

# Obstetric and neonatal outcomes after the transfer of vitrified-warmed blastocysts developing from nonpronuclear and monopronuclear zygotes: a retrospective cohort study

*Fertility and Sterility® Vol. 115, No. 1, January 2021 0015-0282*

## 「0PNまたは1PN由来胚盤胞を移植した場合の妊娠および新生児の転帰について」

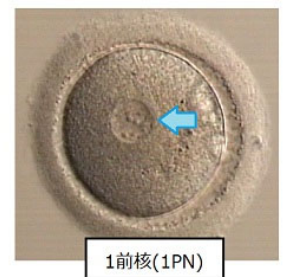
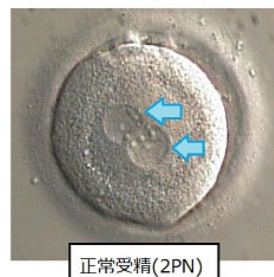
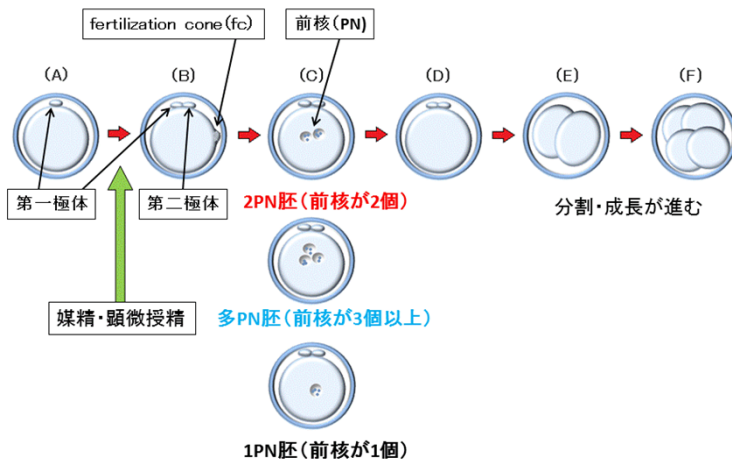
目的：0PNまたは1PN由来胚盤胞を移植した場合の妊娠および新生児の転帰について評価する。  
 デザイン：コホート研究  
 対象：0PN由来胚盤胞移植した435周期（151人）、1PN由来胚盤胞移植した281周期（75人）、2PN由来胚盤胞移植した13,167周期（4,555人）によるレトロスペクティブ分析。  
 主な結果評価項目：妊娠率（PR）、流産率（AR）、生児出生率（LBR）、単胎児出生体重。  
 結果：融解胚移植後の0PN群と2PN群で比較すると、妊娠率、流産率、生児出生率は同程度であった。しかし、0PN群では、出生時体重やZスコアが高く、妊娠期間に対して非常に大きい新生児の割合が多かった。1PN群と2PN群を比較すると、妊娠率は同程度であったのに対し、流産率は高く、生児出生率は低いことがわかった。その他の新生児の結果・評価には差が認められなかった。  
 結論：2PN由来の胚盤胞移植と比較して、1PN由来の胚盤胞移植では流産率が高く、生児出生率が低いこと、0PN由来の胚盤胞移植では出生体重が高いことから、2PNの胚盤胞移植を優先すべきである。今回のデータは、1PNおよび0PN胚移植の安全性について懸念事項があることを示している。（Fertil Steril 2021;115: 110-17. 2020年米国生殖医学会による）

### （背景）

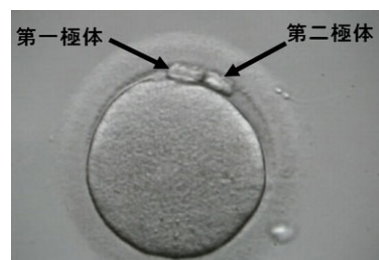
生殖補助医療において、正常な受精は、受精後16～18時間後に2つの極体と細胞質内にある2個の前核（2PN）の存在によって確認される。受精確認の際、0前核（0PN）および1前核（1PN）の卵も見られるが、一般的にそれらは受精の異常または失敗によるものだと考えられている。しかし、0PNまたは1PNであっても正常に受精している場合もあり、順調に胚発育し、胚盤胞まで到達することは珍しいことではない。品質（グレード）についても、2PN由来の高品質な胚盤胞と同等の形態を示すことがある。また0PNや1PNの胚を移植した結果、健康な子供が生まれてくる例も数多く報告されている。

