

# No effect of ovarian stimulation and oocyte yield on euploidy and live birth rates: an analysis of 12 298 trophoctoderm biopsies

M Irani<sup>1</sup>, C Canon<sup>2</sup>, A Robles<sup>2</sup>, B Maddv<sup>3</sup>, V Gunnala<sup>1</sup>, X Oin<sup>1</sup>, C Zhang<sup>1</sup>, K Xu<sup>1</sup>, Z Rosenwaks<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The Ronald O. Perleman and Claudia Cohen Center for Reproductive Medicine, Weill Cornell Medicine, New York, NY 10021, USA,

<sup>2</sup>Obstetrics and Gynecology, New York Presbyterian/Weill Cornell Medicine, New York, NY 10021, USA, <sup>3</sup>Weill Cornell Medicine, New York, NY 10021, USA

「卵巣刺激はユープロイド率と生児獲得率に影響を与えない：  
12,298個のTE生検解析」※ユープロイド=正倍数性

## 要約

### 目的

卵巣刺激はユープロイド率やユープロイド胚移植後の生児獲得率に影響するのか調べたい。

### 結果要約

ユープロイド率とユープロイド胚移植後の生児獲得率は、女性年齢に関係なく以下の項目の影響による有意な差がなかった；ゴナドトロピン投与量、卵巣刺激日数、E2最大値、トリガー時の卵胞サイズ、採卵個数。

### 先行研究でわかっていること

異数性率は加齢により上昇し、女性が43y以上だと80%を超える。卵巣刺激の目的は複数の卵子を得ることにより高年女性での異数性率の高さを克服することである。卵子が複数得られれば、ユープロイド胚を得る確率が上昇し、健康な胎児を得ることができる。しかし、刺激に対する高い反応性は胚毒性になる可能性があり、減数分裂時の不分離が促進され異数性率が上昇することを示す研究報告もある。さらに最近の研究では、42か所の生殖医療施設における若年卵子ドナーでのユープロイド率が39.5-82.5%と非常に差があり、卵巣刺激法の違いに原因がある可能性がある。

### 方法

レトロスペクティブコホート研究。IVF/PGT-A2230周期、凍結融解単一胚盤胞移植930周期。著者の1施設での2013-2017年のデータ。

12,298個の胚にPGT-Aを実施した。研究対象者の女性は年齢により5群に分けた(<35, 35-37, 38-40, 41-42, >42歳)。結果は以下の項目の違いで比較した；刺激日数(<10, 10-12, ≥13日)、ゴナドトロピン総投与量(<4000, 4000-6000, >6000単位)、採卵個数(<10, 10-19, ≥20個)、E2最大値(<2000, 2000-3000, >3000 pg/mL)、トリガー日の最大卵胞径(<20, ≥20 mm)。

### 結果

ゴナドトロピン総投与量、刺激日数、採卵個数、最大卵胞径、E2最大値の違いに関係なく、各年齢群ではユープロイド率と生児獲得率に有意差は見られなかった。例として、最も若年群(<35歳, n = 3469胚)では以下のように卵巣刺激の各項目に違いがあってもユープロイド率に有意差はなかった；ゴナドトロピン総投与量(<4000 単位で55.6%、4000-6000単位で52.9%、>6000 単位で62.3%；P = 0.3)、刺激日数(<10日で54.4%、10-12日で55.2%、>12日で60.9%；P = 0.2)、採卵個数(<10個で59.4%、10-19個で55.2%、≥20個で53.4%；P = 0.2)、E2最大値(E2 < 2000 pg/mLで55.7%、E2 2000-3000 pg/mLで55.4%、E2 > 3000 pg/mLで54.8%；P = 0.9)、最大卵胞径(<20 mmで55.6%、≥20 mmで55.1%；P = 0.8)。同様の例として、最も年齢の高い群(>42歳, n = 1157胚)でのユープロイド率は、ゴナドトロピン投与量<4000単位で8.7%、>6000単位で5.1%でp=0.3；刺激日数は<10日で10.8%、>12日で8.5%でp=0.3；採卵個数<10は7.3%、≥20は7.4%(p=0.4)；E2最大値<2000 pg/mLは8.8%、>3000 pg/mLは7.5%でp=0.8；最大卵胞径<20 mmは8.2%、≥20 mmは8.9%でp=0.7だった。凍結融解単一胚盤胞移植後の生児獲得率も同様に、各群で有意差はなかった。

