Perspectives of Reproductive Science

vol. 4

－微小管上を移動しながら細胞内物質を輸送するキネシンタンパク質－　今号の表紙画像は画像生成AIを用いて制作しました。

編集会議

編集委員長　吉村やすのり生命（いのち）の環境研究所 **吉村 恭典** 先生

編集委員　山口大学 大学院医学系研究科 産科婦人科学講座 教授 **杉野 法広** 先生

群馬大学 大学院医学系研究科 産科婦人科学 教授 **岩瀬 明** 先生

特集論文

- **キネシンモータードメインにおける母親の遺伝子バリアントが卵子の異数性を早期に増加させる**
  Maternal genetic variants in kinesin motor domains prematurely increase egg aneuploidy
- **卵巣高反応患者を対象に、初回凍結胚移植による出生率をPPOS法とGnRHant法で比較した無作為化比較試験**
  A randomized controlled trial to compare the live birth rate of the first frozen embryo transfer following the progestin-primed ovarian stimulation protocol vs. the antagonist protocol in women with an anticipated high ovarian response
- **ベトナムでの自然周期、自然周期変法、またはホルモン補充周期における凍結胚移植後の出生率**
  Livebirth rate after one frozen embryo transfer in ovulatory women starting with natural, modified natural, or artificial endometrial preparation in Viet Nam: an open-label randomised controlled trial

ORGANON
Here for her health

編集委員長

Yasunori Yoshimura

吉村やすのり
生命（いのち）の環境研究所
吉村 泰典 先生

編集委員

Norihiro Sugino

山口大学 大学院医学系研究科
産科婦人科学講座 教授
杉野 法広 先生

編集委員

Akira Iwase

群馬大学 大学院医学系研究科
産科婦人科学 教授
岩瀬 明 先生

卵子異数性に関わる遺伝子の同定

吉村　女性の生殖年齢は、卵子のagingに伴うクオリティの低下により決定されるとされています。この卵子のクオリティの低下は、卵子の異数性の亢進と関係していますが、その本態は全く解明されていない状況にあります。正倍数性の胚を移植すれば、高齢女性であっても高い妊娠率・出生率を得られることは、PGT-Aの臨床研究成績でも明らかとされています。現在まで母親の遺伝子情報に基づく卵子の異数性に関する研究はほとんどなく、母体側の遺伝的決定因子については不明です。

今回最初に取り上げる論文は、卵子の異数性に関する遺伝子を特定した論文です。杉野先生、まずどのようにして候補遺伝子を特定したかご説明いただけますか。

杉野　米国のニュージャージー州で不妊治療を受けた非ヒスパニック系の白人患者753例から、母体年齢と胚異数性データを収集し、母体年齢に対して高い異数性率（43～100%、平均67%）あるいは低い異数性率（0～50%、平均11%）のいずれかを有する182例の患者を選択しました。この182例に対して全エクソーム解析を実施しました。品質チェックをクリアした症例の中で、高い異数性発現率を示した93例と低い異数性発現率を示した85例の合計178例のデータを用い、高異数性と関連する変異を有する8,611遺伝子について、VAASTから異数性と関連性が高いことにより順位付けした上位404遺伝子を選択しました。

次に、この404遺伝子を対象に、①遺伝子オントロジーエンリッチメント解析、②タンパク質間相互作用ネットワーク分析により、それぞれ候補遺伝子を特定しました。具体的には、①の遺伝子オントロジーエンリッチメント解析により、「キネシン複合体」が有意な用語として選択され、ここには*KIF18A*、*KIF5C*、*KIF16B*、*KIF20A*、*KLC1*の5つの遺伝子が含まれていました。②のタンパク質間相互作用ネットワーク分析からは、「有糸分裂細胞周期プロセス」が有意なものとして同定され、この中に*KIF20A*、*CIT*、*ANLN*、*NCAPG2*、*KIF18A*の5つの遺伝子が含まれていました。この2つの解析アプローチに共通する遺伝子として、キネシンタンパク質をコードする*KIF18A*および*KIF20A*を特定しました。そして、低異数性症例と比較して高異数性症例でみられた変異体はKIF18Aでは2つ、KIF20Aでは4つが同定されました。

いずれの変異も*KIF*遺伝子のモータードメインにみられました。すなわち、キネシンタンパク質が微小管の上を中心から外側へ動く機能に関与する遺伝子領域に変異がおこっていることが分かりました。

吉村　マウスを用いて特定したキネシンタンパク質を阻害したり、変異型や野生型キネシンをコードするRNAをマイクロインジェクションしたりして、異数性率を検討していますね。岩瀬先生、その結果はどうですか。

岩瀬　まずキネシンの阻害剤が卵子の異数性にどのような影響を与えるか調べています。KIF18A阻害剤（ソビルネシブ）およびKIF20A阻害剤（パプロトレイン）を用いて、減数第一分裂前期のマウス卵子のキネシン活性を阻害し、16時間培養後の減数第二分裂中期での異数性の割合を対照群と比較しています。パプロトレイン投与群では52.3%の卵子に、ソビルネシブ投与群では40.0%の卵子に異数性を認め、それぞれのコントロール15.9%と20.8%と比較し、異数性卵の割合が有意に上昇していました。

次にKIF18AおよびKIF20Aバリアントをコードする Gfpタグ付きcRNAを野生型マウスの減数第一分裂前期の卵子にマイクロインジェクションし、減数第二分裂中期での異数性の割合を対照群と比較しています。191番目のロイシンをプロリンに置換した$KIF20A^{L191P}$または273番目のスレオニンをアラニンに置換した$KIF18A^{T273A}$のいずれかを発現させた卵子は、コントロールに比べて異数卵の頻度が有意に高いことが観察されています。一方、483番目のアスパラギンをセリンに置換した$KIF20A^{N483S}$では、異数性の増加は確認されませんでした。異数性の増加を示したバリアントについてはタンパクの安定性にネガティブな影響をもたらすであろうことが、イン

シリコ解析で明らかになっています。キネシンタンパク質の不安定化が、異数性の増加の原因として推測されます。以上より、KIF18A、KIF20Aのモータードメイン機能が減数分裂における染色体分配に重要な役割を果たしており、この機能が阻害されると異数性が増加することが示されています。

吉村　その後、それらのキネシンタンパク質のモータードメインにおける変異が、減数第一分裂に及ぼす影響について検討していますね。杉野先生、その結果はどうでしたか。

杉野　理解しやすいように、まず減数第一分裂後期の説明をしておきますと、この時期は、染色体が両極に分離した紡錘糸（中心体から延びる微小管のこと）に引っ張られ両極に移動します。染色体パッセンジャー複合体（CPC）は、誤った染色体の動原体（キネトコア）と微小管の結合を不安定化することで、染色体を正しく分離させます。そのため、CPCは減数第一分裂後期には、紡錘体の中央に存在します。キネシンKIF20Aは、CPCを紡錘体の中央領域に移動させる役割を持っています。

さて、本研究におけるキネシンKIF20A変異の減数第一分裂に及ぼす影響についてです。減数第一分裂前期のマウス卵子に野生型の*KIF20A*遺伝子を発現させた卵子では、減数第一分裂後期には、紡錘体の中央領域にKIF20AとCPCのメンバーであるAuroraキナーゼが共局在していました。これに対し、KIF20AにL191P変異を入れた遺伝子を導入した卵子では、KIF20AとAuroraキナーゼは紡錘体の中央領域には局在していませんでした。従って、キネシンKIF20A変異タンパクはCPCの輸送ができず、その結果、正しい染色体の分離ができなかったという可能性を示しています。