### 参考資料

受精丘：精子が卵に接触する直前または接触後に卵表面に一時的に現われる小突起



前核未形成？片方の核膜消失？  
前核融合？



前核形成前？前核融合前？前核融合後？

胚盤胞のガラス化技術の進歩により、0PNおよび1PN由来の胚を胚盤胞まで培養後凍結し、凍結融解周期で移植すると、2PN由来の胚盤胞を用いた移植と同様の結果が得られるとの報告もある。これらの知見が正しければ、2PN由来胚盤胞の移植を優先する必要はないのではないかと考えられる。しかし、これらの先行研究は研究方法やサンプルサイズが不十分であり、臨床妊娠率（PR）、流産率（AR）、出生率（LBR）に関する産科的結論には大きな限界がある。また、新生児の転帰と評価するための主要な基準である出生体重に関する情報が不足している。

- ・ 0PN、1PN、2PN由来胚の結果に本当に違いがあるのか？
- ・ 2PN由来胚盤胞の移植を優先しなければならないのか？
- ・ 2PN由来の胚盤胞がない場合、0PNや1PN由来胚盤胞を優先すべきなのか？

（目的）

OPNおよび1PN由来の凍結融解単一胚盤胞を移植後の妊婦と新生児の転帰を評価する。

（方法）

研究デザイン：後ろ向きコホート研究  
 期間：2012年3月～2019年3月

凍結融解周期における単一胚盤胞移植の移植成績および生まれた単胎児をOPN、1PN、2PNで比較検討

研究対象

OPN：151人/435周期  
 1PN：75人/281周期  
 2PN：4,555人/13,167周期

（成果パラメータ）

流産に至った妊娠は、早期流産（12週未満）、後期流産（12週以上）に分類。  
 妊娠年齢は胚盤胞移植の日+19日で算出。  
 早産は妊娠週数37週未満での分娩、後産は妊娠週数42週以上の分娩。

超低出生体重児（Very LBW）は1,500 g 未満、低出生体重児(LBW)は2,500 g 未満  
 高出生体重児は4,500 g 以上と定義。

妊娠期間が非常に短い（Very SGA）および妊娠期間が短い（SGA）の新生児は、それぞれ体重が3%未満および10%未満と定義。  
 妊娠期間が非常に長い（Very LGA）および妊娠期間が長い（LGA）の新生児は、それぞれ体重が97%以上および90%以上の出生体重と定義。

出生体重は妊娠年齢の影響を強く受けるので、この影響を排除するために出生体重zスコアを用いた。INTERGROWTH-21stの参考文献（15）に従って、新生児の性別と妊娠期間を調整した出生体重zスコアを算出した。

（結果）

テーブル① BL移植後の妊娠転帰に関する結果

**TABLE 1**  
 Results of logistic regression analysis of obstetric outcomes in nonpronuclear zygotes, monopronuclear zygotes, and two-pronuclear zygotes.

Result	OPN (n = 435)	1PN (n = 281)	2PN (n = 13,167)	OPN vs. 2PN		1PN vs. 2PN	
				Unadjusted OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)	Unadjusted OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)
臨床妊娠率 PR	45.52 (198/435)	41.28 (116/281)	46.23 (6,087/13,167)	0.973 (0.802–1.177)	1.012 (0.806–1.270)	0.818 (0.643–1.039)	0.792 (0.580–1.082)
流産率 AR	21.72 (43/198)	33.62 (39/116)	23.84 (1,451/6,087)	0.914 (0.64–1.305)	1.003 (0.616–1.546)	1.668 (1.111–2.505)	1.764 (1.065–2.974)
前期流産率 Early AR	17.17 (34/198)	22.41 (26/116)	19.98 (1,216/6,087)	0.952 (0.665–1.361)	0.945 (0.615–1.481)	1.370 (0.876–2.142)	1.415 (0.767–2.497)
後期流産率 Late AR	4.55 (9/198)	11.21 (13/116)	3.86 (235/6,087)	1.295 (0.697–2.407)	0.557 (0.163–1.759)	3.266 (1.807–5.903)	3.231 (1.413–6.639)
出生率 BR	35.63 (155/435)	27.40 (77/281)	35.20 (4,636/13,167)	1.019 (0.834–1.244)	1.052 (0.830–1.333)	0.695 (0.533–0.906)	0.697 (0.493–0.987)
生児出生率 LBR	35.63 (155/435)	27.40 (77/281)	35.13 (4,626/13,167)	1.022 (0.837–1.248)	1.056 (0.833–1.338)	0.697 (0.535–0.908)	0.701 (0.496–0.992)