### 注意

本研究はサンプルサイズが大きく(2230 IVF/PGT-A 周期、12,298 胚、930移植周期)、異数性とユープロイド胚着床という側面での卵巣刺激の安全性を説明しているが、1施設での研究なので、複数施設の共同研究をすれば本研究のデータが一般化できるかもしれない。

### 結論

ゴナドトロピン投与量・卵巣刺激日数・E2最大値・トリガー時の卵胞サイズ・採卵個数は、ある一定の範囲内であれば、女性の年齢に関係なくユープロイド率や生児獲得率に影響がないと考えられるので、医療者と患者を安心させるだろう。

## 背景

- ・ 女性年齢35yを超えると異数性率が上昇し妊娠率の低下と流産率の上昇が生じる。
- ・ 卵巣刺激により複数の卵子を得ることで高年女性においてユープロイド胚率が上昇することが期待されるが、同時にOHSSなどの合併症リスクが上昇する。
- ・ 卵巣刺激への反応が強いと、胚毒性があり、減数分裂の分離エラーによる異数性率が上昇する可能性が報告されている (Vogel and Spielmann 1992; Valbuena et al. 2001; Van der Auwera and D'Hooghe 2001; Lee et al. 2005; Roberts et al. 2005; Baart et al. 2007)。
- ・ ゴナドトロピン製剤の多量投与により異数性率が高くなるという報告もある (Sachdeva et al. 2018)。
- ・ 42施設における若年女性の卵子ドナーでのユープロイド率は39.5-82.5%と差が大きいという報告から、卵巣刺激法の違いによりユープロイド率が変化している可能性がある (Munne et al. 2017)。
- ・ 外因性ゴナドトロピンが胚の染色体に与える影響を明らかにすることはベストな刺激法の選択に不可欠である。よって本研究では、卵巣刺激日数・ゴナドトロピン総投与量・採卵個数・E2最大値・トリガー日の卵胞径が、胚の異数性率とユープロイド胚移植時の生児獲得率に影響しないかを調査した。

## 方法

### 対象

著者が所属する1施設において2013.1-2017.12にPGT-Aを実施した周期をレトロスペクティブコホート研究で調査した。

### 治療法

- ・ 著者の施設の標準療法 (Huang and Rosenwaks 2014の8章) に従って、卵巣刺激・採卵日決定・採卵・受精・胚培養・移植を実施した。
- ・ 刺激法は患者の年齢・体重・卵巣予備能・前回の卵巣刺激での反応を基に選択した。
- ・ 外因性ゴナドトロピン：Gonal-F, Follistim, Menopur
- ・ 刺激への反応の評価方法：経膈エコー、E2測定
- ・ 排卵抑制：GnRH アンタゴニスト (Ganirelix acetate, Cetrotide), GnRHアゴニスト (leuprolide acetate)
- ・ マチュレーショントリガー：hCG (Novarel)、GnRHアゴニスト (leuprolide acetate)
- ・ 採卵：トリガー後35-37時間後に実施
- ・ 移植：自然周期のときはLHサージの5日後に実施。ホルモン補充周期 (E2パッチ→プロゲステロン筋注) ではプロゲステロン筋注開始の6日後に実施。

### ラボプロトコル・PGT-A

- ・ タイムラプスしながらシーケンシャルメディウムで培養し、D5あるいはD6で生検した。
- ・ PGT-Aの解析法は2017年以前はaCGH法で、2017年以降はNGS法で実施した。

### 研究変数

- ・ 女性年齢で次の5群に分けた：<35, 35-37, 38-40, 41-42, >42歳。
  - ・ ユープロイド率と生児獲得率が以下の項目により違いが生じないか比較した。
    - 刺激日数 (<10, 10-12, ≥13日)
    - ゴナドトロピン総投与量 (<4000, 4000-6000, >6000単位)
    - 採卵個数 (<10, 10-19, ≥20個)
    - E2最大値 (<2000, 2000-3000, >3000 pg/mL)
    - トリガー日の最大卵胞サイズ (<20, ≥20 mm)
- ※卵胞サイズは2つの直径の平均値とした。

