

精子を凍結保存した患者のその後の経過

鈴木康太郎¹, 松崎 純一¹, 服部 裕介²
 斉藤 和男², 野口 和美², 湯村 寧³
 佐藤 和彦⁴, 岩崎 皓⁵, 窪田 吉信⁶

¹大口東総合病院泌尿器科,

²横浜市立大学医学部附属市民総合医療センター泌尿器・腎移植科,

³茅ヶ崎市立病院泌尿器科, ⁴社会保険相模野病院,

⁵横浜みなと赤十字病院泌尿器科, ⁶横浜市立大学医学部附属病院泌尿器科

SEMEN CRYOPRESERVATION FOR PATIENTS WITH MALIGNANT OR NON-MALIGNANT DISEASE: OUR 14-YEAR EXPERIENCE

Kotaro SUZUKI¹, Junichi MATUZAKI¹, Yusuke HATTORI²,
 Kazuo SAITO², Kazumi NOGUCHI², Yasushi YUMURA³,
 Kazuhiko SATO⁴, Akira IWASAKI⁵ and Yoshinobu KUBOTA⁶

¹The Department of Urology, Ohguchi Higashi General Hospital

²The Department of Urology, Yokohama City Medical Center

³The Department of Urology, Chigasaki City Hospital

⁴The Department of Urology, Shikaihoken Sagami Hospital

⁵The Department of Urology, Minato Red Cross Hospital

⁶The Department of Urology, Yokohama City University

We retrospectively analyzed 163 patients who had been cryopreserving their sperm one year or more. They consisted of 72, 76 and 15 patients with a germ cell tumor, hematologic cancer and other diseases, respectively. Forty-eight patients (29.4%) were still cryopreserving their sperm, and the average period of cryopreservation was 4.7 ± 3.0 years (1-13.1 years). Only 6 patients (3.7%) had used their cryopreserved sperm and the average preserved period was 6.0 years (1.3-12 years). In 115 of the 163 cases, the cryopreserved sperm was abandoned, and the main reason was the recovery of spermatogenesis. Of the cases that underwent semen analysis after treatment, 20.9% of the patients with testicular cancer and 57.9% of the patients with hematologic cancer, have not recovered spermatogenesis. Because chemotherapy to the testicular tumor and leukemia risk injuring testicular function, cryopreservation of the sperm before treatment should be recommended. Because the preservation period tends to be prolonged, development of a system for long-time preservation is awaited.

(Hinyokika Kiyo 53 : 539-544, 2007)

Key words : Sperm cryopreservation, Chemotherapy

緒 言

精巣腫瘍や白血病, 悪性リンパ腫などは若年者に好発する疾患であるが, 近年の化学療法の発達によりその治療成績は著しく向上している。これに伴い, 疾患を克服した後の生活の質が問題となることが多くなってきた。特に若年男性では, 化学療法や放射線療法などの治療による造精機能障害が問題となることが多く, その問題をいかにして解決するか, 多方面からのアプローチが検討されている。

その1つが癌化学療法前の精子凍結保存であり, 横浜市立大学医学部附属病院では15年前より精子の凍結保存を行っている。精子凍結保存は, 将来の妊孕性の

確保のみならず, 闘病意欲を高め, その後の QOL を高めていると考えられている。

近年になり, ようやく日本不妊学会や日本癌治療学会より指針が示され, それに準じて多数の施設で行われるようになった。

当院では2001年に精子凍結保存の概要についての報告¹⁾を行ったが, 本邦において精子の凍結保存対象, 方法, 保存期間についての報告はあまり行われておらず, また, 精子を凍結保存した患者のその後の経過についての報告も見られない。

今回, 精子凍結保存を行った患者の妊孕性を含めたその後の経過に関し検討した。

対象と方法

1991年9月より2005年5月までの約14年間に、精子の凍結保存を目的として横浜市立大学附属病院泌尿器科の不妊外来を受診した計241例中、精子の凍結保存を行い1年以上経過した163例を対象とした。

精液検査はWHOのガイドライン²⁾に基づき施行した。精子の保存は、本人が希望し、主治医の承諾があれば、患者の年齢・結婚・子供の有無などに関わらず凍結保存を行っている。

精子凍結保存：1995年までは総運動精子数 10×10^6 以上、その後は運動精子が認められた症例に対して、2000年以降は運動精子が認められれば Mathony³⁾ らの報告に準じて凍結保存を行っている。精子凍結保存は無償で行っている。