もう一方のキネシンKIF18A変異タンパクの減数第一分裂に及ぼす影響についてですが、本研究では、減数第一分裂中期の変化をみています。この時期は、染色体が赤道面に並び、中心体から紡錘糸が伸び始め紡錘体を形成します。微小管安定化酵素であるキネシンKIF18Aは、染色体の整列を促進する働きがあります。KIF18A^{T273A}変異体は、野生型と同様、減数第一分裂中期の紡錘体に局在していましたが、染色体は野生型と異なり、赤道上に整列していませんでした。KIF18A^{T273A}変異体には、何らかの機能異常が生じていることが示唆されます。

さらに、*KIF20A*^{L191P}変異および*KIF18A*^{T273A}変異による減数分裂の進行に及ぼす影響を16時間培養後の極体放出で評価したところ、減数第一分裂の進行の遅れが生じていました。つまり、減数第一分裂の障害によって適切な時期の細胞質分裂が障害されていることを示唆しています。なお、この16時間培養後（減数第二分裂中期）に*in situ*染色体カウントアッセイによる卵子異数性は検討されていません。

吉村　分かりやすい解説をありがとうございます。その後、キネシン遺伝子のマウスにおける繁殖力に与える影響について検討しています。岩瀬先生、その結果はいかがですか。

岩瀬　ヒトにおける*KIF18A*^{T273A}変異の影響をマウスで検証するため、CRISPR/Cas9を用いて*Kif18a*の273番目のセリンをアラニンに置換し、*Kif18a*^{S273A}ノックインマウスを作成し、ワイルドタイプ（WT）、ヘテロ接合体マウス（+/S273A）、ホモ接合体マウス（S273A/S273A）で比較しています。6ヵ月齢までの交配試験を実施し、産仔数を評価しています。2ヵ月齢までの時点では、WT、ヘテロ接合体、ホモ接合体の産仔数に有意差を認めていません。5ヵ月齢以降においては、WTマウスとヘテロ接合体マウス間には有意差は認められませんでしたが、ホモ接合体マウスは産仔数が有意に減少しています。6ヵ月齢時点でのWTとホモ接合体について、卵巣内の卵胞数は同等であり、産仔数の低下は卵胞数の減少によるものではないことが示唆されています。

次に卵子の異数性を9週齢と20週齢で比較したところ、9週齢ではWTマウスとホモ接合体マウス間に有意差はありませんでしたが（23% vs. 8%, p=0.059）、20週齢ではホモ接合体マウスの異数性が50%に上昇し、WTマウスの13%に対し有意差を認めています（p=0.008）。キネトコアに着目し解析を行ったところ、高齢の*Kif18a*^{S273A}マウスの卵子では、WTマウスの卵子と比較して、微小管に付着していないキネトコアが有意に増加していることが分かりました（16.1% vs. 5.5%, p<0.0001）。以上より、*Kif18a*^{S273A}変異は、微小管-キネトコア結合を障害することにより、加齢による卵の異数性と繁殖力低下の原因となっていることが示唆されています。

吉村　20週齢で異数性が明らかに上昇したと。また、*Kif18a*変異が影響を与えたと考えられる訳ですね。この研究成果の意義について杉野先生はどのようにお考えですか。

杉野　これまで、母体年齢のみが卵子の異数性を予測する臨床的バイオマーカーでした。また、母親の遺伝子情報に基づく卵子の異数性に関する研究はほとんどなく、母体側の遺伝的決定因子については不明でした。今回の研究は、減数分裂に重要な役割を果たすキネシン遺伝子のモータードメインの変異が年齢による異数性卵子の増加を加速させ、女性不妊症の原因となることを示唆する新しい知見だと思います。また、年齢だけでなく、キネシン遺伝子のモータードメイン変異の存在が卵子異数性のマーカーとなる可能性があります。たとえば、高年齢の不妊女性、流産を繰り返す女性に対しては、キネシン遺伝子のモータードメイン変異が陽性であれば、PGT-A検査を導入することで生児を得る確率を高められるかもしれません。実際に、本研究において、25歳でも*KIF18A*変異のホモ接合体の女性では、45%という高い卵子異数性の頻度を示すと報告しています。このような、個別化医療に繋がる研究成果であり有意義な報告であると思います。

また、本研究は、減数分裂に重要な役割を果たすキネシン遺伝子のモータードメイン変異が卵子異数性を引き起こすという卵子異数性のメカニズムの一端を明らかにしたものであり、医学的にも意義があると思います。

吉村　岩瀬先生はいかがですか。

岩瀬　卵巣機能に関する加齢性変化の一側面である卵子数の減少については、AMH（抗ミュラー管ホルモン）が良い指標となることが広く知られるようになりました。血清AMH濃度の測定は、卵巣刺激方法選択に関する有用なツールであるだけでなく、加齢以外の自己免疫性疾患や染色体異常に伴う卵巣予備能低下、手術や抗がん剤侵襲による卵巣予備能低下等について定量的な観点から、多くの知見をもたらしました。一方、杉野先生が仰られる通り、卵の質として言及されることの多い染色体の異数性については年齢以外の指標がありませんでした。これは現在に至るまでPGT-Aの有用性について、どのような女性を対象として実施すべきかについての議論が続いていることに関連しています。今回の研究成果は、減数分裂における染色体分離異常のリスク因子と考えることができ、PGT-Aを個別化医療として実施する糸口として期待できるかもしれません。

GnRHアンタゴニスト法とPPOS法との比較

吉村　現在では、卵巣刺激に伴う早発排卵や、卵巣過剰刺激症候群を防ぐために、一般的にGnRHアンタゴニスト法が用いられています。最近、刺激周期にプロゲスチン製剤を経口投与するProgestin-Primed Ovarian Stimulation（PPOS）法が試みられるようになってきています。2番目の論文は、GnRHアンタゴニスト法とPPOS法を比較した無作為化比較試験です。岩瀬先生、まず対象ならびに方法をご説明いただけますか。

岩瀬　本研究は単施設での非盲検ランダム化比較試験として実施されています。初回IVF周期を受ける43歳未満の女性で、胞状卵胞数が15を超える方を対象としています。提供卵子や提供精子を使用する症例、月経2〜5日目の血清エストラジオール値が100pg/mLを超える機能性卵巣嚢胞が存在する症例などは除外されています。

初回凍結胚移植（FET）後の出生率を主要評価項目とし、PPOS群とGnRHアンタゴニスト群を比較しました。

吉村　子宮内膜に与える影響や得られた胚の状況はいかがでしたか。

岩瀬　ITT集団の比較では、FSHの総投与量および刺激に要した日数ともに有意差はありませんでした。トリガー日のエストラジオール（E_2）値は3,200 vs. 2,283pg/mL（p<0.001）とPPOS群で有意に高い結果となっています。早発LHサージをPPOS群でのみ2例（0.5%）認めていますが、有意差はありませんでした。

子宮内膜については9.7 vs. 12.4mm（p<0.001）とPPOS群で有意に薄い結果となっています。これはプロゲスチンによる内膜抑制の影響と考えられます。

採卵数、受精卵数、胚盤胞発生率、凍結胚数は両群間でほぼ同等の成績となっています。

吉村　妊娠率や出生率は、2群間で違いがありましたか。

岩瀬　初回FET周期の治療内容については、プロトコール集団において自然周期・刺激周期・ホルモン補充周期の内膜準備方法には両群間に有意差はなく、胚移植時の子宮内膜厚もほぼ同等でした。両群とも全例単一胚移植が適応され、胚盤胞移植率、良好胚移植率についても有意差はありませんでした。

