

Japanese Journal of Fertility and Sterility

January 1970

日本不妊学会雑誌

第 15 卷

第 1 号

昭和 45 年 1 月 1 日

— 目 次 —

原 著

Prolactin の投与と過排卵処置マウスの過剰妊娠・過剰分娩に関する研究(第一報).....佐久間勇次・他・1

二分画射精に関する研究.....小林俊文・7

Chlormadinone Acetate 剤の下垂体 Gonadotropin に対する作用.....東山秀声・他・18

IUD の現況について.....水野重光・他・29

IUD の作用機序に関する一考察.....宮井哲郎・35

IUD による子宮内膜反応に関する研究.....牧野俊重・49

各種動物における精上皮の Cycle の比較.....千葉敏郎・他・62

睾丸, 前立腺, 血清酵素活性に対する Vitamin の影響.....石部知行・他・70

HCG (LH) の One Day Radioimmunoassay.....津久井芳二・他・75

姉妹共に男性仮性半陰陽であった症例.....小坂順治・他・80

男子不妊症の治療.....志田圭三・他・85

去勢家兎への受精卵移植に関する研究.....宇田典弘・90

第6回 世界産婦人科学会議出席旅行

(ニューヨーク)

＝ 募 集 中 ＝

A コース……昭和 45 年 4 月 10 日～4 月 26 日 (17 日間)……¥ 535,000

東京～ホノルル～ロスアンゼルス～ニューヨーク～バッファロー～シカゴ～ロチェスター～シカゴ～メキシコシティ～サンフランシスコ～東京

B コース……昭和 45 年 4 月 10 日～5 月 2 日 (23 日間)……¥ 775,000

東京～ホノルル～ロスアンゼルス～ニューヨーク～リオデジャネイロ～ブラジリア～サンパウロ～イグアスフォール～ヴェノスアイレス～リマ～クスコ～メキシコシティ～サンフランシスコ～東京

C コース……昭和 45 年 4 月 10 日～5 月 5 日 (26 日間)……¥ 752,000

東京～ホノルル～ロスアンゼルス～ニューヨーク～リスボン～ナザレ～マドリッド～ニース～ローマ～チューリッヒ～ベルン～ツエルマット～ウイーン～ザルツブルグ～ミュンヘン～オウグスブルグ～スツットガルト～パリー～東京

D コース……昭和 45 年 4 月 10 日～5 月 16 日 (37 日間)……¥ 935,000

東京～ホノルル～ロスアンゼルス～ニューヨーク～リスボン～マドリッド～マラガ～アルジシエラス～ジエノア～ミラノ～ローマ～チューリッヒ～ベルン～ツエルマット～ローザンス～ジュネーブ～ウイーン～インスブルック～オウグスブルグ～ミュンヘン～フランクフルト～パリー～ロンドン～コペンハーゲン～東京

締 切 日 昭和 45 年 1 月 20 日

お申込み、お問合せは

(株) 阪急交通社 海外旅行部有楽町営業所

東京都千代田区有楽町 1 の 3

直通電話 03-211-2806, 8896

担当：沼田，森野，加藤(敏)

※学会開催事務局より登録用紙、インフォメーション資料等は当社に多数ございます。

CONTENTS

Studies on the Superpregnancy and Superfecundation of the Superovulated mice with dosage of Prolactin (Report 1)	<i>Y. Sakuma & T. Endo</i>	1
Studies on Human Spermatozoa in the Split-ejaculation into the Two Parts	<i>T. Kobayashi</i>	7
Effects of Chlormadinone Acetate-Mestranol Combination Administration on Pituitary Gonadotropin in Rats	<i>S. Higashiyama, S. Kizu, H. Kobayashi & Y. Hamada</i>	18
Current Status of IUD.	<i>S. Mizuno & M. Takata</i>	29
On the Mechanism of Action of the Intrauterine Contraceptive Device	<i>T. Miyai</i>	35
Endometrial Response of the IUD Users	<i>T. Makino</i>	49
Vergleich des Samenepithelzyklus bei verschiedenen Tierarten	<i>T. Tiba & T. Ishikawa</i>	62
Effect of Vitamin on the Enzyme Level	<i>T. Ishibe, G. Matumoto & H. Nihira</i>	70
One day Radioimmunoassay of HCG (LH)	<i>Y. Tsukui & T. Tamada</i>	75
Testicular Feminization Syndrome Observed in Sisters	<i>J. Kosaka, M. Sakata, H. Katsumata, T. Kimura, S. Tsuchiya & H. Sato</i>	80
Treatment of Male Infertility The First Report Effect on Sperm Count of Glutamine	<i>K. Shida, J. Shimazaki & E. Urano</i>	85
Transplantation of the Fertilized Ova to the Ovariectomized Rabbits	<i>T. Uda</i>	90

総会予告(第2回)

第15回日本不妊学会総会は下記のように開催の予定です。

開催期日 昭和45年9月25日(金)26日(土)

〔9月24日(木)役員会〕

開催会場 千葉市 千葉県文化会館

学 会 I 特別講演 家畜の受精卵移植について

農林省畜産試験場 杉江 侖 博士

II シンポジウム

1. 卵管不妊に関する諸問題

司会 東邦大 林 基之 教授

2. 男性不妊と副性器

司会 神戸大 石神 襄次 教授

III 一般講演

一般講演の申込規定については次回予告で発表致します。

第15回 日本不妊学会総会会長

百 瀬 剛 一

Prolactin の投与と過排卵処置マウスの 過剰妊娠・過剰分娩に関する研究(第一報)

Studies on the Superpregnancy and Superfecundation of the
Superovulated mice with dosage of Prolactin-I.

日本大学農獣医学部家畜生理学教室

佐久間 勇次
Yuzi SAKUMA

(Lab. of Animal Physiology, College of Agriculture
and Veterinary Medicine, Nihon University.)

日本大学医学部公衆衛生学教室

遠藤 克
Tuyoshi ENDO

(Dept. of Public Health, School of Medicine, Nihon University.)

Prolactin を PMS と HCG を用いて過排卵処置したマウスに併用投与する試験を行い、次の成績を得た。

1) PMS 5 IU と HCG 5 IU で過排卵処置したマウスに、Prolactin を 1~30 IU 投与した結果、供試マウス80例中57例(71%)が妊娠し、妊娠第19日の着床胎児数は3~32、平均15.6、生存胎児数は1~24、平均12.4であった。

2) PMS 5 IU と HCG 5 IU で過排卵処置したマウスに、Prolactin 10IU を妊娠第0日から第10日に投与した結果、供試マウス 110例中81例(74%)が妊娠し、妊娠第19日の着床胎児数は2~42、平均18.6、生存胎児数は2~26、平均14.1であった。

これらの成績から、Prolactin を PMS と HCG により過排卵処置したマウスの妊娠早期に併用して投与すると、妊娠率が高くなり、また、着床胎児数が増えることを知った。

結 言

過排卵処置により産子数を増加させようとする試みが多くの実験動物^{1)・15)}ならびに家畜^{16)・19)}において行なわれているが、これらの成績をみると、多数の卵子が排卵され、そのほとんどが正常な分割像を示す卵子であり、卵子の移植、培養などの実験によっても、過排卵卵子は正常な卵子であると考えられているが、過排卵処置した動物は、大部分の卵子が着床の前後に吸収、排出されてしまうため、不妊に終る例が多く正常産子数を越えるまでにはいたっていない。

こうした原因について著者らは、過排卵処置したラットでは黄体化が不完全なこと、着床における子宮の運動性の亢進などに問題があると報告²⁰⁾した。また、過排卵処置したマウスはその約半数が妊娠するにすぎないが、PMS および HCG の投与量を検討することによって産子数を増加させることができると報告²¹⁾した。

そこで著者らは、マウスの試験において得た最も有効な過排卵処置方法を基にして、Prolactin (PL) が LTH 作用を有するといわれていることから、PL の併用投与が過排卵処置マウスの妊娠率・着床胎児数・産子数にどのような影響をおよぼすかについて試験を行なったの

Table. 1 Pregnancy and Implantation with dosage of Prolactin.

Dose	No. of mice	No. of pregnant	19 days P. C.				Viability (%)
			Implanted fetus		Living fetus		
			Range	Mean±SD	Range	Mean±SD	
PMS 5 IU HCG 5 IU	10	5	12~31	22.0±6.83	4~26	17.0±8.07	77
PMS 5 IU HCG 5 IU PL 1 IU	10	7	3~31	17.0±10.77	2~23	14.1±8.63	83
PMS 5 IU HCG 5 IU PL 2.5 IU	10	6	3~21	10.7±7.00	1~18	8.8±6.49	82
PMS 5 IU HCG 5 IU PL 5 IU	10	7	2~32	16.6±9.34	1~17	9.7±5.90	58
PMS 5 IU HCG 5 IU PL 7.5 IU	10	6	12~19	15.2±2.64	11~16	13.2±1.94	87
PMS 5 IU HCG 5 IU PL 10 IU	10	8	9~29	18.9±8.77	8~24	15.9±6.71	84
PMS 5 IU HCG 5 IU PL 12.5 IU	10	8	5~32	19.9±8.48	4~22	14.8±6.69	74
PMS 5 IU HCG 5 IU PL 15 IU	10	9	3~13	9.0±4.27	3~12	7.9±3.72	92
PMS 5 IU HCG 5 IU PL 30 IU	10	6	3~26	17.7±10.04	3~23	15.7±8.78	89
Total	80	57(71)	3~32	15.6±8.40	1~24	12.5±6.62	77

で、その成績を報告する。

実験材料および方法

供試マウスは、自家繁殖した CF#1 系の経産マウス (27~33g) を用い、アルミケージ (23×32×11cm) に 5 匹ずつ収容し、固型飼料と水を不断に給与し、飼育中の照明時間は 14 時間とした。

実験は、第一試験 (I 区)、第二試験 (II 区) に分けて行ない、I 区は PL の投与量と妊娠率・着床胎児数との関係、II 区は PL の投与時期と妊娠率・着床胎児数との関係について検討した。

処置方法 I 区は PMS 5 IU を皮下注射し、48 時間後に HCG 5 IU を皮下注射して雄と交配させ、HCG 投与後第 5 日に PL の有効投与量を知るために、1~30 IU を皮下注射し、交尾後第 19 日に殺して、妊娠率、着床胎児数および生存胎児数を記録した。

II 区は PMS 5 IU を皮下注射し、48 時間後に HCG 5 IU を皮下注射して雄と交配させ、PL の有効投与時期を知るために、I 区の成績から有効投与量と考えられる 10 IU を、妊娠第 0 日から第 10 日の各期に 1 回に投与し、交尾後第 19 日に殺して、妊娠率、着床胎児数および生存胎児数を記録した。なお PMS は (Primantoron,

Schering)、HCG は (Primogonyl, Schering)、PL は (プロラクチン、帝臓) を使用した。

実験結果

1) 第一試験は、PMS 5 IU と HCG 5 IU を投与して過排卵を誘起したのち、PL を 1~30 IU 投与した。その成績を Table 1 に示す。

供試マウスは合計 80 例で 57 例 (71%) が妊娠し、妊娠第 19 日の着床胎児数は 3~32、平均 15.6 で生存胎児数は 1~24、平均 12.5 であり生存率は 77% であった。

PL の投与量別にみると、PL 1 IU 区では、10 例中 7 例が妊娠し、着床胎児数は 3~31、平均 17.0 で生存胎児数は 2~23、平均 14.1 であり生存率は 83% であった。PL 2.5 IU 区では、10 例中 6 例が妊娠し、着床胎児数は 3~21、平均 10.7 で生存胎児数は 1~18、平均 8.8 であり生存率は 82% であった。PL 5 IU 区では、10 例中 7 例が妊娠し、着床胎児数は 2~32、平均 16.6 で生存胎児数は 1~17、平均 9.7 であり生存率は 58% であった。PL 7.5 IU 区では、10 例中 6 例が妊娠し、着床胎児数は 12~19、平均 15.2 で生存胎児数は 11~16、平均 13.2 であり生存率は 87% であった。PL 10 IU 区では、10 例中 8 例が妊娠し、着床胎児数は 9~29、平均 18.9 で生存胎児数

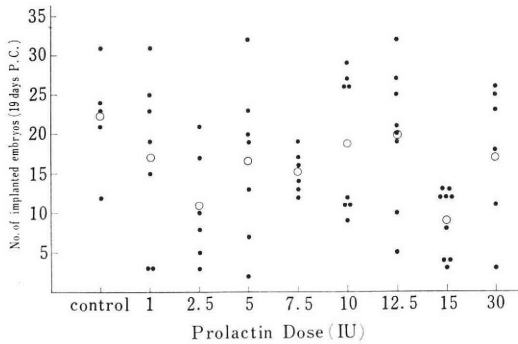


Fig. 1 Relationship between the number of implanted embryos with dosage of Prolactin.

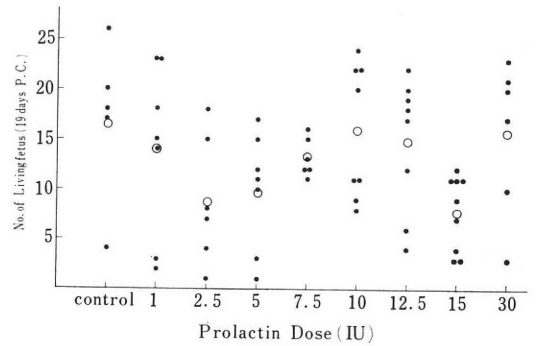


Fig. 2 Relationship between the number of living fetus with dosage of Prolactin.

は 8 ~ 24, 平均 15.9 であり生存率は 84% であった。PL 12.5 IU 区では, 10 例中 8 例が妊娠し, 着床胎児数は 5 ~ 32, 平均 19.9 で生存胎児数は 4 ~ 22, 平均 14.8 であり生存率は 74% であった。PL 15 IU 区では, 10 例中 9 例が妊娠し, 着床胎児数は 3 ~ 13, 平均 9.0 で生存胎児数は 3 ~ 12, 平均 7.9 であり生存率は 92% であった。PL 30 IU 区では, 10 例中 6 例が妊娠し, 着床胎児数は 3 ~ 26, 平均 17.7 で生存胎児数は 3 ~ 23, 平均 15.7 であり生存率は 89% であった。

次に, 第一試験における PL の投与量と着床胎児数および生存胎児との関係を Fig 1, 2 に示す。

着床胎児数は, PL の投与量によって大きな差はみられなかったが, 7.5 と 10 IU 区を除き他の区では過排卵処置のみの試験例と同様に個体によって差が生じる傾向がみられた。また, 過排卵処置のみの試験例には, 着床胎児数の極端に少い個体がしばしば認められるが, PL を 7.5 ~ 12.5 IU 併用して投与した区ではとくに着床胎児数の少い個体は認められなかった。

生存胎児数は, 着床胎児数と同様な傾向を示し, PL 10, 12.5 IU 区において妊娠率および生存胎児数とも良い成績を示した。

以上の結果から, 最も有効と思われる PL の投与量は PL 10IU 区の成績であった。

2) 第二試験は, PMS 5 IU と HCG 5 IU を投与して過排卵を誘起したのち, PL10IU を妊娠第 0 日から第 10 日までの各期日に 1 回投与した。その成績を Table 2 に示す。

供試マウスは合計 110 例で 81 例 (74%) が妊娠し, 妊娠第 19 日の着床胎児数は 2 ~ 42, 平均 18.6 で生存胎児数は 2 ~ 26, 平均 14.1 であり生存率は 76% であった。

PL 投与の時期別にみると, 第 0 日では, 10 例中 9 例が妊娠し, 着床胎児数は 2 ~ 42, 平均 16.7 で生存胎児数は 2 ~ 17, 平均 10.1 であり生存率は 60% であった。第 1

日では, 10 例中 7 例が妊娠し, 着床胎児数は 14 ~ 29, 平均 23.7 で生存胎児数は 6 ~ 26, 平均 17.0 で生存率は 72% であった。第 2 日では, 10 例中 9 例が妊娠し, 着床胎児数は 6 ~ 33, 平均 21.0 で生存胎児数は 6 ~ 21, 平均 14.8 であり生存率は 70% であった。第 3 日では, 10 例中 5 例が妊娠し, 着床胎児数は 10 ~ 33, 平均 20.8 で生存胎児数は 7 ~ 22, 平均 14.6 であり生存率は 70% であった。第 4 日では, 10 例中 7 例が妊娠し, 着床胎児数は 5 ~ 29, 平均 16.0 で生存胎児数は 3 ~ 24, 平均 12.9 で生存率は 81% であった。第 5 日では, 10 例中 8 例が妊娠し, 着床胎児数は 9 ~ 29, 平均 18.9 で生存胎児数は 8 ~ 24, 平均 15.9 であり生存率は 84% であった。第 6 日では, 10 例中 9 例が妊娠し, 着床胎児数は 7 ~ 22, 平均 13.1 で生存胎児数は 6 ~ 21, 平均 12.2 であり生存率は 93% であった。第 7 日では, 10 例中 6 例が妊娠し, 着床胎児数は 9 ~ 28, 平均 17.8 で生存胎児数は 9 ~ 24, 平均 15.7 であり生存率は 88% であった。第 8 日では, 10 例中 9 例が妊娠し, 着床胎児数は 12 ~ 40, 平均 25.0 で生存胎児数は 5 ~ 26, 平均 15.8 であり生存率は 63% であった。第 9 日では, 10 例中 7 例が妊娠し, 着床胎児数は 8 ~ 28, 平均 19.4 で生存胎児数は 6 ~ 26, 平均 16.4 であり生存率は 85% であった。第 10 日では, 10 例中 5 例が妊娠し, 着床胎児数は 7 ~ 13, 平均 10.4 で生存胎児数は 5 ~ 12, 平均 9.4 であり生存率は 90% であった。

第二試験の PL の投与時期と着床胎児数および生存胎児数との関係を Fig. 3, 4 に示す。

着床胎児数は, 第 6, 10 日を除き, 着床胎児数の平均が 15 胎児以上であり良好な成績を示し, また, とくに着床胎児数の少い個体は認められなかった。

生存胎児数は, 第 0, 4, 6, 10 日を除き, 15 胎児前後で正常数の約 2 倍近い成績であった。また, 第 4, 6 日の生存胎児数が少なかったのは, 性周期と PMS 処置時期との関係によるものではないかと考えられるので, 今後の実験で検討したい。

Table 2 Pregnancy and Implantation with dosage of Prolactin.

Pregnant period	No. of mice	No. of pregnant	19 days P. C.				Viability (%)
			Implanted fetus		Living fetus		
			Range	Mean±SD	Range	Mean±SD	
Day 0	10	9	2~42	16.7±12.31	2~17	10.1±4.91	60
Day 1	10	7	14~29	23.7±5.09	6~26	17.0±6.45	72
Day 2	10	9	6~33	21.0±8.90	6~21	14.8±4.41	70
Day 3	10	5	10~33	20.8±9.47	7~22	14.6±5.51	70
Day 4	10	7	5~29	16.0±8.66	3~24	12.9±6.74	81
Day 5	10	8	9~29	18.9±8.77	8~24	15.9±6.71	84
Day 6	10	9	7~22	13.1±5.09	6~21	12.2±4.84	93
Day 7	10	6	9~28	17.8±6.68	9~24	15.7±5.57	88
Day 8	10	9	12~40	25.0±6.96	5~26	15.8±7.24	63
Day 9	10	7	8~28	19.4±7.65	6~26	16.4±6.45	85
Day 10	10	5	7~13	10.4±2.70	5~12	9.4±2.88	90
Total	110	81(74)	2~42	18.6±8.78	2~26	14.1±5.83	76

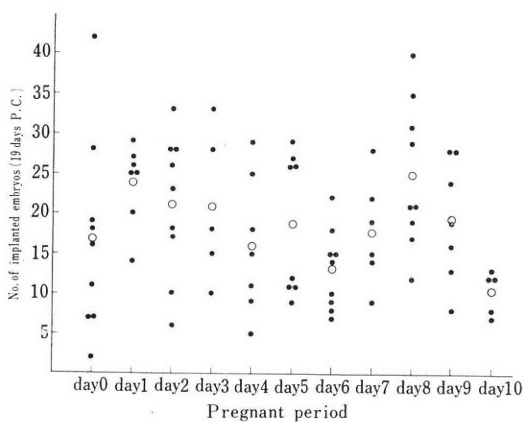


Fig. 3 Relationship between the number of implanted embryos with dosage of Prolactin.

以上の結果から、最も有効と思われる PL の投与時期は、着床胎児数から考察すると妊娠の早期であり、第1, 2, 3日に投与した試験区の成績が最も良好であった。

考 察

過剰妊娠に関する研究は、他の実験動物⁷⁾⁹⁾¹²⁾¹³⁾ 家畜^{16)~19)}などで試みられているが、過排卵処置した動物は不妊に終る例が多く、また、妊娠しても産子数は正常数かわずかに増加するにすぎない。

不妊の原因については ISHIDA, SAKUMA (1962)²²⁾らは、PMS 処置家兎の卵巣を組織化学的に検討した結果、PMS 処置家兎の卵巣に多数発現する血様卵胞および黄体に含まれているコレステリンの関連において黄体

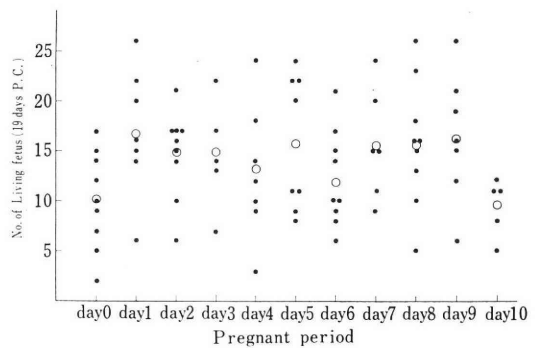


Fig. 4 Relationship between the number of living fetus with dosage of Prolactin.

ホルモンの分泌不足によるものであろうと報告し、さらに、佐久間, 石島, 石田(1964)¹²⁾らは、PMS 処置家兎の卵巣には、排卵後もなお多数の成熟卵胞が残存し排卵後も卵胞ホルモンの分泌が続けられるため、受精卵子の着床に必要な子宮の黄体期変化が異常になるためであろうと報告した。また、著者(1968)²⁰⁾らも、ラットについて過排卵処置後の黄体化の不完全と子宮の運動性の亢進などに問題があると報告した。

著者らは本実験において、PL の併用投与が過排卵処置したマウスの妊娠率・着床胎児数にどのような影響をおよぼすかについて、PL の投与量および投与時期について検討したのであるが、その結果、PMS 5 IU と HCG 5 IU で過排卵処置したのち PL を投与すると、PL 10 ~ 15 IU 区において80~90%の高い妊娠率が得られ、また、着床胎児数および生存胎児数は PL 10 IU 区の成績が最も良好であった。さらに PL を併用して投与する時

期については、PL の投与量を 10 IU に一定にして妊娠早期の第 0 日から第 10 日までの各期日に投与すると、妊娠率は 50~90% であり、着床胎児数は妊娠第 1 日、第 2 日、第 3 日に投与したものが最も胎児数が多く、また、生存胎児数は第 1 日区で平均 17 胎児であり最も多かった。他の試験区でも平均 15 胎児前後であり、正常妊娠の胎児数より多い成績が得られた。

以上の成績から、過排卵処置マウスに PL の併用投与は、投与量を 10 IU とし、妊娠早期に投与するのが最も有効であると考えられる。PL の併用投与に関しては EDWARDS (1963)²⁰⁾らが、妊娠第 1 日に PL を 1~25 IU 投与した報告があり、妊娠率 59%、着床胎児数は 12.9、また、妊娠第 1, 3 または 5 日に、または第 1 日から第 8 日まで PL を連続して合計 1~25 IU を投与した成績は、妊娠率 59%、着床胎児数は 15.2 であったと報告している。この報告は著者らの実験とは投与量および投与時期がことなるため直接比較ができないが、著者らの実験によって、卵子の着床により有効な PL の投与方法が明らかになったものと考えられる。

以上のように、過排卵処置マウスに PL を併用投与すると、過排卵卵子の着床胎児数および妊娠率を高めることができること、即ち、PL が受精卵子の着床に有効に作用することを知った。

なお現在、妊娠第 19 日まで生存していた胎児がこのまま正常に分娩されるかどうか、また、PL の投与量、投与時期など、卵子の着床、妊娠、分娩に最も有効な投与方法について、さらにまた、CFW 系の異系統マウスを用いて投与単位に対する感受性の差異について、さらにまた、過排卵処置したラット、ハムスター、家兎などについて試験を継続中であり、多くの知見を得ているのでこれらの成績は次号に報告したい。

要 約

Prolactin を過排卵処置したマウスに併用して投与する実験を行ない次の結果を得た。

1) PMS 5 IU, HCG 5 IU で過排卵処置したマウスに PL を 1~30 IU 併用投与すると、供試マウスの 71% (57/80) が妊娠し、妊娠第 19 日着床胎児数は 15.6 (3~32)、生存胎児数は 12.4 (1~24) であり、PL 10 IU 区の成績が最も良好であった。

2) PMS 5 IU, HCG 5 IU で過排卵処置したマウスに PL 10 IU を妊娠第 0 日から第 10 日まで投与すると、供試マウスの 74% (81/110) が妊娠し、妊娠第 19 日の着床胎児数は 18.6 (2~42)、生存胎児数は 14.1 (2~26) であり、妊娠第 1 日の成績が最も良好であった。

これらの成績から、PL は過排卵処置したマウスに併

用して投与すると、受精卵子の着床に有効に作用し、妊娠率を高め、着床胎児数が増加することを知った。

本論文の要旨は、昭和 44 年 4 月第 56 回日本畜産学会および昭和 44 年 6 月第 14 回日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) Fowler, R. E. & Edwards, R. G. : J. Endocrin., 15, 374 (1957).
- 2) Edwards, R. G. & Fowler, R. E. : J. Exp. Zool., 141, 299 (1959).
- 3) 佐藤晶子 : 山階鳥研報, 13, 27 (1959).
- 4) 佐藤晶子 : 遺伝雑, 34, 226 (1959).
- 5) Fowler, R. E. & Edwards, R. G. : J. Endocrin., 20, 1 (1960).
- 6) McLaren, A. & Michie, D. : J. Exp. Biol., 36, 281 (1960).
- 7) Adams, C. E. : J. Reprod. Fertil., 1, 36 (1960).
- 8) 佐藤晶子 : 遺伝雑, 37, 253 (1962).
- 9) Sato, A. : Embryologia, 7, 285 (1963).
- 10) Willson, E. D. & Edwards, R. G. : J. Reprod. Fertil., 5, 179 (1963).
- 11) Willson, E. D. & Edwards, R. G. : J. Endocrin., 36, 389 (1963).
- 12) 佐久間勇次, 石島芳郎, 石田一夫 : 本誌, 9, 5 (1964).
- 13) 佐久間勇次, 石島芳郎, 平野公夫 : 日農獣報, 20, 59 (1965).
- 14) 佐久間勇次, 遠藤克, 石島芳郎 : 日農獣報, 24, 7 (1967).
- 15) 佐久間勇次, 遠藤克, 小島昭一, 石島芳郎 : 日農獣報, 26, 9 (1968).
- 16) Hammond, J. Jr. : J. Agric. Sci., 39, 222 (1949).
- 17) Robinson, T. J. : J. Agric., 46, 6 (1951).
- 18) Godon, I. : Prec. Brit. Soc. Anim. Prod., 55 (1955).
- 19) 老田剛 : 日獣会誌, 12, 146 (1959).
- 20) 佐久間勇次, 渡部敏, 遠藤克 : 第 56 回日本畜産学会報告 (1968).
- 21) 佐久間勇次, 遠藤克 : 日農獣報, 投稿中.
- 22) Ishida, K. & Sakuma, Y. : 本誌, 7, 4 (1962).
- 23) Edwards, R. G., Willson, E. D. & Fowler, R. E. : J. Endocrin., 26, 389 (1963).

Studies on the Superpregnancy and
Superfecundation of the Superovulated
mice with dosage of Prolactin-I.

Yuzi Sakuma

Lab. of Animal Physiology, College of
Agriculture and Veterinary Medicine,
Nihon University.

Tuyoshi Endo

Dept. of Public Health, School of
Medicine, Nihon University.

This investigation was dealt with pregnancy and implantation of superovulated mice with dosage of Prolactin. One hundred and ninety adult mice (CF#1) weighting about 27 to 33 g were

used in this study.

One group of mice were given a single injection of 1 to 30 iu Prolactin on the day 5 post coitum after superovulation treatment, another one group were given a single injection of 10 iu Prolactin on the 0 to 10 days post coitum after superovulation treatment.

The result were as follows :

1. The conception rate, number of embryos and living fetus at the 19 days post coitum was 71% (57/80), 15.6 (3-32) and 12.5 (1-24) respectively, effective dosage was 10 iu.
2. The conception rate, number of embryos implanted and living fetus at the 19 days post coitum was 74% (81/110), 18.6 (2-42) and 14.1 (2-26) respectively, suitable period was the first, the second and the third days of pregnancy.

From the results described above, prolactin was effectiveness for implantation of the fertilized ova in mice.

二分画射精に関する研究

Studies on Human Spermatozoa in the Split-ejaculation into the Two Parts

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 (主任: 野嶽幸雄教授)

小林 俊文
Toshihumi KOBAYASHI

Dept. of Obst. & Gynec., School of Med., Keio Univ., Tokyo, Japan
(Director: Prof. Yukio Notake)

ヒトの射精物を二分画に分けて採取した際、各分画中の精液の一般性状ならびに精漿の生化学的性状に関する比較は従来も行われているが、これら分画中の精子自体の質的差異についての観察は皆無であった。著者は精液一般性状に関する再検討に加え、両分画精子の代謝力(呼吸と解糖)ならびに凍結融解時の危害に対する細胞抵抗性についての比較を行うと共に、射精前の存在部位による精子妊孕性の変動に関する一つのパラメーターとして、マウス雄性性管内各部より得た精子を用いて人工授精実験を行った。さらに、二分画射精精液を AIH に応用し、従来法による AIH の成績を改善し得た。1. 健常供給者の26標本、精子減少症患者の319標本の観察では、大多数の症例で、第一分画は第二分画に比して精液量は少であるに拘らず精子濃度は高く、精子運動率は良好であった。2. 凍結融解後の精子蘇生率も第一分画でより高く、この知見はまた精液濃縮保存の可能性を示している。3. 酸素消費量は両分画精子間に差はなかったが、グルコース消費は第一分画精子の方が高かった。4. マウス人工授精成績は、副睾丸尾部より末梢の精子に妊孕性に関して著差のないことを示唆した。5. 従来法による AIH で妊娠しなかった81例を含む83例での二分画射精 AIH 後に17例(20.5%)の妊娠をみたが、ことに精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の精子減少症例での両射精法による AIH 後妊娠率は、従来法の10.3%に対して、二分画射精法では21.1%であった。

緒 言

不妊症の第一義的な原因として、精子減少症を含めた男性側因子のしめる意義は重要である。これら男性側の妊孕性低下に対して、種々のホルモン療法、各種ビタミン剤、あるいはアミノ酸剤等の薬物療法が行われているが、長期間の投与を要する上に、その効果も一過性のことが多く、諸家の研究にかかわらず、必ずしも満足すべき成果を得ていない。また精子減少症精液を遠沈⁵⁾²⁸⁾等の操作で濃縮せんとする試みも報告されているが、しかし高速度の遠沈が精子の活性および代謝を危損することも指摘されている²⁹⁾。

射精物を二つ以上の分画に分けて採取した場合、各分画の精子濃度および精漿の物理化学的性状が均等でないことは、家畜精液でよく知られ²⁹⁾、ヒトの精液について

も、Macleod & Hotchkiss²¹⁾の観察を初めとして、しばしば報告されている²⁷⁾²⁹⁾。ことに Amelar & Hotchkiss は二分画射精を人工授精または自然性交時に応用して、不妊夫婦の妊孕性を増進し得たと記載している。しかしながら、この方法で採取された精液の各分画中で、妊孕性に直接的な関連をもつ精子の性状が、どのように変動するかについての検討は、これらの報告でも行われていない。

著者は、二分画射精法で採取した両分画精液の一般性状についての再検討に加えて、精子自体の質的な検討を行う為、両分画精液中の精子の超低温凍結(-196°C)融解後の細胞危損度、新鮮精液および凍結融解後精液の精子代謝力の変化などの基礎的検討を行い、また各分画中の精子妊孕性の変動に関する検討を行う為の一つのパラメーターとして、マウスの人工授精法を用いて、雄性性

器各部精子の妊孕性の変動を観察した。さらに二分画射精法の臨床的応用として、主として精子減少症患者の二分画採取精液を用いた配偶者間人工授精(AIH)を試みると共に、精子濃度 $20 \times 10^3/\text{ml}$ 以下の症例について通常法による採取精液と二分画射精による採取精液との人工授精成績を比較検討した。

研究方法および材料

健康人男子の精液としては、通常採取法による精液検査で精子濃度 $50 \times 10^6/\text{ml}$ 以上を示した精液提供者14名よりの延26標本を用いた。このうちの15標本を凍結融解後精子蘇生率の観察に用いた。精子減少症患者の精液は、1967年11月より1968年12迄に慶応病院家族計画相談所において入手したものである。

精液の二分画採取法：広口滅菌瓶二個を用いさせ、可及的最初の Emission を一個に採らせて、これを第一分画とし、それに引き続く Emission の全てを他の瓶に採取させて、これを第二分画とした。

精液の凍結および融解法：室温にてストッパー付試験管中に分注した精液0.3~0.5mlにKS保存液を等量添加し静かに混和した後、この混合液を大阪酸素製液体酸素凍結保存容器(-196°C)中に静置し凍結した。融解法としては、凍結した試験管を室温に静置した。

なお凍結保存時間は全て24時間とした。凍結前と融解後とに、BlomによるEosin-Nigrosin染色を用いて精子生存率を検査し、凍結後精子蘇生率を次の如く算出した。

$$\text{精子蘇生率}(\%) = \frac{\text{融解後生存率}(\%)}{\text{凍結前生存率}(\%)} \times 100$$

グルコース消費量測定法：被験精液としては、健康男子学生から採取した精液10標本を用いた。測定法は次の操作によった。

① 新鮮精液を遠心沈澱(2500r.p.m, 10分間)し上澄をすて、使用した精液量と同量のMannのPhosphate-Ringer液²³⁾を沈澱に加えて再浮遊し、さらに一回遠沈を反復し上澄をすてる。

② この沈澱を、上記Ringer液に25mg%グルコースを加えた液の適当量を用いて再浮遊し精子濃度 $30 \times 10^6/\text{ml}$ になるように調整した。

③ この再浮遊液を37°C、2時間の条件で、好気性環境下に incubate した後、さらに遠沈(2500r.p.m, 20分間)して上澄を分離し、グルコース量の定量に用いた。

④ Glucostat(Worthington Biochem Co)を蒸留水で最終容量90mlに稀釈し、この9容量(4.5ml)と③の上澄1容量(0.5ml)とを混合した。

⑤ この混合液をさらに37°C、30分間の条件で Incu-

bation した後、被験液の呈色を日立光電比色計を用いて400m μ の波長で読み、その読みを②のGlucosse Ringer液の倍数稀釈液(25mg%, 12.5mg%, 6.25mg%)およびBlankによる標準曲線によって換算し、グルコース消費量を算出した。

凍結融解後精液の場合は、①と②の間に凍結融解を行ない、融解後2500r.p.m, 20分間遠沈し、この沈澱に②以後の操作を行った。

酸素消費量測定法：被験精液としては、健康男子学生から採取した精液5標本を用いた。測定法は精液を遠沈(2500r.p.m, 10分間)し上澄を捨てた後、MannのPhosphate-Ringer液を用いて精子濃度 $30 \times 10^6/\text{ml}$ の精子浮遊液を作製し、Warburg血液ガスメーターを用いて、35°C、3時間の条件で5% O₂ 95% N₂の環境下での酸素消費量を測定した。酸素消費量は、精子数1億あたりの消費量(μl)で表現した。

マウス雄性性器各部位より採取された精子の妊孕性比較実験：使用したマウスは、ICR-JCL系のClosed Colonyマウスである。精子採取は、生後100日以上の子成熟雄マウスの精管末梢側半部、精管睾丸側半部、副睾丸尾部および睾丸の四部位について行った。摘出した各組織より圧出した精子を、70% Lock液に浮遊せしめ、精子濃度約 $50 \times 10^6/\text{ml}$ に調整した。被授精マウスは、生後21日から30日の幼弱雌マウスを用いた。人工排卵誘発はPMS(セロトロピン)2IU皮下注後、48時間目にHCG(ゴナトロピン)2IUを追加して行った。人工授精はHCG処置後10時間目に、マウスの背部に正中切開を加え、各部位の精子浮遊液0.2mlを左右いずれかの卵巣囊内に注入した。授精実験は、上記四部位の精子浮遊液について、二種類ずつの組合せをつくり、各組合せについては8匹ずつの雌マウスを用いて行った。すなわち、一部位について合計24匹の一侧卵管を使用したことになる。授精48時間後に開復し、1/6針と生理的食塩水とで卵管内卵子を洗出し、位相差顕微鏡下に、新鮮標本で分割卵の有無について検索した。排卵数としては一侧卵管内に見出された全卵子数を用いた。

研究成績

A. 基礎的研究

I. 健康男子における二分画射精後の両分画精液の比較成績

(1) 一般性状

精液量：14名、26標本の両分画における平均精液量は、第1表に示す如く、第一分画1.43ml、第二分画3.36mlで、第一分画には全精液量の平均29.8%が含まれていた。ただし2標本では第二分画の方がむしろ少量であ

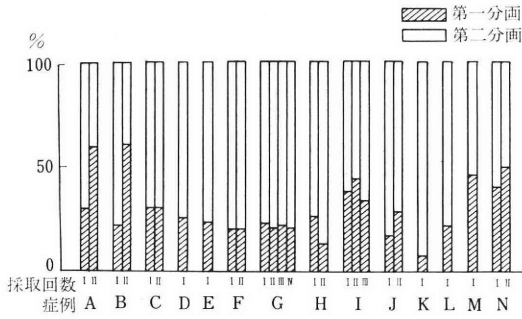


図 1 二分画射精：精液量の分布

表 1 二分画射精：精液の一般性状
(26例平均)

		第一分画	第二分画
精液量 (ml)		1.43 (29.8%)	3.36 (70.2%)
全精子数 ($\times 10^6$)		156.2 (55.4%)	125.9 (44.6%)
精子濃度 ($\times 10^6$ /ml)		108	35.9
精子運動率 (%)		67.4	59.3
精子形態 (%)	正 常	89.4	88.4
	頭 大	1.2	2.1
	頭 少	7.1	7.6
	双 頭	0.1	0.1
	尾 長	1.1	0.5
	双 尾	0.8	1.3

った (図 1)。

精子濃度：平均精子濃度は第一分画が 108×10^6 /ml、第二分画が 35.9×10^6 /ml で、第一分画は第二分画の3.1倍の高濃度であった (表 1, 図 2)。

全精子数：射精物中の全精子数の55.4%が第一分画に含まれていた (表 1, 図 2)。すなわち、精液量は第一分画では全精液量の29.8%を占めるに過ぎないのに、精子濃度は極めて高く、この分画に全精子の半数以上が含まれるのが一般的傾向である。第一分画の方が全精子数の少ない場合が11標本にみられたが (図 3)、このうち7例では第一分画が明らかに高濃度を示した。このうちの4標本中2例では、ほとんど全ての精子が第二分画に含まれており、また他の2例では第二分画の方が高濃度であった。従って、少数の例外はあっても、ほとんどの例では、全精液中の精子を第一分画に濃縮した形で採取することが可能であった。

精子運動率：26標本の平均精子運動率は第一分画67.4%、第二分画59.3%で第一分画の方がやや良好であった (表 1)。両分画が同様の運動率を示した4標本 (15.4%) と第二分画の方が高い運動率を示した4標本との他は、

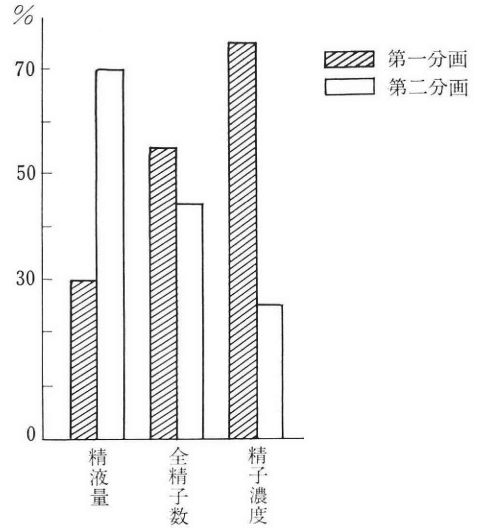


図 2 二分画射精：精液の数量的分布
(精子濃度正常の26例平均)

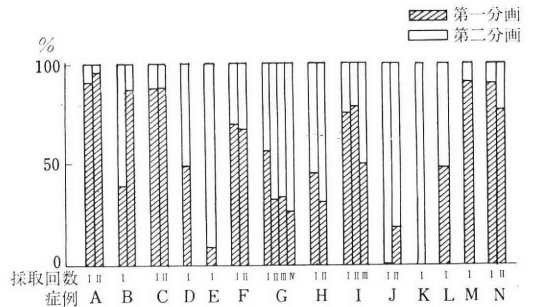


図 3 二分画射精：精子数の分布

すべて第一分画の運動率が高かった。

精子細胞形態：精液の塗沫標本をバパニコロー法で染色し、観察した結果では、表 1 に示す如く、異常形態細胞の出現について両分画に差は認められなかった。

(2) 凍結融解後精子蘇生率

超低温凍結時に精子細胞に及ぼされる構造的ならびに機能的破壊作用への抵抗性を、既述の方法で15標本について検討した。第一分画中精子の凍結前平均生存率は65.4%、融解後の平均精子生存率は45.7%で、従って、平均精子蘇生率は69.9%であった。これを第二分画中精子の平均精子蘇生率57.5%に比較すると、超低温凍結のごとき危害に対するの抵抗性も、第一分画中の精子細胞の方が高いと思われる (図 4)。

(3) 生化学的性状

解糖力(グルコース消費量)：両分画中精子それぞれ1億あたりのグルコース消費量を、新鮮精液および -196°C 24時間凍結融解後精液の各5例ずつについて比較検討した (表 2)。新鮮精液では第一分画で0.287mg/2h、第

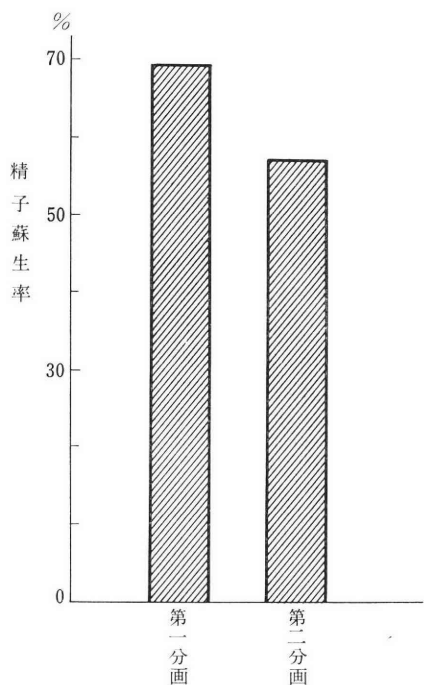


図4 二分画射精：精子の凍結融解に対する抵抗性 (精子濃度正常15例平均)

表2 二分画射精：精子のグルコース消費量 (各群5例平均)

		グルコース消費量 (mg/10 ⁸ /2h)
新鮮精液	第一分画	0.287
	第二分画	0.192
凍結融解後精液 (-196°C, 24h)	第一分画	0.295
	第二分画	0.151

二分画で0.192mg/2hの消費量を示し、凍結融解後精液では、第一分画で0.295mg/2h、第二分画で0.151mg/2hの消費量であった。すなわち、新鮮精液と凍結融解後精液とにかかわらず、第一分画中の精子のグルコース消費量は、第二分画のそれより大であった。

呼吸(酸素消費量)：5標本の両分画につき、35°C、3時間のIncubation中の精子1億あたりの酸素消費量を一時間毎に示したのが図5である。精子1億あたりの酸素消費量は、両分画に差を認めなかった。

II. 精子減少症患者における二分画射精後の両分画精液の比較。

1967年11月より、1968年12月迄の間に慶応病院産婦人科家族計画相談所を訪れた精子減少症患者のうち、通常の採取法による精液所見で、a) 精子濃度20×10⁶/ml以下の症例45名、延117標本、b) 精子濃度20×10⁶/mlを

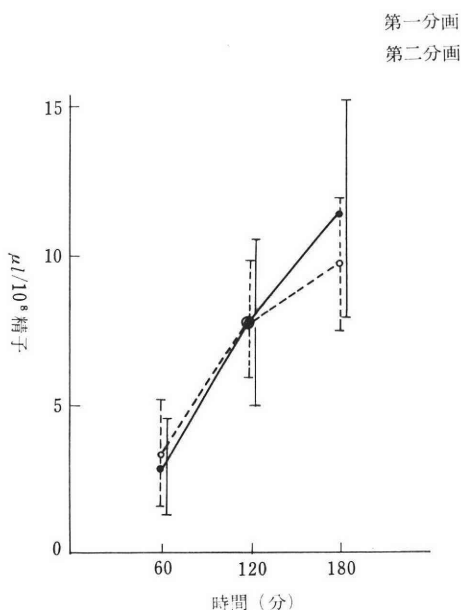


図5 二分画射精：精子の酸素消費

表3 精子減少症患者の二分画射精 (a) 精子濃度20×10⁶/ml以下 (117標本)

	精液量 (ml)	精子濃度 (×10 ⁶ /ml)	精子運動率 (%)	mlあたりの運動精子数 (×10 ⁶)
第一分画	1.5±0.9	25±14	58±20	14.4
第二分画	2.2±1.1	8.7±6.8	31±22	3.0

(b) 精子濃度40×10⁶~20.01×10⁶/ml (202標本)

	精液量 (ml)	精子濃度 (×10 ⁶ /ml)	精子運動率 (%)	mlあたりの運動精子数 (×10 ⁶)
第一分画	1.3±0.7	54±23	68±15	33.5
第二分画	2.2±1.1	23±15	45±21	10.8

超え40×10⁶/ml以下の症例46名、202標本、計91名、319標本について、二分画射精法によって採取した両分画精液の一般性状を検討した。

(1) 一般性状

精液量：精子濃度20×10⁶/ml以下の症例——表3 aに示す如く、第一分画は1.5±0.9ml、第二分画は2.2±1.1mlであり、第一分画の精液量は、第二分画より明らかに少量であった。なお第一分画の方が第二分画より量が多い例は19標本(16.2%)にみられた。

精子濃度20×10⁶/mlを超え40×10⁶/ml以下の症例——第一分画は1.3±0.7ml、第二分画は2.2±1.1mlであり、この場合も第一分画の方が少量であった。なお第一分画の方が精液量の多い例は25標本(12.3%)であった(表3 b)。

精子濃度：精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例——表 3 a の如く，第一分画 $25 \times 10^6 \pm 14 \times 10^6/\text{ml}$ ，第二分画 $8.7 \times 10^6 \pm 6.8 \times 10^6/\text{ml}$ で，第一分画の方が精子濃度は高い。但し，第二分画の方が高濃度の例が12標本(10.3%)存在した。なおこの群45名の通常の精液採取法によるさいの平均精子濃度は $13.8 \times 10^6/\text{ml}$ であった。

精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ を超え $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例——表 3 b に示す如く，第一分画は $54 \times 10^6 \pm 23 \times 10^6/\text{ml}$ ，第二分画は $23 \times 10^6 \pm 15 \times 10^6/\text{ml}$ で，第一分画の方が明らかに精子濃度高い。なお，第二分画の方が精子濃度高い例は13標本(6.4%)のみであった。また，この群46名の通常の精液採取法による精液の平均精子濃度は $33.7 \times 10^6/\text{ml}$ であった。

精子運動率：精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例——第一分画は $58.0 \pm 20.0\%$ ，第二分画は $31.0 \pm 22.0\%$ で，第一分画の方が運動率は良好であった。但し，第二分画の方が高い運動率を示した例は10標本(8.6%)，両分画の運動率が同率の例は12標本(10.3%)であった。なおこれら45名の通常の採取法によるさいの平均精子運動率は46%であり，分画射精後の第一分画における精子運動率は，通常法による採取精液の精子運動率より良好であった。

精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ を超え $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例——第一分画 $68.0 \pm 15.0\%$ ，第二分画では $45.0 \pm 21.0\%$ で(表 3 b)，第一分画の方が運動率良好であった。第二分画の方が運動率高い例は12標本(5.9%)，両分画同率の症例は19標本(9.4%)であった。この群の通常の採取法による平均精子運動率は58%で，この場合も，第一分画中の精子運動率の方が良好であった。

単位容積 (ml) あたりの運動精子数：精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例——臨床上，子宮腔内人工授精に用いられる精液量は，通常一定量(0.3~0.5ml)¹⁾であるので，精液 ml あたりの平均運動精子数について検討してみると，第一分画は 14.4×10^6 ，第二分画は 3×10^6 であった。第二分画の方が ml あたりの運動精子数の多かった例は7標本(6.0%)のみであった(表 3 a)。なおこの群の通常法による採取時の ml あたりの平均運動精子数は 8.5×10^6 であり，この場合も第一分画の平均運動精子数の方が多かった。

精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ を超え $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例——表 3 b に示す如く，第一分画 33.5×10^6 ，第二分画 10.8×10^6 であった。第二分画の方が ml あたりの運動精子数の多かった例は10標本(5.0%)に過ぎなかった。なお，この群46名の通常法による採取時の ml あたりの平均運動精子数は 20.2×10^6 であった。

(2) 凍結融解後精子蘇生率

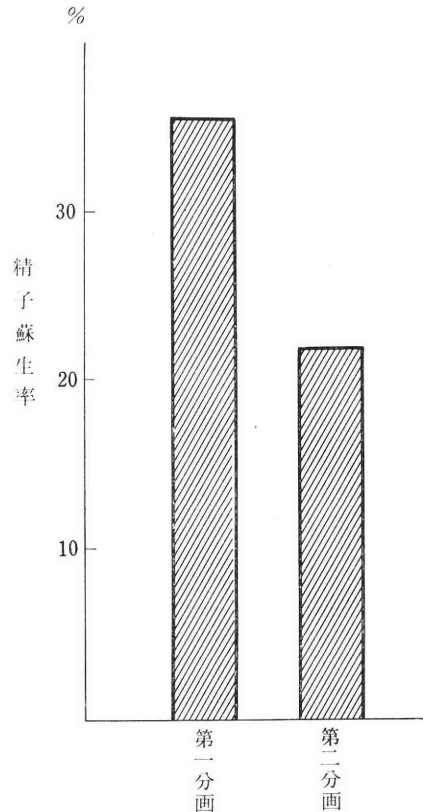


図 6 二分画射精：精子の凍結融解に対する抵抗性(精子減少症患者精液13例平均)

精子濃度 $10 \times 10^6/\text{ml} \sim 40 \times 10^6/\text{ml}$ で，精子運動率40~80%の13症例につき，凍結融解後の両分画の平均精子蘇生率をみると(図 6)，第一分画では35.5%，第二分画では22.1%で第一分画の方が良好な傾向をみた。

III. マウス雄性性器各部位より採取した精子の妊孕性比較

各分画の精子の授精力を比較する為の一つのパラメーターとして，マウスの雄性性器各部位から採取した精子を用いて，既述の方法で人工授精を行い，排卵された卵あたりの授精成功率および授精された卵管あたりの授精成功率を図 7 に示した。睪丸を除き，他の三部から採取された精子の授精成績は，排卵された卵総数に対する授精成功率32~36%，授精された卵管あたりの授精成功率71~79%で，各部位間に特に差を認めなかった。

B. 臨床的研究——二分画射精法の人工授精への応用

I. 二分画射精法による人工授精成績

1967年11月より1968年12月の間に，後述の1例(妊娠症例 No. 1)を除き，女性側に特に不妊原因の認められない不妊患者83名に，二分画射精法により採取した第一

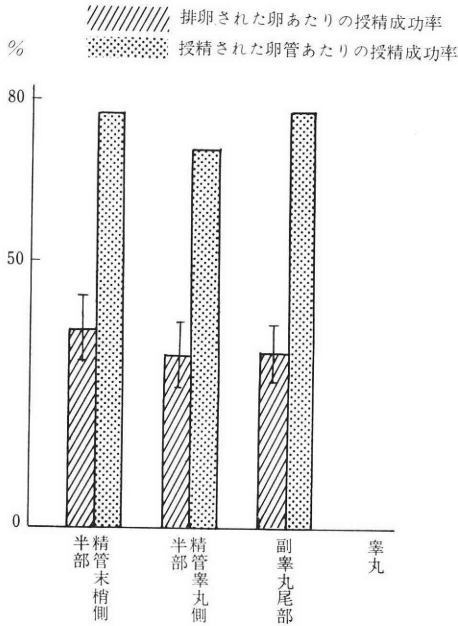


図 7 マウス雄性生殖器官内精子の授精力の比較

分画精液を用いた配偶者間人工授精(AIH)を行った。83名の内訳は、精子濃度正常であるが、性交後検査不良の者5名(A群)、精子濃度 $20 \times 10^6/ml$ をこえ $40 \times 10^6/ml$ 以下の症例40名(B群)、精子濃度 $20 \times 10^6/ml$ 以下の症例38名(C群)であった。

この83名中81名では、通常の精液採取法による AIH をすでに延 524周期、平均 6.5周期(最低1周期8名、最高32周期1名)に行ったにもかかわらず、妊娠不成立であった。また、これら全症例の平均不妊期間は 6.1年である。二分画射精法による人工授精はA群では延10周期、平均2周期に、B群では延170周期、平均4.3周期に、C群では100周期、平均2.6周期に計280周期、平均3.4周期に施行した。その結果A群2名(A群の40%)、B群7例(B群の17.5%)、C群8例(C群の21.1%)に妊娠成立をみた。通常の精液採取法による AIH で妊娠成立をみなかった81名中、二分画採取精液による