凍結保存の期間は1年間とし、1年後に精液検査を行い造精能が回復していなければ1年間凍結保存を更新する。現在まで最長で13年間にわたり保存している。

精子凍結保存後1年以上経過しても受診されない方には、手紙により凍結保存の継続希望の有無を照会し、継続希望者は受診し精液検査を受けていただいている。受診しない場合は数年経過をみて廃棄している。また、連絡の取れない患者には主治医に問い合わせ、連絡を取ることに努めた。それでも連絡が取れない場合は数年後に廃棄としている。

患者背景：163名の患者の初診時の年齢は 29.2 ± 6.5 (Mean $\pm$ SD) 歳で、52例 (31%) は既婚者で20名 (12%) は初診時の段階で実子を有していた。163名の内訳は精巣腫瘍が72例 (44.2%)、悪性リンパ腫、白血病、多発性骨髄腫などの造血器腫瘍が76例 (46.6%)、大腸癌が5例 (3.0%)、その他の疾患が10例であった。

精子凍結期間は、保存を継続しているものは凍結開始日より最終観察日までとし、精子を廃棄例は凍結開始日より廃棄日とした。

化学療法の内容、期間、補助療法の内容はその時代、施設により多岐にわたる。このため、精巣腫瘍に関してはBEP療法の回数、造血幹細胞移植の有無に

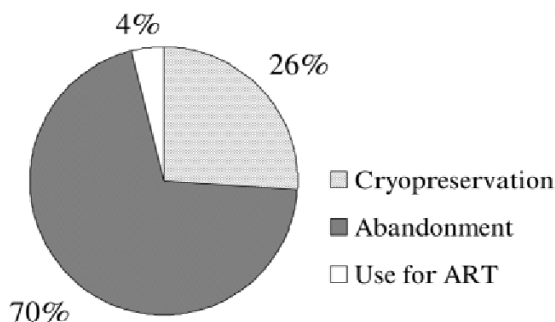


Fig. 1. Outcome of cryopreservation of sperm.

関して、その後の妊孕性を検討した。造血器腫瘍に関しては造血幹細胞移植の有無および全身放射線療法の有無のみ検討した。

結 果

精子凍結期間は1年から13.1年、平均 4.7 ± 3.0 年であった。現在も精子の凍結を続けている患者は48例 (29.4%) である。疾患別では、精巣腫瘍が16例 (22.2%)、造血器腫瘍が27例 (35.5%)、その他の腫瘍が5例 (26.7%) で疾患による差はみられなかった。この中で、実際に凍結保存精子を使用した症例は6例 (3.4%) にとどまった (Fig. 1)。その詳細 (Table 1) は精巣腫瘍3例、造血器腫瘍2名、その他の癌1名であった。初診時の年齢は25~35歳で平均29.0歳、精子使用までの凍結保存期間は3カ月が2例、4, 9, 11, 12年が各1例であった。使用時の年齢は平均35.0歳であった。Artificial insemination with husband's semen (AIH), Intracytoplasmic sperm injection (ICSI)などを施行しているが、現在のところ妊娠を1例 (流産) に認めたのみで、出産に至った症例はない。精子凍結保存後3カ月で凍結精子を使用した1名は、その後、造精能が回復し自然妊娠している。また、1名は精子が出現するようになったが、原疾患が再発したため保存を継続している。

凍結精子を廃棄した症例は、115例で全体の70.6%であった。精子凍結保存後に実子が誕生した19例、精液検査にて精子を確認できた症例が43例の計62例 (53.9%) が化学療法後の造精能の回復例である。これら造精機能が回復した症例の精子凍結期間は $4.9 \pm$

Table 1. Details of patients who used their cryopreserved sperm

No	Disease	Age	Duration of Cryo (year)	Contents of ART	Pregnancy	Birth
1	Tumor of parotid gland	35	0.3	Other hospital	—	—
2	Testicular cancer	35	0.3	Other hospital	—	—
3	Testicular cancer	26	4	ICSI $\times$ 2	—	—
4	ALL	25	9	AIH $\times$ 2, ICSI $\times$ 9	+	—
5	Testicular cancer	27	11	ICSI $\times$ 5 (epididymis)	—	—
6	CML	26	12	AIH $\times$ 1	—	—
Average		29	6.1		1	0

