総説**REVIEW ARTICLE****生殖医学における低反応レーザー治療 (LLLT) の役割**

井田 守, 福田 愛作

IVF 大阪クリニック

(平成 28 年 1 月 15 日受理, 平成 28 年 2 月 21 日掲載決定)

**The Role of Low reactive Level Laser Therapy (LLLT)
in Reproductive Medicine**

Mamoru Ida, Aisaku Fukuda

IVF Osaka clinic

(Received January 15, 2016, Accepted February 21, 2016)

要 旨

我々は IVF (体外受精) 不成功例に対してサプリメント投与, 低反応レーザー治療 (LLLT) と統合医療プログラムを行い, その有用性について検討した. L-カルニチン (1000 mg/day) 投与後胚盤胞到達率 (37.0 % vs 60.8 %, $P<0.01$) が有意に増加した. メラトニン (3 mg/day) 投与後, 良好分割期胚率 (45.2 % vs 63.0 %, $P<0.01$), 胚盤胞到達率 (28.3 % vs 54.4 %, $P<0.01$), 良好胚盤胞到達率 (29.4 % vs 67.7 %, $P<0.05$) が有意に増加した. LLLT 施行後, 成熟卵数, 受精卵数が増加した (成熟卵数 1.7 vs 2.0, $P<0.05$, 受精卵数 1.6 vs 1.8, $P<0.05$). 良好分割期胚率が有意に増加した (64.0 % vs 79.0 %, $P<0.05$). ホルモン補充凍結融解胚移植周期において妊娠率が向上した (分割期胚移植 6.7 % vs 17.8 %, $P<0.05$). 統合医療プログラム施行後妊娠率が改善した (12.0 % vs 23.7 %, $P<0.01$).

キーワード : IVF, LLLT, 妊娠率, 統合医療**Abstract**

We evaluated the efficacy of supplements treatment (L-carnitine and melatonin) and low reactive level laser therapy (LLLT) and the integrated medicine program for IVF failures. After L-carnitine treatment blastocyst rate was significantly increased (37.0 % vs 60.8 %, $P<0.01$). After melatonin treatment good embryo rate (45.2 % vs 63.0 %, $P<0.01$), blastocyst rate (28.3 % vs 54.4 %, $P<0.01$) and good blastocyst rate (29.4 % vs 67.7 %, $P<0.05$) were significantly increased. After LLLT, the numbers of MII oocytes (1.7 vs 2.0, $P<0.05$) and the numbers of fertilized oocytes (1.6 vs 1.8, $P<0.05$) were significantly increased. Good embryo rate was significantly increased (64.0 % vs 79.0 %, $P<0.05$). In hormone supplemented frozen thawed ET cycles, pregnancy rate of day 3 embryos was significantly increased (6.7 % vs 17.8 %, $P<0.05$) after LLLT. And after the integrated medicine program, pregnancy rate was significantly increased (12.0 % vs 23.7 %, $P<0.01$).

Key words : *in vitro* fertilization, low reactive level laser therapy, pregnancy rate, integrated medicine

1. はじめに

体外受精-胚移植 (*in vitro* fertilization-embryo transfer: IVF-ET) を中心とする生殖補助医療技術 (assisted reproductive technology: ART) の発展と普及はめざましいものがあり、日本の IVF 治療総周期は年間 36 万件以上にのぼる¹⁾。これは米国を上回り、世界一である。顕微授精、胚凍結などの技術は安定した成績をあげており、日本は名実ともに世界に冠たる体外受精大国である。しかしここ数年、妊娠率、生産率は徐々に減少している。この理由は治療技術が低下しているからではなく、女性患者が高齢化しているからに他ならない。当院では 2013 年の初診患者の約 28% が 40 才以上であり、胚移植実施患者の約 46% が 40 才以上であった。一般に女性年齢が上昇するにつれ卵子は老化し、受精卵の染色体異常が高率となることが知られている。日本産科婦人科学会によれば 40 才の患者における治療周期あたりの妊娠率は 8% 未満と低く、また 43 才の患者における流産率は約 50% と高い。一方、欧米諸国においては 40 才以上では着床前診断あるいは提供卵子を用いることで生産率を上げている。わが国では日本産科婦人科学会は 2006 年に非配偶者間人工授精に関する見解を含む関係する会告を改定したが、第三者配偶子 (提供卵子) を用いる生殖補助医療については、これまで何も述べていない。卵子提供に対しては倫理的問題などについて多くの議論があり、日本国内では実現されるめどはたっており、希望者は海外で治療を受けている。また日本産科婦人科学会による着床前スクリーニング (preimplantation genetic screening: PGS) の臨床研究はそのパイロットスタディーがまもなく開始される予定ではあるが、治療の選択肢として一般化するにはなお時間を要すると予想される。PGS が実施されれば染色体異常のない受精卵のみを移植することが可能となるため、胚移植あたりの流産率の低下、生産率の上昇が期待される。しかし PGS は胚の質を向上させるものではなく、実際には高齢患者において染色体異常を有する胚の多さが浮き彫りになることが予想される。以上の特殊ともいえる日本の生殖医療の状況下での治療のストラテジーとして当院では、通常の IVF 治療に加えて、理学療法、運動療法、栄養療法、心理療法、サプリメント投与などの補助治療を併用した統合医療を行ない、心身の健康を維持、改善しつつ胚質の改善をすることで妊娠率の向上を図っている。しかし補助治療個々の効果は限定的で、また効果発現には個人差も大きいと考えられる。したがって患者個別に複数の補助治