### 統計解析

- ・ カテゴリカル変数： $\chi^2$ 検定、フィッシャーの正確検定で比較。
- ・ オッズ比：95%信頼区間で計算、交絡因子をコントロール。
- ・ 反復測定：一般化推定方程式で説明。
- ・ 連続変数：正規分布になっているか計算した。平均と標準偏差で示した。
- ・ パラメトリックなデータ：分散分析で比較。
- ・  $p < 0.05$ を有意差ありとした。

# 結果

サンプルサイズ：2230 IVF/PGT-A周期、12298個の胚をPGT-A、930移植周期

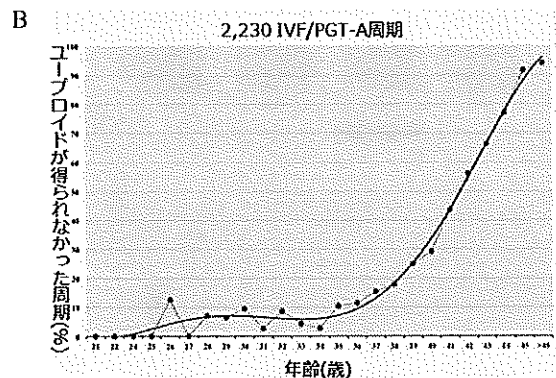
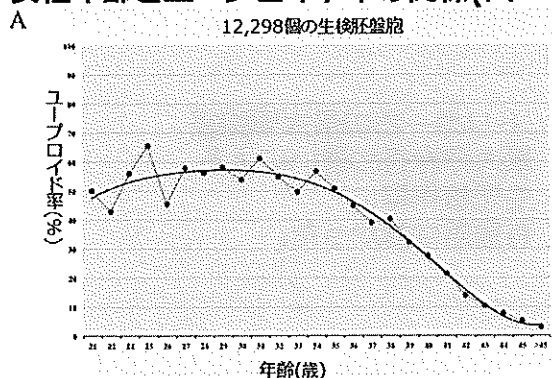
研究参加者の属性データ(表1)：それぞれの項目が女性年齢間で有意差がないか評価している。

Parameters	Age (years)					P value
	<35 (n=497)	35-37 (n=440)	38-40 (n=604)	41-42 (n=389)	>42 (n=300)	
Age (years)	31.6 ± 2.2	36.0 ± 0.8	39.1 ± 0.8	41.4 ± 0.5	43.7 ± 0.9	<0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.2 ± 4.3	22.7 ± 3.7	23.7 ± 4.2	23.4 ± 4.0	24.1 ± 4.5	NS
出産回数	0.4 ± 0.7	0.5 ± 0.7	0.4 ± 0.7	0.4 ± 0.7	0.5 ± 0.8	NS
生検胚数	6.9 ± 4.2	6.1 ± 3.8	5.2 ± 3.3	4.6 ± 3.4	3.8 ± 3.1	<0.001
ユープロイド胚数	3.8 ± 2.9	2.8 ± 2.3	1.7 ± 1.6	0.8 ± 1.1	0.3 ± 0.7	<0.001
ユープロイド率(%)	55.4	44.8	32.4	18.2	8.5	<0.001
ユープロイド胚が得られなかった周期(%)	2	12.5	24.8	48.8	74.0	<0.001

NS：有意差なし、p<0.05：有意差あり

- ☞ BMIと出産回数は年齢による有意差はなかった。
- ☞ 生検胚数、ユープロイド胚数、ユープロイド率は加齢により有意に減少した。
- ☞ ユープロイドが1つも得られなかった周期の割合は加齢により有意に上昇した。  
(下図1A・Bも参考)

