

Japanese Journal of Fertility and Sterility

July 1968

日本不妊学会雑誌

第 13 卷

第 3 号

昭和 43 年 7 月 1 日

— 目 次 —

原 著

副腎皮質糖質コルチコイドホルモンが妊娠
 ラットと胎仔，胎盤に及ぼす影響……神 津 弘…
 第一編……………1
 第二編……………18

子宮運動に関する実験研究 II アドレナリン，アセチルコリン
 およびオキシトシンがラットの摘出した子宮の
 運動性におよぼす影響について……佐久間勇次，他…30

2, 3 の性ホルモンに対する黄体期内膜の反応について……………ト 部 宏…35

Norethindrone-Mestranol (S-3800 C) 剤の下垂体
 gonadotropin 抑制に関する研究……徳田 源市，他…46

Human Menopausal Gonadotropin 製剤 (HMG) の
 使用経験，特に長期無排卵性不妊患者
 の治療を中心として……………赤 須 文男他…54

組織培養法による初期卵子形成の研究……………於 川 若 麿…64

Medical Analyses and Sociological Side of Heterologous
 Artificial Insemination……………飯塚 理八，他…79

日本不妊学会臨時理事会議事録

CONTENTS

Effects of Adrenocortical Glucocorticoids in Pregnant Rat and on the Growth of Fetus and Placenta. Part I	<i>H. Kohzu</i>	1
Part II	<i>H. Kohzu</i>	12
Experimental Studies on Uterine Motility. II Effects of Adrenalin, acetylcholine and oxytocin on spontaneous Motility of the excised Uterus in Rats	<i>Y. Sakuma et al</i>	30
The Response of Endometrium treated by some Sex Steroids in Luteal Phase	<i>H. Urabe</i>	35
On the studies of inhibition of Hypophysial Gonadotropin by Norethindrone-Mestranol	<i>G. Tokuda et al</i>	46
Clinical Studies on the Administration of Human Menopausal Gonadotropin preparation for the Anovulatory Patients, with special Reference to treatment of longterm sterile Patients	<i>F. Akasu</i>	54
Studies on the Ovogenesis of the Mice Embryos Using Tissue Culture Method	<i>W. Ogawa</i>	64
Medical Analyses and sociological Side of heterologous artificial Insemination	<i>R. Iizuka et al</i>	79

総 会 予 告 (最 終 回)

第 13 回日本不妊学会総会は下記のように開催されます。

開催期日 昭和 43 年 10 月 10 日 (木), 11 日 (金), 12 日 (土)

開催会場 福岡県久留米市 商工会議所会館

学 会

I. 特別講演

- 1) 精巢 Leydig 細胞の電顕レベルに於ける細胞生理

久留米大学教授 村 上 正 浩

- 2) 家族計画と人口問題 東京大学名誉教授, 日母会会長 森 山 豊

- 3) 超低温下並びに極低温下における家畜精子の生存性とその利用

京都大学教授 西 川 義 正

II. 招請講演

- 4) The Immunologic Aspects of Reproduction

University of Michigan Medical Center. Prof. S. J. Behrman

III. シンポジウム

- 1) 男子不妊症と内分泌腺相互の関係

座 長 鹿 児 島 大 学 教 授 岡 元 健 一 郎

久留米大学講師 原 田 寛 司

鹿 児 島 大 学 講 師 牧 角 格

神 戸 大 学 講 師 原 信 二

京 都 大 学 助 教 授 友 吉 唯 夫

千 葉 大 学 講 師 片 山 喬

東 北 大 学 講 師 白 井 将 文

- 2) 女子不妊症の治療について

座 長 福 島 大 学 教 授 貴 家 寛 而

久留米大学講師 園 田 重 則

鹿 児 島 大 学 助 教 授 牧 美 輝

九 州 大 学 講 師 楠 田 雅 彦

熊 本 大 学 講 師 大 谷 善 彦

東 邦 大 学 助 教 授 木 下 佐

演題申込締切 昭和 43 年 7 月 31 日 (厳守)

演題申込資格 本学会会員に限ります。会員以外の方 (共同発表の方も) は演題申込みと同時に 43 年度会費を払って会員となつて下さい。

- 演題申込方法**
1. 本誌に挿入されている所定の用紙を必ず使用して 400 字以内の講演内容要旨を添付し、書留郵便をもって送って下さい。
 2. 同一教室又は病院からの出題が多数の時は順位をつけて下さい。
 3. 図表はすべて 35 mm のスライドといたします(10 枚以内)。
 4. 演題の採決は会長に一任させていただきます。

演題受領通知 演題申込発送後 2 週間以内に未着の場合は連絡して下さい。

演題申込先 福岡県久留米市旭町 67

久留米大学医学部泌尿器科学教室 重 松 俊 宛

- 参加申込**
1. 総会に御出席の方は本誌に挿入の振替用紙裏面が申込書になっておりますので各事項御記入の上参加費を払って登録して下さい。
 2. 締切 昭和 43 年 7 月 31 日 (厳守)
 3. 大学教室などに所属の方も必ず個人別にお申込み下さい。

演題提出の有無にかかわらず今後の連絡やプログラム発送等は登録された方だけにお送り致しますので御注意下さい。

宿泊, 観光, その他 本誌に挿入されてある用紙を使用して早目に予約して下さい。講演に対する詳細な御注意や総会の御案内は、参加申込により登録された方にプログラムを別送致しますので御参照下さい。

多数の会員の御来訪をお待ちしております。

第 13 回 日本不妊学会総会会長

重 松 俊

ご 案 内 状

福岡県久留米市東町 522 守谷ビル内
(株) 日本交通公社 久留米営業所内
宿泊関係事務局 (電) 09422 ③ 5071

平素弊社をご愛顧戴きまして真に有り難く厚くお礼申し上げます。

さて今回当地で行なわれます第13回日本不妊学会総会の宿泊関係につきまして下記のようにご案内申し上げます。

お申込みの際は同封の申込書をご利用下さいますようお願い申し上げます。

なお宿泊関係のメ切りは昭和43年7月31日でございます。

記

1. 宿泊旅館について

(1) 宿泊旅館の確保

総会の前日(9日)より12日まで久留米市内、船小屋温泉、福岡市内、二日市温泉の旅館客室を多分に保留いたしておりますから、宿泊のお申込みは弊所を通じて戴くようお願いいたします。

船小屋温泉	久留米市より国電で……………15分	西鉄バスで……………20分
福岡市内	久留米市より西鉄電車で……………30分	国電で……………30分
二日市温泉	〃 西鉄電車で……………15分	〃 ………………20分

(2) 宿泊料金

日本旅館 (和室)

クラス別		税金奉仕料は別	
A	1泊2食		3,000円
B	〃		2,500円
C	〃		2,000円
D	〃		1,500円

個室の場合は1,000円~1,500円加算になります。

ホテル (洋室) 福岡市内のみ

クラス別	シングルW/B	ツインW/B	クラス別	シングルW/B	ツインW/B
A	2,800円	6,000円	D	2,000円	3,600円
B	2,600円	4,200円	E		3,200円
C	2,400円	3,800円	F		3,000円

(注) 税金、奉仕料は別

2. 帰路の指定券類について

国鉄指定券類、船、航空機等の座席は充分に確保する予定ではございますが、何分にも多客期のため、ご希望のものが確保できない場合は何卒ご容赦願います。

3. 大会後のエキスカーションについて

四季共々に良いといわれます九州を是非一度はご覧下さるようベストコースを選定いたしておりますから、ご参加の程お願い申し上げます。

Aコース＝西海国立公園と天草五橋を訪ねて 1泊2日
会費 8,000円

日程	行	程	宿泊
10月 13日	久留米	貸切バス 佐賀 ―― 早岐 ―― (中食) 西海橋 ―― 長崎	島原
9:00	10:00	10:30 11:50 13:00 14:20 平和公園, 異人館 18:00	
10月 14日	島原	フェリー 会津 貸切バス 熊本 ―― (中食) 水前寺 ―― 熊本城 ―― 熊本駅前解散	
8:50	10:20 10:30 12:10	12:30 13:30 14:00 15:20	

Bコース＝西海国立公園と長崎を訪ねて 1泊2日
会費 7,500円

日程	行	程	宿泊
10月 13日	久留米	貸切バス 早岐 ―― (中食) 西海橋 ―― 佐世保	平戸
9:00	11:30	11:50 13:00 13:40 市内 16:50 13:00 17:10	
10月 14日	平戸	船 鹿子前 貸切バス (中食) 長崎 船 平戸 船 弓張岳 平戸口 船 平戸	
8:30	観光船 10:30 10:40 12:30 13:30 平和公園, 異人館 15:30	13:30 平和公園, 異人館 15:30	

Cコース＝火の山, 九重を訪ねて 1泊2日
会費 5,400円

日程	行	程	宿泊
10月 13日	文化センター前	貸切バス 水前寺 ―― 阿蘇山 ―― やまなみHW	瀬の本高原
10:00	12:30 13:40 14:00 15:00	16:00	
10月 14日	瀬の本高原	―― 城島高原 ―― 別府地獄めぐり後解散	
9:00	10:00 10:30 11:00 15:00 頃		

第13回 日本不妊学会総会宿泊関係申込書

福岡県久留米市東町 522 守谷ビル内

日本交通公社 久留米営業所殿

住所 都府 市 町
 県 郡
 氏名 (年齢 歳)

1. 宿泊関係

該当箇所に○印でご記入願います。

宿泊希望地	久留米市内・船小屋温泉・二日市温泉・福岡市内
宿泊料金	日本旅館・ホテル・(A・B・C・D・E・F)
宿泊期間	10月 日より 10月 日まで 泊
宿泊人員	名(夫妻・グループ)
部屋種別	個室・同室・シングル・ツイン

2. 座席指定券類 (申込金 1,000 円) 所要事項を記入して下さい。

希望輸送機関名	国鉄・日航・全日空・関西汽船・その他 ()
乗車船日	月 日 時発 便名 列車名
人員	名
同伴者氏名	

3. エキスカーション (申込金 1,000 円) コース別に○印をつけて下さい。

コース別	A	B	C	D
------	---	---	---	---

申込金の送付金額は { 宿泊のみでは 1 人につき 3,000 円
 他は 1 件 1 人につき 1,000 円

副腎皮質糖質コルチコイドホルモンが妊娠 ラットと胎仔、胎盤に及ぼす影響

Effects of Adrenocortical Glucocorticoids in Pregnant Rat and
on the Growth of Fetus and Placenta.

第1編 胎仔、胎盤の発育に及ぼす影響
—主として胎盤の組織学、組織化学的検索—

Part I. Effects of Adrenocortical Glucocorticoids on the
Growth of the Fetus and Placenta
—Histological and Histochemical Studies on the Placenta—

東邦大学医学部産婦人科教室 (主任 林基之教授)

神 津 弘

Hiromu KOHZU

Dept. Obst. & Gynec. Toho Univ., School of Med.

(Director, Prof. Motoyuki Hayashi)

副腎皮質糖質 コルチコイドの Paramethasone acetate (6 α -Fluoro-16 α -Methyl-Prednisolone-21-Acetate) を 2.5 mg, 1.5 mg, 0.5 mg, 0.25 mg, 0.125 mg/kg/day の5投与量に分け、初妊ラットに妊娠確認日より連日経口投与し、妊娠第6, 9, 12, 15, 18, 21日目に剖検して胎仔および胎盤の発育におよぼす影響を組織学的、組織化学的に比較検討した。投与量が増加するにしたがい妊娠中期より胎仔、胎盤重量の増加が抑制され、末期では著明になった。胎仔吸収も妊娠日数が増すにしたがい高率となった。卵着床前の子宮内膜は萎縮傾向が大きく、胎盤では Trophoblast 細胞の変性と発育障害を起し、絨毛繁茂が抑えられ、巨大細胞層は妊娠末期にいたるも部分的に残存する傾向がみられた。基底脱膜と海綿層のグリコーゲン含有量はほぼ並行し、妊娠中期から後期では対照より少ないが、妊娠末期では対照に比べ大差を認め難く、海綿層内のグリコーゲン含有細胞の崩壊遅延も伴って、グリコーゲンの絨毛層への移行が減少していた。2.5 mg, 1.5 mg/kg/day 等の大量投与例では妊娠後期から末期の胎盤に細胞学的に老化が早まるが、Chorioallantoic portion の3層構造の所見からは寧ろ対照例に比較して妊娠日数の少ない胎盤構造に類似していると思われる。

I 緒 言

1949年 Cortisone のリウマチ性疾患に対する著効について Mayo Clinic の Hench & Kendall¹⁾⁻³⁾の共同報告がなされて以来、副腎皮質糖質ステロイドホルモンの開発および臨床面での応用は盛んとなり、最近では産婦人

科領域においてもその用途が増し、不妊症⁴⁾⁻⁸⁾、Rh 陰性感作⁹⁾、妊娠悪阻および妊娠中毒症等¹⁰⁾⁻¹²⁾の治療に用いられた諸報告がなされている。妊娠時に当ホルモンを使つての動物実験もラット¹³⁾⁻¹⁹⁾、マウス²⁰⁾⁻²³⁾、うさぎ²⁴⁾⁻²⁶⁾等の諸研究がある。特にヒトと胎盤の構造が類似するラットを用いての研究は Wells & Kendall¹³⁾ の

Cortisone による胎仔成長阻害作用を最初として、過去より種々の報告がなされている。最近各方面で医原性疾患が注目を集めている折から、産婦人科学界においても多角的な研究が行なわれているが、未解決な点も数多く、合成ステロイドホルモンに関してもその急速な開発に伴い副作用の追究と検討が必要となつてきた。特に産科的応用では、妊娠という特殊な環境のゆえに、母児に与える影響の解明は内分泌学的、形態学的、生化学的な多要素を考慮しつつ検討されなければならない、複雑極まる感じがする。母子の接点であり胎児の物質代謝を始めとして、諸々の機能を営む胎盤の存在は非常に大きく、これが母児に与える影響についての諸研究は枚挙にいとまがない。妊娠時は胎盤ホルモンの関与もあり非妊時とは内分泌機能に大きな差異があるが、かかる際に外部からのホルモン投与が母体にとつても、胎盤を介して胎児にとつても、その機能と形態を大きく変化させることは想像に難くない。このような状況下で副腎皮質糖質ステロイドホルモンを妊娠直後より長期連日投与した場合、母体内でのホルモン変動による胎盤の変化および母児間の糖質代謝への影響は投与量別に観察するとどのような結果をもたらすか興味あるところであるが、これについての報告は少ない。この見地からラットを用いて、妊娠確認日から当ホルモンを連日投与し、投与量別に妊娠の逐日的な胎盤の組織学的な変化と、胎盤内グリコーゲン含有量の変動に関して実験し若干の知見を得たので報告する。

II 実験材料ならびに方法

実験動物としてWistar 純系成熟処女ラットで体重 200 g 前後のものと同腹の雄ラットとの交配により妊娠したものを使用した。飼育は恒温恒湿の一定条件のもとに Clea 社のラット用固型飼料と、給水器により水道水を自由に与え、動物を飼育箱に各 1 匹づつ入れて条件を統一した。投与薬剤は Glucocorticoid の中でも比較的副作用の少ないといわれている Paramethasone acetate (6 α -Fluoro-16 α -Methyl-Prednisolone-21-acetate 以下 P. と略) を使用した。実験方法は次のごとくである。

1. 投与量および投与方法；P. 投与量を 1 日 pro, kg. 2.5 mg (以下 a と略), 1.5 mg (以下 b.), 0.5 mg (以下 c.), 0.25 mg (以下 d.), 0.125 mg (以下 e.) と過大投与量から漸次減量した 5 投与量群に分類した。P. は純末 100 mg を表面滑性剤の Propylen Glycol と乳鉢の中でよく混和し、これに純水を加えて上記投与量となるよう調合して用いた。対照群には Propylen Glycol 5 ml を純水にて懸濁液とし、実験群への投与に使用した該当量にほぼ一致した稀釈液を与えた。金属ゾンデによる強

制経口投与方法により、1 日 1 回妊娠確認日より剖検日まで連日投与を行なつた。

2. 剖検日と動物数：Long & Evans³⁰⁾ のラット性周期分類により性周期を確かめ、発情期に交配し、翌朝陰脂膏を採取して精子を確認した日を妊娠第 0 日とした。以後妊娠第 6 日、9 日 (以下 I と略)、12 日 (以下 II)、15 日 (以下 III)、18 日 (以下 IV)、21 日 (以下 V) に Chloroform の軽麻酔下に断頭屠殺して実験に供した。ラット数は対照、各実験群とも第 6 日群は 3 匹づつ、I ~ V 群は同様各 5 匹づつを用いた。

3. 観察。固定：屠殺後直ちに開腹して胎盤、胎仔 (妊娠第 12 日以前のいわゆる胚仔も含む) の肉眼的観察を行ない、計測計量後 Rossman 氏液 (ピクリン酸飽和純アルコール 9:1 中性フォルマリン、Glycogen 固定に最適といわれている³¹⁻³³⁾) にて固定した。

4. 切片作製と染色法：固定された胎盤は型のごとく脱水、透徹し、パラフィン包埋を行ない、胎盤中央部を求めて 5~7 μ の縦断面を得よう切片を作製した。これを脱パラフィンの過程を経た後、Hematoxylin-Eosin (以下 H. E) 染色、Periodic Acid-Schiff (以下 PAS) 反応および消化試験後 PAS 反応に Hematoxylin で核染色を行なつた。

III 実験成績

A. 肉眼的所見

1. 実験群母ラットの変化

(1) 外観的变化

1) a 群；IIa 群、IIIa 群において軽度食思不振、脱毛、毛色の汚い黄褐色化と艶の消失、活動性低下、少数例に浮腫状軀幹、刺激に対する易興奮性がみられ、IVa、Va、群では上記症状に加えて自発運動が鈍となる傾向がみられた。

2) b 群；IIIb 群に IIIa 群と比較してその程度は軽かつたが類似症状が出現し、妊娠経過が進むにつれてやや増強した。

3) c 群；背部に多少の脱毛がみられる例が、IIIc、IVc、Vc 群に少数みられたが a、b 群より軽度で、食思低下はまれであつた。活動性は対照と比べ有意の差がなかつた。

4) d、e 群；対照と外観は有意の差を認めなかつた。d 群で 1 例が妊娠第 12 日頃より小脳失調性歩行を思わせる症状を示したが、投薬による異常とは思われなかつた。

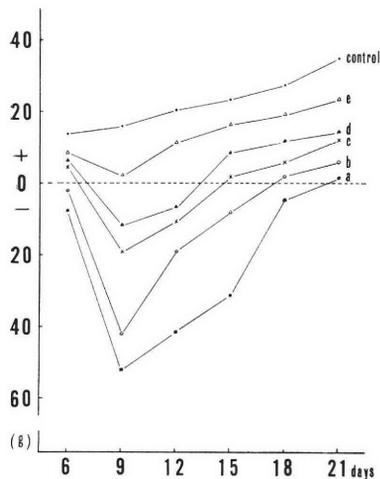
(2) 母体死亡；IIIa、IVa、IIIb 群に各 1 例あり、IVa の死亡例は剖検で肺炎を疑わせる所見がみられたが、他の 2 例は原因不明であつた。

(3) 母体重変化 (母体重から妊娠成分と子宮の総重量

を差引いた重量)

在胎仔数, 胎仔吸収数, 摂取食餌量等に個体差があつたが, 一般に実験群では妊娠第 9 日に最低値を示し, 以後は投与量により差があるものの増加を示した. しかし妊娠当初の体重よりも減少しなかつたのは e 群のみで, d 群では妊娠第 13~14 日頃, c 群では妊娠第 14~15 日頃, b 群は妊娠第 17~18 日頃, a 群は妊娠第 20~21 日頃に妊娠当初の体重に回復し, 以後増加を示した. a 群の妊娠後期の増加は胎仔吸収率の上昇と母体の浮腫の発生が原因と思われる (Fig. 1).

Fig. 1 Average maternal body weight changes (Gross body weight minus the weight of the conceptuses and uterus)



2. 胎仔, 胎盤の変化

(1) 胎仔, 胎盤重量および胎仔長と胎盤係数

一般に在胎仔数が多くなれば, 胎仔, 胎盤の各個体当たりの重量は減少の傾向があり, 胎仔吸収数の多い程生存胎仔重量は大となつたが, a, b 群では例外がみられた. 胎仔重量および胎仔長は実験群全般に妊娠初期からの増加阻害がみられており, a, b, c 群では妊娠第 15 日以後に著しく, 特に a, b 群においては妊娠後期で著明であつた. 胎盤重量も同様な傾向がみられたが, a 群では妊娠後期に他群に比べてその増加の程度がやや異なり, 多くなつている. これは胎仔吸収率, 水分代謝等の因子が関係してくると思われる (Fig. 2, 3, 4).

胎盤係数 (胎盤重量/胎仔重量) の変化をみると, d, e 群では対照群より小であるが似た経過をとつていた. a, b, c 群では妊娠第 12, 18 日で対照より大きく, 殊に妊娠初期の変化が特異で胎盤の重量に対して胎仔重量が少なく, 母仔間の代謝に不均衡がみられた. なお, 妊娠

Fig. 2 Average placental weights.

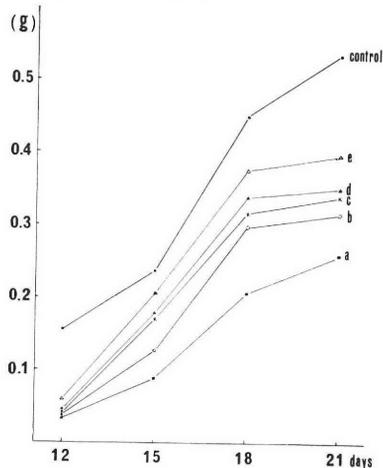


Fig. 3 Average fetal weights

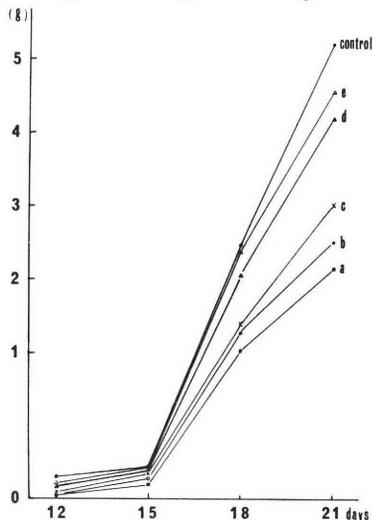


Fig. 4 Average fetal lengths (C.R.) (C. R. : Cranio-Rump.)

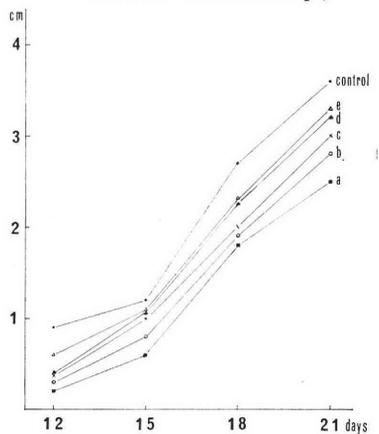
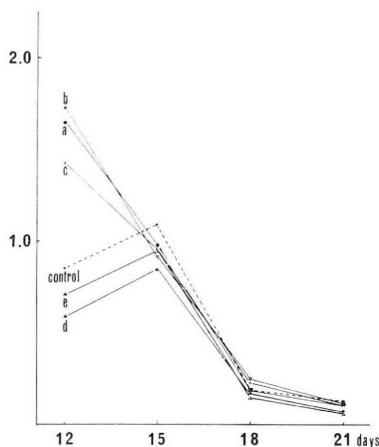


Fig. 5 Placental index (placental weights/fetal weights)

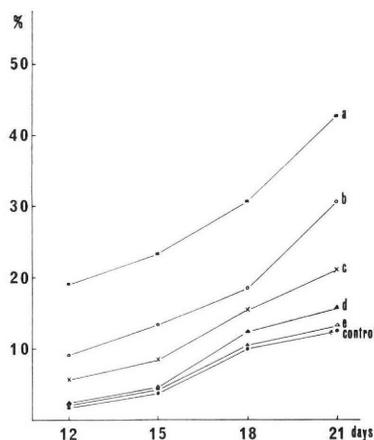


15, 21 日ではこの比が逆となつた (Fig. 5).

2. 胎仔吸収

a 群においては妊娠全期を通じ、また b 群では妊娠後期から末期にかけて高い胎仔吸収率をみとめた。d, e 群は対照と大差なく、c 群では中間的な変化を示した。妊娠第 21 日での値は a 群 42.85%, b 群 30.76%, c 群 20.93%, d 群 15.22%, e 群 13.04%, 対照群 12.5% であつた (Fig. 6)。

Fig. 6 R/I index. (resorptions/implantations × 100)



B. 胎盤の組織、組織化学的所見

哺乳動物の胎盤は動物の種類により、着床から形成までの過程、また諸構造にもかなりの差異が認められる。Grosser³⁴⁾ は絨毛膜における絨毛の發育分布形式、絨毛上皮層と子宮粘膜炎との結合状態から次のごとく分類し、Mossman³⁵⁾ がこれに 1 形を追加して現在では 4 種 5 形

に分類されている。

1) Placenta epitheliochorialis

子宮上皮層はよく保存され、絨毛上皮は子宮上皮に接するか、癒着している。(例：ウマ、ブタ等)

2) Placenta syndesmochorialis

子宮上皮は全く欠如、あるいは部分的変性のある上皮が僅かに見られる程度で、絨毛上皮は子宮結合組織に接している。(例：ヤギ、ウシ等)

1), 2) は脱落膜の発生がないため、この種の動物は Adeciduata (非脱落膜類) といわれている。また胎仔部だけで母体部がないので別名 Semiplacenta (半胎盤) ともいう。

3) Placenta endotheliochorialis

子宮上皮細胞は完全に欠如し、絨毛上皮は子宮の結合組織を侵蝕し、子宮血管の内皮細胞に直接接している。また輪状を呈しているので placenta zonaria (帯状胎盤) ともいわれる。(例：イヌ、ネコ等)

4) Placenta hemochorialis

子宮の上皮層は全くなく、絨毛の周囲には母体血液を充たしている絨毛間腔があり、絨毛は常に母体血液によつて洗われている。(例：ヒト、サル等)

5) Placenta hemoendothelialis (Mossman³⁵⁾)

内膜組織と共に絨毛上皮組織も消失して、胎仔毛細血管内皮が直接母体血に接している。これは 3), 4) の混合形である。(例：モルモット、ラット等)

3), 4), 5) の胎盤では母体部と胎仔部との関係が密であるから、胎盤娩出時に脱落膜部が胎仔部と共に剝離するのでこの群の動物は Deciduata (脱落膜類) という。また胎盤は胎仔部と母体部の両方からなるので placenta vera (真胎盤) ともいわれる。

4), 5) は常に円盤状を呈することから placenta discoides (盤状胎盤) といわれている。ラットはヒトと似た形の胎盤を形成するため、本実験の対象としては最適であると思う。なお、ラット胎盤に関する形態学的研究は Duval³⁶⁾ に初まり Everett³⁷⁾, Krehbiel³⁸⁾, Mossman³⁵⁾, Bridgman^{39), 40)}, Holmes & Davis⁴¹⁾, Amoroso⁴²⁾, Wislocki & Padykula⁴³⁾, Padykula⁴⁴⁾, Anderson⁴⁵⁾, Bulmer & Dickson⁴⁶⁾ 等により、また胎盤内の Glycogen の動態については Krehbiel⁴⁷⁾, Bridgman^{39), 40)}, Wislocki & Padykula⁴³⁾, Padykula⁴⁴⁾, Bulmer & Dickson⁴⁶⁾, Padykula & Richardson⁴⁸⁾, Blackburn et al²¹⁾ 等の詳細な報告があるのでこれ等を参考とした。

一般にラットにおいては卵着床が妊娠第 6 日から 7 日に Antimesometrial site に起り、Allantoic placenta の形成は妊娠第 9 日に Mesometrial site にみられる。胎盤完成は妊娠第 12 日から 13 日にみられた。この頃にな

ると各層が明らかで Chorio-allantoic placenta の形態が認められる。ラットの胎盤はその層のなり立ちから組織学的にみて Padykula⁴²⁾ の説のごとく、下記のように分類できる。

- (1) Chorio-allantoic placenta
 - 1) Labyrinth
 - 2) Spongy zone (Spongiotrophoblast)
 - 3) Giant cell layer (Junctional zone)
- (2) Yolk-sac placenta
 - 1) Nonvascular parietal wall.
 - 2) Vascular visceral wall

Wislocki⁴⁹⁾による Junctional zone は Cytotrophoblast とぶどうの房状になった Glycogen (以下 G. と略) 含有細胞または原形質の明るい細胞よりなっている。妊娠第 16 日にいたり Decidua basalis が最も厚くなり、その最内層は G. 含有が最大になる。母体側血管は豊富な Trophoblast 層に囲まれ (The trophoblastic endovesicular plasmodium), Giant cell layer (以下 G. C. L. と略) は母仔組織層を分離して Syncytium と G. C. L. が Decidua basalis に穿通してゆく。さらにこの頃に Reichert's membrane が破れ、さらに Chorio-allantoic placenta の末梢に入り込む。Junctional zone の G. 含有細胞の崩壊は妊娠 20 日頃まで続き、PAS 陽性物質の塊まりに変化し、分娩の際その部の裂開が起るらしい。妊娠第 19, 21 日頃には Giant cell, (以下 G. C. と略) Yolk-sac, Syncytium から G. は消失するが子宮筋層からは G. の消失は目立たない。Spongy zone (以下 S. Z. と略) は Labyrinth (以下 L. と略) と G. C. L. との中間部にあり Cytotrophoblast cell と Maternal sinus より成っている。この層の Cytotrophoblastic cell は妊娠経過とともに Labyrinthine trophoblast となり L. に移行し、その拡大が起る。

脱落膜

着床した胚からの刺激と Progesterone の作用により分泌期後期にみられた Predecidual cell が益々膨化して、細胞膜が鮮明となり Decidual cell に変化し増殖する。子宮腺の発達も著しくなり pregnant decidua となり、その部位によつて次のごとく分類されている。

- 1) Decidua basalis
- 2) Decidua capsularis
- 3) Decidua parietalis
- 4) Decidua marginalis

胎盤は Decidua basalis (以下 D. B. と略) と Chorion vallosum とを総括したもので、胎仔部と母体部からなっている。

胎盤内血行は諸説があり (Holmes & Davis⁴¹⁾等、完

成胎盤においては母体側より胎盤中心部を噴水状に貫き、L. の胎仔面を外側周辺に向つて流れ、静脈洞に集められて後に胎盤を去るという説が一般的のようである。以上、ラット胎盤の概略を述べたが、著者は胎盤完成後は Chorio-allantoic placenta を中心に研究をすすめたので、その成績を各剖検日毎に対照群と比べる主要な差異を述べる。

なお投与量の多少により、組織学的所見が類似していた群をまとめて、a, b, 群 (大量投与群), c 群 (中等量投与群), d, e 群 (少量投与群) に分類、記述した。

1. 卵着床前の子宮内膜の変化

1) a, b 群 : 子宮内膜は他群に比べて形成がやや菲薄で、内膜上皮細胞の配列が密で原形質および核質の H. 染色度が高まつていて、萎縮傾向がみられる。また Decidual cell ような変化が未熟である。また子宮腺の発達が劣り、子宮血管内膜の狭小化がみられる。子宮筋層、および子宮内膜下組織の G. 含有量がやや減じている (写真 2)。

2) c 群 : 上述の所見は軽度である (写真 3)。

3) d, e 群 : 対照群と有意の差を認め難い。

2. 卵着床後所見

(1) 妊娠第 9 日 (I 群)

Chorio-allantoic placenta の諸構造がまだ判別困難であり、大きな変化はみられない。

1) a, b 群 : Decidua cell layer の形成が弱く、G. 含有量が少なく、子宮腺の発達が依然として悪い。I a 群に比べ I b 群では G. 含有量が僅かに多い (写真 5)。

2) c 群 : 実験群の中で、ほぼ中間的な変化を示している (写真 6)。

3) d, e 群 : G. 含有量がやや少ない他は組織学的には対照群と大差ない。

(2) 妊娠第 12 日 (II 群)

1) a, b 群 : G. C. 数は少なく、核が小型で顆粒が濃染する傾向がある。S. Z. 細胞は大小不同があり、L. の絨毛形成が弱く、相対的に絨毛間腔は広い。絨毛の分岐が少ないようである。D. B. は形成が薄く、G. 含有量も D. B. および S. Z. で減少している (写真 8)。

2) c 群 : D. B. と S. Z. の形成が劣り、S. Z. で母体血管腔は拡大しているものが多い。Cytotrophoblast は多少減少して、核の大小不同が軽度のみみられるが、発達は比較的よい。G. C. は少数で、対照群より大型のものがやや多い。核顆粒は周辺に多くみられる。L. は絨毛の発育と繁茂がやや阻害されていて厚みが減じている。G. 含有量は D. B. と S. Z. で対照群より僅かに少量である (写真 9)。

3) d, e 群 : D. B. の発達はよく、G. 含有量も多

い。G. C. は丸みが増し、核の大きさ、核顆粒分布も対照群に近似している。S. Z. の細胞分布がやや粗であり、核の大小不同が軽度のみられる。G. 含有細胞が部分的に集落を形成して、G. 含有量は増加している。L. の絨毛間腔は IIc 群より狭くなり、絨毛の繁茂状態はよくなっている。L. の層の厚みは II d 群では対照群より薄いけれど、細胞変性の程度は軽い。IIe 群では S. Z. 細胞層の厚さは対照群と変りないが、核の大小不同がある他は特筆すべき所見はなかつた。

(3) 妊娠第 15 日 (III群)

1) a, b 群 : D. B. の発達は依然よくない。G. 含有量においても図示のごとく差を認める。G. C. の分布に部位的な差異があり、核は小型のものが多く、細胞輪廓の形態が細胞により異なると共に、核小体の変形、消失したものがみられ、核はびまん性に濃染し原形質に空胞形成のあるものが認められた。S. Z. は薄く細胞分布は粗となり、核は楕円形あるいは紡錘形に近い形を示し、原形質の染色性が強まっている。G. 含有細胞はかなり少ない。L. はその厚みを増しているが、絨毛分枝が少なく、絨毛間腔は拡大し、胎盤全体の絨毛繁茂状態からみると母仔間の接触面積が対照群よりも減じていると思われる。a, b 群の比較では、a 群の 3 層形成状態が阻害され、G. 含有量に差がみられる (写真 12, 15)。

2) c 群 : D. B. の発達は比較的良好。G. C. の核の紡錘形を示すものが散在しているが、層としてはきれいな配列を示している。細胞間の PAS 陽性物質は IIIa, IIIb 群より多い。S. Z. は粗構造を呈し、細胞間に大きな間隙が出現している部分が少数みられる。G. 含有量は IIIb 群より僅かに多く、集落形成の傾向がある。L. の絨毛繁茂は IIIa, IIIb 群よりよく絨毛内の胎仔血管内腔が拡大している (写真 11, 16)。

3) d, e 群 : D. B. は他群より発達がよく、G. C. L. も同様に厚みが増加している。G. 含有細胞が部分的に崩壊している。D. B. と S. Z. の G. は内側に近い部分に多くみられる。IIIe 群では G. 含有細胞は対照群と大差ない。L. の形成も非常によく、G. 含有量は対照より寧ろ多いようであり、内層に近く集合している (写真 13)。

(4) 妊娠第 18 日 (IV群)

1) a, b 群 : D. B. は対照群と同様に胎仔の発育に伴い厚みが減じているが、G. 含有量は対照群と大差ない。G. C. は依然多く残存し、細胞間に G. が多量みられる。対照群は G. C. が S. Z. にかなり混在して G. C. L. としての構造を認め難いが、a, b 実験群では 3 層構造がまだ存続していて、G. C. 数は相対的に多い。G. 含有細胞は対照群とほぼ同数で、細胞崩壊は遅延し

ているようである。Maternal sinus が拡大して S. Z. 細胞群が島状を示すごとくみえ、核の大小不同がみられ、核の形がさまざまで円形のもの少なく、楕円形のもの、あるいは核崩壊を起している細胞もみられ、濃染傾向が増している。L. では絨毛繁茂が劣るが、IIIa, IIIb 群より分岐が多くなっている。また 1 本の絨毛内血管腔は相対的に太い。G. は増量しているが、対照群よりは少ない (写真 18)。

2) c 群 : D. B. の G. 含有量は対照群よりやや多い。G. C. は比較的多く、核は円形を示すものが多くて、S. Z. に混在している数は少ない。また原形質の空胞化が僅か増加し、細胞自体の大きさに大小不同がみられる。S. Z. 細胞の核は明るいものが増し、細胞の集合化がみられ、細胞間隙は大小さまざまである。G. 含有細胞の崩壊はさほど目立たない。G. は比較的均等に存在し、対照群のごとく、G. 含有細胞の崩壊による G. の集落形成は少ない。L. は G. C. L, S. Z. に比べ、その厚みが対照より薄い、絨毛の繁茂は a, b 群に優っている。

3) d, e 群 : D. B. の G. 含有量は c 群同様に対照群より多い。G. C. はまだ層として残つてはいるが、他実験群と比べ減じている。細胞そのものは原形質に空胞化が多少みられる他、対照群と大差がない。

S. Z. への混入も多数で、G. 含有量は III d, III e 群より減じ、G. 含有細胞の崩壊により遊出した G. が細胞間隙に増量している。L. の厚みは増して、対照群と比べて大差なく、III d 群では多少絨毛繁茂が劣るけれど、e 群では優劣がつけ難い。G. が L. の末梢に増加してきている。

(5) 妊娠第 21 日 (V群)

1) a, b 群 : D. B. の層は菲薄になっているが、G. 含有量は a 群では他群より多い。依然として薄い G. C. L. が存在しているが、断続的な排列を示し、原形質には空胞化が増し核の濃染と部分的に濃縮もみられる。S. Z. も他群より厚く残存し、G. 含有量も対照よりやや多く、G. 含有細胞の崩壊が著しく増加している。S. Z. 細胞は核が小さく、濃染し、細胞密度は粗である。L. の絨毛内胎仔血管内皮細胞は薄くなり、核が濃縮し、絨毛を形成する Syncytiotrophoblast 間に硝子様変化が著しくなり、また細胞間の結合がやや弱くなつたのか、部分的に空間が認められる。胎仔血管に梗塞のある例が少数みられる。S. Z. に比べて L. の G. 含有量は少ない (写真 20, 21)。

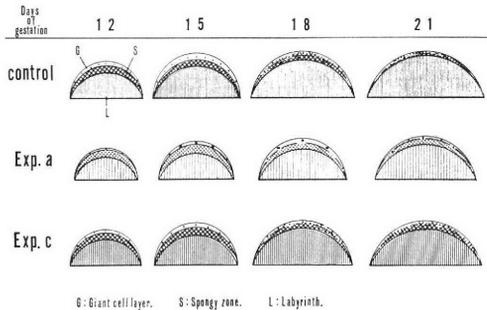
2) c 群 : D. B. の G. 含有量は対照と差がなく、G. C. L. が途切れる個所が増え、細胞数は対照群よりやや多く、G. C. の核はかなり多角形のもののみられ、

その核小体が不明なものが存在し、核顆粒は減少して、少数で核濃縮を起している。原形質は濃染傾向がみられる。S. Z. の細胞分布は比較的密で、G. 含有量は対照群とあまり差がない。L. の形成は対照よりやや劣るが、絨毛間腔は狭小化して、Reichert's membrane 直下に消化試験で消えにくい PAS 陽性物質が増量している。

3) d, e 群 : D. B. の G. 含有量は対照と大差ない。G. C. はかなり減じ、対照の所見に近い。S. Z. の層自体は薄くなっているが、細胞密度は中等度で、G 含有細胞は減じている。核は大小さまざまであるが、概して大型のものが多く、濃染している。G. 含有量は IVd, IVe 群より減じている。L. で核の大きな G. C. が目立ち、末梢にやや多い。G. は増量し、対照群と同様、母体血管周囲に多くみられる。

以上の成績から (少量投与群の変化は対照群に類似しているため省略したが)、大量投与群から a 群、中等量投与群として c 群を選び組織学的変化を対照群と比較して模式化したのが Fig. 7 である。すなわち L. の発達不十分、S. Z. の発達と G. の動態 (Tab. 1) および G. C. L. に著変がみられた。さらに D. B. の G. 含有量を Tab. 2 に表わして、母体側と胎仔側の G. 含有量を比較し移行状態を推察した。

Fig. 7 Schema of developmental changes in chorio-allantoic placenta.



Tab. 1 Glycogen contents in junctional and spongy zone.

Days of gestation	Control	2.5	1.5	0.5	0.25	0.125
9	++	+	+	+~++	++	++
12	+++	++	++	++	++~+++	+++
15	+++	++	+++	+++	+++	+++
18	++	++	++	++	++	++
21	+	+~++	+~++	+	+	+

Tab. 2 Glycogen contents in decidua basalis.

