

Japanese Journal of Fertility and Sterility

July 1970

日本不妊学会雑誌

第 15 卷

第 3 号

昭和 45 年 7 月 1 日

— 目 次 —

原 著

- クロミフェン投与時のラット睾丸および副性器の態度について……………今 津 曄・1
 過排卵処理による家兎卵巣の組織学的研究……………石島芳郎・他・10
 家兎副睾丸精子の運動性と受精能に関する研究……………今井敏郎・17
 男性不妊の治療 Treatment of male sterility
 I. 男性不妊症患者精液, 血清生化学値ならびに尿中ステロイド
 排泄値に及ぼす Metharmon M の影響……………石部知行・他・30
 男性不妊症の治療
 II. 男性不妊症患者精液, 血清生化学値ならびに尿中ステロイド
 排泄値に及ぼす Vitamin E の影響……………石部知行・他・37
 男性副性器分泌物と酵素
 III. 不妊患者精液酵素活性に及ぼすメサルモンMの影響……………石部知行・他・45
 男性副性器分泌物と酵素 (Male Adnexal Organ Secretion and
 Enzymes)
 IV. 不妊患者精液酵素活性に及ぼす Vitamin E の影響……………石部知行・他・54
 IUD の子宮内適合状況ならびに障害との関係……………高田道夫・他・63
 Follicle Stimulating Hormone (FSH) 特異抗体の作製と
 Radioimmunoassay への適用の可能性……………香山浩二・他・71
 月経周期異常の精神身体医学的研究
 とくに無排卵, 無月経における自律神経失調について……………村田高明・78
³H-6-Dehydro-retro-progesterone 投与後の組織内放射活性の測定……………大西武夫・88
 Reciprocal Transplantation of Eggs Between Rat and Hamster……………Chi-Hsiang LIN・94

CONTENTS

Testis and Accessory Organs of Rat Treated with Clomiphene Citrate.....	<i>A. Imatsu</i>	1
Histological Studies of Rabbit Ovaries with Superovulation Treatment		
.....	<i>Y. Ishijima & K. Ishida</i>	10
Studies on the movement and fertilizing capacity of the epididymal.....		
spermatozoa in the rabbit.....	<i>T. Imai</i>	17
Medical Treatment of Male Sterility		
I. Influence of Metharmon M on seminal fluid, biochemical values in serum and the amount of steroids excreted into urine.....	<i>T. Ishibe, A. Matsuki & Y. Fujimoto</i>	30
Medical Treatment of Male Infertility		
II. Effects of Vitamin E on the semen, blood chemistries and urinary		
steroids.....	<i>T. Ishibe, S. Matsuki & M. Kazuta</i>	37
Male Adnexal Organ Secretion and Enzymes		
III. Influence of Metharmon M on the enzyme activity in seminal plasma		
of patients with sterility.....	<i>T. Ishibe & S. Matsuki</i>	45
IV. Effect of Vitamin E on the enzyme activity of seminal fluid in.....		
patients with sterility.....	<i>T. Ishibe & S. Matsuki</i>	54
Studies on Localization of IUD and Relationship between its Position.....		
and Disorders.....	<i>M. Takata & M. Ochiai</i>	63
Preparation of anti-FSH specific serum and trial application of the serum to FSH radioimmunoassay.....	<i>K. Kouyama, C. Tanaka & S. Isojima</i>	71
Psychosomatic Studies on Menstrual Disorders with Special Reference to		
Autonomic Nervous Disorders	<i>T. Murata</i>	78
The Study of the Radioactivity in the Tissues of Rats after		
Administration of ^3H -6-Dehydro-retro-progesterone.....	<i>T. Onishi</i>	88
Reciprocal Transplantation of Eggs Between Rat and Hamster.....	<i>Chi-Hsiang LIN</i>	94

総会予告(最終回)

第15回日本不妊学会総会は下記のように開催されますので多数の御参加をお願い申し上げます。

- 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 1. 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 信 博士
2. シンポジウム
① 卵管の生理と病理
司会 東邦大 林 基之 教授
1) 家畜の子宮および卵管分泌液の精子に対する生理的意義 京大畜産 入谷 明 君
2) 卵管内卵と内部環境 慶応大産婦 鈴木 秋悦 君
3) 卵管収縮の筋電図による観察
京大産婦 中島 晃 君
4) 卵管の病態生理 東邦大産婦 内出 和子 君
5) 炎症による卵管環境異常について
千葉大産婦 高野 昇 君
② 男性不妊と副性器
司会 神戸大 石 神 襄次 教授
1) 副性器の先天異常と男性不妊
山口大泌尿 酒 徳 治 三 郎 君
2) 雄性副性器の生化学的検討
群大泌尿 志田圭三 君・島崎 淳 君
3) i 精子運動と前立腺亜鉛
ii 精子運動と前立腺, とくに亜鉛の作用について
鹿児島大泌尿 斉藤 宗 吾 君
4) 妊孕性に及ぼす副性器の役割, とくに
prostaglandin を中心として
千大泌尿 片山 喬 君・伊藤晴夫 君
5) 副性器に起因する男性不妊の臨床,
とくに頻度と治療について
神戸大泌尿 原 信 二 君・斉藤 博 君
- 演題申込 6月30日を以て締切りました。
宿泊, 観光について 会誌15巻2号に添付した用紙で早目に交通公社にお申込み下さい(7月31日締切)

第15回日本不妊学会総会会長

百 瀬 剛 一

日本不妊学会役員名

名誉会員

荻野 久作, 高橋 明, 山根 甚信, 広瀬 豊一,
吉松 信宝, 山田 一夫, 大野 精七, 黒沢 亮助

理事長

長谷川敏雄

副理事長

藤森 速水, 市川 篤二

理事

小林 隆, 野嶽 幸雄, 高嶺 浩, 森山 豊,
百瀬 剛一, 沢崎 千秋, 林 基之, 松本 清一,
辻 一郎, 明石 勝英, 熊本 悦明, 貴家 寛而,
穴戸仙太郎, 清水 寛一, 渡辺金三郎, 石塚 直隆,
清水 圭三, 足高 善雄, 石神 襄次, 西川 義正,
足立 春雄, 藤生 太郎, 仁平 寛己, 重松 俊,
加来 道隆, 三谷 靖, 赤須 文男, 黒田 恭一

監事

石川 正臣, 篠田 紘

幹事

大越 正秋, 高島 達夫, 飯塚 理八, 木下 佐,
大槻 清彦, 坂倉 啓夫, 五十嵐正雄, 入谷 明,
古谷 博, 岸本 孝, 山田 文夫, 蘭守 竜雄,
原 信二

連絡幹事

橋本 正淑, 三瓶 賢一, 木下 佐, 八神 喜昭,
古賀康八郎, 赤須 文男, 足立 春雄, 山田 文夫
註(上記ヲ略ス)

評議員

●北海道支部

石川 恒, 一戸喜兵衛, 池本 安夫, 石井 碩,
大越 隆一, 小川 玄一, 河田啓一郎, 金川 宗一,
佐々木栄一, 小森 昭, 斯波 光生, 清水 哲也,
島村 昭吾, 田畑 武夫, 永井 寿一, 中林 重実,
西谷 錦雄, 林 義 夫, 平沢 一志, 飛鋪洋三郎,
丸山 俊蔵, 松田 正二, 松田 禎二, 横尾 和夫,
鷲塚 三郎, 中島 文雄, 佐竹 実, 小森 昭人

●東北支部

梅津 元昌, 九嶋 勝司, 品川 信良, 篠田 秀男,
竹内 三郎, 高橋 克幸, 並木資四郎, 永井 泰,
西田 周作, 泰 良 磨, 平野 睦男, 舟生 富寿,
山口 龍二, 黒田 一秀

●中部支部

岩井 正二, 石原 実, 飯田 正章, 大池 哲郎,
岡 直友, 可世木辰夫, 川島 吉良, 小南 吉男,

小石今朝光, 楢山 正雄, 夏目 操, 中条 誠一,
野田 克己, 馬場 太郎, 林 徹, 森 晟,
森下 宗司, 余語 栄三, 富沢 康二, 福田 透

●北陸支部

赤祖父一知, 安達 弘章, 和泉 三郎, 飯田 和質,
内田 一, 遠藤 幸三, 大島浩太郎, 扇内寛一郎,
河崎屋三郎, 加藤 豊明, 桑原 惣隆, 越野 達郎,
小牧 久夫, 越上 康夫, 島木 彰, 竹内 隆良,
田川 僖胤, 館野 政也, 千鳥 哲也, 津川 竜三,
並木 重吉, 名越 和美, 中川 行雄, 中川 俊彦,
南後 千秋, 西田 悦郎, 原 忠男, 長谷川真常,
久住 治男, 藤田 幸雄, 松尾 宏作, 松浦 一,
松田 春悦, 牧野 襄, 三木 録三, 宮崎 好雄,
美川 郁夫, 村田 孝一, 山本 巖, 矢吹 俊彦

●関西支部

浅野 定, 赤堀和一郎, 井上彦八郎, 石川 昌義,
生駒 文彦, 稲田 務, 市川 茂孝, 井上 正二,
小倉 知治, 緒方 祐将, 小田 完五, 岡田 弘二,
金沢 稔, 加藤 篤二, 倉知 敬一, 久保 泰徳,
久保健太郎, 小島 秋, 榎木 勇, 下村 虎男,
新海 輝一, 新谷 浩, 新武 三, 杉本 修一,
園田 孝夫, 田村 峯雄, 谷村 実一, 竹村 喬,
高橋 義浩, 友吉 唯夫, 東条 伸平, 徳田 源市,
西村 敏雄, 浜田春次郎, 林 要, 原 信二,
的 埜 中, 前山 昌男, 前川 正信, 三林 隆吉,
水野 潤二, 宮崎 重, 村上 清, 村上 旭,
森村 正孝, 森 昭, 山村 博三, 安田 徳治,
横山 泰

●中国四国

植田 秀嶺, 新甲 洋, 田淵 昭, 藤原 篤,
熊本 寛格, 山内 啓年, 近藤 勝昂, 新島 瑞夫,
田中 良憲, 橋本 清, 堀 秀雄, 鳥越 正,
酒徳治三郎, 前田 一雄, 西島 義一, 鳥飼 明,
伊藤 正道, 齐藤 淳一, 国見 寿彦, 本森 良治,
黒川 一男, 後藤 甫, 長田 昭夫, 岡田 克弘,
齐藤 孝俊, 山本 文男, 赤枝日出男, 磯島 晋三

●九州支部

安部新太郎, 安部 宏, 今村 正臣, 石沢 靖之,
井 槌 進, 内野総二郎, 植木 貴明, 植田 健治,
江藤 耕作, 小川 次男, 岡西 俊彦, 岡元健一郎,
岡本 正幹, 門田 徹, 河津 竜介, 木葉 矩弘,
楠田 雅彦, 熊崎 一雄, 迎 俊彦, 滝 一郎,
近藤 厚, 小林 茂, 郡 嗣彦, 齐藤 宗吾,

坂口 偵佑, 清水直太郎, 自見 昭司, 杉 森 司,
田代 仁男, 土橋 英夫, 鍋倉 正夫, 中尾 泰三,
中原 哲夫, 中山 道男, 西山 久吉, 橋本 義夫,
蜂須賀茂彦, 日高 英幸, 広江 一正, 町野 碩夫,
松元 信衛, 丸田 博美, 増田 京, 宮原 通顕,
皆見 省吾, 森 憲正, 森 一郎, 八木 国男,
百瀬 俊郎, 薬師寺道明, 大谷 善彦, 加藤 俊

● 関東支部

芦田 浄美, 赤坂 裕, 安藤 弘, 荒木日出之助,
今道 友則, 岩津 俊衛, 岩城 章, 石田 一夫,
伊藤 光雄, 石原 力, 岩田 正道, 岩崎 寛和,
梅沢 実, 梅津 隆子, 尾川 昭三, 大村ひさる,
大井鉄太郎, 尾島 信夫, 大川 公康, 織田 明,
落合京一郎, 小川 正己, 大内 広子, 大久保文雄,
大野虎之進, 小畑 英介, 川上 博, 河辺 昌伍,
加藤 浩, 河合 信秀, 川井 博, 唐沢 陽介,
片山 喬, 加来 道隆, 木下 正一, 川上 正澄,
木下 二亮, 久保 秀史, 久保田くら, 久保 博,
栗原 操寿, 駒瀬 元治, 佐藤 靖夫, 佐藤 美好,
佐伯 政雄, 佐藤昭太郎, 佐久間勇次, 佐々木 計,
斉藤 豊一, 斉藤 幹, 志田 圭三, 島崎 淳,
鈴木 正勝, 鈴木 正彦, 鈴木 雅洲, 鈴木 武徳,

鈴木 三郎, 隅田 能文, 玉田 太朗, 高安 久雄,
田村 一, 田林 綱太, 竹内 正七, 田村 昭蔵,
竹岡 秀策, 高橋 文子, 田口 武, 街風 喜雄,
常包 正, 東福寺英之, 土屋 文雄, 戸沢 澄,
中山 徹也, 永田 正夫, 永瀬 弘, 中嶋 唯夫,
長野 正男, 丹羽太左エ門, 西村 隆一, 野末 源一,
野村 達次, 蜂屋 祥一, 幡谷 正明, 浜田 宏,
彦坂恭之助, 樋口 一成, 檜垣 繁光, 広井 正彦,
藤井 吉助, 福井 靖典, 藤原 幸郎, 藤井久四郎,
福島 穰, 細川 勉, 星冬 四郎, 星 修三,
松本 清一, 増淵 一正, 真柄 正直, 松山 栄吉,
馬島 秀麿, 松浦 鉄也, 南 武, 御園生雄三,
水野 重光, 水本 龍助, 三谷 茂, 三井 武,
村松 稔, 村国 茂, 室岡 一, 村山 茂,
森山 豊, 目崎 鉦太, 毛利 隆彰, 安井 修平,
百瀬 和夫, 山本 浩, 山本 皓一, 吉田 信行,
渡辺 彰, 渡辺 行正, 吉田 茂子, 矢内原啓太郎,
長内 国臣, 中井卓次郎, 高井 修道, 高木 繁夫,
橋口 精範, 丸山 正, 石橋 功, 佐橋 良雄,
吉田 重雄, 桜林 元夫, 柳沢 和孝, 山内 亮,
和出 靖, 宗像 教親, 杉山 四郎.