Note: Data presented as % (n/N) or odds ratio (95% confidence interval), unless stated otherwise. OPN = nonpronuclear zygotes; 1PN = monopronuclear zygotes; 2PN = two-pronuclear zygotes; AR = abortion rate; BR = birth rate; CI = confidence interval; LBR = live birth rate; OR = odds ratio; PR = clinical pregnancy rate.  
 11. Outcomes of OPN and 1PN transfer. Fertil Steril 2020.

OPNと2PNを比べた場合、臨床妊娠率、流産率、出生率、生児出生率に差はなかった。  
 1PNと2PNを比較した場合、臨床妊娠率に差はなかった。  
 1PNでは流産率、特に後期流産率が高く、出生率や生児出生率が低くなっていた。

テーブル② 新生児の転帰に関する結果 新生児の在胎期間や出生体重などについて

TABLE 2

Neonatal outcomes of singleton live births in nonpronuclear zygotes, monopronuclear zygotes, and two-pronuclear zygotes.

Outcome	OPN (n = 151)	1PN (n = 75)	2PN (n = 4,555)	P value (OPN vs. 2PN)	P value (1PN vs. 2PN)	
平均妊娠期間	Mean gestational age (wk)	38.30 ± 1.52	38.25 ± 1.42	38.34 ± 1.77	0.792 <sup>a</sup>	0.685 <sup>a</sup>
	<36	14 (9.27)	9 (12.00)	432 (9.48)	0.930 <sup>b</sup>	0.462 <sup>b</sup>
	37-41	136 (93.59)	65 (89.69)	4101 (90.55)	0.989 <sup>b</sup>	0.336 <sup>b</sup>
	≥42	1 (0.66)	1 (1.33)	22 (0.48)	1.000 <sup>c</sup>	0.833 <sup>c</sup>
出生体重	Birthweight (g)	3,438.31 ± 548.66	3,362.27 ± 520.51	3,379.58 ± 521.22	0.169 <sup>a</sup>	0.775 <sup>a</sup>
	z score	0.83 ± 1.00	0.67 ± 1.10	0.69 ± 0.96	0.176 <sup>a</sup>	0.608 <sup>a</sup>
超低出生体重	Very LBW (<1,500 g)	0 (0.00)	0 (0.00)	25 (0.55)	1.000 <sup>d</sup>	1.000 <sup>d</sup>
低出生体重	LBW (<2,500 g)	5 (3.31)	3 (4.00)	182 (4.00)	0.832 <sup>b</sup>	1.000 <sup>c</sup>
高出生体重	HBW (>4,500 g)	4 (2.64)	2 (2.67)	51 (1.12)	0.182 <sup>c</sup>	0.483 <sup>c</sup>
超低身長	Very SGA (<3rd percentile)	0 (0.00)	1 (1.33)	27 (0.59)	1.000 <sup>d</sup>	0.944 <sup>c</sup>
低身長	SGA (<10th percentile)	2 (1.32)	2 (2.67)	80 (1.77)	0.934 <sup>c</sup>	0.880 <sup>c</sup>
在胎不当過大	LGA (>90th percentile)	46 (30.46)	17 (22.67)	1,221 (26.80)	0.319 <sup>b</sup>	0.422 <sup>b</sup>
	Very large for gestational age (>97th percentile)	26 (17.21)	8 (10.66)	486 (10.66)	0.011 <sup>b</sup>	0.999 <sup>b</sup>
新生児の性別	Newborn sex				0.591 <sup>b</sup>	0.496 <sup>b</sup>
	Male	88	45	2,554		
	Female	63	30	2,001		
性比 男/女	Sex ratio, male/female	1.39	1.50	1.28	NA	NA
奇形	Malformations	2 (1.32)	0 (0.00)	57 (1.25/4555)	1.000 <sup>c</sup>	1.000 <sup>d</sup>