Days of Gestation	Control	mg/kg/day				
		2.5	1.5	0.5	0.25	0.125
9	++	±~+	+	+	+	++
12	++~+++	+	+	+	++	++
15	+++	+~++	+~++	++	++	++~+++
18	+~++	+~++	+~++	++	++	++
21	+	+~++	+	+	+	±

IV 考 按

哺乳動物における妊娠母体の内分泌系の変化は、胎盤自身のもつ内分泌機能の問題もあつて、非妊時と比較してその解明をますます複雑にしている。ラット胎盤の妊娠維持作用に関する内分泌的意義は、去勢により全例流産をみた事実 (Johnson, Challens et al. 1930) から余り存在価値を認めないという意見もあるが、Everett³⁷⁾, Bridgman⁴⁰⁾, Padykula⁴⁴⁾ 等は胎盤構造の逐日的な変化より、また Haterius⁵⁰⁾ は妊娠ラットで卵巣摘出術を行ない胎盤から妊娠維持のための progesterin 分泌を観察してその存在意義を認めている。ヒトでは胎盤からの ACTH 様物質の分泌が Jailer & Knowlton⁵¹⁾ を初め諸氏により証明されているが、これがどのような働きをしているかについて赤須等^{52), 53)} はラットを用いた実験により副腎に対して作用することを証明している。妊娠時の副腎機能は亢進状態にあり、母体と胎児の防禦を始め生命維持に貴重な存在であることは衆知のごとくである。かかる亢進状態を作り上げるのに胎盤 ACTH がどのような働きをしているかはさらに検討の余地がある。この複雑な内分泌状態に外部より投与された Glucocorticoid が妊娠母体および胎仔に与える外観的影響と、胎盤の形態学的変化並びに胎仔発育に大きく関与する G. の動態を明らかにした。妊娠成立機序に関する諸因子は林等⁵⁴⁾ の詳細な報告にみられるごとく多種多様である。卵着床阻害についての Steroid hormone の影響も、ラットを用いた R. H. Dreisbach⁵⁵⁾ の Estrone, Testosterone, Androst-5-ene-3β および 17β-diol 等の投与量別の影響をみた報告があり興味深い。著者は着床阻害状態を観察した訳ではないが、着床前の子宮内膜の変化と以後の胎仔吸収率、胎盤形成状態を参考にして検討すると、a, b 群は内膜上皮の着床準備状態が未熟の傾向を示し、Glucocorticoid が子宮内膜分泌期の G 増加を軽度であるが阻害しているように感じられた。妊娠初期の脱落膜の機能についてはなお不明な点も多いけれど Jenkinson⁵⁶⁾, Driessen⁵⁷⁾ 等は胎児への炭水化物の

供給に關係して G. の合成および貯蔵の役割を指摘している。また Hammond⁵⁸⁾ は胎仔の栄養に關与すると同時に胎仔側の子宮壁への侵入を予防していると述べている。このように子宮内膜の着床準備の不充分な所見は着床後の胎盤形成と胎仔發育に障害を与える遠因となるのかもしれないが、例数を増して追究の必要がある。なお、Velardo⁵⁹⁾ は偽妊娠マウスで、Cortisone, hydrocortisone と ACTH が脱落膜の発達に關与する Progesterone を阻害することを報告している。胎盤形成過程で Chorio-allantoic placenta の逐日的変化をみると次のごとくである。組織学的にみて対照群との大きな差異は胎盤そのものの未熟性と形成不全が妊娠全期を通じてみられる。D. B. は大量投与群で特に厚さを減じ、細胞数の減少、細胞核の濃染傾向と変形がみられる。これは脱落膜細胞そのものの機能障害によるものと考えられる。しかし投与量を漸減するにしたがい障害の程度も軽くなり e 群ではほとんど対照群に近い所見を呈している。Blackburn²¹⁾ も Prednisolone 5 mg を妊娠第 5 日より投与した報告で D. B. の発達の阻害を指摘している。

このように D. B. の変化は母体から胎仔への栄養供給の場を制限し、R. I. index 上昇の原因となつている。G. C. L. では数の減少と細胞の大きさに大小不同があり、空胞形成がみられるものが逐日的に増加している。核は a, b 群では特に小型化が目立ち、核顆粒の増量が認められ、妊娠末期にいたつても、依然減少せずに存在し、S. Z. の Cytotrophoblast cell との混在も遅れており、その機能が十分發揮され難いように思われる。従来 G. C. の由来、機能については諸説がある。Grosser et al⁶⁰⁾, Jenkinson⁵⁶⁾ によれば齧齒類の G. C. は特異な像を呈すという。Sansome⁶¹⁾ は水ネズミの胎盤では不明だが、マウス、ラット、リス、野ネズミでは多数みられ、特に大きく著明であるとのべた。Fawcett et al⁶²⁾ は G. C. に貪食性のものと移動性のものがあるとした。Duval³⁶⁾ は前者は胎仔外胚葉性の卵黄囊膜の細胞に由来し、後者は Ectoplacental cone の細胞に由来すると考えた。Sobotta⁶³⁾ は G. C. が胎児由来のもであり、これ等が脱落膜と母体血管を侵蝕破壊し卵の着床と固定を助けると述べ、Grosser³⁴⁾, Snell⁶⁴⁾, Fawcett et al⁶²⁾ もこれを支持している。Kolster⁶⁵⁾, Pujiula⁶⁶⁾ 等は G. C. の起源を脱落膜にあると反論し Disse⁶⁷⁾ も野ネズミで G. C. が卵着床前に見られたといつている。Grosser³⁴⁾ は脱落膜に侵入した絨毛細胞の合体したものが働きかけて母体側 G. C. の一部を形成すると推論した。Krehbiel⁶⁸⁾ も同意見であり、Snell⁶⁴⁾ はマウスでこれをみている。この他にも Sansome⁶¹⁾, Chipman⁶⁹⁾ が母体由来説を報告している。しかし現在では一般に Tro

phoblastic origin が定説で、一部が母体由来のものであり、貪食細胞性、移動性のものであることは疑いのないところである。この細胞の周囲組織は脂肪変性を起し、細胞内は結合組織の屑や内被細胞と脂肪滴がみられるようである。このように G. C. は脱落膜の母体血管を侵蝕破壊し、母体から胎仔への栄養供給のために胎仔にとつては重要なものであるが、実験成績からみてこの細胞層の機能が低下し、数が少ないことは胎盤形成ならびに胎仔發育を大きく障害していると思われる。a, b 群にみられるごとく妊娠末期においても G. C. が他群より多く残存していることは G. C. のステロイド合成作用説⁷⁰⁾ 等も考慮に入れなければならずその説明が難しい。G. C. の組織学的な動きからだけでは発生起源を明らかにすることは困難であるが、妊娠の逐日的変化と胎仔、胎盤の發育の関連性から推察すると、本実験例での G. C. の減数と形態的变化は、Glucocorticoid 投与により、G. C. の機能が抑制された像のようである。ステロイド合成作用を持つという G. C. のこの変化は、投与ホルモンによる内分泌的拮抗により減退したのかとも考えられるが、元來この細胞のもつ着床を助けるという働きからすると寧ろ昂進してもよい感じがする。この点から考えると、G. C. の発生を抑制し、同時に、その働きを抑えているものは、投与ホルモンであろうと推察せざるを得ない。しかし母体側から発生したという確証は組織像から得られず、S. Z. の發育の未熟さ、G. 含有量減少等、Cytotrophoblast の機能形態が低下していることから、Alden, R. H.⁷¹⁾ Dickson & Bulmer⁷²⁾ 等の説のごとく、S. Z. の trophoblast からの発生を考えたいと思う。

Dickson & Bulmer⁴⁶⁾ によれば、正常妊娠ラットの G. C. は、妊娠第 12 日頃まで生産されて増加するが、それ以後は減少するという。本実験の大量投与群の所見からみると、G. C. の生産が緩徐のためか、抑制されているのか、その数が少ない。しかし妊娠後期にいたつて変性像が多い割に、対照より減数の程度が遅くこの事実は G. C. の生産が対照より妊娠日数の遅くまで続いていることを示しているように思われる。この原因を G. C. のもつステロイド合合作用に關連させて考えたらよいか、また貪食細胞としての必要性と考えるべきか、本実験だけからは結論し難い。a 群の胎盤重量の変化をみると、他実験群と大差があるが、胎仔重量と胎仔長は他群の發育曲線に類似した変化を示している。これは胎盤の水分含有量の減少、R. I. index 等の因子も併せて考えねばならないが、G. C. の内分泌系への關与も考慮せねばならないと思う。Sansome⁷³⁾ によれば、Vascular spongy zone は胎仔の成長を助け、その栄養

に重要な位置を占めているという。実験群では S. Z. の細胞の減少並びに小型化と、核の変性、濃縮がみられ、G. C. の変化に加えて Cytotrophoblast の脱落膜への侵入を難しくし、物質代謝の障害を助長していると思われる。L. は G. C., S. Z. の変化に比べると厚みが減じていることが主な差であるが、絨毛の分枝は少なく、絨毛内血管腔は太めで、絨毛間腔は拡大し、母仔間の接触面積が減少している。大量投与群で妊娠末期に Syncytial cell の萎縮と、部分的な核濃縮および血管変性がみられたが、少量投与群ではその変化は著しくなく、胎仔の発育は G. C., S. Z. の変化により影響をうまくうけていると思われた。

次に G. の動態について考えると、Huggett⁷⁴⁾ は正常ラット胎盤の Chorioallantoic portion における発達は妊娠第 16 日に最高となり、その時点で G. が最高含有量を示し、分娩までの過程で減少してゆくとのべ、Claude Bernard⁷⁵⁾ はさらに胎仔肝の機能開始まで胎盤が G. の合成、貯蔵をしていると示唆している。Padykula⁷⁶⁾ は胎仔肝の G. の出現と胎盤内 G. 消失に平行関係があることを指摘している。Glucocorticoid の G. 調節に関する報告が Hoet⁷⁷⁾ & Hoet⁷⁸⁾ 等によりなされているが、当ホルモン投与時には概して胎盤内の G. 含有量は減少し、それに伴い発育は抑制される傾向があるようである。著者も大量～中等量投与群では似た結果を得ているが、少量投与群ではその抑制は極めて軽度であった。大量投与群では D. B. の G. 含有量は妊娠末期に対照群よりも寧ろやや多いが、Junctional zone と S. Z. の組織学的変化と G. 含有量の減少が妊娠中期から後期にあるため、胎仔への栄養供給が妨害されているように思われた。Junctional zone の G. 推移については Blackburn et al²¹⁾ の報告があるが、著者は S. Z. の G. 含有細胞の変化を観察し、彼の報告に比べて大量投与群はその崩壊遅延と消失が軽度に見られた。これは投与薬剤、投与開始時期、および投与量の差によるものと考えられる。すなわち投与量が多くなれば、それに平行して胎盤の機能は未熟で変性度は高くなるけれども、胎盤の Chorio-allantoic portion における構成は各層の容積や厚みを除くと妊娠日数の早い時期の所見に類似し、胎仔肝の G. 含有機能の開始が遅れるのか、G. 利用の障害によるものか判断し難いが、その消失が比較的緩徐のごとくみられた。ただここで考えなければならぬことは、この G. の動きは G. 代謝を Glucocorticoid が賦活して一見亢進状態を示し、G の停滞により消失しにくいのではないかという疑問であるが、これは生化学的研究を平行して検討せねばならず、また胎仔肝について検索がないので推察の域を出ない。Ville⁷⁹⁾ はヒト胎

盤では Cortisone または副腎抽出物が胎盤の糖および酸素利用を減少させていることを述べている。一般に Glucocorticoid の投与による、糖トレランスの低下は動物^{80), 81)} でも証明されている。肝切除動物においても Glucocorticoid によるトレランスの低下が証明されたことから主として末梢の糖消費の抑制によるものと考えられる。ラットの Steroid diabetes について糖の出納を調べた成績では新生される糖の量よりも尿糖に出てくる量が多く⁸²⁾、新生された糖の過剰が尿に出てくるとは考えにくく、糖の消費が低下しているためと考えざるを得ないといわれ、この他の放射性ブドウ糖によるマウスの糖消費の抑制等の事実から Glucocorticoid が糖の新生促進のみでなく、消費抑制にも作用していると推定されている。糖代謝における Glucocorticoid の関連性には膵臓からの Insulin の問題が関与してくるが、Glucocorticoid が Insulin 産生細胞である膵臓の β 細胞を直接障害することが知られている⁸³⁾。Cortisone の大量投与により β 細胞は肥大、増殖し顆粒脱失を起すといわれ⁸⁴⁾、この変化は Cortisone が直接 Insulin を破壊するか、その消費を促進したために起る代償性変化と考えられている。この変化は初期には可逆性であるが、長期にわたれば非可逆性となり水腫変性を起すといわれている。妊娠時における Insulin の役割も西村等⁸⁵⁾ のラットを用いた実験によれば母体の代謝のみならず、胎仔の発育にも関与しているといわれ、胎仔発育阻害はこの点も考慮されねばならない。D. B. の G. 含有量と S. Z. のそれとは投与量の多少によりほぼ平行している。このことは前述の非妊時における Glucocorticoid 投与による糖トレランスの低下が末梢糖消費の抑制に由来すると考えられているが、妊娠時においても大量投与群では同様と思われる。少量投与群にはあてはまらない。これは非妊時と妊娠時の内分泌機能の差異に関係あるのかもしれない。

胎盤重量の変化は、実験群では一般に減量し、特に a 群において著しい。妊娠初期の胎盤形成の未熟性と、Glucocorticoid の体外への水分排泄作用の増加に伴う胎盤水代謝の阻害によるものと考えられる。妊娠中期にいたる急激な増量は Glucocorticoid の長期連用により Na^+ の貯溜による水分増加と、吸収をまぬがれた各胎仔への栄養供給が増加して胎盤完成が各実験群なりに完成の域に至つたためと思われる。妊娠後期で増量緩徐となる原因は組織学的変性に加えて発達程度に限度があることが主ではないだろうか。Blackburn et al²¹⁾ は妊娠 17～19 日に実験例の胎盤重量が 1 時減少することを報告して、この原因を胎盤の水分代謝の変化に求めている。またこの時期の対照群でも重量の増加が一時

期極めて緩徐となることを報告しているが、著者の実験では剖検日の差異もあるので必ずしも比較はできないが、対照群の増加は Huggett⁷⁰⁾ の報告と一致して妊娠末期まで上昇の曲線を描いた。これに比べ実験群では程度の差こそあれ、いずれも妊娠末期では増量が極度に減り、これは Blackburn et al²¹⁾ の所見に近い。胎盤の水代謝障害は、Glucocorticoid の長期連用により代償能力が減じたためと推察される。反面胎仔重量の増加は d, e 群が対照群と大体似た上昇を示すのに比べ、c 群はその中間的な変化を、a, b 群ではその上昇がやや緩徐となっている。胎仔の組織学的研究がなされていないので、ここではその詳細を述べ得ず、母体への Glucocorticoid 投与が、胎盤を介して胎仔への移行性、また胎仔自体の代謝に何らかの関与があるか否か、問題として追究の余地を残している。ただ胎盤重量がそのまま胎盤機能の優劣を判定する示標とは限らず、組織学的な機能判定がより正確度が高いと思われるので、著者は胎盤の Chorio-allantoic portion と D. B. 形成の成熟度が、胎仔発育の良否を左右すると考え、Fig. 5 にみるごとく Placental index に組織学的成績を平行して検討してみた。これからみると、妊娠初期では少量投与群では対照と似た傾向を示し、a, b, c 群では胎盤重量に比べて胎仔重量が小さく、組織学的にも胎盤形成が劣る。このことは妊娠初期での Glucocorticoid の影響が特に強いことを示すものと考えられ、動物実験からヒトの場合にそのままあてはめることは危険ではあるが、Bongiovanni⁸⁶⁾ の 260 例の文献的考察による妊娠 14 週以前の Glucocorticoid の大量投与は避ける方が望ましいとする意見を肯定できる。

R/I index では a, b, の大量投与群で著明な上昇をみ、しかも妊娠後～末期でその程度が激しいことは投与日数が多くなるに比例して仔発育抑制に関与する因子が多くなり、それも投与量の多少に平行的であることを示唆している。David, L. G.¹⁹⁾ Blackburn²¹⁾ も同様な報告をしている。

なお、Glucocorticoid が胎仔に与える影響については David, L. G.¹⁹⁾, Davis, M. E.¹⁷⁾, Fraser²²⁾, Kalter²⁴⁾ 等の報告があり、催奇性のうちでも口蓋破裂は有名である。ますます発展を遂げつつある合成ステロイドの開発に伴う副作用について胎仔への影響もさらに追究されねばならないが、今後期待するところ大である。

V 総括ならびに結語

副腎皮質ホルモンのうち糖質ステロイドホルモンである Paramethasone acetate を妊娠ラットに妊娠第 0 日

から連日強制経口投与し、投与量および投与日数別の、胎仔並びに胎盤発育に与える影響と、胎盤、特に chorioallantoic placenta の形態学的、組織化学的研究を行ない次の結論を得た。

1. 胎仔、胎盤の肉眼的所見

(1) R/I index: 投与量と投与日数が増すと、それに平行して R/I は上昇した。特に 2.5 mg/kg 群において著しく、1.5 mg/kg 群と共に妊娠後期で著明に増加した。0.125 mg/kg 群では対照群と大差がなかった。

(2) 胎仔重量と胎仔長からみた胎仔発育: 実験群では妊娠初期から阻害され、2.5 mg/kg, 1.5 mg/kg, 0.5 mg/kg 群では妊娠第 15 日以後で著しく、前 2 群では妊娠後期で特に程度が強かった。

(3) 胎盤重量: 重量はほぼ容積に比例していた。実験群では妊娠初期に少量であり、後期には増加が極度に抑えられた。

(4) 胎盤係数: 妊娠初期では 2.5 mg/kg, 1.5 mg/kg, 0.5 mg/kg 群で胎盤重量に比較して胎仔重量の増加が抑制強く、以後は多少の変動があつたが、(特に大量投与群で) 胎盤係数の推移は全実験群ともほぼ類似していた。

(5) 母体重: 実験群は妊娠初期に最低値を示し、中、後期には投与量による差があるものの、増加を示した。しかし、妊娠当初の体重までに回復するには大量投与群程遅れがみられた。少量投与群のみ、妊娠当初の重量より増加を示したが、対照群の増加より劣っていた。

2. 組織学的所見と Glycogen 動態

a. 着床前の子宮内膜の変化

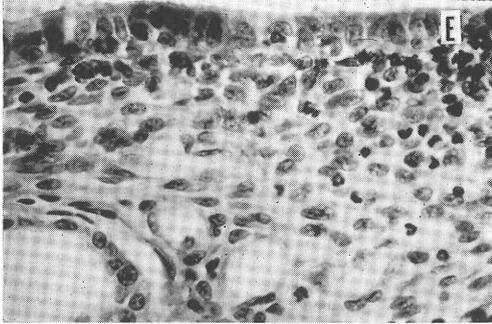
子宮内膜上皮は大量投与群では細胞配列が密で、核の濃染傾向が増加、子宮粘膜下組織の浮腫が弱く、子宮腺の発達が悪く、G. 含有量は少なかった。中等量投与群では障害の程度は軽くなり、G 含有量はむしろ増加していた。上記 2 群は程度の差はあれ、着床準備状態の未熟性がある。

b. 着床後の Decidua basalis と Chorioallantoic placenta の変化

(1) Decidua basalis: 大量投与群 (2.5, 1.5 mg/kg 群) では層の発達は悪く、細胞は小型で、核の変性があり G 含有量も少ないが、少量投与群では妊娠後～末期ではむしろ対照群よりも G. 含有量が多い。

(2) Giant cell layer: 大量投与群では細胞数は少なく、原形質の空胞化、核の小型化、核顆粒の変性等がみられたが、妊娠後～末期に至つても、対照群より消失が遅延していた。細胞学的にみると Premature aging が考えられるが、Chorio-allantoic portion の 3 層構造の形態からみると対照例の妊娠日数の少ない所見に類似し

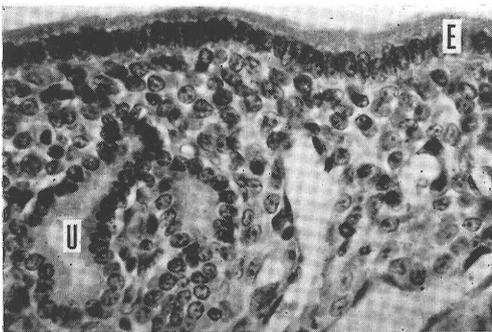
神 津 論 文 付 図 (1)



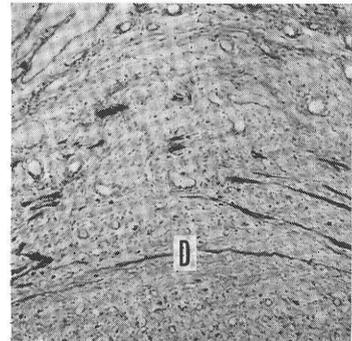
写 真 1



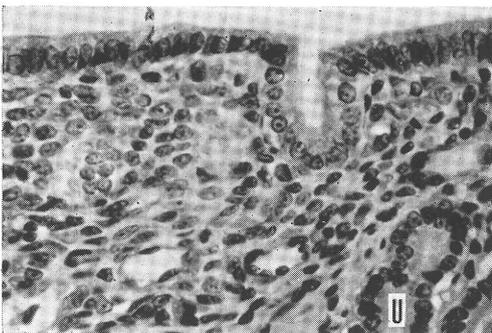
写 真 4



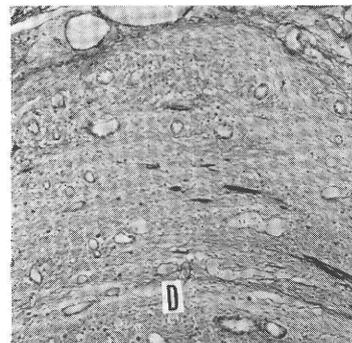
写 真 2



写 真 5



写 真 3



写 真 6

神津論文付図(2)

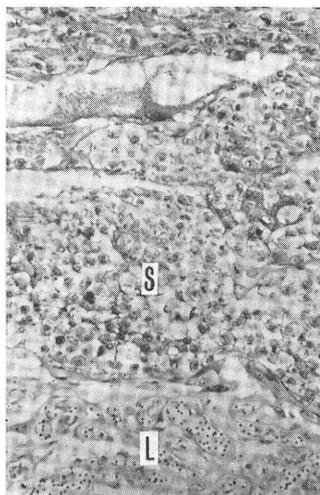


写真 7

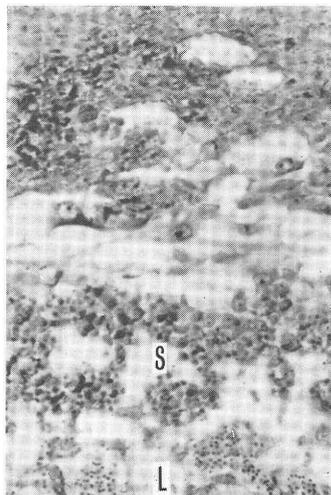


写真 8

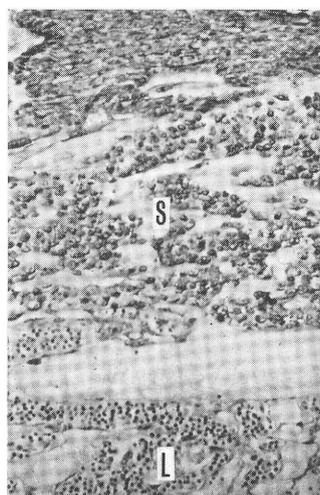


写真 9

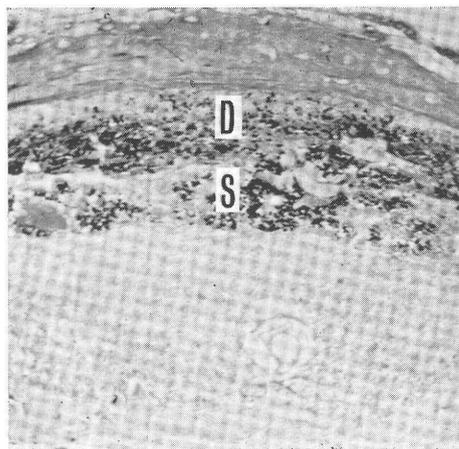


写真 10

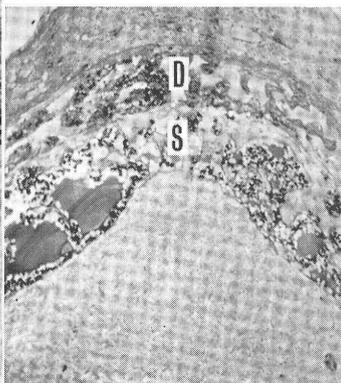


写真 11

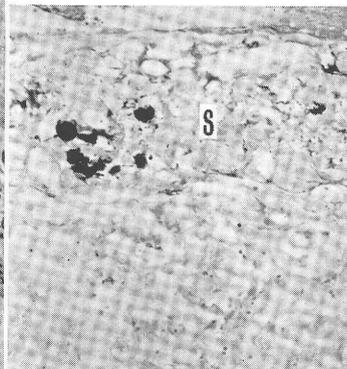
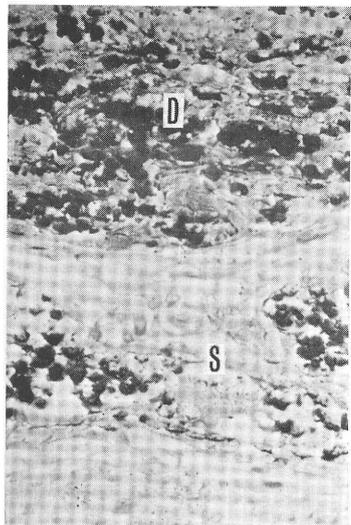
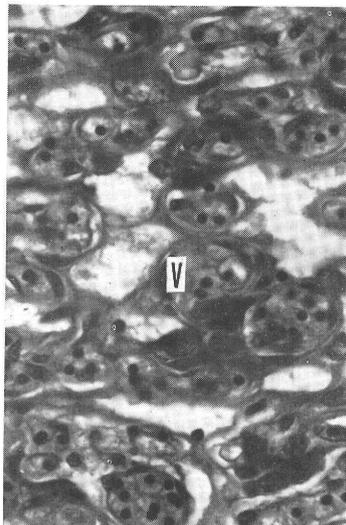


写真 12

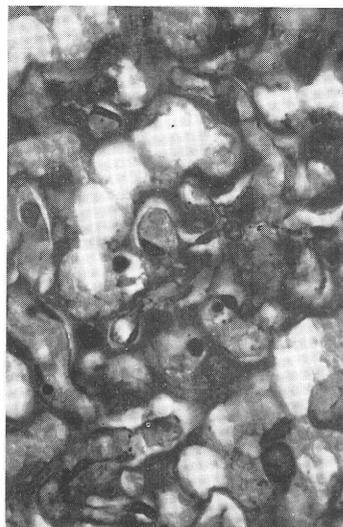
神 津 論 文 付 図 (3)



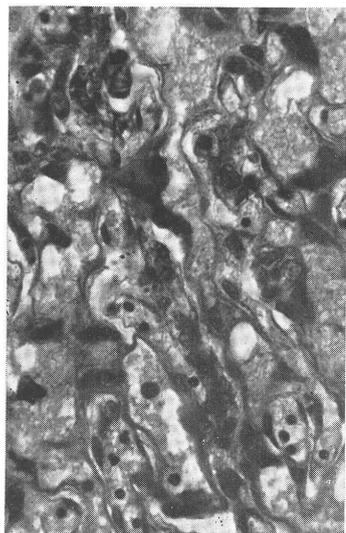
写 真 13



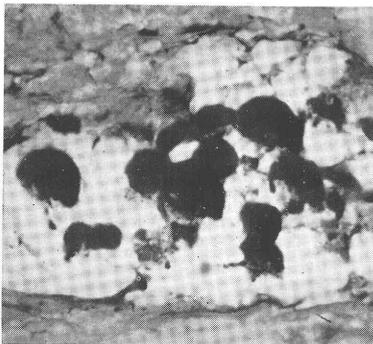
写 真 14



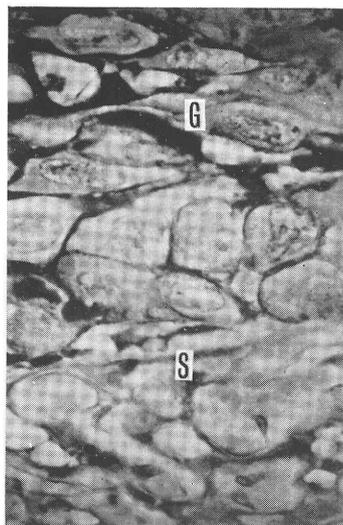
写 真 15



写 真 16

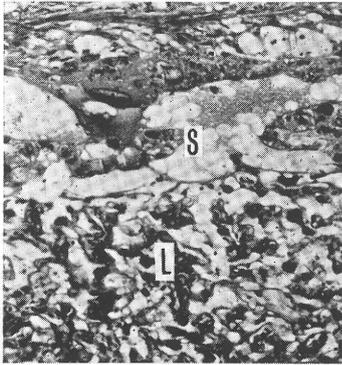


写 真 17

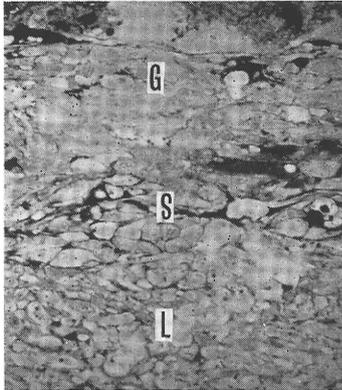


写 真 18

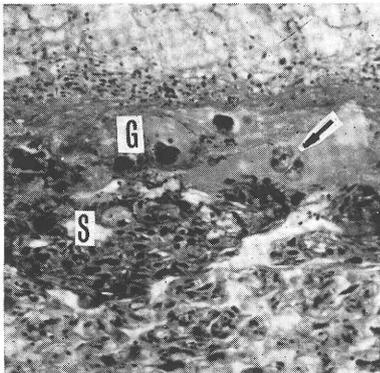
神 津 論 文 付 図 (4)



写 真 19



写 真 20



写 真 21

第 1 編 論 文 写 真 説 明

1. 妊娠第 6 日, 対照例, (以下 Cont), PAS 反応 Haematoxylin 核染色 (以下, PAS-H.) 400 倍像 (以下 400×): 子宮内膜上皮 (E) の細胞は肥大し, 核は明るく, 円形のものが多い. 粘膜下組織

- (以下 S. と略) は浮腫状, 細胞の肥大と厚みあり. 子宮腺 (U.) の発達もよく, 内腔も大きい.
2. 妊娠第 6 日, 2.5 mg/kg (以下 a) 群, PAS-H, 400×: E. の細胞は萎縮し, 核は濃染, 紡錘形のものが多い. S. は浮腫状態が軽度, 細胞分布も密で萎縮像. U. の発達は不良, 内腔もやや狭小.
 3. 妊娠第 6 日, 0.5 mg/kg (以下, c.) 群, PAS-H 400×. 内膜萎縮傾向は写真 2 より軽度, 核の明るさも写真 1, 2 の中間的所見.
 4. 妊娠第 9 日, Cont., PAS-H., 50×.: 未だ胎盤は完成されず. 脱落膜 (D.) に Glycogen (以下, g. と略) の含有量多い. 子宮筋層でも同様.
 5. 妊娠第 9 日, a. 群, PAS-H., 50×.: D. に g. 少ない.
 6. 妊娠第 9 日, c. 群, PAS-H. 50×.: a 群より D. の g. が多い.
 7. 妊娠第 12 日, Cont. PAS-H. 100×.: Spongy zone (S.) Labyrinth (L.) の発達よく, S. の g. 多い.
 8. 妊娠第 12 日, a. 群, PAS 100×, S., L. の発達劣る. g. も総量では少ない.
 9. 妊娠第 12 日, c. 群, PAS-H, 100×, S. は可成りよく発達している. L. の絨毛 (V.) はやや太め.
 10. 妊娠第 15 日, Cont. PAS-H, 20×, D., S., の g. 増量, 子宮腔拡大の為, 各層は伸展して厚みが一見して減じてみえる.
 11. 妊娠第 15 日, c. 群, PAS-H, 20×, S., D. の g. は総量では Cont. に及ばず. S. Z., D. は細胞数の減少の為, 母体血液洞が相対的に大.
 12. 妊娠第 15 日, a. 群, PAS, 100×, S. の g. 少量, 層自体薄い.
 13. 妊娠第 15 日, 0.125 mg/kg 群, PAS-H, 100×, b 群と比べ, g. 含有量は多い. D. も同様.
 14. 妊娠第 15 日, Cont. PAS-H, 400×, L. の V. 繁茂の状態が密.
 15. 妊娠第 15 日, a-群, PAS-H, 400× L. の V. は粗で, 絨毛間腔が拡大.
 16. 妊娠第 15 日, c-群, PAS-H, 400×, L. の V. は a-群より繁茂が良い.
 17. 妊娠第 18 日, Cont. PAS-H, 400×, S. の g. は含有細胞の崩壊により遊出し集落を形成した感がある.
 18. 妊娠第 18 日, a-群, PAS-H. 400×, 巨大細胞 (G) 層, と S., S. の g. は均等分布を示す傾向あり, 崩壊遅延, 核の変性がある. G 核は細長いものが多い.
 19. 妊娠第 21 日, Cont. PAS-H. 100×, S. は薄くなり, g. 含有細胞の崩壊により流出した g. がみられる. Junctional zone に離解がみえ, G. は非常に少く, S. に混入. L. に g. が増加.
 20. 妊娠第 21 日, a-群, PAS-H, 100×, G. は Cont. より多い. S. も未だ厚みがある. L. に g. が少ない.
 21. 妊娠第 21 日, a-群, PAS-H, 100×, G. の残存と分裂像 (←印), S. と G. の核の濃染, 部分的に濃縮像がみられる.

ていた。

(3) Spongy zone: 細胞および核の大小不同, 核濃染傾向が強まり, 層の厚さが減じ, G. 含有の減少がみられ, 妊娠後期では G. 含有細胞の崩壊遅延があり, 投与量が多くなればその程度が増強した。

(4) Labyrinth; 投与量増加につれて層の厚みが減少し, 絨毛の発達わるく, 絨毛間腔の拡大, 末期には大量投与群で絨毛上皮の変性と G 含有量の減少がみられた。すなわち母仔間の接触面積の減少があり, 物質代謝の阻害が起り易く, 胎仔の発育を抑制していると思われる。投与量, 投与日数が多い程, 胎仔, 胎盤の発育は強く障害され, Trophoblast の発達が抑制され易いと思われる。

以上から妊娠初期での変化が以後の妊娠経過に与える影響は大きく, 動物実験をその儘, 臨床面に応用できないかもしれないが, この時期の投与量に注意が必要と思われる。少量投与群は影響が少なく, 妊娠中期以後は対照と大差なかつた。本実験に関する限りでは, 投与量の面からみると 0.5 mg/kg 投与群が全所見の中間的存在を示し, この投与量以上の群では影響が著明となる傾向がみられた。

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師林基之教授に深謝すると共に, 実験に際し御指導と御便宜を戴いた解剖学教室樋井勉教授, 橋本長講師に衷心より感謝の意を表し, 有益なる御助言, 御協力を頂いた産婦人科教室及び解剖学教室員各位並びに御助言と御高配を頂いた聖路加国際病院産婦人科村国茂医長はじめ医局員各位に厚く御礼申し上げます。

本研究は文部省科学研究費交付金によってなされた。また本論文の要旨は昭和 41 年度文部省総合研究「胎児物質代謝の研究」の第 1, 2, 3 回班会議に於て発表した。

文 献

- 1) Hench, P. S., Kendall, E. C., Slocumb, C. H. & Polley, H. F.: Proc. Staff Meet., Mayo Clinic. 24: 181 (1949).
- 2) Hench, P. S., Kendall, E. C., Slocumb, C. H. & Polley, H. F.: *ibid.* 24: 277 (1949).
- 3) Hench, P. S., Kendall, E. C., Slocumb, C. H. & Polley, H. F.: *ibid.* 24: 298 (1949).
- 4) Strein, F., Kurzrok, L.: Fertil. & Steril. 5, 515 (1954).
- 5) 林基之: 産婦の実際, 10, 66 (1961).
- 6) 林基之: 第 7 回不妊学会総会講演要旨.
- 7) 林基之: 第 16 回日産婦学会総会臨床特別講演要旨 (1964).
- 8) 井樋進・他: 産と婦, 26, 257 (1959).
- 9) 林基之: 最新医学, 15, 1561 (1960).
- 10) 明石勝英・他: 産婦の実際, 8, 470 (1959).
- 11) 赤須文男: 産と婦, 26, 52 (1959).
- 12) 官川統: 産婦の世界, 13, 155 (1961).
- 13) Wells, B. B., E. C. Kendall: Proc. Staff Meet. Mayo Clinic. 15: 115, 324 (1940).
- 14) Pierre Leroy & L. V. Domn: Anat. Rec., 109, 319 (1951).
- 15) Rennels, E. G.: Anat. Rec. 112, 509 (1952).
- 16) Hiram, J. Evans, Georgia Clingen: Anat. Rec. 117, 624 (1953).
- 17) Davis, M. E., E. J. Plotz: Endocrinol. 54, 384 (1954).
- 18) Ross, L., Goldsmith, E. D.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 90, 50 (1955).
- 19) David, L., Lunberg: Anat. Rec. 129, 133 (1957).
- 20) Gothe, H. D. et al.: Zbl. Gynäk. 41, 1606 (1962).
- 21) Will, R. Blackburn, Harold, S. Kaplan, Donald, G. McKay: Am. J. Obst. & Gynec., 92, 234 (1965).
- 22) Fraser, F. C., et al.: Pediatrics, 8, 527 (1951).
- 23) S. Glaubach, William Antopol, Samuel Graff: Bull New York Acad. Med. 27, 59 (1951).
- 24) Kalter, H.: Am. J. Physiol. 185, 65 (1956).
- 25) Theodore, H. Ingalls, Francis J. Curley: New England J. of Med. 256, 1035 (1957).
- 26) Clarke Fraser F.: Canad. M. A. J., 64, 270 (1951).
- 27) DeCosta, E. J. et al.: Am. J. Obst. & Gynec., 64, 746 (1952).
- 28) Theodore, F.: Endocrinol., 55, 502 (1954).
- 29) Lee, J., Ring, P. A.: J. Endocrinol. 14, 284 (1956).
- 30) Long, J. A. & Evans, H.: Mem. Univ. Calif. 6 (1922).
- 31) Graumann, W.: Histochemie, 1, 97 (1958).
- 32) Grillo, T. A. I.: *Ibid.* 1, 311 (1959).
- 33) Swigart, R. H., Wagner, & W. B. Atkinson: J. Histochem. Cytochem., 8, 74 (1960).
- 34) Grosser, O.: Frühentwicklung Eihautbildung und Placentation des Menschen und der Säugtiere. Deutsch Frauenheit V., by E. Opitz. Munich, 81 (1927).
- 35) Mossman, H. W.: Contr. Embryol. Carneg. Inst. No. 158, 26 (1937).
- 36) Duval, M.: J. Anat. Paris, 27, 24, 344, 515 (1891).
- 37) Everett, J. W.: J. Exp. Zool., 70, 243 (1935).
- 38) Krehbiel, R. H.: Anat. Rec. 50, 275 (1931).
- 39) Bridgman, J.: J. Morph. 83, 61 (1948).
- 40) Bridgman, J.: J. Morph. 83, 195 (1948).
- 41) Holmes, R. P. & Davis, D. V.: J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 55, 583 (1948).
- 42) Amoroso, E. C.: Placentation. In Marshall's

- physiology of Reproduction, 3rd ed., Ed. A. S. Parkers. Longmans, Green and Company, New York, 2, 127 (1952).
- 43) Wislocki, G. B. & Padykula, H. A.: *Am. J. Anat.*, 92, 117 (1953).
- 44) Padykula, H. A.: *J. Anat.*, 92, 118 (1958).
- 45) Anderson, J. W.: *Am. J. Anat.*, 104, 403 (1959).
- 46) Bulmer, D. & Dickson, A. D.: *J. Anat.*, 94, 46 (1960).
- 47) Krehbiel, R. H.: *Physiol. Zool.*, 10, 212 (1937).
- 48) Padykula, H. A. & Richardson, D.: *Am. J. Anat.* 112, 215 (1963).
- 49) Wislocki, G. B., Dean, H. W., & Dempsey, E. W.: *Am. J. Anat.* 78, 281 (1946).
- 50) Haterius, H. O.: *Am. J. Phys.*, 114, 399 (1936).
- 51) Jailer, J. W., & Knowlton, A. J.: *J. Clin. Investig.* 29, 1430 (1950).
- 52) 赤須文男: 日産婦誌, 7, 655 (1955).
- 53) 赤須文男・他: 「ホ」と臨, 2, 1082 (1954).
- 54) 林基之: 第13回日産婦学会宿題報告 (1961).
- 55) Dreisbach, R. H.: *J. Endocrinol.* 18, 271 (1959).
- 56) Jenkinson, J. W.: *Tijdschr. ned. dierk. Ver.*, 2, 124 (1902).
- 57) Driessen, L. F.: *Zbl. Gynäk.*, 32, 110(1908).
- 58) Hammond, J.: *Proc. Roy. Soc.*, B. 89, 534 (1917).
- 59) Velardo, J. T.: *Am. J. Physiol.* 190, 408 (1957).
- 60) Grosser, et al.: *Eihäute und der Placenta* (1909).
- 61) Sansome, G. S.: *J. Anat. Lond.* 56, 333 (1922).
- 62) Fawcett, D. W., Wislocki, G. B., Waldo, C. M.: *Am. J. Anat.* 81, 413 (1947).
- 63) Sobotta, J.: *Arch. Mikro. Anat.* 61, 274 (1903).
- 64) Snell, G. D.: *The early embryology of the mouse, Biology of the Laboratory mouse Philadelphia.* (1941).
- 65) Kolster, R.: *Anat. Hefte.* 22, 1 (1903).
- 66) Pujiula, D.: *Actasy memorias del Primer congress de naturalistas, Espanoles,* (1908).
- 67) Disse, J.: *Arch. Mikro. Anat.* 68, 215(1906).
- 68) Krehbiel, R. H.: *Anat. Rec.* 50, 275(1931).
- 69) Chipman, W.: *Lab. Reports of the Royal college of physicians. Edinburgh.* 8, 227 (1903).
- 70) Deane, H. W. et al: *Endocrinol.* 70, 407 (1962).
- 71) Alden, R. H.: *Anat. Rec.* 97, 317 (1947).
- 72) Dickson, A. D. & Bulmer, D.: *J. Anat.* 94, 418 (1960).
- 73) Sansome, G. S.: *Proc. Roy. Soc. Lond. B.* 101, 354 (1927).
- 74) Hugget, A. S. G.: *Ciba Colloq. on aging* 2, 228 (1956).
- 75) Bernard, C.: *J. de la physiol. de l'homme et des animaux.* 2, 326 (1859).
- 76) Padykula, H. A.: *Anat. Rec.* 121, 347(1955).
- 77) Hoet, J. P.: *Ciba Colloq. Endocrinol.* 6, 330 (1953).
- 78) Hoet, P. L.: *J. physiol.* 120, 68 (1953).
- 79) Ville, C. A.: *Ciba Colloq. on Aging* 2, 129 (1956).
- 80) Ashmore, J. Cahill, G. F. Jr. & Hasting, A. B.: *Rec. Prog. Hormone Res.* 16, 547(1960).
- 81) 宮城健: 日内分泌誌, 40, 1448 (1965).
- 82) Welt, I. D., Stetten, D., Ingle, D. J. & Morley, E. H.: *J. Biol. Chem.* 197, 57 (1952).
- 83) Conn, J. W.: *Hormonal Factors in Carbohydrate Metabolism,* Little Brown Co., Boston, 166 (1953).
- 84) Hausberger, F. X. & Ramsay, A. J.: *Endocrinol.* 53, 423 (1953).
- 85) 西村敏雄・他: 「ホ」と臨, 9, 17 (1961).
- 86) Bongiovanni, A. M. & McPadden, A. J.: *Fert. & Steril.* 11, 181 (1960).
- 87) 山下裕國: 日不妊誌, 11, 1 (1966).

Effects of Adrenocortical Glucocorticoids in Pregnant Rats and on the Growth of the Fetus and Placenta

Part I. Effects of Adrenocortical Glucocorticoids on the Growth of the Fetus and Placenta.

— Histological and Histochemical Studies on the Placenta —

Hiromu Kohzu

Dept. of Obst. & Gyn. Toho University, School of Med.

(Director: Prof. Motoyuki Hayashi.)

Varying doses of adrenocortical glucocorticoids (Paramethasone acetate 2.5, 1.5, 0.5, 0.25, 0.125 mg/kg/day) were given daily to pregnant rats from the day when the sperms were found in the vagina. The animals were sacrificed at the different periods (6, 9, 12, 15, 18, 21 days) of pregnancy, and the fetuses and placentas were subjected to histological and histochemical studies.

With increased doses, arrested weight gain of the fetus and placenta was seen from the mid-stage of pregnancy, which became remarkable in the late stage.

Fetal resorption was also conspicuous.

Endometrium showed a pronounced tendency

to atrophy before implantation.

There was degeneration with disturbed proliferation of trophoblasts, giant cells were relatively few in number and the giant cell layer was partially still present in the terminal stage.

The glycogen contents in decidua basalis and spongy zone were almost equal in proportion but less than controls especially from the middle to the late stage, although no difference was found in the

terminal stage.

As a consequence of delayed destruction of glycogen containing cells in spongy zone, transfer of glycogen into the labyrinth was decreased in the terminal stage.

These observations implied premature aging of the placenta, but the chorioallantoic portion has shown partially remained three layers structure similar to one in an earlier stage of the controls.

副腎皮質糖質コルチコイドホルモンが妊娠 ラットと胎仔、胎盤に及ぼす影響

Effects of Adrenocortical Glucocorticoids in Pregnant Rats
and on the Growth of Fetus and Placenta.

第2編 妊娠ラットの下垂体、副腎皮質に及ぼす影響
—主として組織学、組織化学的検索—

Part II. Effects of Adrenocortical Glucocorticoids on Hypophysis
and Adrenal Cortex in Pregnant Rats
— Histological and Histochemical Studies —

東邦大学医学部産婦人科教室 (主任 林基之教授)

神 津 弘

Hiromu Kohzu

Dept. Obst. & Gyn. Toho University, School of Med.