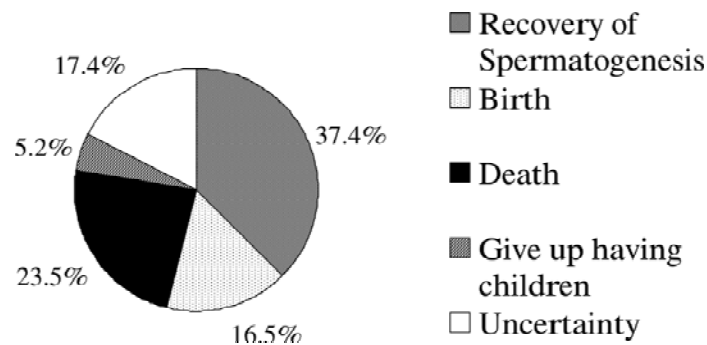


Fig. 2. Reason for abandonment.

2.7年であった。挙児希望がないとの理由で6例(5.4%)の保存精子を廃棄している。廃棄までの保存期間は 5.9 ± 3.4 年で、廃棄時の平均年齢は、35.4歳であった。患者死亡のため精子を廃棄した症例は27例(23.5%)あった。1例(0.8%)は理由は明らかにせず精子の廃棄を希望した。19例(16.5%)は凍結保存後一度も連絡が取れないため精子を廃棄している(Fig. 2)。

初診時に未婚であった111名の平均年齢は27.4歳、挙児希望がないため精子を廃棄した患者は2名(1.6%)であったのに対し、既婚者52例の平均年齢は32.8歳で、4例(7.7%)は挙児希望がないためその後精子を廃棄している。

初診時の年齢別の検討では、造精能の回復率、挙児希望がないため精子を廃棄した患者数などに特別な傾向は見られなかった。

疾患別に検討すると、まず精巣腫瘍患者72例の初診時平均年齢は30.4歳で、経過中の死亡例はなかった。精巣腫瘍の化学療法後に12例(16.7%)は実子が誕生し、28例(38.9%)は化学療法後の精液検査にて精子が確認されたため精子は廃棄されている。これらの廃棄例での平均精子保存期間は 4.5 ± 2.8 年であった。その他、12例(16.7%)は精子が確認されているが、現在も凍結保存を継続している。

精巣腫瘍患者のうち49例は化学療法後に精液検査がなされている。すべての症例で初期治療としてBEP療法が行われ、一部の症例では追加の化学療法や末梢血幹細胞移植併用の大量化学療法が行われた。BEP療法のみで治療を受けた43症例の検討では、1～3

クールでは23例中3例(13%)が無精子症となり、4クール施行14例中4例(28.6%)で無精子症が発生した。5クール以上では6例中2例(33.3%)で無精子症が続いている。全体では43例中9例(20.9%)で無精子症であった。また、6例はPEB療法の後に大量化学療法をうけており4例は無精子症である。この他、挙児希望がないため精子を破棄した患者が4例みられた(Table 2)。

造血器腫瘍患者76例の平均年齢は27.6歳と精巣腫瘍患者より若かった。化学療法後の死亡例が24例(31.6%)と多かった。治療後の妊娠成立4例(5.2%)、術後の精液検査で精子が確認された12例(15.8%)では保存精子は廃棄に至った。化学療法後、造精能が回復したため一旦凍結精子を廃棄した後に、原疾患が再発し再度凍結保存を行った症例が2例あった。挙児希望がないとの理由で2例を廃棄している。また、精子が確認されたが凍結保存を継続しているものが4例あった。

造血器腫瘍のうち38例で化学療法後に精液検査がなされている。通常の化学療法のみで治療を行った15例中、無精子症が続いているものは3例(20%)であった。これに対し造血幹細胞移植を受けた患者では23例中19例(82.6%)は無精子症が続いている。特にこの中で全身放射線療法を併用した11例はすべて無精子症である(Table 3)。

凍結前の精液所見は、精巣腫瘍では精液量 4.1 ± 1.9 ml, 精子濃度 $33.3 \pm 29.5 \times 10^6$ /ml, 運動率 $31.9 \pm 22.0\%$, 造血器腫瘍では精液量 2.8 ± 1.6 ml, 精子濃度 $68.0 \pm 69.5 \times 10^6$ /ml, 運動率 $40.0 \pm 22.5\%$ であっ