## 女性年齢とユープロイド率の関係(図1A・B)



A：35yを過ぎるとユープロイド率が低下する。

B：ユープロイド胚が得られない周期が発生する割合は加齢により増加する。

## 刺激法の違いによるユープロイド率の変化(表2)

年齢(n=PGT-Aした胚の数)	各年齢群におけるユープロイド率(%)				
	<35 (n=3469)	35-37 (n=2694)	38-40 (n=3155)	41-42 (n=1823)	>42 (n=1157)
<b>刺激日数(日)</b>					
<10 (n=882 cycles)	54.4	44.1	33.7	18.2	10.8
10-12 (n=1092 cycles)	55.2	45.5	30.9	18.6	6.9
>12 (n=256 cycles)	60.9	44.2	35.5	16.6	8.5
P value	NS	NS	NS	NS	NS
<b>ゴナドトロピン総投与量(IU)</b>					
<4000 (n=1414 cycles)	55.6	44.5	34.0	18.4	8.7
4000-6000 (n=646 cycles)	52.9	47.3	30.2	16.7	9.7
>6000 (n=170 cycles)	62.3	38.4	32.4	22.6	5.1
P value	NS	NS	NS	NS	NS
<b>採卵回数</b>					
<10 (n=712 cycles)	59.4	44.1	29.9	16.9	7.3
10-19 (n=1102 cycles)	55.2	44.8	32.9	19.8	10.3
≥20 (n=416 cycles)	53.4	45.6	36.4	17.2	7.4
P value	NS	NS	NS	NS	NS
<b>E2最大値(pg/mL)</b>					
<2000 (n=1133 cycles)	55.7	46.2	31.2	16.5	8.8
2000-3000 (n=676 cycles)	55.4	44.7	33.0	21.2	8.7
>3000 (n=421 cycles)	54.8	41.8	35.1	18.2	7.5
P value	NS	NS	NS	NS	NS
<b>最大卵胞径(mm)</b>					
<20 (n=1165 cycles)	55.6	44.6	34.2	16.6	8.2
≥20 (n=1065 cycles)	55.1	45.0	30.3	19.8	8.9
P value	NS	NS	NS	NS	NS

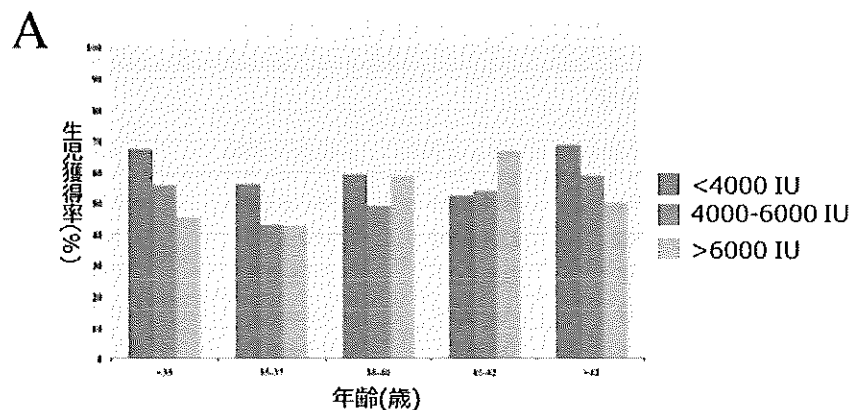
☞ どの年齢群でも各項目でのユープロイド率に有意な差はなかった。

項目

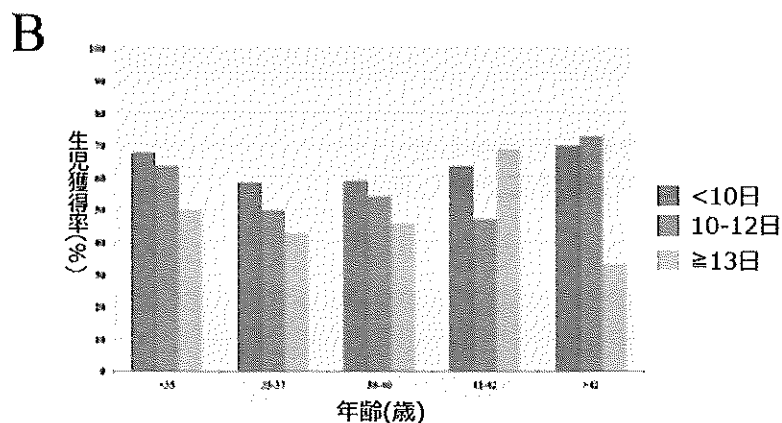
- 刺激日数
- ゴナドトロピン総投与量
- 採卵回数
- E2最大値
- 最大卵胞径