ITT集団では、初回FET周期の出生率はPPOS群で37.5%（147/392）、アンタゴニスト群で32.7%（128/392）（p=0.16）と有意差はありませんでした。累積出生率もPPOS群で54.6%、アンタゴニスト群で48.5%とほぼ同等でした。臨床的妊娠率、継続妊娠率、流産率、異所性妊娠率についても両群間の成績はほぼ同等でした。

安全性という観点では、両群とも中等度以上のOHSSの発症はなく、妊娠合併症、新生児の出生体重、先天異常に有意差は認められませんでした。

吉村　現在、我が国でもPPOSは用いられていますが、現在のコンセンサスはどのようになっていますか。

岩瀬　2021年に発刊された初版の生殖医療ガイドラインでは、PPOSは凍結融解胚移植を前提とした卵巣刺激法として、GnRHアゴニスト法、GnRHアンタゴニスト法を比較し、採卵数、臨床妊娠率、出生率において同等に有効であるとの記載があり、推奨度はAが与えられています。またOHSSの発症リスクが低いことにも言及があります。我が国ではジドロゲステロンとメドロキシプロゲステロン酢酸エステルの一部が、調節卵巣刺激下における早発排卵の防止として保険上の適用を有しています。我が国の凍結融解胚移植周期は依然増加傾向にあり、2022年のデータでは26万周期を超えています。PPOS法の増加と関連があると推測されますので、今後我が国の大規模データでの検討も必要と考えます。

自然周期、自然周期変法、ホルモン補充周期における凍結胚移植後の出生率の比較

吉村　最後の論文は、自然周期およびその変法とホルモン補充周期における凍結胚移植（FET）後の出生率を比較した大規模無作為化試験です。まず杉野先生、その対象ならびに方法に

ついてご説明いただけますか。

杉野　ベトナムの単施設において適格基準を満たした1,428例が自然周期群、自然周期変法群とホルモン補充周期群の3群に無作為に割り付けられ、FETによる妊娠予後や安全性を比較検討した臨床研究です。つまり、FETを行う場合、子宮内膜の調整にはどのプロトコールが良いかを検討したものです。

自然周期群では、LHサージと排卵を確認後に胚移植し、自然周期変法群では、主席卵胞が16mm以上の時にhCGで排卵誘発されています。いずれも21日までに卵胞発育がなければ移植を中止し、ホルモン補充周期に切り替えられました。ホルモン補充周期群は、エストラジオールとプロゲステロンを用いて子宮内膜環境を調整しました。

吉村　妊娠率、出生率は3群間でどうでしたか。

杉野　初回のFET後の出生率は、自然周期群で37%（174/476例）、自然周期変法群で33%（159/476例）、ホルモン補充周期群で34%（162/476例）と、自然周期または自然周期変法とホルモン補充周期との間に有意差は認められませんでした。また、妊娠陽性率、臨床的妊娠率、継続妊娠率、着床率、異所性妊娠率、多胎率についても3群間で有意差はありませんでした。

なお、初回に自然周期でキャンセルとなった症例は21%（99/476例）で、このうち引き続くホルモン補充周期の胚移植により47%（47/99例）が出生しています。自然周期変法では、同じく21%（99/476例）がキャンセルされましたが、このうち42%（42/99例）でホルモン補充周期の胚移植で生児が得られており、初回のホルモン補充周期で胚移植された群の成績に比べ劣ることはありませんでした。しかし、今回の報告では、ホルモン補充周期でのキャンセル症例はなかったため、自然周期や自然周期変法でのキャンセル率は高いことになります。

吉村　周産期合併症や新生児の異常についてはどうですか。

杉野　本研究では、周産期合併症や新生児の異常として、妊娠高血圧症候群、妊娠糖尿病、低出生体重児、重大な先天異常、新生児死亡を報告しています。継続妊娠例における妊娠高血圧症候群の発症率は、ホルモン補充周期7%に対し、自然周期および自然周期変法では6%および5%と有意な差はありませんでした。妊娠糖尿病についても3群間で差を認めませんでした。なお、癒着胎盤に関する記載はありませんでした。また、新生児の異常は少なく、3群間で差を認めませんでした。

本研究における周産期合併症の発症について、著者らは、患者特性（若くて、排卵周期を有し、痩せている）や、当該施設で行われたハイリスク例に対する予防的アスピリン投与の影響なども結果に影響を与えた可能性があると考察しています。

吉村　先生がこの論文を取り上げられた理由をお聞かせください。

杉野　この論文は、2つの点で有用性が高いと評価しています。

まず、胚移植については、日本を中心にFETが増加しており、日本における出生児の92.7%がFETにより出生しています。また、前出の論文で取り上げましたように、最近では、卵巣刺激法として、従来のGnRHアンタゴニスト法に代わり、全胚凍結が必要であるPPOS法を行う施設が増加しています。従って、今後も世界的にFETがさらに増加することが予想されます。現在、FETの子宮内膜調整プロトコールには、大きく分けて自然周期法とホルモン補充療法があります。ホルモン補充療法は、自然周期と比較し日程調整が容易であり、また来院回数が少なくなる利点があることから、各国でホルモン補充周期にFETが行われています。

一方で、ホルモン補充周期の胚移植による周産期合併症として、癒着胎盤による分娩後出血や妊娠高血圧症候群の発症が多いことが問題とされています。そのため、もし、自然周期や自然周期変法におけるFETでも同等の成績が得られるのであれば、ホルモン補充周期の周産期合併症を回避することができます。本研究では、大規模無作為化試験によりこの3群を比較し、癒着胎盤については不明なものの、出生率や主たる周産期合併症に差がないことを示しました。従って、今後、FETに対する子宮内膜調整法は、自然周期、自然周期変法も選択肢になり得るという情報を提供したという点で意義があると思います。

本研究の2つ目の有用な点は、ITT集団における初回のFETの成績をみている点です。つまり、実際に受けた治療かどうかにかかわらず、当初割り付けられた群に基づいて分析されています。たとえば、初回は自然周期に割り付けられましたが卵胞発育がなく胚移植はされず、2回目はホルモン補充周期で胚移植となった症例は、自然周期として解析されます。従って、この方法は、実地臨床を反映した成績が出ていると言えます。最初の周期がキャンセルされた女性に次の周期も同じプロトコールを組むことは難しいからです。

吉村　それは重要なポイントですね。近年はこうした堅実なプロトコールの試験が増えてきている印象です。本日はお忙しいところありがとうございました。お二人の先生方にお集まりいただき、貴重なお話を伺うことができました。

キネシンモータードメインにおける母親の遺伝子バリアントが卵子の異数性を早期に増加させる

Maternal genetic variants in kinesin motor domains prematurely increase egg aneuploidy
Biswas L, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2024; 121(45): e2414963121.