AIH によって妊娠したものは16名に及んだ(表4)。二分画射精精液による AIH で妊娠成立をみた17例の平均不妊期間は 4.4年で、そのうち原発不妊は16名、続発不妊は1名であった。妊娠成立時の二分画精液の性状および既往の通常の精液採取法による AIH 時または精液検査時の平均精液一般性状所見は表5に示す如くである。これら妊娠症例の全例において、mlあたりの運動精子数は、第一分画が第二分画より多く、またこの第一分画精液を用いて授精し妊娠成立をみた。なお精子濃度は No. 3を除いた他の症例は全て第一分画が高かった。精子運動率は、No. 7のみが二分画同率であったが、他は第一分画が良好であった。妊娠成立17例のうち1例(No. 7)を除き、他は全てすでに通常の採取法による AIH を平均 4.3周期に行った。二分画射精法を用いた場合、妊娠に至る迄の授精周期数は、平均1.7周期であり、1周期のみで妊娠した例は9例(53%)をしめた。さらに通常の精液採取法によるさい精子濃度 $20 \times 10^6/ml$ 以下の症例の妊娠例8例のうち6例(75%)が、二分画射精法による AIH 開始後1周期目に妊娠しているのは興味深い。現在迄に判明した妊娠後の経過は経陰満期産8名で、新生児は全て単胎成熟児で奇形はない。妊娠継続中のもの7名、流産2名である(表5)。

二分画射精法による AIH 後の妊娠例の一例として、症例 No. 1 を表6および図8に示した。本症例は夫が精子減少症であるとともに、精子運動率が極めて低く、また妻は無排卵周期症であった不妊夫婦で、妻に各種排卵誘発法を行いつつ通常法で採取した精液による AIH を施行したが(うち5周期に排卵誘発に成功)妊娠成立せず、二分画射精法による AIH で始めて妊娠した症例である。妊娠後の経過に異常はなく、昭和43年8月21日に当教室産科において、生下時体重3850gの男児を分娩した。

II. 二分画射精法と通常射精法とによる AIH の妊娠率および授精精液性状の比較(いずれも精子濃度 $20 \times 10^6/ml$ 以下の症例)

1968年1月より12月迄の1年間に慶応病院家族計画相

表 4 二分画射精法による AIH 成績

	例数	平均不妊期間(年)	通常法による延 AIH 施行周期数	通常法による平均 AIH 施行周期数	二分画射精法による AIH 施行周期数	平均二分画射精 AIH 施行周期数	妊娠例数	妊娠率(%)
A 精子濃度正常	5(1)	5.0	30	7.5	10	2	2(1)	40
B 精子濃度 $20.01 \times 10^6/ml \sim 40 \times 10^6/ml$	40(1)	6.5	304	7.8	170	4.3	7	17.5
C 精子濃度 $20 \times 10^6/ml$ 以下	38	5.8	190	5.0	100	2.6	8	21.1
合計又は平均	83(2)	6.1	524	6.5	280	3.4	17(1)	20.5

注 () は通常の精液採取法による AIH を施行した既往のないもの。

表 5 二分画射精法による AIH 妊娠例

症例 No.	年 齢		不妊期間	既往の非分画 AIH 周期数	本法による AIH 周期数	通常法による採取精液の平均精液性状		妊娠成立時二分画精液性状				妊娠, 分娩経過						
	夫	妻				量 (ml)	精子濃度 ($\times 10^6/ml$)	運動率 (%)	運動精子数 ($\times 10^6/ml$)	第一分画			第二分画					
						量 (ml)	精子濃度 ($\times 10^6/ml$)	運動率 (%)	運動精子数 ($\times 10^6/ml$)	量 (ml)	精子濃度 ($\times 10^6/ml$)	運動率 (%)	運動精子数 ($\times 10^6/ml$)					
1	35	30	6	5	1	2.5	12	20	2.4	1.5	18	30	5.4	0.7	8	10	0.8	♂ 3850 gr
2	30	26	3	12	2	4.4	35	60	21.0	1.6	50	70	35.0	4.5	10	50	5.0	♀ 3420 gr
3	32	27	4	5	1	4.0	10	10	1.0	2.0	8	20	1.6	1.0	10	10	1.0	♂ 2900 gr
4	34	33	10	2	2	3.3	35	70	24.5	1.6	50	70	35.0	3.0	30	50	15.0	♀ 3100 gr
5	30	28	3	1	1	5.0	35	70	24.5	3.0	80	90	72.0	1.4	30	40	12.0	♂ 4450 gr
6	30	33	4	3	1	2.5	50	70	35.0	0.8	70	80	56.0	1.5	50	60	30.0	♂ 3700 gr
7	30	26	2	0	3	3.5	50	80	40.0	0.5	80	80	64.0	1.0	30	80	24.0	8W 流産
8	32	32	7	11	2	4.0	40	50	20.0	1.0	40	80	32.0	3.0	8	50	4.0	7W 流産
9	33	31	5	4	2	4.3	40	50	20.0	1.2	90	80	72.0	2.8	0	0	0	妊娠中
10	32	29	4	4	3	2.9	15	55	8.3	1.2	28	70	19.6	3.0	6	50	3.0	妊娠中
11	34	31	5	3	1	2.5	20	60	12.0	1.1	30	80	24.0	1.7	5	50	2.5	♀ 2850 gr
12	30	27	4	3	1	5.6	15	50	7.5	2.5	30	70	21.0	4.2	10	50	5.0	妊娠中
13	29	24	2	2	2	7.0	12	60	7.2	1.5	40	65	26.0	4.0	8	20	1.6	妊娠中
14	29	28	6	6	1	5.0	35	80	28.0	1.8	80	80	64.0	3.0	45	50	22.5	妊娠中
15	31	27	3	2	1	4.6	15	60	9.0	1.8	25	70	17.5	2.0	8	20	1.6	♂ 2930 gr
16	31	29	3	1	4	3.6	30	50	15.0	1.5	70	70	49.0	2.4	25	50	12.5	妊娠中
17	34	31	3	5	1	5.0	18	40	7.2	1.6	45	60	27.0	2.2	10	50	5.0	妊娠中

表 6

症例 No. 1

♀35歳 Para 0 不妊期間6年
 ♀30歳

諸検査: BBT, 無排卵周期症
 子宮卵管造影法: 両側卵管通過性良好
 卵管通気法: 痙攣型
 月経血培養: TB (-)
 精液検査 (昭和39年10月29日):
 精液量 2.5 ml, 精子濃度 $15 \times 10^6/ml$
 精子運動率 20%

治療経過

昭和 年 月	排卵誘発に 用いた薬剤	AIH 施行時の精液所見		
		量 (ml)	精子濃度 ($\times 10^6/ml$)	精子運動 率 (%)
40 8	PHS, HCG	2.8	15	20
40 10	PMS, HCG	2.5	10	10

昭和40年11月~昭和42年3月迄無排卵続く

42. 4	Clomiphene	3.0	15	40
42. 6	"	1.6	10	20
42. 10	HMG, HCG	2.5	10	10
42. 11	F 6066	二分画射精法にて AIH→妊娠		

昭和43年8月21日 男児分娩(生下時体重 3850 gr)

妊娠成功時両分画精液所見

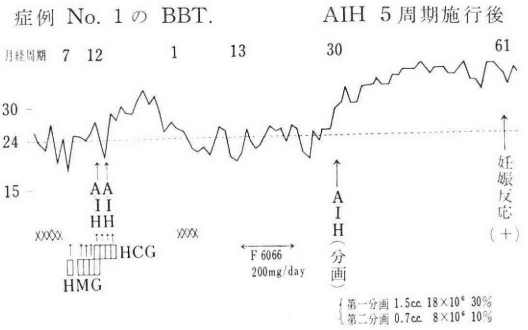
第一分画	1.5	18	30
第二分画	0.7	8	10

談所において、精子濃度 $20 \times 10^6/ml$ 以下の症例で、通常の精液採取法のための AIH を施行した例は 136名であった。この群と通常の精液採取法による精液の精子濃度が $20 \times 10^6/ml$ 以下であった例で二分画射精 AIH を行った38例について、ml あたりの運動精子数を比較すると、通常の精液採取時には、それぞれ、平均 8.3×10^6 および 8.5×10^6 で両群間に全く差がなかったにかかわらず、二分画射精群での第一分画の ml あたりの平均運動精子数は 13.5×10^6 にまで増加せしめ得た。また両群の妊娠成立例の使用精液における ml あたりの運動精子数平均は、それぞれ、 10.3×10^6 , 17.8×10^6 で、二分画射精法

表 7 通常の精液採取法と二分画射精法との AIH 成績
(精子濃度 $20 \times 10^6/ml$ 以下)

	AIH 施行例数	平均運動精子数 ($\times 10^6/ml$)	妊娠例数	妊娠率 (%)	妊娠成立時 平均運動精子数 ($\times 10^6/ml$)	妊娠例の 平均授精 周期数
通常の精液採取法による AIH	136	8.3	14	10.3	10.3	3.9
二分画射精法による AIH (第一分画)	38	13.5 (8.5)*	8	21.1	17.8	1.4

注: () *は通常の精液採取法による際の平均運動精子数。



8 図

群では 1.7倍であった。妊娠率をみると通常法群では 10.3%であったのに反して、二分画射精法群では 21.1% に改善された(表7)。

なお、二分画射精法群では、既述のように(表4)、すでに通常法で、平均5周期に AIH 施行し妊娠不成立の群であり、この群で通常法のそれより良好な妊娠率をあげ得た意義は大きい。妊娠にいたる迄の平均授精周期数、通常法群では3.9周期、二分画射精法群では1.4周期で、後者の方がはるかに平均授精周期数も短縮し得た。

考案および総括

男性不妊の頻度およびその治療: 精子減少症や無精子症などの男性側原因は、不妊症の第一義的な因子として重要な位置をしめている。本邦の最近の文献では¹⁶⁾²⁵⁾、約30%と報告され、Israel¹⁸⁾、Behrmann & Kistner²⁰⁾の文献的考察でも30~35%と推定されている。さらに男性因子が何等かの程度に夫婦としての不妊に関与する率については、飯塚¹¹⁾は約75%と記載している。こうした男性因子の治療、ことに精子減少症患者の精子増強策として、各種ホルモン療法を中心とした薬物療法が数多く試みられている。ホルモン療法としては PMS, HCG 療法¹²⁾¹³⁾、これと男性ホルモンとの併用³¹⁾、甲状腺ホルモンである l-trijodol-tyronine 療法¹⁷⁾、或いは男性ホルモンによる反撥現象¹⁰⁾を利用する方法等種々の療法がなされている。ホルモン療法以外でも V.E 或いは B_{12} ⁹⁾¹⁴⁾、核酸前駆物質である AICA Orotate¹⁵⁾ による治療も広く行われ、また最近では Clomiphene Citrate を使用した

報告もある²⁰⁾。これら薬物療法による妊娠成功例も報告されているが、その精子増強効果も持続性でなく一過性のことが多い。一方射精された精液を濃縮し、精子濃度を高めて AIH に用いようとする試みとして、遠沈法²¹⁾²²⁾、あるいはナイロン膜による濃縮法²³⁾等も記載されているが、一般にこれらの操作は長時間を要し、操作中に精子妊孕性の低下をきたす可能性がある上に、T. Mann²³⁾が指摘しているように、高速の遠沈は、精子を危損したり、代謝に重要な酵素の喪失をもたらす恐れもあり、必ずしも所期の目的を達していない。

ヒトの二分画射精精液については、MacLeod & Hotchkiss²¹⁾が30標本についての検討に基いて、第一分画に全精子数の76%、精液量の39%が含まれ、精子運動率も第一分画の方が良好であることを最初に報告し、この分画の人工授精への利用を示唆した。その後、二分画射精時の両分画精液の一般性状の比較に関する追試が度々なされるとともに、人工授精への実際応用が試みられている²³⁾²⁴⁾。しかしながら、精子減少症における大きな問題は、一般性状にみられる数量的特性のみでなく、精子の質にもあり得ることは人工授精成績などから明らかに推定される所であり、この二分画射精法の臨床応用の基礎としては、未だ報告されていない精子自体の質についての検討が是非必要であると考えられる。

著者は、いまだ本邦ではほとんど行われていない二分画射精精液の一般性状の観察に加えて、さらに精子細胞の凍結融解の如き極端な危害効果に対する抵抗性ならびに代謝能力からの検討を加え、大多数の症例において第一分画により良質と思われる精子が、高濃度に含まれていることから、この方法が、遠沈その他の機械的操作を行う際の不利もなく、簡易な精液濃縮法として極めて有用であるという結論に達し得た。

ヒト二分画射精後の両分画精液の一般性状：精子濃度正常な群、 $20 \times 10^6/\text{ml}$ をこえ $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の群および $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の三群に分けて検討した。精液量はどの群でも第一分画が少量である。すなわちヒト精液を二分画採取した場合約10%前後の例外を除いて、一般に第一分画に含まれる精液量は、第二分画より少いと云える。しかし第一分画の精液量は平均して 1.0ml をこえており、人工授精に応用する場合には充分な量と云える²⁾。

精子濃度は第一分画は、第二分画の2~3倍の高濃度であり、MacLeod & Hotchkiss²¹⁾等の報告と一致する。但し第二分画が精子濃度高いものも少数例にみられる。一方精子濃度とともに、精液の有する妊孕性を論ずるさい重要なもう一つの因子である精子運動率は²²⁾、やはり第一分画の方が良好であった。加えて運動率の両分画の差は、精子減少症患者精液における方がやや大きいと思

われるのは重要な所見である。この場合も、第二分画がより高い精子運動率を示す例は7.5%の標本に、両分画が同運動率である例は約10%にみられた。これは Farris & Murphy²⁵⁾等の報告と同傾向である。前述の如く、精子濃度と精子運動率は妊孕性の面で重要な二因子²²⁾であるが、人工授精という観点からみれば、授精に供する精子は0.5ml で十分であるから²⁾精液量という因子は考慮する要はない。したがって単位容積 (ml) あたりの運動精子数を基準とした高島、村山、飯塚の妊孕係数²²⁾を精子減少症患者の標本についての検討に応用すると、第一分画精液は、第二分画精液の約3倍の妊孕係数を有することになる。また、第一分画は、通常の採取法による精液の約1.5倍の妊孕係数を示し、本法により精子減少症患者精液にも、正常精液に匹敵する一般性状の獲得を期待し得る。

凍結融解に対する分画射精液の抵抗性：一般性状においては、第一分画精液が優れた特性をもつことは一般的傾向であるが、精子の質的検討も必要であろう。また第一分画には、長期の精管内滞留により、過成熟精子が多く含まれる可能性が否定出来ないが、従来この面での検討はなされていない。しかしながら、凍結融解後の精子蘇生率は正常精液、精子減少症患者精液とも、第一分画の方が高く、第一分画の精子は物理的の危害に対しても、より大きい抵抗性を有することが知られ、細胞構造の点でもより優れたものであることが推測され得る。このことはまた、二分画射精により濃縮された精液の凍結保存への応用が可能であることを示すものであり、精液凍結保存の実用価値をさらに発展させるための重要な根拠となる。

二分画射精精子の代謝力：精子の酸素消費量は、両分画精子間に差はなかったが、グルコース消費量は第一分画精子の方が多い。したがって、代謝面からみても、第一分画中の精子の資質は、第二分画中のそれより劣ることはない。

マウス雄性性器各部位から採取した精子の妊孕性比較：上述の如き精子の諸性質が精子の妊孕性そのものの指標となるかどうかについては、なお疑問があり、この点に関する検討に当たっての一つのパラメーターとして、マウスの雄性性器各部位から採取した精子を用い、人工授精を行ったが、その成績では(図7)、睪丸から採取した精子以外にはその妊孕性に差がなく、モルモットによる従来²⁾の知見に一致した²⁴⁾。このことを直ちにヒト精子の雄性性器内存在部位による妊孕性の変動と結びつけることは出来ないにしても、一旦副睪丸尾部より末梢に移行した精子は、射精前の存在部位により、精子個々の妊孕性にあまり差をもつことはないということを示唆する。したがって、第一分画中の精子は、授精に必要な一

方の能力, すなわち女性性器内での活性においてより優れ, 他の一方の能力すなわち, 妊孕性において第二分画の精子に劣るものではないことを示唆している。

精子減少症患者に対する二分画射精法での人工授精成績: 著者は精子減少症患者の AIH に, 二分画射精法で採取した第一分画精液を応用した。従来当然のことながら, AIH の成績は AID に比べ劣っている¹⁾²⁶⁾³⁰⁾。羽仁¹⁹⁾は AIH 全体で妊娠率17.2%, 精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例では15.8%の妊娠率と報告し, 教室の最近の成績では²⁴⁾ AIH 全体で25.5%, 精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例では8%の妊娠率である。また既述の如く, 1968年1年間の精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の症例の AIH 妊娠率は10.3%である。今回著者が二分画射精法を用いて AIH を施行した83名中, 2名を除いた81名は通常精液採取法での AIH をすでに平均 6.5周期施行したが妊娠し得なかったものである。この81名中16名(19.8%)と通常法による AIH を行っていない2名中1名との合計83名中17名(20.5%)に妊娠成立をみたことは(表4), 二分画射精法を用いた人工授精が, 臨床的に十分応用価値を有することを如実に示していると言える。

また最近の教室の AIH の成績をみると, 精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下では極めて妊娠の可能性が低い。二分画射精法での AIH では $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の精子濃度の症例の21%に妊娠成立をみたことおよびこれら妊娠例の授精に用いた第一分画精液の平均精子濃度が $29 \times 10^6/\text{ml}$, mlあたりの平均運動精子数が $17.8 \times 10^6/\text{ml}$ に達していることは, 精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の劣性精液でも, 本法を利用することによって, 精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ をこえる精液が示すと同水準迄, その妊孕性を上昇せしめ得ることを示していると言える。

結 論

1. 二分画射精法により採取したヒト精液では, 正常男子精液, 精子減少症患者精液ともに, 第一分画は, 第二分画に比して, 一般に精液量は少であるにかかわらず, 精子濃度は高く, 精子運動率は良好である。
2. 凍結融解に対する細胞抵抗性も, 第一分画の精子の方が第二分画のものより強い。これは二分画射精法を利用することによって, 精液の濃縮保存が可能であることを示唆する。
3. 酸素消費量については, 両分画精子間に差はなかったが, グルコース消費は, 第一分画精子の方が高い。
4. 射精前精子の存在部位による妊孕性の変化に関する一つのパラメーターとしての, マウスの雄性性器各部位別精子を用いた人工授精成績では, 副睪丸尾部より末梢から得た精子の授精力に差を認めなかった。

5. 二分画射精法で採取した第一分画精液を AIH に応用し, 通常法で採取した精液による AIH で成功しなかった81例を含めた83例のうち17例(20.5%)に妊娠成立をみた。ことに精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下の精子減少症患者38例のうち, 二分画射精法による AIH によって8例(21.1%)に妊娠成立を認め, この種の患者における通常 AIH 後の妊娠率(10.3%)を極めて改善し得た。

稿を終るに当り, 終始御懇篤なる御指導御校閲を頂いた恩師野嶽幸雄教授に深甚なる感謝の意を捧げるとともに, 直接御指導御鞭撻を頂いた飯塚理八助教授に心から感謝いたします。また御協力いただいた第二研究室諸兄姉とくに沢田喜彰博士ならびに家族計画相談所中山光子嬢に感謝いたします。

なお, 本論文の要旨の一部は第12回(昭和42年)および第13回(昭和43年)日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) 安藤画一, 飯塚理八: 人工授精の臨床, 第八回日本不妊学会招請講演要旨, 津市(1963).
- 2) Amelar, R. D., & Hotchkiss, R. L.: *Fert & Steril*, 16: 46 (1965).
- 3) Behrmann, S. J., & Kistner, R. W.: *Progress in infertility*, 1, Little Brown & Co., Boston (1968).
- 4) Chohen, M. R.: *Internat. J. Fert.*, 10: 25 (1965).
- 5) Eckerling, B.: *Fert & Steril*, 11: 475 (1960).
- 6) Farris, E. J.: *J. Urol.*, 61: 1099 (1948).
- 7) Farris, E. J. & Murphy, D. P.: *Fert & Steril*, 12: 469 (1961).
- 8) Goldhope, C. D.: *Fert & Steril*, 12: 469 (1961).
- 9) Harvey, C. & Juckson, M. H.: *J. Clin. Pathol.*, 8: 341 (1955).
- 10) Heckel, N. J.: *J. Clin. Endocrinol.*, 11: 235 (1951).
- 11) 飯塚理八: 産婦の世界, 6: 575 (1954).
- 12) 飯塚理八: 産婦の世界, 9: 11 (1957).
- 13) 飯塚理八, 他: 日不妊会誌, 2: 69 (1957).
- 14) 飯塚理八, 他: 臨産, 20(6): 41 (1966).
- 15) 飯塚理八, 他: ホと臨床, 8: 217 (1960).
- 16) 五十嵐正雄: 日不妊会誌, 10: 201 (1965).
- 17) 石神襄次: 産婦治療, 15: 652 (1967).
- 18) Israel, S. L.: *Diagnosis and treatment of Menstrual Disorders and Sterility*, 414, Hoeber medical division, Harper & Row, New York, (1967).
- 19) 羽仁宮生: 日不妊会誌, 5: 126 (1960).
- 20) Jungek, E. C., Greenblatt, R. B., & Mahesh, V. S.: *Fert & Steril*, 15: 40 (1964).
- 21) Macleod, J. & Hotchkiss, R. S.: *J. Urol.*, 48: 225 (1942).

- 22) Macleod, J. & Gold, R. Z. : Fert & steril, 2 : 187 (1951).
- 23) Mann, T. : The biochemistry of semen and of the male reproductive tract, 120, Methuen & Co, London (1964).
- 24) 野嶽幸雄, 飯塚理八, 小林俊文, 他 : 日不妊会誌, 13 : 332 (1968).
- 25) 岡村泰 : 日不妊会誌, 10 : 201 (1965).
- 26) Payne, S. & Skeels R. F. : Fert & Steril, 5 : 33 (1954).
- 27) Perloff, W. H. : Fert & Steril, 11 : 262 (1960).
- 28) Rock, J. in Meigs, J. V. & Sturgis, S. H (E. d. S) : Causes and Relief of infertility, Progress in Gynecology, (2), Stratton, New York (1952).
- 29) Ross, V, Miller, E. G. & Kurzlock, R. : Endocrinol. 28 : 885 (1941).
- 30) Rubin, A. : Fert & Steril 12 : 581 (1961).
- 31) 志田圭三, 他 : ホと臨床, 8 : (2), 918 (1960).
- 32) 高島達夫, 村山茂, 飯塚理八 : 産婦の世界, 5 : 1099 (1953).
- 33) Young, W. C. : J. Exper. Biol., 8 : 151 (1931).

Studies on human spermatozoa in the split-ejaculation into the two parts.

Toshihumi Kobayashi

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Keio University, Tokyo
(Director : Prof. Yukio Notake)

Qualitative difference between human spermatozoa in each of the two semen fractions following split-ejaculation into these two parts was evaluated as judged not only by sperm motility and morphology but also by sperm metabolic a-

ctivities such as respiration and glycolysis, and sperm survival following freeze-thawing. In addition, inseminations with mouse spermatozoa collected from various parts of the male reproductive tracts was done to provide a parameter for assuming possible variance in fertilizing capacity of human spermatozoa prior to ejaculation. Furthermore, homologous artificial inseminations with husband's semen collected by split-ejaculation were performing in women who had been barren due mainly to oligospermie in their male partners. The results were as following :

1. The first fraction was found, in most of the cases of 26 normospermic and 319 oligospermic specimens, to retain higher sperm concentration as well as better sperm motility than do the second fraction, while the former has smaller semen volume than the latter. 2. Cellular resistance of the spermatozoa in the first fraction to damages due to freezethawing was found to be stronger than that of the sperm cells in the second fraction. 3. As far as glycolytic activity of the spermatozoa is concerned, those in the first fraction showed higher activity than do those in the second fraction, while there was found no difference in respiratory activity between the spermatozoa in each of these two fractions. 4. According to the results of the mouse insemination experiments, it is possible to assume that spermatozoa collected from the caudal part of the epididymis and various peripheral parts beyond this organ do not show any difference in their fertilizing capacity. 5. AIH by using the first fraction following this sort of split-ejaculation were performed in 83 women, 81 of which could not conceive following usual AIH in two or more cycles, resulting in 17 pregnancies (20.5%).

Chlormadinone Acetate 剤の下垂体 Gonadotropin に対する作用

Effects of Chlormadinone Acetate-Mestranol Combination
Administration on Pituitary Gonadotropin in Rats

京都府立医科大学産婦人科学教室 (主任: 徳田源市教授)

東山秀声 木津収二
Shusei HIGASHIYAMA Shuji KIZU

小林仁也 浜田善弘
Hitoya KOBAYASHI Yoshihiro HAMADA

Dept. of Obst. & Gynec. Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan.
(Director: Prof. Gen-ichi Tokuda)

Chlormadinone acetate と mestranol の配合比が 25:1 の合剤, S-3850 を Sprague-Dawley 系の正常性周期を示すネズミに毎日 1.0mg ずつ30日間皮下投与すると, 卵巣重量は著しく減少し, 下垂体-性腺系に強い抑制効果がえられ, 副腎系にも軽度の抑制効果が現われた。次に Chlormadinone acetate, mestranol および前記の合剤の anti-gonadotrophic activity をネズミ parabiosis を用い, またネズミ下垂体 FSH, LH の含有量を FSH は Steelman-Pohley 法, LH は OAAD 法により検討した。Chlormadinone acetate は mestranol の $1/1000$ 以下の anti-gonadotrophic effect を示すにすぎず, 合剤では少量投与で強い効果がみられた。下垂体 FSH 量は mestranol 0.001mg 以上, 合剤 0.1mg で有意に減少し, parabiosis での変動とよく一致した。下垂体 LH 量は mestranol では抑制されず, Chlormadinone acetate と合剤の比較的大量投与で軽度に抑制された。したがってこの合剤の gonadotropin 抑制はおもに FSH の抑制で, mestranol によるものである。合剤の LH の抑制は FSH の抑制に比べると非常に弱い。

I. はじめに

gonadotropin が標的臓器である卵巣に機能亢進的に作用し, また卵巣ホルモンはその血中放出により性上位部の中樞に働いて gonadotropin の分泌を調節することは性 steroid の feed back 現象としてよく知られている。

1955年, Pincus らが progesterone のもつ排卵抑制効果をヒトに応用し, 全く新しい避妊法として steroid contraception 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必要とし, 長期の使用には適当ではない。これとあい前後して経口的に安定で有効性の高い合成 progestin が開発され, それ以後各種の progestin が出現している。これらの多くは実験動物においても, ヒトにおいても排卵抑制効果があ

ることが証明され, 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 の強い排卵抑制作用を利用して, estrogen と同時に使用されており, また最近では価格をも考慮し1回の投与量を少なくして副作用の軽減をはかり, あるいは排卵の抑制を estrogen のみで行ない, progestin は単に出血を調整する目的に短期間使用し, しかも十分な効果をあげる試みがなされている。

これらの estrogen-progestin 剤の避妊機序としていくつかの因子が考えられているが, 最も重要なものとして前葉 gonadotropin の抑制, ひいては排卵の抑制が考えられている。しかしこの間脳-下垂体-卵巣の機能調節機構の詳細についてはなお不明な点が多く, 解明しなければならぬ問題が少なくない。

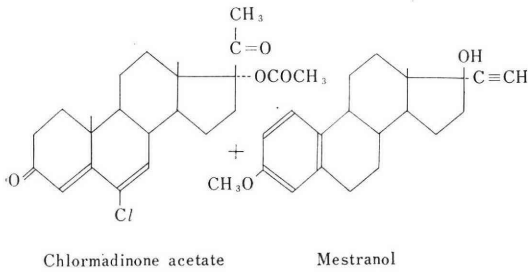


Fig. 1

そこで今回は既報¹⁾の 19-norsteroid 系の norethindrone 剤にひき続いて、17-acetoxypregesterone 系の 6-chloro-6-dehydro-17 α -acetoxypregesterone (chlormadinone acetate) と 17 α -ethinyl-estradiol-3-methyl ether (mestranol), およびこれらの steroid の配合比が 25 : 1 である製剤, S-3850錠 (Fig. 1) の中枢に対する作用について基礎的な実験を行なった。

II. 下垂体-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120g 前後の正常性周期を示す Sprague-Dawley 系の雌ネズミを一定期間飼育したものに、ゴマ油に溶解した chlormadinone acetate と mestranol との配合比が 25 : 1 である合剤, S-3850 を 1 日 1.0mg ずつ毎日背部皮下に連続30日間注射し、注射終了の翌日と殺し実験に供した。実験動物はエーテル麻酔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。

2) 実験成績

i) 体重におよぼす効果

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低い。これは薬剤、とくに mestranol により餌の摂取が悪くなるためかも知れない。

ii) 下垂体-性腺系におよぼす効果

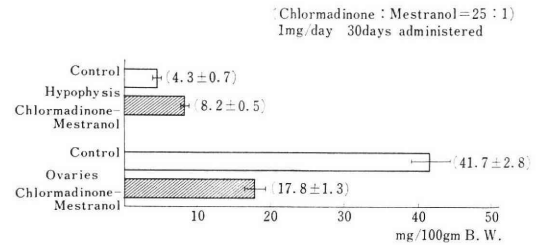


Fig. 2 Effects of Chlormadinone-Mestranol on the hypophysis and ovaries of intact female rats

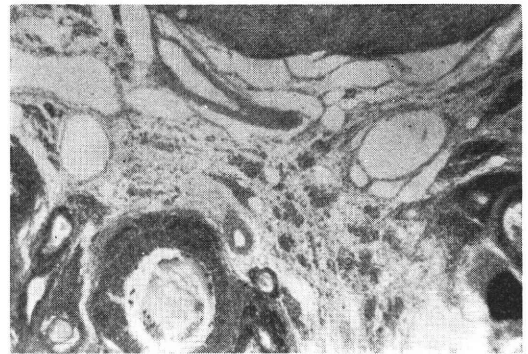


Fig. 3 Ovary of intact rat treated with chlormadinone acetate-mestranol combination at a dose of 1 mg or day for a period of 30 days. Ovary is atrophic and shows the inhibited development of follicles.

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-mestranol 投与時と同じ傾向である²⁾。

卵巣は合剤を投与するとその重量が著しく減少する。卵巣の組織学的所見では卵胞の発育停止と間質の萎縮像が認められ (Fig. 3), 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に添加された mestranol によるもので

Table 1. Effect of Chlormadinone acetate-mestranol on the Average Weight of Various Organs of Intact Female Rats.

Compound	Dose /day	Duration of Treatment	No. of Rats	Initial B.W.	Final B.W.	Weight Gain %	Hypo-physis	Adrenal	Ovary	Uterus
Control	—	—	12	112.0 ± 8.0 [*]	12.5 ± 6.1	11.6	4.3 ± 0.7	31.1 ± 2.8	41.7 ± 2.8	181.3 ± 20.2
Chlormadinone acetate + Mestranol (25 : 1)	1.0	30days	10	131.8 ± 1.7	140.7 ± 3.6	6.7	8.2 ± 0.5	25.6 ± 1.2	17.8 ± 1.3	361.4 ± 21.8

* mg per 100g Body Weight ** Standard Error

Table 2. Inhibitory effect of steroid hormones on the pituitary gonadotropin in parabiotic rats

Compound	Total dosis mg	No. of pairs	Ovarian weight	Uterine weight	Inhibition Rate to Ovarian Growth
Control	intact male-female	6	33.9±5.9*	127.3±29.4*	
	castrated male-female	9	126.4±13.1	242.9±29.6	
Mestranol	1mg	10	27.4±1.6	329.3±32.6	100
	0.1mg	11	30.5±2.9	253.2±24.7	100
	0.05	3	30.3		100
	0.025	3	28.9		100
	0.01	7	61.9±10.0	183.5±32.6	70
	0.00625	3	79.9		50
	0.003	5	98.5±8.4	205.4±24.7	30
	0.001	7	123.8±9.3	238.2±29.0	0
Chlormadinone	30	7	46.9±6.7	178.6±12.2	86
	10	9	90.3±6.4	184.1±23.7	39
	1	10	118.9±8.7	280.7±25.2	8
	0.1	5	124.2±12.3	266.4±29.6	0
Chlormadinone**	100	5	28.4±5.1	271.8±23.8	100
	+	10	25.1±4.5	275.2±28.5	100
Mestranol	3	7	28.0±1.6	217.2±26.2	100
	1	5	34.2±4.7	183.4±25.7	100
	0.1	10	83.0±12.7	164.4±15.5	47
	0.01	5	122.9±14.5	215.0±19.1	0

* Mean±S.E. mg/100g. B.W.

** Chlormadinone : Mestranol = 25:1

ある。

iii) 下垂体-副腎系におよぼす効果

副腎は本剤の 1.0mg の投与によって、その重量は対照のそれと比較して軽度ながら減少するのが認められる。すなわち、本剤によって ACTH の抑制作用、または直接に副腎皮質に働いて萎縮効果を軽度ながら現わすと考えられ、この点 norethindrone-estrogen 剤とは異なる成績がえられた¹⁾。

以上の実験成績から chlormadinone acetate 対 mestranol が 25:1 の比率からなる製剤は下垂体-副腎系に対しては軽度の抑制効果を示すとともに、下垂体前葉の gonadotropin の分泌を強く抑制すると考えられる。

そこでこの合剤の下垂体 gonadotropin に対する効果をネズミの parabiosis を用いて chlormadinone acetate 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

ネズミ parabiosis を用い、去勢ネズミの下垂体 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率を指標として検討した。

1) 実験材料ならびに実験方法

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。

$$\text{卵巣重量増加抑制率} = \frac{V_c - V_0}{V_c - V_1} \times 100$$

V₁: 正常対照群V_c: 去勢対照群V₀: 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 2~3 と Fig. 4 に示した。皮下投与では chlormadinone acetate と mestranol との間には明らかに下垂体前葉 gonadotropin の抑制作用に差が認められる。chlormadinone acetate では total dose 1 mg

Table 3. Effect of steroid hormones on the adrenal of parabiotic rats

Compound	Total dosis mg.	No. of pairs	Weight of adrenal glands.	
			Male	Female
Control	intactmale-female	6	34.9± 7.5*	36.8±3.8*
	costrated-male-femal	9	49.9± 2.1	34.7±1.5
Mestranol	1	10	35.5±1.9	40.6±3.1
	0.1	11	37.0±1.3	42.1±5.6
	0.01	7	27.9±3.5	37.8±8.9
	0.003	5	31.6±4.2	33.3±4.5
	0.001	7	32.2±3.1	32.0±2.3
Chlormadinone	30	7	16.2±2.7	19.5±2.7
	10	9	27.2±1.4	29.9±4.2
	1	10	28.9±0.9	31.1±2.4
	0.1	5	32.1±3.6	25.1±0.7
Mestranol** + Chlormadinone	100	5	25.0±4.7	39.5±4.2
	10	7	29.9±3.9	29.1±0.9
	3	7	42.7±4.6	37.0±5.4
	1	5	33.9±3.6	31.1±6.1
	0.1	10	40.5±5.2	34.3±4.4
	0.01	5	35.7±5.9	28.1±2.5

* Mean±S.E. mg/100g B.W.

** Mestranol : Chlormadinone 1 : 25

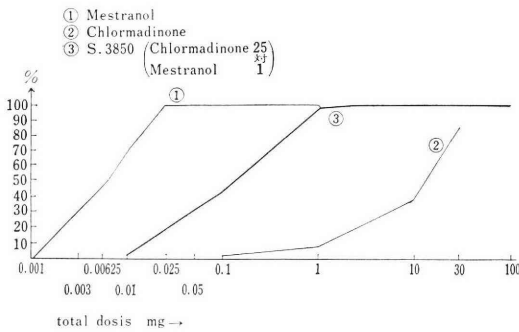


Fig. 4

までは前葉の gonadotropin 抑制効果は認められず、10 mg で軽度の gonadotropin 抑制効果がえられた。前葉 gonadotropin の強い抑制効果をあげるには chlormadinone acetate の total dose 30mg 以上を必要とし、同じ合成 progestin である norethindrone よりも抑制度は非常に弱いと考えられる¹⁾。

mestranol では 0.003mg の微量投与ですでに軽度の gonadotropin 抑制効果が認められ、total dose 0.025mg の少量で前葉 gonadotropin の完全な抑制がえられた。すなわち、mestranol は chlormadinone acetate と比較してはるかに強い gonadotropin の抑制を現わし、

chlormadinone acetate の1000倍以上の抑制率を示した。

chlormadinone acetate と mestranol との配合比が 25 : 1 である合剤、S-3850では total dose 0.1mg で約 45%の gonadotropin の抑制がみられ、1mg でほぼ完全な抑制効果がえられた。したがって、合剤の下垂体前葉の gonadotropin 抑制は chlormadinone acetate によるのではなく、mestranol によるものである。

雌雄とも健全なネズミの接合後11日の卵巣組織所見は Fig. 5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り、のう胞状を示してくる (Fig. 6)。

この parabiosis に chlormadinone acetate を total dose 1mg 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が、total dose 30mg を投与すると成熟卵胞はみられなくなる (Fig. 7)。

mestranol の total dose 0.01mg 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るが (Fig. 8)、しかし mestranol 0.1mg では卵胞の発育は強く抑制され、成熟卵胞はまったく認められない (Fig. 9)。

Fig. 10は chlormadinone acetate と mestranol との合剤 S-3850を total dose 1mg 投与した時の卵巣の組

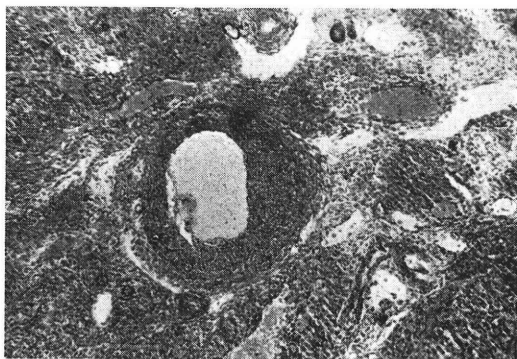


Fig. 5 Ovary of intact male-female parabiotic rat on day 11, showing normal development of follicles.



Fig. 6 Ovary of castrated male-female parabiotic rat on day 11. Ovary contains excessively large and cystic follicles.

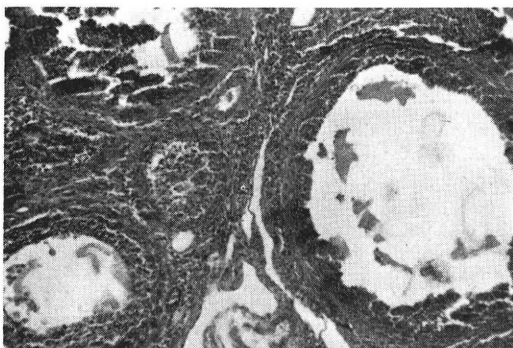


Fig. 7 Ovary of parabiotic rat treated with total dose of 30mg chlormadinone acetate. Mature follicles are not present.



Fig. 8 Ovary of parabiotic rat treated with total dose of 0.01 mg mestranol. Mature follicles are present.

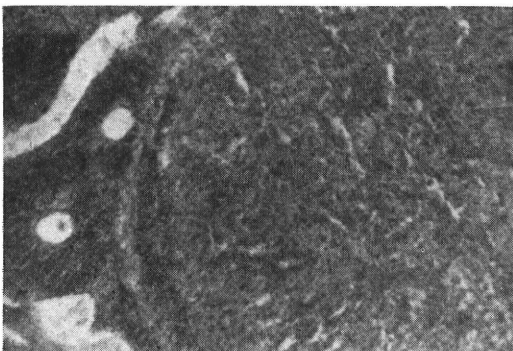


Fig. 9 Ovary of parabiotic rat treated with total dose of 0.1 mg mestranol, showing excessively inhibited development of follicles.

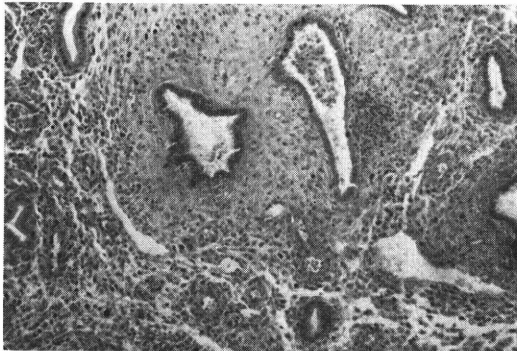


Fig. 10 Ovary of parabiotic rat treated with total dose of 1 mg chlormadinone acetate-mestranol compound. Note excessively inhibited development of follicles and degenerated corpus luteum.

Table 4 Effect of daily repeated administration of sex steroids on pituitary ovarian axis of mature female rats (2) [FSH]

	Dose (mg)	Donor No.	Recip. No.	Augumentation of ovary	FSH/Pituitary $\mu\text{g. NIH. FSH. S}_{15}$	95% Confidence limit	Lambda
Estrus Diestrus		12	6	45.1 \pm 3.8	42.0	29.1~58.2	0.241
		12	6	48.2 \pm 6.2	44.8	30.5~52.9	0.292
Chlormadinone acetate	1.0	12	6	45.4 \pm 5.2	41.0	26.7~55.3	0.369
	0.1	12	6	46.9 \pm 3.2	43.0	30.5~55.5	0.243
	0.01	12	6	40.3 \pm 4.5	39.5	27.3~51.7	0.212
	0.001	14	7	51.3 \pm 6.1	49.4	21.1~62.3	0.321
Chlormadinone + Mestranol 25:1	1.0	12	6	21.8 \pm 3.2	19.5	7.1~31.9	0.230
	0.1	12	6	20.2 \pm 2.9	19.0	6.5~31.5	0.201
	0.01	12	6	32.1 \pm 3.4	27.0	14.8~39.2	0.216
	0.001	12	6	51.4 \pm 5.9	45.0	29.1~56.1	0.310
Mestranol	0.05	12	6	22.7 \pm 2.1	20.5	10.0~31.0	0.233
	0.01	12	6	19.4 \pm 3.2	18.1	7.1~29.0	0.210
	0.001	12	6	24.8 \pm 2.9	21.5	10.7~32.3	0.192
	0.0001	12	6	46.1 \pm 5.1	42.5	28.2~56.4	0.312

織所見であり、卵胞の發育は強く抑制され、成熟卵胞はみられない。

parabiosis 実験で性 steroid を投与したときの副腎重量は Table 3 に示したように、chlormadinone acetate と chlormadinone acetate-mestranol 剤の投与量を増すにしたがって去勢雄ネズミの副腎重量の減少が著しくなる。とくに chlormadinone acetate 単独投与時の重量減少がより大きく、total dose 30mg では去勢雄だけではなく健常雌ネズミでも副腎重量は著しく減少した。このことは先に述べた健常雌ネズミへの投与実験にみられたのと同じ所見である。chlormadinone acetate-estrogen 剤の副腎重量減少が chlormadinone 単独投与時ほど著しくないのは、合剤の構成成分である mestranol が副腎に対して保護的に作用するためと考えられる²⁾⁻⁶⁾¹³⁾。

以上のように parabiosis 実験で去勢ネズミの下垂体 gonadotropin の過剰分泌が性 steroid の種類によってその抑制度にかなり相違がみられることがわかったので、次にこれらの steroid がネズミ下垂体の FSH と LH の含有量にどのような変動を与えるかを検べる目的で以下のような実験を行なった。

IV. 下垂体 FSH, LH におよぼす効果

1) 実験材料ならびに実験方法

体重 180g 前後の正常性周期を示す Sprague-Dawley 系ネズミを使用し、検体の性 steroid を種々の濃度にゴマ油に溶解し、これらを 1日1回背部皮下に連続14日間注射した。注射終了後24時間にエーテル麻酔下で大臈動

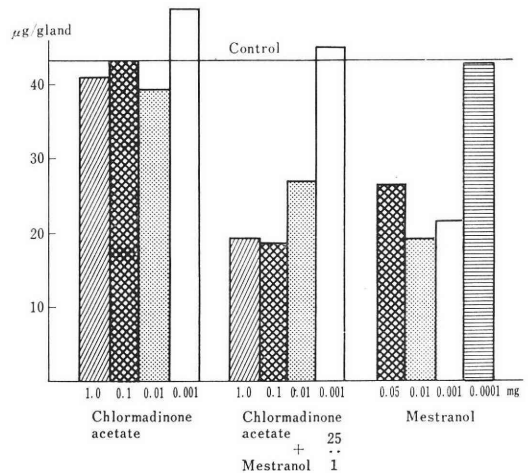


Fig. 11 Pituitary FSH

脈から瀉血して下垂体を摘出した後、torsion balance でその湿重量を計測した。下垂体はただちに水中に保存して一定量を pool した後 acetone を加えて homogenize し、遠沈後 acetone powder として -20°C の deep freezer 中に保存して各実験に供した。

FSH および LH 活性の測定：

FSH 活性の測定は23日令の Sprague-Dawley 系幼若雌ネズミを用い、Steelman-Pohley の方法⁷⁾にほぼ準じて行なった。ただ投与方法は1日2回とした。すなわち、検体に HCG 20 IU を加えて全量を 3.0ml 生理食塩水溶液とし、1日2回朝夕、1回 0.5ml ずつ3日連続皮下注射を行なった。注射終了後12時間に autopsy を

Table 5 Effect of daily repeated administration of sex steroids on pituitary ovarian axis of mature female rats [LH]

	Dose	No. of Doner	No. of recip	% of OAADdepl. 1/8 Pituitary	LH/pituitary $\mu\text{g. NIH}\cdot\text{LH}\cdot\text{S}_{13}$	95% Confidence limit	Lambda
Estrus		5	7	25.7 \pm 2.2	13.6	7.4~19.8	0.210
Diestrus		5	7	26.3 \pm 1.8	14.2	7.2~21.3	0.301
Proestrus		5	7	26.3 \pm 2.8	15.6	11.2~20.0	0.123
Chlormadinone acetate	1.0	5	6	18.7 \pm 1.9	9.0	3.1~14.9	0.201
	0.1	5	7	19.3 \pm 2.4	10.1	7.3~15.3	0.409
	0.01	5	7	22.9 \pm 4.3	11.2	7.0~24.2	0.308
	0.001	5	7	24.1 \pm 3.2	12.7	8.2~21.3	0.204
Chlormadinone + mestranol 25:1	1.0	5	7	21.1 \pm 1.5	9.8	5.0~20.80	0.322
	0.1	5	7	18.3 \pm 3.8	9.0	5.4~22.2	0.320
	0.01	5	7	25.4 \pm 3.2	13.4	8.4~18.8	0.322
	0.001	5	8	21.3 \pm 2.5	10.0	5.3~21.3	0.401
mestranol	0.1	5	7	25.4 \pm 2.5	13.4	7.2~19.4	0.210
	0.01	5	8	25.2 \pm 2.4	13.4	7.2~19.4	0.204
	0.001	5	8	25.1 \pm 4.8	13.2	5.2~22.3	0.445

おこない、卵巣重量を測定した。1 検体の測定は各 6 頭を使用し、注射される下垂体抽出液の量は recipient rat 1 頭に 2 下垂体である。NIH-FSH-S₂ を標準品とし、NIH-FSH-S₂ 用量と検体 1 用量を用いて 3 point assay により FSH 活性を測定した。結果の推計学的処理は佐久間の方法¹⁰⁾によった。

なお、既報¹¹⁾¹²⁾のようにこの実験では NIH-FSH-S₂ 20 μg から 200 μg の範囲で linear long-dose response curve が成立し、regression line は $Y=73.09 \log x - 94.50$, $\lambda=0.192$ であった。

LH 活性の測定は Parlow の卵巣アスכולビン酸減少法⁹⁾の横田変法⁹⁾に準じた。使用動物は 23 日令の Sprague-Dawley 系幼若雌ネズミで、PMS 75 IU と HCG 30 IU で偽妊娠とした後、左卵巣を摘出してアスכולビン酸を測定すると共に、検体を大腿静脈から注射した。検体投与 3 時間後に右卵巣を摘出し、そのアスכולビン酸を測定後、アスכולビン酸減少率を百分率であらわした。1 検体の測定は各 7~8 頭を用い、投与される下垂体抽出液の量は recipient rat 1 頭に 1/8 下垂体である。NIH-LH-S₁₃ を標準品とし、NIH-LH-S₁₃ 2 用量と検体 1 用量を用いて 3 point assay により LH 活性の測定を行なった。結果の推計学的処理は FSH の場合と同様に行なった。

えられた dose response curve は NIH-LH-S₁₃ の 0.5 μg から 10 μg の間に直線関係が認められ、regression line は $Y=30.65 \log x + 18.35$, $\lambda=0.195$ であり、Sprague-Dawley 系のネズミでも LH の定量に使用できるこ

とが確認された¹¹⁾¹²⁾。

2) 実験成績

各性 steroid 投与時の下垂体 FSH の含有量は Table 4 と Fig. 11 に示した。chlormadinone acetate では 1 日の投与量を 0.001mg から 1.0mg まで増加しても、この範囲内の用量では下垂体 FSH 量は対照ネズミのそれと比較して変動は認められず、FSH に対する抑制効果はみられない。

mestranol は 1 日量 0.0001 mg の微量投与では下垂体 FSH 量は対照のそれとは変わらず、FSH は抑制されないが、0.001mg の少量ですべて対照 Diestrus の下垂体 FSH 量 44.8 (30.5~52.9) μg と比較して 25.3 (21.3~28.3) μg と有意に減少した。さらに mestranol の 1 日投与量を増すと下垂体 FSH 量は強く減少し、FSH 抑制効果が増強される。

chlormadinone acetate と mestranol の配合比率が 25:1 の compound (S-3850) の下垂体 FSH 量は 1 日量 0.001mg 投与では対照ネズミのそれと比べて減少しないが、0.01mg の少量で 27.0 (14.8~39.2) μg と減少し、0.1mg 投与では下垂体 FSH 量は 19.0 (6.5~31.5) μg と減少し、下垂体 FSH は著明に抑制される。

したがって、この合剤の下垂体 FSH の抑制は構成成分である mestranol によるものと考えられる。

下垂体 LH 含有量については Table 5, Fig. 12 に示したように、chlormadinone acetate 投与時の下垂体 LH 量は 1 日の投与量を 0.001mg から 1.0mg までの範囲内では、対照ネズミのそれと比較して投与量を増加する

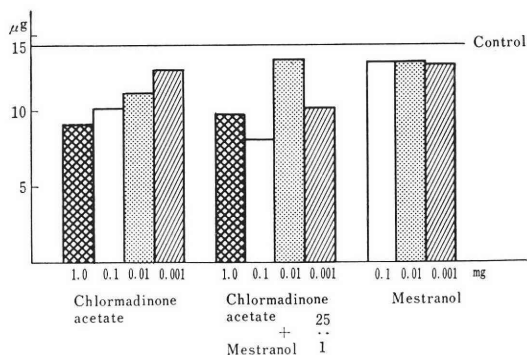


Fig. 12 Pituitary LH

にしたがって減少する。しかし推計学的には有意差は認められない。

一方, mestranol は 0.001 mg から 0.1mg の範囲内の投与実験では, 下垂体 LH 量は対照と比べて変動は全く認められない。したがって mestranol は下垂体 LH の抑制作用がないと推測される。

chlormadinone acetate-mestranol の合剤の下垂体 LH 量は 1 日量 0.01mg までは対照と比較して減少しない。合剤 0.1mg 以上を投与すると LH 量は減少する傾向が認められたが, 有意ではない。

この下垂体 LH 量に関する実験成績から, chlormadinone acetate-mestranol 剤の LH への作用は chlormadinone acetate によるものと考えられる。

V. 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-性腺系に抑制的な作用が現われることはすでに知られている。

この実験においては 17-acetoxypregesterone 系の chlormadinone acetate と合成 estrogen である mestranol の配合比率が 25:1 である合剤 (S-3850錠) を健常雌ネズミに対して長期間の投与を行ない, 内分泌臓器におよぼす影響を検討し, 性腺系への作用の動態について観察した。

われわれの parabiosis 実験では chlormadinone acetate 単独投与では total dosis 1mg までは gonadotropin の hypersecretion が抑制されず, total dosis 30mg の大量投与で始めて抑制が認められるようになった。ネズミ下垂体の FSH 含有量は chlormadinone acetate では 1 日 1 mg の連続投与でも対照雌ネズミのそれと比較して変化はみられず, 下垂体 FSH に対して抑制効果は認められない。

一方, mestranol は total dosis 0.00725mg の微量ですでに去勢による gonadotropin の過剰分泌に対する強

い抑制が認められ, total dosis 0.025mg の少量投与で完全に抑制された。また雌ネズミ下垂体 FSH の含有量は 1 日あたり 0.001mg 以上の mestranol の連続投与で対照雌ネズミの下垂体 FSH 量と比較して著しい減少がみられる。

progestin 対 estrogen の配合比が 25:1 の compound (S-3850) の gonadotropin 抑制度は前述のように total dosis 0.1mg で約 45% であり, total dosis 1mg では完全な抑制効果がえられた。また下垂体 FSH 量は 0.01mg で著しく減少し, 0.1mg 投与では対照ネズミにくらべて 19.0 (6.5~31.5) µg と有意に減少するのが認められる。

このように, parabiosis で認められる下垂体 gonadotropin の抑制はおもに FSH 活性の抑制であり, 各 steroid の単味剤あるいは合剤の下垂体 FSH 含有量の変動とよく一致する結果がえられた。

下垂体 LH 含有量は chlormadinone acetate の投与量を増すにしたがって対照雌ネズミの LH 量に比較して減少する傾向が認められた。他方, mestranol では 1 日量 0.1mg までの投与実験では対照雌ネズミの下垂体 LH 量にくらべてとくに変動はみられず, 本実験の範囲内では mestranol は下垂体 LH の分泌抑制はないと推定される。

