

原 著

卵子の生涯発育と FSH, AMH, AFC の役割

大川 欣栄^{1), 2)}, 有村賢一郎^{1), 2)}, 大川 彦宏^{1), 2), 3)}
 森田 哲夫^{1), 2)}, 河野 康志³⁾, 檜原 久司³⁾

大川産婦人科・高砂¹⁾, 大川産婦人科病院²⁾, 大分大学病院産婦人科³⁾

Key Word : 妊孕性, 不妊症, 卵子, 卵巣予備能検査 (ORT, Ovarian Reserve Test), FSH (Follicular Stimulation Hormone, 卵胞刺激ホルモン), AMH (Anti-Mullerian Hormone, 抗ミュラー管ホルモン), AFC (Antral Follicle Count, 胞状卵胞数), ART (Assisted Reproductive Technology, 生殖補助医療: 体外受精, 採卵, 胚移植)

〔要旨〕 赤ちゃんが欲しい本能と理性

未婚者より既婚者の方が平均余命が長い傾向にあることは以前から知られているが¹⁾, 最近の研究では子供の有無でも寿命に差はでることが報告された²⁾。2017年の研究は計140万人以上のスウェーデン男女に追跡調査を実施したもので, 子供が一人以上いる人が60歳になった時点での平均余命は, 男性で18.4年, 女性で23.1年であった。そして, 子供がいない人と比べて, 男性で2年, 女性で1.5年ほど長生きするデータが示された。子供がいる親において, 子供の性差, 男の子あるいは女の子かは, 平均余命に影響を及ぼさなかった。しかし, 子供がいる親でも, 子供の居住地が親から50km以上離れると, 平均余命が短縮することも判明した。子供の存在が老後の生活にとって助けとなる可能性を示唆しているものと考えられる (図1)。

可愛い我が子を抱きしめたいという本能と将来の生活を考え子供を育てたいという理性は人間に本来備わっているのであろうが, 残念ながら晩婚晩産少子化という現代社会の変化により, 子供に恵まれないカップルが増加し, 不妊治療のニーズも増え続けている。負担のかかる不妊治療を開始するにあたり, 女性は自分の卵巣年齢, 卵巣予備能を正確に把握することが大切である。そこで, 正確で客観的な卵巣予備能の検査を行うことで, より適切な排卵誘発, 人工授精, 体外受精など医学的生殖補助技術 (ART) による治療が改善さ

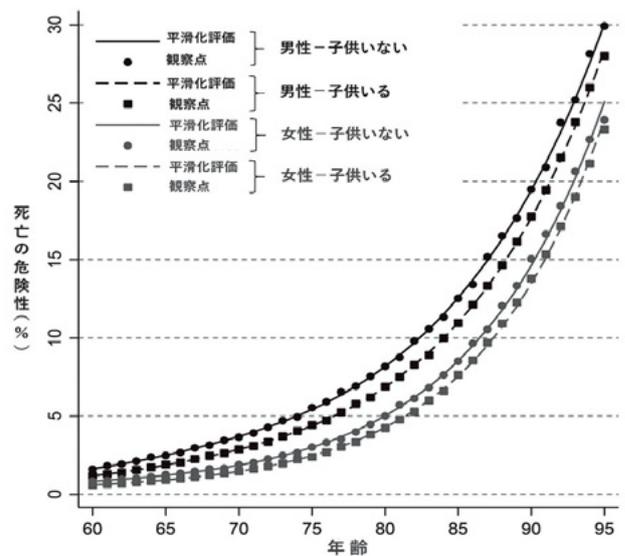


図1 60歳時の, 1人以上の子供の有無によるその後の死亡リスクの違い。K Modig et al. J Epidemiol Community Health 2017; 71: 424-430²⁾

れることになる。つまり、卵巣予備能検査 (FSH, AMH, AFC など) は生殖医学の臨床治療において、病態の評価及び薬剤を含めた治療方法の選択に重要な役割を担う可能性がある。

卵子の生涯発育過程

卵子の生涯発育過程 (図2) において、女性の胎生期4週から卵祖細胞 (一種の幹細胞, 染色体は2n) は発生し、体細胞分裂により数を増殖し、胎生20週には最大ピークとなる600~700万の一次卵母細胞へと分化する。その後、アポトーシスにより卵子の数を出生時の200万まで減少し、同時に体細胞分裂を停止して核および細胞質が増大する成長期となる。この現象は思春期までの20万個の原始卵胞まで継続する。その段階の第一次卵母細胞は第一減数 (成熟) 分裂を開始し、前期で一旦休止する (2n: 染色体は2倍体, 23対, 46本)。