クロミフェン投与時のラット辜丸および 副性器の態度について

Testis and Accessory Organs of Rat Treated with Clomiphene Citrate

千葉大学医学部泌尿器科学教室 (主任 百瀬剛一教授)

今 津 晔

Akira IMATSU

Department of Urology, School of Medicine, Chiba University (Prof.: Goichi Momose)

成熟雄ラットに Clomiphene citrate (以下 Cl. cit.) を大量 (250 γ -1,000 γ /day) 長期間投与し、この際の辜丸及び副性器の態度について検討し、Cl. cit. の作用について次の如き結果を得た。

I. 成熟雄無処置ラットに Cl. cit. 1,000 γ /day \times 30 days の投与に於て従来云われていた様な 250 γ /day/rat で selective に Gonadotropin を抑制し、かつ又 Spermatogenesis を抑制するという様な結果は得られなかった。

II. 成熟雄無処置ラットでは Cl. cit. 1,000 γ /day は anti-androgenic action を有するものと考えられた。

III. 去勢雄ラットでは Cl. cit. は androgenic action を有するものと考えられ exogenous androgen と相乗効果を示すものと考えられた。

はじめに

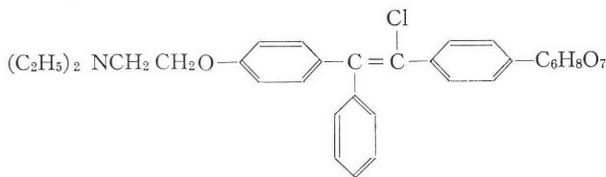
Clomiphene citrate (市販名 Clomid, 以下 Cl. cit.) は強力な排卵誘発剤として婦人科領域に於て既に広く臨床応用に供されている。又男子不妊症に対しても応用され ICSH の増加、造精機能亢進をきたすことが知られた¹⁾。しかるに実験的に雄ラットに大量投与を行うと Gonadotropin 分泌を選択的にほぼ完全に抑制し、造精機能障害をきたすとも云われている²⁾。

私は実験的に無処置成熟雄ラットに Cl. cit. を大量長期間投与し、この際の辜丸、副性器の態度について検討を加え、該物質の作用について若干の知見を得たので報告する。

実験材料及び実験方法

i) Clomiphene citrate

化学構造



(C₂₆H₂₈ONCl C₆H₅O₇)

化学名

2-[p-(2-chloro-1,2-diphenylvinyl)phenoxy]triethylamine dihydrogen citrate

急性毒性

経口 ラット : 5,750mg/kg body weight

マウス : 1,700mg/kg body weight

性状

白色粉末で、メタノールに溶けやすく温湯にやや溶けにくい。

ii) 実験動物

Wistar 系雄ラット、平均体重200g.

iii) 投与方法

ラット背部皮下に注射した。注射剤は Cl. cit. の白色粉末を37°C 恒温槽中で注射用蒸留水0.2ml に250 γ , 1,000 γ を含有する様調整した。Cl. cit. の投与は全実験群に連日行つた。但し Testosterone (Enarmon depot) は週1回 5 mg/rat を皮下注射で投与した。

iv) 実験群

実験 I

a) 無処置対照群

b) Cl. cit. 250 γ /day 投与群

c) Cl. cit. 1,000 γ /day 投与群

実験II

a) Castration 群

b) Castration+Cl. cit. 1,000 γ /day 投与群

c) Castration+Testosterone 投与群

d) Castration+Cl. cit. 1,000 γ /day +Testosterone 投与群

v) 臓器重量の測定

実験Iでは、実験開始後4日目、8日目、15日目、31日目に、実験IIでは1週間目、2週間目、3週間目に抱水クロラル(3.5%抱水クロラル注射液 1 ml/100 g ラット体重)の腹腔内注射にて麻酔し、辜丸、前立腺、精囊腺、下垂体を剔出し、直ちに Torsionbalance にて測定した。

vi) 組織標本の作製

組織重量測定後、それらの一部を直ちに Cleland 固定法⁹⁾によつて固定、エタノール系列脱水、パラフィン包埋、厚さ5 μ の標本を作製し、Hx-Eosin,PAS-Hx 重染色を行い、辜丸の一部では重量測定後直ちに-20 $^{\circ}$ C で凍結し、組織化学的検索の為厚さ10 μ の凍結切片を作製、Wattenberg 法に準じ、3 β -ol-Dehydrogenese (以下3 β -ol-DHG) 活性の検索に用いた。

実験結果

実験I

a) 無処置対照群

- i) 体重：実験開始日平均体重236g、以後体重は増加を続け8日目245g (3%増加)、15日目253g (7%増加)、31日目270g (14%の増加)を示した。
- ii) 辜丸重量：実験開始日平均1.2362g 以後漸増するが、これを体重100g 当りで見ると、日を経るに従つて減少を示した。
- iii) 前立腺重量：実験開始日0.2616g (110.8mg/100g Body Weight: 以下 B. Wt.) 以後増加を続け31日目0.3687g (136.6mg/100g B. Wt.) の平均値を示した。
- iv) 精囊腺重量：実験開始日平均0.8220g (348.3mg/100g B. Wt.)、以後著明に増加し、1週目0.9842g (401.7mg/100g B. Wt.) 31日目1.4302g (529.7mg/100g B. Wt.) を示した。
- v) 下垂体重量：実験開始日平均0.0053g (2.2mg/100g B. Wt.)、以後漸増し、31日目0.0075g (2.8mg/100g B. Wt.) を示した。

Clomiphene citrate 250 γ /day Group

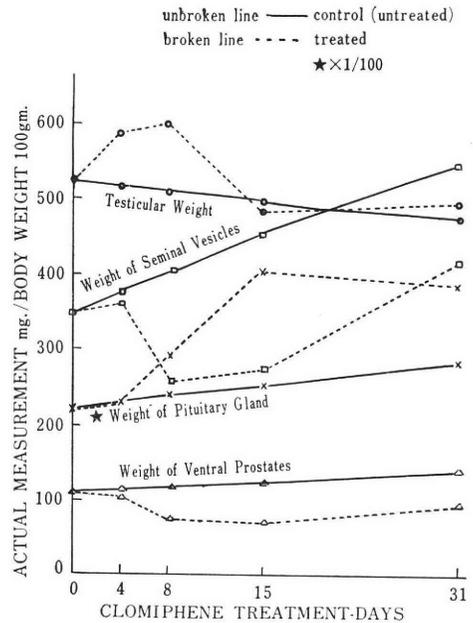


図 1

100g 体重比重量でみると、辜丸以外はその重量は増加を示すことが解つた。

b) Cl. cit. 250 γ /day 投与群 (図1)

- i) 体重：8日目192g と実験開始日平均体重190g より1%の増加、15日目23%、31日目35%の増加を示した。
- ii) 辜丸重量：4日目583.3mg/100g B. Wt.、8日目596.6mg/100g B. Wt. と増加を示したが15日目、31日目ではそれぞれ476.8mg/100g B. Wt.、481.1mg/100g B. Wt. とほぼ対照群に近い値を示した。
- iii) 前立腺重量：全実験日を通じて対照を下まわり、15日目で対照の58%迄減少し、31日目で対照の69%にとどまった。
- iv) 精囊腺重量：やはり全実験日を通じて対照を下まわり8日目で対照の68%、以後多少の増加を示すが、31日目で対照の74%にとどまった。
- v) 下垂体重量：8日目で降体重比重量で著明な増加を示し、15日目4.0mg/100g B. Wt.、31日目3.8mg/100g B. Wt. とそれぞれ対照より60%、36%の増加を示した。

c) Cl. cit. 1,000 γ /day 投与群 (図2)

- i) 体重：漸増を示し、31日目17%の増加であつた。

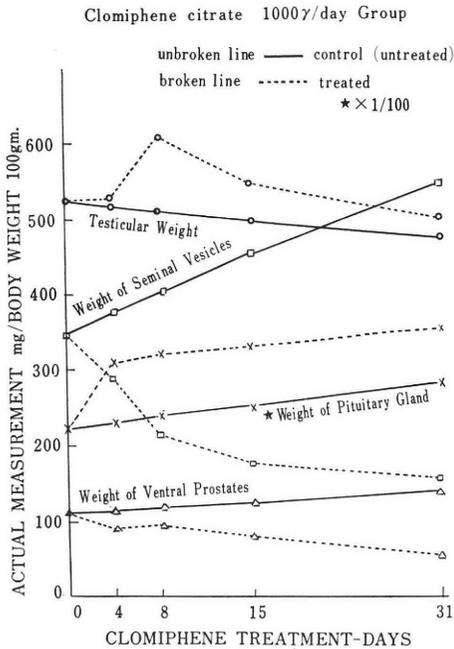


図 2

- ii) 睾丸重量：4日目、8日目と増加を示し、8日目で605.0mg/100g B. Wt. を示したが、以後減量し、31日目で490.6mg/100g B. Wt. を示したが、いずれも対照を上まわっていた。
- iii) 前立腺重量：著明な減少を示し、15日目80.3 mg/100g B. Wt. (対照の65%)、31日目52.6 mg/100g B. Wt. (対照の38%)を示した。
- iv) 精囊腺重量：前立腺重量と同様に著明な減少を示し、15日目178.4mg/100g B. Wt., 31日目154.8mg/100g B. Wt. とそれぞれ対照の40%、29%にとどまった。
- v) 下垂体重量：4日目0.0069g (3.1mg/100g B. Wt.), 15日目0.0076g (3.3mg/100g B. Wt.) 31日目0.0084g (3.5mg/100g B. Wt.) と絶対重量に於ても増加を示した。

Cl. cit. の250 γ 投与群と1,000 γ 投与群とを比較すると、両者共に各 parameter は同様の傾向を示したが1,000 γ 投与群が Cl. cit. 投与の影響を顕著に示していると考えられた。従って1,000 γ 投与群について組織学的に検討した。

対照群の睾丸組織像は正常成熟ラットの組織像を示し、その前立腺組織では濾胞は大きく、十分に内容を満たし、細胞の背は高く、folding はあまり見られず、濾胞全体が同一の状態を示した。

Cl. cit. 1,000 γ 投与群では、その睾丸組織像は実験の全経過を通じ、精細管上皮、間質に何ら変化を認めず

対照群と同一であることを示した(写真 1-i, 1-ii)。しかしその精細管径は対照に比し8日目13%、15日目7%の増加を示し、これは精細胞数の増加ではなく、内腔の開大、内容液の貯留によるものと考えられた。

Cl. cit. 1,000 γ 投与群の前立腺組織像は投与開始後15日目のものが、この群を代表する像を示すと考えられ、その濾胞は不規則な形を呈し小さくなり、上皮も全濾胞が同一状態を示さなく、一部のものは囊状を呈し、その上皮細胞も扁平化を來たしている。又間質には線維が増加している(写真 2-i, 2-ii)。この傾向は実験の日を重ねるに従って強まることが示された。

精囊腺にあつては、folding は極めて少なくなり、その背も低く扁平化する傾向が見られ(写真 3)、前立腺と同様、実験が日を重ねるに従って、内容はますます乏しくなり、萎縮傾向は増強されることが示された。

Cl. cit. 1,000 γ 投与群の睾丸間質 Leydig 細胞の3 β -ol-DHG 活性をみると、対照群では染色性は極めて低い、Cl. cit. 投与後1週、2週、3週は共に濃く染色され、これらに間に差を認めなかった(写真 4-i, 4-ii, 4-iii, 4-iv)。