NS：有意差なし

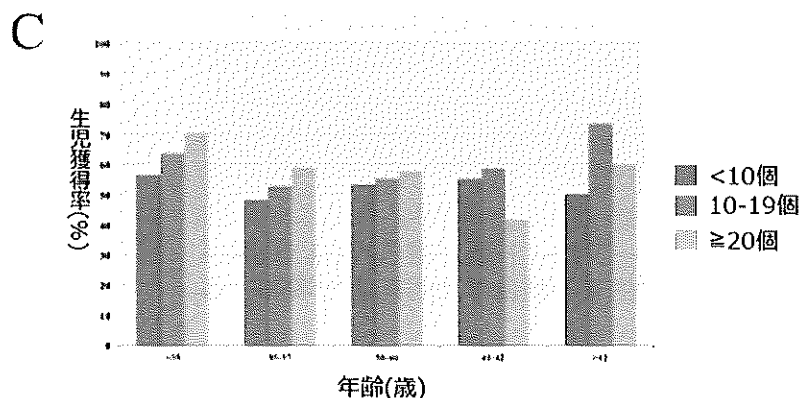
刺激法の違いによる生児獲得率の変化(図2)



A : ゴナドトロピン総投与量  
投与量の違いによる  
生児獲得率に  
有意差はなかった。



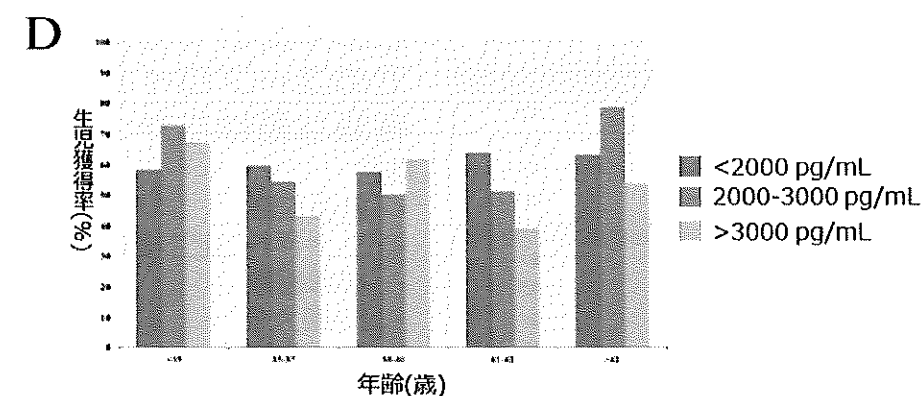
B : 刺激日数  
刺激日数の違いによる  
生児獲得率に  
有意差はなかった。



C : 採卵個数  
採卵個数の違いによる  
生児獲得率に  
有意差はなかった。

D : E2最大値  
E2最大値の違いによる  
生児獲得率に  
有意差はなかった。

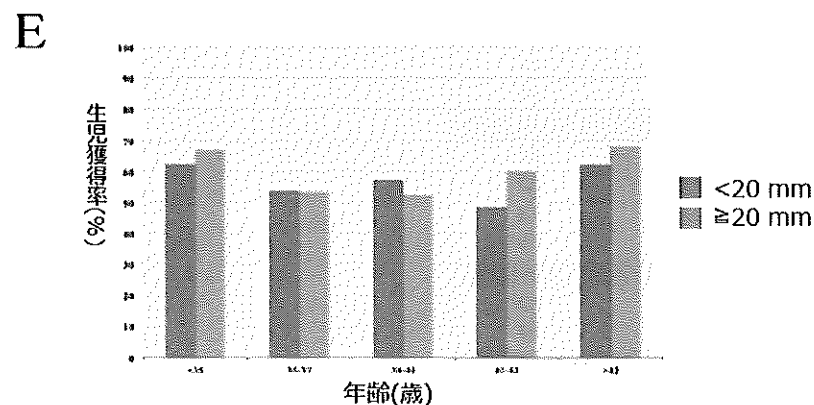
E : トリガー日の最大卵胞径  
最大卵胞径の違いによる  
生児獲得率に  
有意差はなかった。



