCG 投与後約 34 時間後に採血できるため, 症例間のばらつきをなくすることができると考えた. P4 (hCG) は PL を反映する値であり, つまり hCG 投与前の卵子成熟前のホルモン環境を示す. 一方, P4 (OPU) は ML を反映し, 卵成熟後のホルモン環境を示す. この研究は ML を反映する P4 (OPU) が新鮮胚移植の妊娠率に与える影響を同一周期の P4 (hCG) と比較する事に加え, その周期の凍結胚解凍移植を含めた妊娠率への影響を検討した本邦における初めての研究である.

P4 (OPU) と E2 値および採卵数の間には,

それぞれ正の相関を認めた ($p < 0.05$). この結果は卵巣機能が良好な症例は卵巣刺激により複数の卵胞が発育し, その莖膜細胞からの P4 分泌が増加し PL を引き起こすという従来の報告に矛盾しない. 一方, P4 (OPU) と 2PN 発生率との間に有意な相関は認めなかった ($p = 0.13$). 血中 P4 値に比例し, 採卵数および 2PN 発生数はともに増加するが, 2PN 発生率には影響しない. この結果から P4 (OPU) は受精へ影響しないことが示唆された.

P4 (OPU) が 12 ng/ml 未満の群の妊娠率は 18.1%, 12 ng/ml 以上の群の妊娠率は 6.3% であり, P4 (OPU) が高値になると妊娠率が低下する傾向を認めた. この背景には P4 (OPU) が 12 ng/ml 以上となるような卵巣機能良好症例は, 採卵後卵巣過剰刺激症候群になるリスクが高く, 卵巣腫大や腹水の存在により新鮮胚移植がキャンセルされていることが影響して, 移植実施の数が少なくなっている可能性がある. また, 自然周期の排卵期の P4 値は 1 ng/ml 以下であり, PL による P4 値の上昇が採卵当日で 12 ng/ml 以上となると implantation window のズレが許容できなくなり妊娠率の低下を招くと推測される¹⁶⁾. 今回の検討では P4 (OPU) が 12 ng/ml 以上で新鮮胚移植の妊娠率が低下したため, そのような症例では今後全卵凍結を考慮する.

一方, 凍結胚移植の妊娠率の検討において P4 (OPU) 12 ng/ml 未満の群と 12 ng/ml 以上の群の妊娠率には有意な差を認めなかった ($p = 0.53$). この結果は P4 (OPU) の上昇は新鮮胚移植において implantation window を前倒しさせ着床率を低下させるが, 受精卵の着床能には影響を与えていないこと, を示唆している. 従来より受精卵数の増加にともない妊娠率が上昇することは知られており, 今回の結果でも P4 (hCG) および P4 (OPU) の上昇に相関した 2PN 発生数の増加が妊娠率の上昇に寄与していると考えられた.

V. 結 論

P4 (OPU) はE2 値および採卵数と相関しているが, 2PN 発生率に影響しない。また, P4 (OPU) の上昇は新鮮胚移植の妊娠率の低下を招くが, 受精卵の着床能への影響はなく, P4 (OPU) の上昇に比例して採卵あたりの妊娠率

が上昇した。PL による妊娠率低下を回避する指標として, P4 (hCG) が従来用いられてきたが, 今回の検討により ML を反映する P4(OPU) でも同等の評価が可能なが示唆された。