尚このことは Cl. cit. 250 γ 投与群でも認められた。更に30日間 Cl. cit. 1,000 γ 投与後30日間放置したラットの睾丸では対照群と全く同様の染色性を示し、活性は低かった。即ち睾丸間質 Leydig 細胞の3 β -ol-DHG 活性 Cl. cit. が投与されている時に亢進するものと考えられた。

実験 II

実験 I において、Cl. cit. は無処置ラットの副性器に作用し、これらを萎縮させることが示された。そこで副性器に対する Cl. cit. の直接作用を検討する為実験 II を行つた。

a) Castration 群

- i) 体重：実験開始日より8日目47%、2週間目で58%、22日目72%と著明な増加を示した。
- ii) 前立腺重量：実験開始日0.1469g (90.1mg/100g B. Wt.) であるが、8日目0.0409g (17.0 mg/100g B. Wt.)、22日目に0.0320g (11.4 mg/100g B. Wt.) と著明な減少を示すが、8日目以降の減少は著明ではない。
- iii) 精囊腺重量：実験開始日0.5355g (328.5mg/100g B. Wt.)、8日目0.1877g (78.2mg/100g B. Wt.)、22日目0.1395g (49.8mg/100g B. Wt.) と著明に減少するが前立腺重量と同様に初めの1週間に減少が激しく、以後は漸減することが示された。
- iv) 下垂体重量：実験開始日0.0054g (3.3mg/100

g B. Wt.), 22日目0.0107g (3.8mg/100g B. Wt.) と増加した。

b) Castration+Cl. cit. 1,000 γ /day

i) 体重: Castration 群が2週間目58%, 3週間目72%の増加を示したのに対し, それぞれ9%, 8%の増加にとどまった。

ii) 前立腺重量: Castration 群にくらべ, 実測値でも体重比重量でも増加を示した。即ち Castration 群が2週間目0.0407g (15.8mg/100g B. Wt.), , 3週間目0.0320g (11.4mg/100g B. Wt.)を示したが, 本群ではそれぞれ0.0512g (24.6mg/100g B. Wt.) 0.0428g (20.9mg/100g B. Wt.)を示した。

iii) 精囊腺重量: 前立腺重量と同様の傾向が認められた。即ち Castration 群が2週間目0.1769g (68.6mg/100g B. Wt.), 3週間目0.1395g (49.8mg/100g B. Wt.)であるに対し, 本群ではそれぞれ0.1959g (94.2mg/100g B. Wt.), 0.1667g (81.3mg/100g B. Wt.)を示した。

iv) 下垂体重量: 絶対重量に於て減少を示したが2週間目0.0084g (4.0mg/100g B. Wt.) と対照を著明に上まわつたが, 3週間目では0.0069g (3.4mg/100g B. Wt.) と減少を示した。

c) Castration+Testosterone 5 mg/week 投与群

i) 体重: 3週目に於て a) 群が72%の増加を示すのに対し本群では25%の増加にとどまった。

ii) 前立腺重量: 3週目に於て a) 群が11.4mg/100g B. Wt. であるに対し本群では295.5mg/100g B. Wt. と無処置群のほぼ2倍を示し, 前立腺の Testosterone に対する反応の強さが知られる。

iii) 精囊腺重量: a) 群が3週間目49.8mg/100g B. Wt. であるに対し, 581.9mg/100g B. Wt. を示し, ほぼ無処置群と同じレベルに維持された。

iv) 下垂体重量: 3週間目 a) 群が3.8mg/100g B. Wt. を示すに対し, 本群では3.1mg/100g B. Wt. と減少を示した。

Testosteroneとして Enarhone depot 5 mg/week を投与することにより, 体重及び精囊腺重量を無処置対照群とほぼ同様状態に維持出来たが, 前立腺重量は約2倍を示した。

d) Castration+Cl. cit. 1,000/day+Testosterone 5 mg/week 投与群

3週目に於て, 下垂体は0.0059g (2.8mg/100g B.

Wt.) と Castration 群にくらべ著明な減少を示したが, 前立腺, 精囊腺重量については c) 群を やや上まわつた。c) 群がそれぞれ0.7334g (295.5mg/100g B. Wt.), 1.4490g (581.9mg/100g B. Wt.) であるに対し, 0.6953g (334.3mg/100g B. Wt.), 1.4451g (694.8mg/100g B. Wt.) を示した。

a) 群の結果から推定される様に, 去勢後1週にしてほぼ完全に内因性 Androgen 欠乏状態を呈し, 副性器はその萎縮も限度に達するものと思われた。組織学的にも副性器は去勢後1週, 2週, 3週の間差を認めなかつた。従つて去勢3週目の組織像をこの群の対照とした。

a) 群の精囊腺は, その被膜は著明な線維化を呈し肥厚し, 憩室自体が小さく萎縮しており, 前立腺では腺腔は不規則となり, 周囲に線維化強く, その上皮細胞も様々の変化を示し, 萎縮が著明である(写真5-i)。b) 群の去勢後 Cl. cit. を3週間投与したものでは, 精囊腺は a) 群にくらべ内容は乏しいが存在し, 前立腺では腺腔は多くは拡張しているが, 全体的に小さく, 又 a) 群の場合に見られた様な間質の線維化は少ない(写真5-ii)。c) 群の去勢後 Testosterone を週1回3回投与したものではその精囊腺は内容も多く, 上皮は背が高く肥大を示し, 被膜の線維化はそれ程高度ではない。前立腺では腺腔は拡張し, 内容を充たし, 上皮も増殖傾向が著しい。しかし間質には著明な浮腫が認められ, 線維化は少ない(写真5-iii)。d) 群の去勢後 Cl. cit. 1,000 γ /day \times 3 weeks+Testosterone 5 mg/week \times 3 weeks 投与したものでは, その精囊腺は c) 群と大きな差はなく, 前立腺では c) 群とくらべて間質の浮腫は少なく, 腺腔は大きくはないが, その上皮は著明に肥厚し増殖傾向が強い(写真5-iv)。

まとめ

(A) 無処置成熟雄ラットに Cl. cit. を大量長期間投与した場合(実験 I)

i) 体重は実験期間中増加するが, 250 γ 投与群の方が 1,000 γ 投与群よりまさる。

ii) 辜丸重量は対照を上まわり, 特に初めの1週間の増加が目立つ。組織学的に造精機能亢進或いは抑制は認められなかつた。Cl. cit. 投与中 3β -ol-DHG 活性は亢進を示した。

iii) 前立腺, 精囊腺重量は減少し, 特に1,000 γ 投与群で著るしく, その組織像も萎縮を示した。

iv) 下垂体重量は増加を続けた。

(B) 成熟雄ラットを去勢(以下 Cast.)し, これに Cl. cit. (以下 Cast.+Cl. cit.), Testosterone (以下 Cast.+T.) 及び両者併用(以下 Cast.+Cl. cit.+T.) した

場合 (実験 II)

- i) 体重増加は (Cast.) で最も大きく, (Cast.+Cl. cit.) で最も小さかった. 即ち去勢対照ラットを越えるものはなかった.
- ii) 前立腺重量は (Cast.+Cl. cit.+T.) が最大の増加を示し, (Cast.) が最も小さかった. Cast.+Cl.+cit.) は (Cast.) の約 2 倍を示した. 組織学的に (Cast.), (Cast.+Cl. cit.) 共に著明な萎縮を示すことは同じであるが, (Cast.+Cl. cit.) では間質の線維化は少なく, (Cast.+T.) で著明に見られる間質浮腫も (Cast.+Cl. cit.+T.) では軽度であった.
- iii) 精囊腺重量は (Cast.) が最も小さく (Cast.+Cl. cit.+T.) が最も大きく, (Cast.+Cl. cit.) は (Cast.) の 63% 増加, (Cast.+Cl. cit.+T.) は (Cast.+T.) の約 20% の増加を示した.
- iv) 下垂体重量は (Cast.) で最も大きく, (Cast.+Cl. cit.+T.) で最も小さかった. (Cast.+Cl. cit.) は (Cast.+T.) より大きかった.

考 按

実験 I, II を通じて体重減少をきたしたラットはいなかった. Holtkamp 等⁴⁾, Nelson 等⁵⁾, Bradin 等⁶⁾ は成長, 甲状腺機能, 副腎機能, 肝腎機能に対して Cl. cit. は何ら副作用を示さないことを報告している. このことから本実験の如き投与量に於いては, 何ら副現象をおこさない為に体重増加をもたらしたと解釈したい.

Karla and Prasad⁷⁾ の幼若ラットでの報告によれば, Cl. cit. 250 γ の投与は, 選択的に Gonadotropin を抑制し, 辜丸 Leydig 細胞は inactive となり, Spermatogenesis は primary spermatocyte の段階で抑制され, 対照の辜丸重量 1,491 \pm 118mg (体重 86g) を 216 \pm 18mg (体重 74g) に迄減少させ, この際副性器も著明な減少をきたすという. しかるに人間についての報告をみると Bardin 等⁸⁾ は Cl. cit. は pituitary-Leydig cell axis を刺激し, 血中 ICSH を増加させ, その 2~6 日後には Testosterone level を増加させるが, Hypopituitarism 又外部より Androgen を投与されたものでは ICSH 及び Testosterone level に何らの影響を与えないと報告している. 又 Heller 等⁹⁾ は 50~400mg の Cl. cit. を平均 7 ヶ月間投与し, やはり pituitary-gonadal axis を刺激することにより, 投与量, 投与期間に無関係に尿中 Gonadotropin 及び Testosterone level を増加させ得たが, 50mg/day 位の少量では精子数の増加を, 中等量 (100mg~200mg/day) では精子数は増減両態度をとり, 多量 (200mg/day 以上) では著明な減少をきたし, これは少量投与による Spermatogonial level への刺激と

大量投与による spermatid への direct damaging action によるものであることを示した.

本実験は成熟ラットを用いてはいるが, 1,000 γ (及び 250 γ でも) 投与によつても Leydig 細胞は inactive とならず, かつ 3β -ol-DHG 活性亢進より考え, Gonadotropin は抑制されず, かつ又 Testosterone level も低下していないものと判断せざるを得ない. 即ち Bardin 等⁸⁾, Heller 等⁹⁾ の人間の成績にくらべられるものと考える.

更に Roy 等¹⁰⁾ によると Cl. cit. はラット下垂体及び子宮への radioactive Estradiol の uptake を抑制するという. 即ち anti-estrogenic な作用を持つといい, Cl. cit. はこの anti-estrogenic function によつて ICSH (LH) 放出の trigger となるものであると推定している. 即ち Cl. cit. は Hypothalamus 又は下垂体前葉の LH (ICSH) 放出と関係のある receptor と可逆的に結合し, これら receptor への Estrogen (or Androgen) の抑制効果を妨げるものであるとの仮説を立てた.

著者の実験 I もこの仮説によれば, Cl. cit. の投与によつて, hypothalamo-pituitary 系の Androgenreceptor が block されたため, ICSH 分泌が亢進し, 辜丸 Leydig 細胞の 3β -ol-DHG 活性の亢進をみ, 恐らくは Androgen 分泌も増加したであろうが, 中枢に於ける receptor の block と同様に Androgen の標的臓器である副性器の Androgen receptor をも block された為, 副性器重量の減少, 萎縮という結果が招来されたと考え得る. 即ち無処置成熟ラットでは Cl. cit. (投与量 250 γ ~1,000 γ /rat) は anti-androgenic な作用を有するものと考えられた. 又実験 I で辜丸精上皮に何ら変化を認めなかったのは, 成熟雄ラット (平均体重 200g) への Cl. cit. 250 γ 或いは 1,000 γ 投与は Heller 等⁹⁾ の人間での精子数に変化を与えないという intermediate dosage に相当するとも考えられ, Leydig 細胞活性化の所見からして辜丸内は高 Androgen 環境におかれている為 Cl. cit. の辜丸 androgen-receptor への block 作用が及ばないのではないかと解釈される.

実験 II について, 3 週目で各群を比較してみると, 前立腺, 精囊腺共に去勢群では最も萎縮が強くと, これに Cl. cit. を投与すると, 萎縮, 重量減少傾向は少なくなる. 又去勢後 Testosterone のみを投与したものよりも, これに Cl. cit. を併用したときの方が, 前立腺, 精囊腺重量は共に大きいことが示され, 更に各群の下垂体は副性器とは逆にその重量は Castration 群で最も大きく, Testosterone と Cl. cit. 併用群で最も小さくなつていくことが示されたが, このことは Androgen 投与による下垂体機能の低下, 萎縮及びこれに伴う Leydig 細胞

の機能低下が去勢ラットの為見られず, Androgen 投与がそのまま副性器の肥大に導いたものと解釈出来, かつ Cl. cit. 投与により, 去勢ラットの副性器を去勢ラットのそれよりも重量の上で増加させたことは Cl. cit. が去勢という内因性 Androgen 低下又は欠如状態では weak androgen として作用すると解釈出来る所見である. この Cl. cit. の投与対象の内分泌環境によるこの様な相反する二面作用は, 人間女性⁹⁾ で又末熟雌ラット及び垂摘ラット¹⁰⁾でも既に認められていることである.