思春期になると、20万原始卵胞プールの中から毎月1000個の卵胞が選択され、初期覚醒化 (initial

recruitment of primordial follicle) が始まり、休眠状態から脱し発育を開始する。排卵周期のLHサーージにより第一減数分裂前期で停止していた減数分裂が再開し、二次卵母細胞となって再び第二減数分裂中期で停止させられる (1n: 染色体は1倍体, 23本)。

卵胞形成は初期覚醒化から排卵までに約375日かかる。この間に13回の月経 (28×13=364日約1年間) があることになるが、12回月経が経過したところで、覚醒成長を始めた卵胞群の大部分は死滅 (閉鎖, アポトーシス) する。13回目月経開始のところで、残された両卵巣の合計約40個の胞状卵胞 (当院3D自験例平均値, 直径2~10mm) が更に選別され、最終的に1つの卵胞が生き残る。この1つの主席卵胞 (dominant follicle) は迅速に成長して一気に直径20mmを超え排卵する。その頃の成熟卵胞は第二減数分裂中期 Metaphase II で停止し、受精能力を有している。

卵子の発育期間は月経開始から排卵に至る14日



図2 卵子の生涯発育過程 (各文献, 諸説を参考にし, 編集した図表)

間ではなく、実は原始卵胞の初期覚醒から排卵まで約一年間かかる。卵巣内は常に全ての発達段階の卵胞が同時に存在しているのである。

卵子の老化

卵子は一種の「幹細胞」、何十年も生きる事ができる特殊な細胞である。女性の出生前から原始卵胞は体細胞分裂を停止したままであり、新生細胞の増殖や入れ替えは行われぬ。数が減少していく中で、生存競争で生き残る排卵前の卵子の年齢は女性自身の年齢と同じである。人体60兆個の細胞の中において、1日に1兆個もの細胞を入れ替えながら、ほとんどの器官細胞（精子細胞も含む）がリフレッシュしている。その中でも神経細胞と心筋細胞は生涯更新されないとされてきた。しかし、最近の研究によると、2013年Natureにて成体での心臓細胞の置換が発見され³⁾、2018年Newsweekより脳神経細胞は年齢に関係なく増え続けることが判明した⁴⁾。一方で、数十年間一度も更新されずに生き続ける卵子

はやがて細胞質の劣化とゲノムの変異により妊孕性の低下を導くこととなる。前編（女性年齢による妊孕力の変化）でも述べたが、現代女性の妊孕力の年齢（閉経年齢約50才）は、この数百年間にあまり伸びていないが、閉経後の寿命は大幅に伸びている。それは卵子以外の組織細胞が常に細胞分裂により入れ替わり、栄養と衛生の進歩によるリフレッシュができることによるものと考えられる。

卵胞の成長過程における

FSH, AMH, AFC の位置付け (図3)

AMH (Anti-Mullerian Hormone, 抗ミュラー管ホルモン)