すなわち, この実験成績からみると chlormadinone acetate は下垂体 LH に, mestranol は FSH に対し抑制的な効果をおよぼすと考えられる。

chlormadinone acetate と mestranol の合剤の下垂体 LH 量への影響は大量投与時に LH 量の軽度の減少が認められ, これは chlormadinone acetate によるものと考えられる。しかしながら, 本実験で用いた合剤の下垂体 LH に対する効果は大量では抑制的ではあるが, FSH の抑制効果と比較すると弱い。

すなわち, 両 steroid の合剤である L-3850 の下垂体 gonadotropin への作用は FSH の合成, 分泌に対する blocking がおもなものであり, LH に対する抑制は FSH に対するよりも弱いと推測される。しかもこの FSH の blocking は estrogen によるものである。このことは同時に行なったネズミ卵巣の組織検索で卵胞の発育が抑制された所見がえられたことによっても確認された。

五十嵐¹⁴⁾は estrogen の連続投与によって下垂体 FSH の産生, 放出が抑制され, LH 量は 0.01µg の微量投与では影響はないとし, われわれと一致した成績を報告している。しかし 1µg 以上の皮下投与によっては LH 放出が促進されたとのべている。Greep & Jones¹⁵⁾, Mares¹⁷⁾や Saunders¹⁶⁾, Martini ら²²⁾は去勢ネズミに estrogen を投与すると下垂体 FSH だけではなく LH 量

も著しく減少したと報告し、われわれの成績とは一致しないが、これは彼らが去勢した動物を使用したことによると考えられる。

progesterin に関しては Minaguchi & Meites¹⁸⁾がネズミに Enavid (98.5% norethynodrel+1.5% mestranol) を1日50~200 μ g/100g body weight あて10~20日投与すると下垂体 FSH, LH の濃度は減少し、とくに LH が著しいとのべ、Saunders¹⁶⁾も同様に norethynodrel では FSH よりも LH 量の減少が著明となるとし、この実験の chlormadinone acetate-estrogen 剤とは異なる成績を報告している。しかし、われわれは norethynodrel と同じ 19-norsteroid である norethindrone, あるいは norethindrone-estrogen 剤では彼らと同じように FSH, LH 量の減少を認め、下垂体 LH に対する影響は chlormadinone acetate と比較して抑制効果が強く、FSH と同じ程度の減少か、あるいはより著しい成績をえている¹⁷⁾。したがって、下垂体 FSH, LH に対する抑制の様式は progesterin の種類によって相異をきたすのであろうと考えられる。

性 steroid の下垂体への作用は下垂体に対して直接的に作用することも報告されているが、さらに上位の中樞である視床下部を介して行なわれ、Gonadotropin Releasing Factor に抑制的、あるいは促進的な効果を現わし、その結果として下垂体 gonadotropin の分泌調節が行なわれるものと考えられている。現在、われわれは各種の性 steroid ホルモンの Gonadotropin Releasing Factor への影響について詳細な実験を続行中であり、その一部として norethindrone や norethindrone-estrogen 剤が FSH Releasing Factor と LH Releasing Factor に抑制効果を示すことを報告した¹⁹⁾。Minaguchi & Meites¹⁸⁾も Enavid で同様の成績を発表している。

このように性 steroid 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、anti-gonadotrophic な効果を示すようになる。progesterin ではその種類によって anti-gonadotrophic potency が異なり、本実験で使用した chlormadinone acetate は norethindrone よりもその potency が低い。また estrogen と progesterin についても両者が同じ程度の anti-gonadotrophic effect を現わすわけではなく、estrogen の方がはるかにその potency が高い。parabiosis の成績からみると progesterin の中でも anti-gonadotrophic potency が高い norethindrone でも mestranol の $1/100$ 以下の gonadotropin 抑制率を示すにすぎない。

動物実験でえられた 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

は限らず、これらの間には必ずしも平衡関係は認められない。estrogen ではそ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²⁰⁾、また排卵の抑制には下垂体 gonadotropin 分泌の抑制よりも大量が必要である²⁰⁾。合成 progesterin は estrogen よりも前記の各 potency が低いが、norethindrone のような 17α -alkylated steroid でも各 potency の間に平衡関係は認められないと報告されている²⁰⁾。

ここで、今までのべてきた実験成績が必ずしもそのままヒトの場合にもあてはまるというわけではない。estrogen の下垂体 gonadotropin 抑制効果はマウスでは estrone が最も強いが²¹⁾、ヒトでは estradiol やその methyl ether の方が抑制効果大きい。また clomiphene citrate のヒトとネズミにおける作用の相異など、ネズミやマウスの性中樞に対する薬剤の反応性はヒトとは異なり、間脳下垂体-性腺系への作用には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分析、検討がなされなければならない。

VI. むすび

17α -acetoxyprogesterone 系の progesterin である chlormadinone acetate (6-chloro-6-dehydro- 17α -acetoxyprogesterone) と合成 estrogen である mestranol (17α -ethinyl-estradiol-3-methylether), ならびにこれら2つの steroid の配合比が 25:1 である S-3850 の下垂体 gonadotropin への作用に関して、Sprague-Dawley 系のネズミを用いて実験を行ない、次のような結果がえられた。

1) chlormadinone acetate-mestranol 合剤を1日1.0 mg ずつ30日間連続皮下投与すると、投与群の体重増加率は対照のそれと比べて低い。

2) 雌ネズミの下垂体重量は対照群のそれと比較して増加する。

3) 合剤によって卵巣の重量は著しく減少し、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る。

4) 子宮重量は合剤によって著明に増加するが、これは本剤の一部を構成する mestranol の効果によるものである。

5) 本剤の 1.0mg の連続投与で副腎の重量は対照のそれと比較して軽度の減少がみられ、ACTH の抑制、ないしは副腎への直接的な萎縮効果が推測される。

6) Sprague-Dawley 系去勢ネズミ parabiosis の下垂体 gonadotropin 過剰分泌は mestranol の皮下投与で強く抑制されるが、chlormadinone acetate ではその抑

制は非常に弱く, mestranol の $1/1000$ 以下の anti-gonadotrophic effect を示すにすぎない。

7) 合剤は total dose 1mg で去勢ネズミ parabiosis の下垂体 gonadotropin の過剰分泌が強く抑制されたが, これはこの合剤に添加された mestranol によるものである。

8) これらの anti-gonadotrophic effect は同時に行なった卵巣の組織学的検索からも確かめられた。

9) parabiosis 実験においても chlormadinone acetate と chlormadinone acetate-mestranol 合剤の投与量を増すにしたがって去勢雄ネズミの副腎重量の減少が著明となる。

10) とくに chlormadinone acetate 単独投与時の副腎重量の減少が合剤投与時よりも大きく, total dose 30 mg では去勢雄だけではなく健全雌ネズミでもその重量減少が認められる。

11) 合剤による副腎重量の減少が chlormadinone acetate 単独時よりも著しくないのは, 合剤に添加された mestranol が副腎に対して保護的に作用することによると考えられる。

12) 体重 180g 前後の Sprague-Dawley 系健全雌ネズミに検体を投与して, 下垂体 FSH 含有量は Steelman-Pohley 法により, LH 量は OAAD 法横田変法により測定した。chlormadinone acetate は 1 日量 0.001 mg から 1.0mg の範囲内では下垂体 FSH 量は対照のそれと比較して変動はみられず, FSH の抑制効果はみられない。

13) mestranol は 1 日量 0.001mg の少量投与で FSH 量は対照に比べて有意に減少し, さらに投与量を増すにつれて FSH 量は強く減少するのが認められ, FSH 抑制効果が増強される。

14) 合剤では 1 日量 0.01mg の少量投与で FSH 量は減少し, 0.1mg になるとさらにその減少が著明となり, 下垂体 FSH は強く抑制される。

15) 以上の下垂体 FSH 量の変動は parabiosis の gonadotropin 過剰分泌抑制のそれとよく一致する。

16) したがって合剤の下垂体 FSH の抑制は添加 mestranol によるものである。

17) ネズミ下垂体 LH 量は chlormadinone acetate では 1 日量 0.001mg から 1.0mg まで増加させるにしたがって, 対照に比較して減少するが, 推計学的には有意でない。

18) mestranol はこの実験の範囲内では下垂体 LH 量に変動を与えず, LH の抑制作用は認められない。

19) 合剤の LH 量は 1 日量 0.1mg 以上の投与で減少するが, 有意差は認められない。

20) したがって, 合剤の下垂体 LH への作用は chlormadinone acetate によるものである。

21) 以上のことから, chlormadinone acetate-mestranol 剤は下垂体一性腺系に強い抑制作用を示し, 下垂体前葉の gonadotropin, とくに FSH の抑制効果が強く, LH に対する抑制作用は弱いと推測される。また, 下垂体副腎系に対しても軽度の抑制効果が認められる。

徳田源市教授の御校閲を深謝いたします。

本論文の要旨は第42回日本内分泌学会総会で発表した。

薬剤の提供を受けた塩野義製薬株式会社に謝意を表す。

主要文献

- 1) 徳田源市ほか: 日不妊会誌, 13: 256 (1968).
- 2) Anderson, D. H.: J. Physiol., 83: 15 (1935).
- 3) Selye, H. et al.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 32: 1377 (1935).
- 4) Skelton, F. R. et al.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 71: 120 (1949).
- 5) Selye, H.: 田多井吉之助訳汎適応症候群, 医歯薬出版から引用。
- 6) 徳田源市, 土肥定: ホと臨床, 8: 100 (1960).
- 7) Steelman, S. L. & F. M. Pohley.: Endocrinology, 53: 604 (1953).
- 8) Parlow, A. F.: Fed. Proc., 17: 402 (1958).
- 9) Yokota, N. et al.: Endocrinologia Jap., 12: 83 (1965).
- 10) 佐久間昭: 生物検定法, (1964), 214, 東京大学出版会。
- 11) 徳田源市ほか: 日内泌誌, 44: 1335 (1969).
- 12) 徳田源市ほか: 第42回日本内分泌学会総会。(1969).
- 13) 東山秀声: 産婦進歩, 17: 279 (1965).
- 14) 五十嵐正雄: 第19回産婦総会宿題報告要旨。(1967).
- 15) Greep, R. O., & I. Chester Jones: Rec. Prog. Hormone Res., 5: 197 (1950).
- 16) Saunders, F. J.: Rec. Prog. Hormone Res., 20: 395 (1964).
- 17) Mares, S. E.: 16) より引用。
- 18) Minaguchi, H. & J. Meites.: Endocrinology, 81: 826 (1967).
- 19) 東山秀声ほか: 第17回日本内分泌学会西部総会。(1969).
- 20) Desaulles, P. A. & C. Krähenbühl: Acta Endocr., 47: 444 (1967).
- 21) Goldzieher, J. W. & E. Rice-Wray: Oral Contraception (1966), 13, Charles C. Thomas. Publisher, Springfield,.
- 22) Martini, L. et al.: Rec. Prog. Hormone Res., 24: 439 (1968).

Effects of Chlormadinone acetate-
Mestranol Combination Administration
on Pituitary Gonadotropin in Rats.

Shusei Higashiyama, Shuji Kizu,
Hitoya Kobayashi and Yoshihiro Hamada

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

(Director: Prof. Gen-ichi Tokuda)

In the first experiment, adult female rats of Sprague-Dawley strain, showing at least 2 regular estrus cycles were used for the experiment of chlormadinone acetate-mestranol combination method.

Chlormadinone acetate — mestranol combination at the ratio of 25:1 was dissolved in corn oil and injected subcutaneously once daily at a dose of 1.0 mg for a period of 30 days.

Control animals were injected with corn oil alone.

The animals were killed on the following day after the last injection.

The next experiment was done on the anti-gonadotrophic activity assayed by the parabiosis method. Castrated male and intact female rats were joined parabiotically.

Test materials, chlormadinone acetate, mestranol and chlormadinone acetate — mestranol combination, were administered daily subcutaneously for 10 days to the castrated male and at autopsy on day 11, the ovaries, uterus and adrenals of the intact female were removed and weighed immediately.

Anti-gonadotrophic compounds inhibited the hypertrophy of ovaries which was the result of increased gonadotropin production in the castrated animals. This inhibition will be the results of the reduction in pituitary gonadotropin secretion.

In the 3rd experiment adult intact female rats of the Sprague-Dawley strain, weighing about 180 g, were used for pituitary FSH and LH bioassays. Test materials were injected subcutaneously with each dose dissolved in corn oil once

daily for a period of 14 days. Controls were treated with corn oil for the same period.

The animals were sacrificed on the following day after the last administration and pituitaries of each group were pooled and homogenized. Pituitary FSH activity was assayed by the HCG augmentation method of Steelman-Pohley and LH was by the ovarian ascorbic acid depletion method of Parlow as modified by Yokota.

In the first experiment, increase in body weight with chlormadinone acetate — mestranol combination treatment was slightly, and pituitary weight was increased, compared with control.

Ovarian weight was reduced significantly and follicular development was inhibited.

In this experiment, chlormadinone acetate-mestranol combination had strongly inhibitory effects on the hypophyseal gonadal axis and on the adrenal axis weakly.

The inhibition effects of gonadotropin measured by the parabiotic rat assay technique, were demonstrated that mestranol was more significant potent inhibitor than chlormadinone acetate.

In parabiosis, mestranol needed in a total dose of 0.1 mg to suppress the pituitary gonadotropin, but chlormadinone acetate was equivalent to less than 1/1000 of mestranol in blocking the pituitary gonadotropin action. On the other hand, the combination was in a total dose of 1.0 mg to inhibit the increased gonadotropin production of castrated rats.

In the 3rd experiment, mestranol and chlormadinone acetate — mestranol significantly reduced FSH content in the pituitary.

FSH content, expressed in equivalents of μg NIH-FSH-S5, was decreased from an average of 44.8 to 19.0 μg per wet tissue weight with 0.1 mg chlormadinone acetate-mestranol.

Chlormadinone acetate alone did not reduce pituitary FSH content. Pituitary LH content was reduced after chlormadinone acetate and combination injection. This reduction was not statistically significant. Mestranol gave no effect on LH content.

In the present experiment, predominant action of the combination at the ratio of 25:1 was probably the inhibition of pituitary FSH rather than LH and was attributed to the mestranol added to the combination.

IUD の現況について

(IUD 調査委員会報告を中心として)

Current Status of IUD

—Contering Around the Report of the Investigation Committee on IUD of the
Japanese Society of Obstetrics & Gynecology—

順天堂大学医学部産婦人科教室

水野重光 高田道夫
Shigemitsu MIZUNO Michio TAKATA

Dept. of Obst. & Gynec., School of Med., Juntendo University, Tokyo, Japan

IUD に対する関心がたかまり、賛否両論にわかれて種々論議されている機会に、IUD 不許可の過程をふりかえり、その改善状況、内外の社会状況の推移にふれ、IUD 調査委員会が日本産科婦人科学会に設置された目的を述べるとともに、委員会報告を中心として、IUD の有効率、妊娠、脱落、障害率、さらにこれら臨床像と子宮内膜組織診、細胞診所見との関係について解説した。

特に障害については発生時期から早期障害と晩期障害とにわけて観察し、その要因を追及して、障害予防対策が如何にあるべきか、今後どのような方向に進むべきかをのべ、IUD の可否を決定することの至難性についても言及した。

はじめに

第2次大戦中、国策により抑圧をうけた避妊法も、戦後人口調節の必要性が強調され、幾多の研究、改善が行なわれてきたが、その殆んどが性交時避妊処置と言うわずらわしさを伴い、失敗例も多かった。従ってさらに確実で簡単な避妊方法がないものかと云うことは、一般のみならずこれを要求される産婦人科医の課題としてとりあげられてきた。

避妊法の具備すべき条件としては

- 1) 作用機序の明らかなもの
- 2) 効果が確実
- 3) 作用が可逆的
- 4) 器質的、機能的、精神的副作用、合併症を伴わない
- 5) 方法が繁雑でなく、本邦人の生活様式に適する
- 6) 経済的負担の少ないもの
- 7) 産婦人科医の管理指導下におきやすいことなどが

挙げられる

現在の避妊法のうち上記の諸条件を全て満足させる方法はないが、経口避妊法、IUD 法は上述した性交時操作と云うわずらわしさがなくと云う点で今後ますます研

究改善される余地のある方法である。特に IUD による避妊法は作用機序の明らかなでないという欠点はあるが、一度子宮内に挿入すれば比較的長期間その目的を達しうると云う経済性を備えており、指導法のいかによっては医師の管理下におきやすいと云う利点がある。

このような長所をもつ IUD による避妊法が何故不許可のままに長い期間、医師の研究用以外にこれを販売、使用することが禁じられてきたのであろうか。近年 IUD に対する関心がたかまり、賛否両論にわかれて種々論議されている機会に、IUD 不許可の過程をふりかえってみることも無意味なことではないと思う。また、この過程に注目するならば、IUD 調査委員会の設置された理由、今後の活動、研究方針も自ずと理解できるものと信ずる。

IUD 不許可の過程について

昭和5年12月27日

内務省令第40号(有害避妊器具取締規則)不許可

昭和11年6月17日

内務省令第15号(一部取締規則改訂)不許可

昭和20年

敗戦により内務省令失効、避妊の風潮さかんとする

昭和24年
IUD 製造許可申請 (4 社)
昭和24年 9 月 3 日
発第1556号 (避妊用具基準) 不許可
昭和27年 2 月
局長より知事通達, 治験用逸脱販注意喚起
昭和27年 5 月
治験用医薬品等の取扱いについて, リングもこの取扱いに服することとなる
昭和28年 1 月
局長より石川正臣委員長宛, 避妊器具の調査研究委託 (研究機関10大学)
昭和32年 2 月
前項研究報告
昭和34年 7 月
前項薬事審議会医療用具特別部会開催, 保留
昭和39年 8 月
児童家庭局長から日本産婦人科学会に, リング使用可否について意見聴取
昭和40年 4 月
前項回答 (全国50大学産婦人科教授回答数32通) 積極推撰不可
昭和40年 9 月
小林委員国際シンポジウムに出席, 概要報告
昭和41年 2 月
医療用具特別部会開催, 日本でもアカデミックに取りあげ検討の要あり
昭和41年 5 月
第2 回特別部会開催, 日本産科婦人科学会の意向がまとまるまで保留
昭和42年 3 月
第3 回特別部会開催, 日本産科婦人科学会に諮問することとなり, 最終結論出さず
昭和42年 9 月
日本産科婦人科学会, 日本母性保護医協会へ諮問
昭和42年10月
日本母性保護医協会より中間答申
昭和42年12月
日本母性保護医協会から回答, 結論困難
昭和42年12月 昭和43年 1 月
東大小林教授と協議, 学会内研究会設置を答申
昭和43年 4 月
日本産科婦人科学会 IUD 調査委員会発足

IUD の過去と現況

以上昭和初期から現在までの経過をみると, 少しずつ

ではあるが IUD 不許可の姿勢に変化が認められるようである。

研究者の材質, 材型, 挿入法, 挿入時期, 適応, 禁忌の選択, 障害の分析, 挿入後管理についてのたゆまざる努力がこの変化に大きく関与していることは勿論であるが, 現今の社会状況からくる間接的影響も見逃すことはできない。

IUD の過去と現況とを比較してみると, これを一括して一つの基盤では論ずることのできない幾多の要素があるように思はれる。

子宮内に IUD と云う異物を挿入することに抵抗を感じると云う理念的な考え方からすれば論議の余地はないが,

1) ポリエチレンの開発に伴い IUD にも利用されるようになり, その結果昭和40年厚生省告示第448号「塩化ビニール樹脂製血液セット基準」による大田リングの成績は全て限度内の値を示し, 材質の面から考えられる化学的障害は殆んどなくなり, また挿入後変型に関係のある浸漬試験においても従来のもものと比較して格段の改善が認められている。

2) 材型でも種々の改良が試みられ, 特に X線不透過性リングの開発により子宮内位置の確認がほぼ可能となり, 挿入後管理の面からも便利になった。

3) 挿入方法, 挿入時期と障害との関係並びに障害発生が暫時明らかとなり, その防止対策が向上し, さらに IUD 挿入のまま障害をとりのぞく方法が検討されている。

4) 第7回国際家族計画会議は IUD を広く世界に紹介し, 特に低開発国の爆発的人口増加の調節を目的として大規模な使用を開始しており, 既にその成績が多数発表され, 近年では白人を対象とした報告もまれでない。

5) 本邦でもこの国際状況に刺激されて或る程度 IUD に対する反対論がゆるんできた感がないでもない。

6) 人口調節を目的とした場合, 人工妊娠中絶にたよっている現況と IUD を使用することのどちらがよいかと云う批判もある。

このように, 過去と現況との間にいくつかの相違, 変化をあげることができる。

但し, ここに注目しなければならないことは, 自験例多数の所では障害例が少なくこれを推奨しているが, 自験例のない所では他医による挿入障害例を経験して依然として強く, IUD に反対している点である。

IUD 調査委員会の目的

昭和43年 4 月設置された日本産科婦人科学会 IUD 調査委員会はこの状況を正確に把握する目的から, 各臨床

機関からの報告を基とした間接的集積法、或いは挿入者に対する直接アンケートによる集積法によって得られたデータを可能な限り客観的、中立的に討議検索するとともに、各大学で直接管理下に適応、要約、禁忌を厳守し、慎重な態度で IUD 挿入に関して基礎的研究を行い、IUD 可否をめぐる諸問題に一応の結論をえようと努力している。

日本産科婦人科学会 IUD 調査委員会委員

委員長 水野 重光(順天堂大)

荒井 清(東京大) 飯塚 理八(慶 応 大)

石浜 淳美(岩手大) 石原 力(中央鉄道病院)

出島 淳名(大阪医大) 稲葉 芳一(名古屋市大)

河田 優(大阪大) 久保 秀史(公衆衛生院)

塩島 令儀(横浜市大) 清水 哲也(北海道大)

鈴木 雅洲(新潟大) 鈴木 武徳(新宿赤十字病院)

鈴木 正勝(日本医大) 関 場 香(岡山 大)

高田 道夫(順天堂大) 田川 億胤(金 沢 大)

瀧 一 郎(九州大) 徳永 博美(鹿 児 島 大)

鳥 越 正(山口大) 中 島 晃(京 都 大)

福井 靖典(日本大) 松本 清一(群 馬 大)

森 憲 正(熊本大) 矢内原啓太郎

山田 文夫(大阪市大) (神 奈 川)

(アイウエオ順)

IUD 調査委員会報告を中心として

昭和43年度における調査委員会の研究課題は IUD の臨床統計 (IUD の有効率, 脱落, 妊娠, 障害率, 保有率) IUD 挿入者の子宮内膜検索 (病理組織的, 細胞学的), IUD による障害の予防対策などであり, ほぼ討議を終了したと考えられるので, 以上の項目を中心とした委員会の現況を述べ, さらに目下検討中の事項についても触れてみたいと思う。

なお討議内容から引用したものについて一つ一つ委員名をあげることは, 限られた紙面において繁雑であるため省略し, 大筋だけを述べることにする。

I. IUD の臨床成績

IUD の可否について論ずる関係上, ここでは敢えて IUD の効果よりも障害についてさきに述べる。

A. IUD による障害について

1. IUD 挿入直後の随伴症状

IUD 挿入直後の出血, 下腹痛, 腰痛等の出現状況は IUD の種類, 挿入方法, 特に頸管拡張の有無によって異り, 挿入時期によっても影響されるが, 最も大きな因子は, 医師のテクニック, 及び IUD サイズの選択, 適応, 要約, 禁忌の厳守である。スパイラルリングを除き, 通常の IUD (リング)においては頸管拡張を行なう

必要があり, 無謀に挿入してはならない。挿入時期は子宮内膜増殖期, 月経終了後5日位を選び, 子宮の強度位置異常, 内性器の腫瘍, 炎症等のあるものでは十分な治療を行い完治後に挿入しなければならない。

また子宮腔長と IUD サイズとが適合していない時はいたずらに障害頻度を高める結果となる。

IUD 挿入直後約半数にみられる上記随伴症状は通常一週間以内に消失するが, 一週間経って消失せず, 止血法, その他種々の治療を試みても一向に改善傾向のみられない時は, 子宮内 IUD の不適合が考えられ, 障害例として除去しなければならない。しかし, 除去後障害を残すことはほとんどないといつてよい。

目下この方面の集計を各委員に依頼調査中であり, その結果の判明次第さらに詳細な成績が発表されるはずである。

2. IUD による障害

IUD による障害のなかにはそのまま放置できる軽度のものから, 除去を必要とするものまでおり, 前者に属するものは, 月経期間の延長, 月経血量の軽度増加等であり, また治療すればかなりの頻度に挿入を継続できるものとしては, 散発的にみられる軽度出血, 帯下増量, 下腹痛, 腰痛等がある。

われわれは日頃挿入した症例について障害の基礎的検索を急ぐのあまり, 直ちに除去して, 子宮内膜検査を行なう事が多いが, そのまま挿入を継続しながら治療すればその半数以上は除去しなくても済むと云われている。

また IUD による障害は大きくわけて早期障害と晚期障害とに区分される。早期障害は挿入方法, 挿入時期, IUD の子宮内位置, 形状などに関係し, 医師のテクニックに起因するものが多いが, 晚期障害 (1年間を挿入基準とした場合は, IUD による真の障害と考えられ, 両者は区別して取扱う必要がある。

しかし, IUD による障害発生率15~20%のうちその大半は早期障害, しかもその多くは1カ月以内, おそくとも3~6カ月以内に発生するものであり, 従って現在はこの早期障害の発生を予防, または治療することに最大の関心が払われている。

挿入後全く障害なく6カ月以上経過した場合の障害発生率は極めて低いとされており, このような例ではその後, 2年, 3年と挿入を続けても, 何ら異常が認められない場合が多い。

要するに障害発生の有無, さらに除去が必要か否かは, 1~3カ月の経過を監視すればその大半を処理するわけであり, しかも除去後には通常何ら障害を残さないから, 管理さえ充分に行えば決して危険なものではない。それよりも早期障害について最も重要なことは, ほ

ば同一条件下に挿入されても障害の発現するものと全く挿入前と変わらない無症状のものが対比的に存在することであり、現在の研究状況下では、未だに解決のつきかかっている問題である。

早期障害を種類別にみると最も多いのは、出血および月経異常であり、挿入例の約7%前後が出血により除去されている。挿入後観察期間内の半年から1年の例では月経周期に異変は認められないが、持続日数の延長が20~30%にみられる、しかし3日以上延長するものは10%程度で、中間期出血は約8%、月経困難症の頻度は3%前後である。

IUD 挿入者の除去理由を1カ月から12カ月まで経日的に観察した成績では、1~3カ月までの除去例では医学的障害によるものが圧倒的に多く、その後における除去理由としては、医師、知人の奨め、本をよんで、なんとなく不安で、癌がこわくなったというような IUD 挿入に対する不信感がある。何ら障害なく経過し、1年後交換する時になって再挿入を希望しないものについての調査成績でも、不安感に基づきものがかなり多く、IUD の日蔭的取扱いがいかに大きく影響しているかがよくわかる。従って現況では1年経過をみて障害のないものではさらに1年間挿入を継続して脱落者を防ぎ、除去後いたづらに妊娠中絶手術をくりかえすことをさけるべきであるとする意見もある。

目下、2年間またはそれ以上挿入の可否について基礎的研究が行われており、一部成績が発表されている。

挿入後6カ月から1年頃にみられる障害の頻度はさほど高くないが、先にも述べたようにこれが真の IUD による障害とも考えられる。基礎的検索を必要とするものであり、子宮内膜との関係について昭和40年以後、相当詳細な研究が行われているが、その成績については後述することとし、この晩期障害の発生に IUD の下降、位置の「ずれ」が関係しているように思われる。IUD と子宮腔との関係を検索する方法としては、造影剤注入による X 線撮影、子宮鏡による直視法、超音波断層写真法があり、障害発生との関係が検索されつつあるが、子宮内膜との関係を見るためには、IUD 自体、もう少し X 線フィルム上の映像が明確となるポリエチレンリングの開発が望まれる。

3. IUD による重症障害

IUD 挿入による重篤な障害例はないわけではなく、まれには子宮内に遺残して子宮腔上部切断を余義なくされたり子宮穿孔後、骨盤結合織炎をおこした例、腹腔内に証明された例、前置胎盤、癒着胎盤、子宮外妊娠の原因となった例などが報告されている、しかしこれらの原因を retrospectiv に観察してみると、IUD そのものに

よる障害と云うよりは、挿入技術の未熟、不注意に起因するものが大部分で、またメタルリングによるものが多く、ポリエチレンリングではこのような重症障害例はないと云っても過言ではない。しかし歯車型リングはしばしば強固に子宮壁に附着して除去困難となることがあるので注意する必要がある。

なお、IUD の避妊メカニズムは未だ解明されてはいないが、妊卵着床を阻止するという考えからすれば前置胎盤、子宮外妊娠の原因に関係がないとは言い難い。しかし多くは人工妊娠中絶等両疾患の原因となる既往を持つものが多く、結論づけることは困難である。

炎症性病変としては子宮内膜炎、付属器炎等があるが重篤なものは稀であり、挿入時既に炎症性疾患を内性器にもっていたものが多く、適応、要約を選び、消毒を完全に行えば、炎症をひきおこすことは、先ずないといえる。さらにもう一つ障害の大きな原因として、全く症状なく長期間、放置されたものについて、有害であるという見地から、無理な除去が試みられた例が案外と多いことである。現在では、本人が挿入していることをほとんど感じていないほど無症状に経過している場合は、無理に除去する必要はなく、一生挿入したままにしても差支えないとする意見もある。勿論癌発生との関係も考慮しなければならぬが、その点は後の項でのべる。

B. IUD による避妊効果

避妊効果は障害同様 IUD の種類によって異なるが、本邦におけるポリエチレン IUD 挿入者の妊娠は100婦人年において大略 2.5であり、妊娠するものは人工妊娠中絶直後または一週間以内に挿入されたものに多い(約80%)。大部分は IUD の下降が原因と考えられ、挿入法、挿入時期の選定に留意することが必要である。IUD の下降については単に子宮腔と IUD サイズからだけでは説明のつき難い例もあり、子宮の異常収縮、月経時要因などが関与していると考えられるが、一応少し大きめのサイズを選ぶ方が避妊効果は高いようである。なお妊娠例のなかには、IUD の脱落しているものも案外に多い。子宮腔と IUD の位置との関係は国際家族計画連盟における1965年度の研究課題であり、さらに今後の研究が期待される。

本装置挿入中の妊娠経過をみると初期より出血が持続して比較的早期に流産するものもあるが、何ら異常を示さないものも多く、分娩時、胎児娩出と同時に、または胎児附属物娩出時に自然に排出される。またしばしば先進部卵膜に附着して排出され、このような例では、臨床像からみても IUD の下降が妊娠の原因であったと考えられるわけである。

C. IUD 除去後の妊娠

IUD 挿入者の中には、既に希望する児を得て避妊を望むものと、一定期間だけ妊娠を避けたいものがあり、後者において特に IUD 除去後の妊孕能が重視される。

多くは除去後、2～3カ月以内に妊娠し、障害のため除去したもので後遺症を残さず妊娠するものが大部分であるが、重症障害例では時に子宮外妊娠、不妊となるものも観察されている。

従って今後 IUD 除去後の不妊者については挿入中の臨床経過を詳細に分析する必要があるが、人工妊娠中絶が不妊、流産、習慣性早産の原因となることもそう稀ではなく、それに較べれば、IUD による不妊例はこれを上廻ることは決してない。

II. IUD に関する基礎的研究

A. 子宮内膜の組織学的所見

IUD が子宮内膜の悪性変化、炎症性変化、異物反応を惹起させるのではないかという観点から、その病理組織学的検索が数多く報告されているが本検索は本法の避妊メカニズムを解明する一手段としても重要である。

検索方法としては、子宮内膜搔爬により IUD 挿入者内膜と非挿入者内膜を比較する方法、IUD 附着部内膜と遠隔部内膜とを比較する方法および IUD 挿入子宮剔除例について子宮内膜を連続性に検索する方法とがある。

既に数多くの報告が IUD 調査委員会でも報告され、最も活発な討議が行なわれている。上記方法による検索成績を総合すると、IUD の子宮内膜に対する影響は、IUD 附着部を中心に 1 mm 幅に限局されている場合が多く、周囲内膜への影響は極めて稀であるといえる。また病変はさほど深層に及ぶものではなく圧迫萎縮した腺の下方に正常腺組織が認められる。

病変中最も多い所見は、炎症性変化（リンパ球、多核白血球、プラズマ細胞浸潤）でその他、充血、出血、浮腫、圧迫萎縮、壊死、腺組織の形成不全、繊維化等が局在して認められ、内膜増殖症、扁平上皮化生等も一部に証明されている。但し、IUD によると思われる悪性変化は一例も認められず、現在までに報告されている 12 例の悪性腫瘍と IUD の共存例は全て子宮頸癌であり、IUD との因果関係は否定されている。

また子宮内膜の性周期のずれも IUD の附着部に限られている場合が多い。

IUD 挿入期間と内膜異常所見の程度とは或る程度相関があり、2 年以上挿入例において、炎症、内膜増殖、萎縮所見がめだつようであるが、年令的な関係もあることから、決定的なことは云い難い。また症例別にみると、短期間挿入例でも著明な変化のみられるものもある。

障害例と子宮内膜所見とは必ずしも一致せず、非障害

例、障害例において比較観察しても、内膜異常所見の頻度に著しい差は認め難い。

なお、病変の程度は内膜搔爬によって次周期までには何ら所見を残さない軽度のものが多く、不可逆的变化は通常認められない。

以上の成績は子宮内膜所見に対する大方の意見を要約したものであるが、これらの変化は正常内膜においてもしばしば認められる所見であり、搔爬部位が一定せず、IUD 附着部の所見を反映しているとは云い難い子宮内膜試験搔爬によって IUD の影響を判断する場合、特に慎重な検索が必要である。

同一人について IUD 挿入時期を子宮内膜増殖期を選び、挿入前内膜組織を採取し、これを IUD 除去時同じく増殖期内膜と比較観察することが望ましい。もし不可能な時は必ず IUD に附着する内膜と遠隔部内膜とを別個に検査することが必要である。

B. 細胞学的所見

子宮頸癌を発見するスクリーニングテストとして、侵襲の少ない細胞診は IUD の悪性変化を検索する目的でも用いられ、その成績も散見される。内膜癌細胞診のまだ充分確立されていない現状では細胞診だけで悪性変化を追求することは困難であるが、現在までの所、内膜、腔ともに悪性腫瘍細胞は証明されていない。又、病理組織診による炎症性変化を細胞診と対比すると或る程度の相関が認められるが、細胞診単独では炎症所見に対して決定的検査法とは云い難い。腔、上皮細胞の SI 所見も IUD 挿入とは全く無関係である。

III. IUD による障害の予防対策

上述した各委員の成績の概要から既に、IUD による障害の予防対策は自ずと判断願えることと思われるので、具体的な面について簡単にふれることにする。

- 1) 厳格な適応、要約、禁忌の厳守が必要である。
- 2) IUD の消毒は材質を変質させない程度に充分行なうことが必要である。
- 3) 腔の消毒を厳重に行なう。
- 4) 十分な婦人科知識をもつ熟練した医師（優生保護法指定医）によって大手術に臨む時と同じ厳しい心構えで挿入させなければならない。
- 5) 子宮腔の方向を消息子で確め、腔長を測定して子宮腔の大きさ、変型に留意して、IUD のサイズを決定する必要がある。
- 6) 頸管拡張を必要とする IUD では十分に頸管拡張を行ない、疼痛に対しては適宜麻酔を行う。
- 7) 決して粗暴に挿入してはならない。
- 8) IUD 平面が縦に交わることをないようにするとともに、子宮底に接着するようにし、IUD が折れ曲る

ようなことがあってはならない(特にスパイラルリング)。

9) IUD が子宮頸部に一部残置されることを防がねばならない。特にスパイラルリング、ループにおいてこの点に留意する。

10) 挿入後随伴症状のとれない時、早期に障害の表われた時は一応除去して IUD の型、種類を変えて試みる余裕が必要である。

11) 挿入後は 7 日, 1 カ月, 3 カ月, 6 カ月, 1 年位の間隔で必ず来院させ、医師の管理下におく。

12) 出血, 帯下, 下腹痛, 腰痛, 発熱等の症状に留意する。

13) 子宮内における IUD の下降が考えられる時は X 線, 超音波, 子宮鏡等により検査を行なう。

14) 除去に際しては充分頸管を拡張し, 穿孔, 頸管損傷に留意し暴力を用いず, 一回で除去不能なものは日をあらためて試みる。

15) 除去された IUD に附着する内膜を精検し, 一応軽く内膜掻爬を行なう

あとがき

以上昭和43年度 IUD 調査委員会報告を中心として, その大要を述べたが, 今後検討を必要とする項目として細菌学的検索があり, IUD 挿入と子宮収縮, 排卵と子宮内膜の周期的関係, 子宮内膜の組織化学的検索, ひいては IUD の避妊メカニズム等についても充分な解析が必要である。

IUD の可否を決定することは, 上述した早期, 晩期障害の頻度, 障害発生機序から考えても, 非常に困難なことであり, 未だ不明の点多々あるが, 昭和44年度の研究成果発表に期待して稿を終ることとする。

Current Status of IUD

—Centering Around the Report of the Investigation Committee on IUD of the Japanese Society of Obstetrics & Gynecology—

Shigemitsu Mizuno and Michio Takata

Department of Obstetrics & Gynecology,
Juntendo University School of Medicine

Improving the occasion of the pros and cons of IUD as a method of contraception being renewedly discussed both in our country and abroad, the authors described the current status of use of IUD mainly as outlined by the report of the Investigation Committee on IUD particularly with respect to its accompanying symptoms, early, late and serious intercurrent disorders, the incidence of gestation and of falling off during its use as well as fertility after its removal and discussed possible measures to combat or prevent these complications while looking back upon the history of contraception with IUD and its changes in the past. The disturbances incidental to the use of IUD were investigated for their correlation with histopathological findings of the endometrium and with regard to its inflammation and time lag of its cyclic alterations appraised was the variability of their degree with different endometrial sites. Reference was also made to the value of cytologic examination, both vaginal and endometrial, during the use of IUD.

IUD の作用機序に関する一考察

—IUD のラット脱落膜腫形成および
脱落膜様反応に与える影響について—

On the Mechanism of Action of the Intrauterine Contraceptive Device
—The Effect of the IUD on Deciduoma, Decidual Reaction
and Implantation in Pseudopregnant and Pregnant Rat—

岩手医科大学医学部産婦人科教室 (主任: 秦 良磨教授)

宮 井 哲 郎
Tetsuro MIYAI

Dept. of Obst. & Gynec., School of Med., Iwate Medical Univ., Morioka, Japan
(Director: Prof. Yoshimaro Hata)

種々の避妊法の中で、IUD(子宮内避妊装置)は使用が簡単なこと、効果の高いことなどから注目されてきたが、その作用機序についてはいまだ定説がない。そこでわたくしはラットを用いて、IUD と子宮の blueing reaction, 脱落膜反応および脱落膜腫形成との関係について検討した結果つぎのような成績をえた。

- 1) IUD 装着妊娠ラットは blueing reaction を示さなかった。
- 2) IUD 非装着妊娠ラットにおいて、妊娠第5日目には半数例に、妊娠第6日目には全例に blueing reaction を示した。
- 3) 偽妊娠ラットにおいて、偽妊娠第1日目に IUD を送入すると、全例に脱落膜様反応も脱落膜腫形成も示さなかった。
- 4) 同じく偽妊娠第2日目および第3日目に IUD を送入すると、全例とも脱落膜腫を形成しないが、半数例に脱落膜様反応を示した。
- 5) 同じく偽妊娠第4日、第5日および第6日目に IUD を送入すると、全例に脱落膜腫を形成した。
- 6) 偽妊娠第1日目に IUD を送入し、さらに第4日目に再度 IUD を送入すると、全例に脱落膜腫を形成するが、初回の IUD の周囲には脱落膜腫も脱落膜様反応もみられなかった。
- 7) IUD 装着偽妊娠ラットにおいて、偽妊娠第1日～第6日目の各日に IUD を送入しても、脱落膜腫も脱落膜様反応もみられなかった。
- 8) IUD 非装着妊娠ラットにおいて、妊娠第1日～第3日目に IUD を送入すると、12例中2例に脱落膜腫を形成した。また IUD 送入側の着床数は21であり、対照側は56であった。
- 9) 同じく妊娠第4日～第5日目に IUD を送入した例では、8例中7例に脱落膜腫を形成し、着床は1例にみられ、その数は1コであった。対照側の着床数は42であった。
- 10) 以上の結果から、IUD は blueing reaction, 脱落膜腫形成ならびに脱落膜反応を阻止し、妊卵の着床を阻害するものと考えられる。この脱落膜反応阻止作用は、IUD の装着期間と関係があり、一定期間以内ではその阻止作用を示さない。着床の少ない子宮側にも、流産の形跡はみられなかった。

はしがき

世界的な人口増加にしたがい、避妊の問題は医学的に

も社会的にもますます関心がもたれてきた。種々の避妊法の中で IUD (子宮内避妊装置)は使用が簡易なこと、効果の高いことなどから注目されているが、その作用機

序についてはいまだ定説がない。

しかし現在のところ IUD による着床阻止説がかなり有力である。しかりとするならば、これは着床機序と表裏をなすものであるから、これを着床機序との関連において検討する必要がある。

妊卵の着床機序についてもいまだ不明の点が多いが、偽妊娠および脱落膜腫形成という2つの研究方法の確立は、その解明に急速な進展をもたらしたといえよう。

そこでわたくしは、IUD とこれら偽妊娠および脱落膜腫形成との関係について検討し、若干の知見をえたので報告する。

実験動物

1. 実験動物には、体重150~250g の Wistar 系雌ラットで、正常性周期を有するものを用いた。

2. IUD としては、日腸工業株式会社製滅菌針付手術糸5-0号を用いた。

3. IUD 装着には、ラットをネブタール腹腔内注入麻酔のもとに開腹し、約1cm の上記絹糸を子宮中央の反子宮間膜側より送入し、一端に結節を作って漿膜にとめ、他端を子宮角腔内に残した。かくして2週間以上経過したものを実験に供した。

4. 発情前期のラットを午後7時~10時に同系の雄ラットのケージに入れ、翌朝8時~10時に膣脂膏を調べ、精子がみられたものを実験に供し、その日を妊娠第1日とした。

5. 偽妊娠ラットはネブタール麻酔のもとに開腹して卵管を絹糸で結紮し、さらに卵管の一部を焼灼した後2週間以上経過したラットを同系の雄ラットのケージに入れ、翌朝8時~10時に膣脂膏を検査し、精子がみられたものを偽妊娠第1日として実験に供した。

なお上記のラットは図1に示すごとく、精子発見より2週間前後性静止期が続き、また表1および図2に示すごとく、4~5日目に子宮筋層を通り粘膜に至る外傷をあたえることによって、同部に脱落膜腫いわゆる deciduoma を形成し、偽妊娠ラットとしての条件を満足している。

実験方法

正常妊娠ラットおよび偽妊娠ラットについて、IUD が子宮内膜にあたる影響、ことに blueing reaction、脱落膜様反応、脱落膜腫形成などについて検討した。

I. Blueing reaction についての実験

実験 1. IUD 非装着妊娠ラット(未処置妊娠ラット)の妊娠第1~6日目に、ネブタール麻酔のもとに頸静脈より青色々素エバンスブルーを 1ml 注入し、約15分

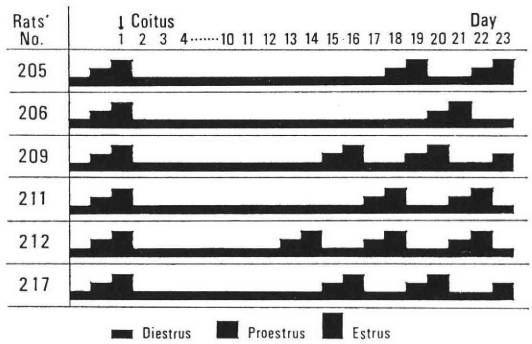


図 1 卵管結紮ラットにおける性周期

表 1 卵管結紮ラットにおける子宮外傷による脱落膜腫形成

Rats' No.	Day at traumatization	Day at autopsy	Deciduoma
203	5	9	+
204	4	9	+
227	4	14	+
228	4	14	+
229	4	11	+

後に頸動脈を切断放血し屠殺した。屠殺後子宮を剔出し子宮壁のブルー着色すなわち blueing reaction の有無を肉眼的、ならびに組織学的に検索した。

実験 2. IUD 非装着偽妊娠ラットにおいても同様の実験を行い、blueing reaction の有無を検した。

実験 3. 両側子宮角に IUD を装着した妊娠ラットについて、同様に blueing reaction をしらべた。

II. 偽妊娠時における脱落膜腫形成ならびに脱落膜様反応に関する実験

実験 4. IUD 非装着偽妊娠ラットの偽妊娠第1日、第2日、第3日、第4日、第5日、第6日目にそれぞれ IUD を1側子宮角に送入し、いずれも送入後5日目に開腹して、脱落膜腫の有無および脱落膜様反応の有無を組織学的に検索した。

実験 5. IUD 装着偽妊娠ラットでも同様に偽妊娠の第1日、第2日、第3日、第4日、第5日、第6日目にそれぞれ IUD 装着側子宮にさらに IUD を追加送入し、いずれもその後5日目に開腹し、脱落膜腫の有無および脱落膜様反応の有無を組織学的に検索した。

実験 6. IUD 非装着ラットの偽妊娠第1日目に IUD を送入し、さらに偽妊娠第4日目に、同側子宮に IUD を再度送入し、脱落膜腫形成の有無および脱落膜様反応の有無を検討した。なお2回目の IUD 送入部位は初回送入部と同じ部位に送入したのが2例、初回送入部の上部または下部に送入したものがそれぞれ1例であった。

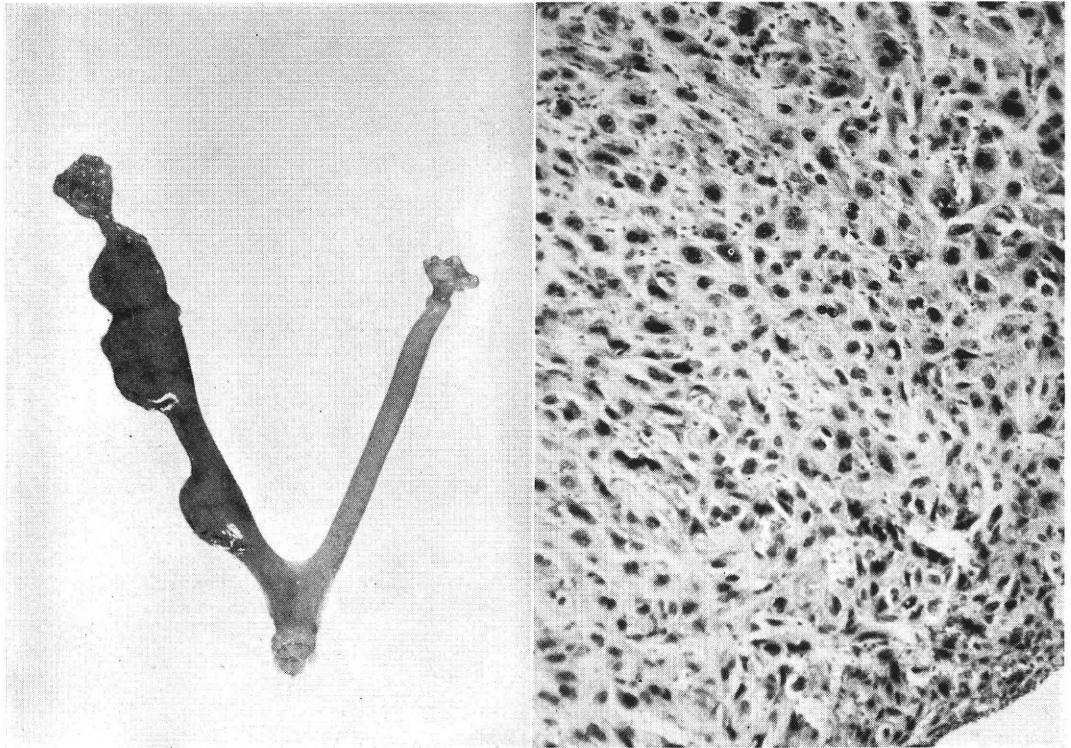


図 2 偽妊娠第 4 日目における子宮外傷による脱落膜腫形成

III. 妊娠ラットにおける IUD の脱落膜腫形成ならびに着床数におよぼす実験

実験 7. IUD 非装着妊娠ラット(未処置妊娠ラット)の妊娠第 1 日, 第 2 日, 第 3 日, 第 4 日, 第 5 日目にそれぞれ 1 側子宮角中央に IUD を送入し, 妊娠第 14 日目に屠殺した後, 脱落膜腫形成の有無, 着床数, および流産の有無を検索した.

実験成績

I. Blueing reaction についての実験成績

実験 1 の成績は, 表 2 に示した通りである. すなわち妊娠ラットにエバンスブルーを注入した場合, 妊娠第 5 日目には 1 部, 妊娠第 6 日目にはすべてに, 図 3 に示したごとく子宮壁に帯状の青色着色すなわち blueing reaction が認められた. 着色部位の組織学的所見では, 間質細胞の核の円形化がみられ, 前脱落膜細胞様所見が認められた.

実験 2. 卵管を結紮した偽妊娠ラットでは blueing reaction はいずれも陰性であった. また組織学的にも図 4 に示したごとく, 脱落膜様細胞は認められなかった.

実験 3. 両側に IUD を装着した妊娠ラット群の blueing reaction は表 2 および図 5 に示したごとくすべて陰性であった.

表 2 妊娠および偽妊娠ラットにおける Blueing reaction.