Point

バイオインフォマティクスを起点としたアプローチにより、キネシン遺伝子のモータードメインにおける変異（バリアント）が女性不妊症に関与することを初めて示した。

母体年齢と胚異数性データに紐付けられた母親のエクソームのバイオバンクを使用し、卵子異数性による生殖老化の遺伝的決定因子を特定した。最初に、卵子の異数性率が高い女性において頻繁に認める変異遺伝子404個を解析し、異数性に関連する遺伝子としてキネシンタンパク質ファミリーを特定した。次に、これらの遺伝子のモータードメインにおける変異が、マウス卵子の異数性率を高めることを示した。ノックインマウスモデルでは、キネシン*KIF18A*の特定の変異が生殖老化を加速し、生殖能を低下させることを示した。これらの発見は生殖老化に関するメカニズムを明らかにし、生殖寿命を予測する手がかりとなる可能性がある。

学術的背景

女性の生殖寿命は卵子の質に依存しており、特に正常な染色体数であることが重要となる。卵子異数性の亢進（Elevated egg aneuploidy：EEA）は生殖老化の加速であり、卵子異数性が母体年齢から予想されるよりも高く、女性の生殖能力に影響を与える。母親の遺伝子配列情報に紐付いた卵子異数性に関するデータは限られており、また、卵子異数性は卵子の正常な加齢変化と遺伝的メカニズムの両方を原因とするため、特定の遺伝子変異について生物学的に検証するには、複雑で多面的なモデルシステムを必要とする。そのため、卵子異数性に関わる母体側の遺伝的決定因子については、これまでほとんど明らかにされてこなかった。

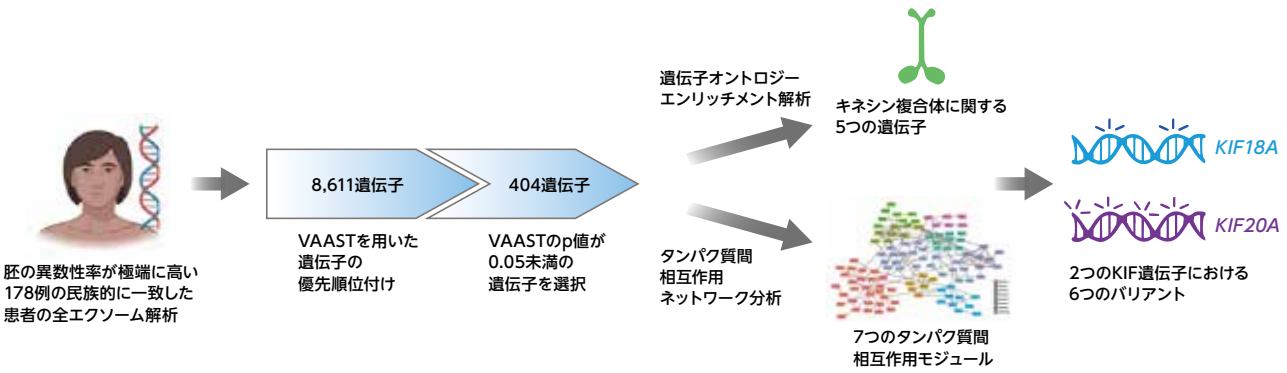
結果

EEAに関与する遺伝子変異の特定

ニュージャージー州の生殖医療協会で治療を受けた非ヒスパニック系の白人患者753例から、匿名化された母体年齢と胚異数性データを収集し、母体年齢に対して異数性率が高いあるいは低い182例に対して全エクソーム解析を実施した。

品質チェックをクリアした178例のデータについて、高異数性と関連する8,611遺伝子をVAASTにより順位付けし、$p<0.05$である上位404遺伝子について、①遺伝子オントロジーエンリッチメント解析、②タンパク質間相互作用ネットワーク分析により、それぞれ候補遺伝子を特定した（図1）。2つのアプローチに共通する遺伝子として、キネシンタンパク質をコードする*KIF18A*および*KIF20A*を特定した（図1）。

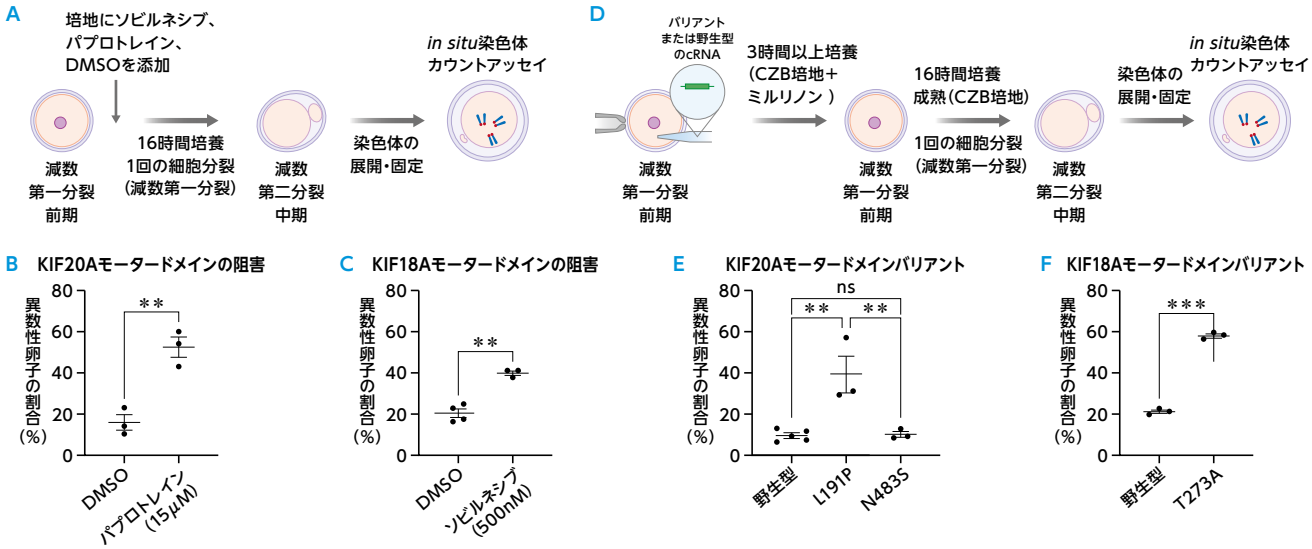
図1　高異数性に関連する遺伝子を特定するためのバイオインフォマティクスアプローチ



178例を低異数性（85例）と高異数性（93例）に分け、高異数性と関連する8,611遺伝子をVAASTにより順位付けした。上位404遺伝子について、遺伝子オントロジーエンリッチメント解析およびタンパク質間相互作用ネットワーク分析により、候補遺伝子を特定した。

PNAS is not responsible for the accuracy of this translation.

図2　マウス卵子におけるキネシンモータードメインの評価



(A)薬剤でKIF18AまたはKIF20Aを阻害し、異数性率を評価する戦略
(B)KIF20Aを阻害した卵子における異数性率。両側t検定
(C)KIF18Aを阻害した卵子における異数性率。両側t検定
(D)変異型キネシンタンパク質を発現させ、異数性率を評価する戦略
(E)変異型KIF20A^{L191P}またはKIF20A^{N483S}を過剰発現する卵子における異数性率。一元配置分散分析
(F)変異型KIF18A^{T273A}を過剰発現する卵子における異数性率。両側t検定
データは平均±標準誤差で表記、ns 有意差なし、** $p<0.01$、*** $p<0.001$

PNAS is not responsible for the accuracy of this translation.