AMHは基本的に卵胞の顆粒膜細胞から分泌される。胎生期の卵母細胞 (Primary follicle) から

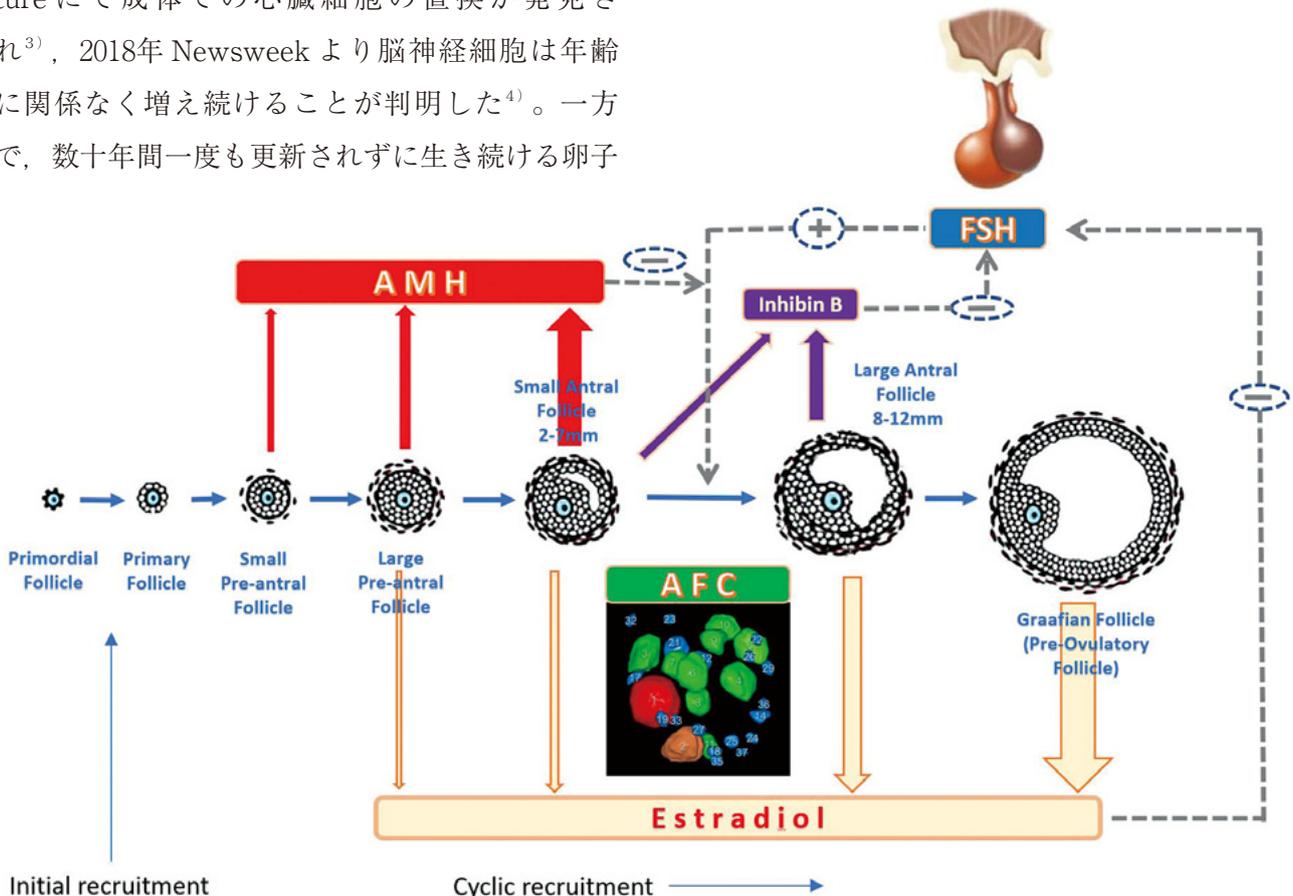


図3 卵胞の成長過程における FSH, AMH, Inhibin B, AFC の位置付けとその相互関係。

産生しはじめ、一次卵胞、二次卵胞、胞状卵胞の進化につれて顆粒膜細胞も多重化し、AMHの産生量も上昇する。血中AMH値は、卵巣に存在する前胞状卵胞と胞状卵胞の数を反映し、その結果として卵巣予備能の評価として有用であると考えられている。

AFC (Antral Follicle Count, 胞状卵胞数)

前胞状卵胞は継続的FSHを受け発育し、卵胞液の分泌より空洞を形成する。やがて月経周期 (Cyclic recruitment) 3日目前後に直径2mm以上の胞状卵胞になる。超音波で観察される直径2~10mmの胞状卵胞の数 (AFC 胞状卵胞数) が多いほど卵巣の反応性が高いとされ、AMHとも高い正の相関をしめす。従来より real-time 2D (two-dimensional) Ultrasound で計測されているが、最近3D Ultrasoundにより三次元的観察が可能となり、精密な数量的評価に基づく臨床的应用が期待される。(図3 AFCの写真は当院自験例)

FSH (Follicular Stimulation Hormone, 卵胞刺激ホルモン)

通常、GnRHは下垂体前葉を刺激し、FSHとLHを分泌させて、卵胞の発育を促進する。胞状卵胞から成熟卵胞へと成長し、多層の顆粒層細胞より Estradiol が旺盛に分泌される。その高い Estradiol の血中濃度はFSHを抑制する (負のフィードバック)。しかし、卵巣機能低下時、つまり卵胞の顆粒膜細胞から Estradiol の分泌が少ない時に、フィードバックよりFSHを分泌させて高値になる。従って、FSH高値は基本的に卵巣機能の低下を意味し、卵胞への刺激が必要となることを示している。

Inhibin B (インヒビン B)

卵胞顆粒層細胞は、Estradiol 以外 Inhibin B も分泌する。Inhibin Bは比較的胞状卵胞期の早期に分泌され、FSHを抑制し始める⁵⁾。FSH受容体総数の少ない卵胞はこのFSHの欠乏に耐えられずに閉鎖してしまう。最終的にたったひとつの卵胞が生き残り主席卵胞 (dominant follicle) となる。主席卵胞の選択は Inhibin B が関与する可能性があるとも言われている。