(Director: Prof. Motoyuki Hayashi)

副腎皮質糖質コルチコイドの Paramethasone acetate (6 α -Fluoro-16 α -methyl-prednisolone-21-acetate) を 2.5 mg, 0.5 mg, 0.125 mg/kg/day の 3 投与量に分け、初妊ラットに妊娠確認日より連日経口投与し、妊娠第 9, 15, 21 日に剖検して母体下垂体前葉並びに副腎皮質におよぼす影響を組織学的、組織化学的に比較検討を加えた。副腎皮質では投与日数が増すにしたがい束状層細胞の変化が出現し、妊娠中期に著しい。細胞原形質の空胞は拡大し、核の濃縮および消失、細胞の崩壊、血液洞の圧迫、束状構造の乱れ、層の菲薄化がみられる。Sudan III 染色では脂肪顆粒が粗大化し、2.5 mg/kg 群では妊娠前期から中期で増加がある。副腎重量は妊娠中期から後期にかけて著減する。細胞学的には副腎機能低下が妊娠中期から起こっていると考えられる。下垂体前葉における α , β 細胞の含有百分率は、投与量が多くなると α 細胞は妊娠中期で減少、後期に増加し、一方 β 細胞は妊娠中期以降は増加傾向にある。細胞学的には諸細胞は萎縮し、核は小型化している。 β 細胞の輪廓は多角性を減じ、原形質は濃染するものが多い。 γ 細胞の染色性は妊娠後期においても対照と比して増加が少なく、2.5 mg/kg. 群で特に著しい。

I. 緒 言

最近副腎皮質ステロイドホルモンの臨床的応用が多くなり、産婦人科領域でも諸疾患に使用されている。一方、薬剤の開発に伴い医原性疾患の問題が注目を集め、特に産科治療の際には胎児への影響が多方面からの追究を受けている、Ingle & Kendall¹⁾が、正常ラットに副腎エキスを投与し、副腎皮質の萎縮を認めて以来多くの追

試によつて、一般に糖質コルチコイドの過剰投与により副腎皮質不全が招来されるといわれている。しかし妊娠時のような副腎機能亢進状態に外部から糖質コルチコイドを使用した場合は異つた反応がみられると思われる。今までも妊娠時の副腎に関する研究は種々なされているが、上述のごとき実験は少ない。そこでラットを用いて妊娠確認日から糖質コルチコイドを連日投与して、投与量別、投与日数別の副腎皮質を組織学的、組織化学的

研究を行ない、同時に下垂体前葉に与える影響も併せて検索し、若干の所見を得たのでここに報告する。

II. 実験材料ならびに方法

1. 実験材料：Wistar 純系成熟処女ラットを Long & Evans²⁾のラット性周期分類により性周期を確め、発情期に同腹雄ラットと交配し、翌朝腔内に精子を確認したものを、第 9, 15, 21 日に対照、各実験群ともおのおの 5 匹ずつ剖検した。飼育は恒温恒湿の一定条件下で Clea 社ラット用固形飼料と、水道水を給水器により自由に与えて行なわれ、動物は各々飼育箱に一匹ずつ分けた。

2. 投与薬剤および量：Paramethasone acetate (6 α -Fluoro-16 α -methyl-prednisolone-21-acetate) 1 日 Pro. Kg. 2.5 mg (以下 a と略), 0.5 mg (以下 c), 0.125 mg (以下 e) の投与量で 3 実験群に分けた。純末 100 mg を表面滑性剤 Propylene Glycol 5 ml と乳鉢中でよく混和し、1 回投与量が 0.2 ml 中に a, c, e, 含有するように、純水にてさらに稀釈懸濁液として実験に供した。なお対照群には Propylene Glycol が実験群に使用した該当量含まれる懸濁液を投与した。

3. 投与方法：金属ゾンデによる強制経口法により、妊娠確認日から 1 日 1 回、連日投与を行なった。

4. 剖検と固定：妊娠第 9 (以下 I と略), 15 (以下 III) 21 (以下 V) 日に軽い Chloroform 麻酔下で断頭屠殺し、開腹して両側副腎摘出および開頭後下垂体摘出を行ない、肉眼的観察と Torsion balance で秤量して、右側副腎は無固定で -20°C にて凍結後 Lipshaw's cryostat で 8 μ の切片を作製し、残存副腎は Rossman 氏液、下垂体は Halmi 氏液にて固定した。

5. 切片作製：固定された臓器は脱水、透徹の過程を経てパラフィン包埋を行ない、5~7 μ の切片を作製した。

6. 染色法：脱パラフィン後、下垂体はアルデヒドチオニン・カルミン・オレンジ G・ライトグリーン染色を、副腎では Hematoxylin-Eosin 染色を、凍結切片では Sudan III 染色を行なった。

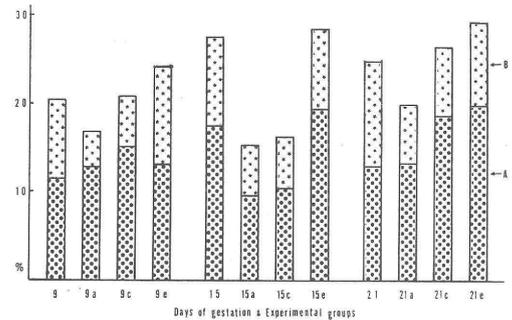
III. 実験成績

A. 下垂体前葉

1. 重量

母ラットの体重による個体差が多少あるが、下垂体重量は 7 mg のものが、そのほとんどを占め、まれに 6 mg, 8 mg のものが見られる。実験群において、大量投与例に軽度の臓器萎縮があるために、下垂体も減量の傾向があつたが、Torsion-Balance で秤量できる範囲で

Fig. 1 Alpha & Beta Cells in Anterior Lobe of Hypophysis A: Alpha cell. B: Beta cell



は、有意の差を認めえなかつた。

2. 組織学的所見

下垂体前葉の α , β , γ 細胞について観察し、剖検日毎に各群の切片で中心部および周辺部 3 カ所づつ、計 6 カ所を随意に選び、1000 倍拡大像で 60 \times 43 μ^2 の面積内の全細胞数を計算し、 α , β 細胞の全細胞に対する平均値を百分率で図示した (Fig. 1)。この実験で下垂体前葉の変動を比較してみることは興味がある。単に数の変動のみでは生体の反応が推察し得ないかもしれないが、妊娠ラット下垂体がどのような存在価値を持つているか、ある程度把握できるかもしれないので、以後この点に留意しつつ、成績を各剖検日、投与量別にその変化を追究してみた。

(1) 妊娠第 9 日

i 対照群：全体的に細胞分布は密で、血管の発達が良い。 γ 細胞ではアルデヒド・チオニンによる青染色調が軽度に認められるものが少数見られる。これを妊娠細胞と呼んでいる人もいる^{2), 3)}。核は円~楕円形で、大きく、明るい。細胞数は多く、均等に分布している。 α 細胞の原形質の染まりは比較的弱く、核は大きく円形が多い。 β 細胞は原形質の染まりが強く、細胞は大形でやや球状に近く、核は円形のもものがほとんどである (写真 3)。

ii Ia 群：細胞は対照群より全般的に減じ、小型化し、前葉の厚みがやや薄くなっているものが多く、多少萎縮があると思われる。 γ 細胞は核がやや小さく、原形質の淡青染された細胞も対照にくらべ極く少数である。

α 細胞では核が小型化してほとんど円形である。 β 細胞は核がやや偏在しているものが見られ、数は対照より減じている (写真 4)。

iii Ic 群：血管腔が対照より狭小である。 γ 細胞原形質の淡青色調は Ia 群よりややその濃度と染色細胞数を増しているが、核はやはり多少小型である。 α 細胞は

血管の周囲にやや多く、細胞は対照より小さくて、核は偏在の傾向がある。β細胞は原形質の染まりが比較的よく、細胞により核は楕円形のものが見られる。

iv Ie群：血管の発達をよく、細胞数も対照とほぼ同程度であるが、細胞分布がやや中心部に密である。γ細胞は対照と大差ない。α細胞は対照より細胞自体および核もやや小型である。β細胞は核が大型と小型のものが混在しており、細胞輪廓は多角形である(写真5)。

(2) 妊娠第15日

i 対照群：細胞は充実し、分布は比較的密である。細胞数はI群よりやや減じ、γ細胞の原形質の淡青染されたものが増している。α細胞もさらにその%を増して、細胞はやや小さくなり、β細胞は妊娠第9日と余り変わらない。

ii IIIa群：前葉は萎縮の傾向にあり、細胞が減つて、小型化が認められ、分布が粗である。γ細胞は原形質の淡青染されたものがIaより増加しているが、対照に比し相当少ない。Iaに比べα細胞は変化が少なく、β細胞では外形は大差ないが、小型のものが少数見られ、核が円形のものが多い。

iii IIIc群：血管は比較的よく発達している。全体的に細胞は小型であるが、IIIaよりは増加し、γ細胞原形質の可染されたものは増加している。α細胞は核の円形のものが多く、明るい。β細胞は多角形であるが、対照より丸みをおび、核は円～楕円形である(写真9)。

iv IIIe群：IIIa、IIIc群よりも対照の所見に近く、γ細胞は増数しているけれど、原形質の好色素性顆粒は少ない。α細胞は核が円形、小型で、染色性はやや弱い。β細胞は対照とほぼ同数で、多角～紡錘形のものが多く、核はやや小型である(写真10)。

(3) 妊娠第21日

i 対照群：細胞分布が密である。γ細胞は一般に核が大きく、原形質の可染性が増し、(γ細胞中56.52%)、好染顆粒は均等に分布しているが、その好色素性はそれ程強くない。α細胞はやや減数し、細胞学的所見もIII群と比較して大差を認めなかつた。β細胞は増加し、原形質は軽度強染傾向が認められた。

ii Va群：前葉は全体的に萎縮が認められる。γ細胞の原形質の好染色性は強まり、細胞自体の萎縮もあるために、青色調は他群と比べ目立つた(γ細胞中19.05%)。α細胞は核の小型化と濃縮傾向があり、β細胞は全般に小型で減少し、原形質は濃染して、核自体も濃縮し紡錘状のものが増加している。

iii. Vc群：α、β細胞核の濃縮程度はVa群より軽度である。γ細胞は原形質の好色素性顆粒の色調が強く

なり、その数もVa群より増えている(γ細胞中26.2%)、α細胞は円形のものが増して、核も同様に円形のものが多。β細胞は核が楕円～細長い形が多く、染色性は対照と大差ない(写真16)。

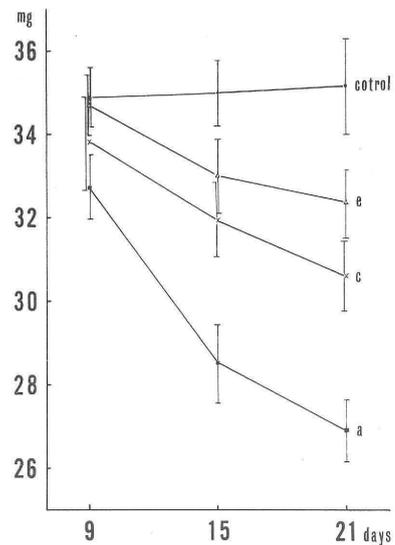
iv. Ve群：細胞数は対照よりも少ない。γ細胞は好色素性のものが増加し、γ細胞中48.9%になっている。α細胞は対照より小型であるが、数が寧ろ多く見られる。β細胞は下垂体辺縁部にも均等分布し、多角形で、核は円形に近く、細胞がIIIe群に比べ大きくなっている。

B. 副腎皮質

1. 重量

a群の変化が著明である。細胞学的変化に比例して副腎、特に束状層の萎縮が強くと、重量の逐日的な下降がみられる。c群ではa群と対照群の中間的重量で、減量も緩徐となるが、e群ではさらに軽度の変化を示している。実験群の変動は妊娠第9日から第15日までより、後期における減量が軽度である(Fig. 2)。

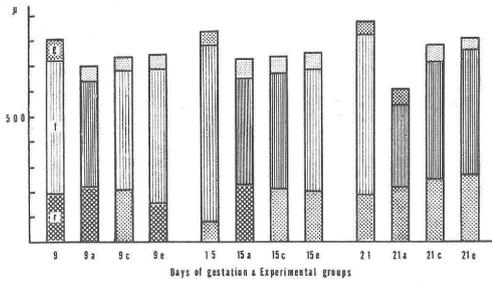
Fig. 2 Average adrenal weights (mg/100g body weights)



2. 組織学的所見

対照と実験群との大きな差異は束状層の変化に見られる。副腎重量の項でも述べたごとく、副腎の大きさに個体差があるため、一概に比較はできないが、実験群の3層を対照のそれと比較して Fig. 3に示した。これは副腎3層の最大断面の巾を計測し、その平均値を比較し、図示してある。図中、束状層の縦線の密度は脂肪顆粒の多少を示す。対照群と比較した実験群の検鏡所見を次に

Fig. 3 Changes of Sudan III-stain figure & thickness of three zones in adrenal cortex
g: zona glomerulosa, f: zona fasciculata, r: zona reticularis



述べる。

(1) 妊娠第 9 日

i Ia 群: 束状層は細胞核の乱れが諸所に出現し, 細胞原形質の萎縮があるため部分的に細胞の小型化が見られる。核は大きさが不整で, 細胞辺縁に圧迫され, 楕円不整のものが多く, 中には核の消失したものが見られ, クロマチンの含有量に差があるのか, Hematoxylin 染色に濃淡の差が出ている。血液洞は比較的大である (写真 2)。

球状層は細胞数がやや増加し, 核のクロマチン含有量に多少があり, やや小型化しているが, 層自体は厚みを増しており, 網状層では核の濃染傾向が見られる。

Sudan III 染色で, 対照と比べて束状層に脂肪顆粒が増加している。球状層は対照よりも淡染されているが, 網状層ではやや濃染して認められる。

ii Ic 群: 束状層の細胞排列は Ia 群より乱れが軽度であるが, 層の厚さは対照より薄い。細胞膜の消失した細胞は Ia 群より減少している。細胞はやや小型であるが, 分布は比較的密である。核はやや濃染傾向を示す。球状層は細胞が Ia 群よりやや減少し, 核も比較的明るく淡染しており, 形は対照とほぼ同様である。

Sudan III 染色では束状層の脂肪顆粒が対照とほとんど変化はないが, 球状層では対照よりやや少かつた。

iii Ie 群: 束状層の厚みは対照と大差ないが, 核のクロマチンが対照より多く, 細胞原形質もよく保たれ, やや肥大している。Sudan III 染色では束状層に脂肪顆粒が対照より僅かに多く見られる。

(2) 妊娠第 15 日

i IIIa 群: 束状層の厚みは対照より極度に減じ, 細胞内空胞はさらに拡大し, 場所により細胞崩壊が見られ, 核の小型化したものおよび濃縮したものが増加している。ごく少数であるが出血巣が見られるところがあつた (写真 7)。

Sudan III 染色で脂肪顆粒は相変わらず多く, 粗大化している。

ii IIIc 群: 束状層は IIIa 群より厚みがあるが, 核は IIIa 群と同様に小型のものが増し, 濃縮も少数見られる (写真 8)。Sudan III 染色で脂肪顆粒は IIIa 群と対照のほぼ中間量であつた。

iii IIIe 群: 束状層の細胞の排列はよく, 核も円型のものが多く, 核質は明るく, 対照とあまり変化はないが, 層は比較的薄い。Sudan III 染色で中性脂肪が Ie 群よりも減少し, 対照にほぼ近い。

(3) 妊娠第 21 日

i Va 群: 束状層の厚みは妊娠全期を通じて, 萎縮が一番激しく, 乱れも著明で, 原形質が顆粒状となり, 核の大小不同および細胞の崩壊が見られ, 濃染傾向が非常に強く, 核濃縮は顕著に見られる。血液洞の狭小化がある (写真 14)。Sudan III 染色では妊娠前期, 中期よりも淡染している (写真 12)。球状層は薄く, 細胞は小型で集落化の傾向を示している。

網状層の細胞はエオジン好染性を示し, 細胞分布が密である。これは束状層の萎縮が他の 2 層にある程度影響したためと思われる。

ii Vc 群: 束状層は Va 群よりも障害は軽度であるが, 細胞の大きさは小型で, 層の厚みは IIIc 群とほぼ同じである。Sudan III 染色により脂肪顆粒は Va 群よりもやや少なく, 対照より粗大傾向が強い (写真 13)。血液洞の広がり是对照に類似している。球状層の細胞分布はやや粗である。

iii Ve 群: 束状層の細胞はやや肥大して, 原形質内にエオジン好性物質が比較的多く, 空胞はやや拡大している。核の不整はあるが, 対照に近い所見を呈する (写真 15)。Sudan III 染色では脂肪顆粒は IIIe 群より粗大となっている。球状層の細胞分布は密で核クロマチンは増加している。網状層の細胞はほとんど変化がない。

以上の成績をまとめ, 皮質 3 層の中を副腎最大割面と比較し, Sudan III 染色による中性脂肪の染色度の濃淡を図示したのが Fig. 3 である。

IV. 総括ならびに考按

Rogoff & Stewart³⁾ (1926 年) が非妊および妊娠イヌで副腎剔除後, 平均生存日数に差があることを述べて以来, Corey⁴⁾ (1928 年), Carr⁵⁾ (1931 年) は妊娠ネコ, およびイヌの実験で延命力に差異がなかつたと異論をほさみ, Firor & Grallman⁶⁾ はラットで妊娠時は非妊時に比べ 2 倍の延命力を示したと報告し, 2, 3 の反対者もいるが, 妊娠時副腎機能が亢進状態にあることは一般に認められているところである。赤須, 河原⁷⁾ 等の妊娠

副腎の研究によれば、妊娠前半期に特に機能亢進が著しいという。すなわち Hematoxylin-Eosin 染色で見ると妊娠副腎皮質は細胞が増数し、個々の細胞は増大し、また Sudan III 染色所見では、脂肪が非妊時と比較して少なく、妊娠前期は殊に後期に比して少ない。過去の諸検査成績上から脂肪とこれに溶存しているといわれる Glucocorticoid の動きがほぼ平行的であるということからして、脂肪の多少はある程度まで皮質機能の示標となり得るであろう。一般に機能亢進時には Sudan III で薄く染色され、しかも微細な顆粒が多く、逆に機能が低下している時は脂肪は多量で濃染され、粗大な顆粒が認められるといわれる。

妊娠時の下垂体については Erdheim & Stumme⁹⁾ が 1909 年に初めて妊娠動物下垂体前葉に妊娠細胞を発見し、肥大した原形質内に好酸性顆粒が多数出現し、時にそれらが不規則に融合し、大きな Colloid 状物として封入されると報告した。彼等はこの細胞を Chromophobe cell の特殊型であるとしているが、妊娠細胞の由来についてはその後諸研究者により、論議的となり、 γ 細胞説を支持する Berlinger⁹⁾(1932 年) 等、 γ 細胞説否定者は Rasmussen¹⁰⁾(1934 年) 等多数ある。妊娠ラットの下垂体前葉の変化についても Schenk¹¹⁾(1926 年) その他の α 細胞の小型化と減少、Williams¹²⁾(1955 年) の α 細胞の増加等、諸説があり、諸研究者の興味ある報告を見ることができるが、定説はまだない。妊娠ラットにおいては Estrogen 量の著明な増加に対し Progesterone は非妊動物または非妊ヒトと同程度、あるいはそれより低いことが知られており、この点で他の動物とは大きな差異があり、従がつて、下垂体 gonadotropin も特殊な動態を示すようである。征矢・他¹³⁾(1958 年)によれば、ラット下垂体 gonadotropin は妊娠中期～後期に頂点があり、分娩前に正常値に戻ると報告している。然しラットにおける生化学的研究は数多いが、その特殊性から他動物との比較が非常に難しい。伊藤¹⁴⁾(1960 年)によると妊娠ラットの下垂体前葉の変化の中心は β 細胞であり、 α 細胞の動きは寧ろ随伴的であるような印象を受けたといい、この組織所見からも上述のように下垂体 Gonadotropin 量は中期～後期に頂点があるという。

Pencharz & Long¹⁵⁾(1931 年) は動物実験により、妊娠に対する下垂体前葉の必要性は妊娠第 11 日までで、これ以後は妊娠持続に必要ないと報告している。Cutuly^{16)・18)}(1941, 1942 年) は卵着床後は粗泌乳ホルモンの投与で妊娠持続ができると述べている。また Lyons et al¹⁹⁾(1943 年) は粗泌乳ホルモンでは妊娠持続が可能であるが、純泌乳ホルモンでは不可能と報告している。赤須、平賀²⁰⁾(1957 年)の報告によると、下垂体剔除後 7

日目の母ラットの副腎重量は平均 25.6 mg で肥大増量し、束および網状層の細胞増数、出血などが認められ、これは機能亢進像を示すものである。この所見は下垂体以外の刺激ホルモンの支配を受けていることを意味し、その源を胎盤と考えるのが妥当であろうと述べているが、著者の第 1 編、胎盤の研究に見られるごとく、ラットでは妊娠第 7 日においては着床直後で、まだ胎盤の機能は未熟であると思われるので、ラットにおける妊娠時の下垂体の必要性はさらにその意味づけが困難になろう。さらに著者の正常妊娠ラット下垂体の組織学的変化からすると、 β 細胞は伊藤¹⁴⁾等の報告と同じく、妊娠中期～後期に増加し、ACTH の分泌源はまだ確定されていないが、 β 細胞にその源を求める学者もいることから考えると、妊娠ラットの前葉にも何らかの変化が起つていると思われる。

実験群における下垂体前葉の一般的所見としては、大量、中等量投与群では群による差異があるものの前葉の萎縮傾向が認められること、 α 細胞の chromophile cells への移行が少なく、 β 細胞増数が妊娠第 15 日に見られ、妊娠末期に α , β 細胞数百分率は増加するけれど、絶対数では対照群と比べて減少し、とくに β 細胞の減少が認められる。さらに細胞の小型化、原形質内顆粒の減少、核の変形と小型化が著しい。これは Glucocorticoid 投与に何らかの反応を示したものである。それにひきかえ、少量投与群では対照の所見に似ていて、 α 細胞の小型化、 β 細胞の核の軽度大小不同、 γ 細胞の可染顆粒がやや減少し α , β 細胞の γ 細胞に対する比率は、対照よりもむしろ増加を示している。このことは妊娠ラットの機能が一時停止しているという報告に比べて妊娠ラット下垂体前葉の Glucocorticoid 投与に対する特異的な反応像の一部を観察し得たごとく思われる。

Ingle²¹⁾(1938 年)等の説によると、妊娠時における ACTH の分泌は副腎皮質ホルモンの Feed back action により調節されるものと考えられている。すなわち副腎皮質ホルモン投与の際に起る副腎の萎縮は ACTH 分泌低下にも起因するものと見られる。また Winter, Silber^r and Stoerk²²⁾によると、非妊時では Cortisone による副腎皮質の萎縮は下垂体剔除時における副腎萎縮に類似するものとされている。もちろん、当ホルモン自体が副腎皮質に直接萎縮作用をもつことも考慮されねばならないが、この際の変化は、束状、網状層の萎縮が主で、球状層にはほとんど変化が見られない。下垂体剔除時には、束状層の脂肪顆粒は逆に増加、粗大化し、終には消失に至るが、Cortisone 投与時には初期から脂肪顆粒は微細のまま消失するのが特徴であり、この差異は

Cortisone 投与の場合には ACTH 分泌の遮断が不完全なために生じたものといわれている。ただし、Cortisone を極く大量投与した場合には下垂体剥出時に比較的似た脂肪顆粒の所見を見ることができたという。この点は著者の成績に一致している。

笹野²³⁾、他のラットに副腎皮質ホルモンを長期連続投与した報告によると、3週間目で、束および網状層の厚さの減退を認め、束状層細胞の萎縮を呈し、脂肪顆粒の含量は比較的よく保たれているが、粗大化が顕著になったといっている。妊娠時と非妊娠時では胎盤ホルモンの介入や下垂体の機能変化等で、その所見を比較するのは無理ではあるが、著者の得た成績では副腎皮質ホルモンを大～中等量連日投与した際には束状層の厚さが減じ、脂肪顆粒は一般に増加、粗大化し、妊娠日数が進むにつれて原形質の空胞がその大きさを増して多数出現するようになり、核の濃縮が見られている。また血液洞そのものの形を乱している。これらは細胞学的に見て著しい副腎機能の減退を招来していると思われる。少量投与群では組織学的変化が中～大量投与群よりも軽度であるが、妊娠の逐日の観察によると、妊娠中期では対照群に類似した所見を示し、機能が存続しているように見える。しかし少量でも連日投与により妊娠末期には、細胞学的にやはり副腎の軽度機能低下を示していると思われる。ただここで注目されるのは脂肪顆粒の増量が外部からの皮質ホルモンにより母体副腎皮質からの分泌が抑制されたためとも考えられる。中性脂肪に皮質ホルモンが溶存し、脂肪量とホルモン量とは平行的関係にあるという推察には疑問の余地があるが、他の方法による組織学的検索と生化学的研究とを待たねば結論し難い。然し非妊娠時と妊娠時の生体内での変化は非常に大きくこの点も十分考慮されねばならない。Trerotoli²⁴⁾ および赤須²⁵⁾ 等による細胞学的変性と脂質の貯溜が副腎機能低下を意味するという報告を参考にすると、副腎機能は組織学的、組織化学的の総合所見から判定されねばならないので、本実験の結果はやはり機能低下が惹起されたと推察してよいと思われる。

下垂体と副腎束状層の変化の関連性をみると、正常妊娠時の副腎機能は亢進状態にあるという定説から、 β 細胞の ACTH 分泌亢進が考えられる。かかる際に a 群のごとき大量投与を行なった場合 Glucocorticoid の総量が増加し ACTH 分泌抑制が起り、これが持続的になると β 細胞の変性を惹起する。このため副腎には萎縮と細胞学的変性が生じ、Glucocorticoid の分泌低下と貯溜が認められるようになったと思われる。この状態を改善するため、さらに β 細胞はその数を増して来るが、投与量が多くなると、ACTH の分泌抑制がさらに強まり

増加する細胞も制限をうけるようになる。少量投与群では妊娠初期では比較的障害が少ない。このため、 β 細胞は増数して ACTH 分泌を盛んにする。しかし妊娠日数が増すにしたがい、副腎機能低下が進み、 β 細胞の増加も緩徐となってくる。このように Feed back action を考えられる所見を呈しているが、副腎組織の変性のため、ACTH の機能は十分果されていないように思われる。副腎の Sudan III 染色所見からみると、非妊時の下垂体摘出時所見に類似している。しかし下垂体機能は低下しているが、残されているので、妊娠時には特異な像を示すと考えたい。また、本実験によると妊娠ラットの下垂体機能は妊娠時も、活動していると思われる。

下垂体、副腎の実験成績と第 1 編の胎盤、胎仔に与える影響との関連性について検討をしてみる。一般に α 細胞からは黄体化ホルモンが分泌されるといわれ、また、胎盤内 Giant cell (以下 G. C. と略) も Luteotropin 等の内分泌作用と Steroid 合成作用²⁶⁾ を持っているといわれている。a 群では、胎盤内 G. C. の変化が特有であり、 α 細胞の減少もみられ、妊娠維持能力が減退する傾向がみられるように思われる。R/I index (Resorptions/Implantations \times 100) の増加が他群と比べ著しいのは、上記の G. C. と β 細胞の変化に関係していると考えられる。c 群では妊娠第 15 日に α 細胞の減少があり、R/I はやや上昇、妊娠第 18 日から 21 日には R/I は上昇率が減っているが、同時に α 細胞は増加を示している。e 群では妊娠第 15 日より 21 日まで α 細胞は著しく増加し、R/I の上昇は対照と大差ない。このように妊娠維持と α 細胞、G. C. とは関連性があるのではないかと考えられる。

第 1 編で述べたごとく Decidua basalis と Spongy zone の Glycogen (以下 G. と略) 含有量はほぼ平行関係を示していた。副腎機能と G. 含有量の動態との関連をみると、投与ホルモンの G. 生成への直接的障害と副腎機能低下による束状層からの Glucocorticoid の分泌障害とが考えられるが、c 群では妊娠第 15 日から G. の軽度減量がみられ始め、同時に副腎機能低下が出現して来ている。e 群では妊娠末期に至り副腎機能低下があらわれるが、この時期ではもう G. 代謝への影響がみられなくなっている。a 群は妊娠末期に副腎機能障害の他、脾の糖代謝異常等^{27), 28)} の諸因子の介入もあるとみえて、G 含有量は他群と比べその推移が特異であるため、説明が難しい。

前述のごとく γ 細胞の妊娠細胞化については諸説があるが、本実験群において γ 細胞の淡青染されたものをいわゆる妊娠細胞と考え、 γ 細胞の成長ホルモン分泌説があることから胎仔発育と比較検討してみると、

妊娠細胞出現数と発育程度が平行関係にあるように思われる。しかしこれは例数を増してさらに追究の余地があるろう。

V. 結 語

Glucocorticoid hormone である Paramethasone acetate を初妊ラットに妊娠第 0 日より強制経口法にて連日投与し, 投与量 (2.5, 0.5, 0.125 mg/kg/day), 投与日数別に母体下垂体前葉および副腎皮質に与える影響を組織並びに組織化学的に比較研究し, 次の結果を得た。

1. 臓器重量の変化

(1) 下垂体: 個体差が僅か認められたが, 7 mg のものが大多数を占め, 2.5 mg/kg 群で妊娠後期に多少減ずる傾向がみられた。

(2) 副腎: 投与群では一般に妊娠中期から後期にかけて減少したが, 投与量が多い程, その程度は著しかった。

2. 組織学的所見

(1) 下垂体前葉: γ 細胞の好色素性傾向は妊娠日数増加と比例して強まるが, 投与量が大なる程, その傾向は抑制を受けた。投与群では α , β 細胞は小型化し, 大量投与では原形質, 核の濃染と変形するものが増して細胞機能の低下が推察される。 α 細胞数は妊娠日数により増減があつたが, 2.5, 0.5 mg/kg 投与群は妊娠中期に減少し, 末期に回復した。 β 細胞は少量投与群の妊娠初期の増数を除き, 減少の傾向を認めたが, 百分率は妊娠中期以降に上昇を示した。

(2) 副腎皮質: 束状層に著変がみられた。妊娠中期以後に萎縮が強く, 層の巾が減じ, 細胞柱の乱れ, 原形質の空胞拡大化, 細胞崩壊, 核の大小不同, 濃縮等の所見が投与量の多い群にみられ, 特に妊娠中期から後期に著明であつた。脂肪顆粒は投与量の多い群で増量し, 後期ではむしろ減少し, 顆粒は粗大化の傾向がみられ, 下垂体摘出時所見に類似していた。

3. 下垂体前葉および副腎皮質所見の関連

副腎は機能低下を推定させる組織像であつたが, その程度は投与量の多い程強く, 少量投与群では妊娠末期を除き, 対照群と大差がなかつた。下垂体の β 細胞の動態は副腎機能に何等かの関連があるように思われる。

4. Glucocorticoid の妊娠初期からの継続的使用は投与量により母体に与える変化に大きな差異を示し, 少量投与の際では影響が軽微である点から考えると, 投与量に細心の注意が必要と思われる。

た恩師林基之教授に深謝すると共に, 実験に際し御指導と御便宜を戴いた解剖学教室橋井勉教授, 橋本長講師に衷心より感謝の意を表し, 有益なる御助言, 御協力を頂いた産婦人科教室及び解剖学教室各位並びに御助言と御高配を頂いた聖路加国際病院産婦人科村国茂医長はじめ医局員各位に厚く御礼申し上げます。

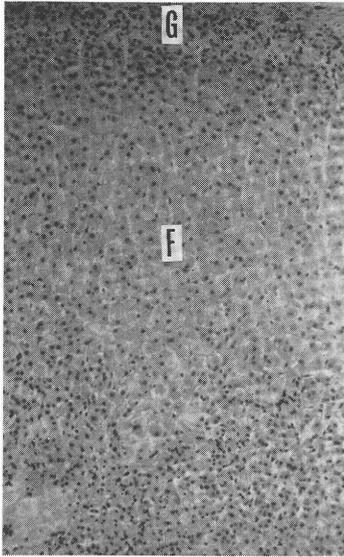
本研究は文部省科学研究費交付金によつてなされた。また本論文の要旨は昭和 41 年度文部省総合研究「胎児物質代謝の研究」の第 3 回班会議に於て発表した。

文 献

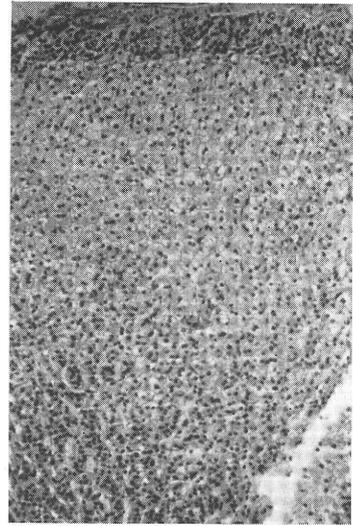
- 1) Ingle, D. J. & Kendall, E. C.: Science, 86, 245 (1937).
- 2) Long, J. A. & Evans, H.: Mem. Univ. Calif. 6 (1922).
- 3) Rogoff, & Stewart.: Am. J. Physiol. 78, 683 (1926).
- 4) Corey: Physiol. Zool. 1, 147 (1928).
- 5) Carr.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 29, 128 (1931).
- 6) Firor. & Grollman.: Am. J. Physiol. 103, 686 (1933).
- 7) 河原節・他: 日産婦誌, 5, 513 (1953).
- 8) Erdheim, F. & Stumme, E.: Path. Anat., 46, 1 (1909).
- 9) Berlinger, W.: Path. Anat. 2, 910 (1932).
- 10) Rasmussen, T. A.: Am. J. Path., 9, 459 (1933).
- 11) Schenk, F.: Konstit. Lehre, 12, 205 (1926).
- 12) Williams, R. H.: Textbook of Endocrinol., Saunder, (1955).
- 13) 征矢嘉行・他: 日産婦, 東京地方部会 (1958).
- 14) 伊藤羽衣子: 「ホ」と臨, 8, 396 (1960).
- 15) Pencharz, R. I. & Long, J. A.: Science, 74, 206 (1931).
- 16) Cutuly, E.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 47, 126 (1941).
- 17) Cutuly, E.: Ibid. 48, 315 (1941).
- 18) Cutuly, E.: Endocrinol. 31, 13 (1942).
- 19) Lyons, W. R. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 52, 134 (1943).
- 20) 平賀美禰子: 日産婦誌 9, 569 (1957).
- 21) Ingle, D. J., Higgins, & G. M., Kendall, E. C.: Anat. Rec. 71, 363 (1938).
- 22) Winter, C. A., Silber, & R. H., Stoerk, H. C.: Endocrinol. 47, 60 (1950).
- 23) 笹野伸昭・他: 日内分泌誌 41, 1432 (1965).
- 24) Trerotoli: Hartman & Brownell: Adrenal Gland. (1949).
- 25) 赤須文男: 日産婦全書 4 (2) 87.
- 26) Dean, H. W., et al.: Endocrinol. 70, 407 (1962).
- 27) Conn, J. W.: Hormonal Factors in Carbohydrate Metabolism, Little Brown Co., Boston.

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つ

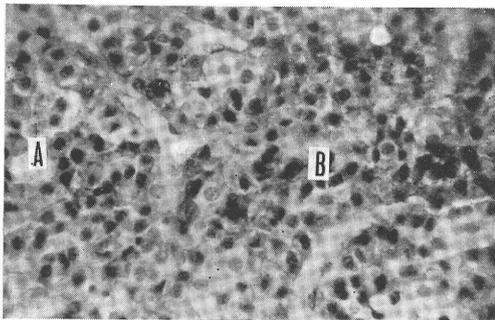
神 津 論 文 付 図 (1)



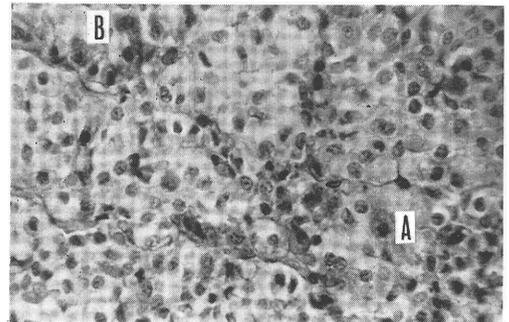
写 真 1



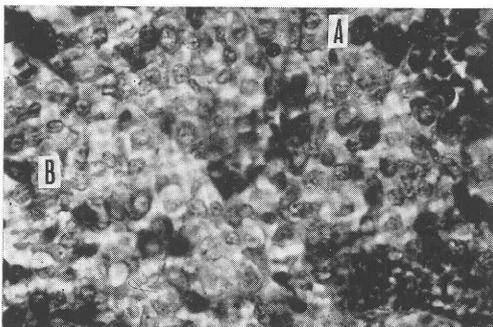
写 真 2



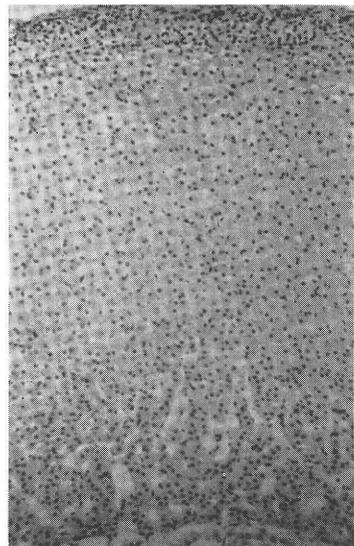
写 真 3



写 真 4

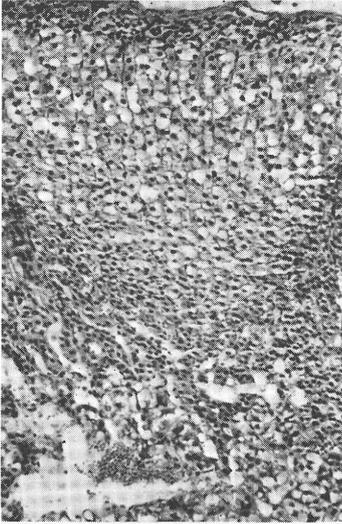


写 真 5

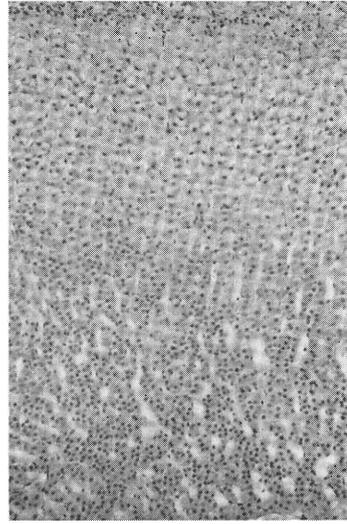


写 真 6

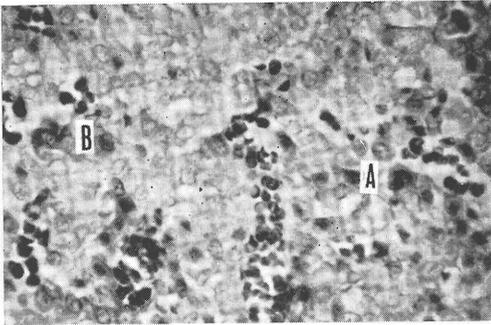
神 津 論 文 付 図 (2)



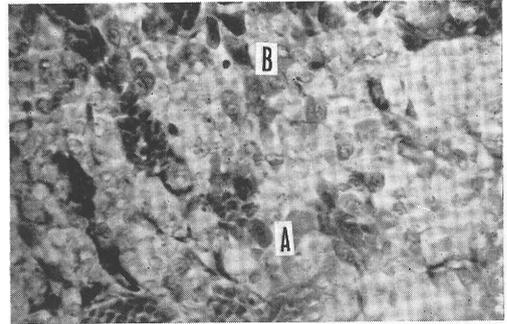
写 真 7



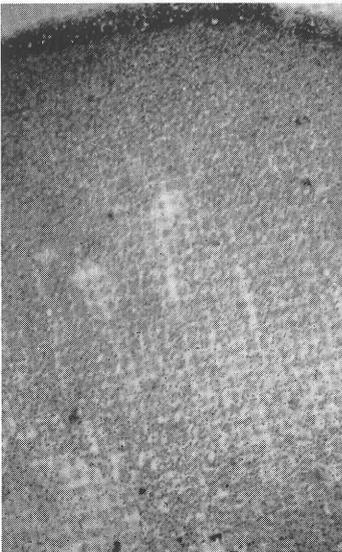
写 真 8



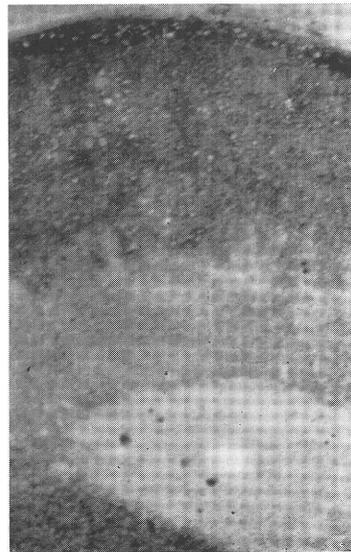
写 真 9



写 真 10

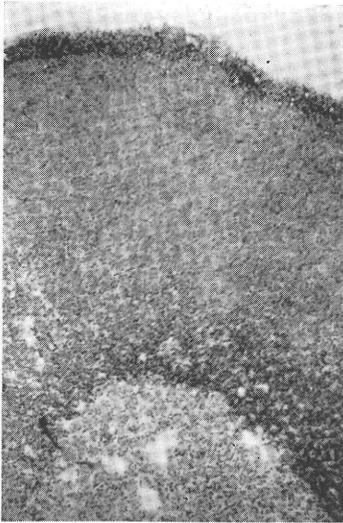


写 真 11

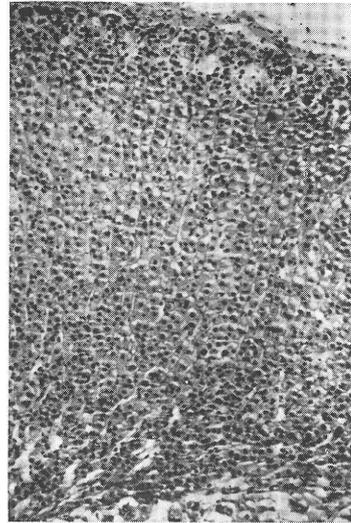


写 真 12

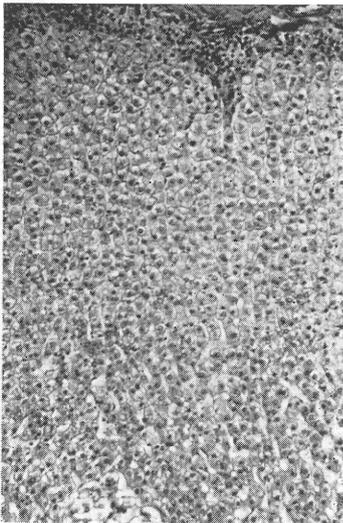
神 津 論 文 付 図 (3)



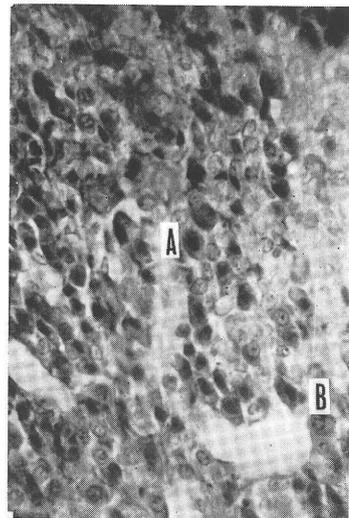
写 真 13



写 真 14



写 真 15



写 真 16

第 2 編 論 文 写 真 説 明

1. 妊娠第 9 日, 対照群 (以下 Cont.) 副腎 (以下 ad.) 100 倍 (以下 100×) HE 染色.
G: Zona glomerulosa.
F: Zone fasciculata
R: Zona reticularis (写真では脱落)
F の細胞はきれいな柵状をなし, 肥大し, 核は円形のものが多い.
2. 妊娠第 9 日, 2.5 mg/kg (以下 a) 群, ad. 100×, H.E. 染色
F の細胞柱は乱れを生じ原形質の空胞が拡大. 核の形は様々. F の厚みが減じている.
3. 妊娠第 9 日, Cont. 下垂体前葉 (以下 Hypo.) 400×. アルデヒドチオニン・カルミン・オレンジ G. ライトグリーン染色, (以下, 下垂体は同染色)
A: α 細胞. B: β 細胞, 標本で A は原形質が赤染し, 核は円形でやや濃く染まる. 写真中 A の文字の右隣の細胞. B は標本では原形質が深青色で, 核は A よりも大きく, 濃染.
4. 妊娠第 9 日, a-群, Hypo, 400×.
 β 細胞が他群より少なく, 全細胞数も減じている. α 細胞も同様に少い.
5. 妊娠第 9 日, 0.125 mg/kg 群 (以下 e), Hypo. 400×.
 β 細胞が多い.
6. 妊娠第 15 日, Cont. ad. 100×. H.E. 染色.
F は非常に厚みを増している. 原形質は肥大, 充実し, 細胞数も増加.
7. 妊娠第 15 日, a-群, ad. 100×. H.E. 染色.
F は, 細胞原形質の空胞化が著明となり萎縮は更に増強. 核は濃染し, 核消失を起した細胞が諸処に出現, 核の偏在も目立つ.
8. 妊娠第 15 日, 0.5 mg/kg (以下 c) 群, ad. 100×. H.E. 染色.
a-群より細胞変化は少いが, F. の厚みは減じ, 原形質の空胞化もやや多い.
9. 妊娠第 15 日, c-群, Hypo, 400×.
 α , β 細胞の減少, 全細胞数も減じている.
10. 妊娠第 15 日, e-群, Hypo, 400×.
a, c-群に比べ, 全細胞数は多く, α , β 細胞も多いが, β 細胞は妊娠第 9 日よりやや減少. α 細胞は増加. 血管に富む.
11. 妊娠第 21 日, Cont. ad. 40×. Sudan III 染色.
脂肪顆粒は中等量で, 実験群より微細. F は厚みが増加したまま.
12. 妊娠第 21 日, a-群, ad. 40× Sudan III 染色.
粗大脂肪顆粒は増加. F の厚み更に減少.
13. 妊娠第 21 日, c-群, ad. 40×. Sudan III 染色.
a. 群に比べ, 脂肪量は少い. F は比較的厚いが, Cont と比べ, 菲薄.
14. 妊娠第 21 日, a-群, ad. 100×, H.E. 染色.
F の細胞は萎縮が強い, 核の濃染あり, 核濃縮も増加し, 細胞崩壊を来たしている部分もある.
15. 妊娠第 21 日, e-群, ad. 100×. H.E. 染色.
F の細胞は原形質に空胞化がみられ, 細胞柱の乱れを生じ, 核の染色性に多少の不同性がある.
16. 妊娠第 21 日, c-群, Hypo, 400×.
 β 細胞がやや増加. α 細胞は妊娠第 15 日より多い. 下垂体は萎縮の傾向が軽度のみられ, 細胞は分布が密.

166 (1953).

28) Hansberger, F. X. & Ramsay, A. J. : Endocrinol. 53, 423 (1953).

29) 辻 葉子 : 日不妊会誌, 12, 111 (1967).

Effects of Adrenocortical Glucocorticoids in Pregnant Rats and on the Growth of the Fetus and Placenta

Part II. Effects of Adrenocortical Glucocorticoids on Hypophysis and Adrenal Cortex in Pregnant Rats. — Histological and Histochemical Studies —

Hiromu Kohzu

Department Obst. Gynec., Toho Univ. School
of Med. (Dir. Prof. M. Hayashi)

Different doses of adrenocortical glucocorticoids (Paramethasone acetate 2.5, 0.5, 0.125 mg/kg/day) were given daily to pregnant rats from the day when the sperms were found in the vagina. The animals were sacrificed at the early, middle, late stages of pregnancy, and the hypophysis and

adrenals were studied histologically and histochemically.

With increased doses, decrease in the weight of the adrenals appeared from the early stage of pregnancy, and those tendency became remarkable from the middle stage.

The adrenals showed significant changes in the zona fasciculata, consisting of enlargement of vacuoles, picnosis, destruction of cells, compression of sinuses, derangement of cellular formation, and narrowing of the layer.

Sudan III stain revealed gross enlarged lipid granules, which decreased in the late stage of pregnancy.

These changes indicate impaired adrenal function from the cytological standpoint.

In the anterior lobe of hypophysis, percentage of α cells declined in middle stage of pregnancy and rose in the late stage, while β cells increased from the middle stage with doses of over 0.5 mg.

Generally there was tendency toward shrinkage of cells and diminution in size of nuclei.

γ cells were poorly stained even in the late stage of pregnancy, while β cells were deeply stained and showed less irregularity in shape.

子宮運動に関する実験研究

II アドレナリン, アセチルコリンおよびオキシトシン がラットの摘出した子宮の運動性に およぼす影響について

Experimental Studies on Uterine Motility II. Effects of Adrenalin, acetylcholine and oxytocin on Spontaneous Motility of the Excised Uterus in Rats.

日本大学農獣医学部家畜生理学教室

佐久間 勇次 渡部 敏
Yuzi SAKUMA Toshi WATANABE

遠藤 克平 野公夫
Tuyoshi ENDO Kimio HIRANO

Department of Animal Physiology, Agriculture and
Veterinary Medicine, Nihon University

東京大学農学部動物繁殖学教室

石島 芳郎
Yoshiro ISHIJIMA

Department of Animal Reproduction, Tokyo University of Agriculture

摘出子宮の運動性は Magnus 法によつて観察できないといわれていたが、著者らは実験方法に2~3の考案を加えることによつて摘出子宮の運動を観察する方法を明らかにした。ラットの子宮運動は性周期にもなつて規則的に変化することを第1報として報告した。そこで著者らは adrenalin, acetylcholine および oxytocin などの薬剤がラットの摘出子宮の運動性にいかなる影響をおよぼすかについてさらに Mageus 法によつて検索した。

- 1) 子宮の運動性は adrenalin によつて抑制され子宮筋は弛緩し、Tonus は基底線またはそれ以下まで下降し運動性はほとんど消失した。
 - 2) acetylcholine は子宮筋の収縮、緊張を増加して Tonus は上昇し運動性(振幅数)は著明に増加した。
 - 3) 性周期の各期における adrenalin および acetylcholine に対する摘出子宮の反応性、薬剤の滴下量による反応性は著明な差異は認められなかつた。
 - 4) oxytocin は子宮筋に対し強直性の収縮を示し運動性(振幅数)は3~4倍に増加した。oxytocin に対する子宮筋の感受性は第II期(発情期)と第IV期(発情休止期)では強直性の緊張状態に差異が認められた。
 - 5) 子宮筋に対する oxytocin の強直性収縮と運動性の亢進作用は、adrenalin によつて抑制された。
-

I. 緒 言

子宮の運動性は性周期にともなつて周期的に明らかな差異が認められることを著者らは Magnus 法によつてラットについてさきに報告した¹⁾. これらの変化は主として性ホルモンによつて支配されるものと考えられるが, 子宮およびその他の植物神経(自律神経)系の支配下にある臓器組織においては, 植物神経系の支配を当然受けているものと考えられる. しかし子宮に対する植物性神経支配の関係についてはあまり明らかにされていない. そこでこれらの点について究明するために前報と同様に, Magnus 法によるラットの摘出子宮の運動性におよぼす adrenalin, acetylcholine などの交感神経および副交感神経興奮剤と, 子宮筋自体に直接作用する oxytocin などの薬剤の影響について検索したのでその所見について報告する.