●キネシンタンパク質の阻害による卵子異数性の増加 ……

減数第一分裂前期のマウス卵子を、KIF20Aを阻害するパプロトレインまたはKIF18Aを阻害するソビルネシブで処理した後に減数第二分裂中期まで培養し、卵子の異数性率を評価した（図2A）。対照実験として溶媒（DMSO）で処理した卵子における異数性率がそれぞれ15.9%、20.8%であったのに対し、パプロトレイン、ソビルネシブで処理した卵子における異数性率はそれぞれ52.3%、40.0%であった（図2B、C）。これらの結果から、卵子の正倍数性にキネシンタンパク質が必要であり、キネシンモーター活性の障害により異数性の卵子が発生する可能性が示された。

●EEAで認める変異型キネシンの発現と卵子異数性 ……

減数第一分裂前期の野生型マウス卵子に、緑色蛍光タンパク質（GFP）と融合した変異型キネシンをコードするRNAのマイクロインジェクションを行い、卵子を*in vitro*で減数第二分裂中期まで成熟させた後、*in situ*染色体カウントアッセイにより各細胞の異数性について評価した（図2D）。変異キネシンKIF20A^{L191P}-GFPまたはKIF18A^{T273A}-GFPを発現させた卵子では、野生型のキネシンを発現させた卵子よりも異数性率が有意に高いことが確認された（図2E、F）。一方、別の変異型キネシンKIF20A^{N483S}-GFPを発現させた卵子については、野生型のキネシンを発現させた卵子と比べ、異数性率に有意な違いを認めなかった（図2E）。

●変異型KIF20A/KIF18Aは減数第一分裂を阻害 ……

EEA患者に多く認めるキネシンタンパク質のモータードメインにおける変異が減数第一分裂に及ぼす影響について評価した。KIF20Aは細胞分裂後期に染色体パッセンジャー複合体（CPC）を染色体から紡錘体の中央領域へ移送する役割を担う。KIF20A-GFPを発現させた卵子では、減数第一分裂終期の紡錘体の中央領域にAuroraキナーゼCが多く局在し、KIF20A-GFPとAuroraキナーゼCは中央領域で共局在した。これに対し、KIF20A^{L191P}-GFPを発現させた卵子では、Auroraキナーゼは紡錘体の中央領域には局在せず、染色体上に留まったままであった（図3A、B）。

キネシンKIF18Aは微小管安定化酵素であり、染色体の整列を促進する働きがある。変異型KIF18A^{T273A}-GFPを発現させた卵子では、KIF18Aは野生型と同様に減数第一分裂中期の紡錘体に局在していたが、染色体は野生型と異なり、赤道上の整列が観察されなかった（図3C、D）。すなわち、KIF18A^{T273A}変異を発現させた卵子では、キネシンKIF18Aタンパク質に何らかの機能異常が生じていることが示唆された。

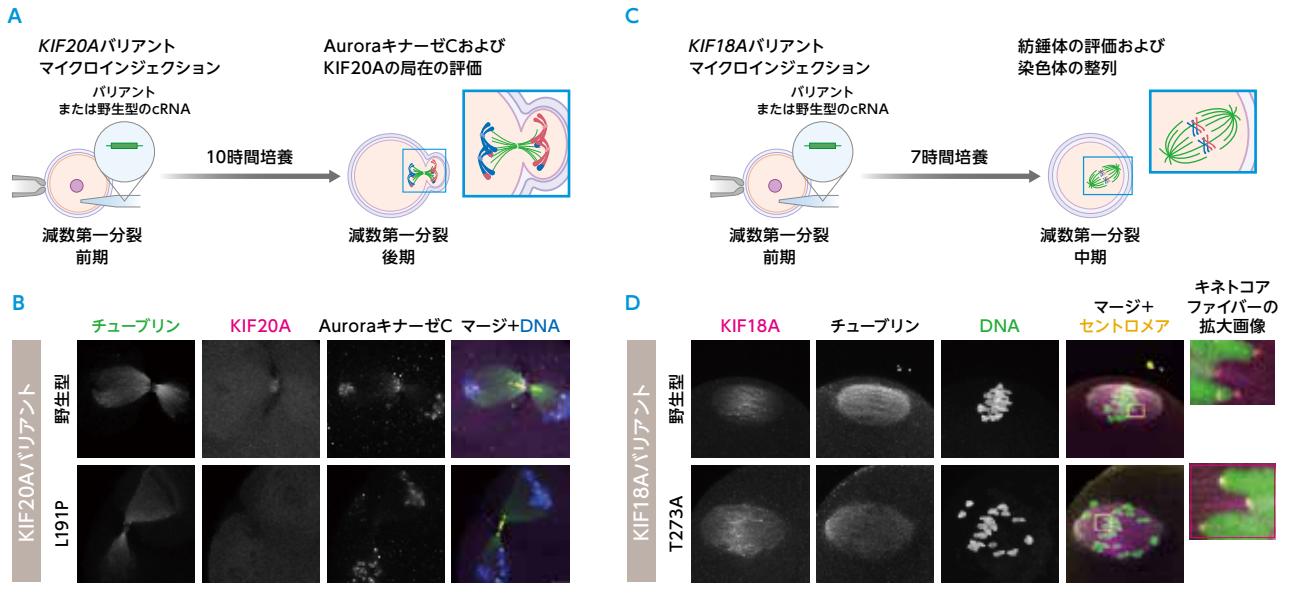
さらに、KIF20A^{L191P}変異およびKIF18A^{T273A}変異の減数分裂進行に及ぼす影響を16時間培養後の極体排出で評価したところ、これらの変異によって第一減数分裂の進行の遅れが生じていた。

以上の結果から、変異型KIF20A/KIF18Aは減数分裂を障害することによって、適切な時期の細胞質分裂の障害を引き起こすことが示唆された。

●卵子異数性の増加により生殖老化が加速 ……

KIF18A^{T273A}は178例の患者のうち17例で検出された。これは、ヨーロッパの非フィンランド人の集団においても高頻度で認めるバリアントである。そこで、KIF18A^{S273A}の遺伝子を持つことによる繁殖力への影響について評価するために、マウス*Kif18a*のセリン273をコードするTCAを、アラニンをコードするCGCに置き換えたノックインマウスをCRISPR/Cas9のゲノム編集を用いて作製した。作製した雌マウスと繁殖力の高いB6D2/J雄マウスをペアで6ヵ月間飼育し、産仔数の推移を評価した。生殖年齢が若い時期（約2ヵ月齢）においては、ホモ接合体変異型マウスの繁殖力は野生型やヘテロ接合型と同程度であったが（図4A、B）、5ヵ月齢以降では、ホモ接合体の変異型マウスの産仔数が野生型マウスと比較して有意に減少した（図4B）。この産仔数の減少については、両群の間に卵胞数には差がなかったため、卵巣予備能の低下によるものではない。これらの結果から、KIF18A^{S273A}をコードする雌マウスにおける不妊症の表現型は中間年齢になって現れ、繁殖力の低下が年齢依存的に加速することを示している

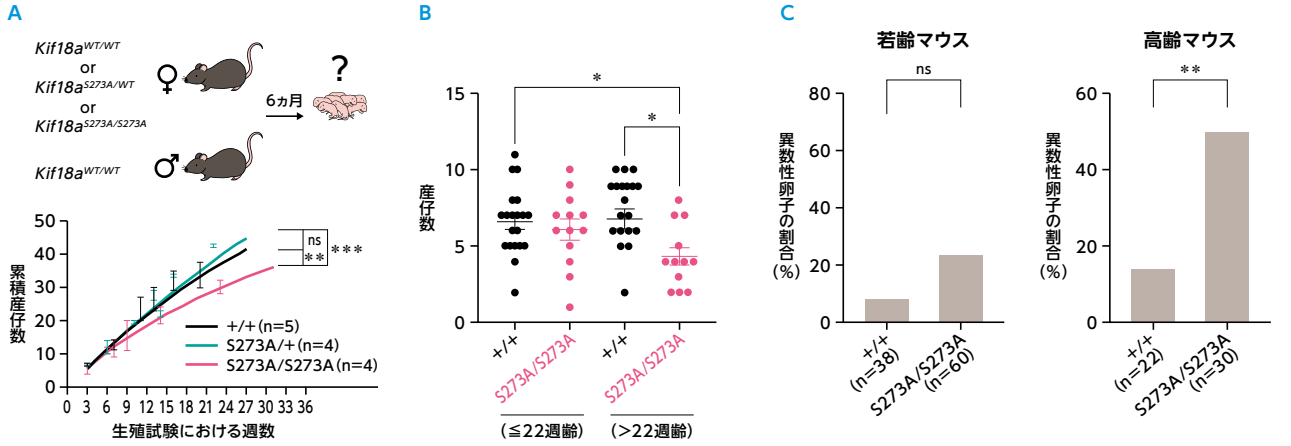
図3 高異数性を示した患者で多く認めた変異型キネシンの機能解析



(A)減数第一分裂後期のAuroraキナーゼCの局在の評価
(B)変異型KIF20A^{L191P}を発現させた卵子における紡錘体の中央領域のAuroraキナーゼC
(C)変異型KIF18A^{T273A}を発現させた卵子における減数第一分裂中期紡錘体の評価
(D)減数第一分裂中期の染色体画像

PNAS is not responsible for the accuracy of this translation.