Day of Pregnancy or Pseudo-Pregnancy	Pregnancy non IUD B. R.	Pseudo-Pregnancy non IUD B. R.	Pregnancy with IUD B. R.
1	—	—	—
	—	—	—
	—	—	—
2	—	—	—
	—	—	—
	—	—	—
3	—	—	—
	—	—	—
	—	—	—
4	—	—	—
	—	—	—
	—	—	—
5	—	—	—
	+	—	—
	+	—	—
6	+	—	—
	+	—	—
	+	—	—

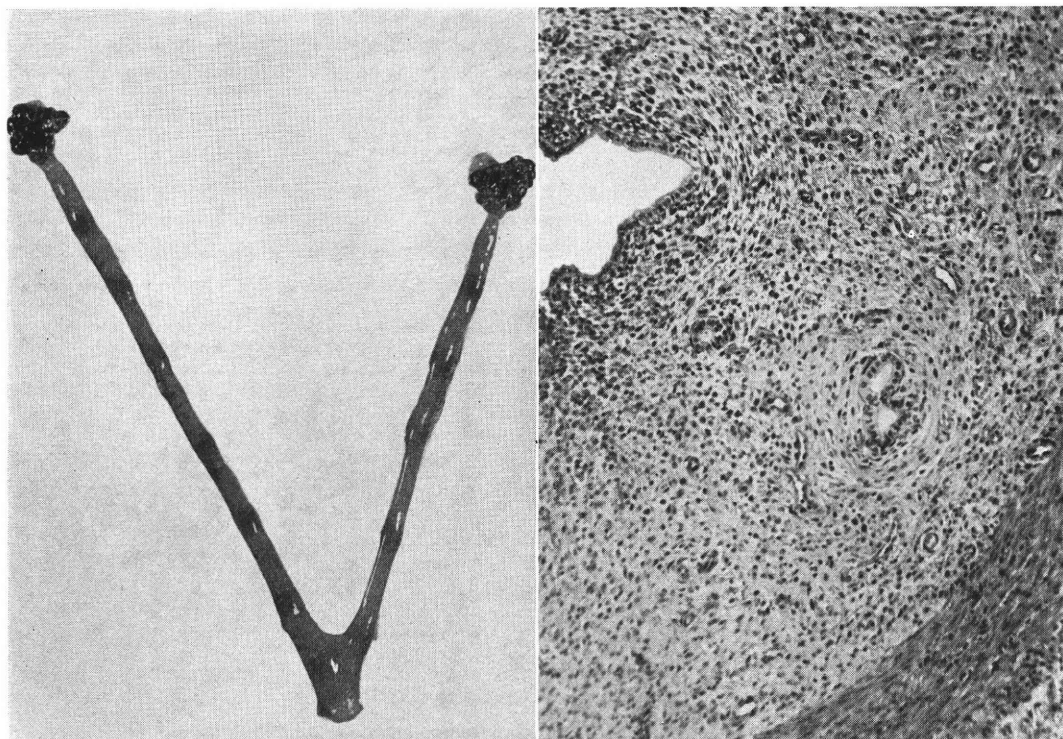


図 3 妊娠第 6 日目 Blueing reaction 陽性

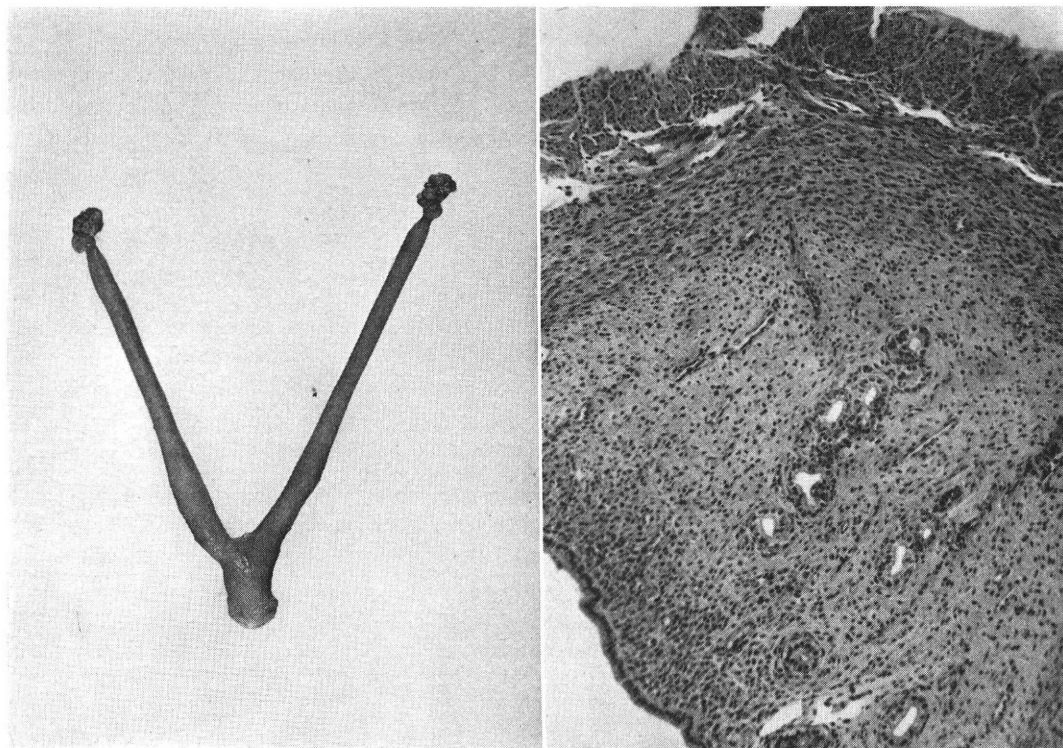


図 4 偽妊娠第 6 日目 Blueing reaction 陰性

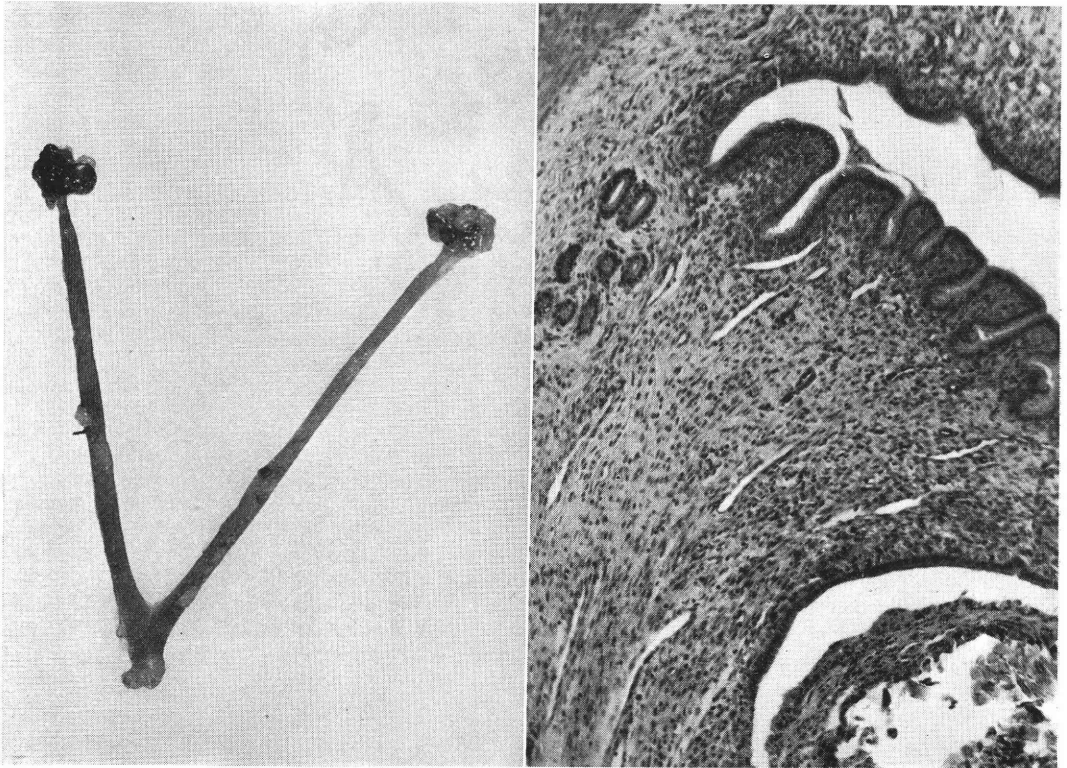


図 5 両側 IUD 装着，妊娠第 6 日目 Blueing reaction 陰性

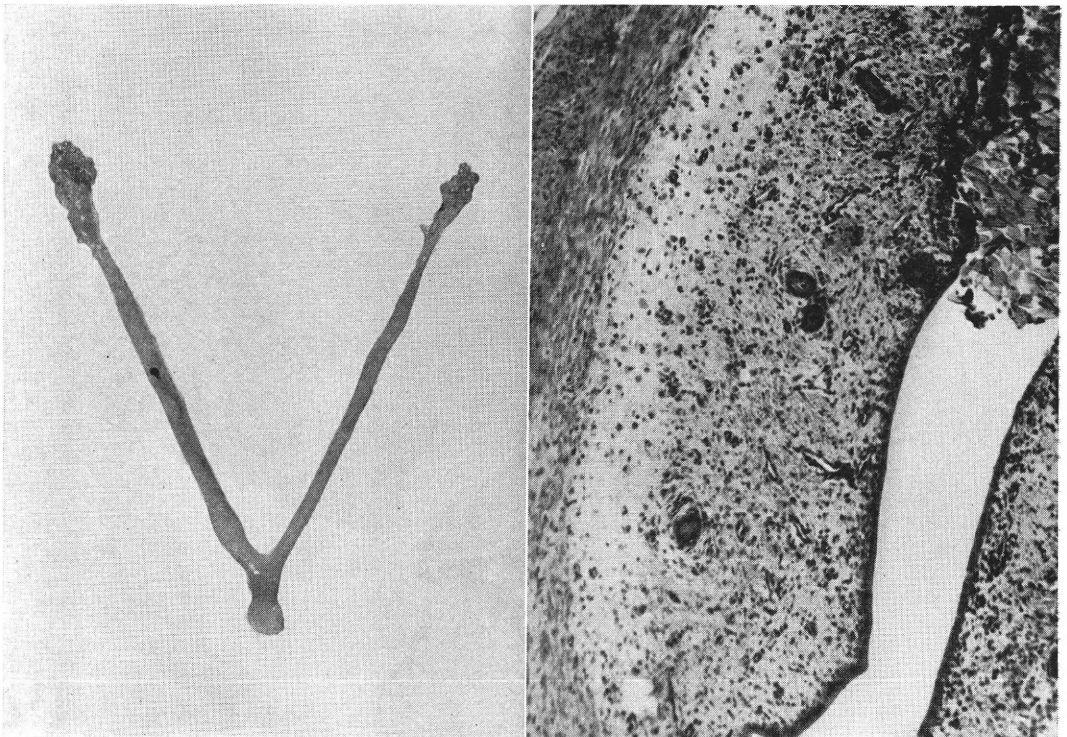


図 6 偽妊娠第 1 日目に IUD 送入，脱落膜腫形成 (-)

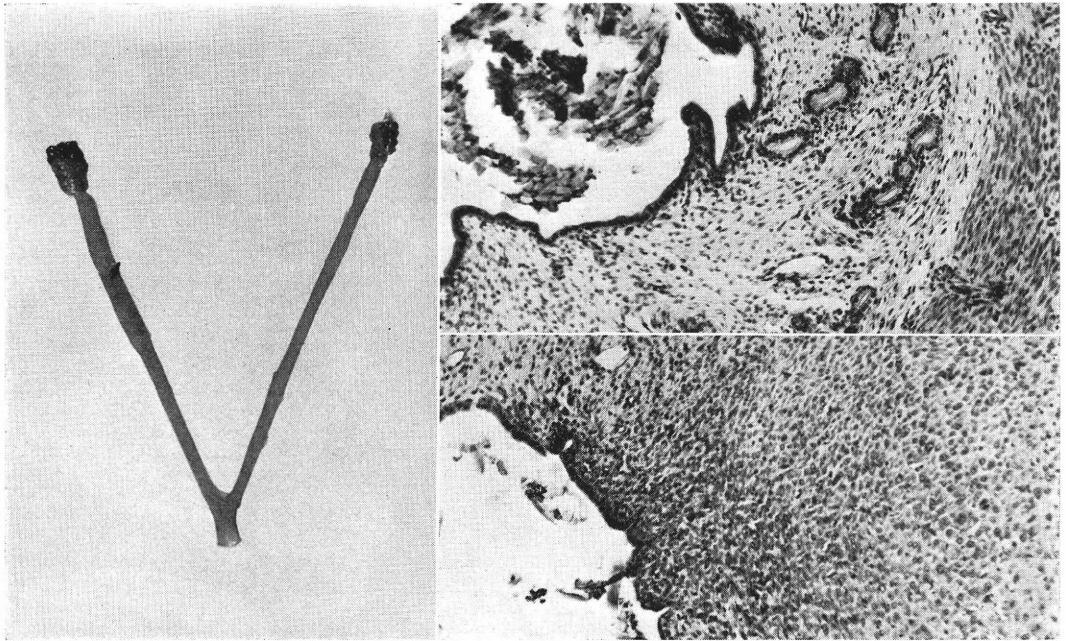


図 7 偽妊娠第 2 日目に IUD 送入，脱落膜腫形成 (-) 脱落膜様反応 (+)

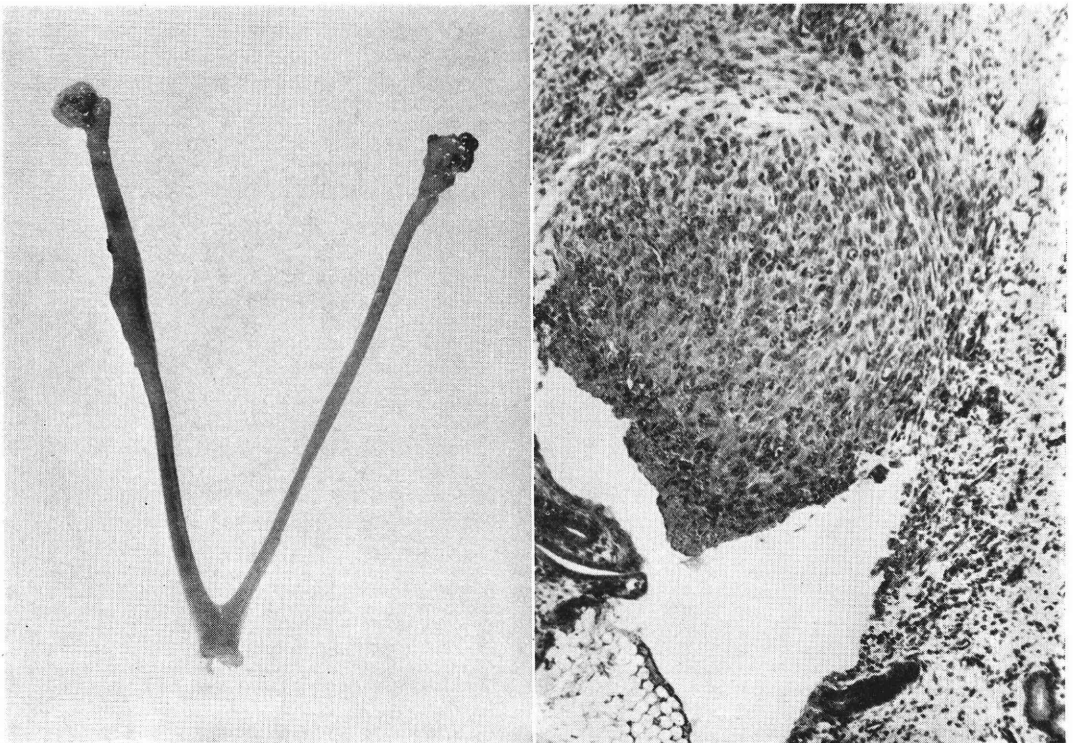


図 8 偽妊娠第 3 日目に IUD 送入，脱落膜腫形成 (-) 脱落膜様反応 (+)

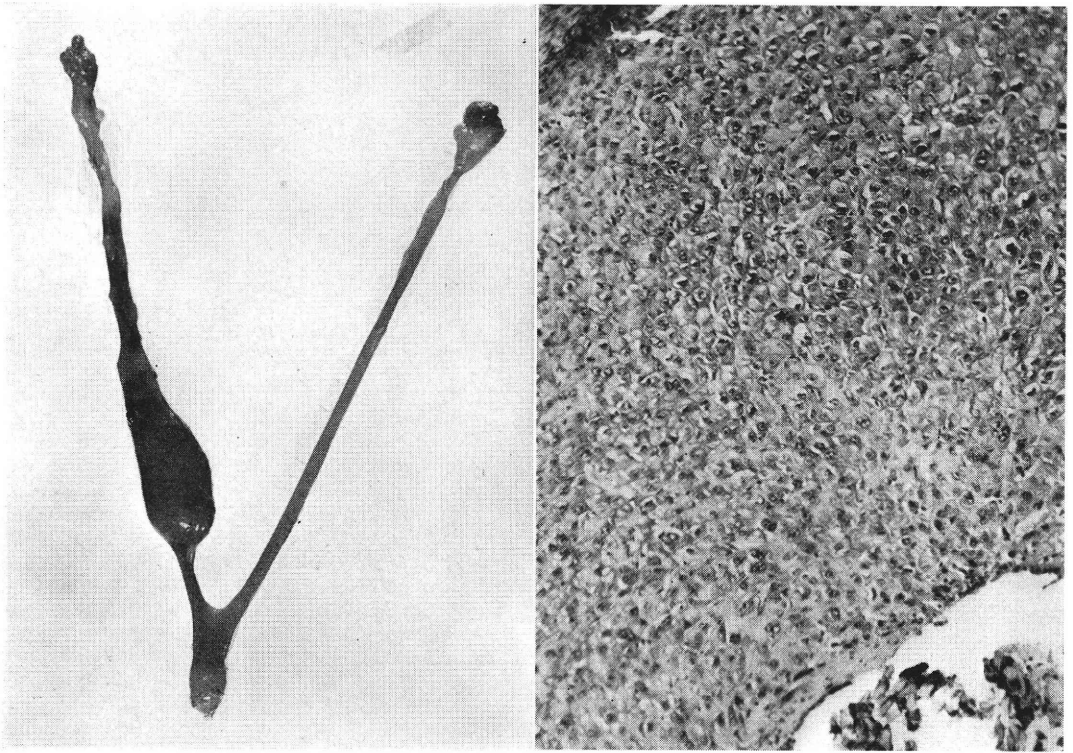


図 9 偽妊娠第 4 日目に IUD 送入，脱落膜腫形成 (+)

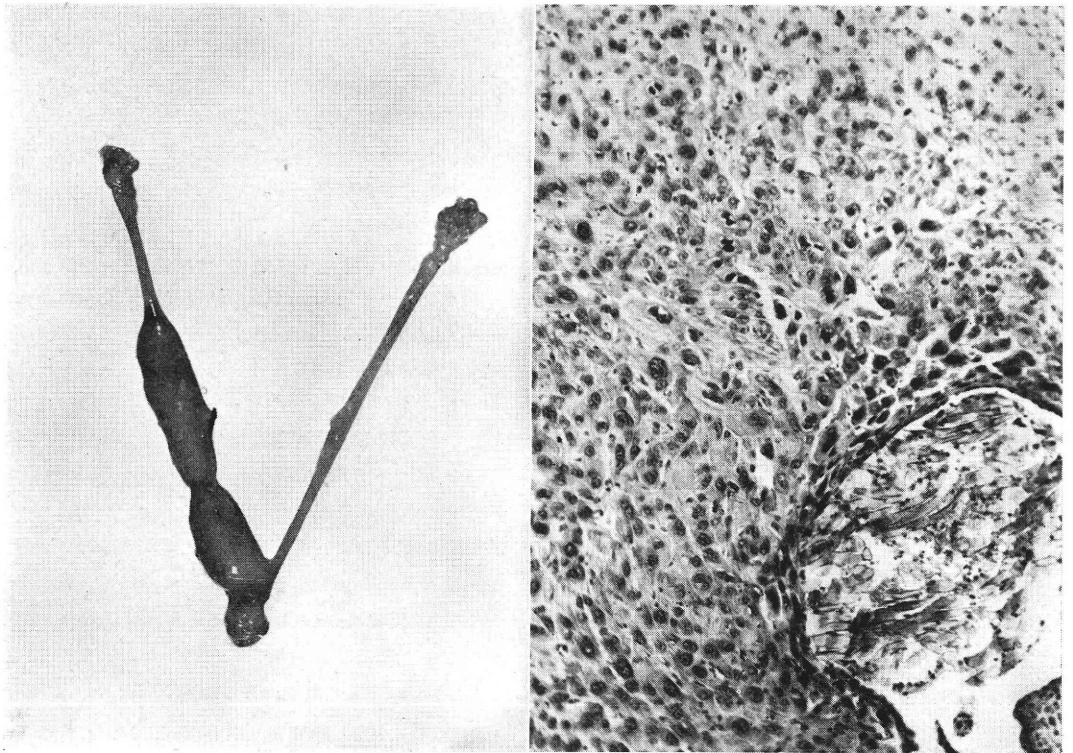


図 10 偽妊娠第 5 日目に IUD 送入，脱落膜腫形成 (+)

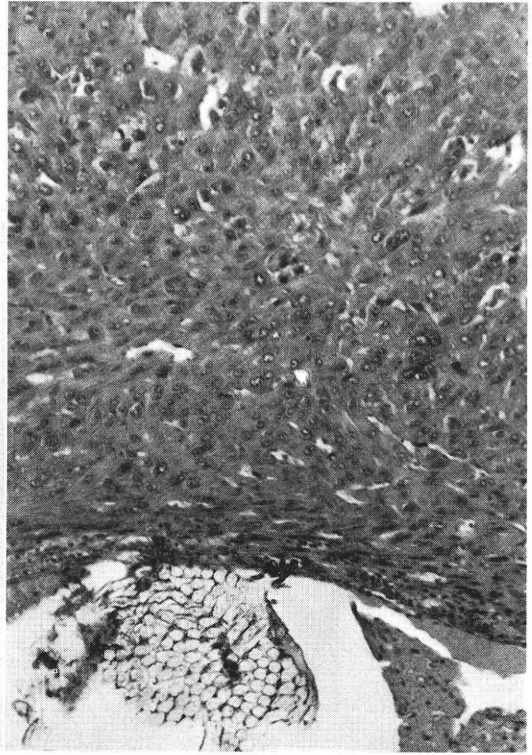
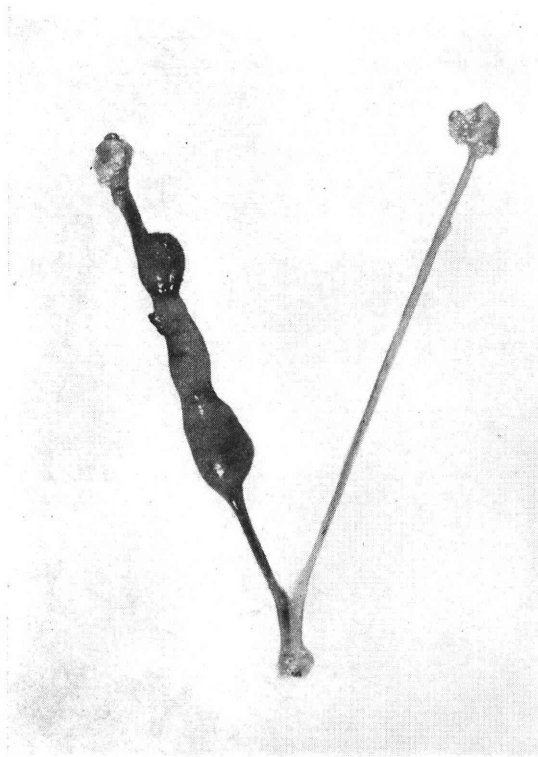
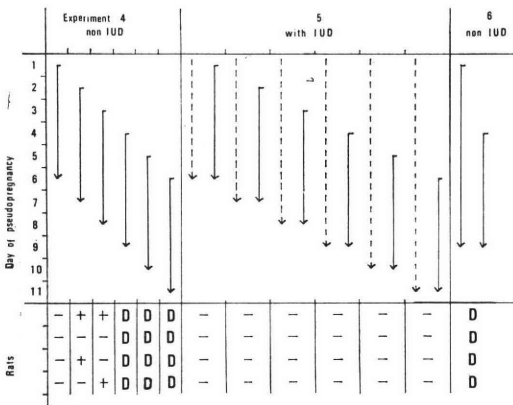


図 11 偽妊娠第 6 日目に IUD 送入, 脱落膜腫形成 (+)



D Deciduoma - Decidual reaction negativ
 + Decidual reaction positiv
 → IUD inserted during pseudopregnancy
 - - - - - IUD inserted before mating

表 3 偽妊娠ラットにおける IUD と脱落膜腫形成および脱落膜様反応との関係

II. 偽妊娠時における 脱落膜腫形成ならびに 脱落膜様反応に関する実験成績

実験 4. IUD 非装着偽妊娠ラットの偽妊娠第 1 日目より第 6 日目まで逐日的に IUD を送入した場合の成績は表 3 および図 6, 7, 8, 9, 10, 11 に示したごとく

である. すなわち偽妊娠ラットでは偽妊娠の第 1 日目から第 3 日目までに IUD を送入した場合には脱落膜腫形成はみられなかった. しかし第 2 日目, 第 3 日目に送入した例の半数に脱落膜様反応がみられた.

偽妊娠の第 4 日~第 6 日目に IUD を送入すると, 全例に著明な脱落膜腫形成が認められ, 組織学的にも脱落膜様反応がみられた.

実験 5. IUD 装着偽妊娠ラットに偽妊娠第 1 日目より第 6 日目までに再び IUD を送入した場合の成績は表 3 および図 12 に示した通りである. すなわち偽妊娠状態になる以前より IUD を装着しているラットでは偽妊娠第 1 日目より第 6 日目の各日に再度 IUD を送入しても, 脱落膜腫形成も脱落膜様反応も示さない.

実験 6. IUD 非装着ラットの偽妊娠第 1 日目に IUD を送入し, さらに第 4 日目に再度 IUD を送入した場合の成績も表 3 および図 13 に示した通りである. すなわちこの場合には全例に脱落膜腫形成がみられるが, 初回の IUD の周囲にはこの脱落膜腫形成も脱落膜様反応もみられなかった.

III. 妊娠ラットにおける実験成績

実験 7. IUD 非装着ラットの妊娠第 1 日目から第 5 日目の各日に IUD を送入した場合の脱落膜腫形成およ

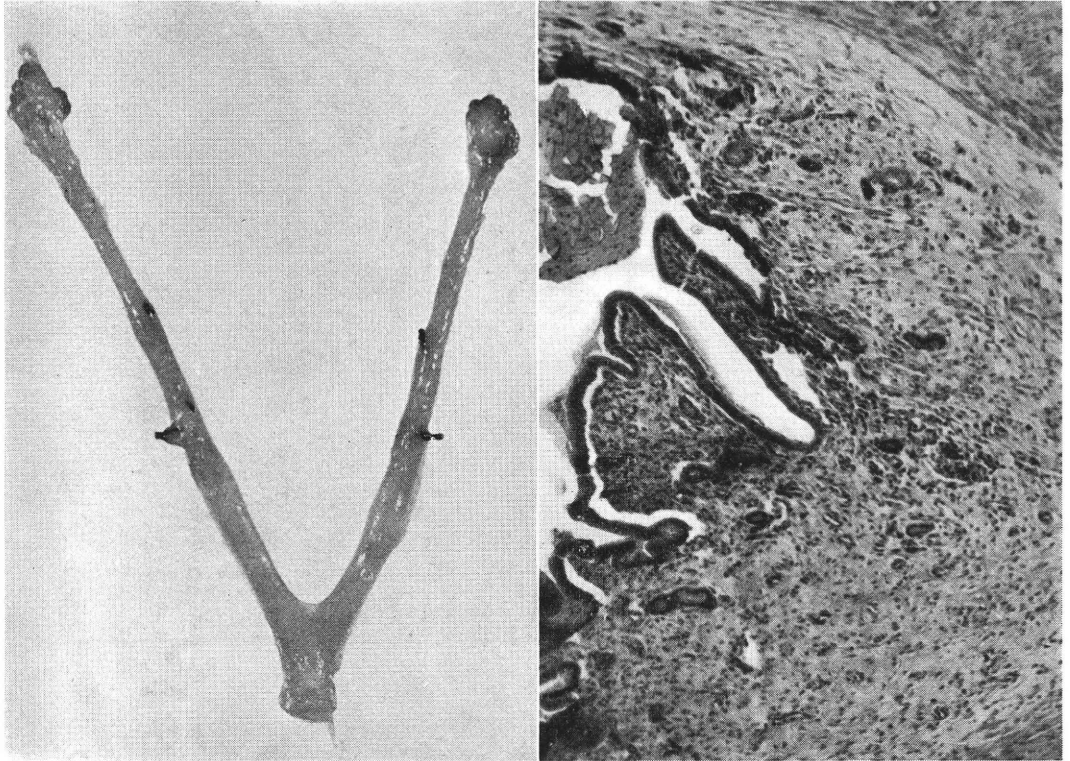


図 12 IUD 装着偽妊娠第 4 日目に再度 IUD 送入, 脱落膜様反応 (-)

表 4 妊娠第 1 日～第 5 日目に IUD 送入
脱落膜腫形成と着床数

Day of pregnancy (IUD insertion)	Rat No.	Deciduoma	No. of implantation	
			IUD horn	Control horn
1	234	-	2	6
	246	-	0	1
	280	-	1	5
	308	-	2	5
2	237	-	2	3
	281	-	3	5
	282	+	2	6
	310	-	1	5
3	242	-	1	4
	244	+	0	5
	252	-	4	5
	305	-	3	6
4	241	+	1	2
	253	+	0	6
	254	+	0	8
	302	+	0	5
5	231	+	0	4
	243	+	0	6
	247	+	0	5
	249	+	0	6

び着床数は表 4 および図 14, 15, 16, 17, 18 に示した通りである。

すなわち妊娠第 1 日目に IUD を送入した場合には、4 例とも脱落膜腫の形成はみられず、IUD 送入側の着床数は 4 例で合計 5 コであった。これに対し対照側子宮角では合計 17 の着床がみられた。

妊娠第 2 日目に IUD を送入すると、脱落膜腫形成は 4 例中 1 例にみられた。着床数は IUD 送入側では 8 コ、対照側では 19 コであった。なお脱落膜腫を形成した 1 例では同側に 2 胎着床した。

妊娠第 3 日目に送入した群では、4 例中 1 例に脱落膜腫を形成した。着床数は IUD 送入側では 8 コ、対照側では 21 コであった。

妊娠第 4 日目に IUD を送入した群では、全例に脱落膜腫の形成がみられ、同側の着床数は 0、これに対し対照側では 21 コであった。

妊娠第 5 日目に送入した群では、送入側全例に脱落膜腫の形成が認められたが、着床数は 0 であった。この場合の対照側の着床数は 21 コであった。

なお全例に組織学的にも流産の所見は認められなかった。

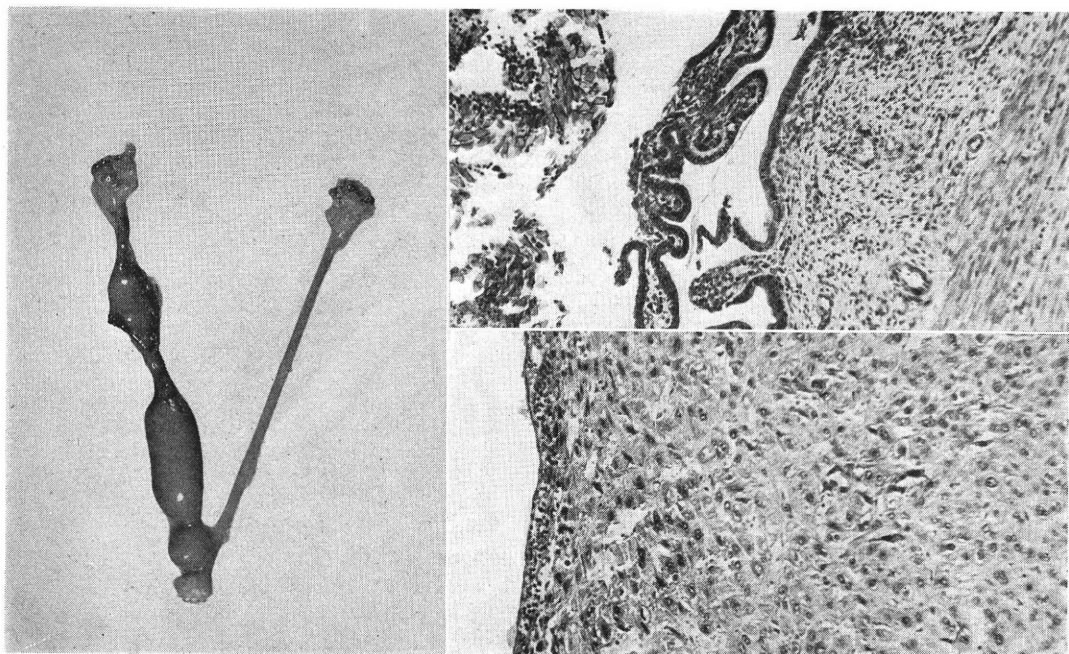


図 13 偽妊娠第 1 日目および第 4 日目に IUD 送入, 中央のくびれたところが初回送入部位

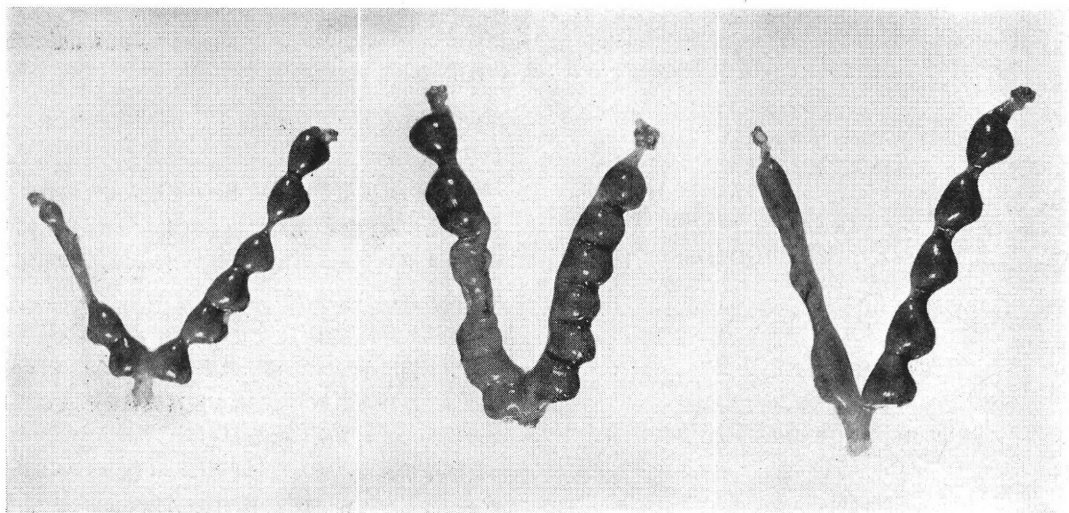


図 14 妊娠第 1 日目に IUD 送入 着床 2 コ 図 15 妊娠第 2 日目に IUD 送入 図 16 妊娠第 3 日目に IUD 送入

総括ならびに考按

IUD の作用機序についてはいまなお不明の点が多い。現在一般に着床阻止説が有力である。着床阻止の理由として Mastroianni¹⁾ は卵の卵管内通過速度の亢進により、卵の分割と子宮内膜発育のタイミングのズレをあげている。Tietze²⁾ は IUD 装着婦人の卵管妊娠発生率と IUD 非装着婦人のそれとを比較し前者が著明に低い点から、

卵の卵管内通過性の亢進を推測している。

しかし Eckstein³⁾ は、猿の実験で卵の卵管内通過亢進を否定しており、われわれ⁴⁾ も家兎およびラットにおいて、IUD 装着卵管における卵の通過性ならびに卵の分割速度に異常のないことを認めている。

IUD の作用機序が受精卵の着床阻止であるとする、これと表裏をなす着床機序との関連において考察する必要がある。しかし着床機序そのものについてもいまだ不

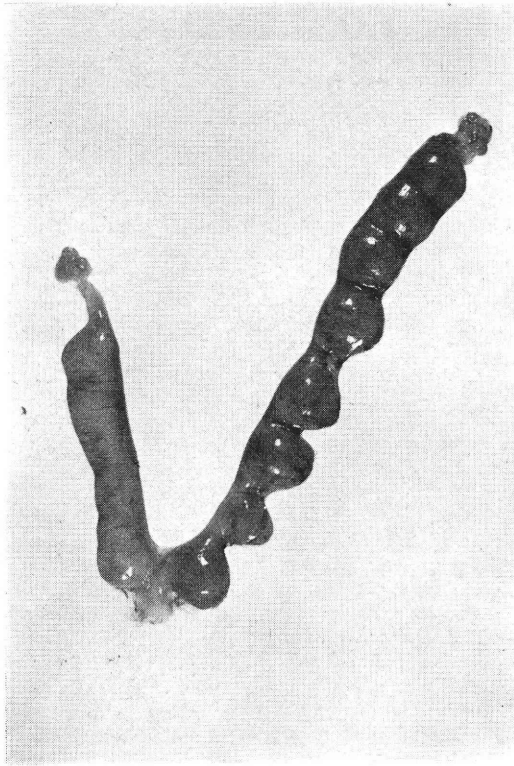


図 17 妊娠第 4 日目に IUD 送入,
脱落膜腫形成着床 (一)

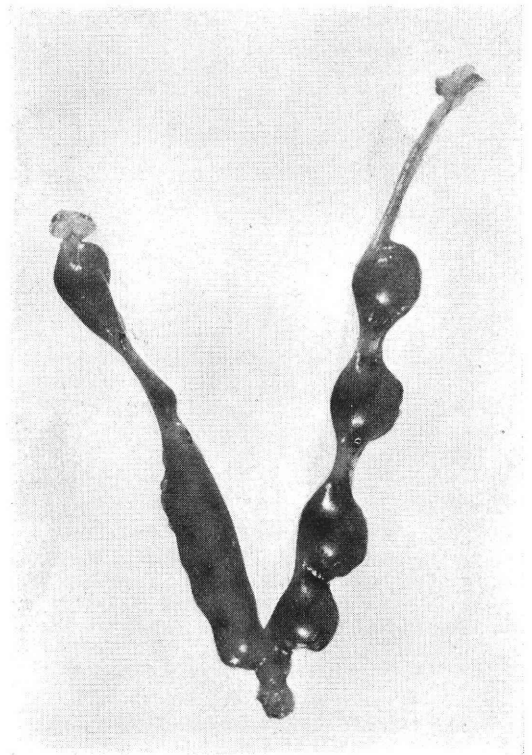


図 18 妊娠第 5 日目に IUD 送入,
脱落膜腫形成着床 (一)

明の点が少なくないのが現状である。

わたくしの実験では、IUD 装着ラット子宮の blueing reaction はすべて陰性であった。この反応は、脱落膜が生ずる部位の血管壁透過性が高まるために、その部位に色素が沈着しておけるといわれている。

卵管を結紮しても、blueing reaction はすべて陰性である。このことは blueing reaction つまり受精卵が着床する場所におけるこの反応は、受精卵からのなんらかの signal を必要とするものと考えられる。その signal が化学的的刺激であるか、物理的的刺激であるかは不明であるが、偽妊娠動物の子宮壁に外傷をあたえると脱落膜腫を形成することから考えて、物理的的刺激ことに機械的的刺激で十分であろうと想像される。

一方 IUD も子宮に持続性の機械的的刺激をあたえるものと考えられ、受精卵の刺激とある程度似通った性質の刺激とみてよいであろう。ただ受精卵の刺激と IUD の刺激の大きな違いは、受精卵では妊娠第 4 日目より子宮腔内に入って子宮壁に刺激をあたえるが、IUD は妊娠前より持続的にあたえているという点である。

したがって、子宮内膜にあたえる機械的的刺激の、時間的因子が重要となる。

そこで偽妊娠各日に IUD を送入し、脱落膜腫形成および脱落膜様反応の有無をしらべた。

わたくしの実験では偽妊娠第 1 日目に IUD を送入しても、子宮内膜間質は反応を示さない。すなわち脱落膜腫形成もなく、また脱落膜様反応もない。偽妊娠第 2 日および第 3 日目に IUD を送入すると、脱落膜腫形成はみられないが、一部に脱落膜様反応が認められた。偽妊娠第 4 日～第 6 日目に IUD を送入すると、全例に脱落膜腫を形成し、脱落膜様反応がみられた。

以上の成績から考えると、子宮に脱落膜様反応をおこすためには、偽妊娠第 4 日目より子宮に刺激をあたえることが必要である。

これに反し、偽妊娠第 1 日目より持続する刺激には、子宮内膜は反応しないということになる。

IUD 装着ラットでは、持続的な IUD の刺激に加えて、妊娠第 4 日目より子宮腔内に入ってくる受精卵の刺激をうけることになる。この状態を偽妊娠状態で実験してみると、実験 5 に示したごとく、偽妊娠第 4 日目の IUD 再送入で、脱落膜腫の形成も脱落膜様反応も認められない。

また実験 6 に示したごとく、偽妊娠第 1 日目と第 4 日目の 2 回送入すると脱落膜腫の形成がおこるが、最初に

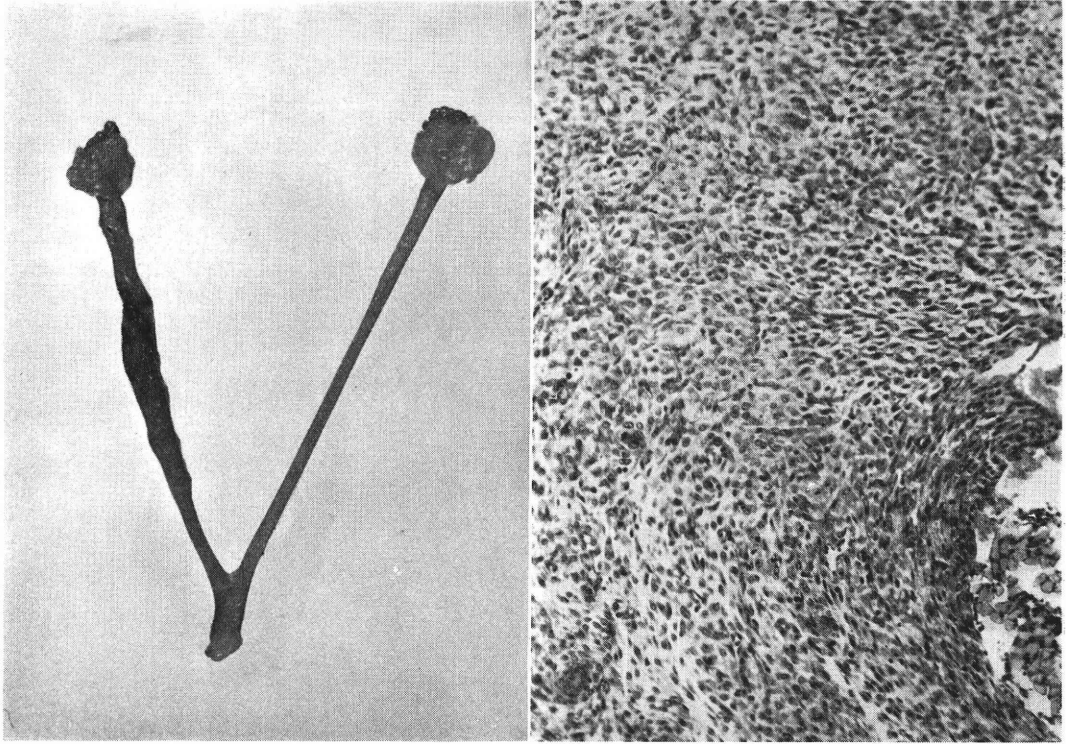


図 19 偽妊娠第 4 日目に IUD 送入, 偽妊娠第 6 日目に開腹, 脱落膜腫形成 (+)

送入された IUD の周囲には, 脱落膜腫形成もなく脱落膜様反応もみられなかった。

このことより, 最初の IUD の周囲の内膜はなんらかの脱落膜様反応阻止作用をうけているものと考えられる。IUD の内膜におよぼす刺激時間が長いほど阻止作用も強く, また広範囲に作用するものと考えられる。

なお偽妊娠子宮に IUD を送入して 5 日後に開腹したが, 装着期間が 5 日間にすぎないので, 脱落膜腫および脱落膜様反応の判定に十分であったかどうかが問題となる。しかし偽妊娠第 4 日目に IUD を送入し, 偽妊娠第 6 日目に開腹, すなわち装着期間が 3 日間の例でも図 19 に示すごとく, 脱落膜腫形成および脱落膜様反応を示すし, 偽妊娠第 1 日目に IUD を送入し, 第 9 日目に開腹した例では図 20 が示すごとく, 脱落膜腫形成および脱落膜様反応を示さなかった。したがって, IUD 装着期間は 5 日間でこれらの判定には十分であるといえる。

妊娠子宮に IUD を送入し, 上記偽妊娠例と比較してみると, 実験 7 の成績でみるごとく, 妊娠第 1 日～第 3 日目に IUD を送入した例では, 12 例中 10 例に着床が認められた。しかし着床数は対照例に比して減少していた。また 12 例中 2 例に脱落膜腫を形成していた。妊娠第 4 日～第 5 日目(受精卵が子宮に到着する時期)に IUD

を送入した例では, いずれも脱落膜腫を形成したが, 着床は 1 例にみられたのみであった。

脱落膜腫形成, すなわち脱落膜様反応があるにもかかわらず, 卵が着床しないのは一見矛盾を感じさせるが, 脱落膜は受精卵の受容器であると同時に他方受精卵から生ずる syncytium の phagocytosis と酵素分泌による母体組織の局所破壊を防ぐ一種の生体防衛機構を兼ね備えているものと考えられるし, また脱落膜腫が受精卵の着床を阻害するという報告⁹⁾がすでになされている。

脱落膜反応をおこすための条件としては, progesterone の分泌, 妊娠第 4 日目から子宮腔に入ってくる受精卵からの刺激, および妊娠第 4 日目のいわゆる estrogen surge などが報告¹²⁾¹³⁾されている。

IUD がこれらのどれと関係して脱落膜反応を阻止するかは不明であるが, じゅうらいの研究¹⁰⁾¹¹⁾より, IUD は progesterone, estrogen の分泌に影響しないとされているので, IUD が装着された子宮の局所に刺激がたらいて, 脱落膜化を阻止するものと考えられる。

Schelesnyak ら⁴⁾⁵⁾⁶⁾は偽妊娠ラットに抗ヒスタミン剤を投与し外傷をあたえると, 脱落膜腫が形成されず, 逆にヒスタミンを投与すると脱落膜腫形成がみられると報告している。Parr⁷⁾は IUD 装着子宮角のヒスタミン含

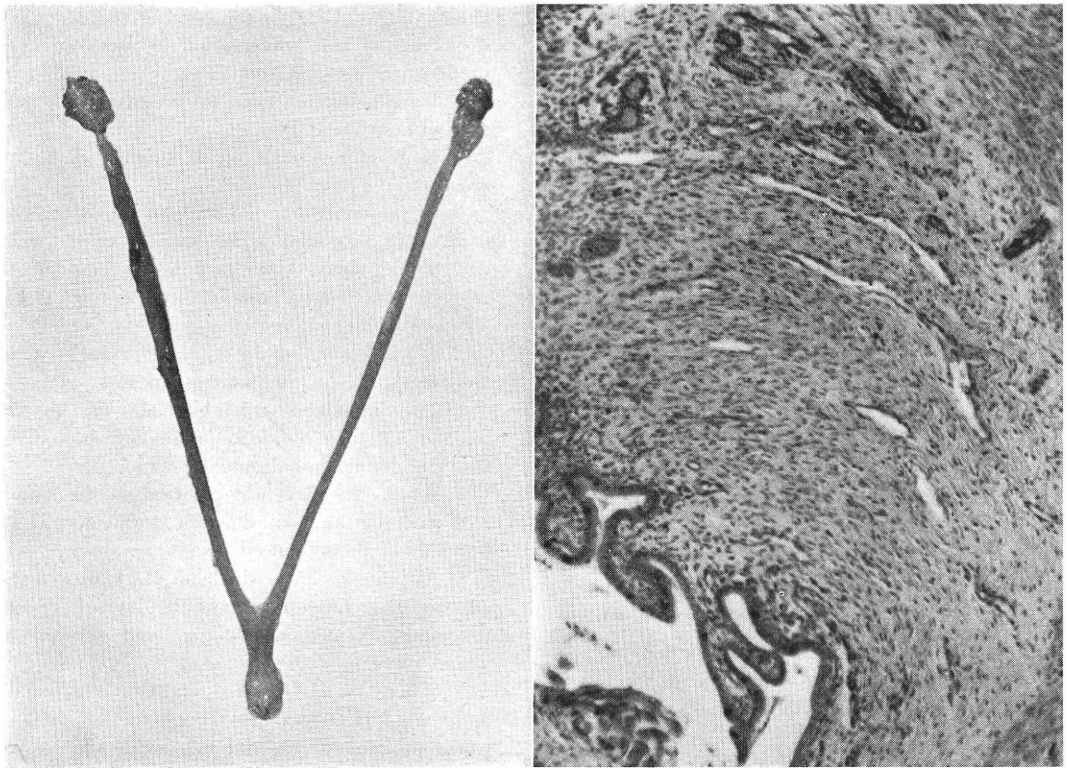


図 20 偽妊娠第 1 日目に IUD 送入，偽妊娠第 9 日目に開腹，脱落膜腫形成 (一) 脱落膜様反応 (一)

有量が、非装着側より高値を示したと報告し、IUD 装着子宮角のヒスタミンに対する、感受性低下のために脱落膜腫を形成しないと述べている。

む す び

IUD の作用機序をみる目的で、偽妊娠ラットに IUD を送入し、脱落膜腫形成ならびに子宮内膜間質の脱落膜様反応をしらべた。また妊娠ラットに IUD を送入し、脱落膜腫形成および着床数についてしらべ、つぎのような成績をえた。

1. IUD 装着妊娠ラットでは、全例に blueing reaction がみられない。
2. IUD 非装着偽妊娠ラットの第 1 日目に IUD を送入すると、全く脱落膜腫形成はみられず、組織学的にも脱落膜様反応はみられない。
3. 偽妊娠第 2 日～第 3 日目に IUD を送入すると、脱落膜腫の形成はみられないが、一部に脱落膜様反応が認められた。
4. 偽妊娠第 4 日～第 6 日目に IUD を送入すると、全例に脱落膜腫形成が認められた。
5. IUD 装着ラットにおいて偽妊娠第 1 日～第 6 日目に再び IUD を送入しても、脱落膜腫の形成はみられ

- ない。また組織学的にも脱落膜様反応は認められない。
6. 偽妊娠の第 1 日目に IUD を送入し、さらに第 4 日目に再度 IUD を送入すると脱落膜腫の形成はみられるが、最初に送入した IUD の周囲には脱落膜腫の形成も、脱落膜反応も認められない。
 7. 妊娠第 1 日～第 3 日目に IUD を送入すると、12 例中 10 例に IUD 装着側に着床がみられた。しかし着床数は対照側に比して減少している。
 8. 妊娠第 4 日～第 5 日目に IUD を送入すると、全例に脱落膜腫の形成が認められるが、着床はみられなかった。
 9. 以上の実験成績を総合すると、IUD の作用機序は実験的偽妊娠ラットにおいて、脱落膜形成ならびに脱落膜反応に関係し、とくに脱落膜反応を阻止し、着床を阻害しているものと考えられる。
 10. この脱落膜反応阻止作用は IUD の装着期間、すなわち刺激の持続期間にも関係し、ラットでは偽妊娠の第 4 日以後に送入したのではその阻止作用はあらわれない。
- 稿を終わるに臨みご指導、ご校閲を賜った秦教授に心から感謝の意をささげるとともに、終始ご指導、ご鞭撻を賜った石浜助教に心から謝意を表します。

なおこの研究は池見同氏並に Population Council の研究費の一部を使用した。併せて感謝の意を捧げる。

文 献

- 1) Mastroianni, L. & Rosseau, C. H. : Amer. J. Obst. & Gynec., 93 : 416 (1965).
- 2) Eckstein, P. : Proc. Roy. Soc. Med., 60 : 392 (1967). (Biological Abstract Found)
- 3) Ishihama, A. & Miyai, T. : Amer. J. Obst. & Gynec., 105 : 169 (1969).
- 4) Schelesnyak, M. C. : Amer. J. Physiol., 170 : 52 (1952).
- 5) Kraicer, P. & Schelesnyak, M. C. : J. Endocrinol., 17 : 324 (1958).
- 6) Schelesnyak, M. C. : Endocrinol., 54 : 396 (1954).
- 7) Parr, E. : J. Reprod. Fert., 14 : 321 (1967).
- 8) Tietze, C. : Brit. Med. J., 2 : 302 (1966).
- 9) Nichaman, M. Z. : Amer. Physiol., 186 : 6 (1956).
- 10) Tamada, T. & Sturgis, S. M. ; Obst. & Gynec., 28 : 793 (1966).
- 11) Chaudhury, R. R. : Intra-Uterine Contraceptive Device., Internat. Cong. series No. 86, Excerpta Medica Foundation. Amsterdam. p. 239 (1964).
- 12) 堀喬, 井手誠, 三宅有 : 日内分泌誌, 42 : 1350 (1967).
- 13) 飯塚理八, 己斐秀豊 : ホと臨, 16 : 943 (1968).

On the Mechanism of Action of the Intrauterine Contraceptive Device

The Effect of the IUD on Deciduoma, Decidual Reaction and Implantation in Pseudopregnant and Pregnant Rat.

Tetsuro Miyai

Department of Gynecology and Obstetrics,
Iwate Medical University
(Director : Prof. Yoshimaro Hata)

During recent years, the intrauterine contraceptive device (IUD) has been considered an effective, simple and harmless contraceptive method.

However, despite the amount of research that has been done with both humans and animals, the mechanism of the IUD is still unknown.

The purpose of this work was to study the

effects of an IUD on the blueing reaction, decidual reaction and implantation in pseudopregnant or pregnant rats (Wistar strain).

1. Blueing reaction in pregnant rats with and without an IUD.

None of rats with an IUD showed blueing reaction.

In the control group without an IUD, none of the rats showed blueing reaction until the 5th day of pregnancy. On the 5th day, half of the rats showed blueing reaction, and on the 6th day, all showed blueing reaction.

2. The effect of an IUD on decidual reaction and deciduoma in pseudopregnant rats.

The animals in which an IUD was inserted on the 1st day of pseudopregnancy showed neither deciduoma nor decidual reaction.

When the IUD was inserted on the 2nd or 3rd day, the animals did not form deciduoma, but half of them showed decidual reaction.

All animals into which an IUD was inserted on the 4th, 5th or 6th day of pseudopregnancy formed deciduoma, and showed decidual reaction.

When one IUD was inserted on the 1st day and a 2nd IUD was inserted on the 4th day of pseudopregnancy, the rat formed deciduoma and decidual reaction, but no case was deciduoma or decidual reaction found around the 1st IUD.

The animals in which an IUD was inserted prior to breeding and reinserted another IUD during pseudopregnancy did not form deciduoma, and did not show decidual reaction.

3. The effect of an IUD on the implantation of fertilized ova in pregnant rat.

Of the 12 animals in which an IUD was inserted on the 1st, 2nd and 3rd day of pregnancy, only one formed deciduoma. 21 implantations were counted in the horns wearing IUD, but 56 in the horns without IUD.

All animals in which an IUD was inserted on the 4th day and the 5th day of pregnancy formed deciduoma. There was only one implantation in the horns wearing IUD, but 42 in control horns.

From these experiments, an IUD seems to disturb decidual reaction of rat's uterus and inhibit implantation of fertilized ova.

Inhibition of decidual reaction seems to be related with the duration of use of IUD.