II. 実験材料および試験方法

1. 供試動物 Wister 系の自家繁殖した一産の経産非妊ラットで, 正確に 4 日の性周期を繰り返すものを用いた. 飼養条件は, 照明は自然光線と人工照明によつて, 1 日 14 時間とし, 固型飼料を主として, 他にクズ肉, パンなどを給与した.

2. 子宮の摘出法, 頸部を強引してと殺し開腹した後, 子宮外膜に損傷をあたえないように子宮広間膜を分離し, 子宮を摘出し, これを試験材料とした.

3. 試験方法 Magnus 装置を用いた. 摘出した子宮のあらかじめ室温の Tyrode 液中に浸して放置した後, 取り出して子宮の一端を Magnus 装置の摘出臓器槽のガラス管で, 他端を Heber にそれぞれ Serrfine と糸で連結, 固定した. ガラス管内の Tyrode 液の量は 60 ml とした. 同時にコンプレッサーによつて気泡が子宮運動に影響を与えない充分量の流入しながら Tyrode 液の温度を $38 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ に保ち, Kymographion drum に軽く Tonus を接触させた子宮運動を描写した.

摘出子宮の運動性は Magnus 装置してから 45~60 分以上を経過すると, 安定した子宮の運動曲線(Kymogram)を示し, 性周期にともなつて子宮筋の収縮および弛緩運動に差異が認められることから, adrenalin, acetylcholine および oxytocin などの薬剤の滴加は装置後 1 時間以後に行なつた. 使用薬剤の成分含有濃度は 0.1% 塩化アドレナリン, 0.1% 塩化アセチルコリンおよび 10 単位/1 ml oxytocin であり, また使用量は摘出臓器槽のガラス管内の Tyrode 液 60 ml に対し 0.05 ml を原則として用いた.

III. 試験結果

1. adrenalin の子宮運動におよぼす影響

摘出子宮の運動性は 0.1% adrenalin 0.05 ml 滴加によつて子宮筋の収縮運動は抑制され弛緩して Tonus は基底線またはそれ以下に下降し, 振幅もほとんど消失し, 子宮運動は adrenalin によつて明らかに抑制された(第 1 図). 各性周期における所見からも, ほとんど同様の成績が得られたことから子宮の運動性に対する adrenalin の反応はあまり差異がないものと思われる. また, 大量(0.5 ml)はたは小量(0.025 ml)の adrenalin を滴加した場合においても, これらの反応度に強弱は認められる. いずれも子宮の運動性は adrenalin によつて抑制された.

2. acetylcholine の子宮運動におよぼす影響

Fig. 1 Effect of adrenalin administration on spontaneous motility of the excised rat uterus.

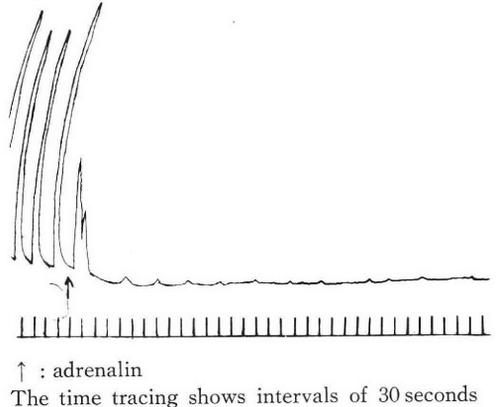
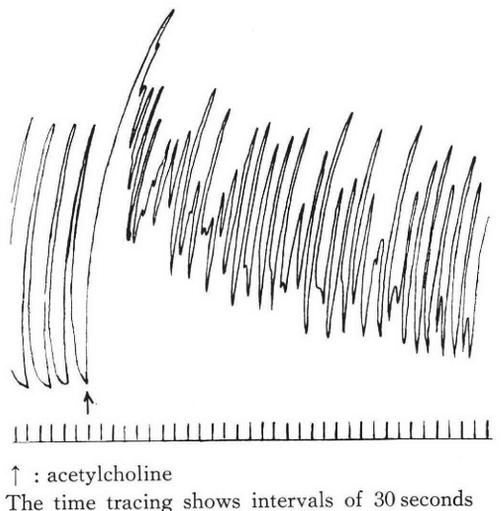


Fig. 2 Effect of acetylcholin administration on spontaneous motility of the excised rat uterus.



0.1% acetylcholine 0.05 ml 滴加によつて子宮筋は強度な収縮状態を示し、Tonus が著しく上昇し、振幅数、収縮頻度は著明に増加して運動性は亢進した。振幅は不規則で大・小の収縮および弛緩運動を示し、滴加前に比較してやや小さくなるようであるが、これはむしろ子宮筋の強度の緊張状態を示しているものと思われる(第2図)。したがつて acetylcholine は子宮の運動性に対しとは逆に運動性の亢進を示した。またこの反応は各性周期および adrenalin の滴加量による差異はあまり認められなかつた。

Fig. 3 Effect of oxytocin administration on spontaneous motility of the excised rat uterus.

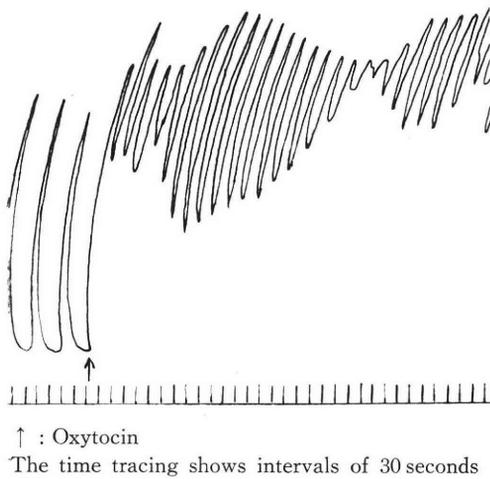
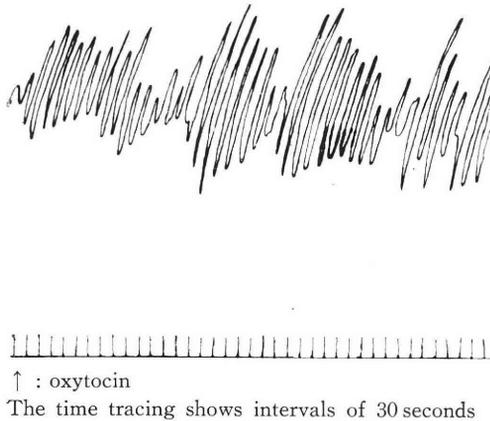


Fig. 4 Effect of oxytocin administration on spontaneous motility of the excised rat uterus in the diestrous stage.



3. oxytocin の子宮運動におよぼす影響

10 単位/1 ml 0.05 ml 滴加によつて子宮は直ちに強度の緊張を示し、adrenalin, acetylcholine に比較し最も

Fig. 5 Effect of oxytocin administration on spontaneous motility of the excised rat uterus in the estrous stage.

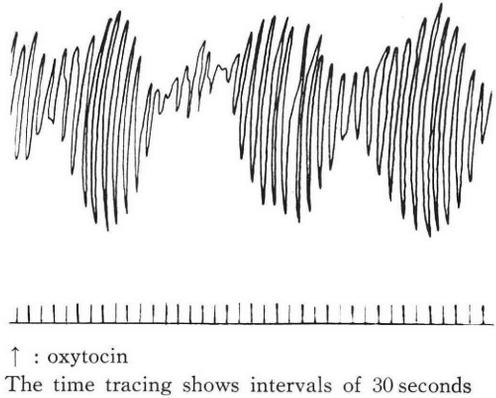
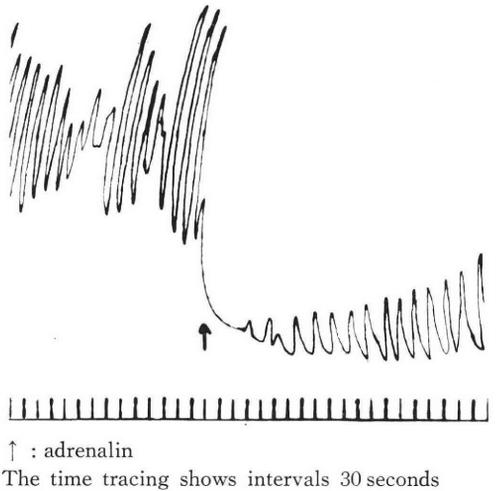


Fig. 6 Effect of adrenalin administration following oxytocin on spontaneous motility of the excised rat uterus.



著明な Tonus の上昇を示し、振幅数は3~4倍に増加して子宮筋の強直状態を示した(第3図)。卵胞期(第II期・発情期)と黄体期(第IV期・発情期休止期)における oxytocin に対する子宮筋の反応は緊張状態にやや差異が認められるようである(第4・5図)、これらの反応は0.025 ml 滴加によつても同様の所見を示したが、0.07 ml 以上滴加した場合においては子宮筋は直ちに強直し Magnus 法による観察は不可能であつた。

この oxytocin の子宮筋に対する強直性緊張状態は0.1% adrenalin 0.05~0.10 ml 滴加によつて明らかに抑制され Tonus は下降し、子宮筋は弛緩して振幅・振幅数ともに減退して強直状態は adrenalin によつて緩和された(第6図)。

IV. 考察および総括

生殖器官, 特に子宮は機能的にみて性ホルモンの支配を強く受けているが, 組織学的には平滑筋によつて構成されているので不随意器官としての機能を示すものと考えられる。子宮に関するこれらのことについては, 不随意器官を反応器とする反射弓の存在はまだ明らかにされていないので雌動物にみられる性周期・交尾・排卵・受精・着床・妊娠・分娩などの性現象は主として性ホルモンを中心に究明されているのが現状である。しかし, 子宮, その他の生殖器官も同様に不随意器官においては, 交感神経および副交感神経などの植物神経系の生理的な支配を受けていると考えられるが, まだ不明の点が多い。

交感神経興奮剤 (アドレナリン効果薬) として *adrenalin*, 副交感神経興奮剤 (コリン効果薬) として *acetylcholine* を用いて, ラットの摘出子宮の運動性に対し如何なる影響をおよぼすかについて試験した結果, *adrenalin* によつて子宮筋は緊張を増加して収縮し, 運動性は亢進した。 *adrenalin* についての *in vitro* における試験成績は Hays²⁾, 檜垣³⁾ の *in vivo* (Balloon法) の結果に一致しているので子宮筋は交感神経の興奮によつて運動性は明らかに抑制されるものと思われる。また子宮に対し選択に作用して強直性の収縮をきたすといわれる *oxytocin* の試験成績も *in vitro* において同様の結果が得られたが, さらに *oxytocin* 処理後においても *adrenalin* によつて子宮筋の強直性の緊張が緩和されたことは, *oxytocin* の子宮筋に対する作用が交感神経の興奮によつて抑制されるものと考えられる。

oxytocin に対する子宮筋の反応は *estrogen*, *progesterone* などの性ホルモン, 哺乳刺激などの影響を受けた特に *estrogen* は子宮筋の *oxytocin* に対する感受性を高めることはすでに知られているが, 著者らの *in vitro* における第Ⅱ期 (発情期) と第Ⅳ期 (発情休止期) の所見においても子宮筋の緊張状態に差異が認められたことから *estrogen*, *pregesterone* は *oxytocin* に対する子宮筋の感受性に関与していることは明らかであると考えられる。

副交感神経興奮剤である *acetylcholine* は子宮筋に対して *adrenalin* とは逆に収縮, 緊張を増加し, 運動性は明らかに亢進した。すなわち, *acetylcholine* は子宮筋に対し *adrenalin* に拮抗的に作用するものと考えられる。このことは尹⁴⁾ が *Magnus* 法によつて家兎および人の卵管について行なつた成績に一致しているが, *adrenalin* については卵管の緊張をきたすと述べている。

生殖器官の植物神経の分布については交感神経は仙髄

(骨盤) 神経を経て骨盤神経叢より, 副交感神経は後(小)内臓神経を経て下腸間膜神経叢より分布するといわれているが, 子宮, その他の性器官における両者の活性分布の詳細については不明の点が多いので, アドレナリン作動神経およびコリン作動神経の存在は *adrenalin*, *acetylcholine* などの薬剤のみによつて明らかにされたとはいえない。

しかし *adrenalin* および *acetylcholine* に対して子宮筋は拮抗的に反応すること。さらに *oxytocin* の子宮に対する強直性の収縮が *adrenalin* によつて緩和されることなどのことから, 薬理学的な面からアドレナリン作動神経およびコリン作動神経の存在を示唆するものと思われ, 生理的な状態においても子宮の運動性は植物神経系の支配を受けているものと考えられる。またこれらの反応が中枢神経, 末梢神経系の支配または影響を受けているか否かについては, 今後さらに検討を要するものと考えられる。

引用文献

- 1) 佐久間勇次, 渡部敏, 藤藤克, 平野公夫, 石島芳郎: 子宮運動に関する実験的研究—I. ラットの性周期と摘出子宮の運動性について, 日不妊会誌 13 卷 2 号。
- 2) Hays, R. L. and N.L. Vandemake: Effects of Oxytocin and Epinephrin on Uterine Motility in the Bovine, *Amer. J. Physiol.* 172, 557, 1952
- 3) 檜垣繁光, 菅徹行: 牛の子宮運動に関する研究—III. 卵巣割去牛における性ホルモン注入の効果について, 農技研報 G 第 17 号, 25, 1959.
- 4) 尹基花: 卵管運動に対する薬剤の影響について, 日不妊会誌, 5, 5, 68, 1960.

Experimental Studies on Uterine Motility II. Effects of Adrenalin, Acetylcholine and Oxytocin on Spontaneous Motility of the Excised Uterus in Rats.

Yuji Sakuma, Toshi Watanabe, Tuyoshi Endo and Kimio Hirano

Laboratory of Animal Physiology, Agriculture and Veterinary medicine, Nihon University

Yoshiro Ishijima

Laboratory of Animal Reproduction, Tokyo University of Agriculture

The effects of *adrenalin*, *acetylcholine* and *oxytocin* on spontaneous motility of the excised rat uterus have studied by the method of *Magnus*. The technique by which the *in vitro* observations,

including excision of uterus, kymographic recording and Magnus apparatus etc., were made was the same as the one described in the previous report.

The results were obtained as follows.

1. The spontaneous uterine motility were inhibited remarkably by the administration of adrenalin, the tonus were descended in every stages of the estrous cycle.
2. The spontaneous uterine motility were increased remarkably by the administration of

acetylcholine, the tones were raised in every stages of the estrous cycle.

3. In the case of oxytocin, the most remarkable contraction were observed, and the strong tetanic contraction were difference between the stages of estrous and diestrous.

4. The increased activity due to the administration of oxytocin were inhibited partially or completely by the administration of adrenalin following the oxytocin treatment.

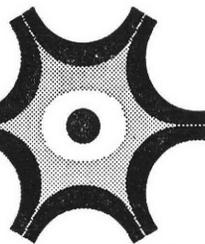
神経・筋諸疾患に
強力な総合効果を発揮する
ビタミン療法

〈健保採用〉

ビタノイリン[®]

静注用 注射用 カプセル「タケダ」

本剤は神経・筋機能の賦活と円滑化にすぐれた作用をあらわすアリナミンFを中心に、ビタミンB₆・B₁₂を合理的に配合した製剤で、諸種神経・筋疾患に多角的な作用を発揮し、すぐれた総合効果をもたらします。



適応症

- 神経痛、坐骨神経痛、肋間神経痛、三叉神経痛、腰痛症、頸肩腕症候群。
- 神経炎、多発神経炎、糖尿病性末梢神経疾患、中毒性末梢神経疾患、栄養性末梢神経疾患。
- リウマチ、関節リウマチ、リウマチ熱、関節痛、筋痛、リウマチ性心疾患、筋肉リウマチ。
- 末梢神経麻痺、顔面神経麻痺。
- 知覚異常、無力症、病後回復の促進。
- 眼精疲労。
- 悪性貧血、栄養性貧血、寄生虫性貧血、外科的貧血。

包 装	健 保 薬 価
注 射 用：10管・50管	1管 : 495.00円
静 注 用：5バイアル	1バイアル : 587.00円
カプセル：120・600入	1カプセル : 41.40円



武田薬品工業株式会社
大阪市東区道修町2丁目27番地

2, 3の性ホルモンに対する黄体期内膜の反応について

The Response of Endometrium treated by Some Sex Steroids in Luteal phase

日本バプテモト病院 (院長 C. F. Clark) 産婦人科医長

ト 部 宍

Hiroshi URABE

Department of Obstetrics and Gynecology, Japan Baptist
Hospital, Kyoto, Japan

黄体機能不全内膜に及ぼす progestin の影響を検討しようとした。内因性の progesterone の作用が十分働いている子宮内膜に、合成 progestin および他の性ステロイドを投与してその反応を検討した。

estradiol を投与することにより子宮内膜が日付診より遅れるもの、日付診に近いもの、およびいろいろの像の入り混じるものの3群に分けることができた。estrone 投与では estradiol 投与のものと同様に異なり、日付診に一致してくるものが多い。testosterone 投与では日付診より遅れるもの像、正常周期よりへだたつて萎縮所見が認められるもの2群に分けることができた。ethinyl-19 nortestosterone (EtNT) は日付診より遅れるものと進むものに分かれ、後者は testosterone 投与内膜の場合に類似し長期投与により内膜萎縮像を示した。

しかしながら EtNT を7日間投与し中止後3~4日目に内膜診を行なつた症例では、EtNT の特徴の1つである細胞核の濃染化、重層像化が改善され妊娠例をえることができる。

まえがき

経口投与により有効な黄体ホルモン様物質である 17- α -ethinyl testosterone が 1938 年に合成され、1954 年 Djerassi らにより 19-norsteroid が合成されてから急速に数多くの合成 gestagen が作られ、臨床的に広く用いられるようになった。

しかしながら合成 gestagen はその作用が解離しているために使用目的に適する作用をもつ gestagen を追求し、さらに各種の作用の原因をその代謝や分子構造に求めるなど各方面に合成 gestagen の研究は広さと深さを増しつつ検討が加えられるようになった。

さて初期の報告に見られる gestagen の黄体機能不全に及ぼす影響について疑問を抱き、今回内因性の progesterone の作用が十分働いている内膜に対する合成 gestagen および他の性ステロイドの内膜に対する反応について再検討する目的をもつて検索を行なつた。

実験方法ならびに成績

外来不妊患者のうち基礎体温が定型的な形を示し、頸

管粘液が排卵期に 0.3 cc 以上に増加するものを対象とした。子宮内膜採取日の記載は月経周期、排卵後の日数、薬剤投与後の日数と内膜採取日より次期予定月経までの日数を記載し黄体期の変動ならびに内膜日付診に利用した。

1. ethinyl estradiol (EED) 0.2 mg を排卵期より始めて 6~10 日間投与した群。

6 例中 5 例までが排卵後 10 日までに採取したもので、すべて日付診より遅れた内膜像を示したが、排卵後 2~3 日の正常像に近いものが多かつた。黄体期の延長した例が 2 例、不変であつたものが 4 例であつた。

写真 1, 2 は EED 0.2 mg \times 6 日のもので推定排卵後 8 日に採取し、予定月経までの日数は 9 日である。腺の蛇行は良好で、間質に部分的出血像が認められるほかは排卵後 2~3 日の正常像に近い像である。

2. EED 0.2 mg を黄体期中期に 3~4 日間投与した群。

推定排卵後 9~13 日に採取したものでこの群は 2 つの群に大別できる。その 1 つは腺がのう状で腺の大小不同

表 1 Testosterone 投与による子宮内膜の変化 (Enarmon Depot 100 mg)

	氏名	年齢	採取日			採取日より次 期月経まで の日数	黄体期
			月経周期 第 日目	排卵後 日目	薬剤投与後 日目		
1		24	27	9	6	2	11
2		37	21	9	8	4	13
3		29	23	8	8	7	15
4		36	19	7	5	5	12
5		30	18	7	5	7	14
6		28	24	7	8	10	17
7		29	24	6	6	6	12
8		29	19	5	4	9	14
9		31	24	5	5	11	16
10		37	25	3	6	15	18

が著しく腺の2重像が認められ、腺細胞はやや扁平なものが多く、核の重層が多く見られる(写真5, 6)。採取日は推定排卵後12日目で次期月経まで2日であった。

他の1つは日付診より見てほとんど正常像に近いものである(写真7, 8)。投与期間は3日で採取日は推定排卵後11日目で次期月経は1日後であった。

3. estriol (ET) 500 γ ~600 γ を推定排卵日より5~10日間投与した群。

ET のヒト子宮内膜作用と EED の内膜に対する作用とを比較する目的で検討した。

ET 投与群では膜の偽重層~重層像は消失し、腺腔に分泌物の貯留像を認め腺腔はややのう状になる傾向がある。腺細胞核は肥大し淡明化の傾向を示す。また細胞質の著明な腺腔内突出像を認める。多くの症例において日付診に近い正常像が得られた。写真3は ET 400 γ ×7日のもので、推定排卵後5日目に採取し次期月経は2日後であった。写真4は ET 600 γ を5日間投与し、推定排卵後7日目に採取し次期月経は7日後に起こった。

4. Testosterone (enarmon Dep. 100 mg) 投与群。

Enarmon Depot 100 mg を推定排卵日に投与し、排卵後3日より9日までを各症例について観察した。

表1に示すように黄体期日数には影響を及ぼすとは言えない。

内膜像については写真9, 10は症例8の例で核下空胞が著明であり腺の蛇行は著しく腺細胞は高く重層像~偽重層像が著明である。写真11は症例4の例で腺は円形のものが多く著明な2重像を示し腺細胞はやや扁平化し随所に重層像が認められ腺細胞核の不同が目立っている。間質はやや密である。写真12, 13は症例5の例で腺腔はややのう状で腺細胞核は長だ円形で濃染し、大小不同がみられ随所に核の重層像が認められる。間質の浮腫は認められない。写真14, 15は症例2の例で腺はの

う状で蛇行性は少なく大小不同が著明である。腺細胞核は円形~だ円形で濃染し核の重層像は著明、間質は浮腫状で脱落膜様細胞は認められない。写真16は症例1の例で腺は円形のものが多く腺の2重像は著明、腺細胞は扁平化し核は小さく濃染し随所に核の重層像が認められる。以上よりその特徴は核下空胞形成には影響なく排卵初期のものでは核下空胞の存続を促すようである。腺細胞核の重層像と核の濃染不同化が目立つ、間質の浮腫はそれほど著明ではない。間質細胞核は小さく濃染化が認められる。

5. 17 α -ethinyl-19-nortestosterone (norluten : EtNT) 投与群。

(1) EtNT 5 mg を排卵期より5日間投与した群。

EED 投与群の場合と同様に A, B 2群に大別する。写真17はA群に属し採取日は推定排卵6日間で次期月経は11日後に起こった。腺腔はやや小さく核下空胞は著明で腺細胞核は小さく濃染し随所に偽重層~重層像を認め日付診より遅れた像を示す。写真18, 19はB群に属し採取日は推定排卵後6日目で次期月経は9日目に起こった。腺の蛇行は良好で鋸歯状突起は著明であり腺細胞核は円~だ円形のやや小さい濃染核が多い。随所に重層像が著明であり、間質は部分的に浮腫が認められ日付診断よりは進んだ像を示している。

(2) EtNT 5~10 mg を黄体中期に2~4日間投与した群。

2群に大別できる。写真20, 21はA群に属し EtNT 10 mg×2日目で採取日は推定排卵後7日目で次期月経は9日目に起こった。腺の蛇行性は少なく核下空胞は著明で腺細胞核は円~だ円形で濃染し随所に偽重層~重層像が目立つ。写真22, 23はB群に属し EtNT 5 mg×4日のもので採取日は推定排卵後9日目で次期月経は2日後に起こった。腺の蛇行性はよく腺細胞は低く核はやや小

さく濃染し、随所に核の重層像が認められる。日付診に一致し脱落膜様変化はみられない。

(3) EtNT 5 mg を排卵期に 5～7 日間投与し引き続き EED 0.2 mg を 3～4 日間投与した群。

写真 24 は A 群に属し EtNT 5 mg 4 日、引き続き EED 0.2 mg×3 日のもので採取日は推定排卵 8 日目であり次期月経は 7 日目におこり、後 2 周期目に妊娠した。腺の蛇行性は少なく核下空胞は著明で腺細胞核は重層～偽重層像を認め間質に脱落膜様細胞変化が著明で間質と腺に不一致が著明である。写真 25 は B 群に属し EtNT 5 mg×引き続き EED 0.2 mg×5 日のもので採取日は推定排卵 10 日目次期月経は 6 日におこつた。

腺の蛇行性は少なく不活性型で多くに萎縮像が認められる。腺細胞核は小さく濃染し間質には脱落膜様細胞が認められる。

(4) EtNT 5 mg と EED 0.2 mg および EtNT 5 mg と ET 600 γ を同時に排卵期より 7～10 日間投与した群前者は 5 例中 4 例までが萎縮内膜を示した。写真 26 は 10 日間投与したもので採取日は推定排卵後 10 日で次期月経は 5 日後に起こつたものである。

後者の症例 7 例のうち 5 例が萎縮内膜を示したが前者のものと比較してその程度は軽い。他の 2 例は腺はもう腫状大小不同が著明で腺細胞核は小さく濃染し、重層像が著明、間質細胞は小さく密である。写真 27 は採取日が推定排卵 9 日目のもので次期月経周期は 2 日後であつた。

(5) EtNT 5 mg を推定排卵日より 6～7 日投与して投与中止後 3 日ないし 4 日目に内膜を採取した群

症例 8 例中 6 例が (1) に述べた内膜像とは明らかに異なつていた。写真 28, 29 は EtNT 5 mg×6 日で採取日は推定排卵 10 日で次期月経は 3 日目に起こつた。写真 30, 31 は EtNT 5 mg×5 日で採取日は推定排卵日で引き続き妊娠に移行したものであり、写真 32, 33 は EtNT 5 mg×7 日で採取日は推定排卵 11 日で次期月経は 1 日目であつた。この症例は次期周期に妊娠した。3 例とも腺の蛇行性は良好で腺細胞核は写真 30 を除けばやや肥大し淡明で重層像の消失が目立ち日付診より見て正常像に近づいている。

む す び

progesterin は改めて述べるまでもなく estrogen で priming された去勢婦人に、また estrogen 作用のある無月経婦人に消退出血を起こし estrogen-priming された内膜を分泌期像に変化させ、頸管粘液の羊歯様変化を抑制し、estrogen による消退出血を防ぎ得る³⁾。また霊長類において内膜の細胞分裂は estrogen によつて促進さ

れると言われ、内膜の形態学的変化については Brody⁴⁾ はウサギを用い ED のみの投与子宮は hypertrophic type で progesterone 投与後の ED 投与子宮は hyperplasia と hypertrophia を示すと述べ、Huggins は室素含有量の変動より estrogen 投与子宮の室素含有量は testosterone 投与時に比較し著しく高値を示すと述べ、Gold は³²P により estrogen と androgen の子宮肥大作用の差異について述べている。徳田⁵⁾ はマウス子宮粘膜上皮の高さを基準として estrogen と各種 progestin の相異ならびに estrogen と progestin の相互作用について述べている。

さてヒト子宮内膜の変化を追求するに当り生体内ホルモンバランスの良否を考慮する必要は言うまでもないが、ホルモン微量定量の進歩したにもかかわらず未だ治療面に生体内ホルモン変動を日常利用するには至らず、したがって内膜の形態学的、生化学的変動、組織化学的方法などを中心に生体内ホルモンバランスの総和として起こる内膜像の変化の原因を推論しようとしている現状である。

Hertig⁶⁾ は月経周期と妊娠初期との関連における内膜変化を gestational hyperplasia として妊娠初期内膜を把握しようとしている。また現在における妊卵着床時期は排卵後 6～7 とされているが予定月経を過ぎるまではまではその判定は困難であるとされている。このような観点より黄体期内膜に及ぼす影響より黄体機能不全内膜の治療の手掛かりを得ようとして性ホルモンに対する内膜反応を再検討したものである。すなわち ED を排卵期より投与すれば内膜日付診より遅れた所見が明らかに得られ大半が分泌期初期像を示し、加えてところどころの腺細胞に肥大所見が認められた。また黄体期中期より投与したものでは 2 群に分かれその 1 つは腺腔の大小不同が目立ち 2 重像腺細胞核の濃染像が認められ他の 1 つは日付診に近いものである。ET 投与群では ED 投与群とは明らかに異なり、ET 投与群では日付診と一致し、しかも腺細胞核は大きく淡染し分泌の盛んなことを思わせる像が得られた。testosterone の投与により黄体初期においては日付診より遅れを示し核下空胞の出現には影響がなく腺の蛇行性は良好である。しかし腺細胞核には重層像～偽重層像が著明に現われ核の濃染も目立つ。黄体期が進むにつれ腺腔の 2 重像腺細胞の扁平化および細胞核の重層像が著明となり間質の浮腫を伴う症例が多い。

赤須⁷⁾等は異形性子宮内肩肥厚症において androgen 投与により異型性がなくなり間質の浮腫が認められることを報じ、過 estrogen 症により生ずる子宮内膜肥厚症の治療ないし内膜癌との border line の判定に andro-

genを使用することが有効であると述べている。また生物学的検索により testosterone には弱いながらも黄体ホルモン作用、卵胞ホルモン作用、抗卵胞ホルモン作用などがあるとの記載もあり、また大量の testosterone は下垂体ゴナドトロピンの分泌を抑制すると言われていた。著者の10例中1例に投与後無排卵周期が、1例に3カ月の無月経が見られたこと、および腺の2重像、腺細胞核の重層像ないし核の濃染が著明となることなどより testosterone 投与により内因性ホルモン環境が相当に乱れることがうかがわれるとともに著者⁸⁾が内膜の萎縮像について述べた腺の2重像の形成と腺細胞核の狭長、濃染化および核の多重層形成が萎縮の1つの形であることを証明したことより現在広く用いられている testosterone の意義の一部をうかがい知ることができる。

19-Nor系のgestagenとして初期に登場し今日に至るまで広く用いられているEtNTについて考察したところ、どのような投与形式においても2群に大別できる。すなわち核下空胞を、日付診より遅れを示すものとやや日付診より進んでと思われる群とがある。しかも多くの症例において腺細胞核は小さく重層像が著明である。

後者は前述のandrogen投与内膜によくいることが特徴でまた長期投与することにより、萎縮像が認められることなどよりEtNTは子宮内膜にも抑制的⁹⁾に作用するものと思われる。前述A群の内膜所見は抑制的に作用する場合の生体の初期反応と理解したい。EtNTにEDまたはETの組み合わせにより得られたものは大半が萎縮像を示したことは意外である。EtNTの作用が助長されたような結果が得られたことについてはさらに検索中である。このように子宮内膜に対し抑制的に作用するEtNTを投与し中止後3~4日目に内膜診を行なった症例5例中EtNTの特徴の1つである細胞核の濃染化、重層像が改善されそのうち2例に妊娠が得られた。EtNTについて木下等は無月経、無排卵患者に投与して良好な内膜所見を得ているがendogenous progesteroneの有無により明らかに¹⁰⁾その反応は異なるようである。また合成gestagenの登場した初期においては黄体機能不全患者に対するその有効性は高く評価されて妊娠例の報告も多く見られるが、近年その有効性は次第に疑問視されるようであるがgestagenの登場初期の報告は投与期間が多くの場合黄体期初期の短期間であることよりgestagenの投与形式およびendogenous progesteroneの存在する場合のgestagenの及ぼす影響について再検討する必要があるように思われる。

執筆するにあたり御指導、御校閲を賜った徳田教授

に深謝する。

文 献

- 1) 蜂屋祥一：日産婦誌，19：915，1967.
- 2) 卜部宏他：産と婦，34：195，1967.
- 3) Greenblatt, R. B. : Am. J. Obstet. & Gynec., 76 : 626, 1958.
- 4) Broody, S. : Acta Obst. et Gynec. Scand. nav., 39 : 557, 1960.
- 5) 徳田源市：第16回日産婦総会特別講演要旨，1964.
- 6) Hertig, A. T. : Lob. investigation, 13 : 1153, 1964.
- 7) 赤須文男他：産婦の治療，12 : 1, 1966.
- 8) 卜部宏他：産と婦，32 : 1098, 1965.
- 9) Roland, M. et al. : Fertil. & Steril., 15 : 143, 1964.
- 10) 木下佐他：最新医学，13 : 65, 1958.

The Response of Endometrium Treated by Some Sex Steroids in Luteal Phase.

Hiroshi Urabe

Dept. of Obst. and Gynec., Japan Baptist Hospital, Kyoto, Japan

For the purpose of further examination on the effectiveness which progestin would give upon the endometrium of the luteal insufficiency, a response to the endometrium which was influenced by synthetic progestins and other sex-steroids was examined, being compared with the one affected sufficiently by endogenous progesterone.

Through the administration of estradiol, we have found three groups to be described, they are those delayed to the endometrial dating, those delayed to the endometrial dating, they are those delayed to the endometrial dating, those coming near to the dating and being disordered in the endometrial pattern. When estradiol was administered, it was found apparently to be different from the endometrial pattern administered by estradiol, and there were many which were coincidental with the dating.

The administration of testosterone showed two groups of those delayed to the dating and those with the view of atrophy being departed from the standardized pattern. In the administration of ethinyl-19-nortestosterone (EtNT), it was divided into two groups of those delayed and of those advanced to the dating. The latter had resembled to a group of the testosterone administered endometrium, and through the long-term administered endometrium, and through the long-term administration the atrophic endometrium had been

卜 部 論 文 付 図 (1)

写真 1 EED 0.2 mg×6 日推定排卵後 8 日 ×100

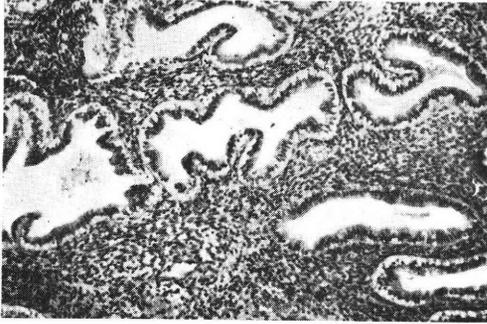


写真 2 EED 0.2 mg×6 日推定排卵後 8 日 ×400

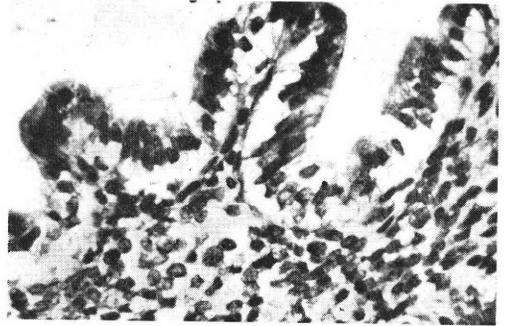


写真 3 E T400γ×7 日推定排卵後 5 日 ×400

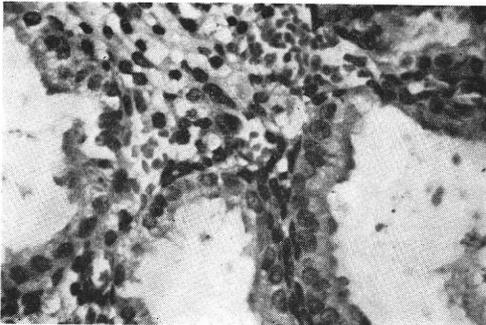


写真 4 E T600γ×5 日推定排卵後 7 日 ×400

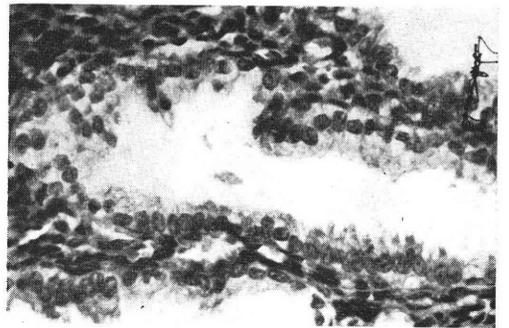


写真 5 EED 0.2 mg×4 日推定排卵後 12 日 ×100

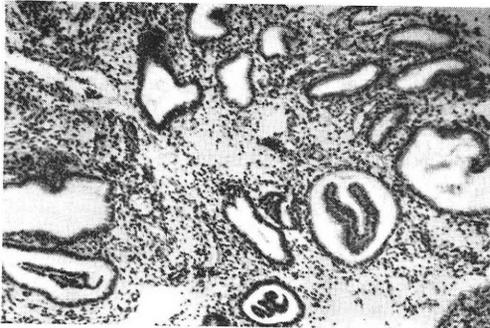
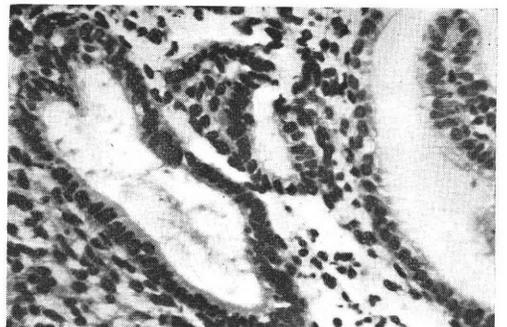


写真 6 EED 0.2 mg×4 日推定排卵後 12 日 ×400



ト 部 論 文 付 図 (2)

写真 7 EED 0.2mg×3日推定排卵後11日 ×100

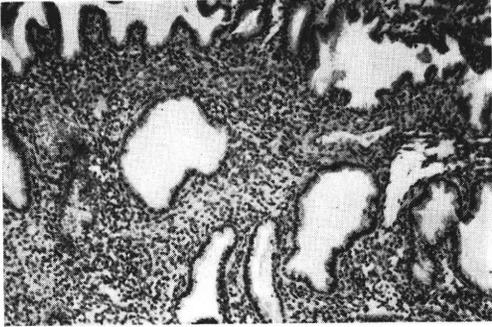


写真 8 EED 0.2mg×3日推定排卵後11日 ×400

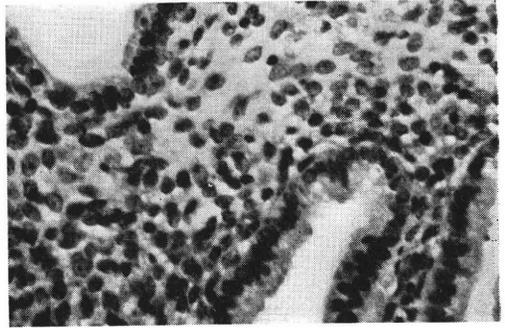


写真 9 enarmon depot 100mg 投与, 推定排卵後5日 ×100

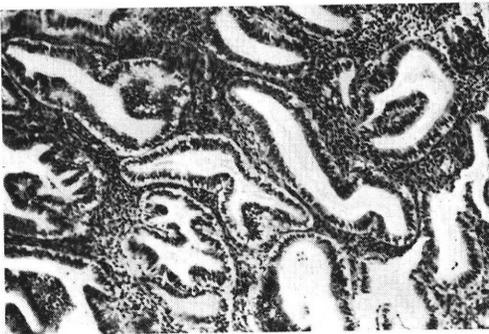


写真 10 enarmon depot 100mg 投与, 推定排卵後5日 ×400

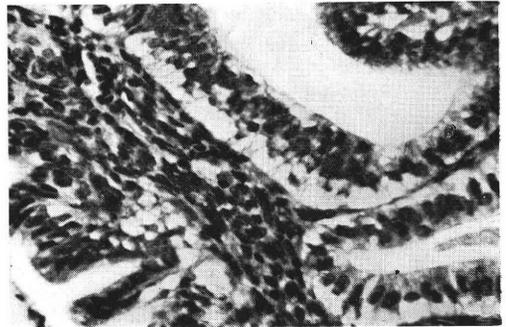
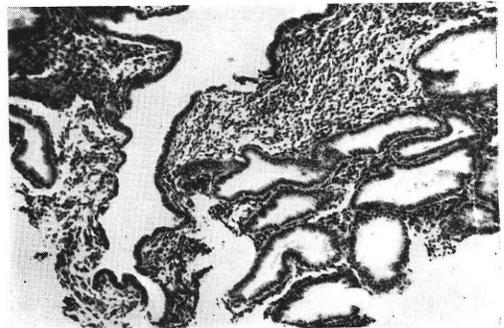


写真 11 enarmon depot 100mg 投与, 推定排卵後7日 ×100



写真 12 enarmon depot 100mg 投与, 推定排卵後7日 ×100



卜 部 論 文 付 図 (3)

写真 13 enarmon depot 100 mg 投与, 推定
排卵後 7 日 ×400

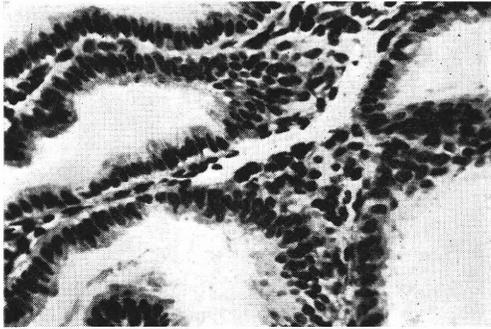


写真 14 enarmon depot 100 mg 投与, 推定
排卵後 9 日 ×100

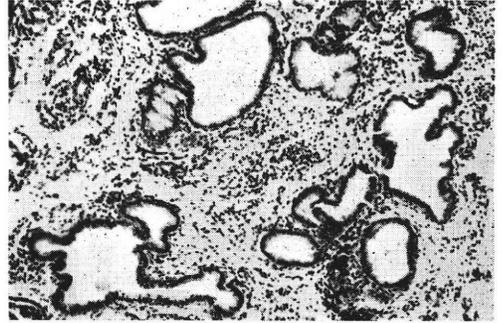


写真 15 enarmon depot 100 mg 投与, 推定
排卵後 9 日 ×400

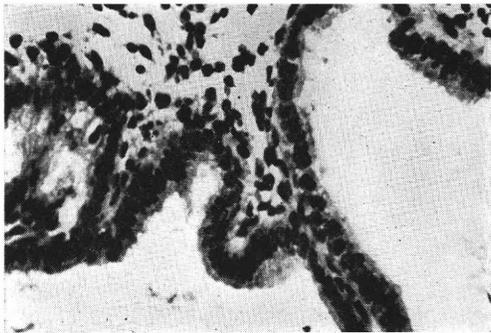


写真 16 enarmon depot 100 mg 投与, 推定
排卵後 9 日 ×100



写真 17 EtNT 5 mg×5 日推定排卵後 6 日 (A) ×100

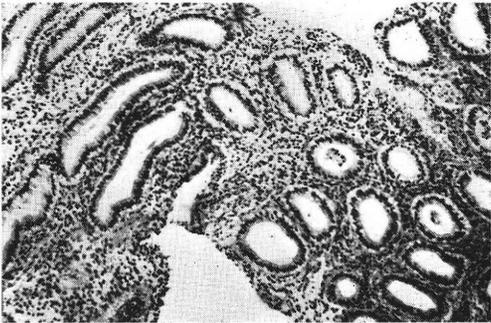
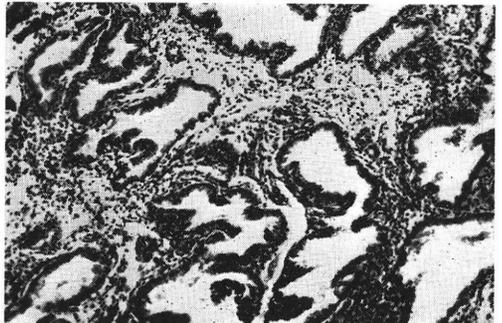


写真 18 EtNT 5 mg×5 日推定排卵後 6 日 (B) ×100



ト 部 論 文 付 図 (4)

写真 19 NtNT 5 mg×5 日推定排卵後 6 日 ×400

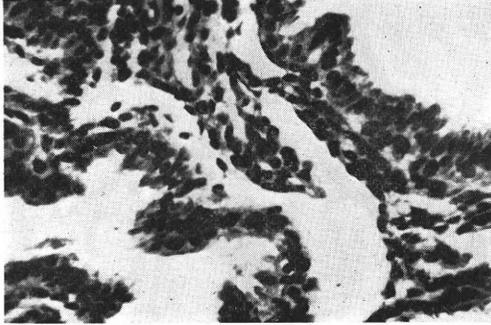


写真 20 EtNT 10 mg×2 日黄体中期投与, 推定排卵後 7 日 (A) ×100



写真 21 EtNT 10 mg×2 日黄体中期投与, 推定排卵後 7 日 (A) ×400

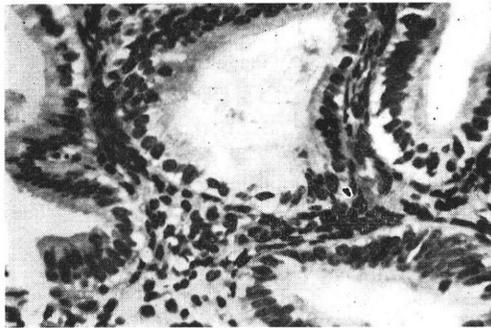


写真 22 EtNT 5 mg×4 日推定排卵後 9 日 (B) ×100

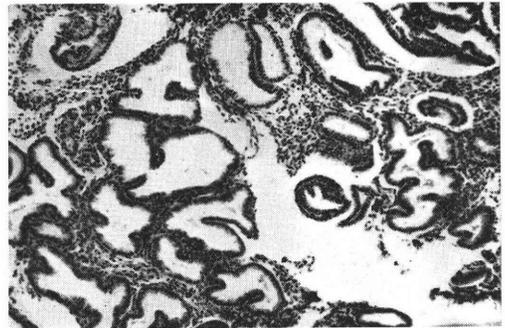


写真 23 EtNT 5 mg×4 日推定排卵後 9 日 (B) ×400

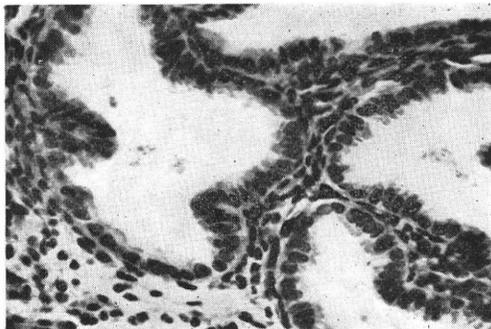
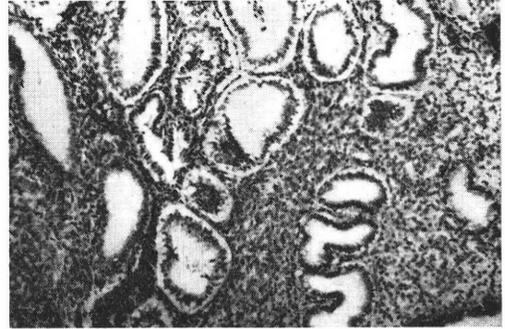


写真 24 EtNT 5 mg×4 日→EED 0.1 mg×3 日推定排卵後 8 日 (A) ×100



卜 部 論 文 付 図 (5)

写真 25 EtNT 5 mg×5 日→EED 0.2 mg×5 日
推定排卵後 10 日 (B) ×100

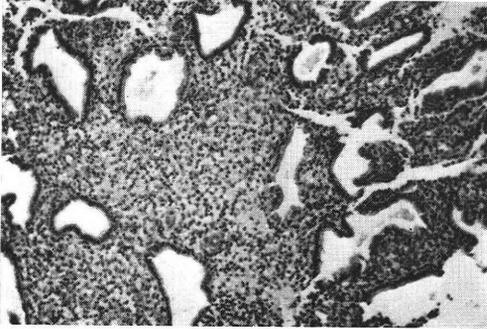


写真 26 EtNT 0.2 mg×10 日推定排卵後 10 日 ×100

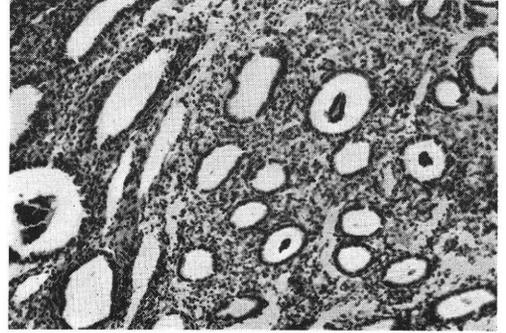


写真 27 EtNT 5 mg + E T600 γ×7 日推定排
卵後 9 日 ×100

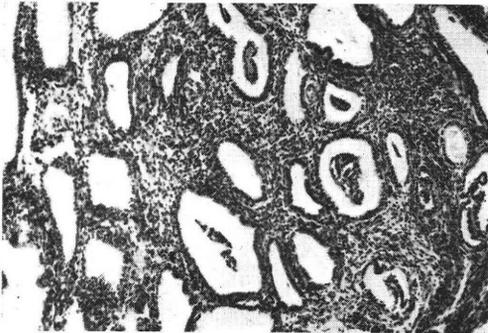


写真 28 EtNT 5 mg×6 日, 中止後 3 日目推定
排卵後 10 日 ×100

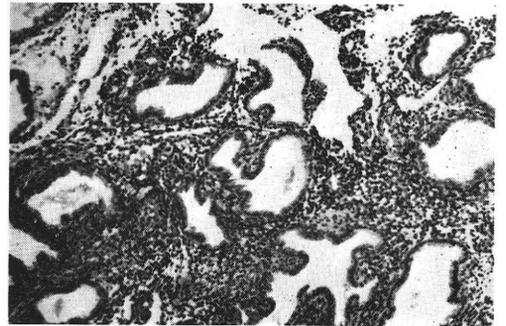


写真 29 EtNT 5 mg×6 日, 中止後 3 日目推定
排卵後 10 日 ×400

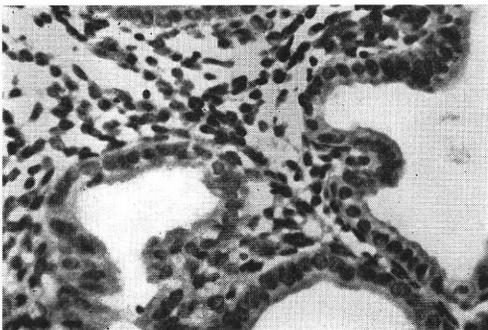
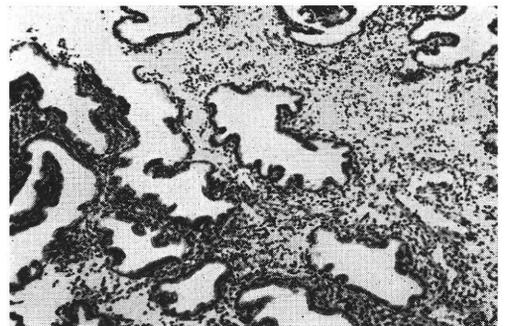


写真 30 EtNT 5 mg×5 日, 中止後 4 日目推定
排卵後 10 日 ×100



ト 部 論 文 付 図 (6)

写真 31 EtNT 5 mg×5 日, 中止後 4 日目推定
排卵後 10 日(後妊娠に移行) ×400

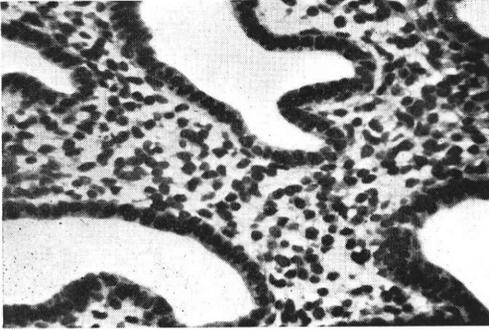


写真 32 EtNT 5 mg×7 日, 中止後 3 日目推定
排卵後 11 日 ×100

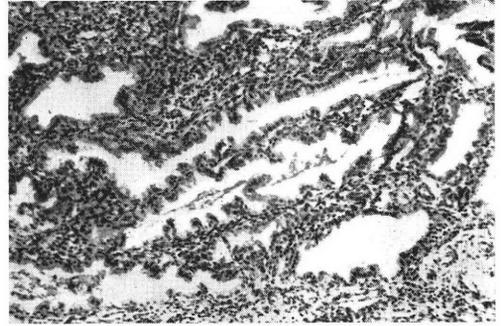
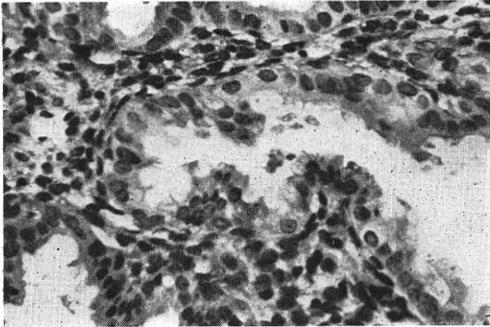


写真 33 EtNT 5 mg×7 日, 中止後 3 日目推定
排卵後 11 日(次期周期に妊娠) ×400



noticed.