卵巣予備能検査 FSH, AMH, AFC の特長と限界 FSH

FSHは月経周期内で血中濃度が変動し、月経2~5日目は最低値で Basal FSH (FSHの基礎値) と呼ばれ、3~8mIU/mlが望ましい値である。卵胞プールが貧弱な場合には、Inhibin Bと Estradiol の分泌量は少なく、Negative feedbackよりFSHが多量に分泌される (図3)。従って、Basal FSH血中濃度が高い (特に12~20mIU/ml以上) 場合は、卵巣予備能が低いと評価でき、体外受精時の卵巣刺激に対する反応性の低下が予想され、FSH製剤の増量投与 (例えば150iu→225iu→300iu/d) が必要となる。また、採れる卵子数と良好胚への発育も減少する傾向である。

一方、AFC、AMHと違って、FSHはOHSS (卵巣過刺激症候群) を予知する指標とはならない。また、FSHは卵巣機能がある程度低下しないと上昇しないという性質もあり、卵巣機能のわずかな変化の指標とはならない。当院自験例において、FSHは、3D-AFC、AMHとの中程度の逆相関 ($r = -0.516$, $r = -0.443$) が見られる⁶⁾。FSHがかなり高値の場合は、卵胞プールが1,000個まで減少し、排卵ができなくて閉経になることを意味し、FSH>30mIU/mlおよびEstradiol<20pg/mlにより閉経状態であるとの診断は確定す

る。この現象は40歳未満の女性において早発卵巣不全 (premature ovarian insufficiency または premature ovarian failure) との診断に適する。卵巣枯渇の診断における特異度は高いと言える。

(前編：女性年齢による妊孕力の変化の表3をご参照)

AMH

AMH は、主に FSH に対する反応性を示す一次卵胞、前卵胞、卵胞の多層化した顆粒膜細胞より産生される (図2) (図3)。AMH は卵巣内の卵胞数を鋭敏に反映し、各種検査の中では最も素早く卵巣予備能を評価することができる。

Thomas W. Kelsey らは受胎から更年期まで各研究の AMH 値を集約分析し、胎生期より産生が確認され小児期には低値で思春期を迎えると

AMH が上昇し盛んな卵胞発育を反映するが、24.5歳にピークの間値約5 ng/ml を迎えた後は下降し、51才閉経期以後には検出されなくなることを報告した (図4) ⁷⁾。

卵胞液内の AMH 濃度を調べると、小卵胞ほど濃度が高く (3 mm : 1,124ng/ml)、大きくなると濃度が低くなる (≥ 10 mm : ≤ 100 ng/ml) ⁸⁾。血中 AMH 濃度も同様傾向が見られ、8 mm を越す卵胞からの産生は低下するといわれている⁹⁾。よって、卵胞期後半において卵胞が大きく発育 (8 mm から20mm 以上) しても AMH を分泌しないので、月経周期内に血中濃度の変動が少なく、測定時期による影響を受けにくいのである。