IUD による子宮内膜反応に関する研究

Endometrial Response of the IUD Users

岩手医科大学産婦人科教室 (主任: 秦良麿教授)

牧野 俊重
Toshishige MAKINO

Dept. of Obst. & Gynec., School of Med., Iwate Medical
University, Morioka, Japan
(Director: Prof. Yoshimaro Hata)

IUD の作用機序をみる目的で、IUD 装着内膜459例と、非装着内膜63例、および BBT 陥落日以後の IUD 装着内膜16例の biopsy を材料として、組織学的研究を行ない、つぎのような成績をえた。

1) IUD 装着内膜では、非装着内膜に比べて内膜の炎症性変化は強いが、その頻度には差がないから IUD の作用機序を説明する論拠にはならない。またこれら炎症性変化のある症例でも、臨床的には全く自覚症状は認められなかった。

2) IUD 装着内膜の粘膜上皮に少数の扁平上皮化生が認められたが、悪性化の所見は認められなかった。

3) IUD 装着内膜には少数に石灰化像が認められたが、これは挿入時の機械的損傷及び月経時の剝離内膜がリングのラセン状コイルに遺残し、それが壊死につづいて石灰沈着をきたしたものと考えられる。

4) 間質におけるリンパ濾胞様構造の出現頻度には IUD 装着内膜と非装着内膜との間に有意差が認められなかった。

5) IUD 装着内膜では理論的日付と実際の採取日付との間に、組織学的ズレを認めるものがおおい。このズレはほとんど全部発育遅延であった。また IUD 装着内膜では主として子宮内膜分泌期像の不完全なものが多く認められた。これらのことが受精卵の着床を妨げる重要な原因の一つであろう。

6) IUD 装着内膜では子宮内膜間質に紡錘形細胞が著明に認められた。

はじめに

IUD (子宮内避妊装置) による子宮内膜反応に関する報告はこれまでも決して少なくないが、系統的なものではなく、ことに IUD の作用機序をその内膜反応の面から病理組織学的に論じた報告は極めて少ない。

そこでわたくしはポリエチレン製オータ型リングを装着した子宮内膜 459例について病理組織学的検索をおこない、IUD による内膜反応、ことにそれと避妊機序との関係について若干の知見をえたので報告する。

実験材料および実験方法

19才から45才までの経産婦で正常月経のある IUD 使用婦人のうち、昭和41年5月から昭和42年5月までの間に IUD の交換を希望してきた 580例を実験対象とし

た。実験材料に供した子宮内膜は主として IUD のラセン部分に附着していたものを用い、それらのうち材料の不足、染色の不良、最終月経の不明なものものをぞぎ、実際に実験に供したものは 459例である。

月経周期については婦人の記憶が一般には不正確なことがおおいので、記憶の確かな最終月経を基準にして内膜採取の日付を決定した。これらの IUD 装着期間は1年から12年にいたり、すべて IUD 装着中にはなんらの自覚症状をも訴えていない。

また IUD 使用経験のない正常月経を有する19才から45才までの健康な経産婦63例の内膜をソーハによって採取し対照とした。

さらに IUD 装着婦人に BBT をとらせ、主として排卵後の着床準備態勢時の変化をみる目的で内膜を採取観察した。

表 1 IUD 装着子宮粘膜上皮所見

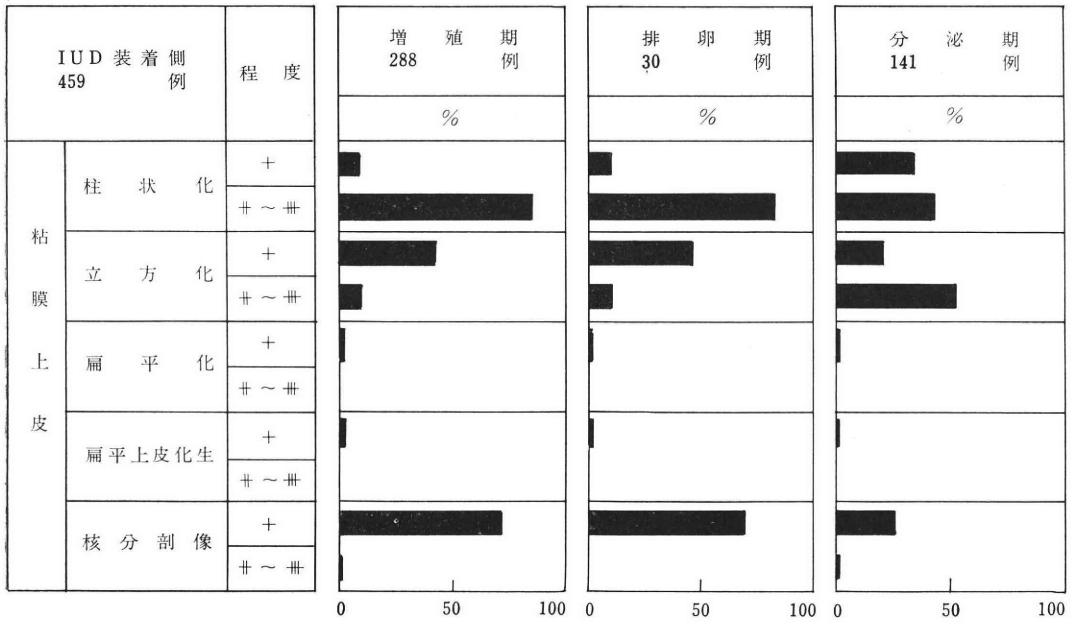
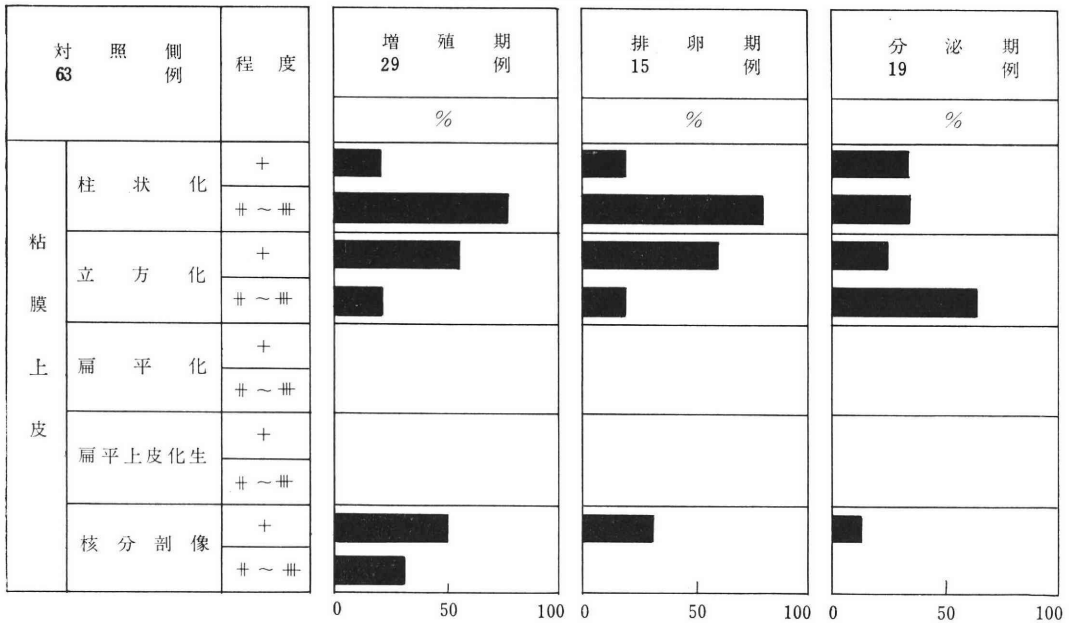


表 2 非装着子宮粘膜上皮所見



採取した内膜は直ちにカルノア固定し、パラフィン包埋後、ヘマトキシリン・エオジン染色、PAS 染色、必要に応じて Von-Kossa 染色などを行った。

内膜所見は林の分類にしたがい、増殖期（初期、中期、後期）、排卵期、分泌期（初期、中期、後期）の3時期7つの phase に分けて観察した。

内膜はこれを粘膜上皮、腺及び腺上皮、及び間質部に

分けて観察し、それぞれの部分で対照との間に、病的所見の有無、生理的細胞形態の変動及び IUD 装着期間とそれらの変化との関係を観察した。

また内膜の性周期別所見では IUD 装着内膜の採取日付と理論的日付の所見とを比較し、それらと IUD 使用期間の関係を観察した。

さらに内分泌に関係があるという間質中のリンパ濾胞

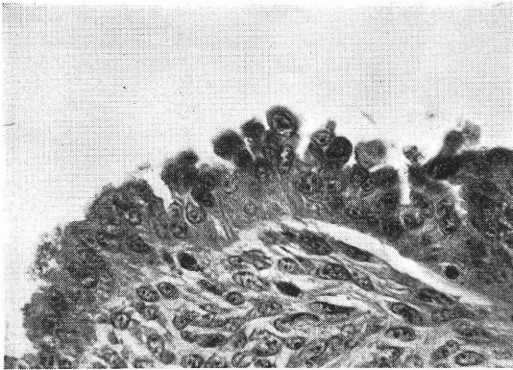


図 1 扁平化

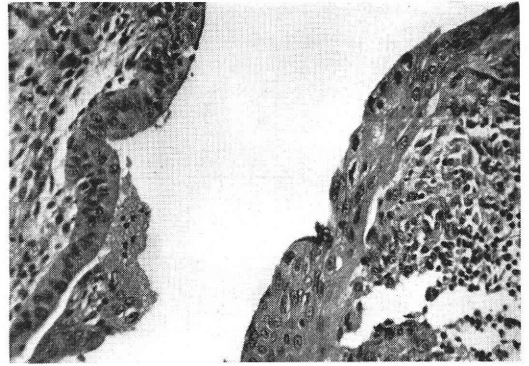


図 2 扁平上皮化生

表 3 IUD 装着子宮腺上皮及び子宮腺所見

IUD 装着側例 459		程 度	増 殖 期 例 288	排 卵 期 例 30	分 泌 期 例 141
			%	%	%
腺 上 皮	柱 状 化	+	0	10	20
		## ~ ###	90	90	80
	立 方 化	+	5	10	15
		## ~ ###	95	90	85
	偽 重 層	+	35	0	0
		## ~ ###	65	0	0
核 分 割 像	+	55	10	0	
	## ~ ###	45	0	0	
異 形 細 胞	+	5	0	0	
	## ~ ###	95	0	0	
子 宮 腺	増 生	+	5	0	5
		## ~ ###	95	100	95
	腺 腔 拡 張	+	15	80	10
## ~ ###		85	20	90	
腔 内 分 泌 物	+	0	5	55	
	## ~ ###	0	95	45	

様構造の出現頻度を対照内膜と IUD 内膜とで比較した。

実験成績

- I 子宮内膜の変化
- 1) 粘膜上皮所見

IUD による粘膜上皮の形態学的所見は表 1, 表 2 に示した通りである。

IUD 装着子宮内膜 459 例中増殖期 288 例, 排卵期 30 例, 分泌期 141 例で, IUD 非装着内膜では増殖期 29 例, 排卵期 15 例, 分泌期 19 例であった。

表は増殖期, 排卵期, 分泌期各期の例数に対する粘膜

表 4 非装着子宮腺上皮及び子宮腺所見

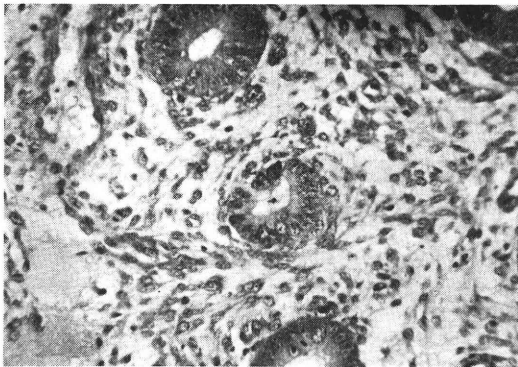
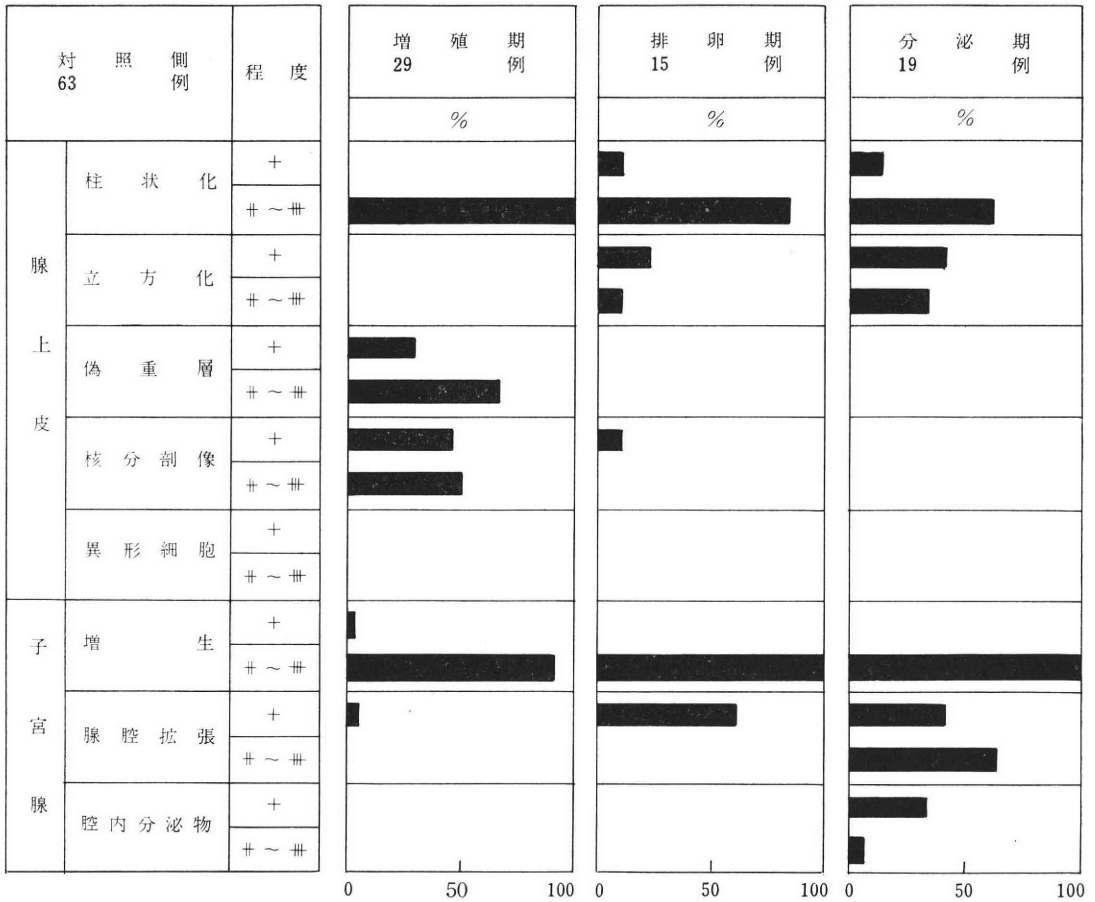


図 3 異形細胞

上皮の各形態の出現頻度を%で示したものである。

粘膜上皮における形態学的変化では、IUD 装着内膜に少数例ながら図1に示すごとき上皮の扁平化が認められ、さらに増殖期 288例中 7例 (2.4%)、排卵期30例中 1例 (3.3%)、分泌期 141例中 1例 (0.7%)に図2のごとき軽度の扁平上皮化生が認められた。

核分割像は IUD 装着内膜にも非装着内膜にも同じ割合で認められたが、前者では増殖期における核分割像の出現が非装着内膜のそれに比べて少ないように思われた。

2) 子宮腺及び腺上皮における変化

子宮腺及び腺上皮の組織所見は表3、表4に示した通りである。

IUD 装着子宮内膜と非装着内膜との間に特に形態学的な差は認められなかったが、IUD 装着内膜では増殖期 288例中 1例 (0.3%)に軽い異形細胞と思われるものが認められた(図3)。

またIUD 装着内膜では非装着内膜にくらべて、子宮腺の腺腔拡張の程度が強く、腔内分泌物も多く認められた。

3) 間質部の所見

間質部における浮腫、充血、多核白血球、円形細胞浸潤などは表5、表6に示したごとく、両者におなじ割合で認められたが、IUD 装着内膜では程度の強いものが多かった。

表 5 IUD 装着子宮間質所見

IUD 装着側例 459		程 度	増 殖 期 288 例	排 卵 期 30 例	分 泌 期 141 例
			%	%	%
間 質 部	浮 腫	+	10	10	15
		Ⅱ～Ⅲ	5	5	10
	充 血	+	10	15	10
		Ⅱ～Ⅲ	5	5	15
	紡錘形細胞	+	45	10	5
		Ⅱ～Ⅲ	5	5	5
	核 分 割 像	+	55	40	5
		Ⅱ～Ⅲ	5	5	5
	多核白血球	+	15	15	15
		Ⅱ～Ⅲ	5	5	5
	円形細胞浸潤	+	45	75	55
		Ⅱ～Ⅲ	45	15	45
内 膜 炎			5	5	
石 灰 化			5	5	
リンパ濾胞			10	10	

また IUD 装着内膜では増殖期288例中 2例(0.7%)、分泌期 141例中 2例(1.4%)計 4例(0.9%)に明らかに内膜炎の像があり(図4)、かつ増殖期の11例(3.8%)、分泌期の3例(2.1%)に石灰化像(図5)が認められた。

間質で形態学的に特異な点は紡錘形細胞である(図6、図7)。IUD 非装着内膜では増殖期の2例(6.9%)に紡錘形細胞が認められたに過ぎないが、IUD 装着内膜では増殖期 124例(43.1%)、排卵期 6例(20%)、分泌期 4例(2.8%)と明らかに多くなっていた。

核分割像は増殖期、排卵期では両者間に差がなく、分泌期では IUD 内膜に少なかった。

また間質中のリンパ濾胞様構造(図8)の出現頻度は表7のごとく、IUD 内膜と非 IUD 内膜間に有意差が認められなかった。

II IUD 装着期(使用期間)と内膜反応との関係

IUD の使用期間の長短と内膜反応の関係をみるために、IUD 装着2年以下の293例と IUD 装着2年以上の166例について比較した(表8、表9)。

2年以下の短期使用内膜では石灰化巣が増殖期に9例(4.6%)、分泌期に3例(3.5%)計11例(3.8%)で長期使用内膜より多く認められた。しかしその他の所見では両者内膜間に差は認められなかった。

III 内膜の理論的日付と採取日付との関係について

子宮内膜組織像は林²⁴⁾にしたがい、増殖期初期(4～7日)、中期(8～11日)、後期(12～13日)、排卵期(14～16日)、及び分泌期初期(17～21)、中期(22～25日)、後期(26～28日)と分類し、最終月経の明らかなものについて実際に採取した日付の内膜所見をこの分類による内膜像と比較した。

IUD 非装着内膜63例の成績は表10に示した通りで、

表 6 非装着子宮間質所見

対 照 例 63		程 度	増 殖 期 29 例	排 卵 期 15 例	分 泌 期 19 例
			%	%	%
間 質 部	浮 腫	+	5	10	15
		++ ~ 卅	5	5	5
	充 血	+	15	25	15
		++ ~ 卅	5	5	5
	紡 錘 形 細 胞	+	5	0	0
		++ ~ 卅	0	0	0
	核 分 割 像	+	25	20	10
		++ ~ 卅	5	0	0
	多 核 白 血 球	+	5	5	0
		++ ~ 卅	0	0	0
	円 形 細 胞 浸 潤	+	25	30	35
		++ ~ 卅	10	0	0
内 膜 炎					
石 灰 化					
リ ン 巴 濾 胞			5	0	10

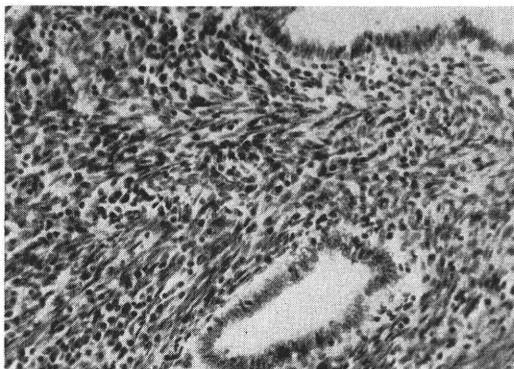


図 4 内 膜 炎

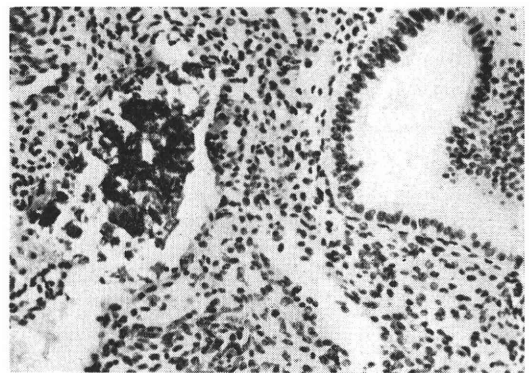


図 5 石 灰 化

内膜の理論的日付と実際の採取日付とが一致したものは黒、一致しないものは白で現わした。

表で明らかなごとく IUD 非装着内膜では、最終月経の4日から7日の間に採取した内膜8例中5例(62.5%)

は増殖期初期の像を示し、月経後8~11日の間に採取した内膜では9例全部、12日から13日に採取した9例中5例(55.5%)、14日から16日の排卵期では9例中6例(66.6%)が理論的日付と一致し、17日から28日までの

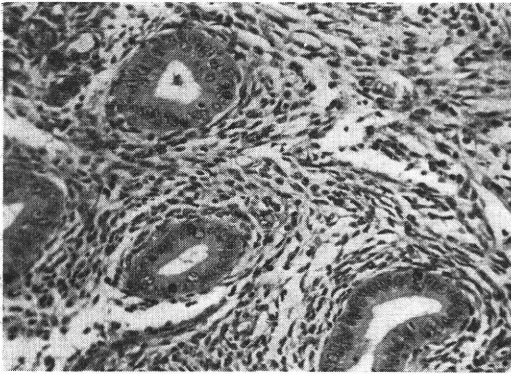


図 6 IUD 装着間質紡錘形細胞 (増殖期)

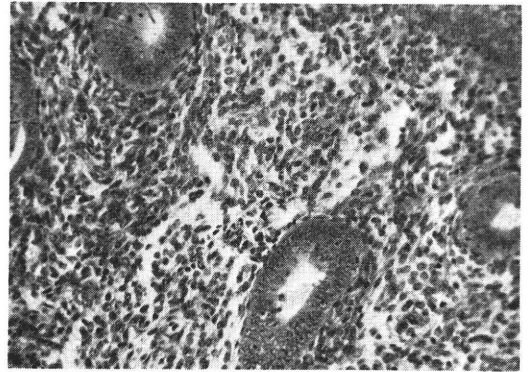


図 7 正常内膜間質細胞 (増殖期)

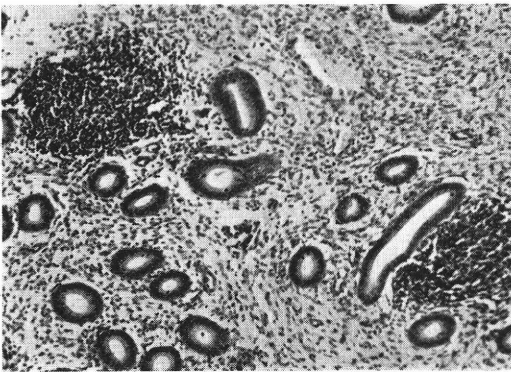


図 8 リンパ濾胞

分泌期の初期, 中期, 後期ではそれぞれ41.1~55.5%が理論的日付と一致した。

これに対し IUD 装着内膜では表11に示したごとく, 14日から16日に採取した内膜67例中理論的日付と一致したのは僅かに6例(8.9%)で, 残りは増殖期後期または中期の像を示した。

また17日から21日の間に採取した 103例でも, 理論的日付と一致したのは35例(33.9%)で, 残りは増殖期像または排卵期の像を示した。

以上の成績を総括すると, IUD 装着内膜では月経後14日から16日に採取したものに理論的日付と一致しない例が多く, 排卵期像は僅かに67例中6例(8.9%)にみられたのみで, 明らかに内膜発育のおくれをみとめた。

理論的日付と採取日付との不一致性についての統計処理の結果は表12にしめしたごとく, 増殖期と分泌期では有意差がないが, IUD 内膜の排卵期では明らかに有意差が認められる。

すなわち, 排卵期では内膜の発育が理論的日付より遅延している。

IV いわゆる着床準備態勢時における内膜の所見

BBT 二相性を示す婦人16例に IUD を装着し, 林のいわゆる第2着床準備態勢時における子宮内膜を観察するために, 装着後半年以上経過したものについて BBT 陥落後の内膜を採取した。

その所見について採取日付と理論的日付とを比較すると表13に示した通りである。すなわち陥落+1, +2日に採取した2例はともに増殖期像を示し, 分泌期初期に採取した10例中1例は増殖期像, 4例は排卵期像, 半数の5例だけが分泌期初期像を示した。分泌期中期に採取した4例では2例だけが理論的日付と一致した。

表 7 IUD 装着及び非装着子宮内膜間質のリンパ濾胞出現度

リンパ濾胞出現度		N 例 数	K 出 現 度	%	検 定		
					X ²	R.A. Fisher 直接確率計算	有 意 性
増 殖 期	対 照 側	26	5	19.2	0.117 Yates の補正		な し 0.50 < P < 0.80
	IUD 側	180	44	25.0			
排 卵 期	対 照 側	9	0	0		P = 0.5970	な し
	IUD 側	67	4	9.0			
分 泌 期	対 照 側	28	5	17.9		P = 0.1294	な し
	IUD 側	212	19	9.0			

表 8 IUD 装着子宮 2 年以下内膜所見

298 例		程 度	増 殖 期 例	排 卵 期 例	分 泌 期 例
			194	18	86
			%	%	%
2 年 以 下	扁平上皮化生	+	■		■
		Ⅱ～Ⅲ			
	腺上皮異形細胞	+			
		Ⅱ～Ⅲ			
	紡錘形細胞	+	■	■	■
		Ⅱ～Ⅲ			
	多核白血球	+	■	■	■
Ⅱ～Ⅲ					
円形細胞浸潤	+	■	■	■	
	Ⅱ～Ⅲ	■	■	■	
内 膜 炎					
石 灰 化		■		■	

つまり BBT 陥落日から数えて+5日から+7日のいわゆる第2着床準備態勢時の内膜の半数以上に理論的日付と一致しない像が認められたことになる。

また表14及び図9に示したごとく、排卵期の5例中3例、分泌期初期の6例中5例に同一標本中増殖期像様の所見を示す部分が認められた。

考 按

IUD の作用機序はまだ明らかでない。現在推測されていることの一つは子宮内膜の着床準備態勢に機械的な障害を与え、内膜の炎症その他二次的变化をひきおこし着床を妨害するということである。

もう一つは IUD が卵管の卵輸送能に影響を与え、受精卵が子宮腔内に入るタイミングを乱し、卵の分割と内膜準備状態との間に時間的ズレをおこし着床を妨害するということである。

生体への異物挿入は当然生体に生化学的または組織学的反応をおこすことが考えられるが、じゅうらいの IUD の子宮内膜に及ぼす影響に関する研究は発癌性や障害の検討が主である。

また IUD 挿入後の内膜反応、すなわち異物に対する

子宮内膜の反応は挿入された異物の材質や形状如何によっても異なるものと考えられるが、それらについての比較検討は見当らない。

Mores¹⁴⁾は Spiral 接着部の粘膜上皮に圧迫像 (Compression) を認め、それが受精卵の着床を妨害するのではないかと述べている。

わたくしは IUD 装着例の内膜に粘膜上皮の扁平化を認めたが僅かに過ぎず、これが着床障害の原因とは考えられない。

河合¹⁰⁾は IUD による内膜上皮悪性化の可能性を考えているが、石浜⁷⁾らの1,058例10年に及ぶ臨床成績、膣スミア、内膜スミアの追跡研究では、IUD 装着子宮内膜の悪性化を認めた例はなかった。

Mores¹⁴⁾は Spiral 挿入子宮25例を摘出検索した結果、間質では子宮腺に Spiral の圧迫によるゆがみを認めたが、子宮腺の拡大は認められなかったという。

わたくしは腺上皮及び子宮腺の組織所見に特別の差異は認めなかったが、IUD 装着内膜では非装着内膜に比し子宮腺の腺腔拡張がやや強く分泌増加の傾向をみとめた。

Jessen⁹⁾, Bonney¹²⁾, Israel¹³⁾らは IUD 装着子宮内膜

表 9 IUD 装着子宮 2 年以上内膜所見

161 例		程 度	増 殖 期 例 94	排 卵 期 例 12	分 泌 期 例 55
			%	%	%
2 年 以 上	扁平上皮化生	+	■	■	
		卅 ~ 卍			
	腺上皮異形細胞	+	■		
		卅 ~ 卍			
	紡錘形細胞	+	■	■	■
		卅 ~ 卍			
	多核白血球	+	■	■	■
		卅 ~ 卍			
	円形細胞浸潤	+	■	■	■
		卅 ~ 卍	■	■	■
	内 膜 炎			■	■
	石 灰 化			■	

では間質に浮腫、出血、円形細胞の浸潤をみとめ、特に Jessen はこの内膜炎が着床障害の原因であるとのべている。同様に内膜炎に原因を求めるものは少なくない(小林¹¹⁾、Hanaraneck⁴⁾。

わたくしの例でも IUD 装着内膜では非装着内膜にくらべて、間質における浮腫、充血、多核白血球浸潤、円形細胞浸潤などの程度は強いものが多かったし吉田²⁰⁾、松本¹³⁾らも同様の成績を報告している。

しかしこれらの所見は対照内膜にも認められるから、IUD の影響として特有なものではなく、ソーハなどによる機械的影響によるものと考えたい。また円形細胞浸潤、多核白血球浸潤などの炎症性変化の頻度と程度がやや強いようではあるが、明らかに内膜炎といえる所見は僅かに 4 例 (0.9%) に認められたに過ぎない。しかもこれらにはすべて小林¹¹⁾のいうように臨床症状は全くみとめていない。

なおそのほかに増殖期に 11 例 (3.8%)、分泌期に 3 例 (2.1%)、計 14 例 (3.1%) の石灰化像を認めたが、吉田²⁰⁾も 22 例中 2 例 (9.1%) に石灰沈着を認めている。これはとくにオータ型リングを使用したようなばあいにおこりやすいと考えられ、挿入時の機械的損傷や月経時剝離

内膜の一部が、リングのラセン状コイルのなかに遺残し、それが壊死をおこし、ついに石灰沈着をまねいたものであろう。

IUD 装着期間 2 年以下の 293 例を、2 年以上の 166 例を比較してみたところでは、粘膜上皮、腺上皮、子宮腺および間質における組織反応は IUD 装着期間の長短とは余り関係がないようである。

Sen¹⁸⁾らは子宮内膜間質内のリンパ濾胞様構造が受精卵の着床となんらかの関係があるとのべているが、わたくしの実験ではその出現頻度には IUD 装着内膜と非装着内膜の間で有意差が認められなかった。

間質においてもっとも特有の所見は IUD 装着内膜群における紡錘形細胞の出現で、非装着内膜群では増殖期に僅かに認められるに過ぎないが、IUD 装着群では増殖期 288 例中 124 例 (43.1%) 排卵期 30 例中 6 例 (20%) に、分泌期にもときに認められ、このことは間質細胞の發育不全と考えられるから、IUD の作用機序に関係をもつものと考えられる。

ヒト受精卵の着床時期を予想する最も簡便な方法として子宮内膜日付診があり、これは黄体期内膜が組織学的に比較的正確な特徴ある遂日的変化を示すことにより、

表 10 IUD 非装着子宮内膜の理論的日付と採取日付との比較

理論的日付 採取日付		例数	増殖期			排卵期	分泌期		
			初期 4 ~ 7	中期 8 ~ 11	後期 12 ~ 13	14 ~ 16	初期 17 ~ 21	中期 22 ~ 25	後期 26 ~ 28
			%	%	%	%	%	%	%
対 照 側	4 ~ 7	8	■	□					
	8 ~ 11	9		■					
	12 ~ 13	9		□	■	□			
	14 ~ 16	9			□	■	□		
	17 ~ 21	17			□	□	■		
	22 ~ 25	9					□	■	
	26 ~ 28	2						□	■

周期日付を推定するもので、これにより実際の周期日付のズレ如何をすることができる。

わたくしの IUD 非装着内膜では増殖期中期で 100%、増殖期初期、後期、排卵期で 55.5~62.5% に日付の一致をみとめたが、IUD 装着内膜は増殖期では大体一致するが、排卵期には 91.1% が不一致をしめし、分泌期にも両者のズレが明らかであった。

そこで IUD 装着婦人 16 名について、BBT の陥落日から逐日的に検査したところ、BBT 陥落 + 1 日、+ 2 日の各 1 例はともに増殖期像を示し、陥落 + 3 日の 2 例中 1 例は増殖期像、1 例は排卵期像を、陥落 + 3 日から + 7 日の内膜では 10 例中 5 例が増殖期像または排卵期像を示した。また分泌期中期にあたる + 8 日から + 11 日までの 4 例中 2 例も排卵期像または分泌期初期像を示した。すなわち IUD 装着例では内膜发育のおくれがみられ、Tamada¹⁹⁾も IUD 装着内膜 164 例を検索し Premature development をみとめ、Lee²⁰⁾も同様組織学的に内膜发育のおくれがあるとのべている。そして Noyes¹⁵⁾らは受精卵の着床には卵と子宮内膜の发育のタイミングの一致が必要であることを強調している。

また Gillam²¹⁾は不妊症患者の内膜所見で 10.7% に不完全分泌期像を認め、子宮内膜は排卵後 6 ~ 8 日で妊卵の着床可能な成熟状態に達し、着床後は受精卵の栄養補給のためにさらに 5 日間以上間質の成熟发育をつづける必要があるから、妊卵の着床には内膜の 80% 以上の成熟が必要であると主張している。

要するに IUD 装着内膜では組織学的に排卵期前後の发育遅延が認められるが、それが異物の機械的作用によるものか、あるいは異物挿入により发育抑制物質の遊離を招来した結果であるかは不明である。しかしいずれにしても、そのことによって受精卵の分割と内膜の着床準備状態の間に生じたタイミングのズレが着床を妨害するものと考えられる。

むすび

わたくしは IUD 装着内膜 459 例、非装着内膜 63 例、BBT 陥落日以後の IUD 装着内膜 16 例の組織学的検索を行い、つぎのような結果をえた。

1) IUD 装着内膜では内膜の炎症性変化が非装着内膜に比較して強いが、その頻度に差はないから IUD の

表 11 IUD 装着子宮内膜の理論的日付と採取日付との比較

理論的日付 採取日付		例 数	増 殖 期			排 卵 期	分 泌 期		
			初 期 4 ~ 7	中 期 8 ~ 11	後 期 12 ~ 13	14 ~ 16	初 期 17 ~ 21	中 期 22 ~ 25	後 期 26 ~ 28
			%	%	%	%	%	%	%
I U D 装 着 側	4 ~ 7	48							
	8 ~ 11	81							
	12 ~ 13	51							
	14 ~ 16	67							
	17 ~ 21	103							
	22 ~ 25	53							
	26 ~ 28	56							

表 12 不一致についての有意性

理論的日付と採取日付との不一致性	例 数	不一致数	%	検 定			
				U ₀	R.A. Fisher 直接確率計算	有 意 性	
増 殖 期	対 照 側	26	7	26.9	0.142	0.80 < P < 0.90	-
	IUD 側	180	46	25.6			
排 卵 期	対 照 側	9	3	33.3	4.456	P < 0.001	+
	IUD 側	67	61	91.0			
分 泌 期	対 照 側	28	16	57.1	0.006	P > 0.90	-
	IUD 側	212	121	57.1			

作用機序を説明する論拠にはならない。またこれらの症例でも臨床的には全く自覚症状が認められなかった。

2) IUD 装着内膜の粘膜上皮に少数の扁平上皮化生が認められたが、悪性化の所見は認められなかった。

3) IUD 装着内膜には少数に石灰化像が認められたが、これは挿入時の機械的損傷及び月経時の剝離内膜がリングのラセン状コイルに遺残し、それが壊死について石灰沈着をきたしたものと考えられる。

4) 間質におけるリンパ濾胞様構造の出現頻度には

IUD 装着内膜と非装着内膜との間に有意差が認められなかった。

5) IUD 装着内膜では理論的日付と実際の採取日付との間に、組織学的ズレを認めるものが多い。このズレはほとんど全部発育遅延であった。また IUD 装着内膜では主として子宮内膜分泌期像の不完全なものが多く認められた。これらのことが受精卵の着床を妨げる重要な原因の一つであろう。

6) IUD 装着内膜では子宮内膜間質に紡錘形細胞が

表 13 BBT 陥落後日付と理論的日付の比較

採取日付	理論的 日付	増殖期 後期	排 卵 期	分 泌 期		
				初期	中期	後期
B B T 陥 落 後 日 付	0	14				
	+ 1	15	1			
	+ 2	16	1			
	+ 3	17	1	1		
	+ 4	18			1	
	+ 5	19		1	3	
	+ 6	20		1		
	+ 7	21		1	1	
	+ 8	22		1		
	+ 9	23			1	1
	+10	24				1
	+11	25				
	+12	26				
	+13	27				
+14	28					

表 14 BBT 陥落後の分泌期内膜不完全例

例 数	BBT 陥落後 内膜採取日付	実際の組織像	分泌期内膜 不完全例
1	+ 1	増殖期後期	-
2	+ 2	増殖期後期	-
3	+ 3	排 卵 期	+
4	+ 3	増殖期後期	-
5	+ 4	分泌期初期	+
6	+ 5	分泌期初期	-
7	+ 5	分泌期初期	+
8	+ 5	分泌期初期	+
9	+ 5	排 卵 期	-
10	+ 6	排 卵 期	+
11	+ 7	排 卵 期	+
12	+ 7	分泌期初期	+
13	+ 8	排 卵 期	-
14	+ 9	分泌期中期	-
15	+ 9	分泌期初期	+
16	+ 10	分泌期中期	+

著明に認められた。

あとがき

秦教授ならびに桂教授（本学第2病理学教室主任）のご指導ご校閲を深謝します。また石浜助教授，病理学里館講師のご指導ご鞭撻を感謝します。

さらに材料の収集に協力された県立中央病院産婦人科（武田博士），日赤成岡病院産婦人科（菊池博士），池田弘，川村芳夫，黒川定静，小林静一，小向寅之助，兼田

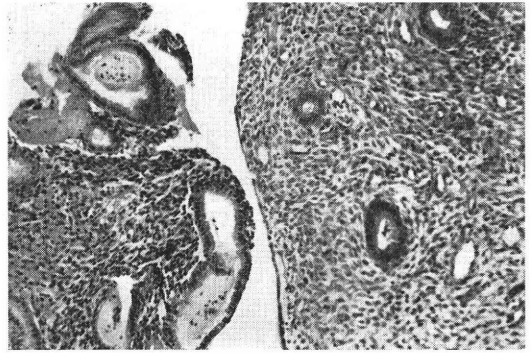


図 9 分泌期不完全内膜

良一，曾根久，竹田正一，西島喜輝，三浦武夫，松浦秀広，横川貞夫，吉田碩夫，桜井保四郎（イロハ順）の各博士に対し深く感謝します。

本研究は優生リング研究所長池見同氏ならびに Population Council の研究費の一部を使用した。併せて感謝の意を捧げる。

なお本研究の要旨は第11回日本不妊学会総会，第13回日本不妊学会総会ならびに第1回日本産婦人科学会 IUD 委員会において発表した。

文 献

- 1) Bonney, W.: Amer. J. Obst. & Gyn. 96: 101 (1966).
- 2) Gillan, J.: Fert. & Steril. 6: 18 (1955).
- 3) Hertig, T. et al.: Amer. J. Obst. & Gyn. 98: 435 (1956).
- 4) Havaranek, F. et al.: J. Reprod. Fertil. 14: 15 (1967).
- 5) Israel, R. et al.: J. A. M. A. 159: 44 (1966).
- 6) Iskandar, G. et al.: J. Obst. & Gyn. 98: 946 (1967).
- 7) Ishihama, A. et al.: Acta Cytologica (in press)
- 8) Jain, J. et al.: Ind. Med. Res. 56: 78 (1968).
- 9) Jessen, D. et al.: Amer. J. Obst. & Gyn. 85: 1023 (1963),
- 10) 河合信秀: 日不妊会誌, 3(5-6): 349 (1958).
- 11) 小林隆, 他: 日産婦誌, 19(9): 1097 (1967).
- 12) Lee, H. et al.: Amer. J. Obst. & Gyn. 98: 808 (1967).
- 13) 松本清一, 他: 日産婦誌, 17(8): 920 (1965).
- 14) Mores, K. et al.: Obst. & Gyn. 28: 323 (1966).
- 15) Noyes, W. et al.: J. Endocr. 18: 108 (1959).
- 16) Parr, E. et al.: J. Repr. Fertil. 14: 321 (1967).
- 17) Rozin, S. et al.: Amer. J. Obst. & Gyn. 97: 197 (1967).
- 18) Sen, K. et al.: Gynecologia. 163: 371 (1967).
- 19) Tamada, T. et al.: Amer. J. Obst & Gyn.

98 : 811 (1967).

20) 吉田照男, 他 : 日不妊会誌, 11(4) : 326(1966).

21) 林基之 : 臨床婦人科解剖学, 医学書院 (1965).

Endometrial response of the IUD users

Toshishige Makino

Department of Obstetrics and Gynecology
Iwate Medical University, School of Medicine
(Director : Y. Hata)

In order to determine the mechanism of IUDs, histological studies were conducted on the endometrial biopsies from 459 cases with IUDs in place, 63 cases without IUDs. Besides from other 16 cases with IUDs the biopsies were obtained during the period of higher level of BBT. And the following results were obtained.

1) The endometria with IUDs revealed inflammatory changes that were more marked than those in the endometrium without IUDs. However, no difference was seen in the frequency of inflammatory changes. Therefore, inflammatory changes could not be used as the date for the explanation of the mechanism of IUDs. In cases with inflammatory changes there were no clinically

subjective symptoms noted.

2) Epithelial metaplasia was seen on the endometria of a few cases with IUDs. No findings of malignant transformation were noted.

3) On the endometria of IUD group, calcification was noticed of a few cases. This finding is assumed to have been caused by endometrial desquamated tissues, which has been left within the space of the spiral parts of IUD, because of the injury by its insertion or by the last menstruation. Calcification then occurred following necrosis of such tissue.

4) The frequency of appearance of lymph follicle-like structures in the stromal tissue gave no significant difference between the group with IUDs and the one without IUDs.

5) Histological discrepancy was recognized between the theoretical date and the actual date of the endometria with IUDs in place. The discrepancy proved mostly to be delay in development. On the endometria with IUDs in place, secretory phase of endometria was frequently incomplete. It seems to be suggested that these changes are effective to prevent implantation of fertilized ova.

6) On the endometria with IUDs, the appearance of fibroblasts in its stroma was pronounced.

各種動物における精上皮の Cycle の比較

—Stage の発現頻度の検討—

Vergleich des Samenepithelzyklus bei verschiedenen Tierarten

—Eine statistische Analyse über die
Frequenz des Stadiums in dem Zyklus—

北海道大学獣医学部家畜臨床繁殖学講座 (主任: 石川恒教授)

千葉敏郎 石川恒
Tosiro TIBA Tsune ISHIKAWA

Institut für Veterinäre Obstetrik der
Tierärztlichen Fakultät der Hokkaido-Universität
(Direktor: Prof. Dr. Tsune ISHIKAWA)

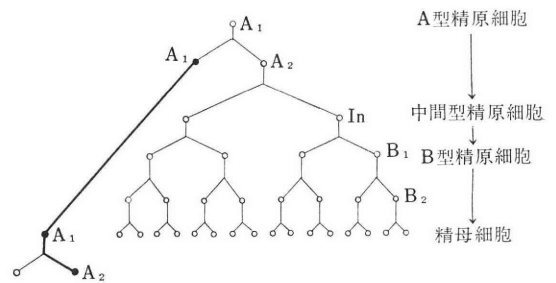
ミンクに関する自験例をも含む諸家の報告に基づき、6種類の動物(牛・綿羊・家兎・豚・ミンク・ラッテ)における精上皮 cycle の Stage の発現頻度を比較検討した。

それぞれの動物における個別別の成績から各 stage(stage 1, 2, ..., 8)・平均発現頻度(%)を求め、この平均値を stage 1 から順に加算し、それぞれの累積和を算出した。stage 1 から7迄の各累積和に関し、直交多項式を用いて回帰方程式を求めた結果、これらの累積和の分布は1次式によって表わし得ることがわかった。回帰係数について見た場合、家兎と豚および家兎とラッテとの間には、それぞれ有意差($P < 0.05$)が認められるが、他のものには認められない。又、牛・綿羊・家兎においては、stage 4 よりも前の stage において累積和が50%以上に達するが、豚・ミンク・ラッテにおいては、stage 4 以後に50%以上の値が示される。

I. 緒言

精子形成(Spermatogenesis)において、各世代の精細胞が分裂又は変態によって、それぞれ次の世代の精細胞を生ずる過程の時間的長さは、各世代に応じて常に一定であり、従って精子形成の全過程の時間的長さもまた常に等しい。しかも、同一世代に属する個々の細胞は、常にほぼ同調的に変化の諸段階を辿る。更に又、あるA型精原細胞の有糸分裂に始まる精子形成が、未だその全過程を完了しない中に、このA型精原細胞から生じた他のA型精原細胞の分裂が開始され、しかもこれら両者の分裂開始の時点の間隔は常に一定に保たれている。言い換えれば、あるA型精原細胞の分裂に始まる精子形成過程の途上に、他のそれが常に一定の間隔を保ちながら、次々といわば追いかぶさって行く。

このように極めて規則的な諸現象が相互に関連し合う結果として、必然的に次のような事実がもたらされる。



第1図 牛・綿羊における精子形成
(Ortavant⁴⁾, 改写)

すなわち、精上皮を構成する各世代の精細胞の組み合わせ (cellular association) は、常に一定種類のものに限られる、という現象である。このことは、精巣組織標本中の精細管横断面に現われる種々の cellular association を実際に型別することによって、直ちに理解される筈である。

第 1 表 精上皮の cycle の分類

stage	
1. 精細管から精子が完全に放出される	→精子細胞核が狭長化し、染色性が増大し始める
2. 精子細胞核の狭長化および染色性増大	→精子細胞が基底膜に向って束状に集合し始める
3. 精子細胞の集束開始	→第 1 成熟分裂開始
4. 第 1 成熟分裂開始	→第 2 成熟分裂完了
5. 第 2 成熟分裂完了	→新生精子細胞核中に塵埃様の染色質が現われ始める
6. 新生精子細胞核中に塵埃様染色質出現	→古い精子細胞が Sertoli 細胞核から分離し始める
7. 古い精子細胞が精細管腔に向って移動し始める	→精子細胞が移動を完了し、精細管腔を輪状に取り囲む
8. 精子細胞の移動完了	→精上皮から精子が完全に分離する

精上皮全体の経時的変化が、上に述べたような機序の下に進行するとすれば、精細管横断面上の cellular association には、一定順序に従って生起する一定の各相が繰り返して現われることになる。このような周期的な変化は精上皮の cycle と呼ばれる。精上皮の cycle は一定の分類法に従って、一定数の stage に分けることができ、区分された stage は経時的にそれが現われてくる順序に従って、例えば stage 1, stage 2 … と名づけられている。言う迄もなく、stage 1 とは「stage 1 と名づけられた cellular association」を意味する。

精巣組織標本の観察において、多数の精細管横断面上の cellular association を stage 別に分類し、全 stage の観察総数に対する各 stage の出現回数比を算出した場合、その比を stage の発現頻度という。現在、ある stage の発現頻度は、精子形成の全過程においてその stage が占める相対的時間的長さを示す、と一般に考えられている。このことは、例えば stage 1 の発現頻度が 15% であるとした場合、精子形成の全所要時間に対して、この stage の存続時間が占める比もまた 15% であると考えて良い、ということに他ならない。この仮定が完全に正しいものであるとすれば、stage の発現頻度という概念は精子形成のダイナミックスの上で、極めて重要な意味を持つ筈である。

stage の発現頻度は、一般に個体及び左右の精巣によって著しい差を示すことはない——厳密には、この点に関する統一的理解を見出すことは困難である、と言うべきであるが——とされている。Ortavant⁹⁾によれば、stage の発現頻度はただ動物種によって異なるのみで、同一種内では極めて安定しているという。

しかしながら、精子形成のダイナミックスに関する本格的な研究の歴史は浅く——今次大戦後に始まると言って良い——、従って stage の発現頻度に関する精細な、系統的な解析も未だなされていない、と言って良い。今回著者等はミンクに関する自験例をも含めて、諸家による各種動物における stage の発現頻度に関する報告を比較検討し、精子形成のダイナミックスにおける動物種に

よる差の一端を明らかにしようとした。

II. cycle の分類法

stage の発現頻度を算出する為の基礎となるものは、言う迄もなく各 stage にある cellular association の鑑別、言い換えれば cycle の分類である。この分類には大別して 2 法ある。第 1 の方法は、精子細胞から精子への変態過程（精子完成 Spermiogenesis）における、精子細胞の形態学的変化を分類の指標とする方法である。この分類法によれば、1 cycle は一般に 10 あるいはそれ以上の比較的多数の stages に分けられる⁹⁾。第 2 の方法は、精子細胞の形態以外に例えば減数分裂像、精上皮からの精子の分離などの、精子形成上画期的と目されるような諸変化をも分類の指標として採り入れた方法である。この分類法によれば、1 cycle は一般に 6 又は 8 stages に区分される。著者等がミンクについて用いたものは第 2 の方法である。従って、著者等の自験例と比較されるべき他家の成績もまた、当然第 2 の分類法に拠ったものでなければならぬ。この分類法の概略を表示すれば次の通りである。

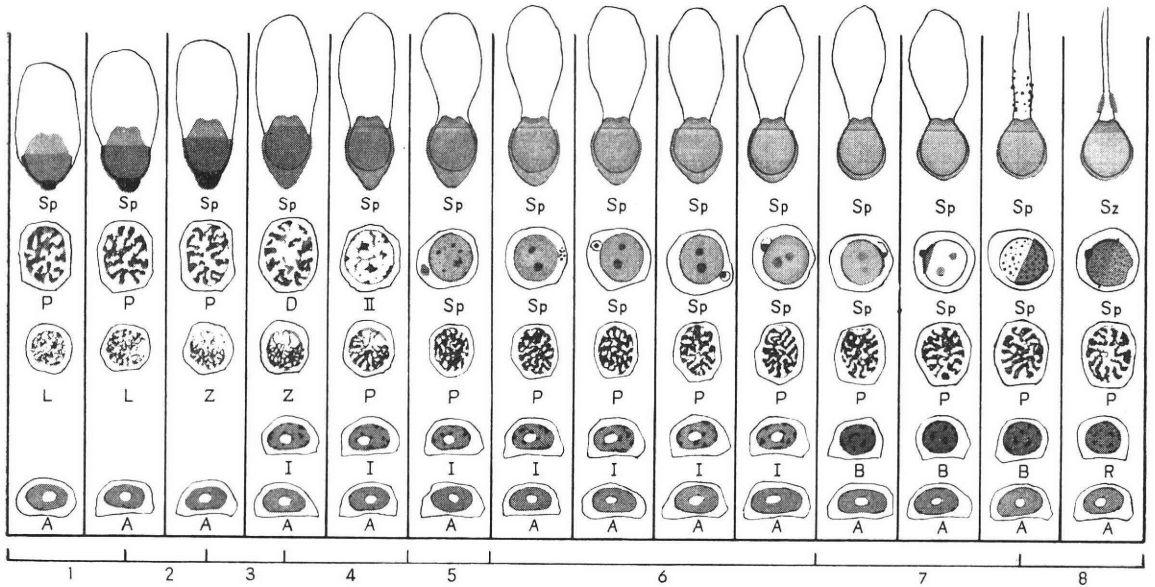
第 1 表に示した分類をミンクについて図示すれば第 2 図の通りである。

なお、cycle の観察を目的として精巣組織標本を作製する場合、回定液として賞用されているものは、Zenker-formol, Helly, Orth などである。染色法として PAS-Haematoxylin, Thionine-PAS などが広く用いられている。著者等は Helly および Thionine-PAS を用いた。

III. 諸家の成績の比較

既に述べた分類法に従って検索された、各種動物における stage の発現頻度に関する諸家の成績は第 2 表に示す通りである。

第 2 表に示した如く、個体別の成績から各 stage の平均発現頻度を求めた。平均値を求める場合、個体差の有意性の検定は行なっていない。これらの stage の平均発現頻度を解析する方法として、各 stage の平均発現頻度



N. B. A : A型精原細胞 P : Pachytene I : 中間型精原細胞
 D : Diakinesis B : B型精原細胞 II : 精娘細胞
 R : 休止期の精母細胞 Sp : 精子細胞 L : Leptotene
 Sz : 精子 Z : Zygotene
 第2図 精上皮の cycle の各 stage における cellular association (ミンク)

を stage 1 から順次加算し、それぞれの累積和を求めてみた (第3表, 第3図)。

第3表および第3図から明らかなように, stage の平均発現頻度の分布のし方には, 動物種によってかなり大きい差があることが分る。

さてそこで, stage 8における値を除いて——というのは, その値は常に 100%であるから——stage 1 から 7 までの値について, 直交多項式を用いて回帰方程式を求めてみた。それによればこれらの値の分布のし方は, 1 次式によって表わし得ることが分った。

牛 $\hat{Y}_1 = 10.26x + 61.11$

綿羊 $\hat{Y}_2 = 10.62x + 56.07$

家兎 $\hat{Y}_3 = 9.76x + 52.31$

豚 $\hat{Y}_4 = 12.41x + 49.70$

ミンク $\hat{Y}_5 = 11.65x + 40.11$

ラッテ $\hat{Y}_6 = 13.28x + 37.11$

但し $x = -3$ の場合 stage 1

” -2 ” ” 2

” -1 ” ” 3

” 0 ” ” 4

” 1 ” ” 5

” 2 ” ” 6

” 3 ” ” 7

これらの方程式によって表わされる回帰直線を第4図

に示す。

既に示したそれぞれの方程式の回帰係数を比べてみると, 家兎と豚および家兎とラッテとの間にはそれぞれ 5%以下の危険率で有意差が認められるが, 他のものにおいては有意差は検出されない。

次に stage と累積和との関係について調べてみた。特に stage 4 に着目した理由は次の通りである。すなわち, stage 1 から 4 迄は精原細胞が精母細胞・精娘細胞を経て精子細胞に迄分化する精子発生 (Spermatocytogenesis) の過程であり, stage 5 から 8 迄は精子細胞が変態を遂げて精子に至る精子完成の過程である。つまり, 減数分裂が行われる strge 4 という時期は精子形成の全過程を大きく 2 分する画期的な時期であり, 精上皮の 1 cycle に含まれる全 stage 数 8 を 2 等分した値 4 にも偶然一致する。このような考え方に立って, stage 4 と累積和との関係を調べてみると, 牛・綿羊・家兎においては, いずれも stage 4 よりも前の時期において累積和が 50%以上に達し, 他のグループでは stage 4 以後に 50%以上の値が示されている (第3表, 第3図, 第4図)。このような関係は先に示した各方程式の回帰係数——1 次式であるから, この場合は tangent——の大きさとも良く照応する。すなわち, 牛・綿羊・家兎について得られた回帰係数は, 他の動物について得られたそれに比べていずれも小である。このことは, 回帰方程式が 1 次式