However, after 7 days administration of EtNT and by the endometrial biopsy on the third or fourth day of its discontinuance, we have obtained

the improvement on the pyknosis of nucleus which was one of the characteristics of EtNT and their stratification, and thus was we have obtained a certain example of pregnancy.

耐性菌による 難治性感染症に

■ 合成セファロスポリン C 製剤

セポロン 注

(一般名 セファロリジン)



<特 長>

- グラム陽性ならびに陰性菌に対し広範囲に作用する
- 病原微生物に対し強力な殺菌作用を有する
- 他剤耐性菌にもすぐれた感受性を示す
- 筋注によって高い血中濃度 尿中排泄がみられる
- 無刺激 無痛で連続投与が可能である

<適 応 症>

ブドウ球菌 レンサ球菌 肺炎球菌 リン菌 肺炎桿菌 髄膜炎菌 大腸菌等の セポロン感受性菌による感染症

<包 装>

- 250mg(力価)・500mg(力価)・1g(力価)バイアル

<薬価基準>

- 250mg1,112円 / 500mg1,957円 / 1g3,811円

各1バイアル



鳥居薬品

東京・日本橋本町

支店 大 阪・札 幌
福 岡・名 古 屋

《健保適用》

norethindrone-mestranol (S-3800 C) 剤の下垂体 gonadotropin 抑制に関する研究

On the studies of inhibition of hypophyseal gonadotropin
by Norethindrone-Mestranol.

京都府立医科大学産婦人科学教室

徳田 源市 東山 秀声 小林 仁也
Genichi TOKUDA Shusei HIGASHIYAMA Hitoya KOBAYASHI

木津 収二 浜田 善弘 武 哲夫
Shuji KIZU Yoshihiro HAMADA Tetuo TAKE

Department of Obstetrics and Gynecology, Kyoto prefectural
University of Medicine, Kyoto, Japan

norethindrone と mestranol との配合比が 20 : 1 である合剤, S-3800 C を Sprague-Dawley 系の正常性周期を示すネズミに毎日 0.5 mg, または 1.0 mg ずつ 30 日間連続皮下注射し, 下垂体一性腺系および副腎系に及ぼす影響を検討した. 腔細胞像は本剤投与により典型的な正常性周期の出現が消失し, 投与初期には角化細胞の出現率が高く, その後は角化細胞の出現は強く抑制された. 本剤は下垂体一副腎系には影響を与えないが, 薬剤投与により卵巣重量は著しく減少し, 性腺系には強い抑制効果を示した. 次に norethindrone, mestranol, および前記の norethindronemestranol の合剤の anti-gonadotrophic activity をネズミ parabiosis を用いて検討したところ, norethindrone は mestranol の $1/100$ 以下の anti-gonadotrophic effect を示すにすぎない. 合剤では去勢ネズミ parabiosis の下垂体 gonadotropin の過剰分泌は比較的少量投与で抑制されたが, これは添加された mestranol によるものと考えられる. しかし大量では norethindrone の metabolite による抑制も推測される.

I. はじめに

従来から性 steroid が性上位中枢に対して feed back 効果を示し, これらの steroid を投与すると実験動物においても, ヒトにおいても下垂体前葉の gonadotropin を抑制し, 排卵を抑制する効果のあることが知られている.

1955年 Pincus らが progesterone の持つ排卵抑制作用をヒトに応用して, 新しい避妊法を確立した. しかし天然の progesterone は経口投与するにはあまりにも大量を要し, 長期の使用には適当でない. 近年登場した合成 progestin は経口投与で強い下垂体 gonadotropin を抑制し, 排卵抑制効果があることが示されてから経口避妊の目的に適切なものとして, progesterone にかわって用いられるようになった.

さらにこれらの progestin は estrogen の強い中枢抑制作用を利用して, estrogen と同時に使用されており, また最近では康価をかねて1回の使用量を少なくして副作用の軽減をはかり, しかも十分な効果をあげようと試みられている.

これらの progestin-estrogen 剤の避妊への作用機序としていくつかの因子があげられているが, 最も重要なものとして前葉 gonadotropin の抑制が考えられている. しかしその詳細についてはなお不明な点が少なくない.

そこで 19-norsteroid 系の 17α -ethinyl-19-nortestosterone (norethindrone) と 17α -ethinyl-estradiol-3-methyl-ether (mestranol). およびこれらの steroid の配合比が 20 : 1 である compound, S-3800 C の中枢に及ぼす作用について基礎的な実験を行なった.

II. 下垂体一性腺系および副腎系への影響

1) 実験材料ならびに実験方法

体重 120 g 前後の正常性周期を示す Sprague-Dawley 系の雌ネズミを一定飼育したものに, ゴマ油に溶解した norethindrone と mestranol との配合比が 20 : 1 である合剤, S-3800 C を 1 日 0.5 mg あるいは 1.0 mg ずつ毎日背部皮下に連続 30 日間注射し, 注射終了の翌日に殺し実験に供した. 実験動物はエーテル麻醉下に両側大腿動脈を切断し, 下垂体, 副腎, 卵巣および子宮を摘出後ただちに torsion balance でこれらの湿重量を計測した. なお薬剤投与中は毎日一定の時刻に膣細胞を採取し観察した.

2) 実験成績

i) 膣細胞像

1.0 mg の本剤を投与すると投与開始 4 ~ 7 日目より影響が現われ, 典型的な正常性周期は消失する. 膣細胞像には有核細胞と角化細胞, あるいはこれらの細胞に白血球が混じり, また白血球のみが現われ, 正常性周期にはみられないような判定困難な所見を示すことが多

い. Fig. 1 は標本の細胞 200 個中の角化細胞の百分率を算定したものである. 投与開始後の 7 ~ 10 日目までは角化細胞の出現率が高く, 持続発情が認められることが多いが, これは本剤の強い estrogenic effect によるものと考えられる. その後は角化細胞の出現は強く抑制されるが, この本体はおそらく本剤による gonadotropin の抑制と, 投与期間が長くなると estrogen の角化細胞出現に対する norethindrone の antagonizing effect が現われることによると考えている.

ii) 体重に及ぼす効果

本剤投与によるネズミの体重増加率は Table 1 に示すように対照ネズミのそれと比較して高いようである. しかし投与量による差は認められない. 体重の増加率が高いのは norethindrone の anabolic effect²⁾³⁾ と本剤の持つ estrogen 作用による水の貯溜作用によるものと考えられる.

iii) 下垂体一性腺系に及ぼす影響

Table 1, Fig. 2 に示すように下垂体の重量は合剤投与により対照のそれと比較して増加する. このことは norethindrone 単味剤投与時には下垂体重量が減少した

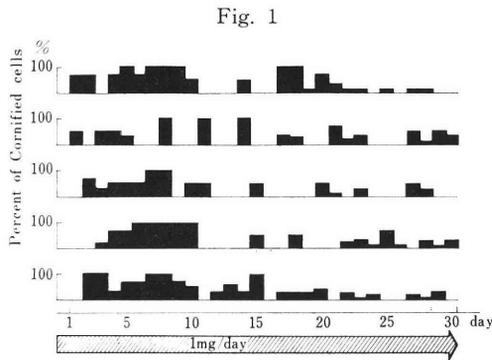


Fig. 1

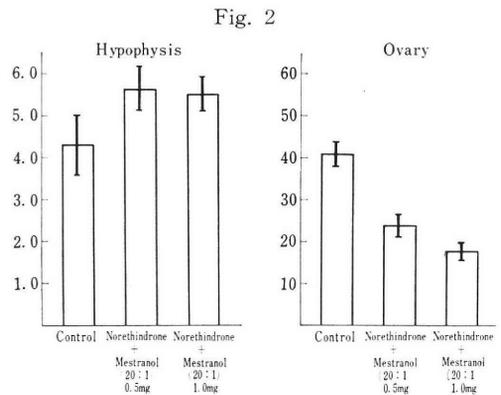


Fig. 2

Table 1 Effect of Norethindrone-Mestranol on the Average Weight of Various Organs of Intact Female Rats

Compound	Dose per Day	Duration of Treatment	No. of Rats	Initial Body Weight (g)	Final Body Weight (g)	Weight Gain (%)	Hypophysis	Adrenal	Ovary	Uterus
Control	—	—	12	112.0 ± 8.0	125.0 ± 6.1	11.5	4.3 ± 0.7	31.1 ± 2.9	41.7 ± 2.8	181.3 ± 20.2
Norethindrone + Mestranol (20 : 1)	0.5 mg	30 days	5	107.0 ± 2.9	126.0 ± 2.1	17.7	5.6 ± 0.5	31.2 ± 1.8	23.7 ± 2.7	378.2 ± 29.4
Norethindrone + Mestranol (20 : 1)	1.0 gm	30 days	21	123.0 ± 6.2	147.0 ± 4.0	19.5	5.5 ± 0.4	32.0 ± 3.1	17.6 ± 1.9	332.9 ± 35.4

* mg per 100 g Body Weight ** Standard Error

のとは異なり¹⁾, むしろ estrogen 投与時のそれに似ている^{4)・6)}. 合剤の投与量による下垂体重量の差は認められない.

卵巣は合剤を投与するとその重量が著しく減少し, 投与量が大きいほど重量の減少が著明となる. 卵巣の組織学的所見では卵胞の発育停止像, 間質の萎縮像が認められ, 前葉機能の抑制が推測された.

子宮重量は合剤によって著明に増加した. この子宮重量の増加は本剤の持つ estrogenic activity と anabolic activity の効果によると考えられる.

iv) 下垂体-副腎系に及ぼす影響

副腎は本剤の 0.5 mg, または 1.0 mg ずつの投与によっても重量は対照のそれと比較して変化が認められない. すなわち, この程度の投与量では ACTH の抑制効果を示さないし, また直接的に副腎に働いて萎縮作用を現わさないと推定される.

以上の実験成績から norethindrone 対 mestranol が 20:1 の比率からなる compound は下垂体-副腎系に対しては抑制効果を示さないが, 下垂体前葉の gonadotropin の分泌を抑制すると考えられる.

そこで下垂体の gonadotropin に対する効果をネズミの parabiosis を用いて norethindrone, および mestranol 単味剤と比較検討する目的で次のような実験を行なった.

III. gonadotropin 分泌抑制作用

ラット parabiosis を用い, 去勢雄ネズミの下垂体 gonadotropin 過剰分泌に対する steroid の抑制効果を接合された雌ネズミの卵巣重量減少度を指標として検討した. 体重 80 g 前後の Sprague-Dawley 系のネズミを用い, 正常雌, と去勢雄を配して parabiosis を行ない, 手術当日からゴマ油に溶解した検体を去勢雄ネズミの背部皮下に 1 日 1 回連続 10 日間注射した. 注射終了の翌日断頭と殺し, 内分泌諸臓器を採取後ただちに各臓器の湿重量を torsion balance で計測した. 卵巣重量増加抑制率を次の式から算出し, これを gonadotropin 分泌抑制効果の指標とした.

$$\text{卵巣重量増加抑制率} = \frac{V_c - V_o}{V_c - V_i} \times 100$$

- V_i: 正常対照群
- V_c: 去勢対照群
- V_o: 検体投与群

また, 同時に卵巣の組織学的検索を行ない Hematoxylin Eosin 染色標本について観察した.

2) 実験成績

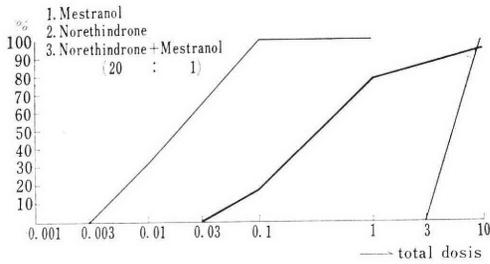
成績は Table 2 と Fig. 3 に示した. 皮下投与では norethindrone と mestranol との間には明らかな抑制作用の差が認められる. norethindrone では total dose

Table 2 Inhibitory Effect of Steroid Hormones on the Pituitary Gonadotropin in Parabiotic Rats

Compound	Total dose mg	No. of Pairs	female			Inhibition Rate of Ovarian Growth
			Adrenal Weight	Ovarian Weight	Uterine Weight	
Cotrol	Intact male-female	5	*29.2±2.2	23.8±7.0	81.1± 7.8	
	Castrated male-female	4	29.3±2.6**	77.6±6.7	286.8±32.4	
Norethindrone	10	10	34.8±1.2	22.3±2.5	140.2± 7.0	100
	3	2	31.8	88.5	293.8	0
	1	11	29.6±1.7	114.5±9.1	207.4±17.0	0
Mestranol	1	10	36.2±1.3	24.7± 2.2	297.0±15.5	98
	0.1	11	30.2±1.8	23.4± 2.6	196.8±11.7	100
	0.01	6	28.9±2.7	60.1±10.4	197.3±13.5	32
	0.003	4	30.6±2.1	88.1± 7.5	217.0±20.3	0
	0.001	6	29.3±1.6	108.5±14.9	229.9±14.5	0
Norethindrone + Mestranol	10	10	33.9±1.9	26.8± 0.7	239.1±16.2	94
	1	11	29.9±2.0	35.1± 3.7	205.7±15.3	78
	0.1	9	31.4±2.0	66.9± 5.8	174.9±13.4	19
	0.03	9	32.3±1.2	99.0±10.1	207.9±22.7	0
	0.01	10	41.5±3.5	84.0±10.7	208.6±20.5	0
	0.001	6	32.5±3.1	110.5±13.6	256.0±13.4	0

* mg/100 g Body Weight ** Standard Error

Fig. 3



3 mg までは全く下垂体前葉の gonadotropin 抑制効果が認められず, 10 mg で強い抑制がえられた. mesrtanol では 0.01 mg ですでに軽度の gonadotropin 抑制効果がみられ, 0.1 mg で gonadotropin の完全な抑制がえられた. すなわち, mestranol は norethindrone と比較してはるかに強い gonadotropin の抑制を示すことがわかる. norethindrone と mestranol との配合の比率が 20 : 1 である合剤, S-3800 C では total dose 0.1 mg で約 20 % の gonadotropin の抑制が認められ, 1 mg では約 80 % の強い抑制効果がえられた. したがって合

Fig. 4 Ovary of intact male-female parabiotic rat on day 11, showing normal development of follicles.



Fig. 5 Ovary of castrated male-female parabiotic rat on day 11, Ovary contains excessively large follicles.



剤の下垂体前葉の gonadotropin 抑制は norethindrone よりも mestranol によるものと考えられる.

雌雄とも健全なネズミの接合後 11 日の卵巣は Fig. 4 のように卵胞の発育は正常であるが, 去勢雄ネズミと健全雌ネズミの parabiosis 11 日目の卵巣では卵胞は非常に大きくなってくる. (Fig. 5)

Fig. 6 Ovary of parabiotic rat treated with total dose of 1 mg norethindrone. Note presence of mature follicles.

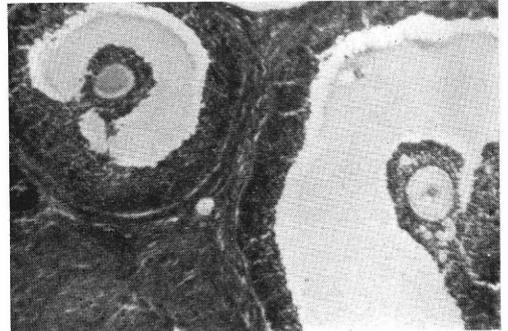


Fig. 7 Ovary of parabiotic rat treated with total dose of 0.01 mg mestranol. Mature follicles are present.

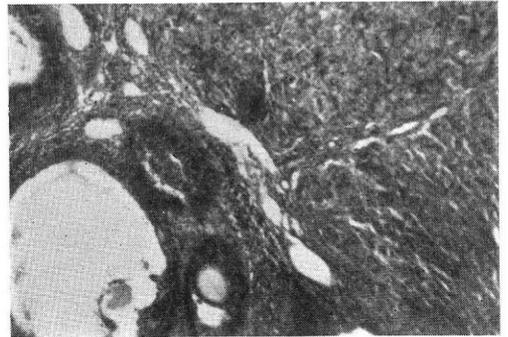


Fig. 8 Ovary of parabiotic rat treated with dose of 0.1 mg mestranol, showing excessively inhibited development of follicles.

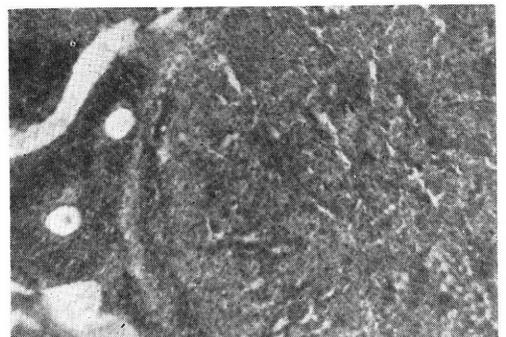
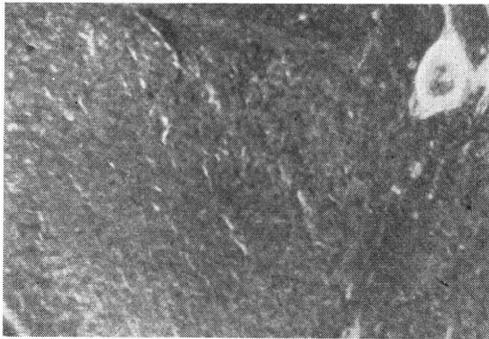


Fig. 9 Ovary of parabiotic rat treated with total dose of 1 mg norethindrone-estradiol compound. Note excessively inhibited development of follicles.



この parabiosis に norethindrone を total dose 1 mg 投与しても卵胞の発育は停止せず、成熟卵胞が認められる (Fig. 6).

mestranol total dose 0.01 mg 投与でも卵胞の発育の停止像はみられず、成熟卵胞が認められ (Fig. 7)。しかし mestranol 0.1 mg では卵胞の発育は強力に抑制される (Fig. 8)。

Fig. 9 は norethindrone と mestranol との合剤 S-3800 C 1 mg 投与時の卵巣の組織所見であり、卵胞の発育は強く抑制される。

IV. 考 按

性 steroid を実験動物に長期間投与すると性腺が萎縮し、下垂体一性腺系に対して抑制効果を示すという報告は多く、われわれも各種の progestin 投与時の成績についてすでに詳細に報告した¹⁾。またある種の progestin, すなわち 17-acetoxypregesterone 系の多くのものや, dimethisterone は下垂体一性腺系にも抑制効果を示すことが認められた¹⁾⁷⁾⁹⁾。この実験においては 19-norsteroid 系の norethindrone と mestranol の配合の比率が 20:1 である合剤 (S-3800 C) を健康雌ネズミに長期間投与して、内分泌諸臓器に及ぼす影響を検討したが、norethindrone の単剤投与時と同様に下垂体一性腺系に対して強い抑制作用を示すことが認められた。下垂体一性腺系に対しては全く抑制作用は認められなかった。

実験動物における性 steroid の下垂体 gonadotropin 分泌に及ぼす効果は、その投与量、期間、日令、性はもとよりさらに投与した性周期の時期によっても変化することが知られている。

性 steroid のうち estrogen は健康ネズミの下垂体 gonadotropin を抑制し⁵⁾⁶⁾¹⁰⁾、去勢によつて増量した gonadotropin がその少量投与により抑制され⁵⁾¹¹⁾¹²⁾、ま

たネズミやマウスの parabiosis においても去勢による gonadotropin の hypersecretion が estrogen により抑制されるなど¹³⁻¹⁶⁾、estrogen が強い anti-gonadotrophic effect を持つことが示されている。Greep & Jones¹¹⁾ は去勢ネズミの下垂体 FSH, LH が estrogen で共に減少したとのべ、Mares¹²⁾ は正常雌ネズミの下垂体 LH 含有量は 10~20 μg であり、去勢 30 日目の下垂体 LH 含有量は 60~80 μg になるが、estrogen を投与すると LH は 2~5 μg となり、LH は著しく減少すると報告している。

FSH は下垂体前葉の塩基好性細胞により、LH は酸好性細胞によつて産生されるといわれる¹⁷⁾。血中 estrogen level が増加すると色素嫌性細胞の塩基好性細胞への分化の割合が減少し、FSH の産生が抑制されるが、色素嫌性細胞の酸好性細胞への転換は促進され、LH の産生は増加する。しかし血中 estrogen の高い level が長く持続すると色素嫌性細胞の色素好性細胞への分化は抑制され、FSH, LH の産生は抑制されると報告されている¹⁸⁾¹⁹⁾。

合成 estrogen である mestranol や 17- α -ethinyl-estradiol でも天然の estrogen と同じように強い anti-gonadotrophic effect を持っている。すなわち本実験における parabiosis で mestranol は少量で強い anti-gonadotropin 作用を示したが、Desauilles & Krähenbühl¹⁴⁾も同様の成績を報告している。Saunders は⁵⁾去勢ネズミの下垂体 LH 含有量が合成 estrogen によつても天然の estrogen と同じように減少したとのべている。

progestin が種々の作用の解離を示すことはすでに報告したが²⁾²²⁾、progestin の重要な性質としては子宮に対して progestational effect を示すことと、その多くのものが下垂体 gonadotropin の分泌抑制等を持つことである。

健康ネズミ、あるいは去勢ネズミに progestin を投与すると下垂体 gonadotropin 含有量は減少する³⁾⁵⁾⁶⁾²⁰⁻²⁴⁾。われわれの parabiosis 実験でも norethindrone で gonadotropin の hypersecretion が抑制されることを認めたが、norethindrone をはじめ他の 19-norsteroid 系、17-acetoxypregesterone 系、estrenol 系の progestin によつても parabiotic rat の gonadotropin を抑制することが認められている¹⁵⁾²⁵⁾⁻²⁸⁾。Saunders⁵⁾はネズミに norethynodrel を投与すると FSH の蓄積が抑制される前に LH の蓄積が選択的に block されたと報告している。

Holmes & Mandle²¹⁾は norethynodrel を投与したネズミの下垂体重量は対照のそれと比較して増加するのを

観察している。また前葉の組織学的検索を同時に行ない、塩基好性細胞は減少し、一方酸好性細胞は減少傾向にあるが、塩基好性細胞ほど減少は著しくないことを認めている。そして下垂体重量の増加は色素嫌性細胞の増加によるのであろうと推定している。

このように estrogen や progestin は長期間使用すると下垂体機能に対して抑制的に作用し、antigonadotrophic な効果を示すようになる。progestin ではその種類によつて anti-gonadotrophic potency が異なることも認められている¹³⁾¹⁴⁾。また estrogen と progestin とが同じ程度の anti-gonadotrophic effect を現わすだけでなく、estrogen の方がはるかにその potency が高い。

この実験では metstranol は total dose 0.1 mg で gonadotropin の完全な抑制が認められたが、norethindrone 単独投与では total dose 3 mg までは全く抑制効果がなく、ほぼ完全な抑制は total dose 10 mg 投与時である。したがつて norethindrone は mestranol の $1/100$ 以下の gonadotropin 抑制率を示すにすぎない。

progestin 対 estrogen の比が 20 : 1 の compound (S-3800 C) の gonadotropin 抑制率は total dose 0.1 mg で約 20 % であり、total dose 1 mg で強い抑制効果がえられたから、progestin 対 estrogen の比率が小さい本剤の anti-gonadotrophic effect は添加 estrogen によるものと推測される。しかし大量使用時では norethindrone から転化生成した estrogen²⁹⁾、あるいは norethindrone の metabolite による抑制の可能性も全く除外し去ることはできないと考えられる。

ネズミやマウスの parabiosis で認められる下垂体 gonadotropin の抑制は主として FSH 活性の抑制と考えられるから、mestranol は下垂体 FSH の合成分泌の抑制効果が強く、norethindrone は FSH の合成分泌の blocking が mestranol と比較して非常に弱いと推測される。さらに、この実験で使用した両 steroid の合剤である S-3800 C は下垂体の FSH の合成、分泌に対して抑制作用を示し、しかもそれは estrogen によるものと考えられる。このことは同時に行なつたネズミ卵巣の組織検索で卵胞の発育が強く抑制される所見がえられたことによつても確認された。なお、本剤の下垂体 LH におよぼす影響については現在検討中である。

Enavid (98.5% norethynodrel+1.5% mestranol) に関して Minaguchi & Meites³⁰⁾ はネズミに Enavid を 1 日 50~200 $\mu\text{g}/100\text{g}$ body weight あて 10~20 投与すると下垂体 FSH, LH の濃度は減少し、とくに LH の減少が著明となるが prolactin の下垂体中の濃度は著しく増加すると報告している。また同時に視床下部抽出

物質と下垂体との incubation 実験を行ない、視床下部の FSH-Releasing Factor, LH-Releasing Factor, Prolactin-Inhibiting Factor の含有量は対照ネズミ視床下部のそれらと比較して Enavid で著明に減少するのを認めている。すなわち Enavid の作用部位は視床下部であり、これを介して下垂体前葉の FSH, LH の分泌を制御している。しかし彼らは Enavid の下垂体への直接作用、あるいは in vitro の実験では視床下部抽出物中に Enavid が存在することも否定できないとし、さらに使用した量の Enavid の下垂体 gonadotropin, prolactin, 内分泌諸臓器、あるいは体重への影響はその estrogenic effect が主であると結論している。norethindrone やその他の progestin と estrogen との合剤についても Enavid と同じ作用があるかどうかに関しては今後検討しなければならない問題である。

各種の progestin 投与時のネズミ卵巣の組織像でどの steroid によつても多数の黄体が認められることは報告したが²¹⁾、これは Enavid 投与時と同様²⁷⁾に各種の progestin によつて prolactin の放出が刺激されることにより luteotrophic な効果が現われ、薬剤の投与前にすでに存在した黄体の機能が維持されることによることも考えられる。

動物実験で anti-gonadotrophic effect の強い steroid が同じように強い anti-ovulatory effect や blastocyst に対する anti-implantation effect を示すとは限らない。Desaulles & Krähenbühl¹⁴⁾によると estrogen の排卵抑制効果は着床阻害効果の $1/3 \sim 1/10$ に相当するにすぎない。実験条件や投薬期間が異なるため直接の比較はできないが、ネズミの parabiosis の実験では排卵の抑制には下垂体 gonadotropin 分泌の抑制よりも大量の estrogen が必要である。また合成 estrogen のうち C-3 位に methyl 基を持つ estrogen は estradiol, ethinylestradiol ほど anti-gonadotrophic effect を示さないがこれより anti-ovulatory effect は強く、blastocyst に対する anti-implantation effect は estrogenicity が弱いため estradiol, ethinylestradiol ほど強力ではない。合成 progestin は estrogen よりも上記の各 potency が低い。norethindrone のような 17α -alkylated steroid でも anti-gonadotrophic, anti-ovulatory, anti-implantation の各 potency の間には平衡関係は認められないと報告されている。このことは estrogenic progestin を含めて estrogen 作用を持つ steroid に作用の解離が存在することを示すものである。

ここで留意しなければならないことは、以上の実験成績が必ずしもヒトの場合にもあてはまるというわけではないことである。Clomiphene citrate はネズミでは排卵を

抑制するが、ヒトでは反対に排卵を誘発することが知られており、臨床的に排卵を誘発する目的で使用されている。マウスの parabiosis の実験では estrogen のうち estrone が最も強い下垂体の gonadotropin 抑制効果の示すが¹⁰⁾、ヒトでは estradiol やその methyl ether の方が抑制効果大きい。ネズミやマウスの性中枢に対する薬剤の反応性はヒトとは異なり、間脳下垂体—性腺系への作用は本質的に相違し、種の特異性が存在すると考えられる。したがって、実験動物からえられた成績を臨床的な観点で考える場合には種々の面から検討して、分析しなければならない。

V. む す び

以上、われわれは Sprague-Dawley 系のネズミを使用して norethindrone, mestranol, ならびにこれら2つの steroid の配合比が 20 : 1 である S-3800 C の中枢抑制作用について実験を行ない、次のような結論をえた。

1) norethindrone と mestranol が 20 : 1 の比率である compound を正常性周期を示す雌ネズミに 1日 0.5 mg, あるいは 1.0 mg ずつ 30 日間連続皮下投与した。1 mg 投与群では投与開始 4 ~ 7 日目より臆細胞像は典型的な正常周期が消失し、正常性周期にはみられない像を示すようになる。投与開始後 7 ~ 10 日目までは角化細胞の出現率が高く、持続発情が認められることが多いが、これは本剤の強い estrogenic effect によるものと考えられる。その後の角化細胞の出現は強く抑制されるが、これは本剤の gonadotropin 抑制作用と、投与期間が長くなると esteroid の角化細胞出現が対する norethindrone の antagonizing effect が働くことによるものと考えられる。

2) 投与群の体重の増加率は対照群のそれと比較して高い。これは本剤の持つ estrogen 作用による水の貯溜作用と norethindrone の anabolic effect によるものと思われる。

3) 下垂体重量は対照群のそれと比べて増加した。しかし投与量による差は認められない。

4) 本剤によつて卵巣の重量は著しく減少し、投与量が大きいほどその重量の減少は著明である。

5) 卵巣の重量減と比例して、その組織学的所見では卵胞の発育停止像、間質の萎縮像が認められ、前葉機能の抑制が推測された。

6) 子宮重量は合剤によつて著明に増加した。これは本剤の持つ estrogenic activity と anabolic activity の効果によると考えられる。

7) 以上本剤は下垂体—性腺系に対して強い抑制作用を示し、下垂体前葉の gonadotropin 分泌を抑制すると

考えられる。

8) 本剤の 0.5 mg, 1.0 mg 投与によつても副腎重量の減少は認められず、下垂体—副腎系への抑制作用はみられない。このことは本剤が ACTH の抑制効果、または直接的な副腎萎縮効果を示さないと推定される。

9) 去勢ネズミ Parabiosis の下垂体 gonadotropin 過剰分泌は mestranol の皮下投与で強力に抑制されるが、norethindrone の皮下投与ではその抑制は非常に弱く、mestranol の $1/100$ 以下の anti-gonadotrophic effect を示すにすぎない。

10) norethindrone 対 mestranol の比率が 20 : 1 の合剤は total dose 1 mg で去勢ネズミ Parabiosis の下垂体 gonadotropin 過剰分泌は強く抑制されたが、これはこの合剤に添加された mestranol によるものである。

しかし大量使用時には norethindrone から転化生成した estrogen, あるいは norethindrone の metabolite による抑制の可能性も推定される。

11) これらの anti-gonadotrophic effect は同時に行なつた卵巣の組織学的検索からも確かめた。

本論文の要旨は第 15 回日本内分泌学会西部部会総会 (S. 42, 9, 28) で発表した。

薬剤の提供を受けた塩野義製薬株式会社に謝意を表する。

参 考 文 献

- 1) 東山秀声：産婦の進歩，17：279 (1965)。
- 2) 徳田源市：第 16 回日産婦総会特別講演要旨 (1964)。
- 3) Epstein, J. A. et al. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 71 : 560 (1958)。
- 4) Brown, W. E. et al. : Amer. J. Obstet. Gynec., 65 : (1953)。
- 5) Saunders, F. J. : Rec. Prog. Hormone Res., 20 : 395 (1964)。
- 6) 五十嵐正雄：第 19 回日産婦総会宿題報告要旨 (1967)。
- 7) Glenn, E. M. et al. : Metabolism, 8 : 265 (1959)。
- 8) Edgren, R. A. et al., Endocrinol., 65 : 505 (1959)。
- 9) Holub, D. A. et al. : ibid 68 : 173 (1961)。
- 10) 肥田木孜：日産婦誌，12 : 494 (1960)。
- 11) Greep, R. O. & I. Chester Jones : Rec. Prog. Hormone Res., 5 : 197 (1950)。
- 12) Mares, S. E. : 5) より引用。
- 13) Miyake, T. : Endocrinol., 69 : 547 (1961)。
- 14) Desaulles, P. A. & C. Krähenbüchl : Acta Endocr., 47 : 444 (1964)。
- 15) Kincl, F. A. & R. I. Dorfman : Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 119 : 340 (1965)。

- 16) Goldzieher, J. W. & E. Rice-Wray: *Oral Contraception*, (1966). 13, Charles C Thomas. Publisher, Springfield.
- 17) Severinghaus, A. E.: *Physiol. Rev.*, 17: 556 (1937).
- 18) Wolfe, J. W.: *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 32: 1189 (1935).
- 19) Wolfe, J. W.: *ibid* 32: 1192 (1935).
- 20) Saunders, F. J. & V. A. Drill: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 71: 516 (1958).
- 21) Holmes, R. R. & A. M. Mandl: *J. Endocr.*, 24: 497 (1962).
- 22) McGinty, D. A. & C. Djerasi: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 71: 500 (1958).
- 23) 小林隆他: *最新医学*, 18: 1826 (1963).
- 24) 小林拓郎他: *最新医学*, 18: 2925 (1963).
- 25) Perrine, J. W.: *Acta Endocr.*, 37: 376 (1961).
- 26) Overbeek, G. A. et al.: *ibid* 41: 351 (1962).
- 27) Brennan, D. M. & R. J. Kray: *ibid* 44: 367 (1963).
- 28) 三宅有他: *日内泌誌*, 41: 1079 (1965).
- 29) 石原貞尚: *日内泌誌*, 42: 55 (1966).
- 30) Minaguchi, H. & J. Meites: *Endocrinol.*, 81: 826 (1967).

On the Studies on Inhibitor of Hypophyseal Gonadotropin by Norethindrone-Mestranol.

**Gen-ichi Tokuda, Shusei Higashiyama,
Hitoya Kobayashi, Shuji Kizu., Yoshihiro
Hamada and Tetsuo Take**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kyoto Prefectural
University of Medicine, Kyoto, Japan.

Adult intact female rats of the Sprague-Dawley strain were used for this experiment. Each rat had passed 2 regular cycles before experiment. Norethindrone-mestranol combination at the ratio of 20 to 1 was dissolved in corn oil and injected subcutaneously once daily at a dose of 0.5 mg or 1.0 mg for a period of 30 days. Vaginal smears were taken daily in the 1.0 mg group. The animals were killed on the 31st day after the begin of the experiment.

Anti-gonadotrophic activity was assayed according to the parabiosis method, which castrate male and intact female rats were joined parabiotically. Test materials, norethindrone, mestranol,

and norethindrone-mestranol combination, were administered daily for 10 days to the castrate male, and at autopsy on day 11, the ovaries and uteri of the intact female were removed and weighed. Anti-gonadotrophic compounds inhibited the hypertrophy of the ovaries which was the result of increased gonadotropin production in the castrate animal. This due to the reduction in pituitary gonadotropin secretion.

None of the animals receiving 1.0 mg norethindrone-mestranol showed typical and regular oestrus cycles. Following the initial phase of prolonged vaginal cornification, smears did not become the picture in normal oestrus cycles. These smears resembled pro-oestrus or diestrus. Findings in vaginal smears were seemed to be consequent on the anti-estrogenic and the anti-gonadotrophic activities of test materials.

Increase in body weight with norethindrone-mestranol treatment could be seen slightly.

Pituitary weight was significantly increased, ovarian weight was markedly reduced, and uterine weight was significantly augmented with treatment. Reduction of ovarian weight in 1.0 mg group was greater than that in 0.5 mg group. Adrenal weight did not change with both doses of treatment.

Studies in the first experiment indicated that norethindrone-mestranol combination had the inhibitory effects on hypophyseal gonadal axis and no effects on hypophyseal adrenal axis.

In the inhibition of gonadotropin measured by the parabiotic rat assay technique, it was demonstrated that mestranol was more potent inhibitor than norethindrone. In parabiosis, mestranol was needed in a total dose of 0.1 mg to suppress the pituitary gonadotropin but norethindrone was equivalent to less than 1/100 of mestranol in blocking of pituitary gonadotropin action.

On the other hand, norethindrone-mestranol combination was in a total dose of 1.0 mg to inhibit increased gonadotropin production of castrate animals.

From the results of this experiment, anti-gonadotrophic action of the combination at the ratio of 20 to 1 was attributed to the mestranol added to the combination in low-dosage. In higher-dosage, however, it would appear to be unable to rule out that pituitary inhibition of the combination might be due to the converted estrogen or metabolites of norethindrone.

Human Menopausal Gonadotropin 製剤

(HMG) の使用経験

特に、長期無排卵性不妊患者の治療を中心として

Clinical Studies on the Administration of Human Menopausal Gonadotropin
Preparation for the Anovulatory Patients, with Special Reference to
Treatment of Long-term Sterile Patients.