結 語

- i) 成熟雄無処置ラットに Clomiphene citrate 1,000 γ /day \times 30days の投与に於て従来云われていた様な 250 γ /day/rat で selective に Gonadotropin を抑制し, 又 Spermatogenesis を抑制する様な結果は得られなかった.
- ii) 成熟雄無処置ラットでは Clomiphene citrate 1,000 γ /day は anti-androgenic action を有するものと思われた.
- iii) 去勢雄ラットでは Clomiphene citrate は androgenic action を有するものと考えられ exogenous androgen と相乗効果を示すものと考えられた.

(尚本論文の要旨は第14回日本不妊学会総会及び第54回日本不妊学会関東地方部会で発表した.)

終りに, 御指導, 御校閲を戴いた百瀬剛一教授, この研究に特に御助力を戴いた片山喬講師, 組織標本作製に御協力を戴いた伊藤やす氏に深謝する.

参 考 文 献

- 1) Raymond, C. M. and Robert, J. T.: Fertil & Steril Vol. 17: 94, 1966.
- 2) Kalra, S. P. and Prasad, M. R. N.: Endocr 81(4-6): 965, 1967.
- 3) Mavis, J. R. and Carl G. Heller: Fertil & Steril Vol. 17, No. 2, 177, 1966.
- 4) Holtkamp, D. E., L.G., Greslin, C.A. Root,

and L. J. Lerner, : Proc Soc Exp Biol Med 105: 197, 1960.

- 5) Nelson, W. O. and D. J. Patanelli, : Fed. Proc. 21: 437, 1962.
- 6) Bardin, G. Heller, Mavis J. Rowley, and Gary V. Heller J. Clin Endocr 27: 1558, 1967.
- 7) Carl G. Heller, Mavis J. Rowley, and Gary V. Heller J. Clin Endocr 29: 638, 1969.
- 8) Roy, S., R. B. Greenblatt, V. B. Mahesh, and E. C. Jungck, : Fertil & Steril 14: 575, 1963.
- 9) 佐藤恒治, 五十嵐正雄, 松本清一: ホルモンと臨床, 巻14, 11月, 33(901), 1966.
- 10) Roy, S., V. B. Mahesh, and R. B. Greenblatt, : Acta Endocr 47: 657, 1964.

Testis and Accessory Organs of Rat Treated with Clomiphene Citrate

Akira Imatsu

Department of Urology, School of Medicine, Chiba University (Prof.: Goichi Momose)

The mature male rats were treated with Clomiphene citrate 250 γ and 1,000 γ /day, injected subcutaneously, for a long period. The changes of testis and sexual accessory organs of rats were studied and the effects of Clomiphene citrate on these organs were presumed as following;

I. The administration of Clomiphene citrate 1,000 γ /day for a long period to the intact mature male rats did not produce results as previously reported that the administration of Clomiphene citrate 250 γ /day/rat selectively inhibited Gonadotropin and Spermatogenesis.

II. By the administration of Clomiphene citrate 1,000 γ /day to the intact mature male rats, the author considered Clomiphene citrate to have an anti-androgenic action.

III. The administration of Clomiphene citrate to the castrated mature male rats was considered to have accumulative effect with administered exogenous androgen.

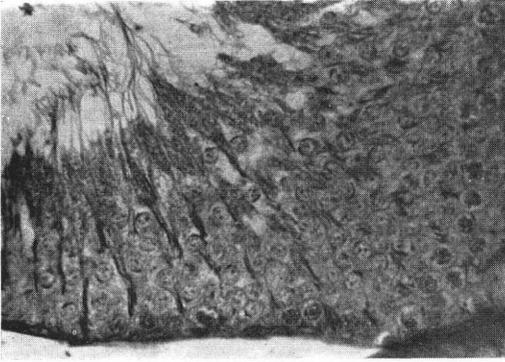


写真 1-i Cl. cit. 1,000 γ /day \times 14days \times 1,000
PAS-Hx

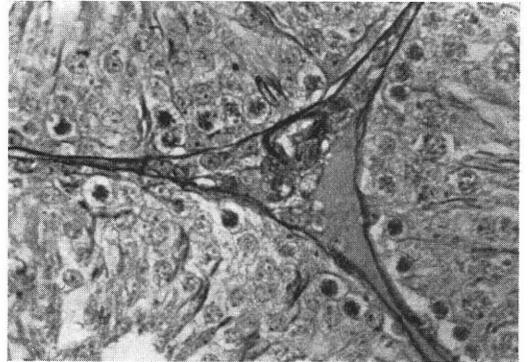


写真 1-ii Cl. cit. 1,000 γ /day \times 14days \times 1,000
PAS-Hx

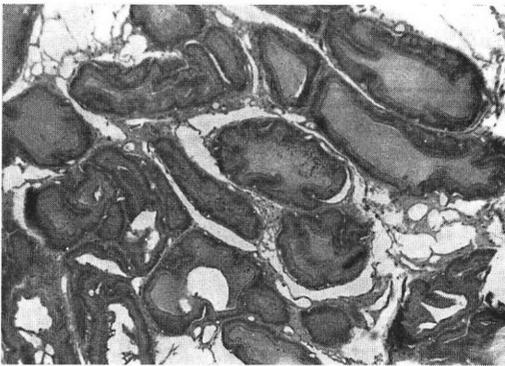


写真 2-i Cl. cit. 1,000 γ /day \times 14days \times 100

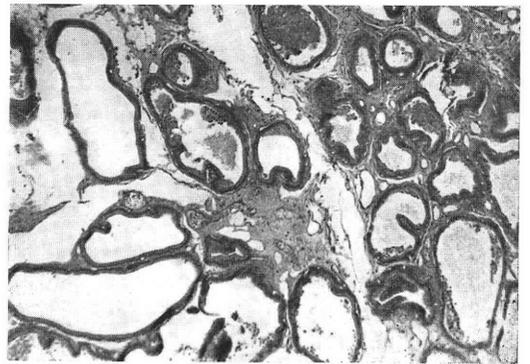


写真 2-ii Cl. cit. 1,000 γ /day \times 14days \times 100

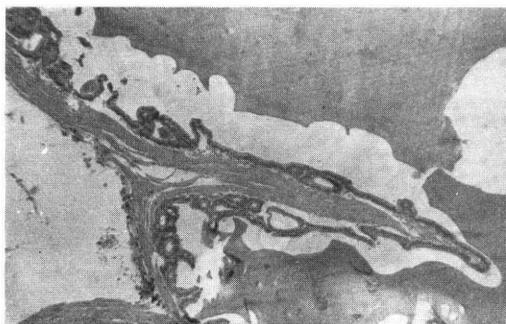


写真 3 Cl. cit. 1,000 γ /day \times 14days \times 100 Hx-Eosin
精囊腺上皮には folding 少なく, 扁平化し,
萎縮傾向が強い。



写真 4-i Intact ×400
3β-ol-DHG 活性は低い. 染色性は低い.

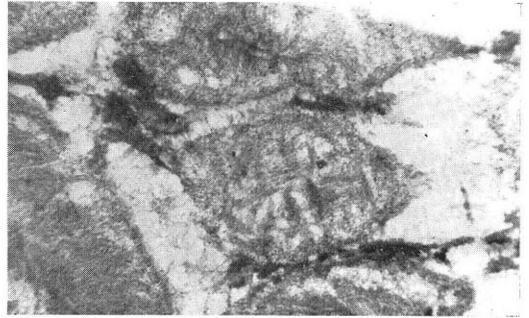


写真 4-ii Cl. cit. 1,000γ/day×1 week ×400
3β-ol-DHG 活性は亢進し, 染色性の増大を示す.

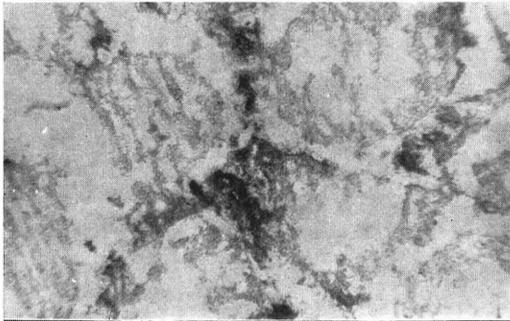


写真 4-iii Cl. cit. 1,000γ/day×2 weeks ×400
3β-ol-DHG 活性は亢進を示し, 染色性は高い.

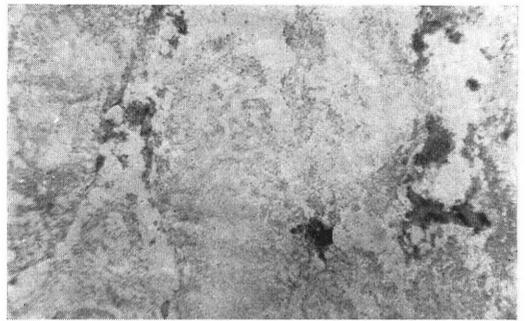


写真 4-iv Cl. cit. 1,000γ/day×3 weeks ×400
3β-ol-DHG 活性は 4-ii, 4-iii と同様の亢進を示し, その染色性は高い.

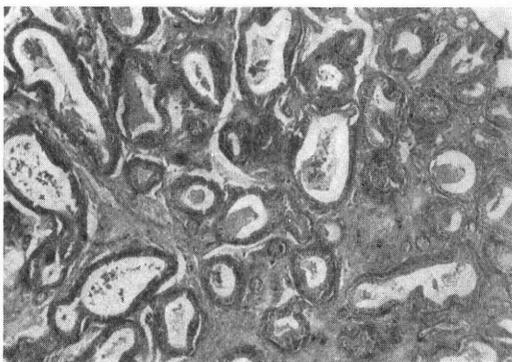


写真 5-i Castration 3 weeks ×100 Hx-Eosin

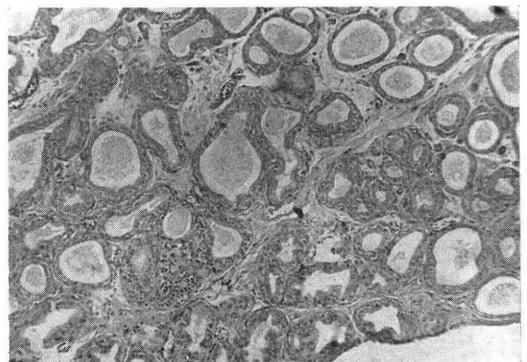


写真 5-ii Castration+Cl. cit. 1,000γ/day
×3 weeks ×100 Hx-Eosin

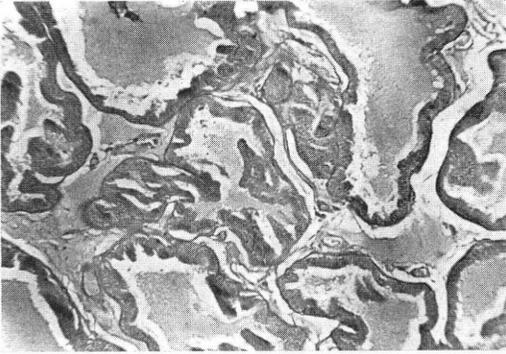


写真 5-iii Castration+Testosterone 5 mg/
week×3 weeks ×100 Hx-Eosin

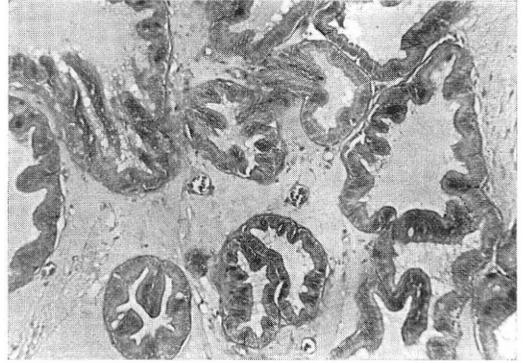


写真 5-iv Castration+Cl. cit. 1,000 γ /day×
3 weeks+Testosterone 5 mg/week
×3 weeks ×100 Hx-Eosin

過排卵処理による家兎卵巣の組織学的研究

Histological Studies of Rabbit Ovaries with Superovulation Treatment

東京農業大学畜産学科

石 島 芳 郎

Yoshiro ISHIJIMA

Department of Zootechnical Science, Tokyo University of Agriculture

新潟大学農学部畜産学科

石 田 一 夫

Kazuo ISHIDA

Department of Animal Husbandry, Niigata University, Faculty of Agriculture

PMS 処理および PMS+estradiol 処理を施した家兎の卵巣を経時的 (PMS 注射後 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72時間) に採取して、異常卵胞とくに出血性卵胞 (血胞) を中心に組織学的な観察を試みた。