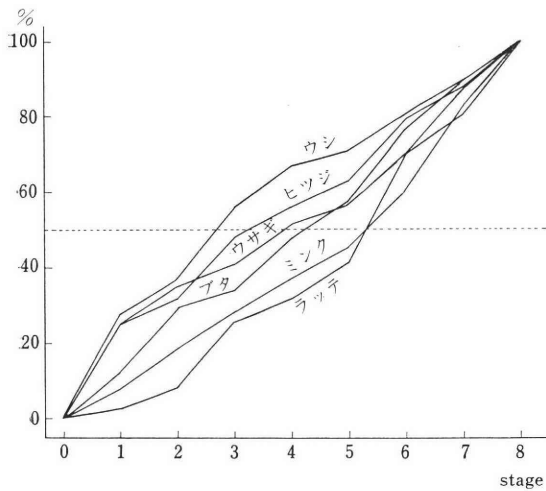
第 2 表 stage の発現頻度 (%) に関する諸家の成績

		C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈	stage の 観察総数
牛 (Hochereau)	B ₁₁	28.25	9.86	17.26	10.98	4.48	9.64	8.52	10.96	446
	B ₁₂	27.25	8.85	19.96	13.71	3.12	8.15	9.02	10.24	576
	B ₁₃	25.90	8.40	21.36	9.34	4.31	9.09	8.86	12.50	252
	B ₁₄	28.90	9.52	17.46	10.71	3.96	10.71	8.73	9.92	450
	平均	27.59	9.15	19.01	11.23	3.96	9.39	8.78	10.91	
緬 羊 (Ortavant ⁶⁹)	B ₂₁	25.0	8.8	15.6	8.1	8.1	14.0	8.1	12.3	372
	B ₂₂	21.4	6.3	14.6	8.5	7.0	20.3	9.2	12.6	412
	B ₂₃	25.2	6.2	17.1	7.8	6.9	16.4	7.0	13.4	554
	B ₂₄	28.9	5.8	16.8	8.5	5.8	14.8	8.3	11.1	433
	B ₂₅	26.5	5.8	16.6	8.3	5.2	17.8	8.1	11.7	445
平均	25.4	6.6	16.2	8.2	6.6	16.7	8.1	12.2		
家 兎 (Swierstra 等)	B ₃₁	25.8	12.5	5.8	10.0	5.8	11.7	15.0	13.3	120
	B ₃₂	25.8	9.2	1.7	10.0	5.8	11.7	19.2	16.7	120
	B ₃₃	22.5	6.7	5.0	13.3	5.8	15.8	16.7	14.2	120
	B ₃₄	25.0	12.5	5.0	9.2	3.3	14.2	18.2	12.2	120
	平均	24.8	10.2	5.9	10.6	5.2	13.4	17.3	14.2	
豚 (Ortavant ⁷⁰)	B ₄₁	9.5	14.0	3.0	14.7	10.0	17.7	14.5	16.0	不明
	B ₄₂	11.7	19.5	1.3	12.8	11.3	16.4	9.1	11.3	"
	B ₄₃	17.2	21.5	5.1	10.5	5.1	23.0	12.0	5.1	"
	B ₄₄	10.0	13.8	6.8	16.5	9.5	19.1	10.6	4.9	"
	B ₄₅	15.5	15.0	6.5	14.6	12.8	18.9	16.9	10.2	"
平均	12.8	16.8	4.5	13.8	9.7	19.0	12.6	9.5		
ミンク (Tiba 等)	B ₅₁	4.0	11.5	13.5	11.0	6.0	18.0	22.0	14.0	200
	B ₅₂	6.0	12.0	6.5	7.5	8.0	19.5	22.5	18.0	200
	B ₅₃	8.5	13.5	11.0	7.5	7.0	15.0	22.5	15.0	200
	B ₅₄	8.5	8.0	11.0	9.5	11.5	10.0	20.5	21.0	200
	B ₅₅	8.0	10.5	6.0	12.5	5.5	17.0	26.0	15.0	200
	B ₅₆	13.0	8.0	10.5	4.5	10.5	13.5	21.0	19.0	200
平均	8.0	10.5	9.8	8.8	8.1	15.5	22.3	17.0		
ラ ッ テ (Hochereau)	B ₆₁	2.22	6.66	15.55	6.22	9.55	29.33	11.55	18.88	450
	B ₆₂	1.74	5.24	17.17	6.40	9.89	30.42	10.62	18.48	687
	B ₆₃	2.05	5.49	19.45	5.37	8.23	24.37	10.64	24.37	874
	B ₆₄	3.86	6.15	17.45	5.72	10.58	29.04	10.72	16.45	699
	平均	2.46	5.88	17.40	5.92	9.56	28.29	10.88	19.54	

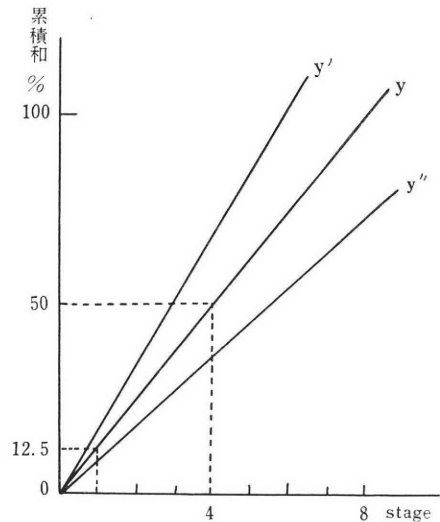
N.B. B : 個体 C : stage 以下すべてこれに従う

第 3 表 stage 別平均発現頻度の累積和

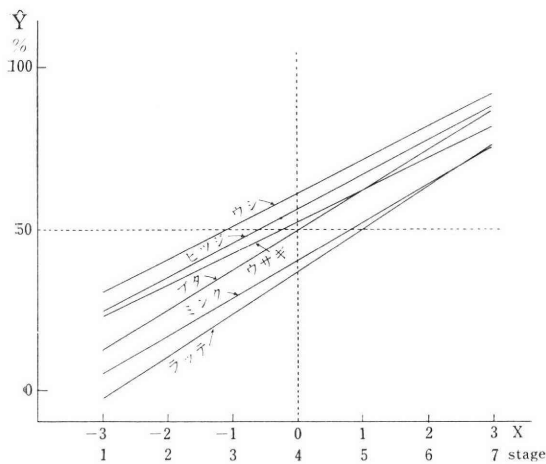
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈
牛	27.6	36.8	55.8	67.0	71.0	80.4	89.2	100.1
緬 羊	25.4	32.0	48.2	56.4	63.0	79.7	87.8	100.0
家 兎	24.8	35.0	40.9	51.5	56.7	70.0	87.3	101.5
豚	12.8	29.5	34.1	47.9	57.6	76.7	89.3	98.8
ミンク	8.0	18.5	28.3	37.1	45.2	60.7	83.0	100.0
ラ ッ テ	2.5	8.4	25.8	31.7	41.3	69.6	80.5	100.0



第3図 stage 別平均発現頻度の累積和



第5図 stage の発現頻度の累積和
—仮説的な解析の試み—



第4図 stage 別平均発現頻度の累積和の帰帰直線

で表わされることに因るもので、当然とも言える。

IV. 考 察

stage 別平均発現頻度の累積和の分布は1次式によって表わし得る、という事実に立脚して、著者等は次のような仮説を構えてみた。

第5図に示したように、stage 0 を通り stage 8 において累積和 100% に達する直線 y を仮定した場合、この直線は stage 4 において累積和 50% を示し、その tangent は $100/8=12.5$ である。それ故、stage 1 における発現頻度は当然 12.5% である。今、stage 4 よりも前の時期に累積和 50% 以上に達するような他の直線 y' を仮定すると、stage 1 における累積和は当然 12.5% 以上に達する。これとは逆に、stage 4 以後に累積和 50% 以上を示す他の直線 y'' を仮定した場合、stage 1 における値は 12.5% 以

下である。すなわち、stage 1 の発現頻度が 12.5% よりも大であるか小であるかによって、累積和が 50% に達する stage 4 よりも前であるが、後であるかが決定されることになる。

この仮説に従って、本報告において扱われた各動物における観測値および帰帰直線を調べた場合、牛・綿羊・家兎における stage 1 の発現頻度はすべて 12.5% 以上であり、他方豚を除く他のグループにおけるそれは 12.5% 以下である。この仮説に反する唯一の例外は豚であるが、これとてもその観測値は 12.5 に極めて近い。従って、著者等の仮説の妥当性は、本報告において扱われた動物に関する限り、ほぼ立証されたと判断して良いのではあるまいか？

それでは一体、このような動物の種による相違は、生物学的に見た場合、何によって惹起されたと判断すべきなのか？ 著者等が知る限り、stage の発現頻度を累積和という形で把握した後、解析を試みた報告は他に無いようである。従って、本報告において述べられた実験的事実そのものの信頼性の判断も、またその生物学的な解釈も、共に今後の研究の進展にまたなければなるまい。それにしても次の事実は、問題の生物学的理解を進める上で少なからず示唆的なものを含んでいると思われるので紹介したい。それは Ortavant⁵⁾ が牛・綿羊・豚・ラットについて行なった報告である。彼はこれらの動物における stage の発現頻度について、stage 1~3 および stage 5~8 のそれぞれの和を求めた。結果は、牛・綿羊においては stage 5~8 の和が、それぞれ 26.2% および 38.4%、他方豚・ラットにおいてはそれぞれ 56.7% お

よび72.2%であった。この事実に関する彼の見解はほぼ次の通りである。「射精液中の精子が受精能力を保持し得る時間は、stage 5～8の和とは逆の関係に置かれているのは興味深い。何故ならば、受精能力を保ち得る時間の長さは、牛・緬羊・豚の順に小さくなるからである」

Ortavant の見解と良く符節を合すると思われる、Parkes の記述もまた非常に示唆に富んでいよう。彼は精子が雌性性器内で生存し得る時間を各種動物について報じた後、ほぼ次のように記している。「雌性性器内の生存時間の短い動物程、射精前精巢上体において生存し得る時間は長く、両者の間には著しい対照が見られる」と。

これらの極めて示唆的な記載を足がかりにして、更に大胆な臆測を進めるとすれば、次のようなことは全くあり得ぬことであろうか？

精子発生に始まり、精子完成、精巢上体における成熟、射精、雌性性器内での受精能獲得等の諸段階を経て受精に至る全過程の時間の長さは、各種動物にほぼ共通で一定している。であるとすれば、ある特定の段階の継続時間が特に長い場合、他の諸段階の継続時間は短縮されることになる。

しかし、この場合「……の時間の長さは、各種動物にほぼ共通で一定している」という仮説的前提は、あまりにも仮説的に過ぎるとするならば、次のように考えてみてはどうか？「……の時間的長さが互いにはほぼ等しい各種動物においては」と発想するならば、上記の各段階の時間的長さは当然相補的な関係に置かれることを理解するのは容易である。

ともあれ、余りに臆説に走ることは慎まなければならないが、cycle における stage の発現頻度という概念の持つ奥行きには、意外に深いものがあるのではあるまいか？

尚、参考迄に人における cycle について付け加えたい。

人の精巢組織標本を観察した場合、同一精細管横断面上に、互いに異なる2以上の stages が混在して認められることが非常に多い。従って、1精細管横断面がほぼそのまま1 stage に対応し得る他の動物とは異って、人における cycle の分類は決して容易でない。近年に至ってようやく、人の cycle を分類し得たとする報告が見られるが¹⁾、それによれば1 cycle を構成する stage の数は6である。しかも、この分類に基づいて行なわれた stage の発現頻度の算出法も、他の動物の場合とは大いに異っている。このような理由から、人と他の動物について stage の発現頻度を比較することは非常に困難にならざるを得ない。従って、比較を可能にする為の合理的な手続きを見出すことが先ず必要であろう。又、人と他の動

物におけるこのような相違が何によってもたらされるか、という問題についても、客観的事実に立脚した信頼し得る見解は未だ無いようである。

本論文の要旨は第11回日本不妊学会北海道地方会において発表した。

文 献

- 1) Clermont, Y. : Amer. J. Anat., 112 : 35 (1963).
- 2) Hochereau, M.-T. : Etude comparée de la vague spermatogénétique chez le taureau et chez le rat, 15, Mémoire présenté à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris (1962).
- 3) Leblond, C. P. & Clermont, Y. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 55 : 548 (1952).
- 4) Ortavant, R. : "Spermatogenesis and morphology of spermatozoon" Reproduction in domestic animals, II, 17, Academic Press, New York (1959).
- 5) Ortavant, R. : Ibid., II, 9 (1959).
- 6) Ortavant, R. : Le cycle spermatogénétique chez le bélier, Thèse, 39, Paris
- 7) Ortavant, R. : "Spermatogenesis and morphology of spermatozoon" Reproduction in domestic animals, II, 9 (1959). およびこのデータに関する照会に対する私信 (1968).
- 8) Parkes, A. S. : "The biology of spermatozoa and artificial insemination" Marshall's physiology of reproduction, I, Part 2, 230, Longmans Green & Co Ltd., London (1960).
- 9) Swierstra, E. E. & Foote, R. H. : J. Reprod. Fertil., 5 : 314 (1963). およびこのデータに関する照会に対する私信 (1968).
- 10) Tiba, T., Ishikawa, T. & Murakami, A. : Jap. J. vet. Res., 16 : 79 (1968).

Vergleich des Samenepithelzyklus bei verschiedenen Tierarten

—Eine statistische Analyse über die Frequenz des Stadiums in dem Zyklus—

Tosiro TIBA und Tsune ISHIKAWA

Institut für Veterinäre Obstetrik der Tierärztlichen Fakultät der Hokkaido-Universität (Direktor: Prof. Dr. Tsune ISHIKAWA)

Auf Grund der Berichte von Voruntersuchern einschliesslich unserer eigenen Beobachtung beim Mink wurde ein Vergleich der Frequenz des Stadiums im Samenepithelzyklus bei 6 Arten von Tieren (Rind, Schaf, Kaninchen, Schwein, Mink und Ratte) angestellt.

In allen für diese vergleichende Untersuchung benutzten Berichten ist ein und dieselbe

Klassifikation angenommen, nach der der eine Zyklus in 8 Stadien eingeteilt wird.

Aus den in den Berichten dargelegten Frequenzwerten (%) bei den einzelnen Individuen einer jeden Tierart wurde eine durchschnittliche Frequenz für ein jedes Stadium genommen, d. i. also 8 verschiedene Durchschnitte für eine Spezies. Um die Unterschiede in der Verteilung dieser Durchschnittsfrequenzen zwischen den Spezies zu verdeutlichen, wurden folgende Analysen durchgeführt:

Zuerst wurden aus den obengenannten Durchschnitten die Anhäufungssummen der Frequenzen (d. h. die Summen der Frequenzen der vorangehenden Stadien in einem jeden Stadium) gerechnet, d. i. also resp. die Summe der Frequenzen der Stadien 1~2, 1~3, 1~4, ... und 1~8. Es wurde festgestellt, dass die Regressionslinie y (Anhäufungssumme der Durchschnittsfrequenz) in Bezug auf x (Stadium) bei allen Tieren immer in

linearer Gleichung ausgedrückt wird. Was den Regressionskoeffizient anbelangt, so ist das resp. 10,26 beim Rind, 10,62 beim Schaf, 9,76 beim Kaninchen, 12,41 beim Schwein, 11,65 beim Mink, und 13,28 bei der Ratte. Hierbei werden die Differenz der Koeffizienten zwischen Kaninchen und Schwein und diejenige zwischen Kaninchen und Ratte resp. mit $P < 0,05$ als signifikant erkannt, aber bei allen anderen Fällen werden keine solchen Unterschiede gezeigt. Die Koeffizienten sind also bei den ersten 3 Spezies immer kleiner als 10,62, dagegen bei den anderen immer grösser als 11,65. Wenn man aber ein Verhältnis zwischen der Anhäufungssumme und dem Stadium sucht, dann findet man die Tatsache, dass bei den ersten 3 Spezies die Anhäufungssummen in der ersten Hälfte des einen ganzen Zyklus, d. h. im Stadium 4, ausnahmslos mehr als 50% erreichen, aber diejenigen bei den letzten 3 Tierarten immer niedriger als 50% sind.

写 真 説 明

精細管横断面に観察される精上皮 cycle の各 stage (ミンク)

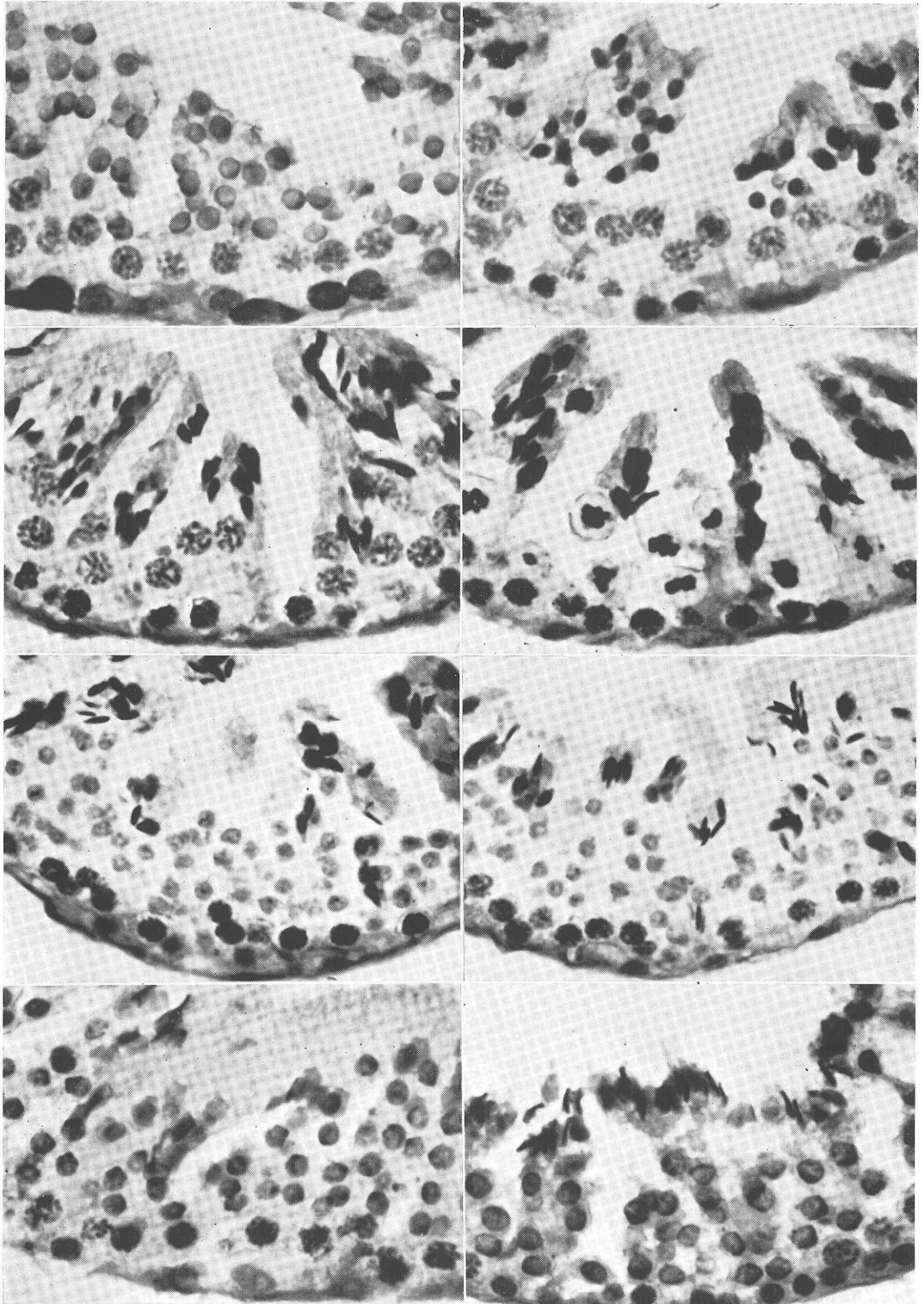
Thionine-PAS 染色

写真① stage 1

写真② stage 2

以下同様

千葉・石川 論文 付 図



睪丸, 前立腺, 血清酵素活性に対する Vitamin の影響

II Vitamin B₁₂ のラット睪丸, 前立腺, 血清 Lactic Dehydrogenase, Alkaline Phosphatase, Leucine Aminopeptidase, Total Acid Phosphatase 活性および Lactic Dehydrogenase Isoenzyme に対する影響

Effect of Vitamin on the Enzyme Level

II. Studies on the Alteration of Lactic Dehydrogenase (LDH), Alkaline Phosphatase (ALP), Leucine Aminopeptidase (LAP) and Total Acid Phosphatase (TAP) activity and LPH Isoenzymes in Serum, Prostate and Testis of Rats treated with Vitamin B₁₂

広島大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 仁平寛巳教授)

石部 知行 松本 暁 仁平 寛巳
Tomoyuki ISHIBE Gyo MATUMOTO Hiromi NIHIRA

Dept. of Urology, School of Medicine, Hiroshima Univ., Hiroshima, Japan
(Director: Prof. Hiromi Nihira)

70令 100g 前後の Wistar 系ラット75匹を用い, 睪丸, 前立腺および血清 LDH, LDH isoenzymes, ALP, LAP, TAP 活性に対する Vit. B₁₂ の影響を組織レベルで10週間にわたって経時的に検討した結果について報告した。

Vit. B₁₂ の大量投与を行なうと成長の抑制, 前立腺比体重の増大, 睪丸 LDH-M 分画の低下, H分画の増大, LAP, TAP 活性の増大などがみられた。睪丸 LDH 活性に対する Vit. B₁₂ の影響はなく, 血清, 前立腺の LDH, ALP, LAP, TAP 活性に対する影響も少なかった。

Vitamin (vit) B₁₂ は1948年 Rickes などによって肝臓から始めて結晶化されて以来, 内科領域において悪性貧血の治療に中心的役割を果たしてきた。さらにその生理学的, 生化学的特性が明らかになるとともに広く脊髄疾患, 筋疾患, 神経疾患に用いられるようになり, 泌尿器科領域でも不妊患者にたいして用いられ効果のあることが報告されるに至った。

核酸代謝に Vit. B₁₂ が関与することは Vilter, 中沢などにより報告されるところで, Vit. B₁₂ によって RNA, 蛋白の合成が促進されるとしている。このことは核酸代謝の盛んな睪丸でも強くこの代謝に関係した経路の存在が推定される。また核酸代謝に関与する ALP, TAP などの水解酵素系の変動も推定されるところである。著者は Wistar 系雄ラットに対し Vit. B₁₂ を投与し, 睪丸ならびに前立腺酵素活性に対する影響を前報につづいて組

織レベルで検討した結果を報告する。

実験法

発育にともなう影響をできるだけ少なくする目的で前報と同様生後70日の 100g 前後の Wistar 系雄ラット75匹を次の3群に分け, 10週間にわたって血清, 睪丸, 前立腺について検討した。

I. 対照群: 生塩水 0.2ml の皮下投与を行ったもの (25匹)

II. Vit. B₁₂ (フレミンS) 少量投与群: 10 γ のフレミンSを週3回隔日皮下に投与したもの (25匹)

III. Vit. B₁₂ 大量投与群: 60 γ のフレミンSを週3回隔日皮下に投与したもの (25匹)

飼育条件, 測定した酵素およびその測定法, 単位などは前報と同様である。

Table 1 Influence of Vit. B₁₂ upon weight of the body, testis & prostate

Treatment, wks.		2	4	6	8	10
Body weight g	Group I	109.8	130.1	154.3	190.0	223.4
	Group II	110.6	130.3	162.4	198.5	228.8
	Group III	118.4	128.4	147.5	159.4	193.6
Testis ×10mg/g BW	Group I	1.02	1.05	0.97	1.04	1.07
	Group II	0.95	1.02	0.95	0.98	0.93
	Group III	1.08	1.00	1.00	1.11	0.99
Prostate mg/g BW	Group I	1.15	1.09	1.03	1.04	1.05
	Group II	1.21	1.34	1.33	1.32	1.34
	Group III	1.07	1.15	1.25	1.28	1.38

Table 3 Influence of Vit. B₁₂ upon LDH-M fraction

Treatment, wks.		2	4	6	8	10
Testis %	Group I	10.1	9.9	11.0	11.3	12.0
	Group II	9.4	10.2	10.5	10.5	8.3
	Group III	9.1	11.9	11.2	12.5	8.8
Prostate %	Group I	75.8	75.2	70.0	70.2	66.8
	Group II	75.0	74.5	75.5	68.0	67.8
	Group III	73.8	76.5	68.0	67.0	72.0
Serum %	Group I	83.5	84.4	81.5	80.5	81.0
	Group II	84.8	86.5	82.0	83.8	84.2
	Group III	84.5	85.5	83.0	79.2	78.2

Table 5 Influence of Vit. B₁₂ upon ALP activity

Treatment, wks.		2	4	6	8	10
Testis ×10 ³ KAU	Group I	1.10	1.06	0.71	0.75	0.70
	Group II	1.38	0.82	0.57	0.60	0.54
	Group III	1.49	1.58	0.82	0.88	0.58
Prostate ×10 ³ KAU	Group I	1.07	1.23	0.66	0.57	0.64
	Group II	0.98	0.80	0.57	0.73	0.68
	Group III	1.19	1.13	0.63	0.70	0.54
Serum ×10KAU	Group I	3.62	3.21	2.50	1.45	1.80
	Group II	2.75	2.38	2.65	2.05	2.50
	Group III	2.50	2.20	1.65	1.78	2.25

実験成績

I. 重量変化

体重は Vit. B₁₂ の少量投与によっては対照と同様の変化を示したが、大量投与群では体重の増加が抑制された。睾丸重量に対する影響は明らかではないが、前立腺は Vit. B₁₂ の投与により大量、少量を問わずその比重量

Table 2 Influence of Vit. B₁₂ upon LDH activity

Treatment, wks.		2	4	6	8	10
Testis ×10 ⁵ WU	Group I	2.13	3.95	3.15	4.75	3.42
	Group II	1.98	4.47	3.82	2.98	3.66
	Group III	3.00	5.13	5.55	3.60	2.52
Prostate ×10 ⁵ WU	Group I	1.26	1.30	1.10	1.48	1.53
	Group II	1.14	0.95	1.17	2.11	2.26
	Group III	1.62	1.85	1.56	2.26	1.33
Serum ×10 ² WU	Group I	5.58	4.79	4.58	4.50	4.20
	Group II	6.00	6.35	6.88	5.75	5.00
	Group III	7.20	5.10	6.00	5.50	4.75

Table 4 Influence of Vit. B₁₂ upon LDH-H fraction

Treatment, wks.		2	4	6	8	10
Testis %	Group I	77.9	79.6	79.9	79.8	79.3
	Group II	79.3	80.4	80.6	79.0	82.2
	Group III	84.7	76.7	77.5	78.0	82.8
Prostate %	Group I	6.0	6.1	7.2	10.0	8.9
	Group II	6.3	6.7	5.7	7.4	8.5
	Group III	5.5	8.7	6.9	6.0	7.5
Serum %	Group I	6.0	3.5	4.2	7.5	7.0
	Group II	5.5	4.5	3.5	3.5	4.2
	Group III	4.8	5.8	7.0	6.0	5.2

Table 6 Influence of Vit. B₁₂ upon LAP activity

Treatment, wks.		2	4	6	8	10
Testis ×10 ⁶ GRU	Group I	3.45	2.18	2.80	2.35	1.53
	Group II	2.87	2.92	2.40	2.53	1.65
	Group III	2.37	3.48	3.81	2.39	2.37
Prostate ×10 ⁶ GRU	Group I	1.66	2.20	1.68	1.60	1.38
	Group II	2.18	1.78	1.30	1.82	1.14
	Group III	2.38	1.58	1.42	1.55	1.78
Serum ×10 ² GRU	Group I	3.24	3.00	3.60	4.05	4.18
	Group II	4.20	3.48	4.50	2.76	4.26
	Group III	3.90	2.55	3.24	3.30	3.42

を増加させた。

II. LDH 活性に対する影響

睾丸ではバラツキは大きい。Vit. B₁₂ 少量投与群では対照と同様加齢にともなって活性が増加したのに対し、大量投与群では 4 ~ 6 週間で増加したが結局 10 週目には減少し、対照より低い活性を示すに至った。前立腺に対する作用は Vit. B₁₂ の少量はその活性を増大させるもの

Table 7 Influence of Vit. B₁₂ upon TAP activity

Treatment, wks.		2	4	6	8	10
Testis × 10 ³ KAU	Group I	0.70	0.95	0.93	0.97	0.89
	Group II	0.84	1.10	0.90	0.85	1.05
	Group III	0.99	1.17	1.26	1.54	1.55
Prostate × 10 ² KAU	Group I	2.25	2.75	2.75	2.85	2.70
	Group II	1.65	2.10	2.20	2.70	2.50
	Group III	1.35	1.50	1.55	1.70	1.50
Serum × 10 KAU	Group I	1.70	2.09	1.95	1.50	1.45
	Group II	1.77	2.25	1.85	1.90	2.28
	Group III	1.90	1.85	2.02	2.08	1.80

のごとく, 大量は初め高い活性を示したが結局睾丸と同様減少し, 対照より低い活性を示すにいたった. 血清では Vit. B₁₂ の投与によってその初期には対照より高い活性を示すものが多いが, 実験終了時には対照と同様の値に下った.

III. LDH-M 分画に対する影響

睾丸 LDH-M 分画に対する Vit. B₁₂ の影響をみると, その量と関係なくいずれも対照より低い割合を示した. 前立腺および血清では対照を含めいずれも実験期間の延長とともにその割合が減少した.

IV. LDH-H 分画に対する影響

睾丸の場合対照は加令にともないややその占める割合の増加をきたしたが, Vit. B₁₂ 投与による影響はみられなかった. 血清の LDH-H に対する Vit. B₁₂ の影響は明らかでないが, 前立腺ではその占める割合の減少を示すものが多かった.

V. ALP 活性

睾丸はいずれの実験群でも実験期間の延長にともないその活性が低下したが, Vit. B₁₂ 投与群において活性の低下がやや著明であった. しかし大量投与群ではその初期に一時高い活性を示した. いずれの実験群でもその経過にともない前立腺および血清では活性が低下し, Vit. B₁₂ 投与による影響は明らかではない.

IV. LAP

睾丸では大量の Vit. B₁₂ 投与により高い活性を示すものが多かったが, 少量投与群は対照と同様の態度を示し加令に伴って活性が低下した. 前立腺では対照と同様 Vit. B₁₂ 投与によって活性の低下がみられた. これに対し血清では Vit. B₁₂ 大量投与による活性変動は明らかではなかった.

VII. TAP

Vit. B₁₂ の大量投与によって睾丸 TAP 活性は増加し

たが, 少量投与群では対照と同様の態度を示した. 血清でも Vit. B₁₂ の大量投与例でその活性が低下するものが多く, 前立腺は Vit. B₁₂ 少量投与によってその活性が増大したが, 大量投与による場合その影響が減少した.

考 按

Vit. B₁₂ の内分泌臓器に対する作用について梅村は Vit. B₁₂ 欠乏によって睾丸重量の減少と成熟精子の減少がみられることを明らかにし, 氷田は Vit. B₁₂ 投与により精細管上皮細胞の分化が促進されることを明らかにした. 睾丸内組織代謝についての研究は Schuler, 鈴木, 白井, 永田などの報告をみる. 鈴木は性器の成熟に達する時期に睾丸組織の呼吸および好気性解糖が最大になるとし, 永田は Vit. B₁₂ 投与により睾丸の QO₂, QCO₂ が増加することを明らかにし, TCA cycle の活性度増加を示すものであるとしている.

Vit. B₁₂ の体重に対する影響を中沢は兎で検討し, 対照との間に差がみられないとした. Vit. B₁₂ 欠乏に伴う体重, 睾丸, 内分泌臓器重量など検討した梅林によると, 体重は一般に増加が抑制され皮下脂肪の発育も不良であったが, 睾丸では軽度の減少をみるのみで内分泌臓器には肉眼的異常を認めないとした. しかし核酸代謝の盛んな臓器である睾丸では Vit. B₁₂ 欠乏によって代謝障害が起ることが推定される. 著者の場合体重, 睾丸重量, 前立腺重量のいずれに対しても少量の Vit. B₁₂ はこれを増加させるものごとくであるが, 大量では逆に低下するものもあり, 一定した成績を示さなかったが, これは大量投与が toxic に作用することを示すものであろう.

永田は Vit. B₁₂ の睾丸組織呼吸への影響を検討し, その代謝パターンにおいて QO₂ の著明な増加をみたが RQ は 0.611 と大体正常値を示し, 同時に SDH の増加に比し, LDH 活性の増加が大であることを明らかにした. LDH は解糖に関与しているもので歳森, 永田などは睾丸造精能と LDH 活性との間に密接な関係のあることを報告したのに対し, 白井は直接の関係なしとした. 著者の成績では少量投与の場合対照と同様成熟に伴って睾丸内 LDH 活性の増加がみられたのに対し, 大量投与例では結局活性が低下したことは投与量によって睾丸, 前立腺の代謝系に対する影響の異なることを示すものであろう.

TCA cycle での焦性ブドウ酸量に対し, LDH はその isozymes pattern を変えることにより適応することが知られている. 著者の場合 Vit. B₁₂ 投与によって睾丸では H 型の増と M 型の減少がみられることは Vit. B₁₂ 投与によって臨床効果の確認されていることから興味あ

る成績で、著者の不妊症患者精液 LDH 活性で得られた成績、すなわち無精子症で LDH 活性の低下とともに LDH-H の減少があるとする成績と一致する。

ALP は水解酵素のひとつで Wislocki によると発情期にあっては性細胞中でこれが増加するといわれ、これは磷ないし核酸代謝に関係するものであるとした。他方吉村は下垂体摘出時の睾丸 ALP 活性を測定し、造精能との間に関係がないとした。また前立腺内 ALP について三浦は組織エネルギー代謝に関係するとした。著者の場合 Vit. B₁₂ 投与により活性の低下がみられたが、Vit. B₁₂ 欠乏によって精子形成が抑制されるとする成績からみれば Wislocki の成績に近いと思われる。

LAP は臨床上腺疾患ないし悪性腫瘍の診断に用いられているが、睾丸での検討はすくない。精液でのわれわれの検討によると LDH とは逆に LAP は機能不良例で高い活性を示しているの、Vit. B₁₂ 投与によって活性の低下が認められたことは前述の LDH 活性の増加に伴う LDH-H 増加の所見からみて性腺に対し有利に働いたものと考えられる。

TAP は前立腺内に多く含まれ、Huggins などの検討以来去勢ないし女性ホルモンによってその活性の変動することもよく知られている。翠川は女性ホルモンによって増大するというが、他方竹村、吉村などは女性ホルモン、去勢による影響は少ないとした。また三浦は前立腺で検討し、上皮の機能と関係すると述べている。福重は睾丸機能と拮抗するとされる胸腺剤の投与によって前立腺重量は減少し、組織化学的に睾丸の acid phosphatase 活性の低下が起ることを認めた。以上の研究結果を考慮すると今回の成績は睾丸では Vit. B₁₂ の投与により活性増加をきたすのに対して、前立腺では逆に減少するものがあることは、性腺、副性腺に対する影響がなお一定していないと言えよう。

以上のごとく Vit. B₁₂ 投与によって睾丸、前立腺の組織代謝に変化の起ることが推定されるが、その機序については明らかではない。性腺、副性腺の機能は他の内分泌臓器からの支配を受けているもので、またそれぞれが feed back 機構の影響下にある。今回の成績はこれら相互に対する影響を一応無視して検討した結果であるが、今後は各種内分泌臓器の変化を追究してより広い面からの検討が必要と考える。

結 語

70日令 100g 前後のウィスター系ラット 75 匹を対照(生塩水のみ)、Vit. B₁₂ 10 γ 週 3 回、Vit. B₁₂ 50 γ 週 3 回皮下投与の 3 群に分ち、10 週間にわたって血清、睾丸、前立腺の LDH, LDH isozymes, ALP, LAP, TAP

活性に対する Vit. B₁₂ の影響を組織レベルで検討し次の成績を得た。

I. 体重は Vit. B₁₂ の大量投与により発育が抑制され、前立腺ではその比体重の増大をきたしたが、睾丸比体重に対する影響はみられなかった。

II. 血清、睾丸、前立腺のいずれにおいても、Vit. B₁₂ 投与による LDH 活性の一定した変動を認めなかった。

III. 睾丸の LDH-M は Vit. B₁₂ 投与によりやや低い割合を示したが、血清、前立腺においては一定の影響はみられなかった。

IV. 睾丸の LDH-H は Vit. B₁₂ 投与によりその占める割合が増加したが、血清、前立腺では Vit. B₁₂ の影響はみられなかった。

V. 睾丸の ALP は Vit. B₁₂ 投与により減少するものが多かったが、血清、前立腺では Vit. B₁₂ の影響はみられなかった。

VI. 血清 LAP は Vit. B₁₂ 投与により活性が低下し大量の Vit. B₁₂ 投与により睾丸 LAP 活性が一時的に高い値を示した。

VII. 大量の Vit. B₁₂ 投与により血清および睾丸の TAP 活性は増加を示したのに対して前立腺の TAP 活性は低下を認めた。

文 献

- 1) 福重満：泌尿紀要，11：1063 (1965)。
- 2) Huggins, C., Stevens, A. R. and Hodges, C. V. : J. Urol., 46 : 997 (1941)。
- 3) 翠川修，服巻勝也，宮脇英夫：日病会誌，41 : 268 (1952)。
- 4) 三浦武彦：泌尿紀要，3 : 30, 247, 429 (1957)。
- 5) 永田正夫，水間圭祐：診と薬，4 : 455 (1967)。
- 6) 中沢恒幸，山内惟光，壁島彬郎，小宮英靖，猪股丈二，斉藤正道：診療，20 : 647 (1967)。
- 7) Rickes, E. L., Brink, N. G., Koniuszy, F. R., Wood, T. R. and Folkers, K. : Science, 107 : 396 (1948)。
- 8) 白井将文：日泌尿会誌，55 : 821 (1964)。
- 9) Schuler, von W. : Helv. Physiol. Acta, 1 : 105 (1943)。
- 10) 鈴木善祐：医学と生物学，17 : 98 (1950)。
- 11) 竹村久康：大阪大学医誌，9 : 1077 (1957)。
- 12) 歳森康夫，鈴木善祐：医学と生物学，33 : 289, (1954)。
- 13) 梅村泰一：ビタミン，31 : 26 (1965)。
- 14) Vilter, R. W., Horringan, D., Mueller, J. F., Jarrold, T., Vilter, C. F., Hawkins, V. and Seaman, A. : Blood, 5 : 695 (1950)。
- 15) Wislocki, G. B. : Endocrinology, 44 : 167 (1947)。
- 16) 吉村浩輔：大阪大学医誌，11 : 2449 (1959)。

Effect of Vitamin on the Enzyme Level

II. Studies on the alteration of lactic dehydrogenase(LDH), alkaline phosphatase (ALP), leucine aminopeptidase (LAP) and total acid phosphatase (TAP) activity and LDH isoenzymes in serum, prostate and testis of rats treated with vitamin B₁₂.

**Tomoyuki Ishibe, Gyo Matumoto and
Hiromi Nihira**

Department of Urology, Hiroshima University
School of Medicine
(Director: Prof. H. Nihira)

Seventy-five Wistar strain male rats, 70 days old and weighing 100 g or so, were divided into 3 groups; control fed on saline only and 2 others receiving 10 and 50 gamma of vitamin B₁₂, respectively, subcutaneously three times a week. Studies were made on these groups of animals at a tissue level for the effects of vitamin B₁₂ on the activity of LDH, ALP, LAP and TAP and LDH isoenzymes in the serum and tissue homogenate

of the prostate and testis at 2 week intervals over a 10 week period. The results obtained are summarized as follows.

1. The body weight gain was inhibited by the administration of large amount of vitamin B₁₂. The ratio of the weight of the prostate to body weight was increased on the vitamin B₁₂, but no definite change was found in that of the testis to body weight.

2. The LDH activity of the serum, prostate and testis were shown no definite changes by the administration vitamin B₁₂.

3. LDH-M fraction in the testis reduced and LDH-H fraction increased on the vitamin B₁₂ administration. The medication of vitamin B₁₂ had little influence on both the LDH-M and LDH-H fraction in the prostate and serum.

4. With vitamin B₁₂ the ALP activity in the testis was decrease in many instances, but was slightly affected in the prostate and serum.

5. With vitamin B₁₂ medication, the serum LAP activity was found decreased, and with the large dose testicular LAP activity was increased transiently.

6. With a large dose of vitamin B₁₂ TAP activity was increased in the serum and testis, but decreased in the prostate.

HCG (LH) の One Day Radioimmunoassay

One day Radioimmunoassay of HCG (LH)

群馬大学医学部産婦人科教室 (主任: 松本清一教授)

津久井 芳二 玉田 太朗
Yoshiji TSUKUI Taro TAMADA

Dept. of Obst & Gynec., School of Med., Gunma Univ., Maebashi, Japan
(Director: Prof. Seichi Matsumoto)

HCG あるいは LH の Radioimmunoassay の操作を簡便化し、時間を短縮する目的で、Disc Solid Phase 法の検討を行なった。Disc の抗血清による感作は、室温で16時間放置するだけでよい。検体あるいは標準品と感作 Disc の Incubation は、37°C、6~12時間で、さらに Tracer を加えた後の Incubation は37°C、12時間で最良の精度と感度(4mIU/ml)の標準曲線が得られたが、感度をやや犠牲にすれば(10mIU/ml 程度)、第一および第二 Incubation とともに3時間、すなわち合計6時間で、正常月経周期の尿中 LH の変動を追跡できるという、きわめて迅速な方法として用いることができる。標準品の溶媒として小児尿を用いると、0.1%結晶牛アルブミン緩衝液を用いた場合に比べ、slope 及び感度にかかなりの差を認めた。正常周期婦人尿中 LH の連日測定により、最終低温日前日に1つのピークを認めた。

緒 言

Radioimmunoassay では、抗原と抗血清を Incubation して出来る抗原抗体複合物が可溶性である為、これを分離する必要がある。この目的の為に Double antibody precipitation¹⁾、Antibody coupling to Sephadex²⁾、Coated-charcoal method³⁾、Alcohol precipitation⁴⁾、Chromatoelectrophoresis⁵⁾、Dioxane method⁶⁾ 等の方法が発表されている。特に最近ではその操作の簡易化、時間短縮および再現性の改良に工夫が行なわれ、より正確、かつ簡便な方法が生れつつある。Catt らは polystyrene を用いる所謂、disc solid-phase procedure (Disc 法)を開発し、1967年に成長ホルモン⁷⁾の、1968年には LH(Luteining Hormone)⁸⁾の Radioimmunoassay に応用した。私共はこの材料を入手する事が出来、色々の基礎的検討を行い、その結果、従来の方法に比べ多くの優れた点を認めたので報告する。

材料と方法

Catt が開発した Disc (図1) は直径1.27 cm、厚さ0.25 mm の Poly (tetrafluoro-ethylene-g-isothiocyanato-styrene) の円板として市販されている。抗 HCG 血



図1 Discs

清は HCG (primogonyl) を complete Freund's adjuvant とともに、家兎に反復注射して作製し、HCG 感作血球凝集反応に依る抗体価に1:25,000 のものを得、特に吸収は行なわず使用した。

¹³¹I (Isoserve) に依る HCG の標識は Greenwood, Hunter 及び Glouer の方法⁹⁾を改変して行なった。まず 2mc の ¹³¹I および、5 μg (20 μl) の HCG を小試験管(1cm × 5 cm)の底部で混合し、これに chloramin-T 60 μg (15 μl) を加え、室温にて正確に2分間、激しく振盪する。その後 Sodium Metabisulfite 240 μg (100 μl)

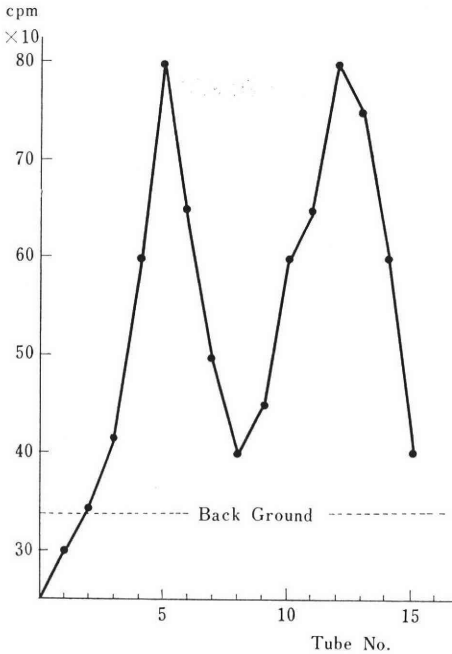


図 2 Separation of ¹³¹I-HCG from free ¹³¹I by Sephadex G-100

表 1 Isotope-labelling に用いる試薬の作製法及び使用量

原 物 質	濃 度 ¹⁾	使 用 量
¹³¹ I (Isoserve)	5mC/125 μ l	50 μ l (2mC)
HCG (5677iu/mg) ²⁾	0.4g/100ml	15 μ l (60 μ g)
Chloramin-T	25mg/100ml	20 μ l (5 μ g)
Sodium Metabisulfate	0.24g/100ml	100 μ l (240 μ g)
KI	1.0g/100ml	400 μ l (4mg)

注) 1) 溶媒は pH 7.4, 0.05M リン酸緩衝生理的食塩水を用いた。

2) 松島博士(帝国臓器)の御好意による。

および KI 4mg (400 μ l)を加え、反応を停止させる。この混合液を、Sephadex G-100のカラム (1cm×15cm)を通じ、1 ml ずつ分画採取した。その結果、¹³¹I-HCG と遊離 ¹³¹I の分離が得られたが、その一例を図 2 に示した。Chromatography に先立ち、Sephadex column は 0.5%結晶中血清アルブミン (BSA) 1 ml を通じ、pH 7.4リン酸緩衝液 (PBS) で洗滌した。また分注する試験管には 0.5% BSA-PBS をあらかじめ 1 ml ずつ入れておいた。このようにして得られた ¹³¹I-HCG の specific activity は、およそ 200 μ ci/ μ g であった。isotope labelling に用いる試薬の作製法および使用量を表 1 に示した。

抗血清による Disc の感作：抗血清の稀釈には、0.05

M, pH 9.6の炭酸緩衝液を用い、1:500, 1:1000, および 1:2000の稀釈を用い、温度、振盪の有無、時間などについて検討した。

反応様式：Disc 法の第 1 インクベーションは検体または標準品と Disc で、第 2 インクベーションはそれに Tracer を加えたものとなる。おのおのの量は以下の通りである。尿またはその稀釈したもの (溶媒として 0.1% BSA-PBS を用いる) : 0.5ml+0.5% BSA-PBS, 0.5 ml+Disc 1 枚 (以上第 1 インクベーション) + ¹³¹I-HCG 0.25ml (約 10万 cpm)

第 1 インクベーション時間の検討：第 1 インクベーションを一定時間 (24時間) にして、6 時間、12時間、24 時間と時間を変えて行なった。

第 2 インクベーション時間の検討：第 1 インクベーションを一定の時間 (24時間) にし、6 時間、12時間、24 時間と変えて行なった。

1st および 2nd-Incubation 時間の同時検討：3 時間-3 時間、6 時間-3 時間、6 時間-6 時間の短時間について行なった。

標準 HCG 用量反応曲線に対する尿の影響：標準 HCG を 0.1% BSA-PBS に溶解したものと、小児尿に溶解した場合について比較検討した。

バラツキについての検討：Blanc control 10個の測定および 28個の検体について行なった。

臨床応用：Disc 法を利用して、正常周期婦人 1 例について尿中 LH を連日測定した。

結 果

Disc を抗血清で Coating する際の条件を検討した結果は表 2 に示した。いろいろの温度、振盪の有無等、条

表 2 Disc Coating Time=16 Hours

INC. Time (HRS)	3	6	12	24
4° C	29.0%*	31.8	39.0	42.7
RT	29.1** (69.1)	36.5 (86.7)	39.7 (94.3)	42.1 (100)
RT+Shaking	29.9	35.1	34.8	40.7
30° C	27.9	37.5	35.8	41.2
37° C	28.6	41.1	41.0	41.0
Mean	28.9	35.6	38.1	41.5

$$* \% = \frac{B}{B+F}$$

** 24 時間 Incubation の B/B+F を 100 とした各時間のパーセント

件を変えて 16 時間 Coating した Disc を 3 時間、6 時間、12 時間および 24 時間、Tracer と Incubate した時の結合放射能の全放射能に対する比率を % で示した。こ

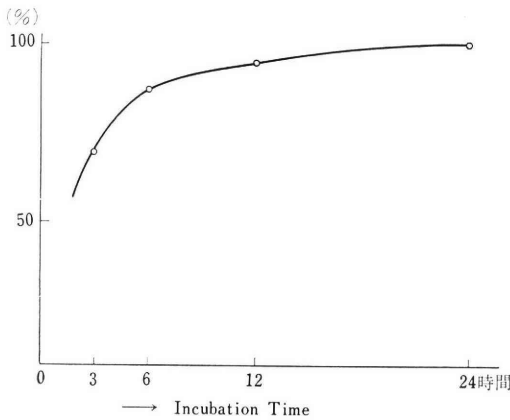


図 3 感作 Disc の ¹³¹I-HCG 吸着能

の結果、抗血清は pH 9.5 の 0.05M 炭酸緩衝液で 1 : 1000 に稀釈し、Disc の数は、この抗血清 100ml 当り 50 枚迄、温度は室温、Catt 5 のように、振盪の必要無くして一定の感作 Disc が得られた。又、以後私共が用いた室温で Coating した Disc の ¹³¹I-HCG 吸着能を 24 時間 Incubation を 100 とすると表にみられるように 12 時間で 94.3%、6 時間で 86.7%、3 時間で 69.1% となり、この曲線を観察すると (図 3) 吸着率は 3 時間ないし 6 時間の間に急増し、以後増加がゆるやかになり、12 時間以後ではカーブがほとんど平坦になる。

Incubation の時間の検討については、1st-Incubation では 12 時間で最も良好のようである (図 4-1)。また、2nd-Incubation では 12 時間、24 時間の間には有意な差を認めなかったが 6 時間では感度の低下がみられた (図 4-2)、従って第一反応、第二反応とも 12 時間を一応最適の条件と考える事が出来る。1st-および 2nd-Incubation をともに更に短縮して得られた結果が図 5 で、3 時間に短縮しても尚、1 ml 当り 10mU 前後の HCG が検出可能であった。図 6 は用量反応曲線におよぼす溶媒の影響について調べたもので、1st-および 2nd-Incubation とも 3 時間法に依る標準曲線で、上 (×点) は標準 HCG を 0.1% BSA-PBS に、下 (O点) は小児尿に溶解した時のものである。溶媒として小児尿を用いると、Slope がややゆるやかになるとともに、感度が上昇する事がうかがわれる。この小児尿 (男児 2 才 5 カ月) は HCG を含まないコントロールでは、BSA のみのコントロールと同じ ¹³¹I-結合率を示した事から反応に干渉する程の LH は含まないものと思われる。この様な標準曲線の相異から、尿を検体とする時には、下の曲線を使用した。

測定値のバラツキ: 表 3 は同一の Blanc control を 10 回測定した場合、ならびに右の欄には 28 個の検体を 2 回ずつ測定した時の各測定値間のバラツキを百分率で示

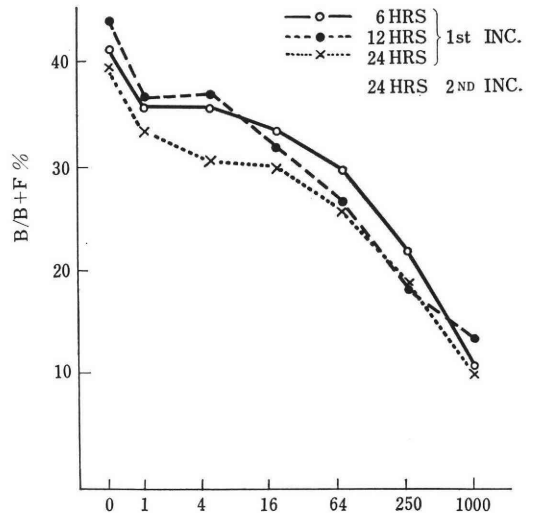


図 4-1 Effect of 1st incubation time

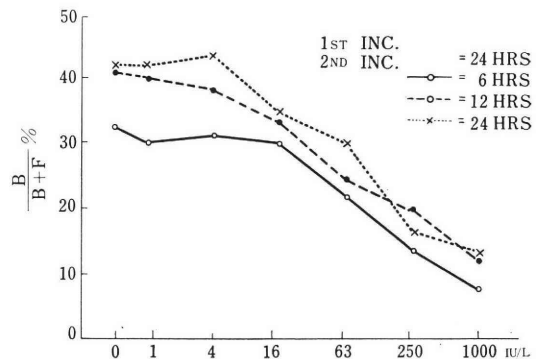


図 4-2 Effect of 2nd incubation time

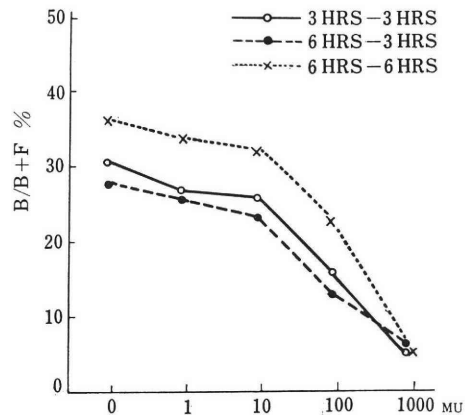


図 5 Effect of incubation time (shorter period)

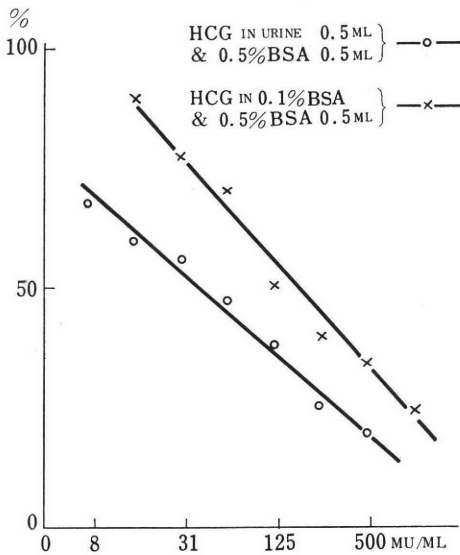


図 6 Effect of urine

表 3 再現性 (説明は本文参照)

REPRODUCIBILITY	$\frac{X-M}{M}$ %	IN 28 DUPLICATE ASSAY
27230	6.5	8.2
27820	5.1	7.0
28630	2.8	2.7
29710	1.9	3.2
30180	0.8	2.3
26900	6.0	1.6
28450	4.2	1.7
24270	21.6	3.7
28040	4.7	1.5
29640	0.3	2.6
MEAN±S.D.	7.3	13.1
28090±1750 (6.23%)	0.4	0.6
	0.1	6.0
	5.6	1.4

MEAN=4.39%

した。すなわち、2回の測定値を x_1 と x_2 とすると、 $M(\text{平均}) = \frac{x_1 + x_2}{2}$ といずれかの測定値との差を平均値で除したものである。これ等のバラツキは、ほとんどが Tracer の Pipetting の際の誤差以下で、ほぼ満足出来るものと思われる。

正常周期婦人尿中 LH の変動 (図7) : 月経歴の正順な24才の一婦人について、基礎体温測定と共に、早期尿中 LH を本法で連続測定した。HCG 100 in-eq に相当するピークが、基礎体温の最終低温日の前日にあらわれている。本例では典型的なピークが一つしか認められなかった。

考 察

最近、HCG あるいは LH の Radioimmunoassay 法について、操作を簡便にし、時間を短縮する為、抗原抗体複合物の分離に種々の新しい考案が行なわれている事

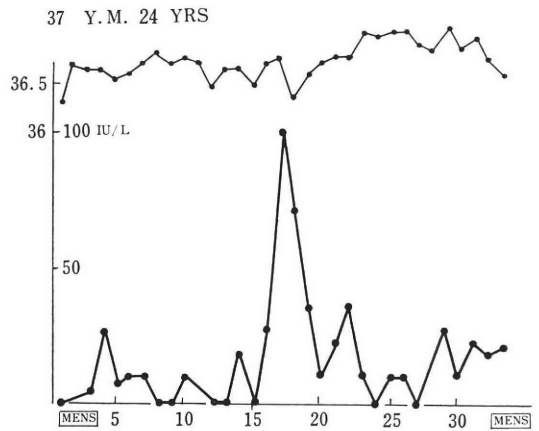


図 7 正常周期婦人の BBT 及び尿中 LH 変動

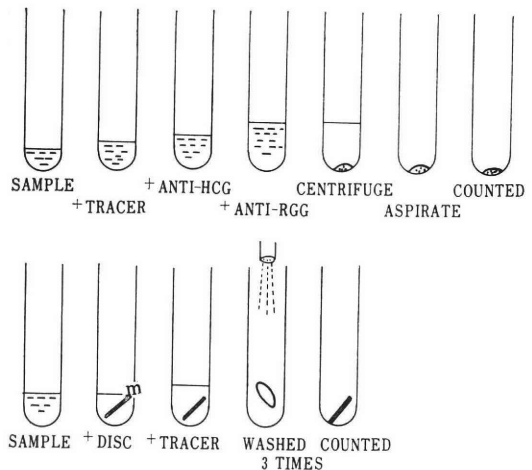


図 8 Solid phase 法と Double antibody 法の比較
↑ 第一インキュベーション
↑↑ 第二インキュベーション

は前述の通りである (Alcohol precipitation, Dioxane method など)。

これに対し、本法はあらかじめ抗血清で Disc solid phase を感作しておき、この Disc の表面で抗原抗体反応を起させるものである為、抗原抗体複合物を遊離の抗原あるいは抗体から分離する操作が非常に簡単である。この原理は、Sephadex 法²⁾でも同様である。Solid phase 法と Double antibody 法を比較したのが図8で、上段に Double antibody 法、下段に Disc 法が示してある。↑ は 1st-Incubation, ↑↑ は 2nd-Incubation を示すが、Double antibody 法では、Incubation 時間の総計が3日ないし1週間を要するのに対し、Disc 法では、前述したように最適の条件をとっても、18~24時間程度で、また多少感度を犠牲にすれば、総計6時間以内でも標準曲線の Slope は満足出来る。又遠沈による分離に

ともなう時間および手間が省略出来る点も、本法を更に簡便なものとしている。

赤血球凝集阻止反応の時に、男子尿あるいは小児尿が感度に影響する事を私共¹⁰⁾¹¹⁾は報告したが、Radioimmunoassay でも、図 6 にみられる様に感度および標準曲線の Slope に著明な差がみられた。本報告に用いられた抗 HCG 血清は Cellulose Acetate 上における Immuno diffusion で、小児尿抽出物との間に沈降線を形成しなかったもので、小児尿による吸収を行わなかった事が、この両者の差を拡大している可能性もあるが、この問題は再現性、精度等とも密接な関係があるので、今後更に検討しなければならないと思われる。

摺筆するに当り、松本清一教授の御指導、御校閲に感謝いたします。

本論文の要旨は、第 12 回不妊学会総会(於久留米)で口演した。

文 献

- 1) Midgley, A. R. : Jr, *Endocrinology* 79 : 10 (1966).
- 2) Wide, L., and J. : Porath, *Biochim Biophys Acta* 130 : 257 (1966).
- 3) Neil, J. D., W. D. Peckham, and E. Knobil : *Nature (London)* 213 : 1014 (1967).
- 4) Tomoda, Y., and M. M. Hreshchyshyn, : *Amer J Obstet Gynec* 100 : 118 (1968).
- 5) Saxena, B. B., H. Demura, H. M., Gandy, and R. E. Peterson : *J Clin Endocr* 28 : 519 (1968).
- 6) Thomas, K. and Ferin, J. : *J Clin Endocr* 28 : 1667 (1968).
- 7) Catt, K. J., Niall, H. D. and Tregear, G. W. : *J. Lab & Clin Med.* 70 : 820 (1967).
- 8) Catt, K. J., Niall, H. D., Tregear, G. W. and Burger, H. G. : *J. Clin Endocrinol* 28 : 121 (1968).
- 9) Greenwood, F. C., W. M. Hunter, and J. S. Glouer. : *Biochem J* 89 : 114 (1963).