療を組み合わせ通常治療と併用する系統的な統合医療システムを構築する必要があると考えられる。当院では 2011 年 3 月より独自の 9 つの統合医療プログラム (Fig.1) を用意し、医師、看護師およびカウンセラーによる follow up システムを実践し、成績を上げている。今回我々はサプリメント投与 (L-カルニチン、メラトニン) と低反応レーザー治療 (Low reactive level laser therapy: LLLT) の各々の成績とそれらを組み合わせた統合医療プログラムの有用性について検討した。

2. 方法

2.1 サプリメント投与の効果の検討

- 1) L-カルニチン：2013 年 1 月から 2014 年 12 月の間に胚質不良による IVF 不成功例 94 例 (40.3 ± 4.2 才) を対象に L-カルニチン 1000 mg/day を連日投与し、投与前後の胚質を比較検討した。
- 2) メラトニン：2013 年 1 月から 2014 年 12 月の間に胚質不良による IVF 不成功例 69 例 (39.8 ± 4.5 才) を対象にメラトニン 3 mg/day を採卵周期 Day1 より採卵前日まで連日投与し、投与前後の胚質を比較検討した。

2.2 低反応レーザー療法 (Low reactive level laser therapy: LLLT) の効果の検討

レーザー装置は日本医用レーザー研究所製 OhLase HT2001[®] (波長 830 nm, 出力 60 mW) を用いた。低反応レーザー光を 15 から 20 分かけて頸部、肩のストレッチを行いながら左右の星状神経節周辺と下腹部 (子宮、卵巣周辺) に週 1 回照射して 1 周期とし、これを 1 から 10 周期施行した。

- 1) 採卵に関する検討；2007 年 7 月から 2014 年 12 月の間に低刺激 IVF 周期において反復不成功例 164 症例 (41.6 ± 3.4 才) に LLLT を施行し、施行前後の採卵数、成熟卵数、受精卵数を比較検討した。
- 2) 胚質に関する検討；2011 年 1 月から 2015 年 12 月の間に低刺激 IVF 周期において 71 症例 (分割期胚移植 57 例, 40.9 ± 2.9 才, 胚盤胞移植 14 例 40.1 ± 3.0 才) に LLLT を施行し、施行前後の胚質を比較検討した。
- 3) 妊娠率に関する検討；2007 年 7 月から 2014 年の間にホルモン補充凍結融解胚移植周期において反復不成功例 132 症例 (分割期胚移植 $n=84$, 39.8 ± 3.5 才, 胚盤胞移植 $n=25$, 36.3 ± 3.3 才, 2 段階移植 $n=23$, 39.4 ± 4.0 才) を対象として LLLT を施行し、施行前後の妊娠率を検討した。

Program for	Nutritional counseling	Nutritional management	Mental counseling	Autogenic therapy	Genetic counseling	LLLT	Fitness	Yoga	Aroma treatment
Embryo quality	◎	△	○	△	△	◎	◎	○	○
PCO	◎	△	○	△	△	○	○	○	○
Anti-aging	◎	△	△	△	○	◎	○	○	○
Oocyte numbers	◎	△	○	△	△	◎	○	○	○
POF	○	△	○	△	△	○	○	○	○
Circulation	◎	△	△	○	△	◎	◎	◎	○
Implantation	○	△	△	△	△	◎	○	○	○
Endometrium	◎	△	△	△	△	◎	○	○	○
Male factor	○	△	△	△	△		×	×	×

Fig.1 Integrated medicine programs.