ホルモン処理をほどこしたすべての卵巣に極端に発達した異常卵胞を観察することができた。異常卵胞は血胞が主なものであったが、少数ながら、嚢様卵胞、黄体化血胞および萎縮血胞の存在が認められた。血胞には出血の強いものと出血の弱いものが区別できた。これらの血胞には赤血球由来と考えられる遊離鉄が証明された。血胞周辺の血管は著しく充血し、遊離鉄を貪食した組織球が間質に認められた。これらの組織像は、PMS 処理卵巣と PMS+estradiol 処理卵巣との間でちがいを見出すことは困難であった。また、経時的にも著しいちがいは認められなかった。なお、この実験の卵巣はいずれも排卵していないものである。

緒 言

PMS 連続注射と HCG 注射によつて過排卵を誘起した家兎卵巣を肉眼的に観察すると、排卵しない肥大卵胞や血胞が多数みうけられ、それらの数は排卵点の数を上回ることさえある¹⁾²⁾³⁾。このことは、排卵数の増加を妨げる原因となつており、多数の卵子を排出させ利用しようと考えている過排卵研究の目的からすると大きな障害である。また、一方、過排卵処理家兎の妊娠が正常に起りにくい点も、このような卵巣の変化が一因になつているとも考えられている³⁾⁴⁾。

このように、卵巣に異常な現象がみられるのは、外的な性腺刺激ホルモン剤 (GTH) の過激な作用によつて卵胞の発育が無理強いされた現われの一面と思考される。しかしながら、これまでに、GTH 処理が卵巣にどのような影響を与えているかという点については、組織学的

にはあまり検討されていない。今井ら⁵⁾⁶⁾は、PMS と HCG で処理された幼若マウスの卵巣を組織学的に観察し、PMS 処理が卵胞に変化をひきおこすことをみており、Ishida および Sakuma³⁾は、PMS 処理によつて過排卵を誘起した家兎卵巣に出現する血胞を組織学的に検索したところ、これらはすべて黄体化をともなつたものであると報告している。また、最近、渡辺ら⁷⁾は、PMS 処理家兎の排卵直前の卵巣を組織学的に検討し、卵胞の変化が著しいことを報告している。

本報では、過排卵処理による家兎卵巣の組織学的研究の一環として、PMS で処理した家兎卵巣を経時的に採取して、異常卵胞とくに血胞を中心に観察を試みた。なお、著者の一人石島³⁾が、排卵数を多くするために有効であると報告した PMS+estradiol 処理家兎卵巣についても同様な観察を行ない、estradiol 注射が組織に影響を与えているかどうかについても検討した。

実験材料および方法

実験成績

供試家兔は日本白色種の成雌（体重2.6~3.2kg）で、購入後少くとも30日以上予備飼育したのちに実験に供した。家兔は単飼ケージに収容し、常法にしたがって管理を行なった。実験の方法は、ホルモン処理の方法によって家兔を2区に分け、一方に日量40IUのPMS（セロトロピン、帝臓）を5日間、計200IUを皮下注射し、他方には同様のPMS処理の最終日に0.1mgのestradiol（オバホルモンペンツアート、帝臓）筋肉注射を施した。いずれの区もPMS最終注射時を0時間とし、その後12時間おきに72時間まで、それぞれ3~4頭の家兔をと殺して卵巣の摘出を行なった。

家兔卵巣は肉眼的観察を行なった後、ただちに10%ホルマリン液に固定、セロイジンに包埋して15~20μの切片とした。染色は主としてヘマトキシリン・エオジン染色を用いたが、血胞内の赤血球の変性を考慮して、Perls-Stieda⁹⁾の鉄反応を併用した。なお、必要に応じて、無染組織標本による観察も行なった。

1. 肉眼的所見

PMS 処理卵巣および PMS+estradiol 処理卵巣を、PMS 注射後経時的に採取して肉眼的観察を行なったところ、およそ表1に示すような成績が得られた。

卵巣中の卵胞数の経時的な推移は、表1にみられるように、個体によって反応差がちがうため各時間とも一様ではないが、PMS 終了時においてすでに排卵が期待される成熟卵胞（直径1.5mm 以上）が相当数みうけられ、12時間以降、その数は増加する傾向にあつた。また、いずれの時間にも2.5mm 以上の肥大卵胞が散見され、これらは時間が経過した卵巣に概して数多くみうけられた。そのなかには5mm 大の卵胞がかならず数個は存在しており、このような特大卵胞は囊腫様を呈していた。このほか、PMS 処理卵巣には、大小さまざまな血胞がPMS 注射終了時から観察され、これも各時間とも個体差があつて一様ではないが、発育卵胞総数の10~20%を占めていた。これらの血胞の大半は3~5mm の大型の

表 1 卵巣の肉眼的所見

試験区	PMS 注射終了 後の時間	例数	卵巣重量 (mg)	血胞数	卵胞数		血胞数 + 卵胞数	血胞 出現率 (%)
					1.5~2.5mm	2.5mm~		
PMS	0	4	935.0 (610~1160)	6.5 (0~21)	15.3 (3~24)	5.3 (0~15)	27.0 (22~31)	24.1
	12	4	859.5 (720~1268)	5.5 (2~16)	34.8 (26~44)	6.8 (0~13)	47.0 (41~62)	11.7
	24	4	858.8 (730~1020)	6.3 (1~16)	23.0 (7~39)	7.5 (1~14)	36.8 (24~50)	17.0
	36	4	2026.3 (970~4560)	15.0 (0~38)	36.5 (24~53)	38.3 (3~113)	89.8 (42~167)	16.7
	48	4	1252.5 (650~1690)	14.5 (0~32)	48.8 (37~60)	13.0 (0~29)	76.3 (64~92)	19.0
	60	3	1426.7 (1220~1670)	13.3 (6~26)	30.7 (14~49)	16.7 (7~24)	60.7 (27~94)	22.0
	72	2	1575.0 (1150~2000)	13.0 (3~13)	56.5 (52~61)	38.0 (25~51)	107.5 (89~116)	12.1
PMS+Estradiol	12	4	1195.8 (500~2060)	6.0 (1~14)	26.8 (13~48)	25.0 (13~60)	57.8 (27~97)	10.4
	24	4	1560.0 (1130~2100)	14.8 (9~18)	42.5 (25~53)	18.0 (0~31)	75.3 (57~102)	19.6
	36	4	922.5 (680~1500)	5.3 (1~14)	36.8 (15~58)	12.3 (0~20)	54.3 (29~74)	9.7
	48	4	1280.0 (800~1900)	13.3 (0~50)	66.3 (42~98)	5.0 (0~20)	84.8 (50~99)	15.9
	60	4	1992.5 (1340~2920)	11.3 (0~28)	50.8 (35~63)	33.5 (20~60)	95.5 (59~119)	11.8
	72	2	1290.0 (1200~1380)	5.0 (2~8)	57.5 (29~86)	29.5 (16~43)	92.0 (74~110)	5.4

() 内は範囲

表 2 卵巣の組織学的所見

試 験 区	PMS 注射終了 後の時間	例 数	正 常 卵胞数	異 常 卵 胞 数				間 質		
				囊 様 卵 胞	血 胞	黄 体 化 血 胞	萎 縮 血 胞	間質腺	血管の 充 血	含 鉄 組 織 球
PMS	0	3	+~++	+	+~++	-	-	+~++	-~+	-
	12	3	+~+++	+	+~++	-	-~+	+~++	-~+	-
	24	3	+	-~++	+~++	-	-~+	+~++	-~+	-
	36	2	+	+~+++	+~+++	-	+	+	-~+	-
	48	2	+	+	++~+++	-~+	-~+	+~++	+	+~++
	60	2	+~++	+~++	+~++	-~+	-~+	++	+~++	-~++
	72	1	++	++	+	+	+	++	+	+
PMS+Estradiol	12	3	+~++	-~++	+	-	-~+	+~++	-~+	-~+
	24	3	+~++	+~++	++~+++	-~+	+	+~++	+~++	-~++
	36	2	+++	+	+~++	-	-	-~++	-~+	-~+
	48	2	+~++	+	+~+++	-	-~+	+	-	+
	60	3	+	+~+++	+~++	-~+	+	+~+++	-~++	+~++
	72	1	++	++	+	-	+	++	+	+

もので、わずかに出血がみられるものから、血液が充満しているものまで存在し、小さい血胞の多くは出血が古いようにみうけられた。PMS 処理に estradiol 注射を併用した場合、PMS 処理のみにくらべて卵胞発育総数はわずかに優る傾向にあつたが、血胞数、肥大卵胞数などの割合は大差なかつた。また、いずれの時間の卵巣も、PMS 処理または PMS+estradiol 処理だけでは排卵を誘起したものはみられなかつた。

2. 組織学的所見

PMS 処理家兎 (16例) および PMS+estradiol 処理家兎 (14例) の卵巣について、PMS 注射後の経過時間別に観察した成績の概要はおおよそ表 2 に示すとおりである。

表 2 で明らかなように、ホルモン処理家兎の卵巣には可成り大型の異常卵胞が顕著に認められた。異常卵胞は、卵胞腔内に出血をともなつたいわゆる血胞が大部分を占めていたが、このほかに、顆粒層の剝離消失した囊様卵胞、黄体化をともなつた血胞および萎縮血胞が出現した。さらに、血胞には出血の著しいものと軽度のものゝ區別された。また、顆粒層細胞が剝離しないで残されており、出血の初期と思われる卵胞がしばしば散見された。以下、それぞれの異常卵胞について説明を加える。

囊様卵胞：囊様卵胞は顆粒層が剝離消失して囊状を呈している卵胞で (図 1)、卵胞自体は可成り大型であるが、その出現頻度はあまり高くない。しかしながら、ほとんどすべての卵巣に観察された。PMS 注射区と PMS+estradiol 注射区との間には、その出現頻度の差を認めることはできなかつた。また、PMS 注射後の時間経

過にともなう出現頻度のちがいはみられなかつた。

血胞：出血の初期と思われる卵胞 (図 2) と出血後ある程度時間の経過したと思われる卵胞 (図 3) とが區別された。後者はさらに出血量の少ない卵胞と出血量の多い卵胞とが認められた (図 4)。出血初期の卵胞は顆粒層がまだ存在しており、卵子も正常な形態を保っていたが、卵胞腔に多数の赤血球の浸入がある (図 2)。赤血球の形態はよく保たれており、したがつて、鉄反応も陰性であつた。出血後時間の経過したと思われる卵胞のうち、出血強度の卵胞は卵胞腔内に血液が充満し、無染標本において茶褐色を呈していた。さらに、血液中に黒褐色の大小不定形の色素が散在して認められた (図 3)。鉄反応は陽性であつて、とくに、卵胞周辺帯に強い反応が観察された (図 5)。出血軽度の卵胞は、卵胞腔内に赤血球が遊離して存在し、無染標本において黄色を呈して観察された。また、出血の多い卵胞にみられた黒褐色の色素はほとんど認められず、鉄反応は赤血球中のヘモグロビンの溶解を示して陽性であつたが、その分布は周辺帯限局性を示さず、卵胞内全般にわたつて認められた (図 5)。このような血胞の出現は、個体によつて寡多がみられたが、観察したすべての卵巣にみられた。しかしながら、PMS 注射区と PMS+estradiol 注射区との間において、出現数のちがいはみられなかつた。

黄体化血胞：卵胞腔の中心に向つて増殖像を示している黄体様細胞が腔内を満たしている血胞 (図 6) で、その出現はきわめて少なく、全体を通じて 5 例に観察されたに過ぎなかつた。血液はなお相当量腔内に充満していた。これは、PMS 注射後の時間の経過した家兎の卵巣に比較的多く認められた。

萎縮血胞：可成り古いもので、すでに腔は間質腺組織や結合組織で完全に充填され、出血した血液が周辺に観察された(図7)。鉄反応は強陽性を示すのが常である(図8)。黒褐色色素も少量残っていることが観察された。遊離鉄の量は、萎縮血胞、黄体化血胞、血胞の順に多い傾向が認められた。このような萎縮血胞は PMS を注射した直後の卵巣には認められず(表2)、注射後12時間のものから出現するが、その数は少なかった。

なお、いずれの家兎においても、異常卵胞の間に比較的小さいが正常な胞状卵胞が認められた。その発達の状態は個体によつて幾分ちがいがあつたが、ホルモン注射区の間には差異を認めることができなかった。また、卵巣皮質には原始卵胞および第1次卵胞が正常に観察された。

つぎに、卵巣間質における形態変化について観察した。その成績の概要は表2に示すとおりである。

間質腺：間質腺は異常卵胞の発達が著しいので、卵巣に占める割合は少ないが、いずれの個体でも正常像を呈して認められた(図9)。しかしながら、血胞の周辺に分布している間質腺にはしばしば軽度の鉄反応を示すものが観察された(図10)。この間質腺に含有されてみられる鉄の量は、PMS注射後の時間の経過にともなつて次第に増える傾向が認められた。