どの年齢群でも各項目で  
生児獲得率に有意な差は  
なかった。

項目

- 刺激日数
- ゴナドトロピン総投与量
- 採卵個数
- E2最大値
- 最大卵胞径



## 考察

### ▶ 本研究でわかったことまとめ

- ☞ 卵巣刺激が胚のユープロイド率とユープロイド胚移植後の生児獲得率に与える影響を評価し、採卵回数・E2最大値・刺激期間・ゴナドトロピン総投与量・トリガー日の最大卵胞サイズは年齢にかかわらず胚のユープロイド率と生児獲得率に影響を与えないことが示された。
- ☞ 35yを超えると急激にユープロイド率が低下する(図1A)。
- ☞ 生検胚数も年齢とともに減少する(表1)。
- ☞ 女性加齢(特に38y以上)と1周期当たりのユープロイド胚が得られない確率には相関関係があった(図1B)。

### ▶ 外因性ゴナドトロピンと採卵個数の多さが卵子の質・胚の異数性・着床率に与える影響についての先行研究が複数あり、矛盾したデータが示されている。

- ・ E2値が高いことと採卵個数が多いことは、多核の増加と臨床妊娠率の低下に関係している(Jackson et al. 1998)。
- ・ 外因性ゴナドトロピン投与量が多いと採卵回数・胚数・異数性率が増加する(Baart et al. 2007)。
- ・ 一日当たりのゴナドトロピン投与量が多いほど減数分裂のエラーが多くなる(Katz-Jaffe et al. 2005)。  
☞ VS.
- ・ 自然周期と刺激周期で異数性率は変わらない(Hong et al. 2019)。
- ・ 卵子ドナーにおける自然周期と刺激周期で異数性率は変わらない(Labarta et al. 2012)。
- ☞ 本研究結果は後者のデータと一致している。  
しかも本研究では研究参加対象条件に年齢・ゴナドトロピン投与量・刺激への反応性の制限を設けなかった。
- ☞ 本研究での結果は上述の先行研究よりもバイアスが少ないだろう。

### ▶ 卵巣刺激と採卵個数が生児獲得率に与える影響は胚発達と着床能の間接的な指標と解釈できるだろう。採卵回数が多くても胚毒性はないことを示唆している先行研究

- ・ 採卵回数が増えるほど累積的生児獲得率が増加しプラトーに達しなかった(Polyzos et al. 2018)。
- ・ その他、採卵回数が多いほど累積的生児獲得率が増加することはほかの研究でも報告されている(Ji et al. 2013; Dr akopoulos et al. 2016)。
- ・ 成熟卵子数はユープロイド率の着床率と妊娠継続率に影響しなかった(Unal et al. 2009)。
- ☞ 採卵回数が異なっても異数性率と生児獲得率は変わらないことを示した本研究のデータと一致。

### ▶ 卵巣刺激はユープロイド率に影響を与えないことが示唆されているから、42施設の若年卵子ドナーでユープロイド率が大きく異なっていたという報告は培養条件など別の要因が関係している可能性がある。



### ▶ 注意

- ・ 本研究の高E2群のほとんどはE2値3000-5000 pg/mL(平均3703±658 pg/mL)であった。
  - ・ 本研究での採卵回数が多い群(20個以上)のほとんどは採卵回数20-35個(平均25±6個)であった。  
☞ 極端な高E2値の患者および極端に採卵回数が多い患者のデータは得られなかった。
  - ・ 本研究では最大卵胞径平均22mm以下の時にトリガーされたため、それ以上の卵胞サイズでのhCG投与の安全性を証明できない。
- ### ▶ 本研究の結果を卵巣刺激を積極的に推奨するという誤った解釈をするべきではない。なぜなら過剰な卵巣反応は腹腔内出血や卵巣捻転、OHSSなどの合併症のリスクを上昇させるため。
- ・ GnRHアゴニストトリガーの使用はOHSSのリスクを最小化させるが、リスクをなくすることはできない(Fatemi et al. 2014; Ling et al. 2014)。
  - ・ GnRHアゴニストトリガーに失敗する人もいて、その場合はhCGがマチュレーショントリガーとして必要になる(Meyer et al. 2015)。

