

ICSIにおける未受精例に対して pentoxifyllineによる精子活性化 処理は有用か？

医療法人 福井ウィメンズクリニック
松山茜 岡部綾美 松岡里衣 福井敬介

緒言

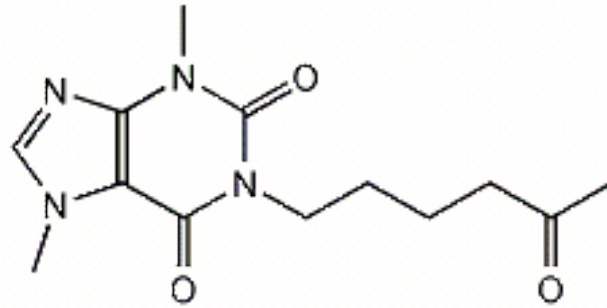
顕微授精(以下ICSI)を施行しても受精しない症例の対策として Calcium Ionophore 処理や電気刺激法の有用性が報告されている。

当院では対策の第一段階として精子にmethylxanthine phosphodiesterase inhibitorであるpentoxifylline(以下Pent)を作用させ受精卵を得る方法を試みている。

今回、その成績について報告する。

pentoxifylline

分子式 $C_{13}H_{18}N_4O_3$
分子量 278.312



- ・cAMPの分解酵素であるphosphodiesteraseを阻害することで細胞内cAMP濃度の上昇を惹起する。



精子のcapacitationを誘起する

- ・精子無力症における精子の運動性の賦活化やTESEにおける運動生存精子の選別/回収などに応用されている。

対象

2003年6月から2013年9月までに当院でICSIを施行するも
受精卵が得られなかった(得られなくなった)50症例を対象とした

- 卵が1個の場合は2周期以上未受精だった症例
- 複数個の卵が全て未受精だった症例

患者の同意の上、Pentを精子に作用させた後ICSIを行った

方法

Pent(SIGMA P1784; 3.6mM)をICSI直前に精子dropに添加



精子dropにて5～30分作用させる



10%PVP内で精子を10回以上洗浄



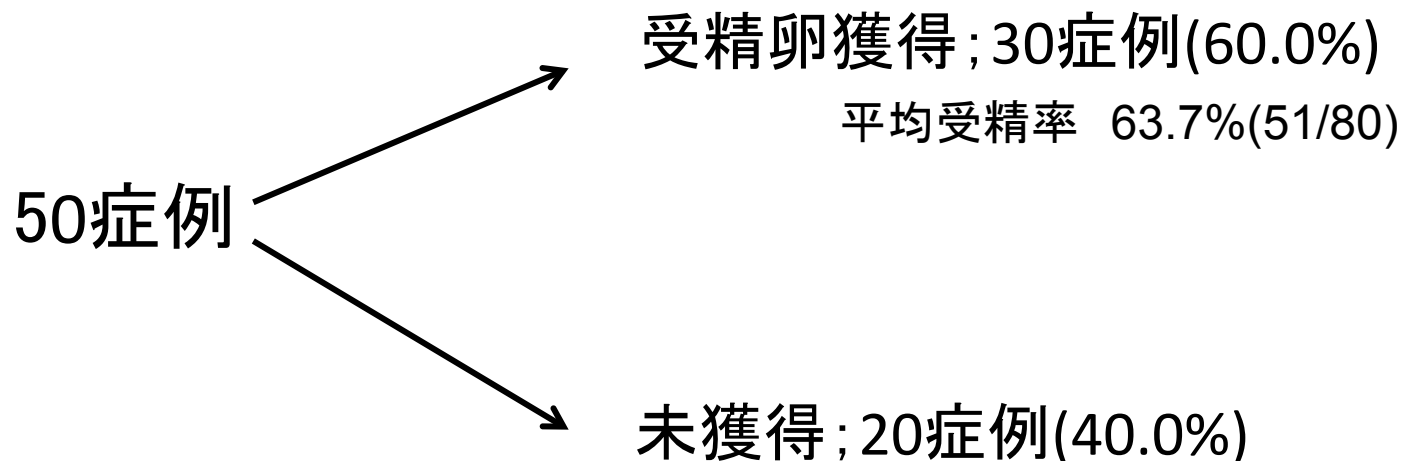
ICSI

検討項目

検討①Pent作用周期の受精卵獲得率

検討②Pent作用周期の対症例妊娠率(以下妊娠率)
および生児獲得率(以下生産率)

成績(検討①)



◎約60%の症例で受精卵が得られた

受精卵獲得症例の適応・精子所見

卵管因子 → 7件
子宮内膜症 → 3件
男性因子 → 15件
原因不明 → 5件

(Pent(-)周期とPent(+)周期における精子所見)

精子所見	Pent(-)	Pent(+)	<i>P</i> value
平均年齢(才)	37	37	n.s.
平均総精子数(万/ml)	3200	4181	n.s.
平均運動精子数(万/ml)	1325	1898	n.s.
平均運動率(%)	34	39	n.s.

受精卵獲得症例においてPent使用前後で
精子所見に有意な差はなかった

T-test



受精卵未獲得症例の適応・精子所見

卵管因子 → 3件
子宮内膜症 → 4件
男性因子 → 9件
原因不明 → 4件

(Pent(-)周期とPent(+)周期における精子所見)

精子所見	Pent(-)	Pent(+)	P value
平均年齢(才)	38	38	n.s.
平均総精子数(万/ml)	2098	2274	n.s.
平均運動精子数(万/ml)	714	707	n.s.
平均運動率(%)	32	29	n.s.