Note: Data are presented as the number (%) or mean ± standard deviation, unless stated otherwise. Statistical significance was defined as  $P < .025$ . OPN = nonpronuclear zygotes; 1PN = monopronuclear zygotes; 2PN = two-pronuclear zygotes; HBW = high birthweight; LBW = low birthweight; LGA = large for gestational age; NA = not applicable; SGA = small for gestational age.  
<sup>a</sup> One-way analysis of variance.  
<sup>b</sup> Pearson  $\chi^2$  test.  
<sup>c</sup> Continuity correction test.  
<sup>d</sup> Fisher's exact test.

0PNと2PNを比較した場合very LGA児の割合が2PNに比べて0PNで高いことがわかった。  
 LGAはlarge for gestationalの略で、日本語にすると在胎不当過大と呼ばれる。  
 同じ在胎期間で生まれた新生児の90%が占める体重分布よりも体重が重い（90%以上）新生児は、在胎期間に比べて大きい（在胎不当過大）とみなされます。  
 ちなみにvery LGAは97%以上のことを言う。

テーブル③ 様々な交絡因子を調整後の解析結果

TABLE 3

Results of multiple regression analysis of gestation age, birthweight, and z score in singleton live births.

Variable	$\beta$	OPN vs. 2PN			1PN vs. 2PN				
		95% CI	Std. error	P value	$\beta$	95% CI	Std. error	P value	
出生体重	Gestation age (wk)	0.081	-0.258 to 0.421	0.173	0.639	0.249	-0.229 to 0.727	0.244	0.308
Zスコア	Birthweight (g)	106.400	23.101 to 189.699	42.489	0.012	-48.462	-165.824 to 68.901	73.103	0.994
	z score	0.202	0.015 to 0.389	0.095	0.034	-0.138	-0.401 to 0.125	0.134	0.304

Note: Statistical significance was defined as a  $P$  value  $< .05$ . OPN = nonpronuclear zygotes; 1PN = monopronuclear zygotes; 2PN = two-pronuclear zygotes; CI = confidence interval; Std. = standard.

Li. Outcomes of OPN and 1PN transfer. Fertil Steril 2020.

OPNと2PNを比較した場合、出生体重とZスコアが2PNに比べてOPNで高いことが分かった。  
 一方、1PNと2PNの間では差は認められなかった。

テーブル④ 交絡因子を調整後の解析結果

TABLE 4

Results of logistic regression analysis of abnormal delivery and abnormal birthweight in singleton live births.

Variable	OPN vs. 2PN		1PN vs. 2PN		
	Unadjusted OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)	Unadjusted OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)	
低出生体重	Premature delivery	0.975 (0.558-1.705)	0.681 (0.313-1.483)	1.301 (0.644-2.630)	0.763 (0.272-2.142)
高出生体重	Postmature delivery	1.374 (0.184-10.258)	1.898 (0.243-14.817)	2.784 (0.370-20.930)	5.757 (0.697-47.550)
低身長	LBW (<2,500 g)	0.823 (0.333-2.031)	0.379 (0.047-3.086)	1.001 (0.312-3.208)	2.269 (0.475-10.838)
在胎不当過大	HBW (>4,500 g)	2.403 (0.857-6.737)	2.180 (0.652-7.280)	2.420 (0.578-10.127)	1.438 (0.188-11.005)
	SGA (<10th percentile)	0.751 (0.183-3.083)	0.549 (0.075-4.003)	1.533 (0.370-6.353)	1.097 (0.148-8.147)
	LGA (>90th percentile)	1.196 (0.841-1.702)	1.301 (0.853-1.982)	0.800 (1.464-1.380)	0.586 (0.283-1.215)
	Very large for gestational age (>97th percentile)	1.741 (1.130-2.685)	1.976 (1.191-3.279)	1.000 (0.477-2.094)	0.700 (0.252-1.994)

Note: OPN = nonpronuclear zygotes; 1PN = monopronuclear zygotes; 2PN = two-pronuclear zygotes; CI = confidence interval; HBW = high birthweight; LBW = low birthweight; LGA = large for gestational age; OR = odds ratio; SGA = small for gestational age.