図4 *Kif18a* ^{S273A}を発現する雌マウスにおける生殖老化の加速



(A)繁殖試験における累積産仔数。F検定
(B)若齢マウス(≦22週齢)と高齢マウス(>22週齢)の同腹産仔数分析。Tukeyの多重比較検定を用いた一元配置分散分析
(C)若齢(8〜10週齢)と高齢(>20週齢)マウスの異数性卵子の頻度(5回実施)。Fisher正確検定
データは平均±標準誤差で表記、ns 有意差なし、*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001

PNAS is not responsible for the accuracy of this translation.

と結論付けた。

さらに、繁殖力が同程度であった年齢(約9週齢、若齢)と異なる年齢(約20週齢、高齢)における卵子異数性を評価した。高齢マウスではホモ接合体変異型マウスの異数性卵子の頻度が野生型の対照群と比較して有意に高かったが、若齢マウスでは、有意の差が認められなかった。したがって、加齢による繁殖力の低下は異数性卵子の増加を原因とする可能性が示された(図4C)。

まとめ

これまで、母体年齢のみが卵子の異数性を予測する臨床的バイオマーカーであった。今回の研究結果により、生殖寿命の予測にキネシン遺伝子の利用が期待できる。

Keyword

VAAST
疾患患者と健常者のゲノムデータを比較し、疾患に関連する遺伝子や変異を特定するツール。

染色体パッセンジャー複合体
Auroraキナーゼ、INCENP、Survivin、Borealinで構成される複合体。細胞周期の進行に伴い、分裂の前期から前中期には染色体腕部からセントロメアへ、中期、終期になると紡錘体の中央領域、中心体へと局在をダイナミックに変える。

卵巣高反応患者を対象に、初回凍結胚移植による出生率をPPOS法とGnRHant法で比較した無作為化比較試験

A randomized controlled trial to compare the live birth rate of the first frozen embryo transfer following the progestin-primed ovarian stimulation protocol vs. the antagonist protocol in women with an anticipated high ovarian response

Chen ZQ et al. Fertil Steril. 2024; 121(6): 937-945.

PPOS：Progestin-Primed Ovarian Stimulation
GnRHant：ゴナドトロピン放出ホルモンアンタゴニスト

Point

初回凍結胚移植（FET）の患者あたりの出生率をPPOS法とGnRHant法で比べた初の無作為化比較試験であり、有効性は両群間で同等であった。

PPOS群とGnRHant群の初回FETの出生率は、Intention-to-treat（ITT）集団で37.5%（147/392）vs. 32.7%（128/392）、相対リスク1.15（95%CI 0.95, 1.39）、プロトコール集団で44.5%（147/330）vs. 39.1%（128/327）、相対リスク1.14（95% CI 0.95, 1.36）で両群間に有意差は認められなかった。また、臨床的妊娠率、継続妊娠率、流産率、多胎妊娠率、異所性妊娠率、累積出生率においても有意差は認められなかった。

学術的背景

体外受精（IVF）において、卵胞刺激ホルモンのみで卵巣刺激を行うと、刺激周期の約20%で早発排卵が引き起こされる。このため、前周期から下垂体機能を抑制し卵巣刺激を行うGnRHアゴニスト（GnRHa）ロング法が行われてきたが、近年では、GnRHaロング法に代わりGnRHant法が一般的になっている。GnRHant法は、簡便で出生率を低下させることなく、卵巣過剰刺激症候群（OHSS）の発生を低下させる。

一方、刺激周期にプロゲスチン製剤を経口投与することでLHサージを抑制するPPOS法が報告され、中国ではPPOS法を行うIVF施設が増加している。PPOS法は子宮内膜に影響するため新鮮胚移植ができず、全胚凍結が必須である。そのためPPOS法は、全胚凍結が推奨される卵巣高反応患者に対し、OHSSリスク回避と、新鮮胚移植よりFETの出生率が高いことを理由に施行されている。

現在までPPOS法とGnRHant法を比べた報告のほとんどは非無作為化試験かつ胚移植あたりのアウトカムであり、患者あたりの出生率についての有効性は結論づけられていない。

今回、卵巣高反応患者を対象にPPOS法とGnRHant法で無作為化比較試験を行い、初回FETの出生率への影響を比較した。

結果

2020年6月から2021年10月に登録された784例をPPOS群とGnRHant群に無作為割付けした（ITT集団）。胚移植のキャンセルまたは延期を除外した657例をプロトコール集団とした。胚移植できなかった患者数および脱落患者数の割合は両群で同等であった。また、患者背景（カップルの年齢、不妊期間、原発性不妊の割合、BMI、不妊原因、PCOS患者数、血清AMH値、FSH基礎値、基礎胞状卵胞数、ICSI周期数）は両群で同等であった。

排卵誘起日の血清E_2値とLH値はGnRHant群に比べPPOS

表1 初回FET周期の特徴

	PPOS群（n=330）	GnRHant群（n=327）	p値
子宮内膜調整、n（%）			0.76
自然周期	15 (4.5)	19 (5.8)	
ホルモン補充周期	226 (68.5)	220 (67.3)	
低刺激周期	89 (27.0)	88 (26.9)	
子宮内膜厚（mm）、平均±SD	10.3±1.9	9.8±2.0	0.94
単一胚あるいは単一胚盤胞移植周期数、n（%）	330 (100)	327 (100)	1.0
胚のステージ、n（%）			0.45
分割胚	23 (7.0)	28 (8.6)	
胚盤胞	307 (93.0)	299 (91.4)	
良好胚*または胚盤胞の移植数、n（%）	260 (78.8)	246 (75.2)	0.28

＊分割球が6～8個かつグレード1または2の分割胚

群で有意に高かったが、プロゲステロン値に差はみられなかった。また、早発サージはPPOS群で2例認めたが、早発排卵は両群ともみられなかった。子宮内膜厚はPPOS群で有意に薄かった。採卵数、受精卵数、分割胚数、day3の良好胚数、胚盤胞発育、凍結胚または胚盤胞数に両群で差はなかった。

PPOS群330例、GnRHant群327例が初回FETを行った。子宮内膜厚、移植胚数や融解後の良好胚数は両群で同等であった（表1）。

ITT集団とプロトコール集団の両方において、出生率、臨床的妊娠率、継続妊娠率、流産率、多胎妊娠率、異所性妊娠率、累積出生率に有意差は認められなかった（表2）。累積出生率は最大でFET3周期行った。PPOS群330例456周期、GnRHant群327例445周期を対象とした。