Table 2. Relation between treatment and findings of semen analysis; testicular tumor

Semen analysis after treatment		Treatment	No of cases	Azoospermia (%)
Alive=72	SA (+)=49	PEB 1-3 course	23	3 (13.0%)
		PEB 4 course	14	4 (28.6%)
		PEB 5- course	6	2 (33.3%)
		High dose chemotherapy (+)	6	4 (66.7%)
	SA (-)=23			
Dead=0				

Table 3. Relation between treatment and findings of semen analysis ; hematologic tumor

	Semen analysis after treatment	Stem cell transplantation	Radiation	Azoospermia (%)
Alive=52	SA (+)=38	(-) 15		3 (20.0%)
		(+) 23		19 (82.6%)
	SA (-)=14		(-) 12	8 (66.7%)
			(+) 11	11 (100 %)
Dead=24				

た。造血器腫瘍では63.2%で初診時にすでに何らかの治療が開始されていたのに比し、精巣腫瘍では1例以外は無治療の状態であった。

凍結保存精子を使用した6症例のうち、2症例は他施設にてARTを施行している。当院にてARTを施行した4症例中1例は両側精巣腫瘍のため術中に精巣上体をそのまま凍結している。ARTの内容としてはAIHを1回施行したのみの症例が1例、ICSIを2回施行したものが1例、AIHを2回とICSIを9回施行したものが1例、ICSIを5回施行した症例が1例であった。ART施行時の妻の年齢は32～37歳（平均34.6±1.3歳）であった。1例は解凍後の精液所見がきわめて不良であったが、他の2例では解凍後の運動率は25.7～27.4%と凍結前の運動率からの低下は約50%程度であり、また精巣上体保存を行った例でも十分量の良好運動精子の回収が可能であった。ICSIにおける卵の受精率は平均87.5%と良好であったが、解凍後の精液所見が不良であった1例では受精率も77.3%と不良であり、また移植胚もVeek分類のGrade 2～3程度と形態学的にもやや不良であった。他の症例では形態良好胚が得られており、胚盤胞移植も合わせて行っている（うち、1例で妊娠・流産）。

考 察

近年、精巣腫瘍や造血器腫瘍などの若年者に好発する悪性腫瘍の治療成績が著しく向上してきたため、治療後の生活の質が問われるようになってきた。中でも造精機能の傷害はその後の人生を大きく左右しかねない問題であり、多方面からの検討がなされている。この中で、もっとも容易で現実的な対策として考えられているものが化学療法前の精子凍結保存である。最近

の生殖補助技術の目覚ましい進歩により凍結保存を行った精子の妊孕性が確認されその有用性は明らかである。このため、凍結保存を施行する施設も増加していると考えられるが、本邦ではその実施状況に関してのまとまった報告がないのが現状である。私たちは2001年に癌患者に対する精子凍結保存の概要について報告しているが¹⁾、今回は主に精子凍結後の経過に関して検討した。

欧米の報告^{4,5)}でも精子の凍結保存の対象となる疾患としては造血器腫瘍と精巣腫瘍が主となっている。今回の検討でも、造血器腫瘍と精巣腫瘍が多かったが、大腸癌が5例見られた。大腸癌では術後化学療法が長期間行われることと、術後に射精障害が発症するためである。

今回の検討では、精巣腫瘍、造血器腫瘍ともに初診時年齢、既婚率、実子の有無についての差は見られなかった。疾患別の保存精子の廃棄率は64.5～77.8%と大きな差は見られなかったが、その理由は疾患により異なり、精巣腫瘍では化学療法後の造精能の回復が多く、その一方、造精能の回復例は少なかった。それでも、それぞれ22, 33%の患者は現在でも精子凍結保存の継続を希望している（Table 4）。

腫瘍の治療による造精機能への影響は、精巣腫瘍やホジキン病⁶⁾など治療前から造精機能障害が報告される疾患もあり単純に評価が難しい面もあるが、抗癌剤においては使用する薬剤の種類とその容量、併用薬剤やプロトコルなどにより大きく異なり、特にcyclophosphamideやcisplatinでは造精機能障害が強いと報告されている^{7,8)}。