血管：間質に分布している血管は概して充血していたが、とくに、血胞周辺の血管には強度の充血がみられた(図11)。

含鉄組織球：卵巣間質に鉄反応に強陽性の組織球がしばしば観察された(図10, 図12)。これは血胞中の赤血球のヘモグロビン由来の鉄が組織球によつて貪食されたものと推定される。このことは、含鉄組織球が血胞、とくに、萎縮血胞の周辺に広く分布していることから裏付けることができる。この細胞は明らかに PMS 注射後の時間が経過するにしたがつて多くなる傾向が認められた。なお、ごくまれに、褐色色素をもつた色素細胞が間質に出現することが観察された(図9)。

なお、PMS+estradiol 注射家兎の卵巣において、estradiol の組織反応はとくに認めることはできなかった。また、PMS 注射後の時間経過にともなう組織像についても、はっきりした変化はみられなかった。

考 察

Coco¹⁰⁾は妊娠18日目のラットに75~100単位の antuitrin-S を皮下注射すると、3日ないし5日以内に成熟卵胞に黄体化が起ることを報告した。この際、卵巣中には血胞と黄体化血胞が出現するという。後者において、黄体組織は腔の側にかたよつてとくによく発達するとい

う。また、Ishida および Sakuma⁹⁾は PMS の連続注射と HCG 注射によつて排卵を誘起した家兎の卵巣に多数の血胞が出現することをのべ、この血胞はすべて黄体化をともなつたものであることを報告している。

本実験において、PMS あるいは PMS+estradiol を注射した家兎の卵巣はいずれも排卵の行なわれていないものである。この場合に生ずる血胞の大部分は顆粒層の剝離消失はみられるが、黄体様細胞の増殖の起つていないものであつて、Ishida および Sakuma⁹⁾の排卵した卵巣にみられるものとは明らかに異なつた組織像を呈していることが判明した。Coco¹⁰⁾の実験では血胞と黄体化血胞が共存することをのべているが、本実験においても、出現頻度に著しいちがいはあつたが、これら卵胞が共存して認められた。なお、巨大な囊様卵胞も血胞とともに認められ、特徴的であつた。このように、血胞が多数出現しているにもかかわらず黄体化の起らない状態は、恐らく estrogen と progesterone の均衡が estrogen 優位にあるためと考えられ、さきに、Ishida および Sakuma⁹⁾が報告したように排卵した卵巣にみられる血胞の黄体化の状態は progesterone が優位にあるためと解釈できる。

血胞の腔内に充填されている赤血球はいずれ変性してヘモグロビンから鉄を遊離することがいわれているが⁹⁾、この遊離鉄は卵胞が古くなるにしたがつて増量する傾向がみられた。そして、間質の組織球によつて次第に貪食されて処理されるように思われる。一方、出血の強い血胞内に黒褐色の色素の沈着が認められるが、この起源については定かではない。また、それが処理される過程も鉄のようにはつきり認められなかつた。ごくまれに、間質に褐色色素をもつた細胞の出現がみられるが、量的関係から考えて、この色素細胞が血胞内のすべての色素を運搬処理すると考えるためには、出現頻度があまりにも少なすぎるように思われる。

要 約

PMS 処理および PMS+estradiol 処理をほどこした家兎の卵巣を経時的に採取して、肉眼的および組織学的に観察を行なつた。

1. 肉眼的所見：PMS で処理した卵巣には大小さまざまな卵胞がみられ、全体的には排卵が期待される直径1.5~2.5mm 程度の成熟卵胞が多いが、そのほかに2.5mm 以上の肥大卵胞も散見され、なかには5mm 大に発育した大型の卵胞もみられた。一方、大半の卵巣には血胞が相当数観察され、その多くは3~5mm 程度の大型のもので、卵胞内に血液が充満しているものと出血の少ないものの2種類が区別され、小型のものは出血の古い

ものが多かった。これらの血胞は、卵胞総数の10~20%を占めていた。PMSに estradiol 注射を併用した場合、総体的に PMS 処理のみより卵胞数がいくぶん優っていたが、血胞、肥大卵胞の割合は大差なかった。

2. 組織学的所見：ホルモン処理をほどこしたすべての卵巣に極端に発達した異常卵胞を観察することができた。異常卵胞は血胞が主なものであったが、少数ながら、嚢様卵胞、黄体化血胞および萎縮血胞の存在が認められた。血胞には出血の強いものと出血の弱いものが区別できた。これらの血胞には赤血球由来と考えられる遊離鉄が証明された。なお、正常な胞状卵胞も異常卵胞の間に少数ながら認められた。血胞周辺の血管は著しく充血し、遊離鉄を貪食した組織球が間質に認められた。これらの組織像は、PMS 注射家兎と PMS+estradiol 注射家兎との間でちがいを見出すことは困難であった。経時的にも著しいちがいは認められなかったが、含鉄組織球は明らかに時間の経過にもなつて増加する傾向を示した。

引用文献

- 1) 石島芳郎, 佐久間勇次: 家畜繁殖誌, 12: 113 (1967).
- 2) 石島芳郎, 伊藤雅夫, 平林忠, 佐久間勇次: 家畜繁殖誌, 14: 43 (1968).
- 3) Ishida, K. and Sakuma, Y.: Jap. J. Fert. & Ster., 7: 151 (1962).
- 4) 佐久間勇次, 石島芳郎, 石田一夫: 日不妊会誌, 9: 5 (1964).
- 5) 今井倭武, 西野芳隆, 笹本修司: 獣医畜産新報, No. 292: 1338, No. 293: 1390 (1960); 同誌, No. 294: 9 (1961).
- 6) 今井倭武, 笹本修司, 鈴木俊郎: 家畜繁殖誌, 10: 114 (1965).
- 7) 渡辺行正, 北原敬市, 佐藤彰吾, 田中耀子, 竜宮敏郎, 大橋兌洋, 平野靖雄, 田中雅治: 日不妊会誌, 14: 400 (1969). (第14回不妊学会総会要旨).
- 8) Perls, M.: Virchows Arch., 39: 42 (1867).
- 9) Stieda, H.: Zbl. Path., 4: 321 (1893).
- 10) Coco, R. M.: Endocrinol., 26: 1057 (1940).

Histological Studies of Rabbit Ovaries with Superovulation Treatment

Yoshiro Ishijima

Dept. of Zootechnical Science, Tokyo Univ. of Agriculture

Kazuo Ishida

Dept. of Animal Husbandry, Niigata Univ. Faculty of Agriculture

Histological observation was carried out on the abnormal follicles appearing in the rabbit ovaries treated with PMS and PMS+estradiol. The ovaries were obtained at desired intervals after the last PMS injection.

Treated with the hormones, some follicles grew abnormally big but ovulation never occurred in such ovaries. Abnormal follicles consisted of haemorrhagic, cystic, haemorrhagic luteinizing and haemorrhagic atretic follicles, and the first were the most in number. These haemorrhagic follicles contained some free iron which may have originated from erythrocytes. Around the haemorrhagic follicles were found congested blood vessels, and in the interstitium iron-laden histiocytes.

There were no differences with the findings between the ovaries treated with PMS and with PMS+estradiol.

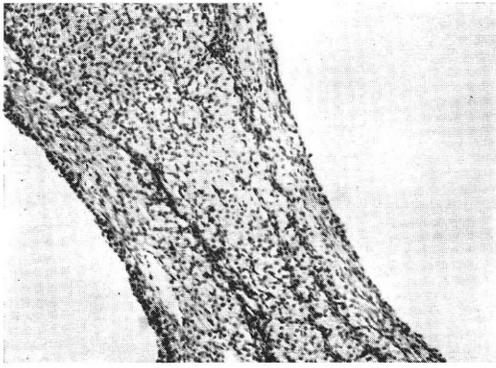


図 1 囊様卵胞. PMS + estradiol 処理家兔 (PMS 注射後24時間), ヘマトキシリン・エオジン染色, $\times 100$.
顆粒層が消失している. 腔内に出血は認められない.



図 2 出血初期の血胞. PMS + estradiol 処理家兔 (PMS 注射後48時間), Feulgen にて核染, $\times 40$.
卵胞腔内に出血がみられるが, 顆粒層は存在している.

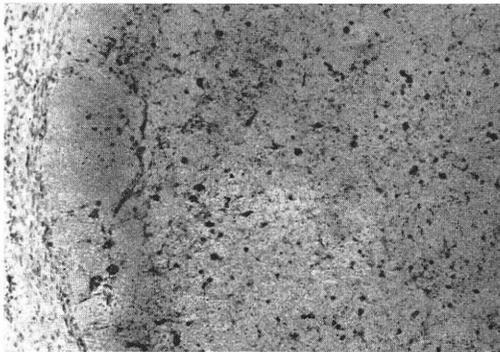


図 3 血胞. PMS 処理家兔 (PMS 注射後24時間), ヘマトキシリン・エオジン染色, $\times 100$.
卵胞腔内に強い出血がみられる. 血液中に大小不定型の黒褐色色素の沈着がみられる. 顆粒層は消失している.

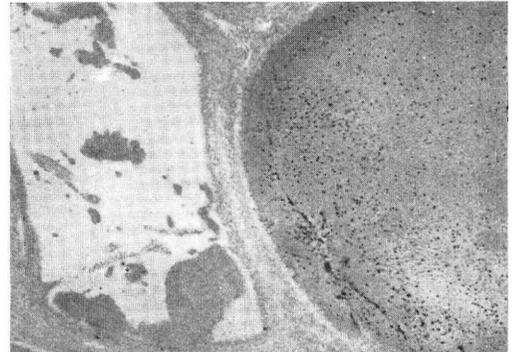


図 4 出血の多い血胞と少ない血胞. PMS + estradiol 処理家兔 (PMS 注射後48時間), ヘマトキシリン・エオジン染色, $\times 40$.
写真右側に出血の多い血胞, 左側に出血の少ない血胞がみられる.

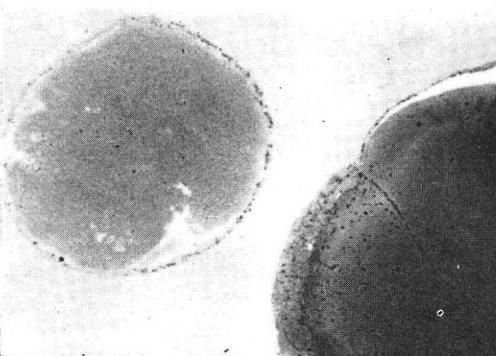


図 5 血胞中の鉄. PMS 処理家兔 (PMS 注射後36時間), Perl's-Stieda 鉄反応, $\times 40$.
出血強度の血胞では卵胞周辺帯, 出血軽度の血胞では卵胞腔に全般に鉄反応がみられる.

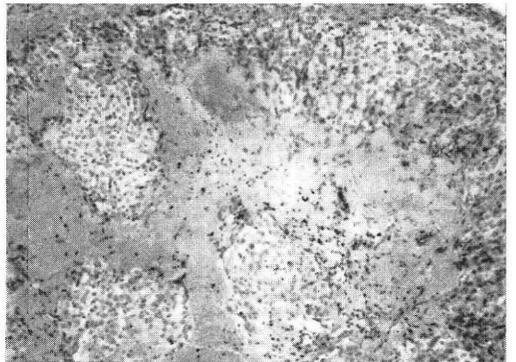


図 6 黄体化血胞. PMS + estradiol 処理家兔 (PMS 注射後24時間), ヘマトキシリン・エオジン染色, $\times 100$.
腔内に黄体様細胞の増殖と出血がみられる.

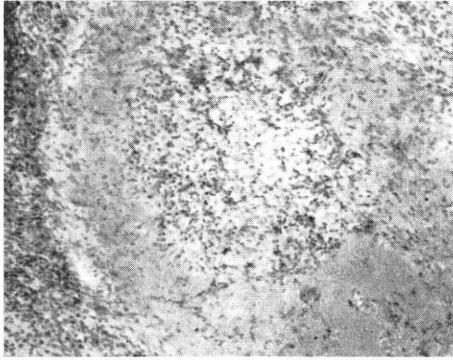


図 7 萎縮血胞. PMS + estradiol 処理家兎 (PMS 注射後24時間), ヘマトキシリン・エオジン染色, ×100.
腔は完全に充填され周囲に出血が認められる.

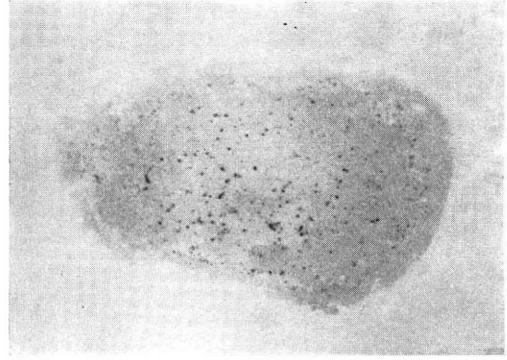


図 8 萎縮血胞中の鉄. PMS 処理家兎 (PMS 注射後36時間), Perls-Stieda 鉄反応, ×40.
萎縮血胞には強い鉄反応があらわれている.