2.3 統合医療プログラムの効果の検討

2011 年 3 月から 2014 年 12 月の間に胚質改善プログラムを実践した 82 例の患者についてプログラム実施前後の妊娠率を比較した。

3. 結果

3.1 サプリメントの効果

- 1) カルニチンの成績；分割期移植可能胚率は 55.8% から 64.0% に，胚盤胞到達率は 37.0% から 60.8% ($P<0.01$) に，良好胚盤胞到達率は 38.2% から 58.3% に改善した (Fig.2)。
- 2) メラトニンの成績；分割期移植可能胚率は 45.2% から 63.0% ($P<0.01$) に，胚盤胞到達率は 28.3% から 54.4% ($P<0.01$) に，良好胚盤胞到達率は 29.4% から 67.7% ($P<0.05$) に改善した (Fig.3)。

3.2 LLLT の効果

- 1) 採卵数は 2.1 個から 2.2 個に，成熟卵数は 1.7 個から 2.0 個 ($P<0.05$) に，受精卵数は 1.6 個から 1.8 個 ($P<0.05$) に増加した (Fig.4)。
- 2) 分割期移植可能胚率は 64.0% から 79.0% ($P<0.05$) に，

胚盤胞到達率は 51.9% から 64.5% ($P=0.32$) に増加した (Fig.5)。

- 3) 妊娠率は分割期胚移植で 6.7% から 17.8% ($P<0.05$) に，胚盤胞移植で 17.8% から 28.2% に，2 段階移植で 21.9% から 37.8% に向上した (Fig.6)。

Fig.4 Effect of LLLT on OPU.

Fig.2 Effect of L-carnitine.

Fig.5 Effect of LLLT on embryo quality.

Fig.3 Effect of melatonin.

Fig.6 Effect of LLLT on pregnancy rate.

3.3 統合医療プログラムの効果

実施前妊娠率 12.0% (22/184 周期) に比し、実施後妊娠率は 23.7% (45/190 周期) と有意に高値となった ($P < 0.01$) (Fig.7).

Fig.7 Effect of integrated medicine program.

4. 考察

日本の体外受精実施件数は世界一であり、その技術は欧米諸国に比して決して劣るものではなく、凍結融解技術に関してはむしろ一足の長があるといわれている。しかし体外受精の妊娠率、実施周期あたりの生産率はここ数年徐々に低下している。その原因は人口動態の変化により患者の高年齢化がすすんでいることである。すなわちいわゆる団塊ジュニア世代が現在 40 才から 45 才となっており²⁾、女性の社会進出により生殖治療開始が遅くなったこととあいまって、いわゆる難治性不妊の患者が増加している。一般に女性年齢が上昇するにつれ卵子はいわゆる老化するといわれている。では卵子の老化とは何か？具体的には核の老化と、細胞質の老化を分けて考える必要がある。卵子は胎生期に第一減数分裂前期において停止し、LH (lutening hormone) サージが開始するまでの間、何十年も経過しており、女性年齢があがるほど減数分裂再開時に姉妹染色体の不分離を生じやすく、染色体の数的異常が高率に起こると考えられる。Harton ら³⁾によれば 42 才以上において形態良好胚における染色体の数的異常率は分割期胚で 93%、胚盤胞で 85% と高率である。核の老化に関しては、コヒーシンの関与などが考えられるが、現況ではこれに対する具体的治療はない。そこで不妊治療の戦略としては細胞質の老化を食い止めることが目標となる。我々は細胞質内に存在するミトコンドリアに着目し、その老化を防止するふたつの方策を模索している。そのひとつが補助治療による胚質の改善である。L-カルニチンは遊離脂肪酸をその燃焼の場であるミトコンドリアに運び、ミトコンドリアの膜を安定化し、アポトーシスを抑制する。体内の活性酸素を低下させ、胚質を改善させる。メラトニンは松果体から分泌されるホルモンのひとつで、不眠治療や時差の解消にも利用される。またラジカルスカベンジャ