Li. Outcomes of OPN and 1PN transfer. Fertil Steril 2020.

OPNと2PNを比べた場合very LGA(在胎不当過大)の割合が2PNに比べてOPNで高いことが分かった。

(考察)

#### ▼OPNについて

OPN胚盤胞の臨床妊娠率、流産率、出産率は2PN由来胚盤胞と同等であり、過去の報告と一致していた。この論文の著者らは、これらの結果は、移植された胚盤胞の遺伝的状态と関係があるのでは、と推察している。その根拠として、過去に2PN胚では69.3%が正常な染色体状態であったのに対し、OPN胚では64.7%であったということが報告されている。また、0PN群と2PN群では片親性二倍体の割合は同程度であったという報告もある。そのため本研究の結果と過去の知見から、0PN由来胚盤胞が2PN由来胚盤胞と同様の染色体組成を示すことから、臨床での使用が可能であると考えられる。また、この研究では、OPNは出生体重の増加とvery LGA新生児の高いリスクと関連していることがわかった。

#### 【先行研究】

- ・複数の研究でエピジェネティックな変化が新生児の転帰に影響を与えていると報告。
- ・新生児のメチル化パターンが出生体重と関連している。
- ・受精後の雄の前核でDNAの脱メチル化が起こることが確認されている。

〈出生体重の増加やLGAの何が問題なのか〉

まず母体に対する影響としては胎児が大きくなることで難産になる可能性がある。胎児については、産道を通る時に傷ついてしまったり、低血糖や肺の問題が考えられる。また、乳児や児童期については、肥満や心疾患、高血圧、高脂血症、糖尿病などの生活習慣病のリスク上昇が考えられる。

また最近ではDoHaD（ドーハッド：Development origins of Health and Disease）仮説というものが提唱されている。

「胎児期や生後早期の環境因子が成人になってからの健康や特定の病気へのかかりやすさに影響を及ぼす」という概念。

これまで低体重出生児および（LGAの逆パターンである）SGA児に関しては、生活習慣病のリスクが高いことはよく知られていた。

しかし最近では、LGA児でも同様に、そのリスクが高いことが知られつつある。

そのためOPNではLGA児の子の割合が増えていった点はさらなるフォローアップが必要であると考えられる。

#### ▼1PNについて

1PN由来胚盤胞を2PN由来胚盤胞と比較すると、臨床妊娠率は同等であったが、流産率が高く、出産率、および生児出産率が低下することがわかった。

これらの結果に関して著者らは、移植された胚盤胞の遺伝的状态が関係しているのではと推察している。

#### 【先行研究】

その根拠として、2PN胚では69.39%が正常な染色体状態であったのに対し、1PN胚では50.0%であるという報告がある。

多くの研究では1PN胚では片親性の染色体構成をもつという報告がある。

また、1PNの胚盤胞は単為発生由来であるということも確認されている。

これらの結果から、1PN由来胚盤胞は片親性二倍体の可能性があり、さらなる検証が必要となってくる。

2PN由来胚盤胞がない場合に、1PN由来胚盤胞を移植することは可能だが、患者に遺伝カウンセリングを行い、十分な情報を提供すべきである。

#### (結論)

最後に、2PN由来胚盤胞と比較して、1PN由来胚盤胞では流産率が高く、出産率が低いこと、OPN由来胚盤胞では過大児のリスクが高いことから、2PN由来胚盤胞を優先すべきであることを示している。

2PN由来胚盤胞が得られない場合には、OPNまたは1PN由来胚盤胞を移植することも可能だが、関連するリスクに関して十分に理解する必要がある。