10) 松本, 玉田, 黛, 津久井 : 産婦の世界, 19 : 1183 (1967).

11) Tamada, T., Y. Tsukui, S. Matsumoto & Y. Ogawa : *Endocr, Jap.* 16(3) in press.

One day radioimmunoassay of HCG(LH)

Y. Tsukui and T. Tamada.

(Dept. of Obst. & Gyn., Gunma Univ. School of Med.)

In the attempts to make clinical application of radioimmunoassay for LH (HCG) easier, a disc solid phase method (Catt et al. 1967, 1968) has been tested.

HCG used as an antigen is of 6000iu/mg and the antiserum was produced in rabbits. Iodination of HCG was followed to Greenwood and Hunter with a little modification.

Coating of the discs with antiserum was satisfactorily achieved at room temperature for 16 hours without shaking and able to be stored for more than 3 months without any changes in cold.

The first incubation (the sensitised discs and sample or standard) was carried out at 37°C for 12 hours and the second incubation (plus ¹³¹I-HCG) at 37°C for 24 hours, when the sensitivity of this test was around 4 mu/ml. Separation of the combined from free ¹³¹I-HCG was simply performed by washing twice. Ten repeated assays of a standard showed a standard deviation of 6.23 %.

When both of the first and second incubation time were shortend to 3 hours, the sensitivity of the test came down to about 10 mu/ml and the standard deviation was not affected largely. Thus this method could be regarded rapid as well as simple and sensitive enough to pick up LH peak at midcycle within a working day.

Daily LH measurement of a normal cyclic woman revealed a LH peak (about 100 iu/L of urine in terms of HCG) one day prior to the last day of low temperature.

姉妹共に男性仮性半陰陽であった症例

Testicular Feminization Syndrome Observed in Sisters

東京医科大学産婦人科教室 (主任: 藤原幸郎教授)

小坂 順治 坂田 稔 勝間田 寛
Junji KOSAKA Minoru SAKATA Hiroshi KATSUMATA
木村 万司 土屋 新一郎 佐藤 博己
Takashi KIMURA Shinichiro TSUCHIYA Hiromi SATO

Dept. of Obst. & Gynec., Tokyo Med. College
(Director: Prof. Yukio Fujiwara)

原発性無月経を主訴として来院した16才未婚の会社員を検索した。家族歴は父母は従兄妹の血族結婚で、同胞5人、兄弟2人には異常を認めず、姉妹は3人、患者は長女、次女は15才で12才の時鼠径ヘルニアの手術をうけ摘出物は睾丸であったと診断された。三女は10才で特記すべき事はない。既応歴は長女は生来穏しく何の疑いもなく女性として育てて来た。姉妹とも女性様で乳房の発育やや不良。乳輪乳嘴の発育不良、陰毛腋毛全く認めず、陰唇の発育やや不良、膣の長さ長女3cm、次女3.5cmの男性膣を呈し、内診時内性器を触知出来ず、腔鏡診で膣は盲端に終わっていた。長女は両側鼠径部に圧痛はあるが腫瘍は触れない。ホルモン検査では Estrogen 2γ 以下、17-KS 0.37mg, 17-OHCS 0.13mg, Gonadotropin 32単位以上の値を示した。姉妹とも性染色体は46XYであった。開腹時女性内性器は認めず膣の上端部に横走する索状物を認めた。内鼠径輪を開くと両側とも停留睾丸を認め典型的 Testicular Feminization であった。

I. 緒言

内分泌学の進歩に伴ない、性発育異常に関する各種の知見も拡まって来た。そしてこれ等の疾患をあらゆる角度から考察して分類を行い、体系づけようとする研究も少なくない。

1950年、BarrなどのSexchromatinの発見は半陰陽の研究に一大飛躍をもたらし、内分泌学の進歩と相俟って、半陰陽の本態、分類は一層体系化されて来た。しかし、その本態についても不詳の点が多く、また発生機序について、なほ今後の解明にまつ所が大である事は云うまでもない。

私達は、最近、男性仮性半陰陽の代表的なものである睾丸性女性化症 Testicular Feminization が姉妹共に発生した症例を経験したので報告いたします。

II. 症例

患者: 16才で未婚の会社事務員
初診: 昭和43年7月8日

主訴: 原発性無月経

家族歴: 表(1)は家族歴を示したものである。父母は従兄妹の血族結婚で、両親とも健在である。同胞5人、その内、男の兄弟2人には異常を認めない。姉妹は3人で、患者は長女、次女は現在15才で、12才の時、鼠径ヘルニアの診断のもとに手術をうけ、摘出物は睾丸であると診断された。三女は10才で特記すべき事はない。その他近親者のなかに遺伝的疾患を認めない。

既応歴: 長女は小児期に弁膜障害を指摘され、又10才時に肺炎に罹患した他は特記すべきことなく、生来穏しく、運動は不得手の他健康で、生下時外陰部は女性的で、又成長するにつれても男性化傾向も見られず、何の疑いもなく、女性として育てられて来た。

次女は図(1)に示す如く、12才の時、鼠径ヘルニアの診断のもとに手術を受け、摘出された内容物が睾丸であると診断された。

姉妹ともに学校の成績は中等である。その他特記すべき事はない。

表 (1)

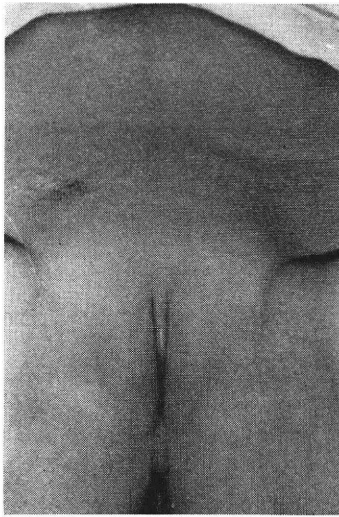
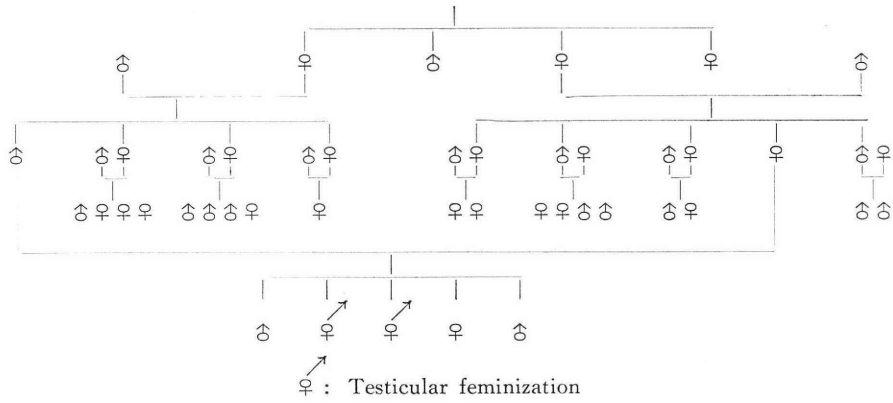


図 (1)

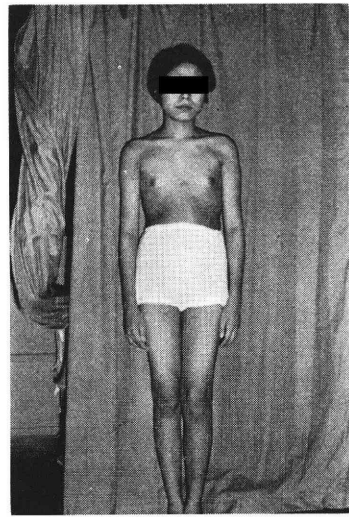


図 (2)



図 (3)

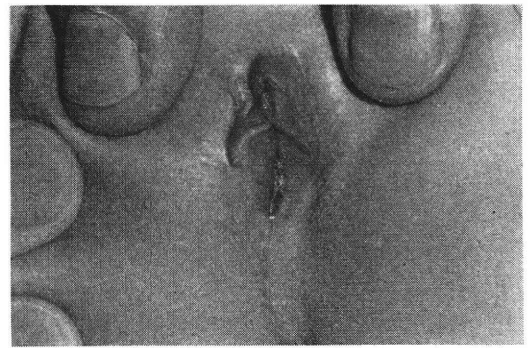


図 (4)

現症：図(2)は長女の全身所見で身長 161.5cm, 体重は47.5kg である。姉妹とも全身の脂肪沈着は女性様, 皮膚は湿潤, 滑らかで緊張し, 体格は中等で, 頭髪はやや硬いが, 顔面に鬚, 面疱はなく, 顔貌及び音声も全く

女性的で喉頭の隆起は認めない。乳房の発育やや不良, 乳輪及び乳嘴の発育は不良であつた。四肢に剛毛の発育はみられなかった。

局所々見：図(3)は長女の外陰部であり, 図(4)は次女

のものであります。両者とも、陰毛、腋毛とも全く認めず、陰唇の発育やや不良、陰核、外尿道口、膣口の位置は正常、膣の長さは長女3cm、次女3.5cmの男性膣を呈した。内診時、子宮腔部、子宮体、両側付属器とも触知せず、膣鏡診で膣は盲端に終わっている。又白色帯下を認めた。

長女は両側鼠径部に圧痛はあるが腫瘤はふれにくい。次女は既往歴で述べた如く、鼠径部の術後瘢痕がある。

一般検査：末梢血液、血液化学、血清化学、血圧、尿等に異常なく、又梅毒血清反応陰性、ECG正常、IP異常なし、ホルモン定量は表(2)の様であり、Estrogenは2γ以下、17-KS 0.37mg、17-OHCS 0.13mgで低値を示し、Ganadotropin 32単位以上で高値を示している。

図(5)は長女、図(6)は次女の性染色体で、両者共46XYであった。又三女は46XXで異常がなかった。

開腹所見：図(7)は開腹所見で、子宮体、卵管、卵巣等女性内性器は認められない。

膣の上端部に巾5mm位の横走る索状物があつた。両側とも内鼠径輪を開いて行くとヘルニア囊状の部分認め、図(8)の如く、内容物は卵球形、淡白色で白膜を被った停留辜丸を認めた。

思春期に入って二次性徴が現われている事、辜丸が悪

表 2 K. Yamada. 16y.o.

17-KS	0.37mg/day
17-OHCS	0.13mg/day
Estrogen	<2 γ/day
Pregnanediol	7.4mg/day
Gonadotropin	>32unit/day

性化し易い事等を考え両側辜丸摘出を行った。同時にヘルニアに対する処置を行い閉腹した。

摘出物所見：図9は摘出物であり、剖面を入れたものである。

図(10)は組織学的所見であります。明らかに摘出物は辜丸であり、精細管は高度に萎縮しており、精子産生はなく、萎縮変形した Sertoli 細胞由来と思われる細胞が見られる。一方基底膜はかなり肥厚し取り巻く間質も又肥厚し Ledig 細胞の増生が顕著に認められた。

術後経過：術後経過は順調で2週間後退院した。術後欠落症状を防止する為、ホルモン療法を行って現在経過観察中である。

III. 考 察

1953年 Morris は男性仮性半陰陽のうち、外性器は女性型で、第二次性徴も女性的である特殊なものを Testicular

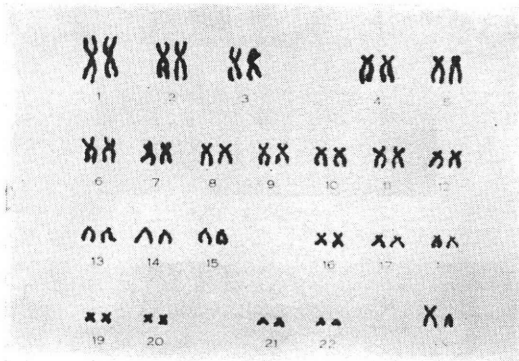


図 (5)

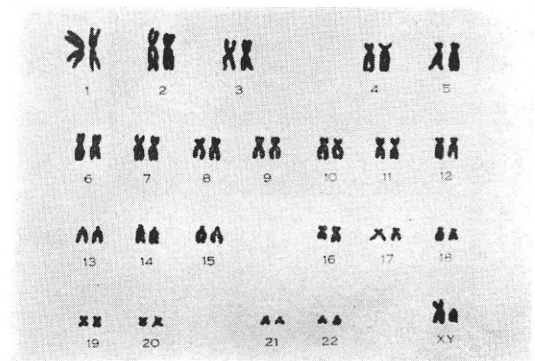


図 (6)

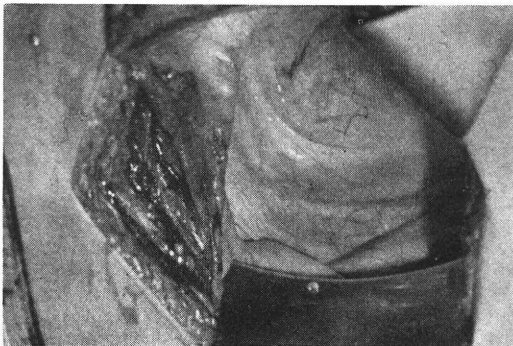


図 (7)



図 (8)

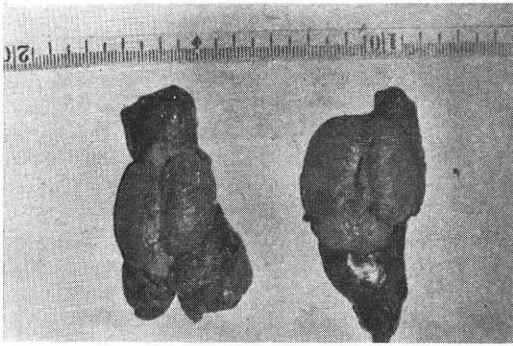


図 (9)

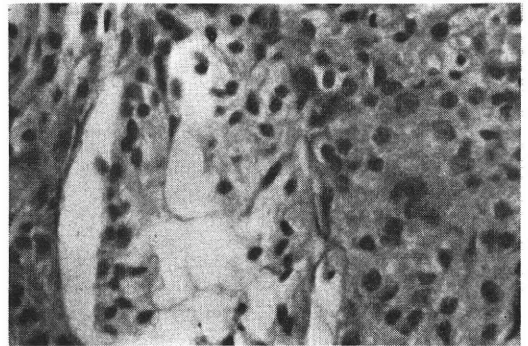


図 (10)

feminization と言いつの如き特徴をもつという、即ち

- (1) 体格は女性型、時に類宦官症の傾向を示す。
- (2) 乳房は女性型、しばしば発育過剰の傾向を示し、時に若年乳頭をもつ。
- (3) 腋毛、陰毛の発生はないか、あっても極めて少ない。頭髪は女性型、鬚はない。
- (4) 外陰部は女性型で陰核があり、膣は盲端に終わっている。
- (5) 内性器の痕跡、および腹腔内、あるいは鼠径管内にある性腺(睾丸)を除き、実際に内性器はない。
- (6) 性腺は停留睾丸の組織像を呈す。
- (7) 性腺はおそらくアンドロゲンと同様エストロゲンを分泌しており、時に尿中下垂体性ゴナドトロピンの上昇が見られる。

と言うものである。

私共の症例は性染色体46XYの男性型を示し、睾丸を有しながら出産時より、外性器は女性型であり、第二次性徴も女性的であって、Testicular feminizationの典型的症例である。

Testicular feminizationで興味あることは性腺が睾丸であるのにどうして、二次性徴がほとんど女性に近い型を呈するかと言う点である。Morrisは睾丸から分泌されるEstrogenの為であろうと考えており、多くの人がこれに賛同している。また尿中Estrogen排泄値は同年の女性としては多少低いようであるが、時には正常に近い場合もあり、一般に男性としてはやや高値を示すものが多いと報告されている。しかしこのMorrisの仮説に対し、Praderは本症候群の発症機序を、睾丸からの男性ホルモンに対する標的器官の反応低下あるいは抵抗性すなわちAndrogen-Resistenzと言う仮説を称えている。すなわち本当の意味の女性化現象ではなく、このAndrogen-Resistenzと言う先天性な異常によって、男性方向への分化発育が行われないうちに、見掛け上、女性化のように見えるにすぎないと言っている。

以上が発生原因についての仮説であるが、もちろんこれだけでは説明不十分であって、まだ解明されるにいたっていない。しかし本症の治療として睾丸摘出術を行うと、Estrogenの尿中排泄値が低くなり、欠落症状を来たす事があるといわれる。本症候群発生にはやはり睾丸特にSertoli細胞から分泌されると考えられているEstrogenのもつ役割が重視されるべきことに異論はないように考えられる。

次女は去勢手術後3年を経過しているが、男性化する徴候もなく、女性として健康に育っている。

Testicular feminizationでは外性器は全く女性であり、その二次性徴、性格なども女性的であり、Genetic maleで性腺は睾丸であるが、当然女子として養育を続けるべきである。

この場合、去勢は思春期に女性性徴が現われてから行うという説と、幼児期に去勢して思春期よりホルモン療法を与える方がよいとの二つの説がある。又停留睾丸では5~9%の割合で腫瘍化する恐れがあるので、この意味からも去勢した事は適当と考えている。

又本症は家族的発生をみる事が多く、Jones and Scott (1958)は84例中21例は家族的発生であったと報告している。

III. 結 語

原発性無月経を主訴として来院した16才で未婚の患者を検索し性染色体46XYのTesticular feminizationが姉妹ともに認められた症例を経験したので紹介いたしました。

(本論文の要旨は第50回日本不妊学会関東地方部会記念講演会において発表した)。

Testicular feminization syndrome
observed in sisters

Junji Kosaka, Minoru Sakata,
Hiroshi Katsumata, Takashi Kimura
Shinichiro Tsuchiya and
Hiromi Sato

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tokyo Medical College

(Director; Prof. Yukio FUJIWARA)

We report typical case of testicular feminization syndrome observed in sisters.

16-year-old unmarried company employe visited our clinic with the chief complaint of primary amenorrhea.

The shiblings were five; two brothers and the youngest sister were excellent healthy.

The patient was the eldest sister. The second sister was 15-year-old and she had two mass removed from the inguinal regions at "hernia operation" and she was told that they were "testicles" at the age of 12 years.

Past history showed nothing particular, she was brought up as a woman undoubtedly.

Their appearances were almost womanish. Breasts, nipples and areolae were developed poorly. There was no hair in the axillae and in public region. Their external genitalia were developed somewhat poorly. The vagina of the eldest sister was 3 cm in length, that of the second sister was 3.5 cm and the they were both ended as blind poach. No cervix was visible or palpable, no internal genitals were palpable. Tenderness was present in the inguinal region, but no mass was palpable.

Hormonal assays showed urinary estrogen $<2\gamma$ /day, 17-KS 0.37 mg/day, 17-OHCS 0.13 mg/day, gonadotropin >32 m μ u./day.

Examinations of sex chromatin were male type on the both patients.

There was no female internal genitals in the abdominal cavity. The both side of inguinal cannal were exposed and there typical testicles were found.

The histopathology of the gonad showed the cryptorchid testicles.

国際会議準備委員一部報告及び日本不妊学会理事、幹事役職

1. 国際不妊学会協賛学会

日本学術会議第7部 樋口一成
日本不妊学会 野嶽幸雄
日本産婦人科学会 未定
日本泌尿器科学会 高安久雄
日本畜産学会 西川義正
日本母性保護医協会 森山豊

1. 国際不妊学会役員

事務局 林基之
副事務局 東条伸平
プログラム委員長 小林隆
副プログラム委員長 石神襄次

1. 日本不妊学会理事役職名

庶務 小林隆, 西川義正, 足高善雄,
石神襄次

会計 澤崎千秋, 森山豊, 渡辺金三
郎, 黒田恭一

編集 野嶽幸雄, 林基之, 松本清一
渉外 明石勝英, 熊本悦朗, 石塚直隆,
高嶺浩

長期計画 辻一郎, 清水寛一, 藤生太郎,
百瀬剛一, 足立春雄, 赤須文男

幹事 大越正秋, 高島達夫, 大槻清彦,
坂倉啓夫, 山田文夫, 飯塚理八,
木下佐, 五十嵐正雄,

蘭守竜雄, 原信二 以上

男子不妊症の治療

(第1報) グルタミンの造精促進効果について

Treatment of Male Infertility

The First Report Effect on Sperm Count of Glutamine

群馬大学医学部泌尿器科教室

志田 圭三 島崎 淳 浦野 悦郎
Keizo SHIDA Jun SHIMAZAKI Etsuro URANO

Department of Urology, School of Medicine, Gunma
University, Maebashi

群馬大学泌尿器科不妊外来に於て乏精子症28例にグルタミン1回6 gr, 2~3カ月間経口投与療法を行い、その造精効果を検討した。当初からグルタミン投与を行った9例のうち、無効4例、やや有効4例、かなり有効は1例であった。各種の治療を行っても造精効果が充分でなく、グルタミン投与によりかへられた症例は19例であるが、その成績は無効4例、やや有効8例、かなり有効5例、著効2例であった。そのうち1例に妊娠成立がみられている。以上の成績は同期間に行はれた他症例の testosterone 療法 (T.P. 25mg 週2回筋注, 2~3カ月間) に比較し、まさるともおとらぬ好効果であった。基礎的研究によりグリタミンは生体蛋白に直接とり入れられる事、また、核酸塩基の構成に関与する事が知られている。上記の臨床成果を併せ考え、造精促進の目的には極めて有用と考えられる。

緒言

近年、不妊の要因として男性側因子が重要視され、男子不妊症に関する研究報告が多数発表されるようになってきた。男子不妊症の病因のうち最も頻度が高く、かつ重要なものは造精機能の低下に起因する減精子症乃至無精子症である。これに対する対策として、従来は辜丸内分泌学の立場から、ゴナドトロピン製剤、アントロゲン(造精ステロイド)等のホルモン製剤が広く用いられていた。既に多くの報告で明らかなようにその造精効果は決して満足すべきものではない。しかも、ホルモン製剤は用法宜しきを得ないときにはかえって精細管萎縮を招来するという逆効果がみられることがある。

造精現象は生物化学見地に於て卵胞成熟→排卵現象と根本的にことなるものがある。成熟期を通じ常に休みなく細胞増殖、分化が行われなければならない。旺盛なDNA, RNAの新合成が行われなければならない。上記ホルモン製剤はこの核酸合成過程に於て、Key enzyme様の働きをなすものと考えられるが、代謝の立場からい

えば、核酸構成物質の補給或は、合成に関与する補酵素の補給の重要性が当然考えられる。このような見解からして、近年造精機能促進の目的で、核酸前駆物質、アミノ酸製剤或は諸種のビタミン剤が用いられてきている。

グルタミンは中性アミノ酸として蛋白生合成の重要な構成成分として利用され、さらに核酸塩基生合成に重要な役割を演じているものである。造精過程の核酸新合成に有効に作用する事が予測される。著者らはこのような見解に立ち、男子不妊症症例に試みた処、極めて良好な成果を得たので、ここに報告し大方の批判を希望する次第である。

臨床成績

A. 症例

昭和43年半から44年前半にかけ、群馬大学医学の附属病院泌尿器科を受診した男子不妊症例。無作為的に症例をえらび、少くとも2カ月間グルタミン投与を行い、経過観察し得た28例が本報告の対象である。

表 1 グルタミン投与による精液所見の変動 (I)

症 例 氏 年 名 齢	治 療 経 過	精液量	総精子数	精子活動率	精液果糖量	効 果 (改善度)	症 例 氏 年 名 齢	治 療 経 過	精液量	総精子数	精子活動率	精液果糖量	効 果 (改善度)
		ml	×10 ⁶ /ml	%	mg /dl				ml	×10 ⁶ /ml	%	mg /dl	
No. 1 44-123 MS 32	治療前	1.7	32.0	33	209	1	No. 8 44-265 YR 33	治療前	0.4	18.0	30	179	1
	G投与1ヵ月後	1.2	42.0	38	235			G投与1ヵ月後	0.3	29.0	14	209	
	2ヵ月後	1.0	16.0	50	307			2ヵ月後	0.2	28.8	72	200	
	中止1ヵ月後	2.5	56.8	85	229			中止1ヵ月後	0.2	20.0	25	158	
No. 2 44-179 KY 30	治療前	5.7	30.3	37	363	0+0/2 =0	No. 9 44-5 OS 30	治療前	1.0	18.0	18	225	2
	1年3ヵ月間 他治療							G投与1ヵ月後	0.8	38.0	27	157	
	G投与前	8.2	28.0	26	262			2ヵ月後	2.0	40.0	38		
	1ヵ月後	6.7	22.0	22	417			中止1ヵ月後	1.0	33.0	50	103	
	2ヵ月後	6.5	26.0	23	117	2ヵ月後	1.0	25.0	80	176			
No. 3 44-270 NS 30	治療前	1.0	27.0	39		0	No. 10 43-833 IW 30	治療前	4.4	17.5	32	320	2+2/2 =2
	G投与1ヵ月後	0.7	21.0	69	334			2ヵ月間他治療					
	2ヵ月後	1.8	15.0	32	304			G投与前	5.0	7.2	0	295	
	3ヵ月後	2.0	21.0	26	402			2ヵ月後	5.0	26.0	21	215	
No. 4 43-714 OS31	治療前	3.1	23.0	30	286	1+2/2 =1.5	No. 11 44-102 SD 30	治療前	5.0	16.0	47	276	1+1/2 =2
	4ヵ月間治療							G投与前	5.1	15.0	25	201	
	G投与前	2.1	18.2	35	370			1ヵ月後	5.0	24.0	33	190	
	1ヵ月後	1.8	20.0	35	355			2ヵ月後	6.4	18.4	30	259	
	2ヵ月後	1.0	40.0	20	414			中止1ヵ月後	3.7	14.4	70	247	
	中止1ヵ月後	1.0	24.0	23	263								
No. 5 44-132 ST 28	治療前	3.7	23.0	30	202	1+1/2 =1	No. 12 44-32 HB 33	治療前	3.7	14.8	21	214	2+0/2 =1
	7ヵ月間他治療							1年8ヵ月間 他治療	2.0				
	G投与前	4.1	28.0	55	278			G投与前	2.3	34.0	30	214	
	1ヵ月後	3.8	25.0	30	180			1ヵ月後	2.2	29.0	25	329	
	2ヵ月後	4.4	37.0	34	220			2ヵ月後	3.3	27.0	18	271	
	3ヵ月後	4.0	32.8	38	206	中止1ヵ月後	2.5	22.0	30	196			
No. 6 44-131 NM27	治療前	2.1	21.5	34	348	1+2/2 =1.5	No. 13 44-122 SG 20	治療前	3.4	12.5	21	289	2+1/2 =1.5
	8ヵ月間他治療							10ヵ月間他治療					
	G投与前	2.2	8.0	20	214			G投与前	3.7	23.0	37	396	
	1ヵ月後	1.8	46.0	44	280			1ヵ月後	3.6	33.0	38	350	
	2ヵ月後	2.5	16.8	20	263			2ヵ月後	3.8	25.0	31	450	
	中止1ヵ月後	2.0	20.0	40	318	3ヵ月後	4.6	22.4	30	396			
	2ヵ月後	2.2	40.0	45	249								
No. 7 44-104 NG 26	治療前	4.0	18.8	19	294	1+1/2 =1	No. 14 43-234 SH 34	治療前	4.1	12.0	26	66	0+2/2 =1
	3ヵ月間他治療							G投与前	4.5	0.8	0	122	
	G投与前	4.8	16.5	29	289			1ヵ月後	6.0	5.6	28	77	
	2週後	3.5	14.0	41	275		2ヵ月後	5.3	8.8	27	135		
	1ヵ月後	5.3	24.0	14	407		No. 15 44-549 HK 30	治療前	2.1	12.0	15		1
	2ヵ月後	4.4	18.0	43	378			G投与1ヵ月後	1.5	7.2	11	288	
中止1ヵ月後	4.0	35.0	20	232	2ヵ月後	2.5		18.4	35	294			
	2ヵ月後	4.5	16.8	24	395	中止1ヵ月後	2.0	20.8	15				

表 1 グルタミン投与による精液所見の変動(II)

症 例	治 療 経 過	精液量 ml	総精子数 ×10 ⁶ /ml	精子活動率 %	精液果糖量 mg /dl	効 果 (改善度)	症 例	治 療 経 過	精液量 ml	総精子数 ×10 ⁶ /ml	精子活動率 %	精液果糖量 mg /dl	効 果 (改善度)	
No. 16 44-183 YG 31	治療前	1.7	11.2	14	300	2+2/2 =2	No. 23 44-363 TK 27	治療前	2.8	2.4	0	202	1	
	3ヵ月間他治療(G投与1ヵ月後	4.0	1.6	0		268
	G投与前	2.8	11.4	10	246				2ヵ月後	4.0	5.6	30		229
	1ヵ月後	3.2	30.0	40	179				中止1ヵ月後	3.0	4.8	0		287
	2ヵ月後	2.9	21.0	12	333									
No. 17 43-283 MZ 25	治療前	4.0	6.0	0	333	0+0.2 =0	No. 24 44-184 MK 25	治療前	3.7	2.3	20	291	2+1/2 =1.5	
	8ヵ月間他治療(G投与前	3.3	15.5	18		340
	G投与前	3.3	4.4	0	256				2ヵ月後	3.6	14.4	40		508
	1ヵ月後	4.1	0.3	0	341				3ヵ月後	4.1	11.0	37		295
	2ヵ月後	4.0	2.4	0	495				中止1ヵ月後		5.0	0		350
No. 18 44-127 YD 38	治療前	5.0	6.0	25	397	2+1/2 =1.5	No. 25 44-103 MT 29	治療前	5.4	1.8	0	420	0+0.2 =0	
	2年間他治療(G投与前	7.0	4.0	0		474
	G投与前	4.5	12.5	4	274				1ヵ月後	6.2	1.0	0		335
	1ヵ月後	4.5	14.0	14	327				2ヵ月後	8.3	0.5	0		422
	3ヵ月後	4.0	18.0	50	345				中止1ヵ月後	6.0	0.7	0		424
No. 19 44-10 ST 27	治療前	5.4	4.0	0	428	3+1/2 =2	No. 26 44-129 UK 29	治療前	5.0	1.6	0	398	2+3/2 =2.5	
	9ヵ月間他治療(G投与前	4.2	0.5	0		381
	G投与前	4.5	26.5	28	437				1ヵ月後	4.8	1.3	0		488
	1ヵ月後	5.0	34.0	38	561				2ヵ月後	5.0	0.6	0		440
	2ヵ月後	3.0	19.0	42	420				中止1ヵ月後	7.0	4.0	0		370
No. 20 43-1746 AG 39	治療前	2.5	4.0	0	204	3+1/2 =2	No. 27 44-315 YS 31	治療前	6.7	0.7	0	387	0	
	3年間他治療(G投与1ヵ月後	5.4	0.32	0		277
	G投与前	5.0	26.5	15	209				2ヵ月後	5.0	0.56	0		388
	2ヵ月後	3.7	32.0	21	313				中止1ヵ月後	4.7	0.88	0		373
No. 21 44-262 NID31	治療前	0.3	3.6	22	480	2+3/2 =2.5	No. 28 44-176 KI 32	治療前	2.2	0	0	317	0	
	1年5ヵ月間他治療(G投与1ヵ月後	1.7	0			400
	G投与前	0.3	0.64	0	500				2ヵ月後	1.8	0			437
	1ヵ月後	0.3	12.8	12	365									
	2ヵ月後	0.3	17.6	18										
No. 22 44-542 AI 35	治療前	3.4	3.2	18	270	0								
	G投与1ヵ月後	2.0	4.0	20	201									
	2ヵ月後	3.5	0.0	20										

B. 薬剤投与

グルタミン(協和醗酵から提供), 7日量6g3回に分けて2~3ヵ月連続経口投与

C. 造精機能改善状況の判定

7日間の禁慾条件で, 新鮮精液について, 精液量, 総精子数, 精子活動率並びに精液果糖含有量の測定を行っ

た。治療にさきだちくとも2回精液検査を行い, 効果判定の対照とし, 治療後は1ヵ月毎に精液検査を行なった。

本報告に於ては比較検討の都合上, 総精子からI群—10×10⁶/ml台, II群—1×10⁶/ml台, III群—0.1×10⁶/ml台, IV群—0.01×10⁶/ml台, V群—9.01×10⁶/ml未満(臨床的には無精子症)の5群に分け, I~V群によりその改

善度と精子増加状態との関係を次のようにとりきめた。

I 群：精子数減少乃至不変……0度(-)，1.5倍未満に増加……1度(±)，1.5～3倍未満に増加……2度(+)，3～5倍未満に増加……3度(+)，5倍以上に増加……4度(+)。

II 群：減少～不変……0度(-)，2倍未満に増加……1度(±)，2～5倍未満に増加……2度(+)，5～10倍未満に増加……3度(+)，10倍以上に増加……4度(+)。

III 群：減少～1.5倍未満に増加……0度(-)，1.5～3倍未満に増加……1度(±)，3～10倍未満に増加……2度(+)，10～25倍未満に増加……3度(+)，25倍以上に増加……4度(+)。

IV 群：0～0.02×10⁶/ml……0度(-)，0.03～0.09×10⁶/ml……1度(±)，0.1～0.29×10⁶/ml……2度(+)，0.3～1.0×10⁶/ml……3度(+)，1.0×10⁶/ml 以上……4度(+)。

尚，症例のあるものはグルタミン投与にさきだち，各種の治療が行われ，充分な効果をあげえないため，グルタミン投与にきりかえが行われている。このような症例の改善度の判定は，グルタミン投与による今回の効果のほかに，当初の精液所見との対比を加味して行った。即ち，今回のグルタミン投与による効果が2度(+)であり，しかも治療開始前の精液所見と対比して，グルタミン投与後の精液所見の改善度が3度(+)であった場合には2+3/2=2.5度と判定する事にした。

D. 臨床成績

28例個々の治療経過は表の如くである。さきに記載した精液所見改善状態の判定に従うと，次の如く集計する事が出来る。

I 群 (総精子数10×10⁶/ml 台) : 16例……0, 0, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1.5, 1.5, 1.5, 2, 2, 2

II 群 (総精子数1×10⁶/ml 台) : 10例……0, 0, 0, 1, 1.5, 1.5, 2, 2, 2.5, 2.5

III 群 (総精子数0.1×10⁶/ml 台) : 1例……0

V 群 (総精子数0.01×10⁶/ml 未満) : 1例……0

総計28例の平均改善度 1.16

2度以上の改善……8例 (28.6%)

2.5度以上の改善……13例 (56.5%)

1度以上の改善……20例 (71.5%)

尚，精液所見の改善をみ，かつそれと同時に妊娠成立をみたものは2例(No. 5, 20)であった。

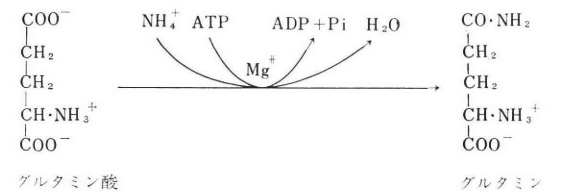
また，精子活動率に於ては悪化したものは僅かに2例，残りの26例については改善，不変が半ばしており，精果糖含有量については一定の変動傾向を認めることが出来なかった。

既に成書に明らかな如く男子不妊症に於て造精機能を

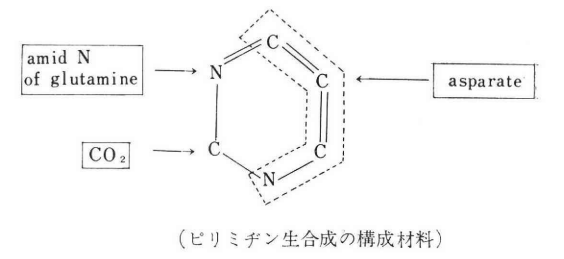
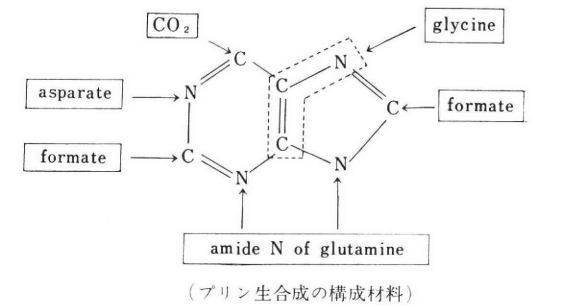
回復させ，精子数を増加させる事は困難である。第2報で述べる如く，造精促進の目的で今日広く用いられているものに testosterone 製剤があるが，著者らの集計では改善度は平均 1.0前後の値である。ゴナドトロピン製剤に於てもほぼ同様の成績がえられている。従って，グルタミン投与の成績はこれ等にまさるともおとらぬものと思える事が出来る。

考 察

グルタミンはグルタミン酸のカルボン酸が酸アミドにかわったもので，生体内では ATP の関与によりグルタミン酸から合成され，グルタミン酸よりはるかに高いエネルギーを有している。



当初注目されたグルタミンの生物化学的性質は生体基質の中心を構成するグルコサミンの生成に関与する事である。このほか，核酸塩基生成に利用される事も明らかとなり，また，そのままの形で蛋白に入り，中性アミノ酸として蛋白生成の重要な構成成分として利用される事解明された。このような生理効果が注目され最近では消化性潰瘍治療剤として用いられ極めてすぐれた臨床成績を挙げている。



緒言に於て既に述べた如く，造精過程に於ては，DNA, RNA 並びに蛋白の新合成が極めて早い速度に於

て、しかも量的も高度に行われなければならない。これを側面的に促進助するものとして各種の酵素補酵素が必要であり、さらに核酸・蛋白を構成する素材の潤沢な供給が必要とされる。現在の処、その生物化学的過程は殆んど解明されてをらず、ただ、実験成果の現象解析にもとづいて各種の治療薬剤の投与が行なわれているにすぎない。従来男子不妊症の治療は間脳・下垂体・睾丸システムという内分泌因子別の表現を以てすれば上記生物化学的過程に於ける酵素活性の促進面をとらえたものと解する事が出来る。従って、その臨床効果が充分でないのも当然であり、今後は核酸蛋白合成の素材供給療法を考慮する必要がある。この意味に於て、グルタミンの投与は理論的にも有効性が予期され、結果的にも充分なる好成績がえられた事は理の当然と考えられる。今後、造精機転の解明とともに、諸種薬剤併用により睾丸代謝促進手段が論ぜられなければならない。

結 語

核酸・蛋白合成に重要な役割を演ずるグルタミンを男子不妊症例28例に使用した。1日6g、2～3カ月の経口投与により、少くとも testosterone propionate 投与に匹敵する造精促進効果がえられ、2例に妊娠成立をみた。

文 献

- 1) 橘正道：グルタミンの生理的意義について、グルタミン懇話会講演記録。
- 2) 石神襄次：性腺の代謝，臨床科学，4(11)，1376。昭43.11。
- 3) 志田圭三，浦野悦郎：男子不妊症の臨床（新臨床医学文庫98），昭43年，金原出版。

Treatment of Male Infertility The First Report Effect on Sperm Count of Glutamine

Keizo Shida, Jun Shimazaki
and Etsuro Urano

Department of Urology, School of Medicine,
Gunma University, Maebashi

28 cases suffered from oligospermia were treated with glutamine; 6g. daily by mouth for 2~3 months.

Out of 9 cases treated with glutamine from the first, 4 cases did not show any effect on sperm count. Slightly good effect in other 4 cases and moderately good result in one case were observed.

Out of 19 cases who had never responded to other treatment, 7 cases had gone on increasing moderately in sperm count. And in other 8 cases the results were slightly good and the other 4 cases did not show any effect on sperm count.

From this clinical result it was confirmed that glutamine could be compared with testosterone in spermatogenic activity.