ーとして働き抗酸化作用を有し、卵胞内で酸化ストレスを抑制し、胚質を改善する。LLLT は卵巣の血液灌流の改善による卵胞発育の促進、卵子のミトコンドリア活性の向上による胚質の向上、さらに子宮内膜の血管新生促進、子宮内膜の胚受け入れ時の免疫調節などの作用による妊娠率の向上が期待される^{4,5)}。今回の我々の検討でこれらの補助治療の有用性が再確認された。さらに補助治療を有効に組み合わせた統合医療プログラムの有用性も認められており今後さらに症例数を増してエビデンスを築いて行きたいと考えている。

もうひとつの細胞質の改善方法は、直接卵子のミトコンドリアの質を改善する方法である。我々のグループでは、卵子幹細胞からミトコンドリアを抽出し、顕微授精時に精子とともに卵子に注入するミトコンドリア自己移植を有効な手段と考え、臨床応用に向けて準備をすすめてきた。この方法は 2015 年 12 月日本産科婦人科学会倫理委員会において臨床研究として承認され、2016 年から実施される予定である。今後ミトコンドリア移植の実施は我々の統合医療においてその有用性が非常に期待される。

日本の人口動態から今後長期的には 40 才から 45 才の人口は減少していくと予想されるが、女性の社会進出という現象は今後も継続していくと考えられ、晩婚化、あるいは子作り年齢の遅延化は一層加速し、生殖適齢人口の減少にもかかわらず、難治性不妊の患者は減少することはないと予想される。今後も卵子の老化防止は生殖医療にたずさわる者の悲願である。

利益相反の開示

開示すべき利益相反なし。

参考文献

- 1)ARTオンライン登録 URL: <http://plaza.umin.ac.jp/~jsog-art/2013data.pdf>
- 2)統計局ホームページ／日本の統計2015 - 第2章人口世帯 - 総務省統計局 <http://www.stat.go.jp/data/nihon/02.htm>
- 3)G.L. Harton, S. Munné, M. Surrey, *et al.*: Diminished effect of maternal age on implantation after preimplantation genetic diagnosis with array comparative genomic hybridization. *Fertil Steril*, 100: 1695-1703, 2013.
- 4)T. Ohshiro, S. Fujii, K. Sasaki, *et al.*: Laser therapy as an adjunct treatment for severe female infertility-a preliminary report. *Laser Therapy*, 11: 96-102, 2001.
- 5)井田守, 福田愛作, 森本義晴, 他: 反復IVF不成功例に対する低反応レベルレーザー治療 (LLLT) の試み. *日本受精着床学会雑誌*, 28: 54-57, 2011.

著者紹介

井田 守 (Mamoru Ida)

昭和 59 年 三重大学医学部卒業。平成元年 三重大学医学部医学研究科大学院卒業、医学博士授与。平成 3 年 山田赤十字病院勤務。平成 20 年 1 月より IVF 大阪クリニック勤務。平成 21 年 4 月より統合医療部門部長。平成 25 年 4 月より副院長。専門分野: 生殖医療。所属学会: 日本産科婦人科学会、日本生殖医学会、日本受精着床学会、日本 IVF 学会、日本レーザーリプロダクション学会。

福田 愛作 (Aisaku Fukuda)

昭和 53 年 関西医科大学卒業. 昭和 55 年 市立舞鶴市民病院産婦人科 医長. 昭和 63 年 京都大学大学院医学研究科修了. 平成元年 京都大学医学博士授与. 平成 2 年 米国東テネシー州立大学医学部産婦人科留学. 平成 3 年 米国東テネシー州立大学医学部産婦人科 准教授. 平成 4 年 米国東テネシー州立大学体外受精ラボディレクター. 平成 8 年 米国バイオアナリスト協会 (ABB) IVF 培養室長資格 (HCLD) 取得. 平成 10 年 IVF 大阪クリニック 副院長. 平成 15 年 IVF 大阪クリニック院長. 受賞: 平成 4 年 米国不妊学会賞 (ASRM). 平成 5 年 関西医科大学同窓会賞. 平成 10 年 SIGMA 科学写真賞. 平成 12 年 第 18 回日本受精着床学会 世界体外受精会議記念賞. 平成 21 年 第 18 回国際レーザー医学連合会 (ISLSM) Good Speech Award. 所属学会: 日本産科婦人科学会, 日本受精着床学会 (理事), 日本生殖医学会 (生殖医療専門医), 日本 I V F 学会 (常務理事), 日本哺乳動物卵子学会 (評議員), 日本臨床エンブリオロジスト学会 (顧問), 日本レーザーリプロダクション学会 (理事長), 米国生殖医学会.