血清 AMH 値は年齢と負の相関を認め、ART の採卵数と強い正の相関を認めた。Jure Knez らの研究では、採卵数18個以上の Excessive re-

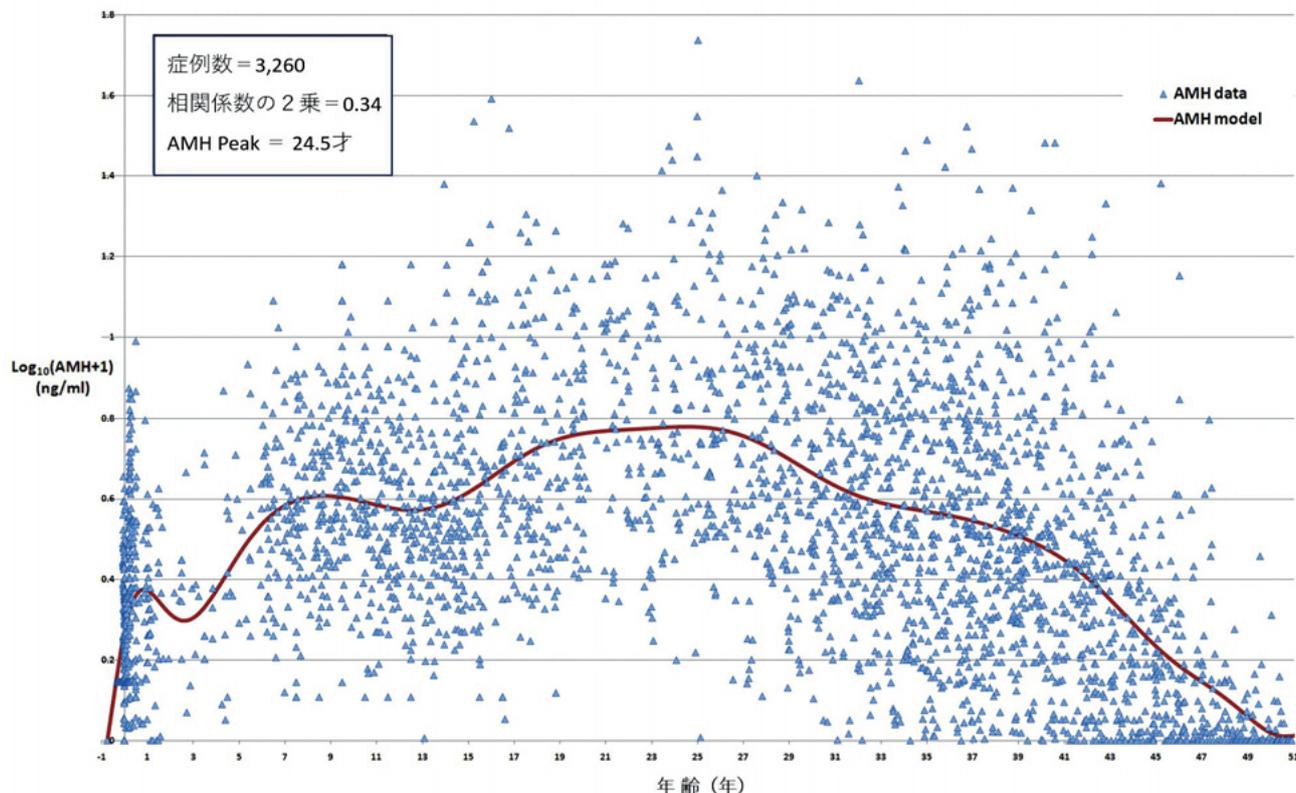


図4 Thomas W. Kelsey らは受胎から更年期まで各研究の3,260症例のAMH値を集約分析し、胎生期より産生が確認され小児期には低値で思春期を迎えるとAMHが上昇盛んな卵胞発育を反映するが、24.5歳にピークの間値約5 ng/ml を迎えた後は下降し、51歳閉経期以後には検出されなくなることを報告した。

sponse と採卵数 3 個以下の Poor response の予測に対する有用性を ROC 曲線を用いて検討したところ、AMH は年齢よりも良好である傾向を認めていた (Excessive response: ROC area: AMH vs Age=0.882 vs 0.667) ; (Poor response: ROC area: AMH vs Age=0.816 vs 0.624)¹⁰⁾。一方、Haiyan Zheng ら、4,017 周期の研究によると、AMH, day 3 FSH と Age から採卵数との直線相関を検討したところ、AMH は day 3 FSH と Age より優れる相関関係係数 (r) を認めた (r : AMH vs Age vs day 3 FSH=0.526 vs -0.232 vs -0.243)。但し、30 才以下の患者については、AMH と採卵数との弱い相関しか見られなかった (r=0.289)¹¹⁾。

不妊症の臨床現場で、AMH は欠かせない検査になりつつあるが、過信は禁物である。AMH は卵胞の数を反映するが、卵胞の質とゲノムの状態は反映できない。また、AMH の値は広い範囲に分布し、ばらつきは大きく^{12) 13)}、傾向が見られても直接の因果関係の判定は難しい。例えば、若い女性の AMH が低くても妊孕性は十分期待できるといえる。PCO, OHSS, Menopause を予測する場合に、AMH は単独ではなく AFC 及びその他のホルモン値と併用させれば、良い指標になりうる。

AFC

原始卵胞が初期覚醒 (initial recruitment) して 300 日以上経った頃 (図 3)、二次卵胞の顆粒細胞が多層化し、卵胞液が上皮細胞間に貯留して卵胞洞を形成して 2 mm 以上の卵胞が超音波にて観察できるようになる。月経周期の 2~4 日目の卵巣両側における 2~10mm の卵胞数の合計を AFC (Antral Follicle count) と呼ぶ。

精度の高い超音波と熟練の手技なら簡単迅速に

AFC を測定し、卵巣予備能をすばやく評価することができる。特に体外受精時に調整卵巣刺激の反応性と予後を予測するために AMH, FSH とともに幅広く用いられている。