精巣腫瘍においては、欧米の報告^{7,12,13)}ではCDDP

Table 4. Background and outcome according to disease

	N	Age	Married	Child (+)	Abandonment of sperm	Recovery of spermatogenesis*	Dead
Testicular cancer	72	30.4±5.5	25 (34.7%)	10 (13.9%)	55 (77.8%)	40 (55.6%)	0 (0.0%)
Hematologic tumor	76	27.6±6.9	18 (23.7%)	8 (10.5%)	49 (64.5%)	18 (34.6%)	24 (31.6%)
Other disease	15	31.2±7.6	9 (60.0%)	2 (13.3%)	10 (66.7%)	6 (50.0%)	3 (20.0%)
Total	163	29.2±6.5	52 (31.9%)	20 (12.3%)	115 (70.6%)	64 (47.1%)	27 (16.6%)

* Number of patients with recovery of spermatogenesis/Number of living patients

400 mg/m² までの使用では造精機能は回復するとの報告が多く見られるが, 本検討では PEB 療法では 3 クールでも 13% は無精子症となるとの結果であった。さらに化学療法を続けるとその頻度は高くなっていた。

造血器腫瘍においてはプロトコルが単一でないためまとめて検討を行ったが, 造精機能の回復は 42% で認められた。造血幹細胞移植や放射線療法は必要に応じて施行され, これらの治療は造精機能に与える影響は大きく, 本検討でも造血幹細胞移植では造精機能の回復は一部の症例で見られたが, 放射線療法を行うと造精機能の回復は難しいと考えられた⁹⁻¹¹⁾。

化学療法後の造精能の回復は 2 年までに確認されることが多いが, 5 年までは回復の可能性があると考えられている。今回の検討でも, 造精能が回復して精子を廃棄するまでに平均約 5 年を必要としている。

凍結精子が使用される頻度に関しては, 本検討での使用率は 3.4% とわずかであり, 諸家の報告^{4,5)}でも 2.6~7.7% 程度と低率で, 実際には凍結保存精子を使用する機会は稀と考えられた。使用率が低い原因としては, 疾患発症時の年齢的問題から治療時・治療後を通じて未婚の状態が継続しているケースが多いことも関係していると考えられた。また, 当院では凍結保存を無償で行っていることもあり, 使用の可能性の低いケースでも気軽に凍結保存へのエントリーができることもその一因になっていると思われる。しかし, Saito ら¹⁴⁾によると精子の凍結保存はその使用という意味のみではなく, これから治療を受ける患者にとって, 自分の精子が保存されているという事実が精神的な支えとなる点も重要であると, その意義が示されており, 凍結保存の持つ有用性は必ずしも使用率のみで判断できるものではないと思われる。

化学療法などの癌治療後の造精能の回復は個人差が大きく, 造精機能の予後の予見が困難である場合がある。また, 児の希望の有無や患者自身の見出す精子凍結保存の持つ意味合いについては医療者側が思い込みで判断してはいけない事柄であり, そのため化学療法を受ける患者に対しては一律に精子の凍結保存に関する情報提供が行われるべきであると思われる。

保存精子の使用症例に関してみると, 化学療法後 5 年程度は造精機能の回復を期待することから, 実際に使用した 6 例中 3 例は 9, 11, 12 年間で長期の保存の後に精子を使用している。海外でも 10 年以上たってからの使用例もしばしば報告されている。これは, 患者が疾患の完治, 結婚, 不妊への対応といったステップを踏むために必要な時間であり, 保存施設としてはこの長期の保存に対応してゆける体制の確立が重要と考えられた。特に, 10 歳代の若年者では, 10, 20 年間保存する体制が必要かと思われる。横浜市立大学附属病

院では現在, 無償にて凍結保存を施行しているが, 今後の症例数の増加を考えると, 設備・人員などにおいても十分な状態とは言えず, 今後は何らかの社会的バックアップが必要と思われる。

解凍後の精子の運動率は凍結前の 20~50% 程度に低下するとされているが, 凍結前の精液所見が不良な場合は運動率の回復も精液所見正常の場合と比較すると不良となる傾向があるとされている。凍結精子を使用した 6 例中, 1 例では解凍後の精液所見がきわめて不良であり, 運動精子がわずかに認められる程度であった。他の症例では運動率の回復も約 50% 程度と良好であり, 受精率・胚の発育にも問題は見られなかった。凍結保存法・解凍法自体には問題はないと思われるものの, より質の高い精子を確保するために, 凍結翌日にストローを 1 本解凍して蘇生状況を確認し, 必要があれば再度の凍結を施行するなどの対策の検討が必要と考えられた。