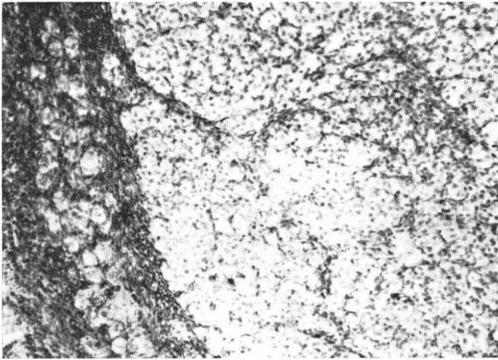


図 9 卵巣皮質と間質腺. PMS 処理家兎 (PMS 注射後24時間), ヘマトキシリン・エオジン染色, ×100.
卵巣皮質には原始卵胞が蓄積されており, 間質腺も正常である.

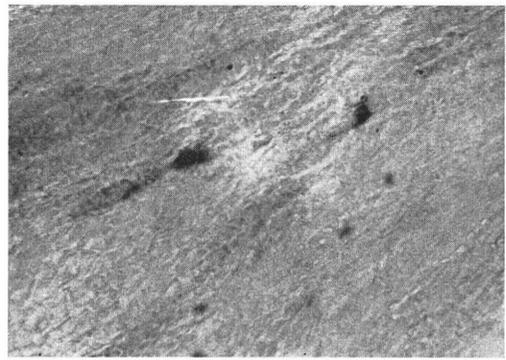


図 10 組織球と間質腺の鉄. PMS + estradiol 処理家兎 (PMS 注射後24時間), Perls-Stieda 鉄反応, ×250.
含鉄組織球がみられる. また, 間質腺にも鉄反応が軽度に認められる.

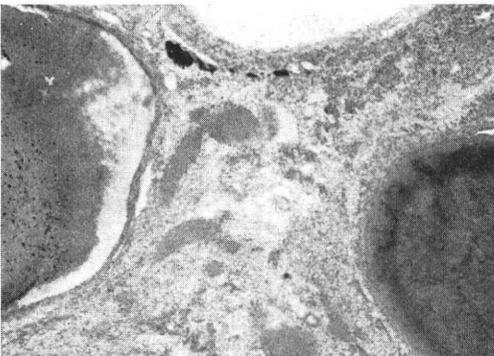


図 11 血管の充血と褐色色素をもった色素細胞. PMS 処理家兎 (PMS 注射後48時間), ヘマトキシリン・エオジン染色, ×40.

間質に分布している血管に充血が認められる. また, 褐色色素をもった細胞が写真上部にみられる.

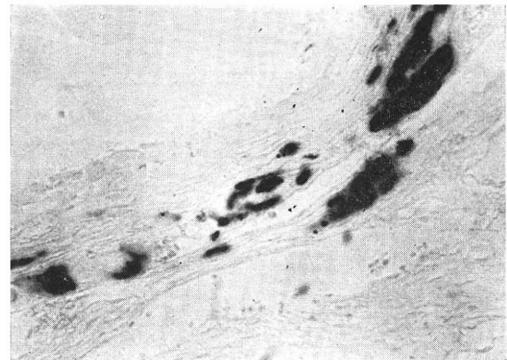


図 12 組織球の鉄. PMS 処理家兎 (PMS 注射後48時間), Perls-Stieda 鉄反応, ×400.
組織球は多量の遊離鉄を貪食している.

家兎副睪丸精子の運動性と受精能に関する研究

Studies on the movements and fertilizing capacity of the
epididymal spermatozoa in the rabbit.

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 (主任 野嶽幸雄教授)

今井敏郎

Toshiro IMAI, M. D.

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

家兎副睪丸各部位別精子の運動性の変化を連続映画撮影法によつて観察した結果、副睪丸頭部精子では、ほとんどの精子が円運動又は振動様運動を示し、直進運動を認めることはできなかつた。しかるに、副睪丸体部、尾部へと下降するに従い、射精精子と同様の効率のよい活潑な直進性の運動に変化した。

副睪丸各部位別精子の受精能を検討する目的から、各部位別精子を、人工排卵を惹起し家兎卵管内に授精した卵の受精率は、頭部精子、体部精子、尾部精子の順に、夫々、0.04%、20.8%、92.9%であつた。

副睪丸尾部精子を家兎子宮腔内で一定時間培養後、培養精子で、その受精能を検討した結果、62.7%の受精卵を得ることができた。

Capacitationの本質にかんしては、現在、なお解明されていないが、性管内の卵管分泌液の意義に注目し、卵管分泌液を培養液とし尾部精子を *in vitro* で培養したが、不完全型の capacitated 精子を得るにとどまつた。

緒言

精子運動の機序にかんする本質的問題は、今日なお、解明されていないが、受精現象を中心とした精子と卵子の相関々係とも関連して、精子の運動様式の理解は、生殖生物学上でも重要な意義を有している。

精液中における精子の運動速度、運動様式等については、Rikmenspoel¹⁾ (1962)、Bishop²⁾ (1962)、Tampion³⁾ (1966)、Nelson⁴⁾ (1967) 等が、各種哺乳類での多数の研究を報告しており⁴⁾、Branham⁵⁾ (1969) も、最近、家兎精子の自由運動についての詳細な観察を報じている。

精子運動は、外因性または内因性の各種条件下で、強くその影響を受けるといわれているが、とくに寒冷ショック、高水素イオン濃度溶液中での老化 (Van Duijn & Rikmenspoel⁷⁾, 1960; Tampion & Gibbons⁸⁾, 1963; Nelson⁹⁾, 1967) 等の影響が報告されてきている。さら

に、1964年、Blandau & Rumery¹⁰⁾は、ラットを用いて、精子の成熟過程と運動様式の変化の相関を報告している。

精子の成熟過程を問題とする場合、精細管精上皮の、精子形成を起点とした形態学的変化と、受精能を中心とした精子の成熟過程を問題とすることが必要であるが、従来、この領域を含めて、哺乳類における初期発生過程の研究は、方法論的な問題もあり、非常に困難であるとされてきた。精子の形態学的な問題は、近年、電子顕微鏡の応用によつて、かなり解明されてきているが、精子の機能的な特性については、精液の生化学的組成分析を通じて、間接的に、その代謝面での特性が明らかにされつつあるが、直接的に、精子の受精能という生物学的特性を究明した研究は、非常に少ない。

著者等は、性細胞の *in vivo* および *in vitro* における成熟過程の分析、培養条件の検討、初期発生過程での核酸合成等に関する実験的研究を通じて、精子および卵

子の受精能の獲得と、その消失過程についての系統的な研究を行ってきているが、その一環として、本論文では、家兎副睪丸精子の部位による運動性の変化を、連続映画撮影法によって観察、さらに、各部位別精子受精後の受精率の分析、副睪丸尾部精子の受精能に関する *in vivo* および *in vitro* での実験成績について報告したい。

実験材料および実験方法

1. 副睪丸各部位別精子の採取法

7日以上、交尾あるいは精液採取に供しない雄家兎を、Pentobarbital sodium (Nembutal) にて麻酔後、陰囊部を切開、睪丸、副睪丸、精管部を露出、各臓器は摘出後、直ちに生食水 (37°C) 中に移し、附属結合組織等を可及的に除去し、図1の如く、各部位に区分した副睪丸組織を10%牛血清アルブミン含有 TC 199 (Defo Laboratory) 培養液中に移し、精子採取までの短時間を CO₂ 培養器 (37°C) 中に保存した。なお、副睪丸組織への血流確保によって、各組織を可及的に生理的な状態に保持する目的から、睪丸、副睪丸、精管等を未摘出のままの状態、副睪丸各部位を頭部より順次摘出した。

副睪丸頭部、体部の精子の採取は、実体顕微鏡下で滅菌のプラスチック皿 (Falcon Plastics 35×10mm) 中の副睪丸組織片を、2本の注射針にて細片化後、軽く圧排すると、精子を含む混濁状の副睪丸内液を容易に採取し得た。副睪丸の精管に近い部分の尾部精子の採取は、副睪丸尾部の表面を若干緊張して保持、尖刃または、注射針にて表面に創口を形成するだけで、高濃度の精子を含む副睪丸内液を授取し得た。精子濃度および運動率を鏡検後、副睪丸懸濁液を CO₂ 培養器中に保存した。精液の採取にあたっては、血液の混入を、可及的にさけることに配慮し、滅菌状態で、これを行った。

2. 副睪丸各部位別精子の運動性の変化

副睪丸各部位別精子の運動は、Nikon 倒立顕微鏡 MD 型を用いて、16mm 連続映画撮影下で観察した。精液を採取後、直ちに、培養 chamber 装置内に移し、恒温箱中の顕微鏡下で撮影した。撮影機は16mm Borex を用い、フィルムはサクラミニコピーを用い、撮影速度を54 frame/second とした。

3. 副睪丸各部位別精子の受精能

前記方法で採取した精子懸濁液を、Nembutal 麻酔下で開腹した雌家兎の卵管采部より、精子数 $2 \sim 12 \times 10^5$ を0.02~0.05ml の懸濁液と共に、ポリエチレン管 (100' Clay-Adams) を用いて卵管内に3~4cm 挿入して授精を行った。同家兎に対し、授精直後、人絨毛性 Gonadotropin (HCG) 100単位を静注して、人工的に排卵を

誘発した。家兎は、交尾刺激によって排卵するが、HCG 投与によっても、約10時間後に排卵が誘発される。

授精後24、48時間後に、授精した家兎の卵管を TC 199培養液にて、子宮卵管結合部より采部に向つて静かに洗滌、洗滌液中の卵を実体顕微鏡下で観察採取した。採取された卵については、その初期分割過程を Zeiss 位相差顕微鏡を用いて検討した。家兎では、受精卵は、交尾または授精と同時に HCG 負荷後、約75~96時間で胞胚となり、7~8日目で着床態勢に入るので、胞胚についての検討は、授精後6日目に行い、着床の有無については、8日目以降に開腹して検討した。

4. 副睪丸尾部精子の子宮内培養による受精能獲得

副睪丸尾部精子は、前記方法によって採取した。授精時期を翌日午前中に行う目的から、第1日目の午後9時に雌家兎を Nembutal 麻酔下にて開腹、子宮を露出し、血管を損傷しないように配慮しつつ、絹糸にて子宮頸部直上を結紮、次いで、0.10~0.25ml の副睪丸尾部精子を、結紮部位にて接近して24gause の皮下針を用いて子宮腔内に注入した。注入後は、子宮を静かに再び腹腔内に戻し、腹壁を閉じた。培養精子の数および運動率を鏡検し、同時に、第2日目の培養精子の授精時に卵管内に卵を期待する目的から、1~2匹の雌家兎に100単位の HCG を静注して、人工的に排卵を誘発した。第2日目の午前9時、すなわち、副睪丸尾部精子を12時間子宮内で培養後、家兎を再開腹し、子宮を摘出、次いで、5ml の滅菌 Krebs-Ringer 燐酸緩衝液 (37°C) にて子宮腔内を軽く洗滌した。洗滌液を3000RPM にて10分間遠沈後、上澄液を除去、残りの0.3~0.5ml を静かに混合して精子懸濁液を作成した。精子濃度、運動率、白血球数等を算定後、第1日目に HCG を負荷して人工的に排卵誘発を行った雌家兎を Nembutal 麻酔下で開腹、0.02~0.04ml の精子懸濁液を、前記の授精手技と同様の方法にて卵管内に注入した。培養精子を卵管内に授精後24時間で、家兎を再開腹、卵管を摘出し、受精の状態および分割過程について、前記同様に検討した。

5. 副睪丸尾部精子の家兎卵管分泌液中での培養による *in vitro* での受精能獲得に関する実験

副睪丸尾部精子を家兎卵管分泌液を用いて *in vitro* で一定時間培養後、培養精子を前記同様の方法で、HCG 負荷人工排卵誘発家兎の卵管内に授精して、その受精能を検討した。副睪丸尾部精子の採取法は、前述と同様の手技で行った。家兎卵管分泌液の採取法は、子宮卵管結合部と卵管采部を結紮、4日後に、再開腹、分泌液の貯溜によって膨大した卵管内より分泌液を吸引採取する結紮法 (図2) と、卵管分泌液採取のための特殊なフラスコを用いる方法を適時応用した。分泌液採取用フラスコ

コは、Hammner & Williams¹⁰⁾ (1963) の考案によるものであるが、われわれの用いたものは、これに若干の工夫を加えたもので、図 3 の如くである。