金沢大学医学部産科婦人科学教室

赤 須 文 男	館 野 政 也	赤 祖 父 一 知
Fumio AKASU	Masaya TATENO	Kazutomo AKASOFU
光 部 啓 一	紺 谷 昭 哉	正 木 康 之
Keiichi MITSUBE	Akiya KONTANI	Yasuyuki MASAKI

Department of Obstetrics and Gynecology, School of
Medicine, The University of Kanazawa, Japan
(Direct. Prof. F. Akasu)

われわれは、従来の Gonadotropin 療法や Steroidhormone などの排卵誘発法で無効であった比較的長期の無排卵性不妊患者を中心として、これに短期の不妊患者の症例も加え、HMG を使用し、従来の治療で無効であった症例にも排卵および妊娠例を認めた。全体の成績は 14 例中 6 例 (42.9%)、22 周期中 11 周期 (50%) に排卵を認め、妊娠例は 4 例で、1 例は流産したが他の 3 例はいずれも正常分娩で健康児を得た。HMG-HCG 療法における尿中ホルモン、頸管粘液、Smear Index の変動から、尿中 Gonadotropin 値および Estrogen 値の増加、排卵成功例における Pregnandiol 値の上昇を認め、なお、HMG 投与中の頸管粘液量と Smear Index の変化からみて、両検査を並行して行ない HMG の投与量を決定すべきであると考えられた。また、副作用は本実験において軽度の下腹痛を認めた以外、特にみられなかった。

I. 緒 言

周知のごとく、女性不妊の重要な原因の 1 つとして排卵障害に基づくものが、かなりの比率で認められ¹⁾、いわゆる卵巣機能不全の軽度のものまで含めると非常に高頻度であると考えられる。臨床的に、これら排卵障害に対して、従来よりいろいろの排卵誘発法が試みられて来たが、その内でもホルモン療法が治療の主体をなしており、性 Steroids, Gonadotropin, 副腎皮質 Hormone あるいは抗甲状腺剤が用いられて来ていた。

すでに、われわれ²⁾⁶⁾は無排卵症に対するこれらの治療効果について、しばしば報告して来たが、有効例は認めるものの各種治療法に抵抗する難治の無排卵症患者に

対しては決定的な効果を期待できなかった現状にある。

今回、われわれは従来の Gonadotropin 療法の主体をなしていた PMS-G 製剤より卵胞賦活能力が強力で、種特異性の問題のないといわれている Human Menopausal Gonadotropin 製剤である Humegon (以下 HMG と略) を、まず過去の各種排卵誘発法を試み排卵誘発に成功しなかつた比較的長期の不妊期間を有する無排卵性不妊患者を対象に使用し、その後、短期の不妊患者にも使用したので、これを加え報告する。

II. 実験方法

1. 使用薬剤

HMG 製剤として Humegon (CS-267) を使用した。

本製剤は 1 vial 中に FSH として 75 国際単位 (I.U) を含有し, その精製操作により LH 作用物質の混剤を極めて少なくしたもので, 化学的には glycoprotein の混合物で, 発熱性物質の混入もなく毒物質の存在もないとされている。

2. 実験対象

本剤の FSH 作用からみて, その使用の適応対象として各種の月経異常などにももちろん有効なことは当然と考えられるが, 今回, 排卵誘発かつ妊娠を目的として, まず, 過去いろいろの排卵誘発法を行ない成功せず, 尿中 Total Gonadotropin の低値を示す. すなわち, hypogonadotropic hypogonadism と考えられる比較的長期の不妊患者を対象とし, その後範囲をひろめ短期の無排卵性不妊患者にも使用した. また, 対象患者には全て入院治療で用いた。

3. HMG 投与方法

種々の投与形成が考案され使用されているが, 今回の報告に用いた投与方式は原則として HMG 1 日, 2 バイアル朝晩 2 回に分け筋注し, 頸管粘液や Smear Index を測定しながら, 10 日間毎日連続投与を行ない, 引き続き Pregnyl (以下 HCG と略) 1 日 2 アンプルを同様

朝晩 2 回に分け筋注で 3 日間連続投与を行なう等量投与方法によつたが, 1 部頸管粘液や Smear Index の変動により HMG を 6~8 日間投与で HCG に切り換えた症例もある。

4. HMG-HCG 療法中の検査について

基礎体温測定その他, 原則として毎日頸管粘液量およびその結晶形成, Smear Index (松枝²²⁾杉本法) を調べ, 投与前後の尿中ホルモンは Total Gonadotropin (幼若雌マウス 子宮重量法—松島変法), Estrogen (赤須—大木法, 赤須—村田—田川補正法²³⁾), Pregnanediol および Pregnanetriol (Klopper—神戸川変法), 17-KS (Solvolysis 法) および 17-OHCS (Porter-Silber 法) の各値の測定を可及的行なつた. もちろん, 一般臨床検査も施行した。

III. 実験成績

持続性無排卵周期症, 第 1 および第 2 度無月経群に分け, HMG-HCG 療法を施行した代表例を各症例別の概要を記載し, 次に総括的にその治療成績について検討する。

1. 実験対象とその既往治療

表 1 HMG-HCG 療法の対象患者, 既往治療およびその効果

症例	対 象 患 者				既 往 治 療			効 果				備 考			
	氏名	年齢	結婚	月 経	HMG-HCG 療法までの不妊期間	Gonadotropin 療法	Steroidhormone 療法	卵巣楔状切除術	排 卵	妊 娠					
								1 回	2 回	3 回	4 回				
1		25	22	14	持続性無排卵	3 年 3 ヶ月	○	○		+	-	+	3 回目 に妊娠	7/VIII'67 ♂ 3610 g	
2		29	24	15	続発性無月経 (第 1 度)	5 年 6 ヶ月	○	○	○	-					
3		24	21	14	持続性無排卵	3 年 1 ヶ月	○	○		+			1 回目 に妊娠	18/VIII'67 ♀ 3110 g	
4		29	21	13	続発性無月経 (第 2 度)	約 8 年	○	○		-	-			卵巣楔状 切除術	
5		26	18	15	" "	8 年 1 ヶ月	○	○		+	-	+	+	4 回目 に妊娠	3 ヶ月 自然流産
6		27	21		原発性無月経 (")	約 6 年	○	○	(試験 開腹)	-					
7		28	22	14	持続性無排卵	6 年	○	○		-					
8		26	20	12	続発性無月経 (第 2 度)	6 年	○	○		-					
9		28	25	13	" "	3 年	○	○		-				卵巣楔状 切除術	
10		20	18	14	" "	2 年		○		-					
11		22	18	14	持続性無排卵	約 2 年		○		+			1 回目 に妊娠	20/VIII'67 ♀ 3278 g	
12		24	20	?	" "	5 年		○	○	+					
13		26	23	15	続発性無月経 (第 2 度)	3 年		○		-					
14		24	22	13	" (第 1 度)	3 年	○	○		+	+	+			

成功しなかつたので、引き続き行なつた 2 回目においては HMG 投与前 G. 4 MUU, Pd. 1.33 mg, Pt. 1.10 mg, 投与 8 日目に Pd. 3.21 mg, Pt. 2.15 mg, HCG 終了後 2 日目には Pd. 2.93 mg, Pt. 1.87 mg で増加傾向を認めたが確実な排卵を示す量ではなく、また、基礎体温曲線は不定型に近く、一応体温陥落をみたが高温相を持続しなかつた。なお、頸管粘液量は HMG 投与中 0 mm³ で増量しなかつたが、体温の陥落をみた HCG 投与後 2 日目には 400 mm³ で結晶形成(++)であつた。これらのことから、2 回目の治療における排卵は断定できなかつた。引き続き行なつた 3 回目において、G. は 4 MUU から 16 MUU となり、HMG 10 回投与時に頸管粘液量は 700 mm³, 結晶形成(++)で HCG に切り換え排卵、妊娠し、妊娠継続中異常なく、昭和 42 年 8 月 7 日当科において 3610 g の男児を正常分娩し、児には全く異常を認めなかつた。

症例 3, 桑○喜○子, 24 歳, 不妊期間 3 年 1 カ月。

初経: 14 歳, 月経周期 20~40 時に稀発月経で不順, 持続期間: 約 7 日間, 量: 少, 月経時障害: 無, であるが、頻発月経と考えられる症例である。子宮内膜: 増殖期像, 身長 160.2 cm, 体重 44 kg, 瘦型, 内診所見: 子宮小, 子宮腔長 7 cm 弱, Rubin test および HSG 正常, ¹³¹I-uptake 6.6% とやや低下, PBI 5.8 γ /dl 正常, Sella trucia 測定: 正常であつた。協力性 Gonadotropin, Kaufmann 療法および oral contraceptive などの排卵誘発法は無効であつた。

HMG-HCG 療法前の尿中ホルモン値は E. 17.20 γ , Pd 1.97 mg, Pt. 0.21 mg, 17-KS 1.46 mg, 17-OHCS 3.85 mg, G. 4 MUU で E., KS および G. は低値であつた。HMG 投与 8 日目における E. 25.20 γ , G. > 24 MUU の増加傾向を示し, HCG 終了後 E. 52.80 γ , 17-KS 8.40 mg, 17-OHCS 5.66 mg で E. の著明な増加をみた。頸管粘液は HMG 投与 3 日目より現われ 100 mm³, 9 日目に 180 mm³ と最高値, 結晶形成(++)で頸管粘液量の増加は 300 mm³ 以上には達しなかつた。Smear Index は投与前+2.0, HMG 終了時+2.8, HCG 終了時+2.9 であつた。本症例は妊娠分娩したものであるが, HCG 2 回投与後より下腹痛あり, HCG 投与終了後 9 日目より少量の性器出血を認めた。

基礎体温曲線は HCG 投与 2 回目投与日に体温陥落を認め、以後高温相に移行し、HMG-HCG 療法後出血を認めた (HCG 投与後 10 日目より) 3 日目に 1 日のみ体温陥落あつたが、再び高温相となり持続したので切迫流産の疑で安静を指示した。その後、38 日目 (HCG 終了後) より 4 日間、50 日目より同様 4 日間出血を認めたので、それぞれ progesterone 投与したが、83 日目より

出血および下腹痛があり切迫流産として入院治療を行なつた。それまでの間、たびたび Pregnosticon test を施行したが陰性で、入院時に初めて陽性であつた。その後、妊娠 6 カ月に流産徴候あり、Shirodkar 手術を施行し、本年 8 月 18 日、妊娠 10 カ月で 3110 g の女児を正常分娩し、児にも全く異常を認めなかつた。

症例 12, 田○博○, 24 歳, 不妊期間約 5 年。

18 歳まで初経を認めず、某医にてホルモン剤服用後出血をみたが、再び無月経状態が続いていた。20 歳で結婚し、再び某医にてホルモン療法を受けたが排卵なく、22 歳の時卵巣楔状切除術をした。ただし、その時の卵巣の所見は不明である。以後月経周期 20~40 日間、持続期間 5 日間で月経を認めるようになったが、基礎体温曲線から排卵は認められなかつたので Kaufmann 療法を受けていた。当科受診後 1 カ月観察したが rebound はなかつた。初診時内診所見に異常なく、月経終了後行なつた Rubin Test および H.S.G. 異常なく、子宮腔長 7 cm, トルコ鞍: 正常, ¹³¹I-uptake 15.8%, Triosorb 25.4% でいずれも正常, 基礎代謝率 -5% であつた。次回月経 14 日目より HMG 10 日間投与したが、投与 4 回目まで頸管粘液量は 0 mm³ であり、5 日目より 120 mm³, 10 日目には 600 mm³, 結晶形成(++)となり、Smear Index も投与前+2.1 から +4.2 となり HCG に切り換え、HCG 投与 2 日目に体温陥落を認め、高温相 11 日間持続し出血を認めた。HMG-HCG 投与前後の Pd. は 1.70 から 2.74 mg となりやや増加傾向を認めた。本例は排卵に成功したが、妊娠はしなかつた。

b) 第 1 度無月経症例

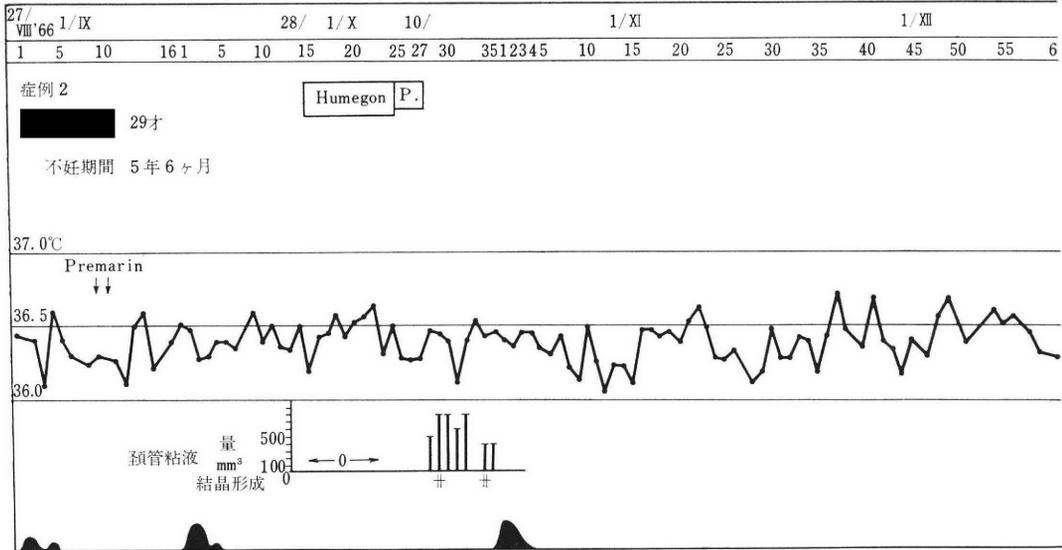
第 1 度無月経に本療法を行つたのは 2 例で、症例 14 は排卵に成功したが、症例 2 は不成功におつた。妊娠例は現在まだみていないが、その概略は次のごとくである。

症例 14, 橋○陽○, 24 歳, 不妊期間約 3 年。

初経: 13 歳で、15 歳まで正順に月経をみとめていたが、その後 1 年に 2~3 回と稀発月経となり、22 歳結婚、その頃より無月経状態が続いていた。

初診時内診所見で子宮や小以外異常なく、その後 Progesterone Test(+), トルコ鞍測定正常, ¹³¹I-uptake 11.2%, Triosorb 29.4% と正常, Rubin Test および H.S.G. も異常を認めなかつた。当科にて PMS-G-HCG 療法を行ない頸管粘液量 420 mm³, 結晶形成(++)、Smear Index +4.5 となり、HCG に切りかえたが排卵に成功しなかつた。ただし、本治療後 6 日間の出血を認めた。出血 10 日目より HMG-HCG 療法を行ない、HMG 10 日間投与により頸管粘液量 300 mm³, 結晶形成(++)、

Fig. 2



Smear Index+4.5 となり、基礎体温も HCG に切り換えた 2 日目に上昇し、黄体機能不全型ではあるが、排卵曲線となり、14 日間高温相を継続し 7 日間の出血を認めた。引き続き 2 クール目を行ない、HMG 投与 5 日目で頸管粘液 200 mm³、(+)、8 日間投与後 300 mm³、(++) となり、HCG 投与 2 日目より基礎体温の上昇、排卵を認めたが妊娠に成功せず、さらに月経 13 日目より HMG-HCG 療法を施行、HMG 投与 5 日目から頸管粘液 100 mm³、(+)、6 日間投与後 350 mm³、(+++) となり、Smear Index+2.9 で HCG に切り換え、2 日目に体温上昇、排卵をみたが妊娠しなかつた。本症例は HMG-HCG 療法を 3 回連続施行し、いずれも排卵に成功した症例である。なお、G. の変動は 1 クール目 4 MUU→16 MUU、2 クール目、24 MUU→48 MUU であった。

症例 2、森○外○子、29 歳、不妊期間 5 年 6 カ月 (図 2)

初経 15 歳、以後月経周期 28 日～4 カ月で稀発月経であったが、27 歳頃より続発性無月経となり、当科に受診後、協力性 gonadotropin、Kaufmann 療法、oral contraceptives などの排卵誘発法を施行したが無効で、今回 HMGHCG 療法施行。2 年半以前に (昭和 39 年 11 月) 卵巣楔状切除術を行ない、その組織所見は polycystic ovaries であった症例で、その後も無月経であった。身長 155 cm、体重 55.5 kg、内診所見では子宮やや小以外異常なく、子宮腔長 7 cm 弱、Rubin Test および H.S.G. 正常、子宮内膜：増殖像、progesterone test (+)、gonadotropin test (+) あるいは (-) であつ

た。HMGHCG 療法前の Smear Index+2.4 とやや高かつたが、尿中ホルモンは Pd. 0.23 mg, E. 12.4 γ と低値、G. 4 MUU、17-KS 5.93 mg、17-OHCS 3.62 mg であった。投与後は Pd. 1.58 mg, Pt. 0.20 mg, E. 31.68 γ、17-KS、3.42 mg であり、Pd は増加傾向を示したが低値で、E. は前値に比べかなり増加した。頸管粘液は HMG-HCG 投与中いずれも 0 mm³ で、HCG 終了後 500 mm³ と増量、結晶形成も認めたが、基礎体温は 1 相性であり、HCG 終了後 8 日目より 4 日目の出血をみたが、排卵を認めなかつた無効例である。

c) 第 2 度無月経症例

第 2 度無月経の排卵誘発は最も困難とされているが、今回の実験において、1 部卵巣原発型の症例を含め 7 例に施行した。その内、排卵—妊娠に成功した 1 例と不成功例について紹介する。

症例 5、中○貞○、26 歳、不妊期間 8 年 1 カ月 (図 3)

初経 15 歳、月経周期は初経後半年間は 25～40 日間で、月経を認めていたが、その後 1 年間無月経で以後 30～60 日間の周期で月経をみていた。しかし、18 歳 8 カ月で結婚、その頃より周期 3～7 カ月の稀発月経となり。某医によりホルモン療法をうけていたが、以後無月経となつた。当科にて PMS-G-Estrogen 静注、協力性 gonadotropin、副腎皮質ホルモン、Kaufmann 療法、oral contraceptives、Metharmon などで治療を行なつたが、いずれも無効であつた。身長 160 cm、体重 60 kg、恥毛少、内診所見では子宮の大きさ小、子宮腔長 6.5 cm、Progesterone Test(-)、Rubin Test および H.S.G. 正常、¹³¹I-uptake 7.5% とやや低下、Triosorb 30.5% で正常、トルコ鞍

Fig. 3-1

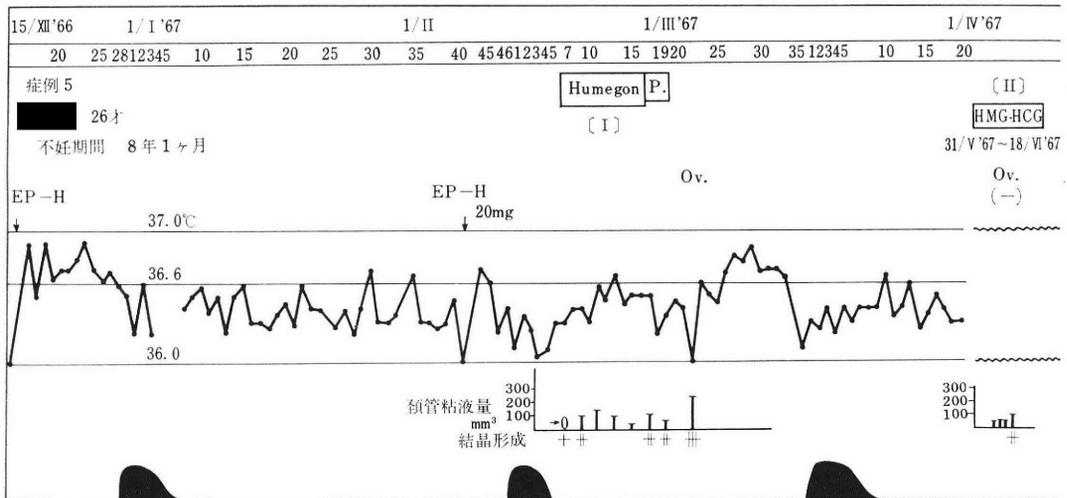
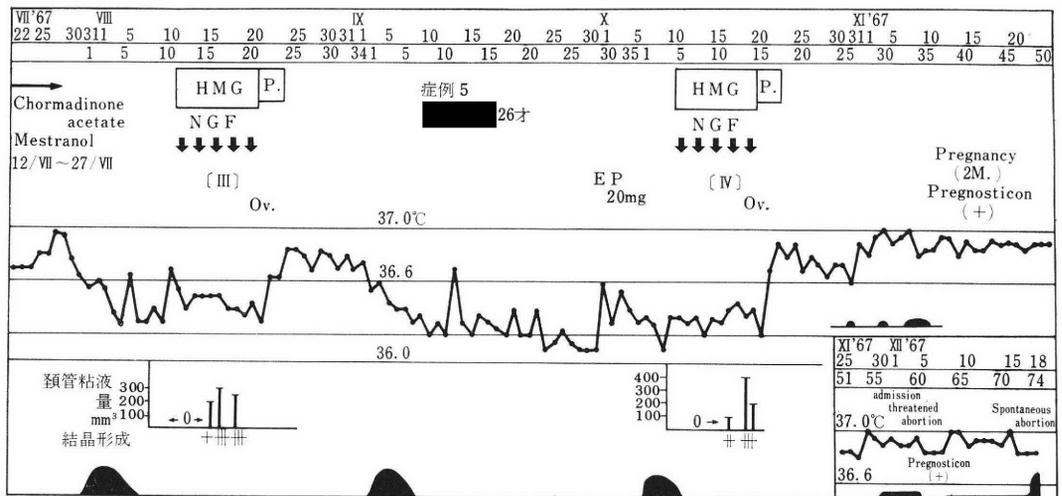


Fig. 3-2



の測定は正常であった。HMG-HCG 療法前の尿中ホルモンは E. 42.32 γ , 17-KS 1.72 mg, 17-OHCS 2.85 mg, G. 4 MUU, Pd. 0.70 mg, Pt. 0.19 mg であり, HMG 投与後は E. 39.56 γ , 17-KS 2.79 mg, 17-OHCS 2.53 mg, Pd. 2.68 mg, Pt. 0.09 mg で, E. は変化なく, Pd. の軽度の増加をみた。17-KS は低値を示していたが正常値下限となつている。Smear Index は投与前+2.2, HMG 8 日目+3.4 終了時は +2.2 であつた。頸管粘液は HCG 終了3 日目にみられた体温陥落時に 230 mm³ で最高値, 結晶形成(卅)であつたが 300 mm³ 以上の増量はみられなかつた。基礎体温曲線は図3に示すように2相性となつたが, 黄体機能不全型で, HCG 終了後16 日目に出血を認めた。その後, 経過をみて自然排卵

の有無を観察したが, これを認めず HMG-HCG 療法2 回目施行, HMG 10 日間投与しても頸管粘液は 100 mm³ (+), Smear Index+2.7 で HCG 投与せるも排卵に成功しなかつた。ただし, 前回と同様出血は HCG 切り換え後3 日目より認めた。その後 oral contraceptive 服用消褪出血後, 3 回目を行ない, HMG 投与5 日目より頸管粘液 200 mm³ みとめ, 6 日目 300 mm³(卅), 8 日目 250 mm³ (卅), HMG 10 日間使用後 HCG に切り換え, 2 日目より基礎体温の上昇をみた。これは1 回目の黄体機能不全型にくらべ, 改善された基礎体温曲線となつた。なお, 投与前後の尿中ホルモンは 17-KS 5.89 mg \rightarrow 5.30 mg, 17-OHCS 3.12 mg \rightarrow 5.22 mg, E. 32.40 γ \rightarrow 32.00 γ , Pd. 1.69 mg \rightarrow 2.78 mg, Pt. 0.17 mg \rightarrow 0.48 mg,

Gは投与前4 MUUであつた。しかし、妊娠に成功しなかつたので10/X⁶⁷より4回目のHMG-HCG療法を行ない、HMG投与7日目に頸管粘液100 mm³ (++)、9日目400 mm³ (++)となり10日間投与後HCGに切り換え、翌日より体温上昇しそのまま高温相を継続した。体温上昇後12日および16日目、20日目より3日間少量の性器出血をみとめたが、基礎体温は高温相を継続し、妊娠初期切迫流産の疑いでProgesterone投与、27/XI⁶⁷より入院し流産に対する治療を行なつた。6/XII⁶⁷ (基礎体温上昇47日目)にPregnosticon Test陽性であつたが、29/XII⁶⁷ (同60日目)自然流産した。しかし、児は1であり多胎妊娠の所見は認めなかつた。

症例4、竹〇君〇、29歳、不妊期間約8年、続発性無月経約6年。

初経13歳で稀発月経の状態であつたが、結婚前後約6年前より無月経状態となつた。身長155 cm、体重49 kg、外陰の發育やや悪く、恥毛少ない。内診所見では子宮の大きさ小、Rubin Testでは閉鎖型を示していたが、H.S.G.では両側卵管異常なし、Progesterone test(-)、E-P. Test (+)、Gonadotropin に対する反応は認めなかつたが、今回、HMG-HCG療法を行なつた。投与前尿中ホルモン値はE. 21.68 γ 、Pd. 3.17 mg、Pt. 0.23 mg、17-KS, 3.20 mg、17-OHCS 3.8 mg G. 4 MUUであり、投与後E. 31.40 γ 、G.>24 MUUとなり、EおよびG.の増加の傾向をみとめられた。なお、頸管粘液はHMG投与3日目に40 mm³、8日目に20 mm³と少量認めたが、他の日には何れも0 mm³であり結晶形成は(-)であつた。HCG終了後無月経が続き、81日目より再びHMG-HCG療法を施行したが排卵を認めず、14/III⁶⁷に卵巣楔切除術を施行し、現在経過観察中である。手術時所見は子宮および卵管は正常であつたが、両側の卵巣は小指頭大でhypoplasiaであつた。

以上、持続性無排卵周期症、第1度無月経および第2度無月経の各群の代表的な症例をその検査成績と共に記

載した。

3. HMG-HCG療法の治療効果 (表1, 2)

以上の対象患者に対するHMG-HCG療法の回数とその効果について各群に分けて表2に示したが、総計14例22周期である。

表1 (右側)において+で示したのは排卵成功、-は不成功を示している。

HMG-HCG療法1回目における治療成績では14例中6例(42.9%)排卵に成功したが、その内HMG-HCG療法前後に卵巣の器質的疾患を確認した症例2, 4, 6, 9および12を除くと9例中5例(55.5%)に排卵を認めることになる。しかし、症例12は症例別のところで述べたごとく、卵巣楔切除術をうけていたものであるが、本例のみ排卵に成功した。また、症例3と症例11は排卵-妊娠に成功し満期分娩した。

反復投与例についてみると、1回目排卵成功例の内、症例14は2, 3回目いずれも排卵に成功したが、妊娠までに到らなかつた。症例1および5は、いずれも2回目に排卵なく、3回目にはそれぞれ排卵に成功し、症例1は妊娠-分娩したが、症例5は4回目に妊娠したが、自然流産に終つた。3周期以上反復例数は3例で、10周期中8周期(80%)に排卵を認めた。

各群の例数に差があるので、その治療成績の比較は困難であるが、表2に示すように持続性無排卵周期症や第1度無月経において排卵例の頻度が高く、第2度無月経においては排卵妊娠例は1例のみであつた。

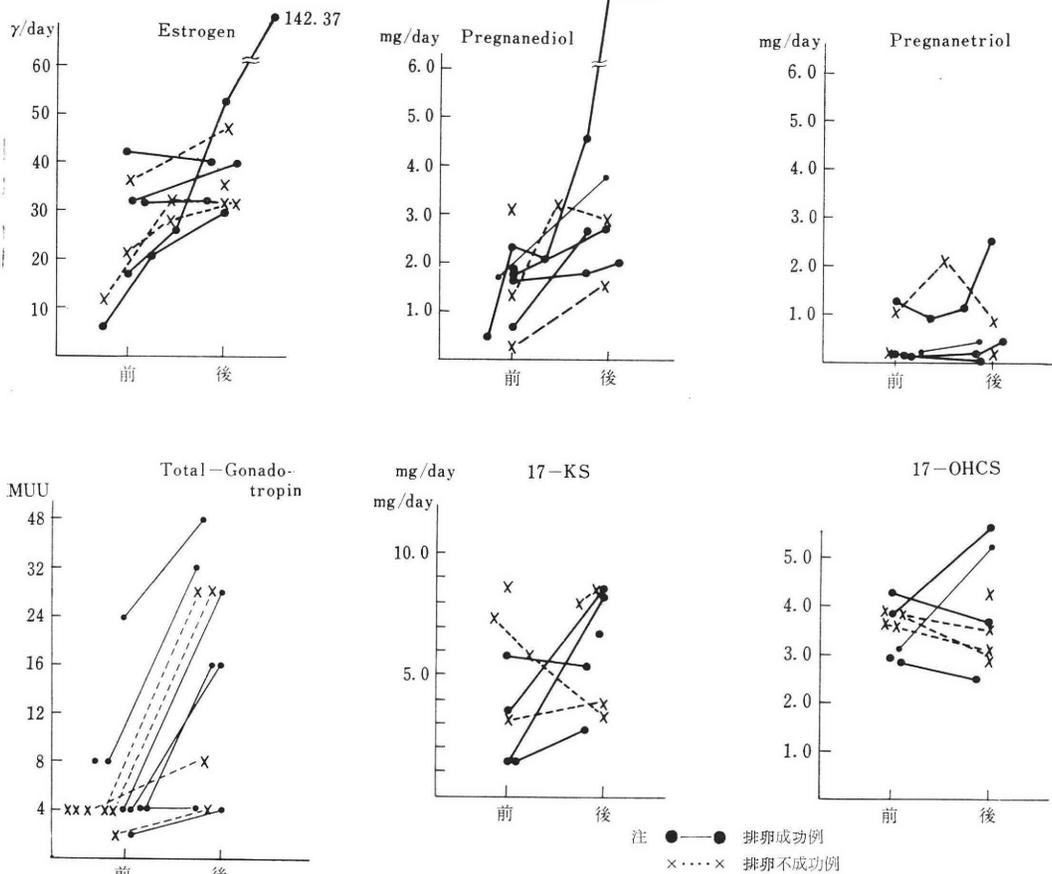
排卵障害の原因が、卵巣性か下垂体性か必ずしも臨床的に明確に分類することができなく、その移行型の存在もあるので、HMG-HCG療法前後において卵巣性の器質的疾患を確認したものの除外した成績を表2の()内に示したが、当然、排卵誘発例の頻度は高くなつている。

妊娠例は表1に示すごとく4例もあり、内3例はいずれも正常分娩で健康児を得ており、1例(症例5)は妊

表 2

	排 卵						妊 娠	
	例 数	排卵例数	排卵率	周期数	排卵周期数	排卵率	妊娠例数	妊娠率
持続性無排卵周期症	5 (4)	4 (3)	80% (75%)	7 (6)	5 (4)	71.4% (66.7%)	3	60% (75%)
第1度無月経	2 (1)	1 (1)	50% (100%)	4 (3)	3 (3)	75% (100%)		
第2度無月経	7 (4)	1 (1)	14.3% (25%)	11 (7)	3 (3)	27.3% (42.9%)	1	14.3% (25%)
計	14 (9)	6 (6)	42.9% (66.7%)	22 (16)	11 (10)	50% (62.5%)	4	

Fig. 4



娠3カ月で流産に終わったが多胎妊娠例は認めていない。

4. HMG-HCG 療法前後の尿中ホルモン値の変動, 頸管粘液および Smear Index について (図4)

各症例の概要で一部その成績を記載したが HMG-HCG 療法前後の尿中ホルモン値の変動については図4に示した。

まず, Estrogen 値の変動は, 投与前においては低値か正常値下限の値を示し, 排卵成功例も不成功例も一樣に上昇傾向を認めた。

妊娠した症例3では投与後 52.80 γ で妊娠2カ月の時 142.37 γ と増量していたが, 過剰反応例は認められなかった。

Pregnanediol 値は同様前後の変動をみると, 上昇傾向をみたが, 排卵不成功に終わったものの内1例(症例2)は投与後も低値であり, 1例(症例1の2クール目)は上昇していたが基礎体温では排卵曲線はみられなかった。

Total Gonadotropin 値は当然のことながら, いずれ

も上昇傾向をみとめた。

17-KS 値, 17-OHCS 値においては, いずれも正常値内の変動で, 増減相半ばしていた。Pregnanetriol 値においても, 排卵成功例と不成功例の間には一定の傾向を認めなかった。

頸管粘液量および結晶形成についてみると, 排卵成功例には一応その量の増加と結晶形成を認めたが, 卵胞成熟指標の基準となる 300 mm³ 以上なくても症例3は排卵妊娠し, 症例5も同様排卵に成功した。排卵成功例では頸管粘液量は 150~850 mm³ の範囲にあり, 前記2例以外はいずれも 300 mm³ 以上の量であった。

Smear Index では排卵成功例では+2.8~+4.5で, HMG 投与中その上昇を認めた。

IV. 考 按

排卵の問題は, その中枢支配すなわち問題下垂体-卵巣系とこれにおよぼす副腎皮質や甲状腺機能, あるいは

卵巣における排卵機序に関する問題、卵巣自体の疾病などいろいろの因子が関係しており排卵障害の原因は非常に複雑である。しかし、卵巣自体に欠陥のある卵巣性の無月経などはその頻度が低く、多くは中枢性のもので、内でも下垂体性よりも視床下部に基因する無月経または無排卵症が多いといわれている¹¹⁾¹⁹⁾。

これら Gonadotropin 分泌低下に基づく排卵障害の治療として、緒言で述べたごとくいろいろの方法が試みられているが、特に Gonadotropin 療法が近年しばしば盛んに使用されてきている。しかし、これに多く用いられている PMS-G などは異種蛋白であり、反復投与による抗体産生などの面から、軽症例ではその効果は認められるが、重症例では排卵誘発困難なことが多く、また、allergic reaction や種族特異性が問題とされていた。

閉経後婦人の尿中 Gonadotropin の増加は周知のことであるが、当教室宮本¹²⁾も最低 16 MUU 最高 256 MUU、平均 83.9 MUU で 80.6% は有経婦人の範囲を起していると報告している。更年期以後の婦人尿より抽出した HMG 製剤は Human Pituitary Gonadotropin の入手困難な点からみて、これら PMS-G の難点を充分解決してくれる製剤と思われる。

この観点から、実験当初従来の治療で無効であった難治の比較的長期間の無排卵性不妊患者に重点をおき HMG を使用し、その後短期の不妊患者も対象として加え、今回の実験報告とした。

まず、その投与方法に関していろいろの方法が考案されているが²⁰⁾¹¹⁾、投与方法が問題となるのは排卵誘発率の向上と副作用防止の点にあり、また、その理論的根拠は正常な性周期を有す婦人の Gonadotropin の動態すなわち FSH と LH の質的、量的な変動と同様な Gonadotropin 療法が理想的であると考えられる点である。正常婦人における FSH が周期の初期に高い値を示すとする Brown¹³⁾、Fukushima¹⁴⁾、Becker¹⁵⁾らの報告、中間期に peak を示すとする Würterle, et al.¹⁶⁾、McArthur, et al.¹⁷⁾、Rosenberg¹⁸⁾の報告などと測定法の問題もあり一定した結論は出ておらず、本剤の投与方法に関しても、これらの点から、あるいは投与対象となる個人差の問題などから、その優劣は現在のところ決定できないと思う。今回、われわれは頸管粘液検査、Smear Index および尿中 Hormone を測定しながら等量投与方法によったが、HMG 総投与量も考慮して、投与を検討しなければならないと考えている。

治療成績は対象となる患者の重症度の問題があり、今回の実験成績の内、HMG-HCG 療法を行なう以前に従来の PMS-G-HCG 療法を行なつたもののみを比較する

と既施行例 4 例 (症例 1, 5, 6, 14) 中、症例 6 の原発性無月経例を除く 3 例 (75%) に排卵を認め、内 2 例 (症例 1, 5) に妊娠をみており、HMG は PMS-G を用いて不成功例であつたものにも有効であつた。

また、反復投与例においても、その効果が充分にみられ妊娠例を得た点から、PMS-G の難点とされていた抗体産生の問題はないと考えられる。

一方、実験成績に示すごとく、HMG-HCG 療法前後に確認した卵巣性の無排卵症と考えられる症例は当然本療法の適応から外れると思われるが、臨床的には卵巣性か下垂体性か判定できない症例もあり、また、その移行型の存在も認められ、症例 12 のごとく卵巣楔状切除術を受けていた症例に排卵を認めたことは注目してよいと思う。

尿中ホルモン値については、Estrogen 値の増加および Pregnenediol 値の排卵成功例における増量は、正常性周期における排卵に伴う尿中 Estrogen および Pregnenediol 値のパターンに一致し、排卵不成功例においても Estrogen 値の増加傾向を認めるのは HMG の原始卵胞への作用のためと考えられる。尿中 Estrogen および Pregnenediol の排卵増加に関しては Daume & Kaiser (1964, 1965) や Tscherne (1964, 1965) も報告している。

頸管粘液量およびその結晶形成のみを卵胞成熟の指標とした場合、症例 3 および 5 のごとく 300 mm³ 以下でも排卵している場合があり、この点から Smear Index の併用が大切と思われる¹⁹⁾。また、これらを指標として HMG の投与量および投回数について考えるべきである。

卵巣の局所病変以外に Gonadotropin 療法を行なう場合中枢の問題のみならず卵巣の Gonadotropin に対する感受性、すなわち準備状態が重要な点であり、赤須ら⁵⁾²⁰⁾はラットに DHA と PMS-G の併用投与による卵巣および子宮重量におよぼす影響から Gonadotropin の有効性を高めるとしており、この点から新たに神経発育因子 (NGF) との併用について既に基礎的な研究を行ない臨床的にも検討中であるが、今回の実験においても症例 5 および 14 について併用し、基礎体温曲線の改善や妊娠例をみたが、これは HMG 自体の反復使用のための効果か併用効果であるかは速断できない。

副作用については、今回の実験対象 2 例に軽度の下腹痛を認めたのみであるが、他の報告にもあるごとく、多胎妊娠や卵巣肥大、腹水、胸水などについて注意しなければならないと考えている。

V. 結 論

われわれは、従来の Gonadotropin 療法や Steroid hormone などの排卵誘発法で無効であつた比較的長期の無排卵性不妊患者を中心として、これに短期の症例も加へ HMG を使用し、次のような結論を得た。

1) 排卵誘発効果および妊娠例

使用対象 14 例中 6 例(42.9%), 22 周期中 11 周期(50%)に排卵をみとめた。排卵誘発率の低いのは、従来の治療で排卵に成功しなかつたものに重点的に使用したためと第 2 度無月経の症例が多いためと考える。

妊娠例は 4 例で、1 例は自然流産したが、他の 3 例は何れも正常分娩で健康児を得た。なお、多胎妊娠例はみられなかつた。

2) 尿中ホルモンでは Total Gonadotropin 値および Estrogen 値の増加と排卵例における例における Pregnenediol 値の増加を認めた。

3) 本剤投与にあたり尿中ホルモン値定量の他、Smear Index と頸管粘液の変化からみて、両検査の併用により投与量を定めるべきである。

4) 副作用は今回の実験では軽度の下腹痛以外認めなかつたが、充分考慮すべきと考える。

(本論文の一部は、第 12 回日本不妊学会総会において発表した。)

主要文献

- 1) 松本清一：産科と婦人科，33：250，1966。第 14 回日産婦総会宿題報告要旨。
- 2) 赤須文男他：ホと臨，12：503，1964。
- 3) 赤須文男他：日本不妊学会誌，10：269，1965。
- 4) 赤須文男他：日独医報，9：213，1964。
- 5) 赤須文男他：臨婦産，20：669，1966。
- 6) 赤須文男他：産と婦，32：627，1965。
- 7) 松枝和夫，杉本毅：ホと臨，7：823，1959。
- 8) 赤須文男，村田孝一：内分泌と代謝，3：224，1962。
- 9) Staemler, H. J.: Arch. Gynak. 198: 377, 1963.
- 10) Staemler, H. J.: Dtsch. Med. Wschr. 89: 1925, 1964.
- 11) Diczfalusy, E., et al.: Acta endocrinol. suppl. 90: 35, 1964.
- 12) 宮本博：十全医誌，74：501，1966。
- 13) Brown, P. S.: J. Endocrinol. 18: 46, 1959.
- 14) Fukusima, M. et al.: ibid. 24: 205, 1964.
- 15) Becker, K. L. et al.: ibid. 25: 962, 1965.
- 16) Würterle, A. et al.: Zbl. Gynäk. 81: 1389, 1959.
- 17) McArthur, J. W. et al.: J. Clin. Endocrinol. 18: 1186, 1958.

- 18) Rosenberg, E. et al.: ibid. 25: 1262, 1965.
- 19) 五十嵐正雄：第 19 回日本産科婦人科学会総会宿題報告要旨，1967。
- 20) 西田悦郎：日産婦誌，18：383，1966。

Clinical Studies on the Administration of Human Menopausal Gonadotropin Preparation for the Anovulatory Patients, with Special Reference to Treatment of Long-term Sterile Patients

Fumio Akasu, Masaya Tateno, Kazutomo Akasofu, Keiichi Mitsube, Akiya Kontani and Yasuyuki Masaki

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, The University of Kanazawa, Japan

(Director: Prof. Fumio Akasu)

Studies were made on the effects of human menopausal gonadotropin preparation (HMG) on the ovulation induction in anovulatory sterile women.

It has been well known that traditional gonadotropin and steroid hormone therapies were not always successful in the induction of ovulation.

These subjects had been treated with PMS·G-HCG, HCG, synergistic gonadotropin or steroid hormones, however these treatments failed to induce the ovulation.

The patients were given 150 I. U. of HMG per day for ca. 10 days and the HCG treatment was followed by administration of HMG.

The results obtained were as follows.

1) The inductions of ovulation were observed in 6 (42.9%) of 14 patients who were treated with HMG and HCG.

It was observed that ovulations were showed in 11 (50.0%) of 22 menstrual cycles treated with HMG.

2) Four pregnancies occurred, of which three pregnancies resulted in full term deliveries, one in spontaneous abortion.

3) HMG-HCG therapy increased urinary total gonadotropin and estrogen excretions, and urinary pregnenediol levels were elevated in the cases of the ovulation.

4) The dosis of HMG should be determined by careful examination of the changes of cervical mucus and vaginal smear index.

5) In the present study, HMG, treatment has no side effect except the slight lower abdominal pain.

組織培養法による初期卵子形成の研究

Studies on the Oogenesis of the Mice Embryo Using Tissue Culture Method

東邦大学医学部産婦人科学教室 (主任 林基之教授)

於 川 若 磨
Wakamaro Ogawa

Dep. Obst. Gynec., Toho Univ., School of Med.
(Director, Prof. Dr. M. Hayashi)

位相差顕微鏡と 16 mm 微速度写真撮影を行なつて卵生成の観察をした。

体重約 100~200 mg のはつかねずみ胎仔の卵巣を組織培養し原始胚細胞から卵原細胞迄の分化過程を培養約 21 日間迄追つた。培養後約 7 日で細胞の核分裂頻度は高く、次第に多核巨大細胞に変化する経過が認められた。

体重約 500 mg のはつかねずみ胎仔卵巣の変化は卵原細胞からはじまり、培養を継続するにしたがつて次第に分化を進め一次卵母細胞に近いものまで記録できる。

卵細胞内のミトコンドリアの変化は著しい。体重約 700 mg のはつかねずみ胎仔の卵巣組織の変化は著明で、培養約 7 日目で卵原細胞は成熟し、培養約 14 日目に透明帯が形成される。体重 800 mg はつかねずみ胎仔卵巣では、早期に卵細胞が認められ、透明帯もできるが、培養約 50 日で卵細胞は変性する。

緒 言

Champy (1920) ははじめて *in vitro* で原始胚細胞の分化を研究し、成熟うさぎ精巢の Explant で Spermatogonia から Spermocyte に分化することを示した。しかしこの過程は減数分裂の Leptotene phase 以上には進行しなかつた。Fano & Garofolini (1927 & 1928) は鳩胎仔の卵巣および精巢組織を培養し、explant は Epithelial outgrowth を形成したが、まもなく線維芽細胞により置換された。Dantchakoff は 3 $\frac{1}{2}$ 日の鳩の未分化な性腺を培養し、3 型の細胞すなわち、①大きなアメーバ様細胞 (*in vitro* で活発なアメーバ様運動を行なう)、②結合組織細胞、③上皮様細胞を区別した。

Muratori (1935 & 1937) はひなどりの性腺を培養したが、生殖細胞の分化は認められなかつた。Maccabruni (1913) および Wolf & Zondek (1925) はヒト胎児卵巣を培養したが、結合組織と上皮の増殖にとどまつた。

Olivo (1934) はヒト胎児の卵を含む卵丘組織の培養に成功し、卵がやや増大することや 2 個の大きな核がその中に現われることを示した。しかし顆粒膜細胞の培養には成功しなかつた。

Mjassojedoff (1925) はうさぎ卵巣の卵細胞が *in vitro* で成長するとき、その上皮性の特徴を速やかに

失ない、6~8 日で線維芽細胞になるといい、Champy & Morita (1928) はうさぎおよび白ねずみの卵巣と精巢を培養し、生殖上皮が *in vitro* で未分化な形で増殖するといつた。

Mihailoff (1937) は未熟うさぎの精細管を 70 日間培養し、2~3 の原始性細胞がこの期間中正常な状態で発育したが、分化することはなかつた。

Martinovitch (1938) は小さな Graaf 氏卵胞が 19 胎生日白ねずみ卵巣より分化し、22 日間良好な状態に保たれたと述べている。しかし透明帯は形成されなかつた。

Long (1940) はローラーチューブの中で幼若はつかねずみの卵巣を培養し、胚上皮の著明な Outgrowth の生ずることを述べ、Oocyte がこれらの Outgrowth 中で分化していることを観察した。

Ingram (1956) は白ねずみとはつかねずみの卵巣を培養し、*in vitro* で卵形成が胚上皮の Outgrowth 中で生ずるという Long の説は確認することができなかつた。

朝山、古沢はローラーチューブ法を用いて 12~16 日のはつかねずみ胎仔の原始胚細胞を 70~94 時間培養し、12 胎生日の性腺は精巢にも卵巣にも分化する能力があることを認めた。

本田 (1965) は未熟はつかねずみの卵巣を培養し、卵

巢組織片の変化を観察し、組織中に存在する卵細胞は培養 1 週間迄はほぼ正常な状態を維持するものもあるが、組織周辺にある卵は組織細胞の Outgrowth によりあたかも異物のごとく培地中に遊離され、他の卵は培養 15 日迄には、組織中において変性した。また卵以外の卵巣構成細胞は旺盛な増殖を示し、卵母細胞と思われる細胞もかなり長期間存在した。in vitro におけるゴナドトロピンの影響を見るために卵巣組織片をゴナドトロピン添加培地で培養すると組織細胞の維持増殖が促進され、卵細胞の維持も良好となり、ゴナドトロピンが作用する場を示唆する像が見られた。さらにうさぎ卵巣細胞を継代培養し、株細胞化したものに対してもゴナドトロピンはその増殖を促進するという。成熟ヒト卵巣の組織別培養では黄体細胞は培養困難であるが、その他の細胞は培養が可能であり、顆粒膜細胞は in vitro で 2 種類の培養像を呈し、これらは容易に融合する性質を持っていた。

Blandau (1963) は 16 胎生日のはつかねずみ胎仔の卵巣をローズチェーンバー法によつて 60 日以上培養した。多数の卵が培養初期に、またあるものはアメーバ様運動により卵巣実質から離れた後に細胞の崩壊を起こし、培養後 10 日迄に培養組織片は著明な Outgrowth を示し、その中に透明帯を形成した卵が増殖していた。in vitro で成育した卵は一層ないし数層の卵胞上皮により被包され、これらは間質から直接生起するようである。培養による卵細胞の大きさは種々で、あるものは径 100 μ 以上にも達した。卵をとり囲む卵胞細胞からのがれた大きな卵は奇妙な形に変形し、Fragmentation を示すのも見られ、種々の発育段階にある多数の Oocyte が大きな空胞を形成しつつ細胞崩壊を示した。

またこの培養中 Meiosis の過程が Diakinesis 以上に進むような形跡は証明されなかつた。今日迄哺乳動物の胎仔卵巣の培養に関する研究は極めて少なく、満足な結果を得ていない。著者は未熟はつかねずみ胎仔の極めて幼若なものから出生時に至るまではつかねずみ胎仔卵巣を長期間培養することを得、in vitro における卵の発育分化を追求し、16 mm 映画撮影も行なつたので報告する。

第 1 章 実験材料

受精卵着床より分娩までの種々の時期のはつかねずみ胎仔の卵巣を使用し、成熟度を胎仔の平均体重により定めた。分娩時の胎仔の平均体重は 1000 mg であつた。

200 mg のものから実験をはじめたが、それは 100 mg の胎仔では精巣と卵巣の区別が判然としないためである。各体重の胎仔 10 個体、卵巣数約 20 個を 30 枚の培養器にセットしたものを 1 群とし、4 群で約 40 個体を使

表 1

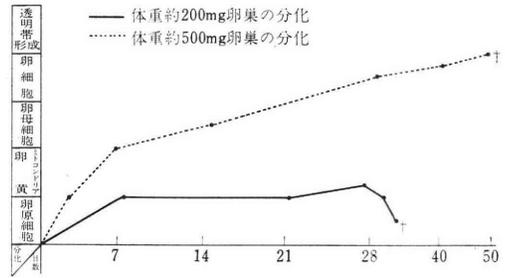
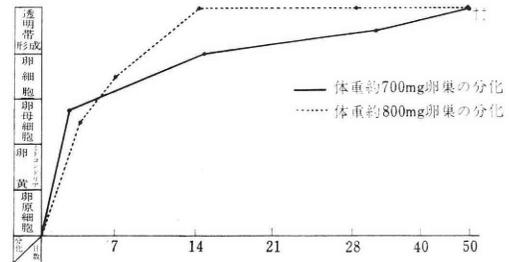