2011 年 Jan Holte らは、4,308 体外受精周期 (PCO の症例を含む、凍結胚移植を除外) において、2D の AFC と治療結果の関係を分析した。AFC を 4 群に分け (図 5)、AFC 最大群 (AFC>23) の生産率 (live-birth rates/OPU) は、各年齢層とも、AFC 最小群 (AFC<5) より 50% の増加が見られていた。同様に年齢調整後の採卵数、妊娠率、胚の質も AFC が大きければ成績も良くなると報告した。その中で PCO の 634 症例 (排卵例 519 例の AFC=30.9 ± 7.8, 非排卵例 115 例の AFC=42.1 ± 13.3) は、年齢と BMI を調整後も最良の成績を示していた (排卵例と非排卵例の間に差はない)¹⁴⁾。

従来 AFC は 2D (Two dimensional) 超音波で計測していた。しかし、正確に計測するには多層断面を手動計算しなければならず、多大の時間と労力を費やす。その上、地区、人種、超音波の精度により、各施設間の AFC の偏差は大きいのが現状である (図 6)。最近、超音波の画像精度

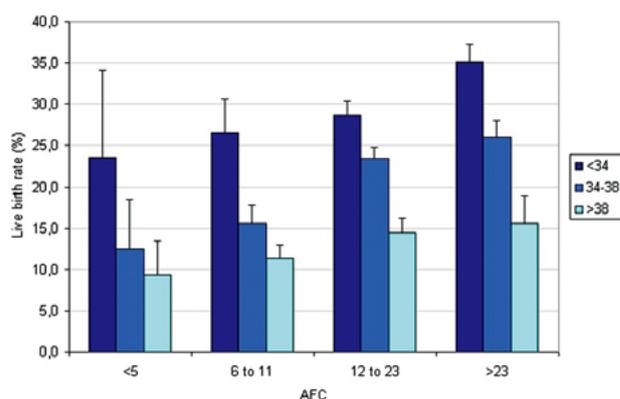
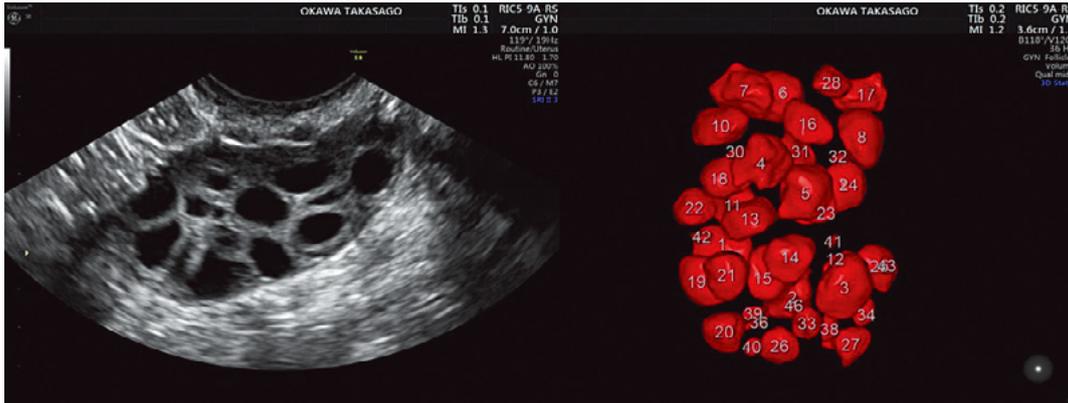


図 5 4,308 体外受精周期において、AFC を 4 群 (<5, 6-11, 12-23, and >23) に分け、それぞれ 3 群の年齢別 (<34 ; 34-38 ; >38 才) の治療結果 (生産率/採卵周期, live-birth rates/OPU) との関係性を分析した¹⁴⁾。



左写真：2D-AFCの計測は2Dで録画し、再生しながら多層断面の各断面の卵胞の直交長短径の平均値は2.0~10.0mm以内の卵胞数を合計した。PCOなど多数卵胞の場合は多大の時間と労力を費やす。また、卵胞奥行き配慮は困難。

右写真：3D-AFCの計測は3D超音波にてfollicleをscanし、SonoAVC™ for AFC softwareを用い、各卵胞のX,Y,Z軸で直方体の体積を求め、同体積の立方体に換算し、その1辺の長さを卵胞の平均直径として自動的に直径、容積と卵胞数を解析した。 $\text{Volume of each follicle (cm}^3\text{)} = \frac{4}{3}\pi (\text{Diameter (mm)} / 2 / 10)^3$

図6 2D-AFCと3D-AFCの計測の比較。左右の写真は同一卵巣、2D-AFCより3D-AFCの方が多傾向が見られる。(当院自験例)