## 結論

どの年齢であっても、ゴナドトロピン総投与量・卵巣刺激期間・トリガー日の最大卵胞サイズ・E2最大値・採卵回数は、ある程度の範囲であれば異数性率やユープロイド胚の生存に影響を与えなさそうなので、医師と患者を安心させる発見をしたと言える。

## Effect of ovarian stimulation on embryo aneuploidy and mosaicism rate

Alba Cascales<sup>a</sup>, Belen Lledó , Jose A. Ortiz<sup>a</sup>, Ruth Morales<sup>a</sup>, Jorge Ten <sup>b</sup>, Joaquin Llácerc<sup>c</sup>,  
and Rafael Bernabeu<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Molecular Biology Department, Instituto Bernabeu, Alicante, Spain; <sup>b</sup>Reproductive Biology, Instituto Bernabeu, Alicante, Spain;  
<sup>c</sup>Reproductive Medicine, Instituto Bernabeu, Alicante, Spain

「卵巣刺激が胚の異数性率とモザイク率に与える影響」

卵巣刺激と胚の異数性率・モザイク率との関係性を評価した研究。

サンプルサイズ：280カップルから得た835個の胚のPGT-A解析結果(38y未満の女性のみ対象)

**Table 3. Association between aneuploidy rate and IVF cycles parameters.**

	Aneuploid embryos (n/%)	p value	OR (95% CI)
OCP			
No	266 (40.5%)		Reference
Yes	66 (41.2%)	0.222	0.793 (0.546–1.151)
Stimulation protocol			Reference
Long	55 (36.4%)		
Short	9 (45.0%)	0.139	2.143 (0.781–5.880)
Antagonist	262 (42.3%)	0.077	1.423 (0.962–2.105)
Mild	0 (0.0%)	0.999	0.000 (0.000–0.000)
Agonist-Antagonist	3 (30.0%)	0.550	0.640 (0.148–2.949)
Free	3 (23.1%)	0.667	0.737 (0.184–2.949)
Gonadotropin			
uFSH	51 (46.8%)		Reference
rFSH	41 (38.0%)	0.255	0.719 (0.408–1.269)
uFSH+rFSH	204 (40.1%)	0.438	0.840 (0.540–1.306)
rLH	33 (39.8%)	0.401	0.771 (0.420–1.415)
rFSH+rLH	1 (25.0%)	0.922	0.890 (0.086–9.266)
uFSH+rLH	2 (66.7%)	0.648	1.174 (0.149–21.345)
Trigger			
hCG	142 (39.6%)		Reference
GnRH antagonist	128(41.0%)	0.516	1.119 (0.797–1.571)
Dual	58 (42.6%)	0.101	1.423 (0.933–2.172)
# Aspirated oocytes per patient	-	0.857	0.998 (0.978–1.019)
# Aspirated oocytes MII per patient	-	0.589	0.993 (0.969–1.018)
Duration of stimulation	-	0.015*	0.897 (0.822–0.979)
Total dosage of gonadotropins	-	0.151	1.000 (1.000–1.000)
Daily dosage of gonadotropins	-	0.822	1.000 (0.998–1.002)

P values are calculated with a binary logistic regression statistical test using as confounding factors maternal age, embryo quality and biopsy day and genetic analysis technique (NGS or a-CGH) (p < 0.05 is considered significantly different).

OCP: oral contraceptive pills; FSH: follicle-stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; rFSH: recombinant FSH; uFSH: urinary FSH; rLH: recombinant LH; hCG: human chorionic gonadotropin; GnRH: gonadotropin-releasing hormone; Dual: hCG+GnRH antagonist

☞経口避妊薬の使用、ゴナドトロピンの種類・総投与量・1日当たりの投与量、卵巣刺激法の種類、マチュレーショントリガーで使用した薬剤と、胚の染色体異常率には関連が無かった(p>0.05)が、刺激日数が長いほど異数性率が低かった(p=0.015)。モザイク率はどの項目とも関連が無かった。

考察：刺激日数が長いと卵子成熟がゆっくり進行し、細胞内自己修復機構が働く時間を与えている可能性がある。