表 2

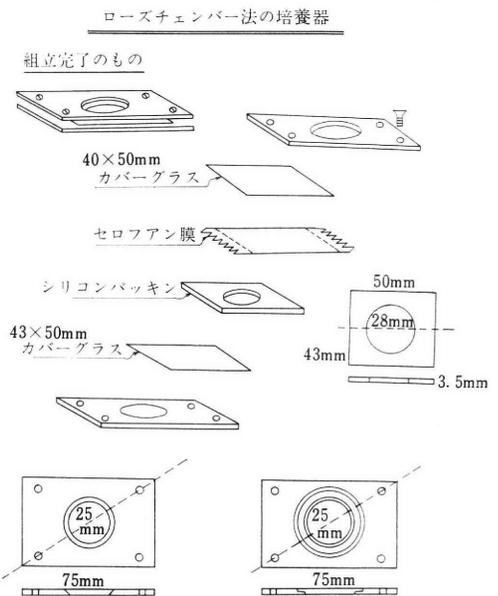


用した。体重毎の培養を行なつた日数とこれに伴う卵分化の様相を概略的に示したものが表 1 および表 2 である。

第 2 章 実験方法 (I)

妊娠はつかねずみを断頭または撲殺し、これをアルコール消毒するが、その良不良は後の培養に大きく影響する。消毒が十分でないとき雑菌感染を起こして培養不能と

図 1



なることがしばしばである。

次に十分に滅菌した手術用具を用いて胎仔をとりだし、滅菌 Hanks 液に入れて 2~3 回余分に附着した血液等を十分に洗い流す。この胎仔を実体顕微鏡下に開腹し、腎臓周辺に附着する卵巣を摘出し、スリガラス板上で細切し、ローズチェンバー (図 1) にセットする。組織片はカバーガラスとセロファン膜の間に入れ 4 隅をボルトで軽くしめた後、セロファン膜を両側に引き組織を扁平にする。培養液は 199 液を基礎に 仔牛血清を 20% の割に加え、さらに 1 ml 当り 200 単位のペニシリンを加えたものを注射器でシリコンより注入する。これを 37°C に調節された培養器に入れ培養する。

培養卵についてはズダンⅢ、PAS 染色、アルカリフォスファターゼ、酸フォスファターゼ等の検索も行なつた。

実験方法 (II)

次に卵分化の形態をさらに詳細に追求するために各期の組織を 16 mm 映画をもつて記録した。撮影に用いる材料は一般のものとは異なり、撮影に用いられる光量の影響による変化を除去することが重要である。したがって培養も最も好条件で、長期間培地の交換をしなくても正常な成長を続けることが必要である。

A) 映画に使用した実験材料

1. 卵分化の最も初期の変化は体重約 100~200 mg のマウス胎仔卵巣より得た組織を約 1 週間培養したもので観察した。

2. 卵原細胞の変化には体重約 400~500 mg の卵巣を用いた。このなかで比較的幼若な細胞が卵原細胞で、内容の充実した細胞が卵母細胞である。

3. 卵母細胞の変化は体重約 700~800 mg の胎仔卵巣を用いた。この期では細胞はかなり鮮明で、内部はミトコンドリア状の顆粒が多く、核周辺に集つて激しく運動する。さらに卵の周囲には顆粒膜細胞が集まり、原始卵胞を形成する状態が観察された。

B) 撮影法

撮影機は 16 mm アリフレックスで、すべて微速度撮影を行なつた。条件は 1 秒 1 コマから 5 秒 1 コマ、10 秒 1 コマで、光量は千代田光学 8 V. 40 W のランプを使用、8 V で一定露光を保つために ND フィルターを使用した。

フィルムはイーストマンカラーの 16 mm を用いた。顕微鏡は日本光学位相差顕微鏡、拡大率は 10×20×40×100× の対物レンズと 5×10× の接眼レンズを組合せて用いた。

第 3 章 実験結果

Fig. 1 は体重約 200 mg のマウス胎仔で、上部に胎盤が附着している。

Fig. 2 は体重約 500 mg のはつかねずみ胎仔で、この時期の卵巣では卵母細胞が明らかに認められる。

Fig. 3 は体重約 700 mg のはつかねずみ胎仔。この時期の卵巣は最も組織培養に適しており、卵母細胞から卵細胞に分化する経過を最も著明に認めることができる。

Fig. 5~18 までの写真は体重約 200 mg のマウス胎仔の卵巣を培養して得たもので、Fig. 5 は培養 3 日目である。この時期の細胞は円形で、偽足様突起は出さず、円形のままで生存を続ける。細胞の大きさは約 10~20 μ のものが多く、卵巣実質の細胞群とは形態的に明瞭に区別することができる。細胞はおおむね母組織の辺縁部に集まり、すべて同一型態で存在している。またこの細胞群は自ら遊走して集まつたものではなく、組織培養時に卵巣組織が圧迫されて細胞が押出され、母組織の辺縁部に集まつたものと考えられる。

Fig. 6 は培養後約 5 日経過した組織の変化である。全体的に見てこの時期の細胞は核が大きく種々な変化を示している。

Fig. 7~10 まではそれぞれ 2 日目毎に記録した細胞の変化で、Fig. 10 になると細胞はかなり大きくなり、約 50 μ 位にもなる。さらに進んで Fig. 11~12 までの培養した細胞は分化が急速で、写真のように 2~4 核の巨大な細胞が存在している。矢印は 2 核細胞を示す。この時期は培養約 14 日で、Fig. 13~16 まではそれぞれ著明な変化は認められないが、Fig. 15~16 になると細胞内部の変化は激しく、分裂像が認められる。

Fig. 15 の矢印は分裂中期の初めて染色体の配列が認められる。また Fig. 16 の矢印は染色体が両極に引かれ分裂中期の終りを示す。この変化の過程は約 1 時間で完了する。この分裂では細胞質のくびれは現われず、核分裂のみにとどまる。

Fig. 17~18 は分裂が重なり、多核となり、細胞は漸次大きく変化し、なかには径約 100 μ に達する細胞も現われる。細胞は柔軟性に変化しつつ運動をつづけるが、培養 21 日ころより変性が始まり、卵細胞本来の形態を認め得ずして組織は崩壊し、培養約 28 日で卵巣実質性の細胞のみとなる。

Fig. 19~26 は体重約 500 mg のマウス胎仔の卵巣を培養してえたもので、Fig. 19 は培養後約 7 日経過した卵巣組織内の変化である。母組織の辺縁部には特に目立つて大きな細胞が点在し、この細胞は周囲の細胞とは明ら

かに形態的な相異が認められる。大きさは $30\sim 50\mu$ で核は円形、著明な核小体が $1\sim 2$ 個存在する。核の周囲にはミトコンドリア状の顆粒があつまり、活発な動きが認められる。Fig. 20 は培養後 14 日目の細胞で形態的には卵細胞本来の形に類似してくる。特に核の周囲の変化が強く顆粒は細かく多くなる。

Fig. 21~22 はこの細胞の種々の形態を集録したもので、最も変化の早いものでは約 1 時間で外形が全く変わってしまう。

Fig. 23~24 は培養約 27 日経過した細胞の変化で、卵細胞に分化し、大きさ約 $80\sim 100\mu$ のものが多い。核の周囲に存在する顆粒は次第に細くなり、この顆粒はおよそ $2\sim 3$ 種に区別されると考えられる。

1 つは明らかにミトコンドリアで、他は明らかでないが、この時期から卵黄が形成され初めるとも考えられるので、原形質の明度の変化およびズダン染色から卵黄によつて起る変化と考えられる。Fig. 25~26 は培養後約 30 日経過したもので、未熟ではあるが全く卵細胞の形態を示す。大きさ約 100μ 位のものが多く、特に細胞内部の変化は著明で、核の周囲に集まつた顆粒はさらに細くなる。

Fig. 27~34 までの変化は体重約 700 mg のマウス胎仔の 21 日間の変化である。この時期の卵巣は最も培養が容易で培養 3 日で明らかな卵細胞が認められる。卵細胞内部にはこれという変化は認められないが、卵細胞周囲の細胞群が目立つて変化し、培養後約 14 日のものでは卵細胞周囲に上皮性と思われる細胞が集まり、分裂増殖している。Fig. 33 で矢印はこの細胞の分裂像を示す。

Fig. 35~42 の変化は体重約 700 mg マウス胎仔の卵巣を約 21~35 日間継続培養したもので、細胞内の変化は前記と同様であるが、この時期からはむしろ卵細胞周辺部の変化が著明となる。すなわち卵細胞をつつむように周囲の細胞群が集まり、この形態は実質性細胞とも明らかに異なる。この変化は原始卵胞の形成に近い変化と思われる。また卵細胞膜部には透明な間隙が認められ、この時期で透明帯状の変化が著明となる。この透明帯は PAS 陽性、アクリジンオレジン陽性で酸性ムコ多糖体である。

Fig. 43~50 は体重約 800 mg のはつかねずみの卵巣組織の変化である。Fig. 43 は培養後 3 日の変化で、この時期の卵細胞は特に充実した形態で認められる。Fig. 45 は培養後約 7 日経過したもので、卵細胞は Fig. 19 で約 21 日経過したものと同程度の分化形態を示す。卵細胞の周囲には明らかに原始卵細胞形成と考えられる形態を示す。この時期の組織では培養約 14 日経過したもの

では卵細胞は未熟卵の形態でしかもその周辺部を透明な部分が帯状にとりかこみ透明帯の形成が著明に認められる。Fig. 48 の矢印は最も著明に認められた透明帯である。

Fig. 51~58 は培養約 15~30 日経過したもので、組織内の卵細胞はほとんど透明帯を形成し、Fig. 57 は本来の成熟卵に近い形態にまで分化している。

Fig. 59~60 は体重 800 mg のはつかねずみ胎仔の卵巣を 60 日間継続培養した結果で、卵細胞内部の変化はあまり明らかではないが、周辺部は全く変化し、すべて透明帯を形成するも明らかな卵胞の形成は認められない。特に組織の実質からはなれた卵細胞の透明帯は巾が広く、矢印に示す (Fig. 64) 形態をとり漸次変性する。Fig. 64 は最も変化の進んだもので卵細胞内部も変性し、卵細胞の形態は崩壊している。

卵細胞のアルカリフォスファターゼは核小体に強陽性、核質および原形質も中等度陽性となっているが透明帯は陰性である。

以上のような卵母細胞培養の動態を 16 mm 映画撮影し、写真に見られる変化をさらに動的にとらえた。

第 4 章 考 察

原始胚細胞の起源および移動については他の細胞と判別が困難なためもあつて不明な点が多かつたが、Alkaliphosphomonoesterase が細胞質に非常に豊富なことがわかつて急速に進歩した。

Witzchi はヒトの胚細胞の移動は能動的な運動によるもので、この運動の方向は性腺領域の腹膜から分泌されるある種の物質に影響されることを示した。

また Chiquoine, Mintz, Russel 等ははつかねずみについて研究し、 $2\sim 3$ 体節の卵黄囊上皮に胚細胞が存在し、これが次第に性隆起に移動し、12 胎生日にはこの移動が完了するといわれている。著者も 100 mg マウス胎仔の卵巣を培養し、これを 16 mm で連続撮影したところ、胚細胞の非常に活発な運動を観察することができた。

卵母—卵胞関係について Martinovitch は直径 $50\sim 55\mu$ の成熟卵が卵胞上皮なくして発育することから初期の卵発育に卵胞上皮の存在は必ずしも必要でないとのべた。著者の実験では Oocyte はその被包細胞より脱れ、培養液中に遊離すると、なお数日間は Cytolysis の徴候を示さないが、培地中で直径は増加しなかつた。したがつて培地での Oocyte の分化発育にとり卵胞上皮の存在は必要不可欠なものと考えられる。この卵胞上皮の起源についてはなお不明の点が多いが、培養の初期では基質を形成する結合織に非常に類似し、In vivo での

単層扁平上皮にかこまれた原始卵胞上皮を思わせる。

それが培養数週にして *in vivo* の一次卵胞に見られるような上皮様形態に変化する。また興味のあることは培養中卵のあるものが巨大になることで、時には 100μ 以上にも達した。卵の発育が進むにつれて種々の Organelles が原形質中に増加した。

また、大型の Oocyte はより多量のグリコーゲンとリピドを含有していることが明らかとなった。しかしこの複雑な過程の解明にはなお非常に多くの解決困難な問題が横たわっていることが予想される。

胎仔のうちでもとくに幼若な体重およそ 200 mg 前後の卵巣では活発な有糸分裂像が認められた。Ioanon も胚細胞の分裂をモルモットについて観察し、受胎後 28 日目に分裂の活性はピークに達し、受胎後 52 日目にはほとんど停止すると述べた。

卵の新形成が胎生期以後もずっと性成熟期を通じて胚上皮の細胞分裂により生ずるとする説 (Edgar, Allen, Swezy & Evans, Simkins, Ottoschwarz) もあるが、著者の培養実験より考えると性腺の形成時より存在を続けている Oogonia の分裂によつてのみ Oocyte の増殖は生ずると思われる。これについては Jones, & Krohn, Peters, Leny, Baker 等の研究と一致する。すなわち彼等によれば新しい性細胞の形成は出生前または生直後に停止し、それ以後には起らないという。

Martinovitch は白ねずみ卵巣を約 1 カ月にわたって培養したが、培養期間中に透明帯の形成は観察されなかつたと述べた。しかし著者の実験では体重約 700 mg のものでは培養約 14 日後に卵周辺に透明な膜が形成され、これを PAS 染色すると赤染してムコ多糖体であることが判明した。これは Blandau の実験結果に一致する。透明帯の起源についてはこれを卵にもとめるもの (Fisher, O'Donoghue, Hartman, Mainland 等) と、他方これを顆粒膜細胞に由来するもの (Waldyer, Retzius, Van der Stricht, Trujillo-Cenoz, Sotelo 等) および透明帯を内膜と外膜に区別し前者は卵に後者は卵胞上皮に由来するとするもの (Champy, Gley) があり、今はなお不明の点が多い。

結 論

(1) 体重約 100~200 mg のはつかねずみ胎仔の卵巣を組織培養したもので、原始胚細胞から卵原細胞までの分化の過程が培養約 21 日間で認めることができる。培養後約 7 日で細胞の核分裂の頻度が高く、次第に多核の巨大細胞に変化する過程が認められる。

(2) 体重約 500 mg のはつかねずみ胎仔卵巣の変化は

卵原細胞から始まり、培養を継続するにしたがつて次第に分化を進め、1 次卵母細胞に近いものまで記録することができた。

この時期の培養は特に長く、変化も長期にわたり観察することができた。特に卵細胞内部の変化が激しく、ミトコンドリアと思われる顆粒の変化は明らかで、さらに培養後半では卵黄と思われる物質の生産もなされる。培養約 21 日経過した細胞の周辺では実質性の細胞も変化し原始卵胞形成の原型を思わせる変化も認められた。

(3) 体重 700 mg のはつかねずみ胎仔の卵巣組織の変化は著明で、培養約 7 日を経過したものでは卵原細胞は成熟し、培養約 14 日頃より細胞の周辺に透明帯が形成される。しかし完全な卵胞形成は認められない。

(4) 体重 800 mg のはつかねずみ胎仔の卵巣では培養直後から卵細胞と認められるものが母組織辺縁部に存在し培養を継続するにしたがつて透明帯が明らかに認められた。培養約 50 日で卵細胞並びに周辺の組織には変性がおこり漸次崩壊する過程が認められる。以上のごとく、組織培養法を用いて卵巣組織の変化をかなり詳細に追求することができた。然し組織培養で得た結果は組織標本で検索したものとはかなり異なる点も認められた。特に組織培養法では完全な卵胞の形成は認められず、かなり早期に透明帯の出現が認められるが、この点はさらに研究する必要があると思われる。

また組織化学的検索は目下継続中であるが、さらに電子顕微鏡による細部の形態についても追求することが必要であろう。

稿を終るに臨み終始御懇篤な御指導をいただいた恩師林基之教授及び元東邦大学解剖学教室浅香時夫先生に深甚なる謝意を表すると共に医局員各位の御協力を感謝致します。

参考文献

- 1) Allen, E. Pratt, J. P.: Contr. Embryol. 414, 22-45(1930).
- 2) Blandau, R. J.: Fert & Steril 14: 482(1963).
- 3) Blandau, R. J.: Fert & Steril 19: 705(1965).
- 4) Champy, Ch: Arch. Zool. Exp. 60: 461-500(1920).
- 5) Champy, Ch & Gley, P. Arch. Anat. Micr 19: 241(1923).
- 6) Champy, Ch. & Morita Arch. Exp. Zellforsch 5: 308-40(1928).
- 7) Chiquoine, A. D. Anat. Rec. 118: 135-145(1954).
- 8) Dantschakoff, W. Z. Zellforsch. mikr. Anat. 5: 581-644(1932).
- 9) Dantschakoff, W. Bull. Biol. 70: 241-307

- (1936).
- 10) Fischer, A. *Anat. Hefte.* 89 : 329-338(1935).
 - 11) Fano, G. & Garofolini, L. *J. Physiol* 63 : vi-vii(1927).
 - 12) Fano, G. & Garofolini *Arch. Sci. Biol.* 12 (1928).
 - 13) Hartmann, C. G. *Am. J. Anat.* 37 : 1-51(1926).
 - 14) Honda, Jap. *J. Fert. & Ster.* 10 : 25(1965).
 - 15) Ingram, D. L. *J. Endocrin.* 14 : 155-159(1959).
 - 16) Ingram, D. L. *J. Endocrin.* 19 : 117-122(1959).
 - 17) Ioanou, J. M. *J. Embryol. Exp. Morph.* 12 : 673-691(1964).
 - 18) Iones, E. C. *The aging ovary.* Thesis. Univ. of Birmingham(1957).
 - 19) Jones, E. C. & Krohn, P. L. *J. Endocrin* 21 : 469-96(1961).
 - 20) Long, J. H. *Cont. Embryol. Carneg. Inst* 172 : 89(1940).
 - 21) Maccabruni, F. *Ann. Obst. Gynec.* 1 : 57-65 (1913).
 - 22) Mainland, D. J. *Anat.* 62 : 139-158(1928).
 - 23) Martino, *Nature. Lond.* 139-413(1937).
 - 24) Martinovitch, *Proc. Roy. Soc.* 125 : 232-249 (1938).
 - 25) Mintz, B. *Anat. Rec.* 127 : 335(1957 A).
 - 26) Mintz, B. *J. Embryol. Exp. Morph.* 5 : 396 (1957 B).
 - 27) Mintz, B. *Anat. Rec.* 122 : 443(1955).
 - 28) Mintz, B. & Russel, E. S. *J. Exp. Zool.* 134 : 207(1957).
 - 29) Mihailoff, W. Z. *Zellforsch.* 26 : 174-201(1937).
 - 30) Mjassojedoff, S. W. *Arch. mikr. Anat.* 104 : 1-24(1925).
 - 31) Muratori, G. *Arch. ital. anat. embryol.* 35 : 397-412(1935).
 - 32) Muratori, G. *Cont. Embryol.* 154(1937).
 - 33) O'donoghue, C. H. *Anat. Anz.* 41 : 353-368 (1912).
 - 34) Olivo, M. O. *Arch. ital. anat. embryol.* 33 : 718-25(1934).
 - 35) Otto, H. Schwarz, *Am. J. Obst. & Gynec.* 58 : 54-64(1949).
 - 36) Retzius, G. *Biologische Untersuchungen Jena.* Chap. 8 : 45-50(1912).
 - 37) Simkins, C. S. *Am. J. Anat.* 51 : 465(1932).
 - 38) Sotelo, J. R. *J. Biophys. Biochem. Cytol* 5 : 327-342(1959).
 - 39) Swezy, O. & Evans, H. M. *J. Morph & Physiol.* 49 : 543(1930).
 - 40) Trujillo-Cenoz, O. *Ibid.* 5 : 347-348(1959).
 - 41) Van, der. Stricht, *Arch. Biol.* 27 : 585-722 (1912).
 - 42) Waldyer, W. *Eierstock und Ei Leipzig*(1870).
 - 43) Wermel, E. M. *Z. Zellforsch.* 13 : 545-65 (1931).
 - 44) Wermel, E. M. *Arch. Exp. Zellforsch* 14 : 554-73(1933).
 - 45) Witschi, E. *Contr. Embryol.* 32 : 69-80(1948).
 - 46) Wolf, E. K. & Zondek, *Virchows. Arch.* 254 : 1-16(1925).

Studies on the Ovogenesis of the Mice Embryos Using Tissue Culture Method.

Wakamaro Ogawa

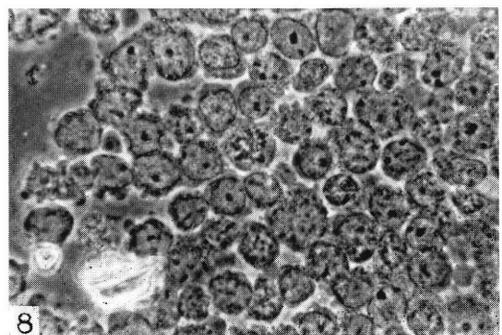
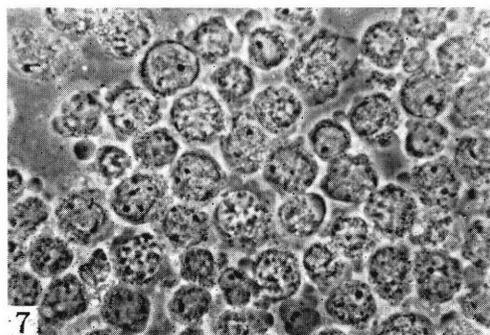
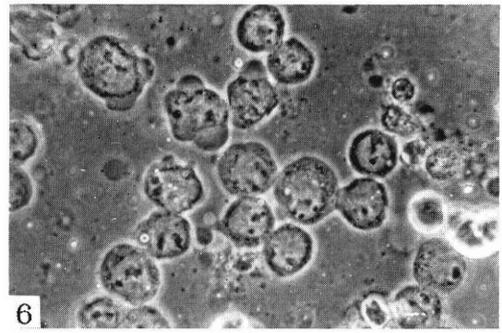
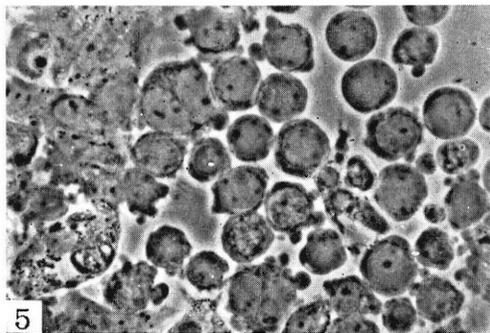
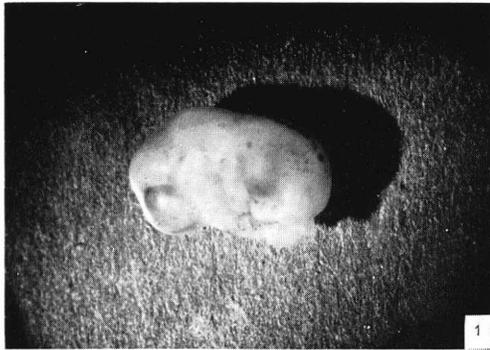
Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Toho University, Tokyo.
(Director : Motoyuki Hayashi)

The development and differetiation of the ovary in white mouse embryo(from post conception to delivery) were studied morphologically using tissue culture method. The phasecontrastmicroscopy and 16 mm cinematography were mostly utilized.

The maturing degrees were marked by measuring the bodyweights of embryos. In the ovary of about 200 mg embryo some oogonia were appeared about one week after culture. And very active mitosis was shown. Moreover sometimes large polynuclear cells were also appeared. But further differentiation did not occurred at these experimental groups. Then, all of these explants degenerated about one month after tissue culture. On the other hand as the maturation of embryo more proceed, development and differentiation of their ovaries were clealy accelerated and then in the cytoplasm, fine granules which were supposed as mitochondria were appeared around its nucleus abundantly. Also the formation of zona pellucida was observed. And yet all oocytes in the explants were surrounded by one or more layers of follicle cells. This structure was very similar to the prototype of primitive follicle.

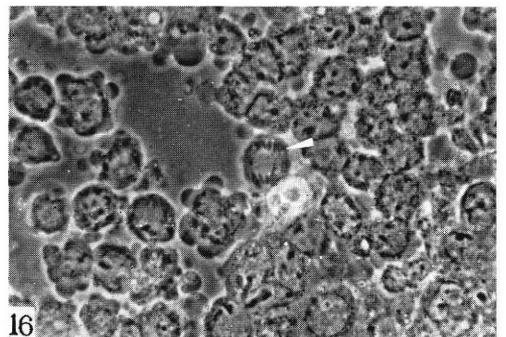
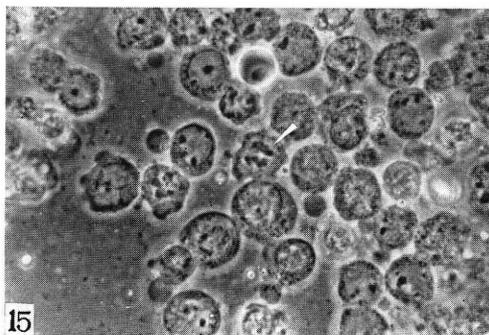
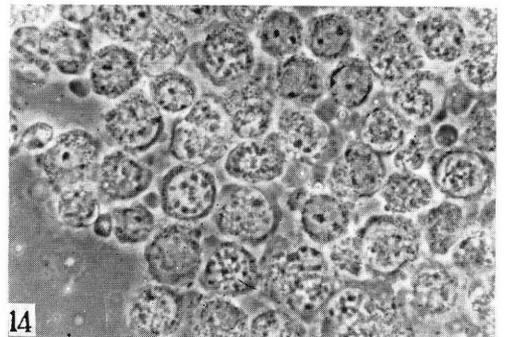
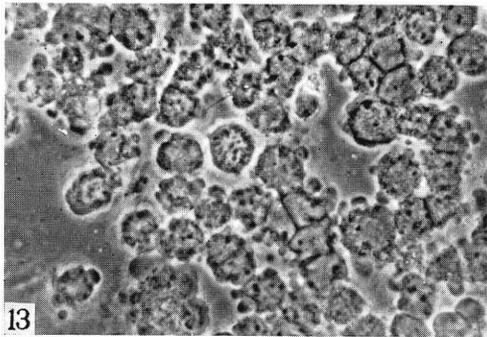
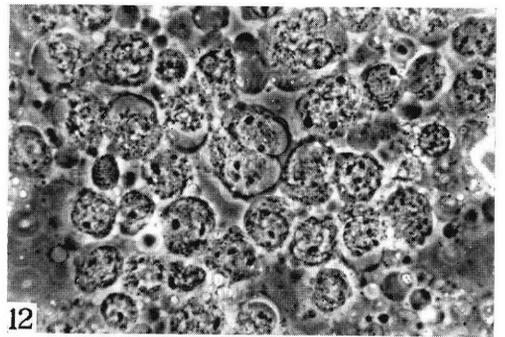
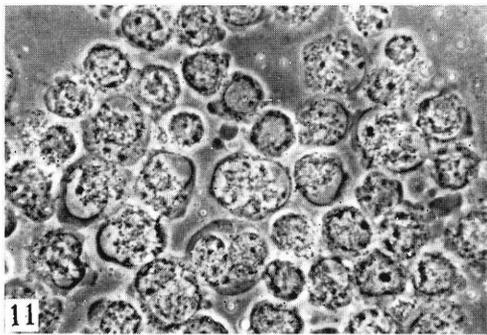
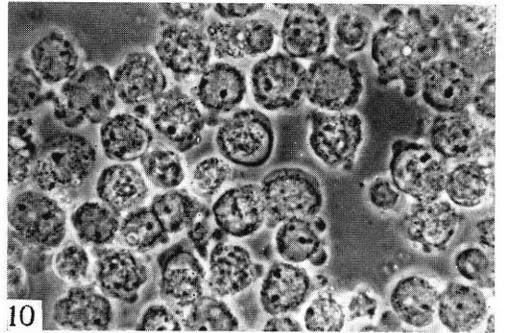
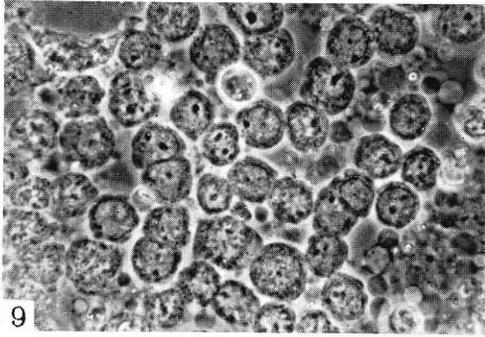
於川論文付図(1)

Fig. 1~8



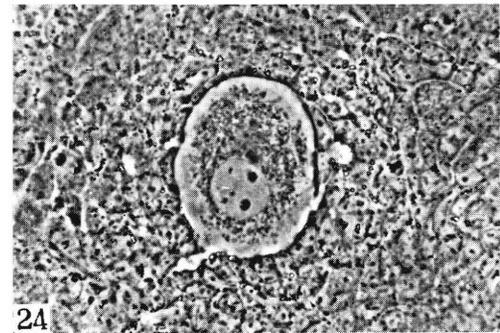
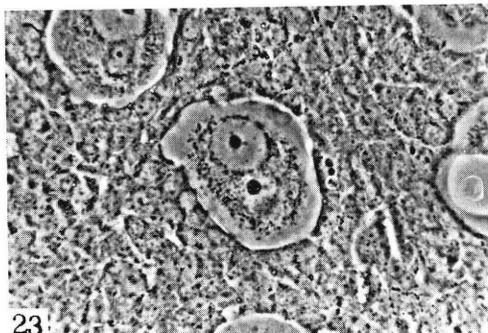
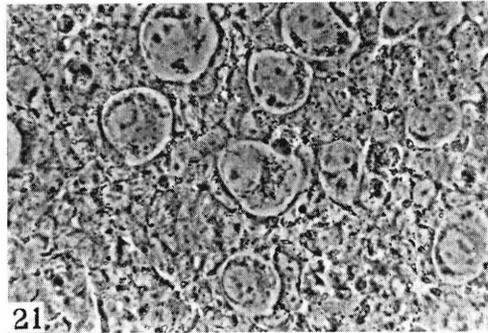
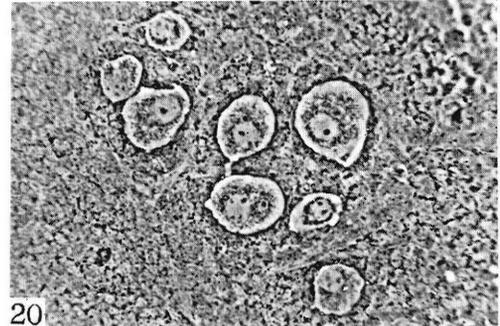
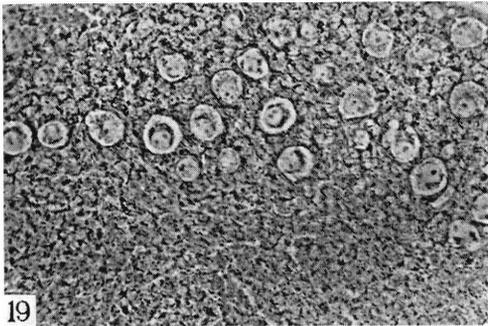
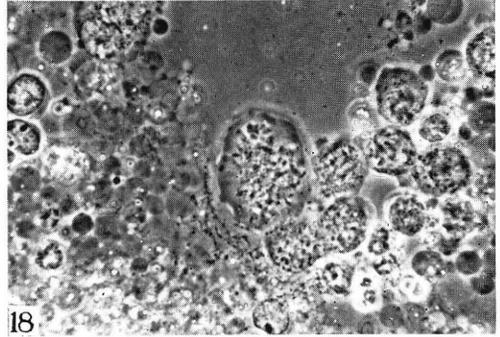
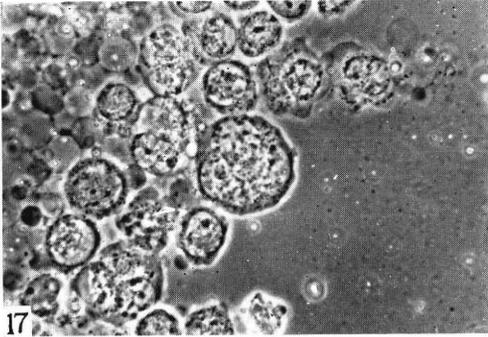
於 川 論 文 付 図 (2)

Fig. 9~16



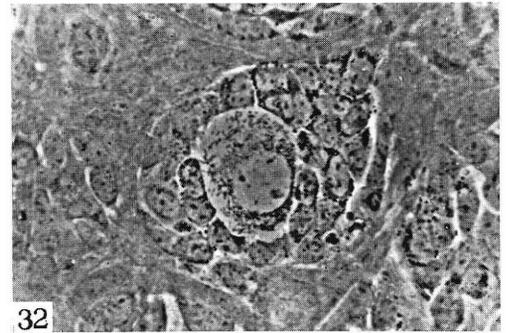
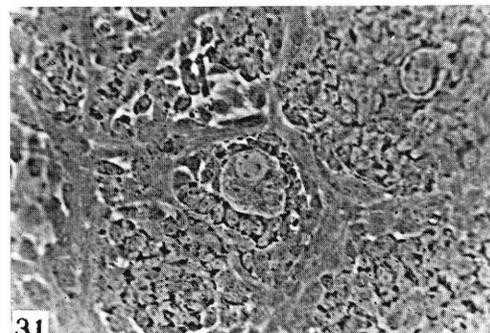
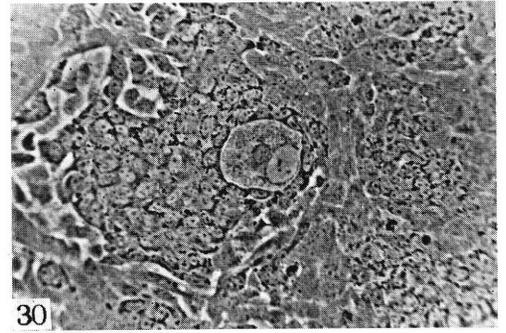
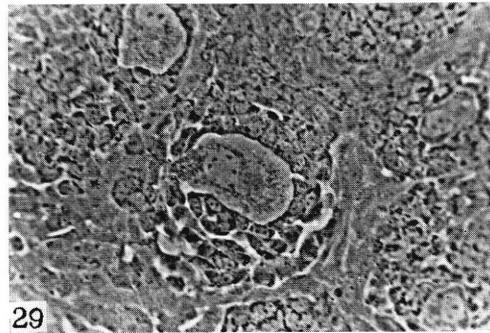
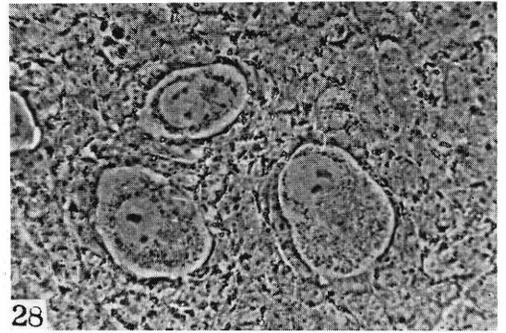
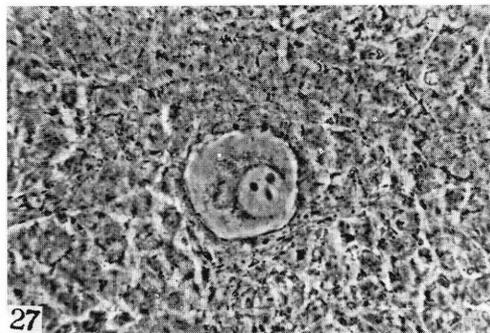
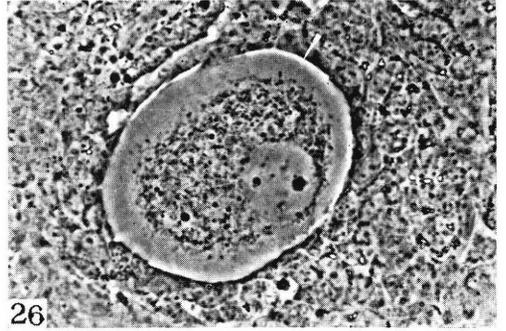
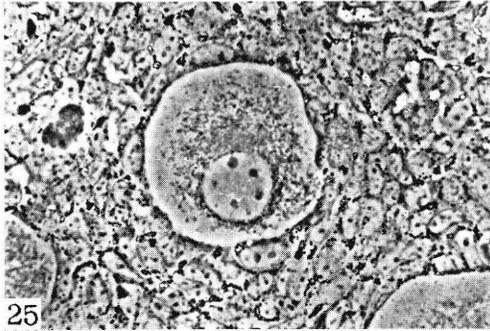
於川論文付図(3)

Fig. 17~24



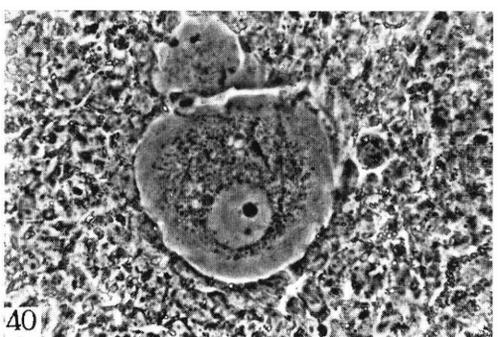
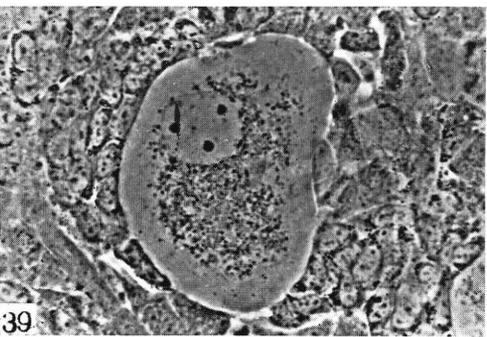
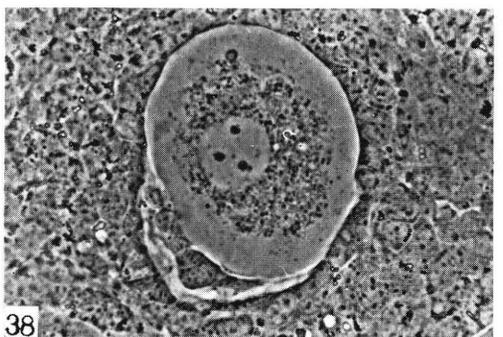
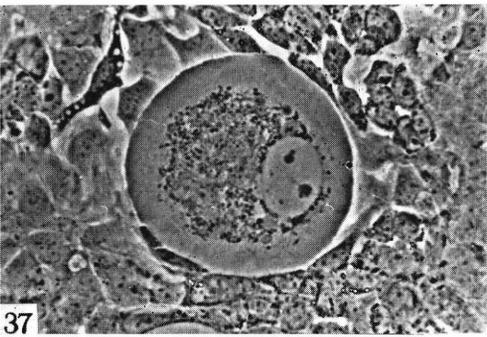
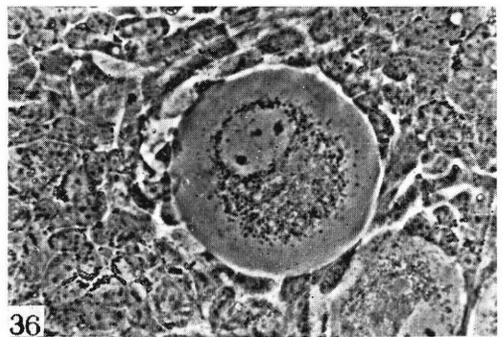
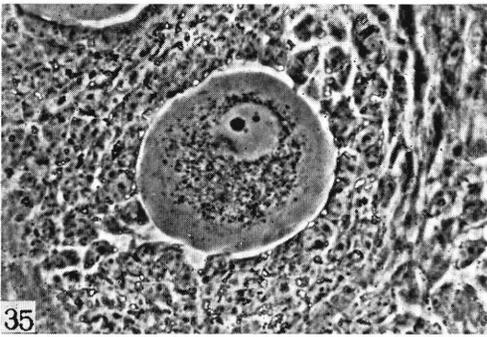
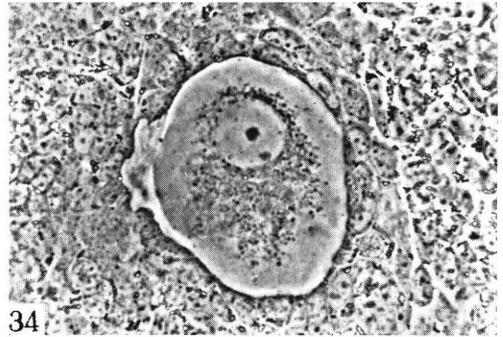
於 川 論 文 付 図 (4)

Fig. 25~32



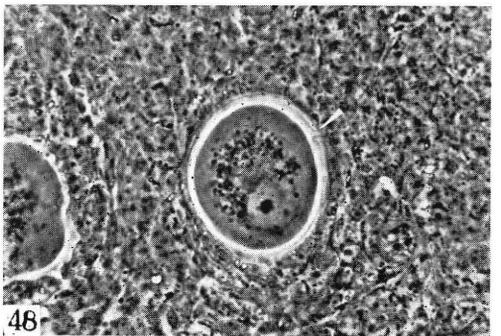
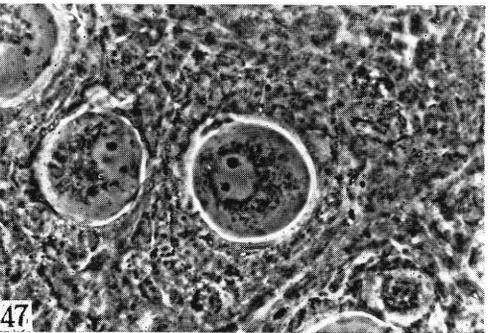
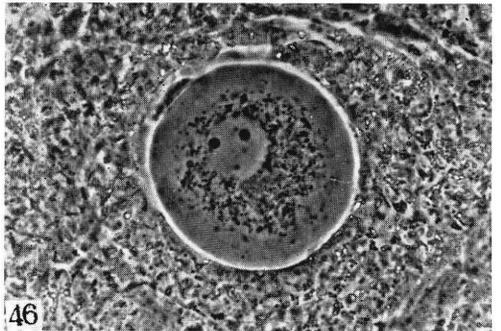
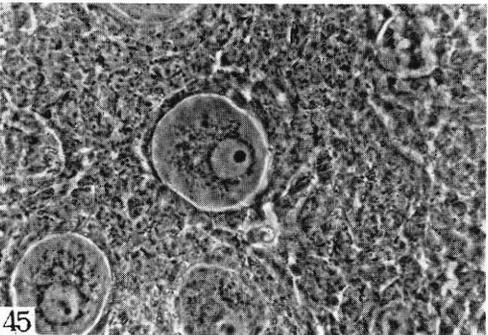
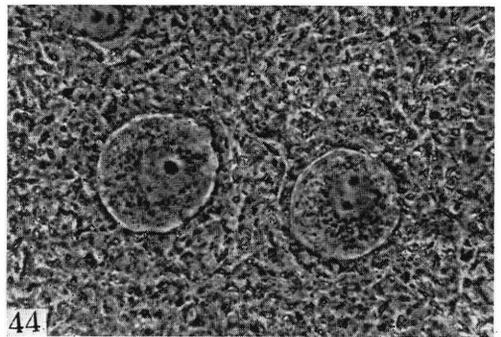
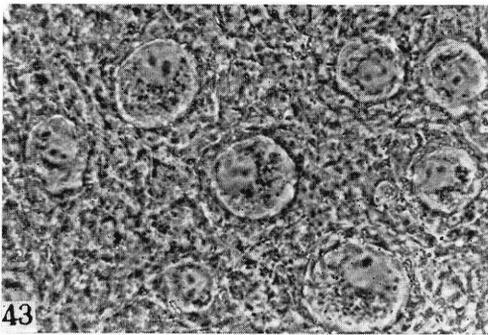
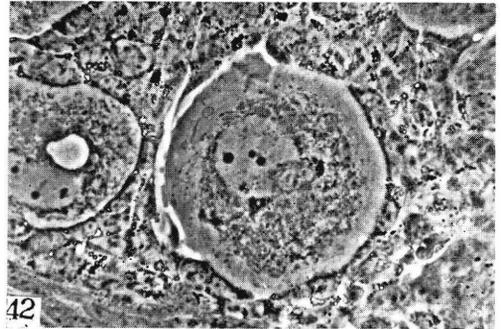
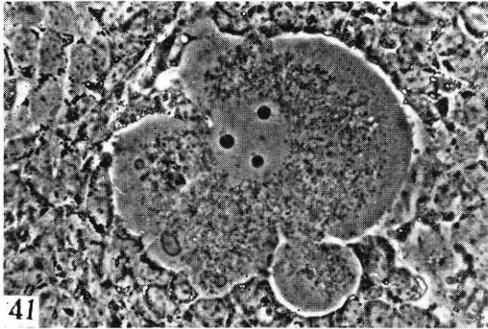
於川論文付図(5)