また、産科合併症の発生率は両群で同等であり、中等症および重症OHSSの発生はみられなかった。

まとめ

卵巣高反応患者におけるPPOS法およびGnRHant法を用いた初回FET周期の出生率は同等であった。

Keyword

PPOS (Progestin-Primed Ovarian Stimulation) 法
2015年に初めて報告された比較的新しい卵巣刺激法だが本邦でも定着しつつあり、生殖医療ガイドラインでも取り上げられている。各薬剤の使用例として、月経2～5日目よりMPA 2.5～15mgを1～3回に分割経口、もしくはDYG 1日5～20mgを1～3回に分割経口、クロルマジノン酢酸エステルとして1日2～12mgを1～3回に分割経口投与し、採卵日前日まで継続する方法が紹介されている。

表2 初回FET周期の妊娠アウトカムと累積出生率

	PPOS群	GnRHant群	相対リスク(95%CI)	p値
ITT集団	n=392	n=392		
出生率、% (n)	37.5 (147/392)	32.7 (128/392)	1.15 (0.95, 1.39)	0.16
臨床的妊娠率、% (n)	42.3 (166/392)	38.3 (150/392)	1.11 (0.93, 1.31)	0.24
継続妊娠率、% (n)	38.3 (150/392)	33.2 (130/392)	1.15 (0.96, 1.39)	0.14
流産率、% (n)	9.6 (16/166)	13.3 (20/150)	0.72 (0.39, 1.34)	0.30
多胎妊娠率、% (n)	0 (0/166)	0.7 (1/150)	-	0.29
異所性妊娠率、% (n)	1.8 (3/169)	0	-	0.10
累積出生率、% (n)	54.6 (214/392)	48.5 (190/392)	1.13 (0.98, 1.29)	0.09
プロトコール集団	n=330	n=327		
出生率、% (n)	44.5 (147/330)	39.1 (128/327)	1.14 (0.95, 1.36)	0.16
臨床的妊娠率、% (n)	50.3 (166/330)	45.9 (150/327)	1.10 (0.94, 1.29)	0.26
継続妊娠率、% (n)	45.5 (150/330)	39.8 (130/327)	1.14 (0.96, 1.37)	0.14
流産率、% (n)	9.6 (16/166)	13.3 (20/150)	0.72 (0.39, 1.34)	0.30
多胎妊娠率、% (n)	0 (0/166)	0.6 (1/150)	0.74 (0.39, 1.41)	0.29
異所性妊娠率、% (n)	1.8 (3/169)	0	-	0.10
累積出生率、% (n)	64.8 (214/330)	58.1 (190/327)	1.12 (0.99, 1.26)	0.08

試験概要

試験デザイン	無作為化比較試験
対象患者	卵巣刺激の時点で43歳未満であり、初回体外受精を受ける、月経周期の2～5日目に経腟超音波検査で胞状卵胞数(AFC)が15超の女性
主な除外基準	ドナー精子または卵子、未治療の卵管水腫、月経2～5日目に$E_2$100pg/mL超かつ卵巣嚢腫がある、など
プロトコール	対象をPPOS群(n=392)とGnRHant群(n=392)群に無作為割付けした。月経2～3日目から卵胞数、年齢、BMIに合わせて hMGまたはrFSHを150～225IU/日投与し、卵巣刺激を行った。PPOS群はメドロキシプロゲステロン酢酸エステル(MPA 10mg/日)またはジドロゲステロン(DYG 20mg/日)を卵巣刺激開始日から排卵誘起日まで投与した。GnRHant群は卵巣刺激6日目から排卵誘起日までガニレリクス酢酸塩(0.25mg/日)を投与した。経腟超音波検査により径が18mm以上の卵胞を3個確認したのち、最終卵胞成熟を行い約36時間後に採卵した。内細胞塊または栄養外胚葉のいずれかがガードナー分類B以上の胚盤胞を使用可としガラス化法で凍結保存した注)。刺激周期から2ヵ月以内にFETを行った。
臨床アウトカム	【主要】初回FET周期の出生率(妊娠22週以降)【副次】臨床的妊娠率、継続妊娠率、流産率、多胎妊娠率、無作為化後6ヵ月以内の累積出生率、など
統計解析	無作為化された全参加者を含むITT集団と、初回FETを完遂したプロトコール集団で解析を行った。連続変数はStudent t検定とMann-Whitney U検定、カテゴリー変数にはχ^2検定を行った。主要評価項目に対する両群間の比較はロジスティック回帰分析を行い、両側検定で$p<0.05$を統計的有意とした。

注)患者の希望により分割胚までの培養に留め凍結保存した数名を含む

ベトナムでの自然周期、自然周期変法、またはホルモン補充周期における凍結胚移植後の出生率

Livebirth rate after one frozen embryo transfer in ovulatory women starting with natural, modified natural, or artificial endometrial preparation in Viet Nam: an open-label randomised controlled trial
Ho VNA et al. Lancet. 2024; 404(10449): 266-275.

Point

自然周期、自然周期変法、またはホルモン補充周期における凍結胚移植後の出生率に差は認められなかった。

ベトナム単施設で、凍結胚移植（FET）に適応のある女性1,428例を対象に、自然周期、自然周期変法、またはホルモン補充周期におけるFETの有効性および安全性を非盲検無作為化試験で比較した。Intention-to-treat（ITT）集団における初回のFET後の出生率は自然周期で37%、自然周期変法で33%、ホルモン補充周期で34%であり、有意差は認められなかった。

学術的背景

近年、胚の凍結保存技術（ガラス化法）の進歩により、体外受精（IVF）におけるFETの幅広い導入が可能になった。多嚢胞性卵巣症候群や卵巣反応性が高い女性においては、出生率の向上と卵巣過剰刺激症候群リスクの低減を図る上で、全胚凍結は最善のアプローチとされ、FETによるIVFはさらに増加している。

FETでは、妊娠を成立させるために適切な子宮内膜環境が必要となる。現在の診療では、子宮内膜環境の準備として自然周期、自然周期変法、およびホルモン補充周期が一般的に使用されているが、自然周期は、侵襲性が低くホルモン剤の潜在的な副作用を回避する利点がある一方で、柔軟性が低く失敗率が高い。ホルモン補充周期では妊娠合併症（妊娠高血圧腎症、巨大児、分娩後異常出血を含む）の発症率が高いことが報告されている。

2017年のコクランレビューでは、自然周期、自然周期変法、ホルモン補充周期で妊娠率、流産率、出生率に有意差はないことが明らかにされた。しかし、これらの周期を直接比較した研究はほとんどなく、妊娠率や出生率に与える影響は十分示されていない。今回、自然周期、自然周期変法、またはホルモン補充周期における有効性と安全性を、大規模無作為化試験により比較検討した。

結果

ベトナム単施設において2021年3月22日から2023年3月14日の間に4,779例の女性がスクリーニングを受け、適格基準を満たした1,428例が1：1：1に非盲検で無作為化された（各群476例）。患者背景は群間でバランスが取れていた。

初回のFET周期では、自然周期と自然周期変法でそれぞれ21%（99例）が中止されたのに対し、ホルモン補充周期では中止された症例はなかった。中止理由で最も多かったのは、卵胞が発育しないことであった［自然周期68%（67例）、自然周期変法67%（66例）］。なお、ホルモン補充周期で中止されなかったのは、子宮異常のある女性を除外したこと、エストラジオールの投与（8mg/日）などによる影響が考えられた。