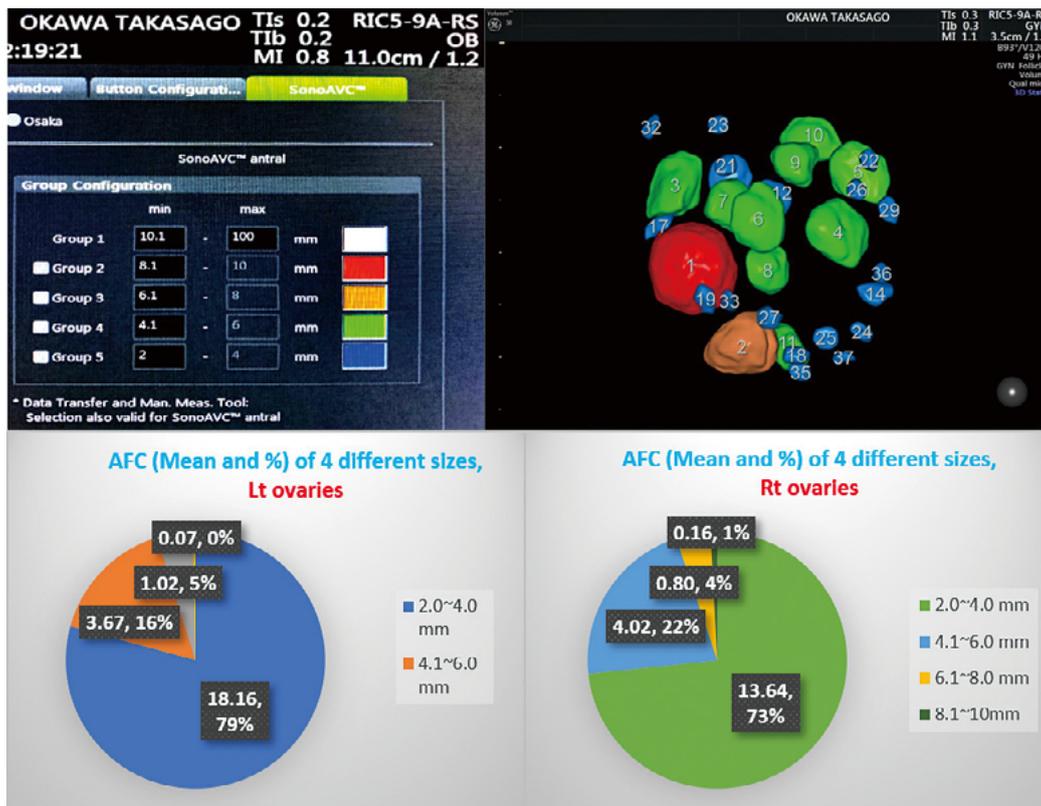


図7

Antral follicleの直径(2mm~10mm)を4等分したAFCの配分比重(%)

左卵巣：2.0~4.0mm 79.2%，4.1~6.0mm 16.0%，6.1~8.0mm 4.5%，8.1~10.0mm 0.3%

右卵巣：2.0~4.0mm 73.3%，4.1~6.0mm 21.6%，6.1~8.0mm 4.3%，8.1~10.0mm 0.8%

小さい卵胞(2mm~4mm)数の配分は70%以上と圧倒的に多く、大きい卵胞(8mm~10mm)数の配分は1%未満と僅かなことが判明した。(当院自験例)

と解析能力が向上し、3D (three-dimensional) 超音波を用いて計測解析することで、実用的なレベルとなっている。我々のデータによると2D-AFCより3D-AFCの方がAFCは多い傾向が見られ、AMHとの直線相関もよりよい相関が見られる。(2D : $r^2 = 0.729$, 3D : $r^2 = 0.782$) 更に卵胞は図7のようにサイズ別に解析することができる⁶⁾。

結 語

卵子の発育過程においてFSH, AMH, AFCの生理的性質は、残りの卵胞数や卵巣予備能を反映している(図3)。卵巣予備能検査FSH, AMH, AFCは、自然妊娠の確率や妊孕力の低下、閉経期の到来、早発性卵巣機能不全、卵巣損傷(抗がん剤、手術、子宮動脈塞栓)などの予測および評価に非常に有益な方法である。結婚と仕事、妊活と出産など人生の設計において、そしてARTの治療選択や、受精胚凍結・卵子凍結・卵子の提供などの重大な決定においても、選択時の有用な参考となる。更に、ART治療する際に卵巣の反応性、採卵率、妊娠率の予測、OHSSの回避にも重要な判断情報になる。但し、FSH, AMH, AFCは万能で絶対的基準ではなく、2017年に米国NIHが助成した論文では、AMH, FSH, Inhibin Bから、比較的高齢な女性の妊娠の可能性を予測できないことが示唆された^{15)・16)}。さらにその他多因子を組み合わせて客観的、総合的評価することができれば今後より正確な指標となる可能性がある。