T-test

受精卵未獲得症例においてもPent使用前後で
精子所見に有意な差はなかった



Pent作用時における受精卵獲得症例と 未獲得症例の精液所見の比較

精子所見	未受精群(20症例)	受精群(30症例)	P value
平均年齢(才)	38	37	n.s.
平均総精子数 (万/ml)	2274	4181	n.s.
平均運動精子数 (万/ml)	707	1898	$P < 0.05$
平均運動率(%)	29	39	n.s.

T-test

未受精群の運動精子数は受精群に比べて有意に少なかった

受精卵を獲得できた症例におけるPent使用前後のtotal受精率の比較①

Pent使用前	Pent使用后
0.0%(0/2)	44.4%(4/9)
0.0%(0/2)	60.9%(28/46) ●
0.0%(0/2)	61.7%(13/21) ●
0.0%(0/2)	66.7%(16/24) ●
0.0%(0/2)	81.3%(13/16) ●
0.0%(0/2)	100.0%(3/3) ●
0.0%(0/2)	100.0%(7/7) ●
0.0%(0/3)	72.7%(8/11) ●
0.0%(0/3)	75.0%(3/4) ●
0.0%(0/3)	100.0%(4/4) ●
0.0%(0/5)	47.6%(20/42)

全く受精卵が得られなかった11症例のうち、Pentを使用する事で9症例(●)に50%以上の受精率の改善がみられた

受精卵を獲得できた症例におけるPent使用前後のtotal受精率の比較②

●受精卵が得られなくなった19 症例のうち、15症例でPentを使用する事により受精率の改善がみられた(●)

●Pent使用前後の平均受精率の比較
前47.7±24.8% vs 後51.5±29.6%
 (P<0.05)

Pent使用前	Pent使用后	
42.9%(3/7)	16.7%(2/12)	
37.5%(3/8)	25.0%(1/4)	
51.4%(18/35)	33.3%(1/3)	
14.2%(1/7)	40.0%(6/15)	●
33.3%(2/6)	46.4%(13/28)	●
41.7%(5/12)	50.0%(1/2)	●
60.0%(9/15)	50.0%(2/4)	
21.4%(3/14)	50.0%(3/6)	●
25.0%(2/8)	50.0%(9/18)	●
21.4%(3/14)	50.0%(10/20)	●
61.1%(22/36)	75.0%(3/4)	●
69.2%(9/13)	75.0%(3/4)	●
40.0%(2/5)	100.0%(1/1)	●
50.0%(5/10)	100.0%(1/1)	●
71.4%(5/7)	100.0%(1/1)	●
37.5%(3/8)	100.0%(2/2)	●
50.0%(10/20)	100.0%(2/2)	●
70.0%(7/10)	100.0%(2/2)	●
50.0%(2/4)	100.0%(7/7)	●

成績(検討②)

移植を行った症例数:26例

$$\text{対症例妊娠率} = \frac{7}{26} = 26.9\%$$

$$\text{生産率} = \frac{5}{7} = 71.4\%$$

症例No.	児の性別	出生体重(g)	児の異常
1	男	2960	無
2	男	3380	無
3	男	3505	無
4	女	3090	無
5-1	一卵性双胎	1211	無
5-2		795	無

妊娠した7例のうち5例が出産に至った

考察

今回対象とした50症例中30症例で受精卵が得られた。
また、過去の治療において受精したことのある19症例中15症例はPentを使用することで平均受精率の改善がみられた。Pent使用周期を続けることで26症例中7例が妊娠、そのうち5例が出産に至った。現在、出生した児に異常は認められていない。

2008年にParringtonらがcapacitationと精子の先体に局在する卵子活性化因子であるPLC ζ との関係について、また2013年にLaiらがPLC ζ と卵子の活性化について報告している。これらの報告より、Pentによるcapacitationの励起が先体内のPLC ζ の賦活化・放出を増進させ、それにより卵の活性化が起こり受精に至ったのではないかと考えられる。

ICSIの未受精例に対してPentによる精子活性化処理の有用性が示唆された

引用文献

CapacitationとEnzyme Phospholipase C Zeta (PLC Z) の関係性を示す論文

The pattern of localization of the putative oocyte activation factor, phospholipase Czeta, in uncapacitated, capacitated, and ionophore-treated human spermatozoa

[Hum Reprod. 2008 Nov;23\(11\):2513-22. doi: 10.1093/humrep/den280. Epub 2008 Jul 24.](#)

Grasa P, Coward K, Young C, Parrington J.

Enzyme Phospholipase C Zeta (PLC Z) と卵の活性化に関する論文

PLC ζ and the initiation of Ca(2+) oscillations in fertilizing mammalian eggs.

[Cell Calcium.2013 Jan;53\(1\):55-62.doi:10.1016/j.ceca.2012.11.001.Epub 2012 Dec 5.](#)

Swann K, Lai FA.

Sperm Factor, PLC, and Egg Activation

Journal of Mammalian Ova Research 27(4):198-203. 2010

Keiji Kuroda



ICSI未受精例に対するプロトコール

Pent(SIGMA P1784; 3.6mM)をICSI直前に精子dropに添加



精子dropにて5~30分作用させる



10%PVP内で精子を10回以上洗浄



ICSI



未受精の場合 次周期にて

A23187(カルシマイシン)(以下Ca)の併用あるいは単独使用検討

Ca作用方法

ICSI施行30分後、卵子の入っている受精培養液中に
Ca(SIGMA A23187;0.0250mM/ml)を添加する



5分後Ca添加培養液より卵子を出し、よく洗浄する



Ca無添加の受精培養液中へ卵子を投入する



(翌日)
受精確認

Pent作用周期で受精卵が得られなかった症例に対するCa処理とその結果