初回のFET後の出生率は、自然周期で37%（174例）、自然周期変法で33%（159例）、ホルモン補充周期で34%（162例）と、自然周期または自然周期変法とホルモン補充周期とで有意差は認められなかった（表）。

ホルモン補充周期による12週未満の流産率は、自然周期および自然周期変法よりもわずかに高かったが、有意ではなかった（8% vs. 6% vs. 5%）。妊娠高血圧症候群発症率の群間差もわずかであった（3% vs. 2% vs. 2%）。本研究では母体および新生児合併症発症率の群間差の検出力は有していなかったが、患者特性（若くて、排卵周期を有し、痩せている）や、本施設で行われたハイリスク例に対する予防的アスピリン投与の影響なども結果に影響を与えた可能性がある。なお、継続妊娠例における妊娠高血圧症候群の発症率は、ホルモン補充周期で7%であったのに対し、自然周期および自然周期変法では6%および5%であった（表）。

その他の妊孕性アウトカム（妊娠陽性率、臨床的妊娠率、継続妊娠率、着床率、異所性妊娠率、多胎率）および周産期アウトカムは、3つの群間で同様であった。

まとめ

自然周期、自然周期変法、またはホルモン補充周期におけるFET後の出生率に差は認められなかった。安全性に関してはさらなる検討が求められる。

Keyword

ガラス化法
胚の凍結保存技術において近年主流となっているガラス化法は、細胞内への凍結保護物質の浸透と超急速冷却により、細胞内の氷晶形成を防ぐことができる。受精卵と比べて体積が大きく球形の卵子は、急激な浸透圧変化による物理的影響を受けやすいが、ガラス化法では卵子、受精卵とも融解後の生存率が高い。

表　主な臨床アウトカムの結果（ITT解析）

	自然周期*（476例）	自然周期変法*（476例）	ホルモン補充周期*（476例）	相対リスク（95%CI）	
				自然周期 vs. ホルモン補充周期	自然周期変法 vs. ホルモン補充周期
妊孕性アウトカム、% (n)					
初回のFET後の出生率	37 (174)	33 (159)	34 (162)	1.07 (0.87, 1.33)	0.98 (0.79, 1.22)
妊娠陽性率	48 (228)	47 (224)	49 (232)	0.98 (0.82, 1.18)	0.97 (0.80, 1.16)
臨床的妊娠率	44 (209)	42 (198)	43 (205)	1.02 (0.84, 1.24)	0.97 (0.79, 1.17)
継続妊娠率	37 (177)	34 (164)	35 (165)	1.07 (0.87, 1.33)	0.99 (0.80, 1.23)
着床率	35 (227/645)	32 (209/659)	34 (216/633)	1.03 (0.89, 1.20)	0.93 (0.80, 1.09)
異所性妊娠率	1 (5)	2 (10)	<1 (4)	1.25 (0.33, 5.05)	2.50 (0.84, 9.11)
流産率					
12週未満	6 (27)	5 (24)	8 (36)	0.75 (0.45, 1.23)	0.67 (0.39, 1.11)
12週以上20週未満	<1 (3)	1 (5)	<1 (3)	1.00 (0.19, 5.40)	1.67 (0.41, 8.13)
多胎率	2 (11)	2 (8)	2 (8)	1.37 (0.56, 3.55)	1.00 (0.37, 2.72)
周産期アウトカム、% (n)				自然周期中止後のホルモン補充周期 vs. ホルモン補充周期	自然周期変法 vs. ホルモン補充周期
妊娠糖尿病発症率	9 (44)	8 (37)	7 (32)	1.37 (0.88, 2.18)	1.16 (0.72, 1.87)
妊娠高血圧症候群発症率	2 (10)	2 (8)	3 (12)	0.83 (0.35, 1.93)	0.67 (0.26, 1.61)
継続妊娠例における妊娠高血圧症候群発症率	6 (10/177)	5 (8/164)	7 (12/165)	0.78 (0.33, 1.80)	0.67 (0.26, 1.62)
低出生体重（単胎）発症率	1 (6)	2 (8)	1 (5)	1.20 (0.36, 4.16)	1.60 (0.53, 5.30)
重大な先天異常発症率§	<1 (1)	<1 (2)	<1 (1)	1.00 (0.04, 25.3)	2.00 (0.19, 43.00)
新生児死亡発症率	<1 (1)	0	<1 (1)	1.00 (0.04, 25.30)	-

*：2回目の周期（2回目は全てホルモン補充周期）におけるFET後の結果を含む
§：自然周期：心室中隔欠損症1例、自然周期変法：妊娠中絶に至った先天異常2例（ダウン症1例、嚢胞性ヒグローマ1例）、ホルモン補充周期：先天性筋性斜頸1例

試験概要

試験デザイン	単施設非盲検無作為化比較試験
対象患者	定期的な月経周期があり、過去FETを受けた回数が3回以下のFETに適応のある18～45歳の女性
主な除外基準	閉経または無排卵の既往、ホルモン剤投与の禁忌、子宮異常（腺筋症、子宮内癒着、直径5cm超の平滑筋腫など）、体外成熟や着床前遺伝子検査、あるいは卵子提供を含む周期を有する女性
プロトコール	自然周期では、血清エストラジオールおよび黄体形成ホルモン（LH）濃度の測定は、主席卵胞の平均直径が14mm以上の場合に実施した。自然周期において21日後に卵胞の発育またはLHサージの開始が検出されない場合は移植を中止し、ホルモン補充療法に切り替えた。自然周期変法では、主席卵胞の平均直径が16mm以上の場合、排卵誘発のためにヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）を投与した。自然周期変法において21日後に卵胞の発育がない場合、直径16mm以上の主席卵胞がない場合、またはhCG投与前に予期しない自然排卵があった場合は移植を中止し、ホルモン補充療法に切り替えた。ホルモン補充周期では、吉草酸エストラジオール8mg/日を月経2～4日目から経口投与、6日目以降に子宮内膜厚が7mm以上に達した時点でプロゲステロン800mg/日の経腟投与を開始した。主席卵胞が出現した場合、血清LH値が13IU未満、プロゲステロン値が15nmol/L未満であればFETを実施した。21日以上のエストラジオール投与後に子宮内膜厚が7mm未満、または主席卵胞が出現した場合はホルモン補充周期を中止し、再度ホルモン補充療法を行った。胚はCryotechガラス化法を用いて凍結保存し、1～2個の3日目胚または5日目胚1個を超音波ガイド下で融解移植した。ホルモン補充周期では、妊娠7週まで吉草酸エストラジオール8mg/日、妊娠10週まで腟用微量プロゲステロン800mg/日を継続した。自然周期および自然周期変法では、黄体補充は行わなかった。
臨床アウトカム	【主要】初回のFET後の出生率【副次】子宮内膜準備周期の中止率、その他の妊孕性（着床率、妊娠陽性率、臨床的妊娠率、継続妊娠率、多胎率）、妊娠初期合併症（異所性妊娠率または流産率）など
統計解析	主要解析はITT集団で行った。探索的にper-protocol集団の解析（PP解析）を行った。2組の介入群（自然周期 vs. ホルモン補充周期、自然周期変法 vs. ホルモン補充周期）の主要アウトカムをFisherの直接確率検定を用いて解析し、相対リスクおよび95%CIを示した。副次アウトカム変数の群間差は、正規分布またはskew変数に対してStudent t検定またはWilcoxonの符号順位検定を、カテゴリー変数に対してFisherの直接確率検定を用いて解析し、相対リスクおよび95%CIを示した。

2025年5月作成
OTH25SB0005