去勢家兎への受精卵移植に関する研究

—特に HCG 投与の着床におよぼす影響について—

Transplantation of the Fertilized Ova to the Ovariectomized Rabbits

—Effects of HCG Administration on Implantation—

東邦大学医学部産婦人科教室 (主任: 林基之教授)

宇 田 典 弘
Tunehiro UDA

Dept. of Obst. & Gynec., Toho Univ., School of Med.
(Director: Prof. Dr. Motoyuki Hayashi)

本実験は着床時の内分泌条件を探究する研究の一環として、去勢家兎に移植した受精卵の着床に HCG が如何なる影響をおよぼすかを見るために行われた。去勢後3週間目より Estradiol, Progesterone を連日投与した家兎およびこれに加えて HCG あるいは下垂体性 Gonadotropin (牛下垂体抽出物) を投与した家兎の卵管内に交尾後約70時間の桑実胚を移植し子宮内着床の有無を見た結果、Estradiol, Progesterone のみの投与でも着床を認めたが、Progesterone 投与に先立ち HCG を投与した場合着床率は有意な上昇を示した。さらに子宮、下垂体前葉、副腎皮質の組織学的検索を行ない、この HCG の着床促進作用はおそらく子宮内膜に対する HCG の直接作用であり、特に内膜上皮下の毛細血管網の増殖拡張を増強することによると思われる所見を得た。HCG を卵移植後まで連続して投与した群および下垂体抽出物を投与した群ではこのような着床促進作用は認められなかった。

結 言

卵巣から分泌される Estrogen, Progesterone が子宮内膜に作用してその増殖および分泌機能の発現を促し、受精卵の着床を可能ならしめることはすでに疑いのない事実であるが、生体内におけるホルモン分泌の状態を正確に把握することの困難な現在、着床時に必要な内分泌的条件についてはなお充分な知見が得られているとはいえない。

去勢動物における受精卵の着床実験はこの問題に対する有力な解明の手段であり、Meyer¹⁾, Nutting²⁾, Shelysnyak³⁾らはラットで、Pincus⁴⁾, Chambon⁵⁾らは家兎において、交尾後去勢した場合も Estrogen, Progesterone あるいは Progesterone 単独の投与により着床せしめ得ることを報じ、交尾後去勢までの日数と Estrogen, Progesterone の必要量の関係などにつき検討を行っている。また1951年 Chang⁶⁾ は排卵を誘発しない正常雌家兎の子宮内に他の交尾家兎より得た受精卵を移植し、

Progesterone の投与により着床せしめており、Hafez⁷⁾らは排卵誘発後に去勢した家兎、Dickmann & DeFeo⁸⁾は去勢した偽妊娠ラット、Psychoyos⁹⁾らは性周期各時期における去勢非妊ラットを用いて同じく同種受精卵の移植を試みいずれも適量の Estrogen, Progesterone の投与によって着床を認めている。

このような去勢動物を用いる着床実験はたしかに Estrogen あるいは Progesterone の着床におよぼす影響をそれぞれ別個に、また量的に検討し得る点で極めて有意義のものであり、これによりたとえばラット着床時に必要とされる Estrogen-surge の問題等も解明されつつあるが、従来の実験条件ではいずれも去勢前に被移植動物の卵巣から分泌されたホルモンの影響を全く無視するわけには行かない。

これに対し教室の西平¹⁰⁾は、個体の有する卵巣由来の Estrogen, Progesterone の影響を完全に除外した上で着床時の内分泌的条件を追述する目的で、あらかじめ去勢した家兎子宮内へ交尾後約40時間の8細胞卵を移植す

る実験を行ない、Estrogen, Progesterone の投与のみでは着床を認めず、Progesterone 投与開始日に HCG を静注した場合に対照非去勢群とほぼ同様の着床率を得たという HCG の着床促進作用を示す極めて興味ある成績を發表しているが、その作用機序については触れていない。

著者は今回去勢後 3 週間目より Estrogen, Progesterone を投与した家兎を用い、桑実胚の卵管内移植により着床を認めたが、さらに HCG あるいは下垂体性 Gonadotropin (牛下垂体抽出物) 添加が着床率および子宮、下垂体前葉、副腎皮質の組織像におよぼす影響を検討し、HCG の着床促進作用に関するいささかの知見を得た。

実験材料および方法

実験材料：体重 2800~3500g の日本在来種白色家兎を用い、21~25°C、湿度 60~70% の可及的一定条件のもとに、家兎用固型飼料により飼育した。

実験方法：I. 去勢後 3 週間目の成熟雌家兎を 4 群に分け、それぞれ下記の形式により Estradiol (E), Progesterone (P), HCG あるいは牛下垂体前葉抽出製剤 (APE) を投与しつつ卵管内に桑実期受精卵を注入移植し、その子宮内着床率を見た。

採卵家兎としては、自然交尾後約 70 時間目の正常雌家兎を用い、卵管を摘出後家兎血清による洗滌法にて採卵し、これを毛細管ピペットにより実験家兎卵管腹腔口より注入した。移植卵はすべて桑実期卵であり、移植時期は各群とも Progesterone 注射開始後 3 日目とした。移植卵数は一羽あたり 5~11 個で両側卵管にほぼ同数づつ注入した。

着床の成否の判定は、移植後 10 日目に再開腹を行ない、子宮に明らかにジュズ状の膨隆部を認めたものを着床成功例とし、着床例はさらに E および P 投与のもとに妊娠を継続、分娩に到らしめた。

なお対照として非去勢正常家兎に HCG 100iu 静注による排卵誘発を行ない、約 70 時間後に同様の方法で卵を移植したものをを用いた。

ホルモン投与方法 (図 1) 第 I 群：去勢後 3 週間目より毎日 Estradiol (油溶液) 3 γ を投与し、その 5 日目より Progesterone (油溶液) 3mg/日を加えた。E および P ともに 1 日 1 回皮下注射により実験終了まで連続投与した。

第 II 群：E, P の投与法は第 I 群と同様。これに加えて E 投与開始と同日より 3 日間 HCG* 100iu/日を静注した。

第 III 群：II 群における HCG 投与を 17 日間 (受精卵移植後 10 日目まで) 継続した。

* 帝国臓器製ゴナドトロピン

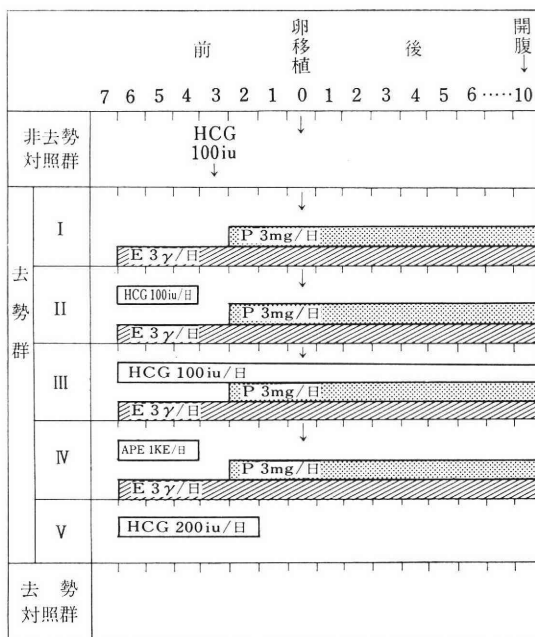


図 1 ホルモン投与方法

第 IV 群：第 II 群における HCG の代わりに、牛下垂体前葉抽出製剤** 1 KE/日を 3 日間皮下注射により投与した。

II. 去勢後上述 I~IV 群と同様の形式でホルモン投与を行なった家兎および HCG で排卵を誘発した非去勢対照家兎を用いて、子宮、下垂体前葉、副腎の組織学的変化を比較検討した。すなわち各群とも、卵移植は行わず、Progesterone 投与開始日を第 1 日 (非去勢対照家兎では HCG 静注を行なった翌日を第 1 日) として、2 日目、4 日目、6 日目、8 日目に屠殺し、各臓器を摘出、秤量後次の如き染色法を用いて検索を行なった。

子宮：一側を Rossman 液にて固定後 HE 染色, PAS 反応および Glycogen 消化試験, 他側は Carnoy 液固定後 Taft 染色。

下垂体：Halmi 液固定後, Azan 染色, Aldehydthionin-luxol fast blue-leucofuchsin 染色

副腎：HE 染色および凍結切片につき Sudan III 染色。

なお第 V 群として去勢後 3 週間目より HCG 200iu/日のみを 5 日間静注した家兎, および去勢対照群として去勢後 3 週間無処置の家兎についても同様な組織学的検索を行なった。

実験成績

卵移植実験 (表 1) : [非去勢対照群] 卵移植後 10 日目に開腹し、着床成功と判定されたものは 15 羽中 7 羽 (46.7

** 帝国臓器製ヒポホリン

%) であり、全移植卵数 106 卵中の 32 卵 (30.2%)、着床家兎のみについては 50 卵中 32 卵 (64%) の着床率であった。

着床例中 1 羽は開腹後死亡、1 羽はおそらく全胎仔の死亡吸収を来したものと思われ分娩に到らなかった。他の 5 羽は移植後 26~33 日目に分娩したが、着床卵数 24 個に対し産出仔数は 15 羽であった。産出仔はいずれも外観上正常であり、26 日目に娩出した 2 羽 (25g) を除き平均体重 40g (37~42g) の成熟仔であった。

〔第 I 群〕 18 羽中 2 羽 (11.1%)、全移植卵数 133 卵中 8 卵 (6.0%)、着床家兎については 16 卵中 8 卵 (50%) に着床を認めた。分娩に到ったのは 1 羽で、妊娠持続期間は 33 日、産出仔は 4 羽 (着床卵数 5) で平均体重 39g であった。

〔第 II 群〕 18 羽中 5 羽 (27.8%)、全移植卵数 121 卵中 23 卵 (19.0%)、着床家兎については移植 38 卵中 23 卵 (60.5%) に着床が認められ、実験群中で最高の着床率を示した。

分娩に到ったものは 3 羽で、妊娠持続期間は 24~28 日、産出仔数は 8 羽 (着床卵数 14) で 24 日目娩出の 2 羽 (25g) を除き平均体重約 40g (38~40g) であった。

〔第 III 群〕 10 羽中 1 羽 (10.0%)、全移植卵数 70 卵中 3 卵 (4.3%)、着床家兎については 8 卵中 3 卵 (37.5%) の着床率であり、着床家兎は移植後 25 日目に平均体重 24g の未熟仔 2 羽を娩出した。

〔第 IV 群〕 10 羽中 1 羽 (10.0%)、全移植卵数 65 卵中 4 卵 (6.2%)、着床家兎については 7 卵中 4 卵 (57.1%) の着床率で、着床家兎は移植後 30 日目に平均 40g の胎仔 4 羽を娩出した。

以上の如く、実験群においては、対照群に比しいずれの群も着床率の低下が認められるが、E 3 γ /日、P 3 mg/日とともに HCG を始め 3 日間 100iu づつ投与した第 II 群においても最も良好な成績が得られており、とくに全移植卵数に対する着床卵の比率では χ^2 検定にて危険率 5% で他群との間に有意差が見られる。実験家兎数に対する着床成功家兎数の比率および着床成功家兎における移植卵数と着床卵数の比率でも第 II 群がもっとも高いが、推計学的には有意差を認めない。

着床後における胎仔の死亡吸収率、妊娠持続期間、娩出胎仔体重等については例数が少ないので各群間の相違は明らかでない。

卵の着床部位は HCG を卵移植後まで投与した第 III 群において子宮角下半部に局限していたが、他の群ではいずれも対照群と同様に子宮角全長にわたりほぼ平等に分布していた。

組織学的所見

表 1 着床率

	着床家兎数		全実験家兎について		着床家兎について	
	実験家兎数	移植卵数	着床卵数	移植卵数	着床卵数	移植卵数
非去勢対照群	7/15	46.7%	32/106	30.2%	32/50	64.0%
I 群	2/18	11.1%	8/133	6.0%	8/16	50.0%
II 群	5/18	27.8%	23/121	19.0%	23/38	60.5%
III 群	1/10	10.0%	3/70	4.3%	3/8	37.5%
IV 群	1/10	10.0%	4/65	6.2%	4/7	57.1%

1) 子宮 (写真 1, 2, 3, 4) : [非去勢対照群] 2 日目には内膜上皮は立方形ないし低円柱状で核は円形を呈しクロマチンに乏しい。排卵を誘発しない正常家兎子宮に比して腺細胞の増殖、腺の延長の傾向が認められるが軽度であり、子宮腺はなお直線状で分岐を認めず、分泌像は見られない。粘膜固有層においては軽度の毛細管拡張が認められる。粘膜下層の細動脈壁はやや肥厚し、筋層内に中等量のグリコーゲン顆粒が認められる。

4 日目には上皮細胞は円柱状となり、核は楕円形でクロマチン量は少ない。子宮腺は深さを増し、分岐迂曲が軽度に現われ、腺細胞には有糸分裂像が見られる。上皮および腺細胞基底側には少量のグリコーゲンおよびムコ多糖体類を含有する分泌顆粒を認める。粘膜固有層の毛細血管は増殖、拡張し、特に上皮直下に発達した毛細血管網を認める。筋層内グリコーゲンは中等量である。

6 日目には上皮細胞は高円柱状を呈し、核は長楕円形で細胞基底部に位置する。子宮腺は著明に分岐迂曲して鋸歯状となり、腺細胞内には多量のグリコーゲン、ムコ多糖体類を認める。腺腔内にもグリコーゲンを含む分泌物が存在する。粘膜固有層は増殖した腺管および拡張した毛細管で占められ、間質組織は相対的に著明に減少している。粘膜下層の細動脈壁は肥厚し、動脈走向のコイル化が認められる。筋層も著明に肥厚し、多量のグリコーゲン顆粒を含有している。

8 日目には、上皮細胞、腺細胞ともにやや丈を減じ、核は円形に近く、排列不整となりクロマチンに富む。子宮腺はなお分岐迂曲し鋸歯状を呈するが、腺腔は空虚で分泌機能の著しい減退を示す。粘膜固有層の毛細管腔はやや縮少し、筋層内グリコーゲンも減少している。

〔第 I 群〕 2 日目には内膜上皮細胞は立方形で、核は円形を呈するが対照群に比しクロマチン含有量はやや多い。腺細胞の増殖、腺の延長は極めて軽微である。粘膜固有層における毛細管の増殖、拡張もほとんど認められない。筋層はほぼ対照群と同様の発育を示し、中等量のグリコーゲン顆粒を含有する。

表 2 子宮, 下垂体, 副腎, 甲状腺の大きさ (6 日目)

		非去勢対照群	I 群	II 群	V 群	去勢対照群
体	重 (g)	2979.2	2945.8	2966.7	2975.0	2887.5
子 宮	重 量 (g)	10.03	9.94	13.33	2.38	1.59
	体部長 (cm)	1.53	1.50	1.54	1.44	1.40
	角部長 (cm)	11.71	11.48	12.30	8.74	7.28
	角部径 (cm)	0.82	0.78	0.97	0.33	0.21
下 垂 体 重 量 (mg)		35.3	36.8	38.4	38.1	37.0
副 腎 重 量 (mg)		499.0	519.3	531.1	534.4	523.8
甲 状 腺 重 量 (mg)		151.3	151.8	150.7	152.0	153.4

4 日目には子宮腺は軽度の分岐を示すが迂曲は認められず、腺腔内には勿論腺細胞内にもなおグリコーゲン、ムコ多糖体類の貯溜を認めない。粘膜固有層の毛細血管は軽度の増殖拡張を示すが、対照群に見られた如き上皮下の著明な毛細管発達とは認められない。

6 日目には内膜上皮は円柱状を呈するが、対照群に比して丈が低く、核は楕円形であるがなお中央に位置し、中等量のクロマチンを有する。子宮腺は軽度の分岐迂曲を示し、腺腔側細胞質内にムコ多糖体を含む分泌物を認めるがグリコーゲン含有量は少なく、腺腔内には分泌液をほとんど認めない。粘膜固有層毛細血管の増殖拡張は4日目より高度となるが、対照群に比しては著しく不良である。粘膜下層の細動脈はコイル化を示し、筋層の発達は良好で中等量のグリコーゲン顆粒が証明される。全体として対照群の4日目にほぼ匹敵する所見であるが、特に粘膜固有層毛細血管の増殖拡張が弱いのが目立つ。

8 日目には上皮細胞は円柱状で、核は楕円形であるがクロマチンに富み、排列不整となる。子宮腺はなお軽度の分岐迂曲を示す状態に止まり、分泌顆粒は認められない。粘膜固有層の毛細管はやや退縮を示し、筋層内グリコーゲンも減少している。

〔第II群〕 2 日目には内膜上皮細胞は円柱形で、核は楕円形を呈しクロマチン量少なく、多数の有糸分裂像を認める。子宮腺はかなり増殖伸長を示すが、なお直線状で分泌像は認められない。粘膜固有層の毛細血管は同時期の対照群よりもやや著明に増殖拡張し、すでに上皮下に発達した毛細血管網を認める。粘膜下層の細動脈壁の肥厚も比較的著明で、筋層内には大量のグリコーゲン顆粒を有する。

4 日目には上皮細胞は円柱状で、核は長楕円形、有糸分裂像は減少している。子宮腺は著しく増殖して分岐迂曲も著明となり、腺細胞内および腺腔内にグリコーゲン、ムコ多糖体類を含有する分泌物を認める。粘膜固有層の毛細管拡張もさらに高度となる。

6 日目には上皮細胞は高円柱状となり、核は圧平されて細胞基底部に位置する。子宮腺は強く分岐迂曲して鋸歯状を呈し、細胞内および腺腔内に多量の分泌物を認める。粘膜固有層はほとんど増殖した腺管および毛細管で占められ、間質組織は減少している。粘膜下層の細動脈は肥厚してコイル化を示し、筋層内グリコーゲン量は多い。

8 日目には対照群とほぼ同様の変化を示し、上皮細胞は高円柱状から立方形に移行し、核はやや小型になり、クロマチンに富み、排列不整である。子宮腺はなお分岐迂曲し鋸歯状であるが、分泌機能は減退し腺腔内には分泌液を認めない。しかし腺細胞内にはなお少量のグリコーゲン、ムコ多糖体を有する分泌物を認める。粘膜固有層の毛細管腔はやや縮小するが、粘膜下層の細動脈は6日目とほぼ同様のコイル化を示し、筋層内グリコーゲン量は減少して中等量である。

以上三群における子宮内膜の増殖および分泌機能はほぼ同一の傾向を赴つて推移し、いずれも6日目に最高に達して8日目には減退を示すが、第I群では対照群に比して各日ともその程度が弱く、特に粘膜固有層における毛細血管の増殖拡張に著明な差が見られる。一方第II群においては対照群と同様あるいはむしろやや高度な変化が認められた。筋層の増殖肥厚の状態は各群間にはほとんど差異が認められない。

6 日目における子宮の重量および大きさは第2表の如くで、第I群は対照群よりやや小であるがt検定にて有意差は認められない。第II群は第I群、対照群より大であり、特に重量および子宮角部径において両群より有意の増加(危険率5%)を示している。

〔第III群〕 4 日目迄は第II群とほぼ同様な内膜の増殖、分泌機能の発現を示すが、6日目には、子宮腺の分岐迂曲は極めて著明で鋸歯状を呈するものの腺細胞は立方化の傾向を示し、核は萎縮してクロマチンに富み、分泌機能はすでに減退してグリコーゲン、ムコ多糖体類の

存在はほとんど認められない。また一般に腺の著明な増殖に比し、粘膜固有層においては毛細血管の増殖拡張が軽度で間質組織に富んでいる。

〔第IV群〕 ほぼ第I群と同様の変化を示し、内膜の増殖、腺の分岐迂曲、分泌機能、粘膜固有層の毛細管拡張はいずれも非去勢対照群および第II群に比して弱い。筋層の発達は比較的良好で対照群に近い。

〔去勢対照群〕 去勢後3週間無処置の家兎では、内膜は極めて菲薄で、子宮腺は浅く少数であり、腺細胞は小型の立方形で核は円形でクロマチンに富んでいる。分泌機能は全く認められない。粘膜固有層は紡錘形ないし長楕円形の核を有する間質細胞に富み、少数の内腔狭小な毛細血管を認めるのみである。筋層も著明な萎縮を示し、グリコーゲン顆粒は全く認められない。

〔第V群〕 去勢後HCGのみを5日間投与した第V群においては、上皮細胞は立方形であるが、核はやや膨化してクロマチン量は比較的少ない。去勢対照群に比して、内膜はやや肥厚して子宮腺の伸長が認められ、粘膜固有層においても明らかに毛細血管の増殖拡張が見られる。腺細胞基底部には極く少数のグリコーゲン顆粒が存在する。粘膜下層の細動脈は軽度のコイル化が認められるが、筋層の厚さは去勢対照群とほぼ同様で強い萎縮を示している。

去勢対照群および第V群の子宮の重量および大きさは第2表の如くで、いずれも非去勢対照群、I群、II群に比して著明な減少を示すが、第V群では去勢対照群よりも大であり、子宮重量においてはt検定にて有意の増加が見られる。

2) 下垂体前葉〔写真6〕:〔非去勢対照群〕 検査各日ともほとんど同様な所見を呈する。 α 細胞は球形ないし楕円形で肥大性であり、細胞内には豊富な酸好性の微細顆粒を含む。 β 細胞では球形でPAS弱染性のものが多く、PAS強染性で不整形を呈するものが少数認められる。 α 細胞、 β 細胞ともに前葉全域にほぼ平等に分布している。 γ 細胞は比較的境界明瞭であり、 α 細胞あるいは β 細胞への移行型と思われるものが存在する。大型でPAS陽性コロイド物質や酸好性顆粒を多数含有するいわゆる妊娠細胞と見做し得るものは認められない。

〔去勢対照群〕 α 細胞は小型で、肥大性変化は認められず、胞体内微細顆粒は弱染性で少量である。 β 細胞は非去勢対照群に比してやや少数となり、不整形でPAS強染性のものが多く、前葉周辺部に偏在する傾向を有する。球状のPAS弱染性の β 細胞は少なく、またいわゆる去勢細胞と思われる細胞の出現は認められない。 γ 細胞は境界不明瞭な明調の細胞で、 α 細胞、 β 細胞への移行型は極く少数認められる。

〔I群、II群、III群、IV群、V群〕 これら各群の所見はほぼ去勢対照群と同様で、 α 細胞は小型で顆粒に乏しく、 β 細胞とくにPAS弱染性のものが減少している。 γ 細胞は境界不明瞭な明調な細胞で移行型は殆んど認められない。投与ホルモンの種類および投与日数による差異は今回の実験条件のもとでは明らかでない。

以上の如く非去勢対照群以外の群においては非去勢対照群に比し、下垂体前葉の機能は全体にやや低下していると思われる所見が得られた。下垂体重量は表2に示す如く各群間に全く有意差を認めない。

3) 副腎皮質(写真4, 5):各群とも検査日による組織学的所見の差異は認められない。

球状層は家兎においては明らかには区別し難いが、各群ともほぼ同様な所見を呈し小型の細胞が比較的密に集合し、形質内には豊富な可染性顆粒を含有する。脂肪顆粒は少ない。

束状層は非去勢対照群では可染性顆粒に富む細胞が索状に配列し、類洞腔がよく発達しているが、他の群ではやや厚さを減じ、顆粒に乏しく、類洞腔が狭小化の傾向を示す。

網状層においても非去勢対照群に比し他の各群ともやや巾が狭く、細胞内可染性顆粒が減少し、一部に核濃縮、細胞崩壊像、裸核などが見られる。

以上の如く副腎皮質の組織像は各群間に、それほど著明な差はないが、去勢群では非去勢対照群に比し多少とも機能低下を思わせる像を示し、且つEstrogen, Progesterone, HCG投与の影響はほとんど認められない。

考 按

西平¹⁰⁾は去勢家兎子宮内に排卵後約40時間の8細胞期受精卵を移植する実験において、Estradiol benzoate 5 γ , Progesterone 4mgの投与では全く着床を認めず、これに加えてP投与開始日(卵移植2日前)に100iuのHCGを静注した群においては、HCGにて排卵を誘発した非去勢正常家兎への受精卵移植の場合とほぼ同様の着床率を得たと報じている。今回の実験は70時間目の桑実胚の卵管内移植である点およびホルモン投与の形式においてこれとやや条件を異にするものであり、EおよびPのみの投与を行ったI群においても着床を認めたが、P投与に先立ってHCGを静注したII群の着床率はI群より明かに高く、HCGの着床促進作用を示している。

HCGの着床促進作用としては、HCGが直接に、あるいはEstrogen, Progesteroneの作用に何らかの影響を及ぼすことにより間接的に子宮における着床準備態勢を良好ならしめるものか、あるいは受精卵の発育に関与

しその着床能を高めるのではないかと考えられるが、これらの点に関しては従来ほとんど報告を見ない。著者は主として子宮の組織学的検索によりこの問題の解明を試みたのであるが、第Ⅱ群の子宮内膜は第Ⅰ群に比して、高度の子宮腺増殖、分泌機能の発現、粘膜固有層における毛細血管の拡張等明らかに受精卵着床に対してより適した条件を備えており、HCG が卵巣を介さずに内膜に作用しうることを示している。去勢後 HCG のみを投与した第Ⅴ群の所見はさらにこれを裏づけるものであり、無処置の去勢対照群に比して子宮重量は有意の増加を示し、軽度ながら内膜の肥厚、子宮腺の延長、固有層毛細血管の拡張が認められた。

生体内における性ステロイドの産生部位としては副腎皮質があり、西田¹¹⁾は去勢婦人に対する ACTH, PMS, HCG 投与により尿中 Estrogen 量は一定の傾向は示さないが増加を認める場合もあると述べている。また東条¹²⁾らは牛副腎組織を用いた *in vitro* の実験より、副腎においては Dehydroandrosterone あるいは Testosterone から Δ^4 Androstendione を経て Estrogen が産生されるが、HCG は Δ^4 Androstendione の生成過程を賦活することにより Estrogen 産生を促進する可能性を有するとしている。したがって去勢家兎における HCG の内膜に対する作用は HCG が直接あるいは下垂体よりの ACTH ないし Gonadotropin の分泌を介して副腎からの性ステロイド産生を促進することによるのではないかと考えられるが、HCG を投与したⅡ群およびⅤ群の下垂体、副腎の組織像はⅠ群および去勢対照群に比して明らかな変化を認めず、非去勢対照群と比較すればむしろ機能低下を思わせる像を呈している。下垂体あるいは副腎の組織像のみからその分泌機能を推定することには問題があるが、少なくとも今回の実験条件では HCG が副腎皮質よりの性ステロイド分泌を促進するという積極的な証明は得られなかった。一方もし HCG の作用が副腎からの性ステロイド分泌を介するものならば、HCG 非投与群においても E あるいは P の投与量を増すことにより着床率の増加を来してよいわけである。この点に関してはなお検討の余地があるが、Estradiol 5 γ , Progesterone 4mg を用いた西平の実験でも HCG 非投与群では全く着床を見ていないことから一応この可能性は否定してもよいのではないかとと思われる。今回の実験においてもⅠ群とⅡ群および非去勢対照群の間に子宮筋層の発育に関しては内膜に見るごとき差異が認められず、またⅤ群において内膜の増殖傾向が見られるにも拘らず筋層は去勢対照群と同様な強い萎縮状態に留まっているが、これらの所見は HCG の子宮に対する作用が単に Estrogen, Progesterone の増量によっては補われない特異的

なものであることを推定させる。

受精卵の着床が必ずしも Estrogen, Progesterone 支配下の子宮内膜でなくとも起り得ることは、子宮外妊娠の存在からも明らかであるが、実験的にも卵の前眼房移植 (Fawcett¹⁴⁾, Runner¹⁴⁾, Ahlgren¹⁵⁾) あるいは腎被膜下移植 (Nicholus¹⁶⁾, Kirby¹⁷⁾) によって胚の分化発育は不完全であるが着床の可能なことが示されており、Kirby¹⁷⁾ はマウス胞胚の脾内移植により胎仔の発育をも報じている。分泌期子宮内膜に接する子宮内環境はたしかに受精卵の発育、着床能の獲得に最も有利な条件ではあるが、着床は本質的には栄養胚葉と母体血管系が有機的な結合を完成するという現象であって、生理的な子宮内着床においても内膜の増殖、分泌機能の問題とともに内膜血管系の問題も重視されねばならない。Böving¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾ は着床は常に内膜上皮下に毛細血管を有する部に局限して起り、栄養胚葉突起が血管に向って正確に進んで行くが、その趨向性を規制する因子は脈管性に内膜上皮に送られると述べて着床に対する内膜血管系の重要性を強調している。今回の実験においてⅡ群および非去勢対照群における内膜上皮下の毛細血管網がⅠ群に比し著明に発達しているのが見られたが、これは HCG の内膜血管系に対する特異的な作用を示唆する興味ある所見である。即ち HCG は内膜上皮下血管を増殖拡張させることにより、Estrogen, Progesterone の内膜への作用を増強すると同時に直接受精卵と母体血管の結合に好都合な条件を作り着床を促進するのではないかと考えられる。ただしⅡ群における着床率も非去勢対照群よりは劣っており、また卵移植後まで HCG の投与を続けたⅢ群においてはかえって上皮下血管網の発達は軽度で、子宮腺分泌機能はⅠ群、Ⅱ群、非去勢対照より早期に6日目には既に減退を示している。HCG の内膜に対する作用はその投与時期、投与量との関連のもとになお検討を要する問題であろう。

Ⅱ群における HCG の代りに牛下垂体前葉抽出製剤を投与したⅣ群においては着床率はⅠ群と同様でその着床促進作用は認められなかったが、自然交尾による正常の妊娠成立に際してはおそらく下垂体性の Gonadotropin, ことに排卵前に急激に増量する LH が今回の実験における HCG と同様な内膜作用を示し、内膜の着床準備態勢の完成に与かるものではないかと考えられる。

結 論

妊娠成立時の内分泌的条件を探究するため去勢家兎に Estrogen, Progesterone を投与しつつ交尾後約70時間の桑実胚を卵管内に注入移植する実験を行ない、さらに HCG あるいは牛下垂体抽出物を添加して着床率に及ぼ

す影響および子宮内膜、下垂体、副腎皮質の組織学的変化を検索した結果、次の結論を得た。

1) E 3 γ /日, P 3mg/日の投与により移植卵は着床し得るが, P 投与前に HCG 100iu を 3 日間投与した場合着床率は有意に上昇する。即ち HCG は着床促進作用を有する。

2) HCG 投与により子宮内膜の増殖, 分泌機能は増強されるが, 特に内膜上皮下の毛細血管の拡張が著明となることから, HCG は内膜血管系に作用することにより着床に適した条件を作るものと思われる。

3) 下垂体, 副腎の組織像には HCG 投与により機能亢進を示す変化は認められず, HCG はおそらく内膜に対し直接作用を有するものと考えられる。

4) HCG の着床促進作用はその投与時期, 投与量によって異なるものであり, 卵移植後まで HCG 投与をつづけた場合には着床率の上昇は認められない。

5) 牛下垂体抽出物にはこのような着床促進作用は認められなかった。

6) 生理的の妊娠成立時には下垂体性の Gonadotropin とくに LH が内膜に直接作用して着床を容易ならしめるものではないかと推定される。

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謹んで感謝の意を捧げると共に, 終始直接絶大なる御指導, 御鞭撻を賜った木下佐教授, 実験に際し御指導と御便宜を戴いた解剖学教室幡井勉教授, 橋本助教授に衷心より感謝の意を表し, 有益なる御助言を戴いた岩城, 百瀬講師ならびに御協力戴いた医局員諸氏に感謝する。

なお本論文の要旨は第13回日本不妊学会総会で発表した。

文 献

- 1) Meyer, G. : Delayed Implantation, Ed, by Allen, C. Enders, 213, 1963.
- 2) Nutting, E. et al. : Delayed Implantation, Ed. by Allen C. Ender. 233, 1963.
- 3) Shelesnyak, M. C. et al. : Acta Endocrinologica, 42 : 225, 1963.
- 4) Pincus, G. et al. : Am. J. Physiol., 124 : 484, 1938.
- 5) Chambon, Y. et al. : Compt. Rend. Soc. Biol., 146 : 1091, 1952.
- 6) Chang, M. C. : Endocrinol., 48 : 17, 1951.
- 7) Hafez, E. S. E. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 91 : 531, 1956.
- 8) Dickmann, E. et al. : J. Peprod. Fert., 13 : 3, 1967.
- 9) Psychoyos, A. : C. R. Acad. Sci, 252 : 2306, 1961, 257 : 1153, 1963.

- 10) 西平 : 日不妊会誌, 12 : 55, 1967.
- 11) 西田 : 第21回日産婦総会宿題報告要旨, 1969.
- 12) 東条 : 第20回日産婦総会宿題報告要旨. 1968.
- 13) Fawcett, D. W. et al. : Am. J. Anat. 81 : 413, 1947.
- 14) Runner, M. N. : Anat. Recod., 18 : 1, 1947.
- 15) Ahlgren, M. et al. : J. Reprod. Fert., 3 : 89, 1962.
- 16) Nicholus, S. J. : J. Exp. Zool. 90 : 41, 1942.
- 17) Kirby, D. R. S. : Nature., 194 : 785, 1960.
- 18) Kirby, D. R. S. : J. Reprod. Fert., 5 : 1, 1963.
- 19) Böving, B. G. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 80 : 21, 1959, 75 : 700, 1959.
- 20) Böving, B. G. : Contrib. to Embryol., 37 : 35, 1962.
- 21) Böving, B. G. : Recent Progress in Endocrinology of Reproduction, Ed. by Leoyd C. W., Academic Press, N. Y. 205, 1959.

Transplantation of the Fertilized Ova to the Ovariectomized Rabbits —Effects of HCG Administration on Implantation—

Tunehiro Uda

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

(Director : Prof. Dr. Motoyuki Hayashi)

The fertilized ova in morula stage were transferred to the uterine tubes of ovariectomized rabbits treated with estradiol, progesterone, HCG or bovine's anterior pituitary extract according to the schedules shown in Figure 1, to study the hormonal conditions for implantation of ova. The results recorded in Table 1 represent the significantly higher implantation ratio in group II than in group I, III or IV, suggesting some effects of HCG to improve implantation in the spayed rabbits.

Then, histological examinations were performed on the uterus, the anterior pituitary and the adrenal cortex of the ovariectomized rabbits which were treated on the same schedules except the transplantation of ova. In group II and III injected HCG with estradiol and progesterone, endometrial proliferation and its secretory activity were more excessive than in group I and IV untreated with HCG, though the secretory activity in group III was rapidly reduced on 6th day after initiating progesterone administration when it was in maximum in group II. Dilatation of blood vessels under the surface epithelium of endometrium was remarkable especially in group II. In group

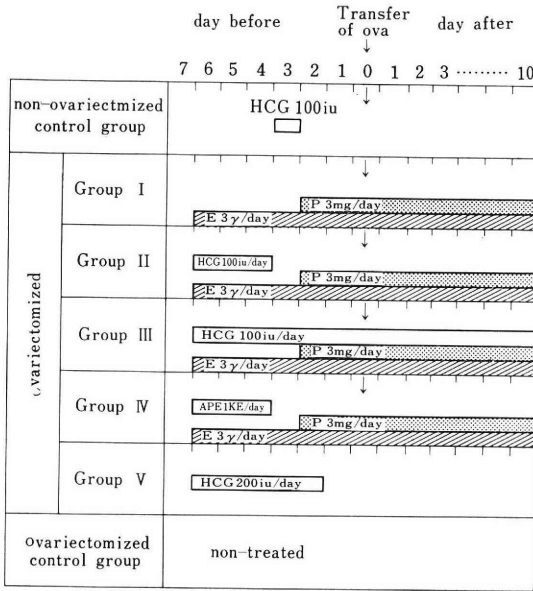


Fig. 1 Schedules of hormone-treatment and transplantation of ova
 E : estradiol (in oil), P : progesterone (in oil),
 HCG : human chorionic gonadotropin (Gonatotropin-Teikoku Zoki), APE : bovine's anterior pituitary extract (Hypohorin-Teikoku Zoki). Estradiol injections were begun on the day 3 weeks after ovariectomy.

V injected HCG alone, slight thickening of endometrium and considerable increase and dilatation of the stromal vessels were observed, and the uterine weight increased significantly compared with the ovariectomized control group (Table 2). There was no marked difference in histological views of the anterior pituitary or the adrenal cortex among each ovariectomized group.

It is suggested in these experiments that suitable dose of HCG may improve implantation of ova transferred to the ovariectomized rabbits treated with estrogen and progesterone, due to the direct effects on the vessels of the stroma of endometrium.

Table 1 Implantation ratio

	No. of rabbits		Implantation ratio	
	pregnant	total	No. of implanted ova	No. of transferred ova
non-ovariectomized control group	7/15	46.7%	32/106	30.2%
ovariectomized	Group I	2/18 11.1%	8/133	6.0%
	Group II	5/18 27.8%	23/121	19.0%
	Group III	1/10 10.0%	3/70	4.3%
	Group IV	1/10 10.0%	4/65	6.2%

Table 2 Weight or size of organs

		non-ovariectomized control group*	ovariectomized			
			Group I**	Group II**	Group V	Control
weight of animal (g)		2979.2	2945.8	2966.7	2975.0	2887.5
uterus	weight (g)	10.03	9.94	13.33	2.38	1.59
	length (cm)	11.71	11.48	12.30	8.74	7.28
	thickness (cm)	0.82	0.78	0.97	0.33	0.21
weight of pituitary (mg)		35.3	36.8	38.4	38.1	37.0
weight of adrenal (mg)		499.0	519.3	531.1	534.1	523.8

* estimated on 6th day after induction of ovulation

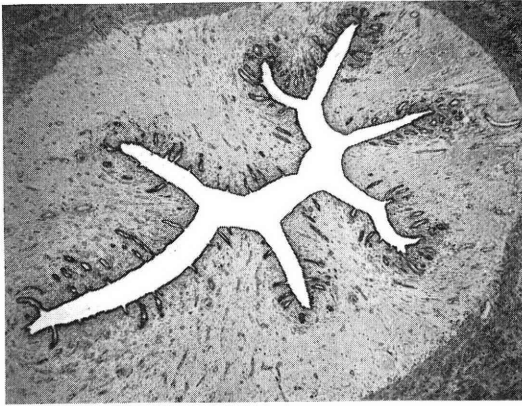
** estimated on 6th day after initiating progesterone injection

[写真1]

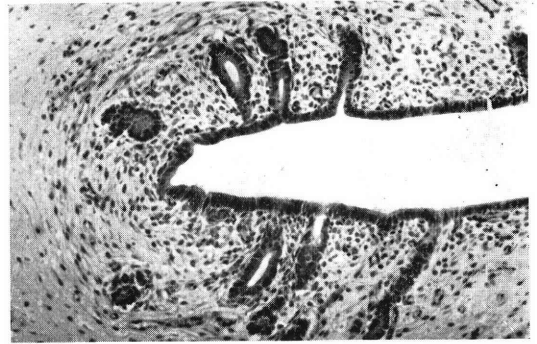
子 宮

2 日 目
HE 染色 ×20

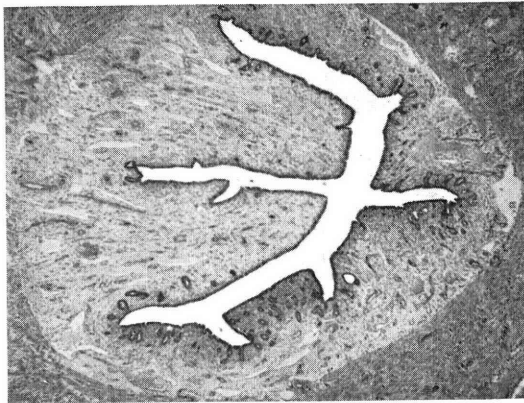
2 日 目
HE 染色 ×100



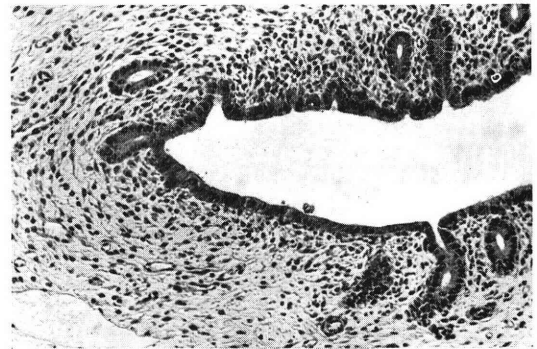
非去勢対照群



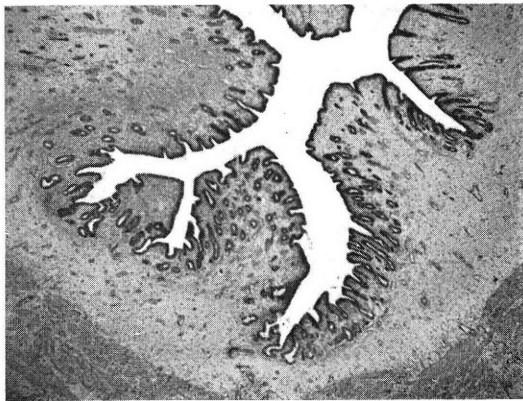
非去勢対照群



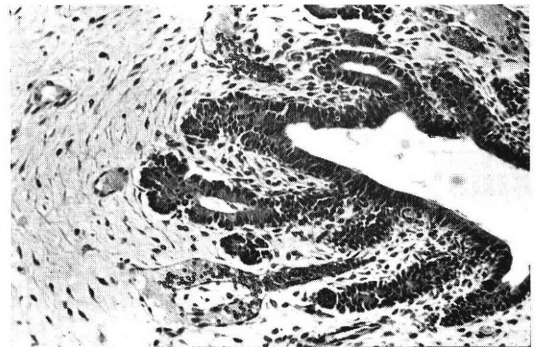
I 群



I 群



II 群



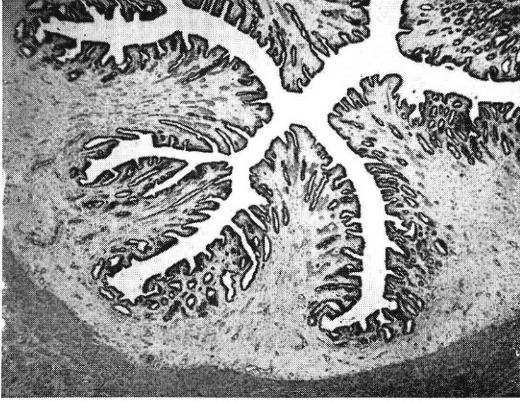
II 群

[写真 2]

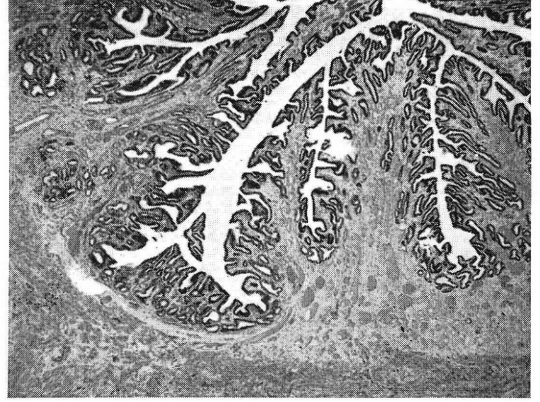
子 宮

4 日 目
HE 染 色 × 20

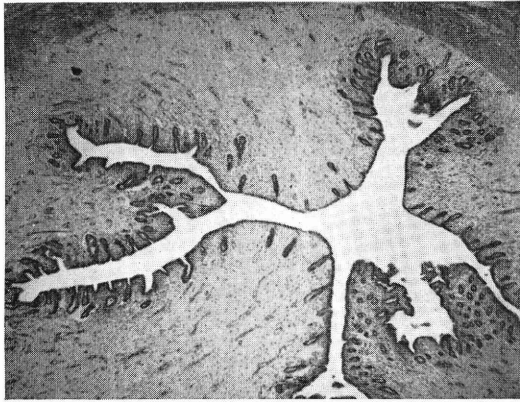
6 日 目
HE 染 色 × 20



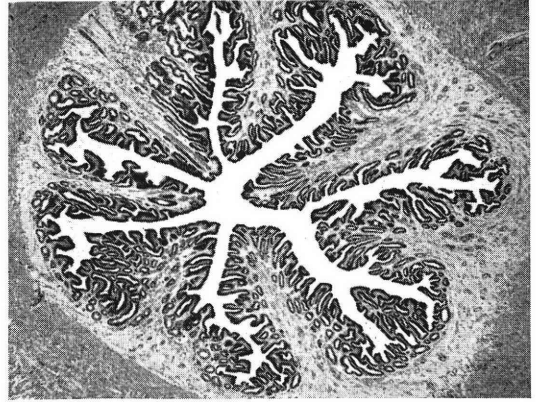
非 去 勢 对 照 群



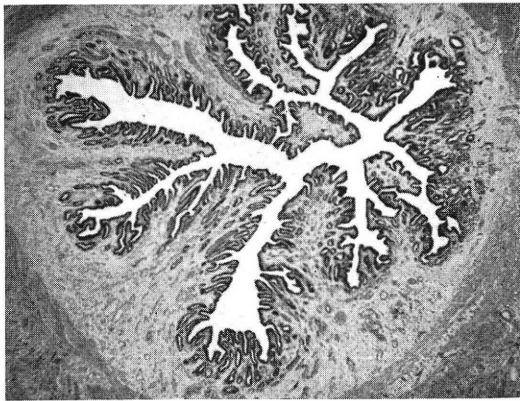
非 去 勢 对 照 群



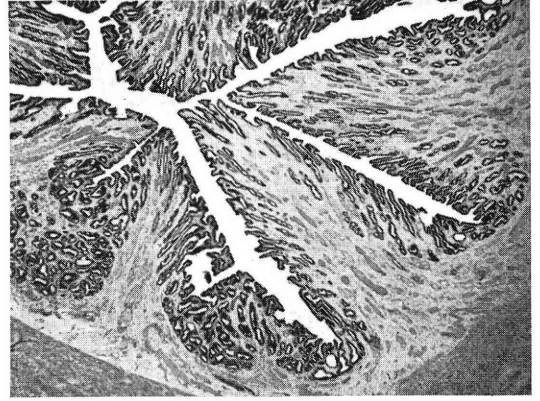
I 群



I 群



II 群



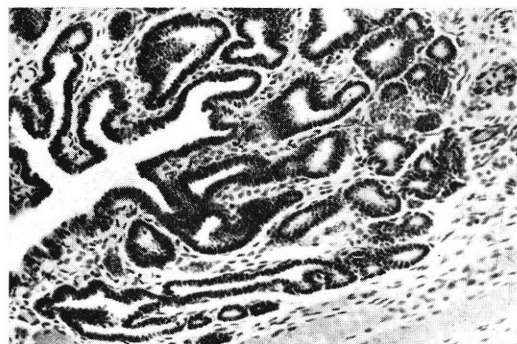
II 群

[写真3]

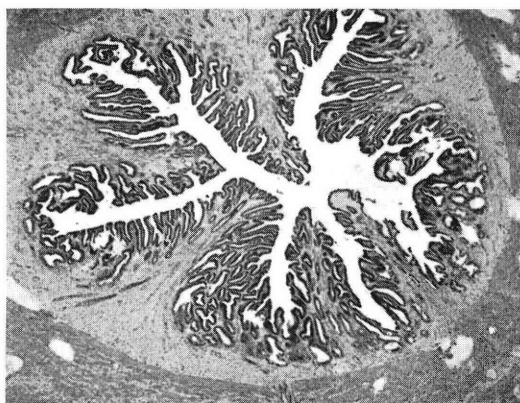
子 宮

6 日 目
HE 染色 ×100

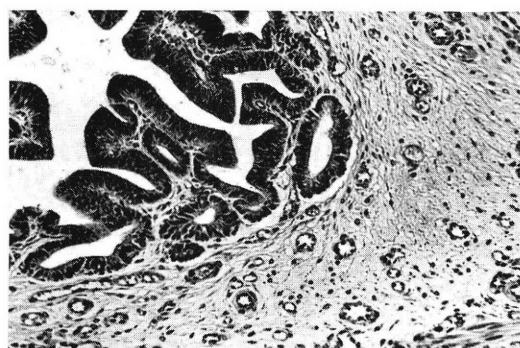
8 日 目
HE 染色 ×20



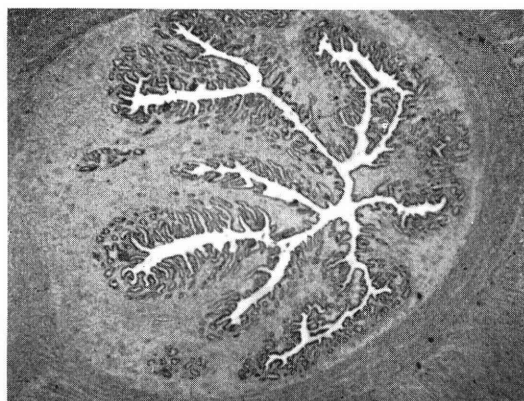
非去勢対照群



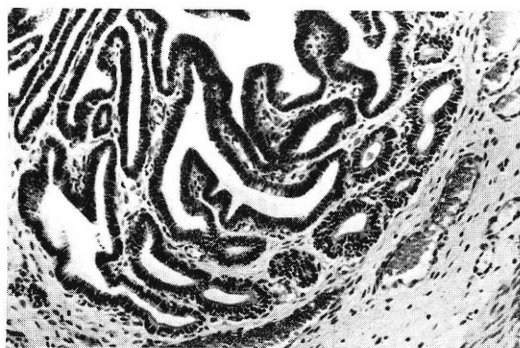
非去勢対照群



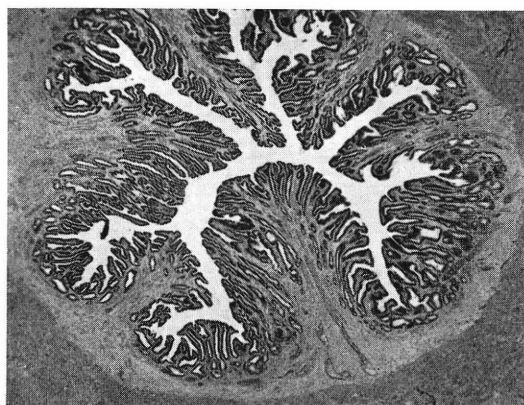
I 群



I 群



II 群



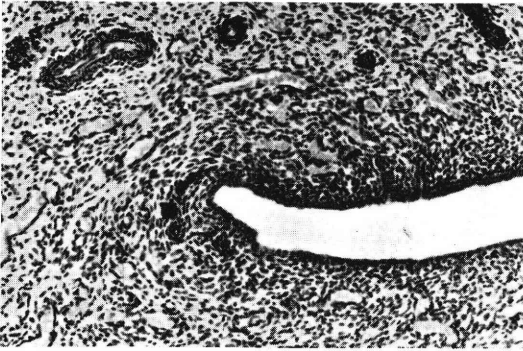
II 群

[写真 4]

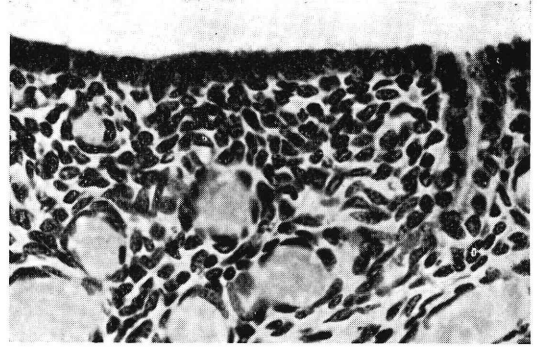
子 宮

HE 染色 ×100

HE 染色 ×400



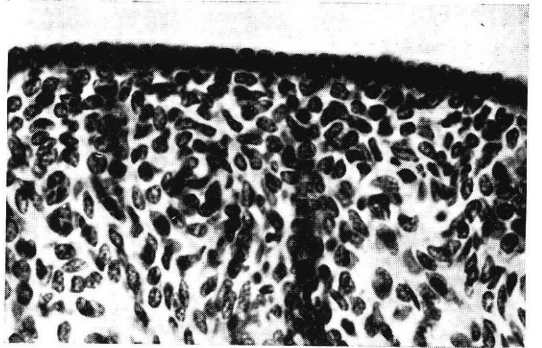
V 群



V 群



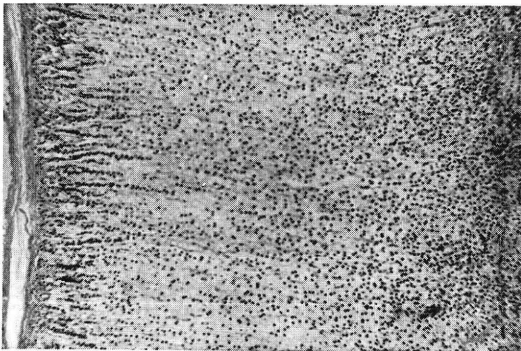
去勢対照群



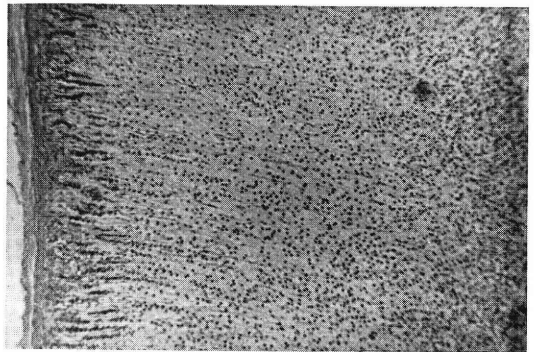
去勢対照群

副 腎 皮 質

HE 染色 ×50



非去勢対照群



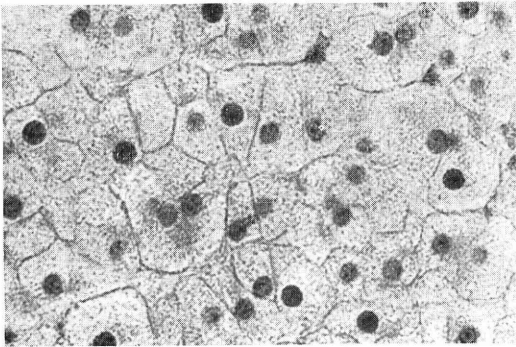
II 群

[写真5]

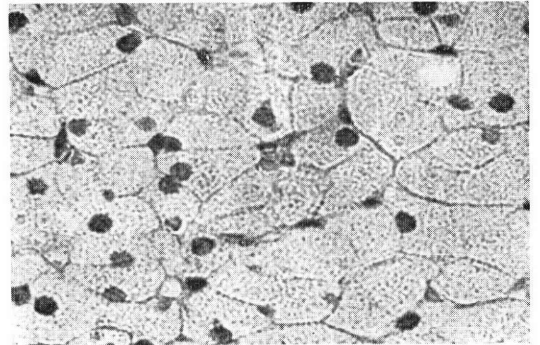
副腎皮質

束状層
HE染色 ×400

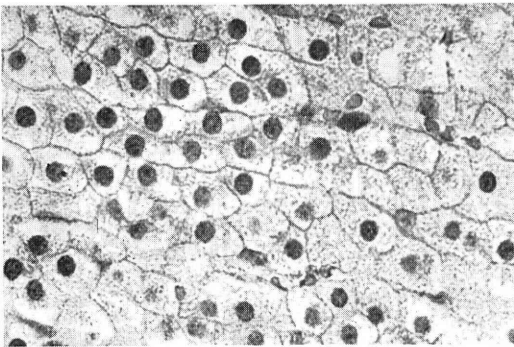
網状層
HE染色 ×400



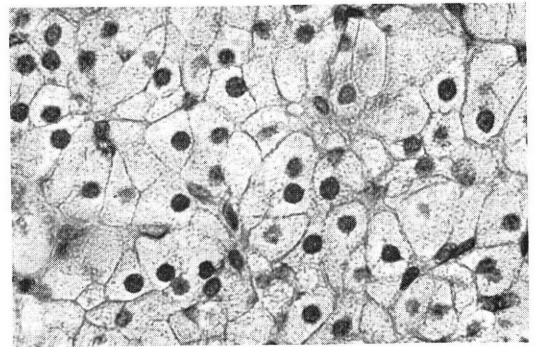
非去勢対照群



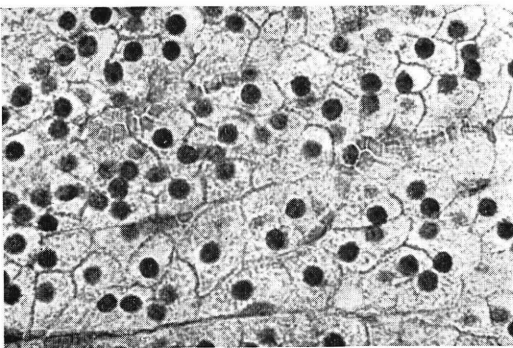
非去勢対照群



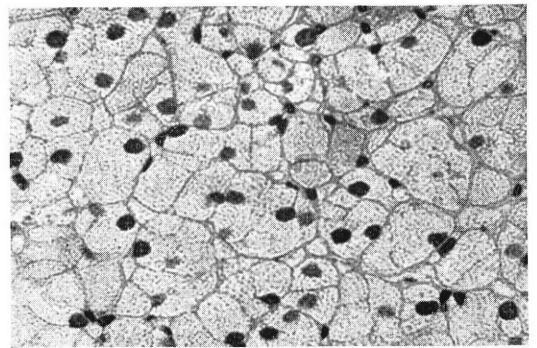
I 群



I 群



II 群



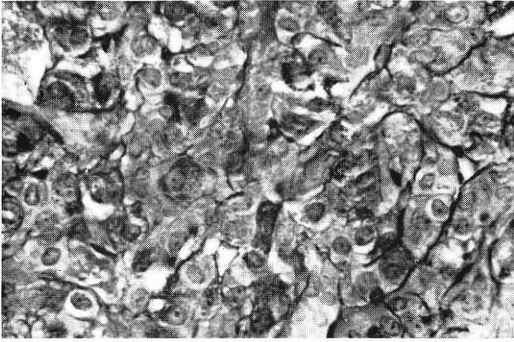
II 群

[写真6]

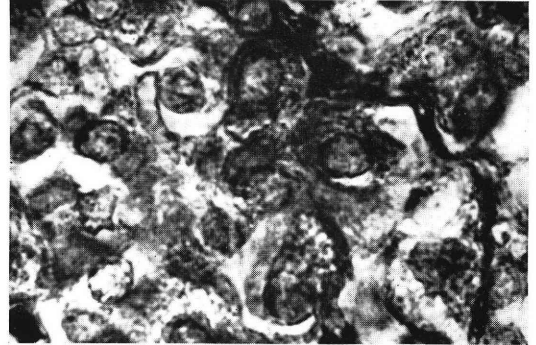
下垂体前葉

ルクソール・ファスト青染色
×400

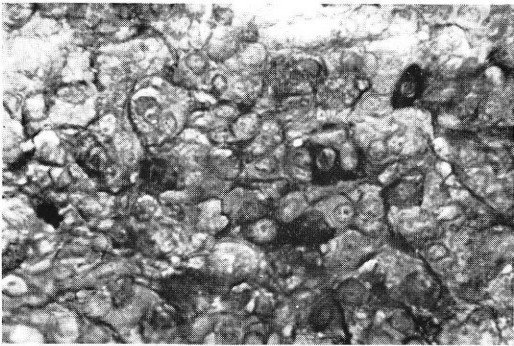
アザン・マレリー染色
×1000



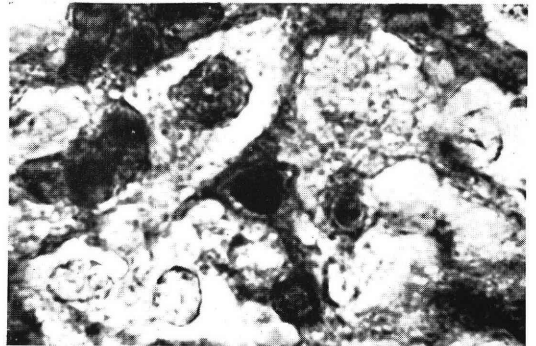
非去勢対照群



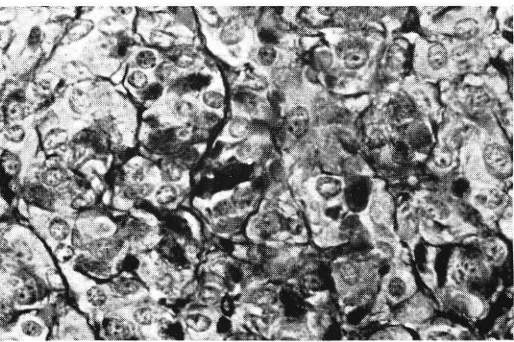
非去勢対照群



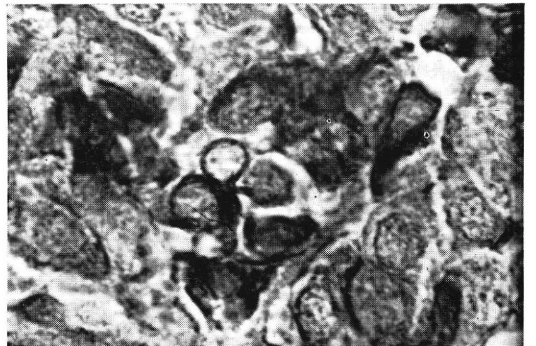
I 群



I 群



II 群



II 群

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)の添付が望ましい。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入すること。
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、学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括弧を入れて括弧で囲む。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、東京都大田区大森西7丁目5の22 日本不妊学会事務所宛とする。

日本不妊学会雑誌 15巻1号

昭和44年12月25日 印刷

昭和45年1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