Fig. 33~40



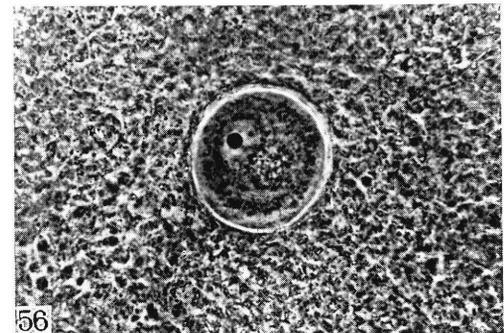
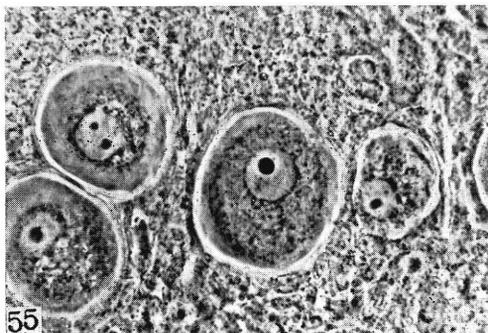
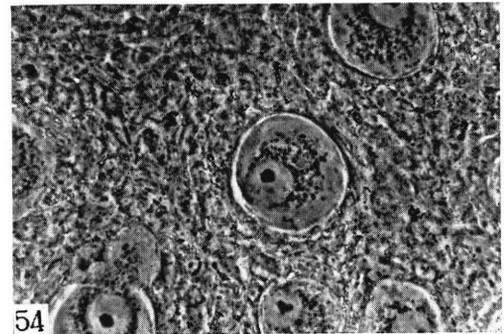
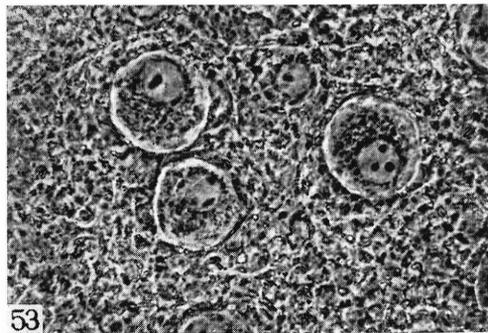
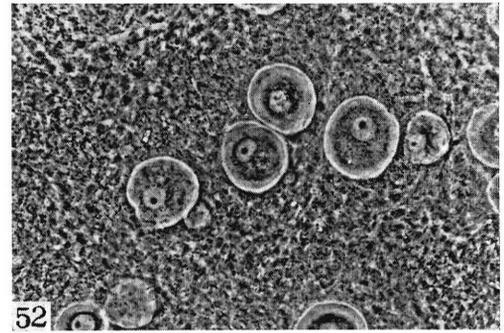
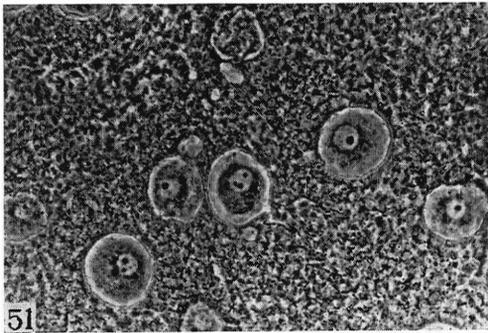
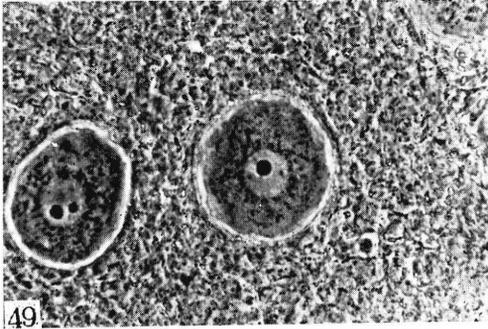
於 川 論 文 付 図 (6)

Fig. 41~48



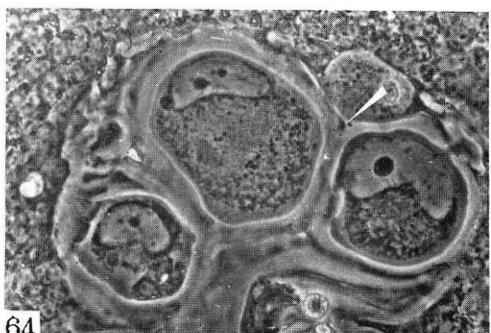
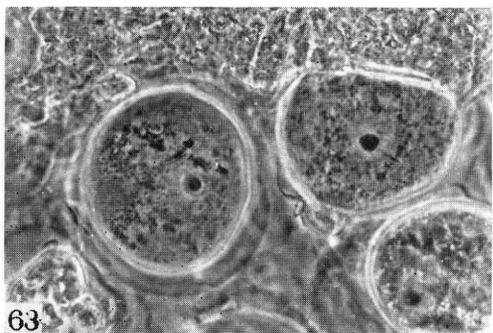
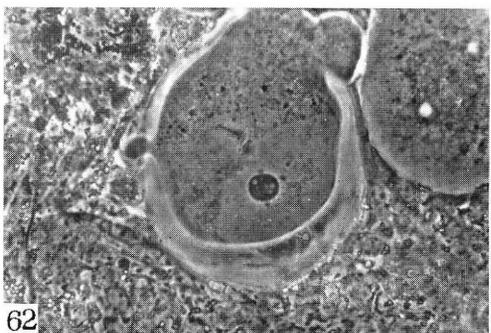
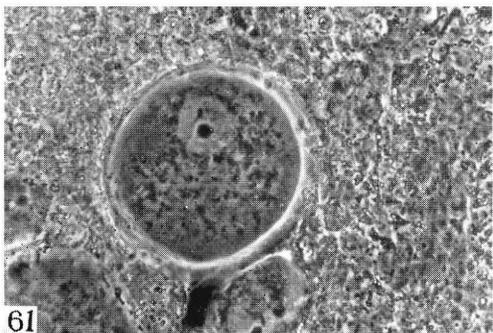
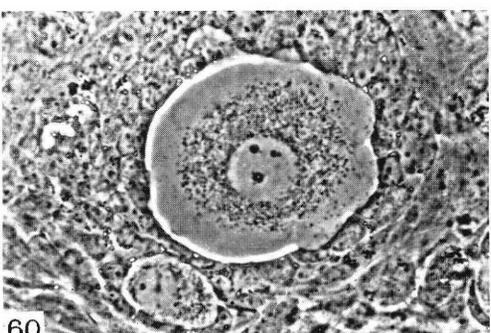
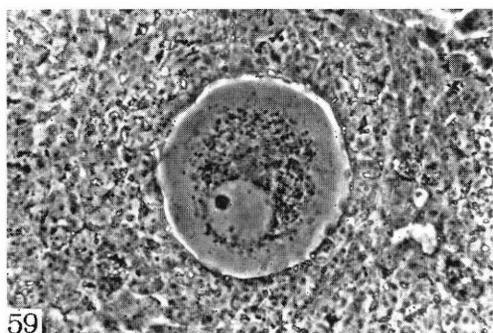
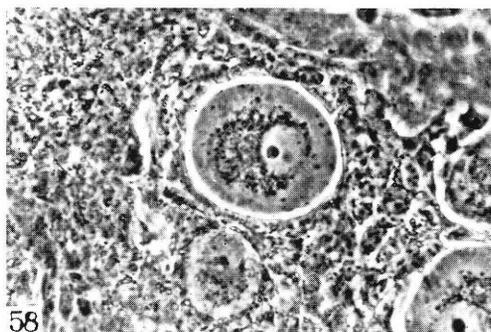
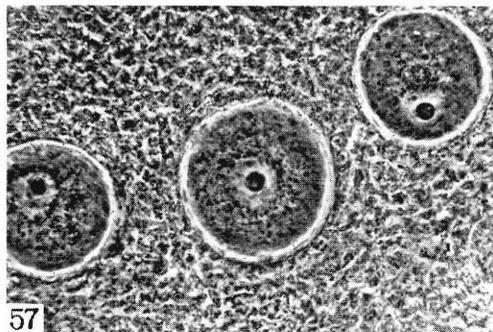
於川論文付図(7)

Fig. 49~56



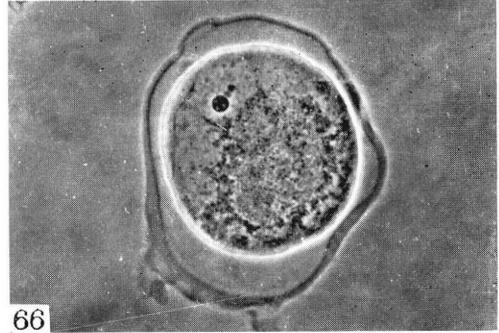
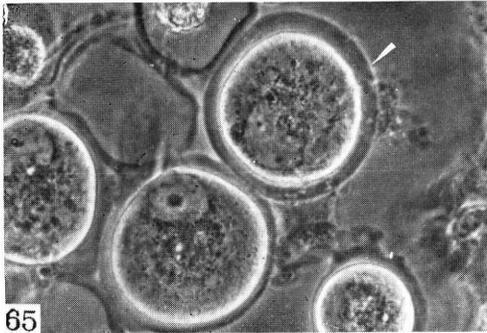
於 川 論 文 付 図 (8)

Fig. 57~64



於川論文付図(9)

Fig. 65~66



写真説明

- Fig. 1 体重約 200 mg のマウス胎仔の外形。
 Fig. 2 体重約 500 mg のマウス胎仔の外形前面。
 Fig. 3 体重約 700 mg のマウス胎仔の外形。
 Fig. 4 体重 800 mg マウス胎仔の外形。
 Fig. 5~12 体重約 200 mg のマウス胎仔の卵巣を組織培養したもので、培養 3 日より 10 日までの細胞の変化である。
 Fig. 13~18 同じく 200 mg の卵巣を培養約 15~30 日までの経過で、矢印は核分裂を示す。
 Fig. 19~26 体重約 500 のマウス胎仔の卵巣を培養したもので写真は約 7 日経過したものから始まり 30 日まで連続培養した変化である。
 Fig. 27~34 体重 700 mg の卵巣を 21 日間連続培養した時の変化を示す。
 Fig. 35~42 同じく 700 mg の卵巣を約 21 日から 35 日まで培養した時の経過。
 Fig. 43~50 体重約 800 mg の卵巣を培養開始より 14 日迄の変化を示す。
 Fig. 51~58 体重 800 mg の卵巣を培養約 15 日から 30 日迄の変化で、この時期で図の矢印の如く透明帯が認められる。
 Fig. 59~66 800 mg の卵巣を約 50 日間連続培養した変化で、特に透明帯の形成とその変化過程を示す。矢印 (Fig. 64) は培養長期のため卵細胞に起る変性を示す。

MEDICAL ANALYSES AND SOCIOLOGICAL SIDE LIGHTS OF HETEROLOGOUS ARTIFICIAL INSEMINATION

Rihachi IZUKA, M.D., Yosiaki SAWADA, M.D., Hidetoyo KOI, M.D.,
Michie OHI, M.D., Nobuhiro NISHINA, M.D.,
Toshihumi KOBAYASHI, M.D., and Toshiro NAKADA, M.D.

From the Planned Parenthood Consultation Clinic, Department of Obstetrics and
Gynecology, Keio University, School of Medicine, Tokyo, Japan.

Summary: The history and the present status of heterologous artificial insemination (AID) in Japan were described in the hope of providing a certain basis for better understanding of this type of insemination and of the recent controversies regarding this procedure. The results of AID, which have been performed on approximately 5,000 women at the Planned Parenthood Consultation Clinic of Keio University Hospital in Tokyo, during these 19 years, were analyzed from various medical viewpoints, such as the conception rate, the course of pregnancies, the birth-weight and the sex ratio of infants, variables from inseminations for the second AID child or from those with frozen human semen, and the physical and mental development of AID babies after birth. Sociological side lights of AID, especially, the educational, economic, professional and religious backgrounds of candidates, as well as their motivation for this procedure, were also evaluated on the basis of the questionnaires which had been sent out to 900 candidate couples.

CONTENTS

- A. History of artificial insemination with donor's semen (AID) in Japan.
- B. Methods and procedures for AID.
 - 1) Preliminaries for insemination.
 - (a) Indications.
 - (b) Document of agreement.
 - (c) Choice of the semen donor.
 - 2) The method of insemination.
- C. Some medical analyses of AID and babies born following this procedure.
 - 1) Results of inseminations during the last two years.
 - 2) Inseminations for second AID babies.
 - 3) A recent advance in AID—Freezing-preservation of human semen.
 - (a) Method of freezing semen.
 - (b) Results of AID with frozen semen.
 - 4) Physical and mental development of AID babies.
 - (a) I.Q's or D.Q's of AID babies.
 - (b) Physical development of AID babies.
- D. Some sociological aspects in regard to candidates for AID.
 - 1) age.
 - 2) professional and educational background.
 - 3) economic situation.
 - 4) motivation.
 - 5) religion and beliefs.

The authors are indebted to Professor Emeritus Kakuichi Ando, and Professor Yukio Notake, Chairman of the Department, for their valuable advice throughout this study. Sincere thanks are due to Miss Mitsuko Nakayama for her constant assistance.

Legalistic or religious controversies regarding the procedure, as well as the possible future outcome of heterologous insemination, have increased gradually throughout the world during recent years. Heterologous insemination or artificial insemination with donor's semen (AID) has, however, become one of the most valuable therapeutic procedures in the medical treatment of couples, the husband of which was found to be incurably sterile. It was in 1948, at the Planned Parenthood Consultation Clinic of Keio University, that the first AID in Japan was performed, and the number of women who have undergone this procedure at this clinic during the past nineteen years exceeds 5,000. This number may be considered to represent most all of the AIDs which have been performed in this country to date.

Nevertheless, no attempts to obtain legislation pertaining to artificial insemination have yet been made in this country. Legalistic obstacles, therefore, to artificial insemination and to the baby born following this procedure have not been completely excluded.

The purpose of this paper is, first, to introduce the history and the present status of AID in Japan, including various preliminaries which are routine at our clinic, as well as a recent advance in the procedure. Also, it will attempt to present some of the sociological aspects of AID on the basis of analyses of questionnaires filled out by candidates for this procedure. Evaluation of the physical and mental development of babies born following this type of inseminations is also reported.

A. History of AID in Japan

The history of artificial insemination in this country is shorter than in the United States and some European countries. Only 19 years have passed since the first AID in Japan was performed at this clinic in 1948. In 1949, the first report on the birth of an AID female baby was made by physicians of this clinic. Since then, this procedure has become one of the most valuable therapies for treating sterility.

During the past nineteen years, several hundreds of women have undergone AID every year, due mainly to azoospermia in the husbands and the couple's desire to have children. The total number of patients who have been inseminated during these years exceeds 5,000, the

conception rate in these women being around 40%, based on our observations on 2,853 women inseminated during the period from 1956 to 1964 (Table 1).

Table 1. Results of AID at Keio University Hospital during the past eleven Years

Year	No. of women inseminated	No. of successful cases	Conception rate
1956-1958	341	160	37.1%
1959-1961	881	384	43.3
1962-1964	1,631	676	41.5
1965-1966*	1,531	239	

* Only 947 of the questionnaires to patients inseminated during 1965-1966 were returned.

Some of the university hospitals and public hospitals in this country have also started to utilize this procedure for treating sterility, although on a much smaller scale, during the past few years.

B. Methods and Procedures for AID

1) Preliminaries for inseminations.

(a) Indications: The indications for which AID is performed at this clinic are as follows: (1) Absolute male sterility such as azoospermia, aspermia, and extremely severe oligospermia, (2) hereditary disease of the husband, the propagation of which is inadvisable, and (3) incompatibility of blood types between the couple, from which an undesirable outcome of the pregnancy could be anticipated. Among them, the first indication tends to be extremely predominant at this clinic.

(b) Document of agreement: Both partners of a couple who wish to have AID are requested to sign a document pertaining to performance of AID on the wife, although this is not a legal requirement. The form of this document is shown in Fig. 1.

(c) Choice of the donor: The donors whose semen is used for AID at this clinic are young and healthy students of this medical school. Therefore, they are well aware of the significance of this procedure and are readily available for physical and mental examinations, if necessary. The samples of semen, collected from these selected donors, showed mostly

Fig. 1. The Document of Agreement

To the director of the Keio University Hospital :
 We, Mr. and Mrs. _____, hereby request you that insemination be performed on the female partner of us with semen from heterologous donors at your hospital.
 We understand that Keio University Hospital is no way responsible for any untoward results which occur due to this procedure.
 Date _____
 Signed by _____ (Signature of husband)
 _____ (Signature of wife)
 Address _____

$\geq 50 \times 10^6$ or more in sperm count and 60% or more in sperm motility.

(2) The methods of AID.

In addition to the first two steps of the preliminaries as described above, fertility of the wives will be thoroughly evaluated to exclude any obstacles to achievement of impregnation, prior to performance of inseminations. At this clinic, therefore, routine examinations which consist of six series of items are imposed on each patient prior to initiation of AID, as follows ; (1) daily recording of basal body temperature, (2) histological evaluation of the uterine endometrium, (3) culture of the menstrual flow for tuberculous bacilli, (4) patency test of the Fallopian tubes by means of hystero-salpingography and kimo-insufflation, (5) examination of the cervical mucus, and (6) vaginal cytology. The completion of these series requires at least three months before the results of examinations are completely confirmed.

Those patients with satisfactory results on the preceding examinations are allowed to undergo AID. Inseminations are performed at the optimal time, that is, the days just before the day of ovulation. To determine these days, findings of basal body temperature, vaginal smears and the cervical mucus are evaluated.

A patient diagnosed as being at the appropriate time for insemination is placed upon an insemination table. A small quantity of semen (0.5 ml, as a rule) is poured slowly into the uterine cavity, using a five cubic centimeter syringe with a flexible platinum needle. After resting in bed for an hour, the patient is permitted to rise. Then, she is instructed in the use of antibiotics, which are taken orally during the following 24 hours, and an appointment is made for the next visit, usually two days after the insemination. Repeated inseminations will be given, if necessary, on the second visit and thereafter.

C. Some medical analyses of AID and babies born following this procedure

To provide a medical basis for evaluations of AID, the following four aspects are chosen, including a recent advance in methodology.

1) Results of AID during the last two years.

Results of inseminations in 1,531 women during a two year period from January, 1965, through December, 1966, are as follows : The conception rate during these particular years was found to be 25.2%, although only 947 questionnaires out of 1,531 have been returned to date. It remains to be analyzed why this rate is so lower than that of the preceding nine years (Table 1).

Out of the 239 conceptions during these two years, 129 women had normal full term deliveries. Among the others, 17 had Cesarean sections and 7 forceps deliveries, but all had normal healthy babies. Four women had full-term infants which, however, were stillborn due to obstetrical causes. Fourteen more pregnancies resulted in miscarriages, and 36 have not yet reached term at the time of publication. The remaining 32 women did not report in detail regarding the course of pregnancy.

Table 2. Duration of Freezing-Storage and Post-thaw Survival of the Spermatozoa

Duration of Storage (Days)	No. of Samples	Average Sperm Count 10 ⁶ /ml.	Average Sperm Motility (%)		Mean of Survival Rate
			prefreeze	post-thaw	
1~ 30	21	65	85	61	72
31~ 365	27	77	84	59	71
366~1,401	10	85	66	48	73

As may be seen in Fig. 2, 52.4% of these pregnancies resulted from inseminations within the first 3 cycles, and 90% from those within the first nine cycles.

The sex ratio in 154 full-term babies was found to be 81.2 males to 100 females, that is, 69 boys and 85 girls. This is contrary to observations on sex ratio at this clinic during the nine year period before 1964, which was 111.8 males to 100 females. The average birth weight of the 69 boys was 3,112 gms and that of 85 girls was 3,152 gms (Fig. 3).

2) Inseminations for the second AID baby.

More than 300 women, who had conceived from AID and had been delivered of normal

Fig. 2. Cumulative Frequency of Number of Cycle inseminated

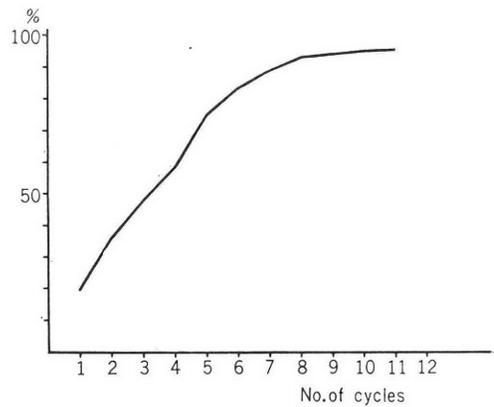
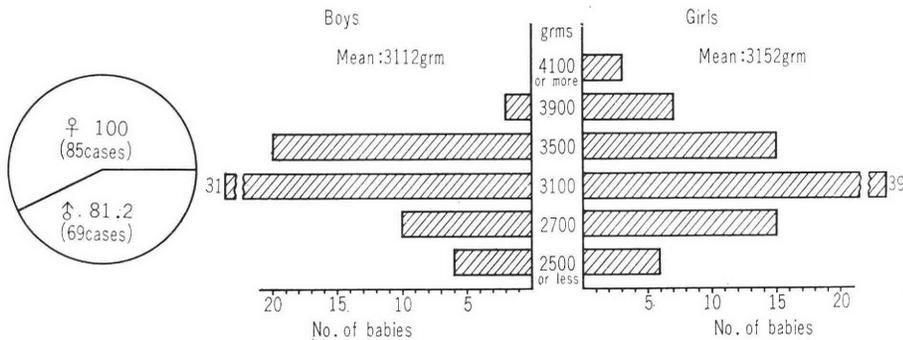


Fig. 3. Sex Ratio and Birth Weight of AID Babies



healthy babies, saw physicians at this clinic with a desire for the second AID child. So far, the number of conceptions following this second series of inseminations has reached 79.

More than 90% of women became pregnant within 7 cycles during this series of inseminations, although they seemed to need one extra cycle of insemination in this series as compared with the number of cycles inseminated for conceptions in the first series (Fig. 4).

The seventy-nine women who conceived in the series of inseminations for the second child were divided into 3 classes according to the interval between the time of delivery of the first baby and that of initiation of the second series of AID, as indicated in Fig. 5. The result of this leads to the conclusion that the initiation of AID for the second baby, if desired, should be as soon as possible after the birth of the first AID child.

As for sex ratio and birth weight of the second

series, there was not any noticeable difference as compared with that of the first series.

3) Recent advance in AID procedures—Freezing preservation of human semen.

Recently, a technique of freezing-preservation of human semen was introduced for inseminations. This technique provides a variety of benefits to humanity through the establishment of human semen banks, as described elsewhere. In 1958, the first report of 4 pregnancies from this type of semen in Japan was made by this clinic, and the number of pregnancies in this category is now approaching 85.

(a) Method of freezing for storage.

The specimens of semen, collected from young and healthy students, are allowed to liquefy, but are no older than one hour at the initiation of freezing. Samples were kept in stoppered ampoules, measuring 7.5 mm. in diameter and 60 mm. in length, so as to provide:

Fig. 4. Cumulative Frequency of Number of Cycle inseminated in Successful Inseminations for First AID Child and Second AID Child

— Pregnant cases following inseminations for the first AID baby
 - - - Pregnant cases following those for the second AID baby

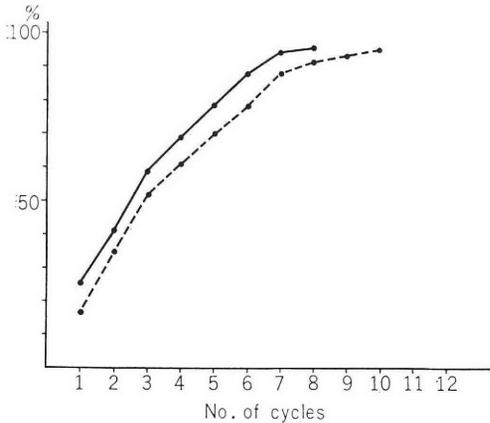
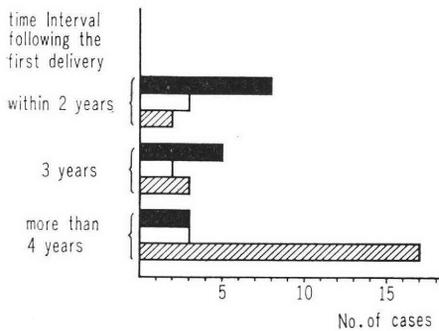


Fig. 5. Time Interval between Delivery of First AID Baby and Initiation of AID for Second Baby, in relation to Number of Cycles inseminated

■ — smaller number of cycles of inseminations was needed in the 2nd series than in the 1st series
 □ — same number of cycles was required
 ▨ — larger number of cycles of inseminations needed in the 2nd series



1 ml. of semen per ampoule. The freezing apparatus consisted of a tin-can containing absolute alcohol in which the ampoules were deposited. Surrounding the can was an 18 by 25 cm. thermos flask containing small pieces of dry ice. Rapid cooling was achieved by plunging the ampoules into cooled alcohol (-79°C) in the tin receptacles. A liquid nitrogen refrigerator (-196°C) has also been used during the past nine months to provide a more stable

storage temperature than that obtained by using the dry-ice method.

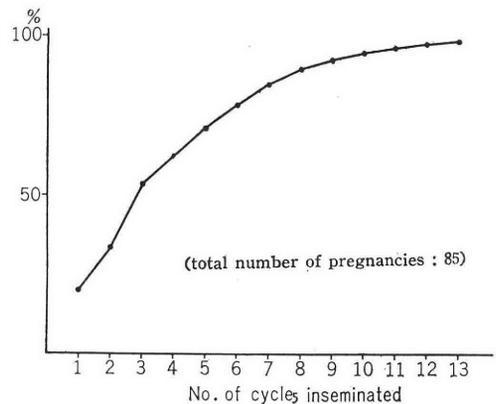
The longest duration of storage was 1,401 days. As may be seen in Table 2, correlation between the post-thaw survival rate of the spermatozoa and the length of storage-duration indicated no decrease in the sperm survival as duration of storage is extended, the survival rate being consistently around 72%. Therefore, it seems reasonable to speculate, on the basis of these observations, that sperm viability can be retained over a decade or a century when the freezing-storage technique is employed.

(b) Results of frozen AID.

As described in the preceding paragraph, the number of conceptions from frozen-stored semen reached 85 at the time of this publication. Fifty-four of these women delivered babies at term. Among these 54 women, 47 were delivered through the vagina and the other 7 by means of Cesarean sections, all being normal healthy babies except for one who was premature due to toxemia but survived. Three had normal full-term babies which, however, were stillborn due to obstetrical causes such as multiple loops of the cord around the neck. Other 11 women miscarried. The pregnancies in 9 out of the remaining 17 women are still in progress, and the other 8 have not been available for follow-up as of this date.

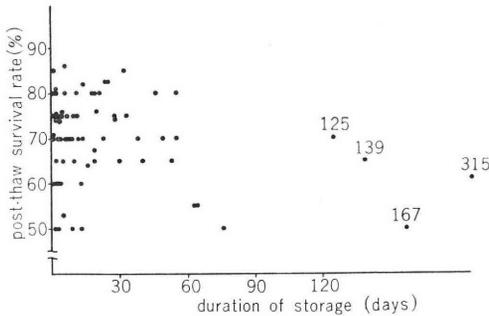
Of these 85 conceptions, 15 (17.6%) resulted from inseminations in the first cycle. As shown in Fig. 6, 83.2% occurred within the first 6 cycles of insemination and 93.8% within the

Fig. 6. Cumulative Frequency of the Number of Cycles Inseminated before Pregnancy from Frozen Semen occurred



first 8 cycles. The storage-duration of semen samples used for the 69 women who conceived following single insemination with frozen semen and the rate of survival of the spermatozoa after thawing is shown in Fig. 7. These

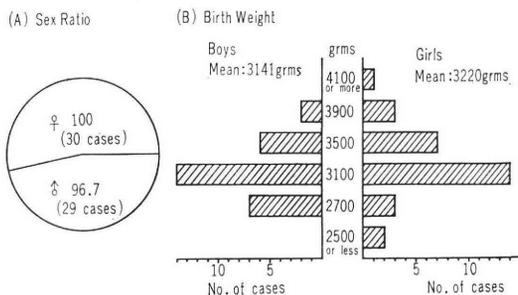
Fig. 7. The Storage-Duration and Post-thaw Survival Rate of the Spermatozoa of the sample used in successful insemination



samples were stored for from one day to 315 days, most of them being stored for up to 30 days.

Among 59 babies observed, 29 were boys and 30 were girls, thus the sex ratio of these babies was approximately 1 to 1. The average birth weight of the boys was 3,141 gms., and that of the girls 3,220 gms., exceeding slightly that of the babies born from fresh semen as described above (Fig. 8).

Fig. 8. Sex Ratio and Birth Weight of AID Babies born from Frozen Semen



4) Physical and mental development of AID babies.

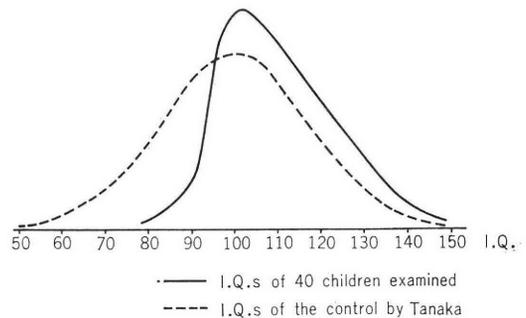
The physical and mental development of a total of 54 children born following AID was

evaluated with the assistance of a child psychologist of this University. Nine of these children had been born from inseminations with frozen semen. Forty children, who were 2 1/2 years of age or older, were interviewed apart from their mother in order to avoid maternal influence. They were examined for intelligence quotient (I.Q.) by the Binet method as modified by Tanaka. Another 14 children, who were under 2 1/2 years of age, were examined for development quotient (D.Q.) by the method of Tsumori and Inage.

(a) I.Q.'s. or D.Q.'s of AID babies.

The oldest child examined was an eleven year, eight month old girl. The distribution of the I.Q.'s. of these 40 children ranged from 84 to 148, the mean being 111.7, as shown in Fig. 9. and 10. Development quotients of 14 children ranged from 83 to 153, the mean being 110.7 (Fig. 11). Mental development of

Fig. 9. Histogram of I.Q.s of AID Children



the nine children born from frozen semen, as judged by their I.Q. or D.Q., is also shown in Table 3. These results indicated that mental development of children born following AID, even with frozen semen, tend to be slightly superior to that of the control described by Tanaka, and by Tsumori and Inage.

(b) Physical development of AID babies.

Physical development of these 54 babies was evaluated on the basis of their body weights and body lengths as compared to those of children included in the National Statistics Survey conducted by the Japanese Ministry of Welfare in 1965, as shown in Fig. 12 and 13. It was revealed that physical development of AID babies, including that of children born from frozen semen, also tends to be somewhat superior to that of the control.

Table 3. Mental Development of AID Children from Frozen-Stored Semen

Name	Age	Sex	Storage-Duration (Days)	I.Q.	D.Q.
N.O.	2 ⁸ / ₁₂	♂	4	103	—
A.S.	2 ⁸ / ₁₂	♀	1	113	—
T.K.	4 ⁸ / ₁₂	♀	53	116	—
Y.A.	1 ⁵ / ₁₂	♀	33	—	108
M.S.	10 ¹² / ₁₂	♂	11	—	100
S.I.	11 ¹¹ / ₁₂	♀	93	—	113
I.W.	1 ⁶ / ₁₂	♀	43, 6	—	153
N.I.	2 ¹ / ₁₂	♂	11, 63	—	99
Y.W.	1 ⁶ / ₁₂	♀	28	—	114

D. Some Sociological Aspects in Regard to Candidates for AID

The court in Japan, as in most other countries, has no statutory law regarding artificial insemination as yet. No attempt for such legislation has ever been made in this country, but the increasing demand for this procedure by infertile couples can not be neglected. Although sensational articles dealing with problems possibly incurred by this procedure have occasionally appeared in weeklies and magazines, they tend only to pander to the curiosity of the public. Possible problems have been presented neither scrupulously nor clearly. Therefore, public opinion of artificial insemination, unfortunately, still remains obscure and incredulous, with no real basis having been given for evaluation.

Fig. 10. Intelligence Quotients of AID Children

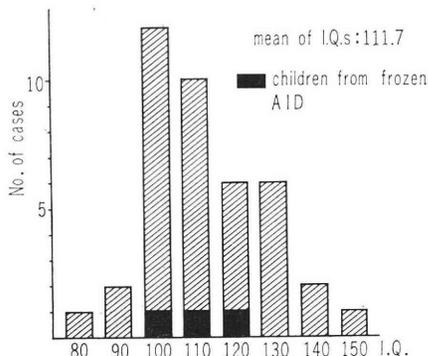


Fig. 11. Development Quotients of AID Children

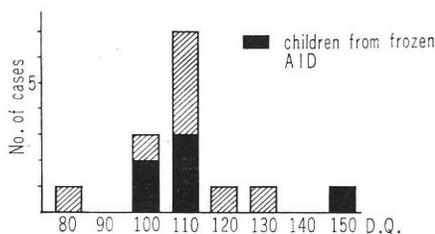


Fig. 12. Physical Development of AID Children

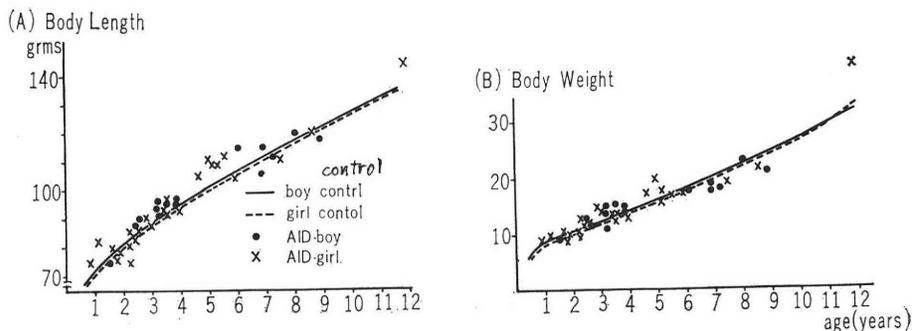
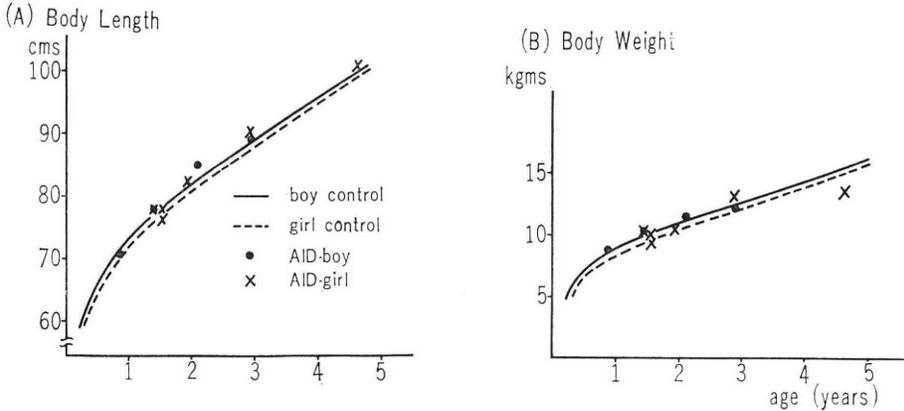


Fig. 13. Physical Development of AID Children from Frozen-Stored Semen



In order to provide better understanding of the sociological and medical background of the procedure, the following descriptions are presented, based on the recent analyses of the questionnaires to 900 women who have had AID at this clinic, selected at random for this purpose. There were, however, quite a few cases in which questionnaires were not returned, and some were incomplete.

1) Age of wives: —The age of the women who have undergone AID at this clinic ranged from 21 to 43, with the peak at the age-group between 26 and 30, and no noticeable difference in distribution was seen when compared to that of the control group who were seen due to other complaints (Table 4).

Table 4. Age of Wives desiring AID

Age	21-25	26-30	31-35	36-40	40 or over
No. of cases	27	149	98	28	9

2) Professional and educational backgrounds of couples: —As one of the parameters for evaluation of the sociological backgrounds of these couples, the school careers of wives and the professional histories of husbands were requested in the questionnaires. Table 5. shows the school careers of 311 wives. Among them, 250 or 80.4% are found to have surpassed the

Table 5. Educational history of Wives

Last school attended	Numbers
College or higher	103 or 47.3%
Senior high school	147 or 18.9%
Junior high school	59 or 18.9%
Primary school	2 or 0.7%

junior high school level, which is the last step of compulsory education in this country. Therefore, it is reasonable to presume that most of wives who wish for AID are intelligent enough to comprehend the significance of this procedure. Table 6, presents the professional background

Table 6. Professions of husbands

Professions	No. of Cases
Public officials	65
Company employees	162
Shop owners	50
Doctors, lawyers, etc.	16
Farmers	9
Others	9

of this group of husbands, although no immediate conclusion could be drawn from this data.

3) Economic situation: —Judging roughly by the economic standard in this country at present, most couples seemed to belong to the middle class, as shown in Table 7. It should be noticed that not small number of couples having lower income have had this procedure.

Table 7. Monthly Income of Couple

Monthly Income	No. of cases
< ¥50,000	78 or 25.1%
¥50,000—100,000	184 or 59.1%
> ¥100,000	49 or 15.8%

4) Motivation: —In order to provide a basis for understanding the significance of AID, it is of vital importance to evaluate the motivation of the couples to try AID after they have been

Table 8. Motivation to AID

1. Preference to adoption	35.0%
2. Being fond of children	19.9%
3. Anxiety over old age	10.7%
4. Envy of couples with offspring	9.6%
5. Present emotional instability due to childlessness	8.9%
6. Want for a successor to their property	5.9%
7. Successor to their own occupations	4.1%
8. Concealment of lack in child-bearing ability	2.2%
9. Eugenic points of view	1.3%
10. Others	1.7%

found to be incurably sterile. What motivated a couple to this procedure? Which partner of a couple first expressed the desire for AID? Three hundred and eleven women, who had undergone this procedure at this clinic, were subjected to these questions. The results of the analyses of the questionnaires are as follows. As shown in Table 8, the answers to the first question were grouped under ten headings. Two types of replies among them, that is, 1, preference to adoption, and 2, being fond of children, accounted for about one half of the total cases. Although these are two different expressions, it may be possible that the former includes the latter psychologically. In fact, a previous inquiry made by one of the physicians of our clinic in 1960 on the reasons why such couples had chosen AID rather than adoption, revealed three types; 1, desire for experience of pregnancy, 2, benefits derived from maternal heredity, and 3, closer relationship to the child. Answers 4,5 and 8 may be classified in one group so far as the emotional instability of these couples is concerned.

The circumstances are quite different, however, in relation to the motivation to AID for the second child, according to the answers in Table 9. Satisfaction of both partners of a couple with the result of the preceding AID is undoubtedly the basis of these answers, even if the expression is different, as shown in the table. Among these answers, a typical expression can be seen in answer 3. The results shown in Table 10, which deals with the second question as to who first wanted AID may confirm the situation regarding the husband more clearly. In those couples who belong to the group with a desire for the second AID child, 45.7% of the husbands first sought AID

Table 9. Motivation to the second AID

1. Their own lonesomeness, having only one child	34.6%
2. Advantage of sublings in education	25.9%
3. Husband's predominant desire because of satisfaction with paternity of the first AID child	22.2%
4. Being fond of children	11.1%
5. Recognition of good physico-mental development of the first AID child	3.6%
6. Improved economical situation	1.3%
7. Others	1.3%

Table 10. Which partner first wanted an AID baby?
(in the group of couples who wish to second AID baby)

	the previous series	the present series
husband	37 or 45.7%	53 or 65.4%
wife	25 or 30.6%	11 or 13.6%
together	19 or 23.4%	17 or 21.0%

Table 11. Religious Background of Women who had AID

Buddhists	32
Protestants	6
Catholic	1
Shintoists	4
Others	2
No particular religion	91

in the case of the first series, while 65.4% of the husbands show their first desire for AID babies in the second series.

5) Religion and belief: —Table 11, shows the religious backgrounds of 136 women who have had AID at this clinic. The fact that one Catholic and six Protestants were found in this group suggests increasing diversity of opinions among people of those religions who have been said to be against this procedure.

Works done by the present and related investigators

- 1) Iizuka, R., and Sawada, Y., Successful inseminations by frozen pooled human semen. Jap. J. Fertil. & Steril. 3: 241-245, 1958. (In Japanese).
- 2) Sawada, Y., Use of antibiotics, especially erythromycin, for preservation of human semen. Jap. J. Fertil. & Steril. 3: 246-294, 1958. (In Japanese).

- 3) *Sawada, Y.*, Study on freezing-preservation of human spermatozoa. *Jap. J. Fertil. & Steril.* 4: 1-11, 1959. (English abstract).
- 4) *Iizuka, R., Sawada, Y., Kuramoto, T., Hara, S., Hirose, K., and Okubo, F.*, Effect of ATP-Na on human spermatozoa and consequent use for frozen semen. *Sogo Igaku* 16: 273-278, 1959. (In Japanese).
- 5) *Hara, S.*, Clinical study on artificial insemination with donor's semen. *Jap. J. Fertil. & Steril.* 5: 283-289, 1960. (English abstract).
- 6) *Iizuka, R.*, Sociological aspects regarding to AID. *Sanfujinka no sekai.* 12: 852-858, 1960. (in Japanese).
- 7) *Wako, H.*, The study on the practical use of human frozen spermatozoa. *Jap. J. Fertil. & Steril.* 6: 66-78, 1961. (English abstract).
- 8) *Ando, K. and Iizuka, R.*, Clinical aspects of artificial insemination. Special lecture at the 18th annual meeting of Jap. Assoc. Fertil. & Steril., Tsu-city, 1963.
- 9) *Iizuka, R., Nishina, N. and Nakamura, Y.*, Analyses of conceptions following insemination with frozen semen. 11th annual meeting of Jap. Assoc. Fertil. & Steril., Kyoto, 1966.
- 10) *Iizuka, R., and Nishina, N.*, Studies on the second AID baby. 19th annual meeting of the Jap. Cong. Obstet. & Gynec., Nagoya, 1967.
- 11) *Iizuka, R., Sawada, Y., Nishina, N. and Ohi, M.*, The physical and mental development of children born following artificial inseminations. *Intern. J. of Fertil.*, 1968 (in press).
- 12) *Iizuka, R., Sawada, Y., Koi, H., Nishina, N. and Ohi, M.*, Frozen sperms for storage and AID. 5th world Congress of Gynecology and Obstetrics., Sydney, Sept., 1967.

非配偶者間の人工授精 (AID) の臨床検討と社会的側面

慶応義塾大学医学部
産婦人科教室
家族計画相談所

飯塚理八

沢田喜彰, 己斐秀豊, 大井美智江
仁科進弘, 小林俊文, 中田敏良

非配偶者間人工授精 (AID) を当教室で施行してから既に 19 年の歳月が流れ、今日では男性不妊因子を有する夫婦の有効な治療法の一つになったこの方法に対する一層の理解を深めるため、一方ではこの方法に対する疑念に答えるため、AID の歴史と現状を述べた。19 年間に当教室で施行した約 5 千名の婦人に対する AID の臨床的検討は妊娠率、妊娠経過、新生児の初体重、身長、2 児目 AID の諸問題、一周期一回授精、凍結保存精子による AID、AID 児の知的身体発育を主とした follow-up 等について行つた。最近 AID 希望で通院せる 2,900 名の婦人についての社会的側面の調査は、これら夫婦の教育的、経済的、職業的ならびに宗教的背景に向けられて行つたもので、AID 希望に至る動機の検討も併せて述べた。

日本不妊学会臨時理事会議事録

日 時 昭和43年3月23日(土)午後1~4時
場 所 森永乳業本社会議室
出席者 理事長以下30名
座長, 重松会長

議案 1971年度 国際不妊学会立候補の件

長谷川副理事長よりこれまでの経緯について報告。理事, 監事, 評議員, 計388名に対するアンケート集計の結果。

立候補. 賛成, 150. 反対, 15. 不明3. 他1.

会費. 60ドル. 賛116, 反対8, 不明14, 他2.

用語. 日英独 106. 日英仏 26. 日英西 7. 他11.

会場, 東京3日+関西3日に賛成 69. 東京 56. 京都 19. 他

石神理事より関西支部の意見として,

1) 東京で3日開催後, さらに関西で3日も会議をもてるだろうか. 出席者も疲れ, 人数も集まらない可能性がある. 1日, せいぜい2日までとしたい.

2) 会場としてあげられている国際会議場は交通, 食事など不便で, 送迎にも気をつかわね

ばならない. 京都会館の方がよい.

3) 同年度におこなわれる国際産婦人科学会(New York), 医学会総会との関係はどうするか.

4) 出席者の夫人に対する計画.

5) 会費について, 教室員など, プログラムだけの若年むきC会員という考えはないか.

6) 日本人と外人を会費の額で区別することはいかがか.

以上について理事から活潑な討議があつたが, 篠田監事の発言により, 本年5月20日~27日イスラエルの大会に立候補し, 日本に決定してから細目は立案することにする.

重松議長より, 日本で開催する件については拍手によつて決をとり, 多数にて採択された.

(文責: 林 基之)

投稿規定

1. 本誌掲載の論文は、特別の場合を除き、会員のものに限る。
2. 原稿は、本会の目的に関連のある綜説、原著、論説、臨床報告、内外文献紹介、学会記事、その他で、原則として未発表のものに限る。
3. 1論文は、原則として印刷8頁（図表を含む）以内とし、特に費用を要する図表並びに写真に対しては実費を著者負担とする。
4. 綜説、原著、論説、臨床報告等には必ず400字以内の和文抄録を添付すること。なおタイプ（ダブルスペース2枚以内の欧文抄録、題目、著者名を含む）の添付を望ましい。抄録のない論文は受付けない。
5. 図表並びに写真は稿末に一括して纏め、符号を記入して、挿入すべき本文の横欄にも同じく符号を記すること。
6. 記述は、和文、欧文のいずれでもよく、すべて和文の場合は横書き、口語体、平かなを用い、現代かなづかいによる。
7. 外国の人名、地名等は原語、数字はすべて算用数字を用い、學術用語及び諸単位は、夫々の学会所定のものに従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
8. 文献は次の形式により、末尾に一括記載する。
 - a. 雑誌の場合
著者名：誌名、巻数：頁数（年次）
誌名は規定又は慣用の略字に従うこと、特に号数を必要とする場合は巻数と頁数との間に入れて括弧で囲む。すなわち
著者名：誌名、巻数：（号数）、頁数（年次）
例 1. *Abel, S., & T. R. Van Dellen: J. A. M. A., 140: 1210 (1949)*
2. *毛利 駿: ホと臨床 3: 1055 (1955)*
 - b. 単行本の場合
著者名：表題、（巻数）、頁数、発行所（年次）
例 1. *鈴木梅太郎: ホルモン, 180, 日本評論社 東京 (1951)*
2. *Mazer, C. & S. L. Israel: Menstrual Disorders and Sterility, 264, Paul B, Hoeber, New York (1951)*
9. 原稿の掲載順位は、原則として受付順によるが、原稿の採否、掲載順位、印刷方法、体裁、校正等は、編集幹事に一任されたい。
10. 特別掲載の場合は全頁著者負担とする。
11. 掲載の原稿に対しては、別冊30部を贈呈する。それ以上を必要とする場合は、原稿に必要部数を朱書すること。その実費は著者負担とする。
12. 投稿先及び諸費用の送付先は、東京都太田区大森西7丁目5の22 日本不妊学会事務所とする。

日本不妊学会雑誌 13巻3号

昭和43年6月25日印刷

昭和43年7月1日発行

編集兼
発行者 芦原慶子

印刷者 向光枝
東京都品川区上大崎3-12-15

印刷所 一ツ橋印刷株式会社
東京都品川区上大崎3-12-15

発行所 日本不妊学会
東京都大田区
大森西7丁目5番22号
Tel(762) 4151 内線258

振替口座番号 東京 93207