利益相反：著者には開示すべき利益相反はない。

References

- 1) 日本産科婦人科学会：平成28年度倫理委員会登録・調査小委員会報告，2017. http://www.jsog.or.jp/modules/committee/index.php?content_id=12
- 2) **Smitz J, Ron-El R, Tarlatzis BC, et al.**: The use of gonadotrophin releasing hormone agonists for in vitro fertilization and other assisted procreation techniques: experience from three centres. *Hum Reprod* **7**, 49-66, 1992.
- 3) **Elnashar, AM**: Progesterone rise on the day of HCG administration (Premature luteinization) in IVF: an overdue update. *J Assist Reprod Genet* **27**, 149-155, 2010.
- 4) **Mio Y, Sekijima A, Iwabe T, et al.**: Subtle rise in serum progesterone during the follicular phase as a predictor of the outcome of in vitro fertilization. *Fertil Steril* **58**, 159-166, 1992.
- 5) **Legro RS, Ary BA, Paulson RJ, et al.**: Premature luteinization as detected by elevated serum progesterone is associated with a higher pregnancy rate in donor oocyte in-vitro fertilization. *Hum Reprod* **8**, 1506-1511, 1993.
- 6) **Ubaldi F, Albano G, Peukert M, et al.**: Subtle progesterone rise after the administration of the gonadotrophin releasing hormone antagonist cetrorelix in ICSI cycles. *Hum Reprod* **11**, 1405-1407, 1996.
- 7) **Bosch E, Valencia I, Escudero E, et al.**: Premature luteinization during gonadotrophin releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in-vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* **80**, 1444-1449, 2003.
- 8) **Hofmann GE, Houry J, Johnson CA, et al.**: Premature luteinization during controlled ovarian hyperstimulation for in-vitro fertilization embryo transfer has no impact on pregnancy outcome. *Fertil Steril* **66**, 980-986, 1996.
- 9) **Ochsenkühn R, Arzberger A, von Schönfeldt Vet, et al.**: Subtle progesterone rise on the day of human chorionic gonadotropin administration is associated with lower live birth rates in women undergoing assisted reproductive technology: a retrospective study with 2555 fresh embryo transfers. *Fertil Steril* **98**, 347-354, 2012.
- 10) **Kolibianakis EM, Venetis CA, Bontis J, et al.**: Significantly lower pregnancy rates in the presence of progesterone elevation in patients treated with GnRH antagonists and gonadotrophins: a systematic review and meta-Analysis. *Curr Pharm Biotechnol* **13**, 464-470, 2012.
- 11) **Hoff JD, Quigley ME and Yen SS**: Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. *J Clin Endocrinol Metab* **57**, 792-796, 1983.
- 12) **Bosch E, Valencia I, Escudero E, et al.**: Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* **80**, 1444-1449, 2003.
- 13) **Hofmann GE, Bentzien F, Bergh PA, et al.**: Premature luteinization in controlled ovarian hyperstimulation has no adverse effect on oocyte and embryo quality. *Fertil Steril* **60**, 675-679, 1993.
- 14) **Legro RS, Ary BA, Paulson RJ, et al.**: Premature luteinization as detected by elevated serum progesterone is associated with a higher pregnancy rate in donor oocyte in vitro fertilization. *Hum Reprod* **8**, 1506-1511, 1993.
- 15) **Ubaldi F, Camus M, Smitz J, et al.**: Premature luteinization in in vitro fertilization cycles using gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) and recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) and GnRH-a and urinary FSH. *Fertil Steril* **66**, 275-280, 1996.
- 16) 五十嵐秀樹：不妊・内分泌．日産婦誌 **62**, 63-76, 2010.

The relationship between the serum progesterone
concentration on the ova collection day and
pregnant results of cIVF

Maki IKEDA, Hiroki ONOUE, Jin KUMAGAI and Tsukasa BABA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,
Iwate Medical University, Morioka, Japan

(Received on December 20, 2018 & Accepted on January 17, 2019)

Abstract

Premature luteinization (PL) in the IVF cycle decreases the pregnancy rate of fresh embryo transplantation. There have been attempts to predict the pregnancy rate of fresh embryo transplantation using the serum progesterone value [P4 (hCG)] on the day of hCG administration as an indicator of PL, but it is not easy to measure the hCG administration date in clinical practice. Therefore, we examined the relationship between serum P4 value [P4 (OPU)] on the day of egg collection and pregnancy results. We investigated the relationship between P4 (OPU)

and pregnancy in 230 cases with 152 cases who underwent conventional IVF (cIVF) using the GnRH agonist method from February 2012 to October 2017. The pregnancy rate in fresh embryo transplantation with P4 (OPU) less than 12 ng/ml was 18.1%, and the pregnancy rate in the group with 12 ng/ml or more differed by 6.3%. On the other hand, in frozen thawed embryo transplantation, there was no difference in pregnancy rate due to the high or low value of P4 (OPU).