一方、卵子は一生のうちに細胞分裂より新生する卵子がない為、加齢にて卵子は確実に老化し、数の減少と同時に質も劣化する。両方の衰退とも妊孕力にとっては致命的であるが、卵子の質を評価する方法はまだないのが現状である。多くは通

常卵子の数と質は正比例になっている。ARTの採卵数が多ければ、その中に質の良い卵子が存在する確率も高いとの意見もある¹⁴⁾。しかし、数と質が逆転する症例も少なからず存在する。その為に卵子の生態を更に探究し、既存のORT (Ovarian reserve test) を更に進化させ、より質的因子を反映するORTの開発が今後の課題である。

参考文献

- 1) 性、配偶関係別20歳時及び40歳時平均余命：1955～1995年。国立社会保障・人口問題研究所：2005年版、表5-22。
- 2) K Modig, M Talbäck, J Torssander, et al: Payback time? Influence of having children on mortality in old age. *Journal of Epidemiology and Community Health. Parental status & health*, 2017 ; 71 : 424-430.
- 3) Senyo SE1, Steinhauser ML, Pizzimenti CL, et al: Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes. *Nature*, 2013 : 493 (7432) : 433-6.
- 4) Maura Boldrini, Camille A. Fulmore, Alexandria N. Tartt : Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging. *Cell Stem Cell* : 2018 ; Volume 22, ISSUE 4, P589-599.
- 5) 田谷一善：インヒピンとエストラジオールによる視床下部・下垂体・卵巣軸の調節機構。日本生殖内分泌学会雑誌：2003；8：11-17。
- 6) 大川彦宏，有村賢一郎，森田哲夫ら，第63回日本生殖医学会学術講演会，旭川市2018。
- 7) Thomas W. Kelsey, Phoebe Wright, Scott M Nelson, et al : A Validated Model of Serum Anti-Müllerian Hormone from Conception to Menopause. *PLOS ONE* : July 15, 2011.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022024>
- 8) Andersen CY1, Schmidt KT, Kristensen SG, et al: Concentrations of AMH and inhibin-B in relation to follicular diameter in normal human small antral follicles. *Hum Reprod* : 2010 May ; 25 (5) : 1282-7.
- 9) Christian Gnath, Judith Roos, David Broomhead, et al : Anti-Müllerian hormone levels and numbers and sizes of antral follicles in regularly menstruating women of reproductive age referenced to true ovulation day. *Fertility and Sterility* : 2015 ; Vol. 104, No. 6, December 0015-0282.
- 10) Jure Knez, Borut Kovačič, Medved M, et al: What

is the value of anti-Müllerian hormone in predicting the response to ovarian stimulation with GnRH agonist and antagonist protocols? *Reprod Biol Endocrinol.* 2015 Jun10 ; 13 : 58.

- 11) Haiyan Zheng, Shiping Chen, Hongzi Du, et al: Ovarian response prediction in controlled ovarian stimulation for IVF using anti-Müllerian hormone in Chinese women A retrospective cohort study. *Medicine (Baltimore).* 2017 Mar ; 96 (13) :
- 12) David B. Seifer, M.D., Valerie L. Baker, M.D., Benjamin Leader, : Age-specific serum anti-Müllerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. *Fertility and Sterility* : 2011 ; Volume 95, Issue 2, Pages 747-750.
- 13) 平成29年度生殖・内分泌委員会（委員長：大須賀穰）；生殖医療リスクマネージメント小委員会（委員長：苛原 稔） 抗ミュラー管ホルモン（Anti-Müllerian Hormon: AMH）の適正な取り扱いに関する指針の作成
- 14) Jan Holte, Thomas Brodin, Lars Berglund, et al : Antral follicle counts are strongly associated with live-birth rates after assisted reproduction, with superior treatment outcome in women with polycystic ovaries. 2011 ; Volume 96, Issue 3, Pages 594-599.
- 15) Anne Z. Steiner, David Pritchard, Frank Z. Stanczyk, et al : Association Between Biomarkers of Ovarian Reserve and Infertility Among Older Women of Reproductive Age. *JAMA.* 2017 ; 318 (14) : 1367-1376.
- 16) NIH News Releases : Ovarian reserve tests fail to predict fertility, NIH-funded study suggests (Hormones linked to onset of menopause not associated with chances of conception) : Tuesday, October 10, 2017.