凍結保存精子を使用した ART に関する報告は多く, 一般に AIH においては凍結精子は新鮮精液に比してその成功率が低いとされている。ICSI においては凍結精子と新鮮精子での成績には差を認めず, 良好な運動精子を確保できれば, 運動精子数が少なくても問題は無いとされている¹⁵⁾。本検討では凍結保存精子を 6 例で使用しているが, 1 例で妊娠に至ったものの流産となり, 残念ながら出産に至った症例は見られていない。まだ十分な ICSI を行った症例数が少ないため, 成績の評価は困難であるが, 凍結精子を使用した時点での患者の妻の年齢が 32~37 歳 (平均 34.7 歳) と ART 開始年齢として若干高い傾向が見られることや AIH の適応の問題も結果に影響を与えていると考えられた。また 1 例で見られた解凍後の不良な精液所見も ICSI の結果に影響を与えている可能性があると思われる。症例を重ねるとともに, 産婦人科医・胚培養士を含めた ART スタッフとの十分なコミュニケーションに努め, 今後の成績の向上を目指して行く必要があると思われる。

結 語

横浜市立大学医学部附属病院泌尿器科における 14 年間の精子凍結保存の経過につき報告した。精子凍結保存では, 実際に使用に至るケースは少ないものの, 保存期間は長期に及ぶこともあり, これに対応できる体制の確立が重要と思われる。

文 献

- 1) 斎藤和男, 鈴木康太郎, 野口和美, ほか: 精子凍結保存 10 年間の経験: その現状と問題点. 日泌尿会誌 **94**: 513-520, 2001
- 2) World Health Organization: WHO laboratory

- manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1999
- 3) Mahony MC, Morshedi M, Scott RT, et al. : Role of spermatozoa cryopreservation in assisted reproduction. In Human spermatozoa in assisted reproduction. 1st ed, 310-318, Williams and Wilkins, Baltimore, 1990
 - 4) Kelleher S, Wishart SM, Liu PY, et al. : Long-term outcomes of elective human sperm cryostorage. Hum Reprod **16** : 2632-2639, 2001
 - 5) Lass A, Akagbosu F and Abusheikha N: A programme of semen cryopreservation for patients with malignant disease in a tertiary infertility center: lessons from 8 years' experience. Hum Reprod **13** : 3256-3261, 1998
 - 6) Viviani S, Ragni G, Santoro A, et al. : Testicular dysfunction in Hodgkin's disease before and after treatment. Eur J Cancer **27** : 1389-1392, 1991
 - 7) Pont J and Albrecht W: Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancer. Fertil Steril **68** : 1-5, 1997
 - 8) Longhi A, Macchiagodena M, Vitali G, et al. : Fertility in male patients treated with neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma. J Pediat Hematol Onc **25** : 292-296, 2003
 - 9) Jacob A, Barker H, Goodman A, et al. : Recovery of spermatogenesis following bone marrow transplantation. Bone Marrow Transpl **22** : 277-279, 1998
 - 10) Sanders JE, Hawley J, Levy W, et al. : Pregnancies following high-dose cyclophosphamide with or without high-dose busulfan or total body irradiation and bone marrow transplantation. Blood **87** : 3045-3052, 1996
 - 11) 伊藤 徹, 武元良整, 王 美恵, ほか : 同種骨髄移植後の妊娠能. 日移植学会雑誌 **34** : 246-252, 1999
 - 12) Taksey J, Bissada NK and Chaudhary UB: Fertility after chemotherapy for testicular cancer. Arch Androl **49** : 389-395, 2003
 - 13) Meistrich ML, Chawla SP, Da Cunha MF, et al. : Recovery of sperm production after chemotherapy for osteosarcoma. Cancer **63** : 2115-2123, 1989
 - 14) Saito K, Suzuki K, Iwasaki A, et al. : Sperm cryopreservation before cancer chemotherapy helps in the emotional battle against cancer. Am Can Soc **20** : 521-524, 2005
 - 15) Jennifer TA, Bruce RG and Marc G: Cryopreservation of sperm: indications, methods and results. J Urol **170** : 1079-1084, 2003

(Received on October 31, 2006)
(Accepted on February 21, 2007)