培養方法は、採取直後の卵管分泌液 1.0ml に 0.02ml の副睾丸尾部精子懸濁液を混じり、混合液を vial に入れ、ゴム栓を行い、ゴム栓を通じて注射針を 2 本挿入、1 本の注射針より混合ガス (87% N₂, 8% O₂, 5% CO₂) を 5 分間注入後、注射針を除去し、vial を Dubnoff metabolic shaking incubator 中に静置して、12~17 時間培養した。培養後、再び、精子濃度、運動率を鏡検した。培養精子の受精能に関する実験方法は、前述と同様、HCG 負荷 12 時間後で、卵管膨大部に既に排卵された卵子が待期していると思われる家兎卵管膨大部に授精した。授精後 24 時間に再開腹、卵管を摘出、卵を採取して、その初期分割過程を検討した。

実験成績

1. 副睾丸精子の運動性

副睾丸精子の運動は多種多様で、その運動性の特徴を単的に記載することは非常に困難であるが、Gaddum¹¹⁾ (1969) の観察を参考として、運動性の種類を以下の各種に観察分類した。① 振動様運動：精子の尾部を、振り様に 1 側から他側に激しく運動させるもので、前進運動を全く欠き、精子全体も、ほぼ同一平面に停止している。振動様運動には、非常に激しいものと緩徐なものがある。② 円運動：精子は、尾部を彎曲させたままで、円運動を繰返す。円運動の軌道の直径は、彎曲度に比例して大となるが、精子の頭部は振動様運動の場合と同様、ほぼ同一平面に停止している。円運動の方向には、左回りと右回りの 2 種類がある。③ 突進運動：精子の頭部を、不規則に、または、ジグザグに推進していくが、前進性は少なく、不定の運動である。④ 交叉様運動：精子は前進性に移動するが、直線的ではなく、その軌道は広い弧形となる。この運動では尾部を強く振動させるが、頭部の回転は、ほとんど認められない。⑤ 回転運動：波長の短い波が、精子の尾部を速かに下降し、精子自体も長径に沿って回転しながら、敏速な直進運動を行っていく。⑥ 直進運動：直進性の運動。

以上の 6 型が、副睾丸精子の運動としてみられたものであるが、副睾丸各部位によって、精子の運動性には著明な変化が認められた。副睾丸頭部では、精子数は睾丸側に近い部位程、精子濃度は低く、体部に近くなるにつれて精子濃度は上昇していた。副睾丸頭部精子の運動性の特徴は、大部分の精子が活発な振動様運動、または、円運動を示し、極く少数の精子が、頭部の回転を伴う直進運動類似の運動を示すものが認められた。しかし、こ

の部分の精子の移動性は僅少で、同一場所にとどまっているのが特徴であった。副睾丸体部の精子の運動は、頭部精子とほぼ同様の円運動を示していたが、円運動の軌道の直径は精子によって一定せず多種多様であった。直進運動を示す精子数は次第に増加しており、精子尾部の著明な運動を伴うようになる。

副睾丸尾部精子の運動は、射精々子の運動と、ほぼ同様で、大部分は直進運動であったが、少数の精子に、円運動、突進運動、交叉様運動等を認めた。精管内精子の運動も、副睾丸尾部精子と同様の運動を示していた。(図 4, 5, 6)

2. 副睾丸各部位別精子の受精能

卵管膨大部で受精を完了した卵は、動物の種属差によって若干の差はあるが、3~4 日間は卵管内にとどまって、初期分割過程を終り、桑実期で子宮内に移動し着床態勢に入る。したがって、卵管内における卵の状態としては、排卵直後の未受精卵、精子の貫入した受精卵、分割受精卵、さらに、多くは退行変性あるいは断片化した無受精卵の 3 種に区別することができる。しかしながら、受精卵、未受精卵の鑑別は、必ずしも容易ではない。われわれは、受精の判定基準を、以下の如く分類した。① 明らかに無受精卵と思われるもの：家兎卵子では、排卵時に、その約 80% が、既に、第 1 極体の分離を完了していると報告されているが、無受精卵では、いぜんとして、卵黄周囲腔に第 1 極体を認め、細胞質中にも、第 2 成熟分裂の紡錘系を認める。② 受精卵か変性卵の鑑別の難しいもの：退行変性の著明なもので、細胞質中に第 2 成熟分裂の紡錘系を認めなく、1乃至それ以上個数の前核を有している卵。③ 変性卵ではあるが、明らかに受精卵と思われるもの：これらの卵では、透明層または、卵黄周囲腔内に数個の精子を認め、卵によっては、第 2 極体および 2 個の前核を有しており、時に、受精分割卵の様相を呈しているが、退行変性が強く、断片化を伴う卵もある。④ 正常分割卵で、明らかに受精卵であるもの：変性その他の異常所見を認めず、正常の分割過程にあるもので、排卵後経過時間に応じて、2 細胞期または 4 細胞期にある分割受精卵である。これらの卵の大部分では、第 2 極体を卵黄周囲腔内に認める。

本実験においては、以上の受精判定基準の中で、①、②群は無受精卵のグループに入れ、③、④群を受精卵として分類した。(図 7, 8)

排卵数、卵回収率、受精率等の成績は、表 1 の如くであるが、副睾丸頭部より採取した精子では、受精率 0.04% と最も低値を示し、副睾丸体部、副睾丸尾部と下降していくに従い、精子の受精率は、夫々、20.8, 92.9% と上昇し、特に、尾部精子では、射精々子のそれと全く同

Table 1 Fertilizing ability of spermatozoa in different segments of the epididymis

Epididymal segments	No. of rabbits	Ovulation points	No. of ova recovered	Ova recovery rate (%)	No. of ova fertilized	Fertilization rate (%)
Caput	10	78	74	94.9	3	0.04
Corpus	12	86	72	83.7	15	20.8
Cauda	25	165	154	93.3	143	92.9

様に高率を示していた。なお、卵回収率は、83.7~94.7%といずれの場合にも高値を示していた。

副睪丸尾部精子を家兎子宮内で、12時間培養後、培養精子を授精に用いたが、実験例における各種条件、受精率は表2の如くである。受精に関する判定基準は、前記

Table 2 Fertilizing ability of spermatozoa from the cauda epididymidis incubated in the uterus of the rabbit

Experiment	Sperm inseminated into the tube (×1000)/tube	Ovulation points	No. of ova recovered	No. of ova fertilized
1	800	12	10	8
2	840	8	7	4
3	500	10	8	5
4	400	12	11	8
5	580	9	8	3
6	600	9	9	7
7	360	11	10	6
8	450	10	8	5
9	200	12	10	4
10	280	10	9	7
11	900	10	8	5
12	750	9	9	6
13	420	12	10	4
14	400	8	7	6
15	700	10	10	6

Duration of incubation: 12 hours

Ova recovery rate: $\frac{\text{No. of ova recovered}}{\text{Ovulation points}} = \frac{134}{152} (88.2\%)$

Fertilization rate: $\frac{\text{No. of ova fertilized}}{\text{No. of ova recovered}} = \frac{84}{134} (62.7\%)$

分類に従った。卵回収率は88.2%、受精率は62.7%で、いずれも、前記副睪丸各部位別精子の受精能に関する実験における尾部精子の各数値よりも低値を示している。

In vitro での家兎卵管分泌液中における副睪丸尾部精子の受精能に関する実験の結果は、採取直後の新鮮卵管分泌液1.0ml中に、0.02~0.05mlの尾部精子を混入して一定時間培養後、その運動率は、70~80%と高率に保持されていることは認められたが、授精後の受精能に関する実験では、精子は、卵の透明層内まで貫入していくこと

を認めたが、それを貫通して、卵黄周囲腔内あるいは細胞質中まで貫入した精子を認めることはできなく、従来、不完全型の capacitated sperm と報告されてきた精子を得るにとどまった。(図9)

総括ならびに考按

副睪丸の機能としては、睪丸で形成された精子の生物学的活性を維持する目的から、前立腺、精囊等の男性々管附属器と共に、精漿形成に関与していることは勿論であるが、さらに、最も特徴的な機能として、精子の活性化作用以外に、精子の成熟、生存性の延長等に関与した機能が重視されてきている。

精子が副睪丸を通過するのに必要な時間的問題については、動物種属差によつて一定せず、数日から数週間であると報告されているが、この間、副睪丸精子は成熟過程と関連したある生物学的変化を行なうことが明らかである。

副睪丸各部位別精子の運動性に変化がみられることは、Tournade¹²⁾ (1913), Redenz¹³⁾ (1924), Benoit¹⁴⁾ (1926), Moore¹⁵⁾ (1928), Young¹⁶⁾ (1931), Collery¹⁷⁾ (1943), Mukherjee & Bhattacharge¹⁸⁾ (1949), Risley¹⁹⁾ (1955) 等の報告で明らかにされてきたが、最近、さらにその運動性の変化が、各部位別精子の受精能との関連で注目を浴びてきた。しかしながら、副睪丸精子の運動性の変化も、動物の種属によつて一定せず、現象の理解は複雑で統一的行なうことは困難であるといわれている。

最近、Gaddum¹¹⁾ (1969) は、家兎副睪丸を睪丸側より、夫々、9個所に区分し、各部位の精子運動の変化を詳細に観察報告している。

著者は、家兎副睪丸精子の受精能を比較する目的から、9個所にわたる区分化は不必要であるという認識から、これを睪丸側より、順次、頭部、体部、尾部と3区分に分類し、精子運動の変化を連続的に16mm映画撮影を行つて、これを比較検討した。その結果は前述の如くであるが、精子は頭部、体部、尾部へと下降していくに従い、その運動様式に著明な変化を示していることを認めることができた。すなわち、副睪丸頭部では、精子の直進運動は、ほとんど認めず、精子は円運動または振

動様運動を示したが、副睪丸下降に従い、射精精子と同様の活発な直進性の運動に変化していくことを観察した。直進運動に変化していくということは、精子が副睪丸下降と共に、より効率の優れた運動様式へと変化していくことを意味している。運動様式の変化のみならず、精子の活動性の増大化も認められた。Orgebin-Crist²⁰⁾ (1967) も家兎副睪丸精子について、著者とほぼ同様な観察を報告している。

副睪丸内下降の経過で、精子が射精精子同様の運動様式へと変化していくことは、精子の副睪丸内における成熟過程に他ならないと推論することができる。

精子が副睪丸内下降に際し、睪丸での精子形成に連続した成熟変化の最終過程を経過することは、古くは、1926年の Hammond & Asdell の報告²¹⁾を最初として、Redenz²²⁾ (1926), Young¹⁶⁾ (1931), Branton & Salisburly (1947), Glover²⁴⁾ (1962), Amann & Almquist²⁵⁾ (1962), Bedford²⁶⁾²⁷⁾ (1963, 1966), Gaddum & Glover²⁸⁾ (1965), Fulka & Kaeford-Johnsen²⁹⁾ (1966), Orgebin-Crist²⁰⁾ (1967) 等の報告で明らかにされてきている。しかるに、その成熟機構の詳細は、今日なお不明とされており、Redenz (1926) の外因性因子としての副睪丸内分泌液の関与を想定した説、あるいは、Young¹⁶⁾ (1931) 等の、精子そのものの生物学的変化を重視した説等が支配的な位置を占めてきた。最近、Fawcett & Hollenberg³⁰⁾ (1963), Bedford³¹⁾³²⁾ (1963, 1965) 等は、電子顕微鏡を用いて、家兎副睪丸各部位別精子の尖体帽の形態学的変化、精子の表層変化等について報告している。副睪丸粘膜組織の微細構造、細胞化学的特性の同定については、組織化学の手法を応用した多数の研究が報告されてきている。副睪丸内分泌液についての生化学的分析は、その連続的採取法が困難であるという理由で、ほとんど報告がなかつたが、White & Wales³³⁾ (1961) 等の採取法の考案も加わり、最近、その生化学的組成分析が進められてきている。

副睪丸各部位別精子の受精能の比較検討に関しては、Toothill & Young³⁴⁾ (1931), Young¹⁶⁾ (1931) 等は、モルモットでは、頭部精子で35%、尾部精子で68%の受精率を示したと報じ、Blandau & Rumery⁹⁾ (1964) は、ラットを用いて同様の実験を行った結果、頭部精子の受精では、238卵中18卵(8%)、尾部精子で264卵中245卵(93%)に受精卵を認めたと報告している。家兎については、Bedford²⁷⁾ (1966), Orgebin-Crist²⁰⁾ (1967) 等は、副睪丸各部位より採取した精子を卵管または子宮腔内に授精して受精率を比較検討した結果、副睪丸体部を $\frac{1}{2}$ 下降した時点で、精子の受精能を認め、副睪丸体部下部に至り受精率は急激に上昇したと報じている。しか

し、Bedford²⁷⁾ (1966) は、体部下部精子に至り、受精率は97%と上昇しても、これらの精子を卵管内に授精した際に回収した卵の周囲には、尾部精子授精に比較して極く少数の精子しか認められなかつたことを重視し、副睪丸尾部に到り、精子は完全に成熟していくものではないかと推論している。

著者の実験でも、これらの報告と、ほぼ同様の結果を得ている。すなわち、副睪丸頭部精子では、ほとんど受精卵を得ることが出来なく、体部に到り20.8%と、Bedford²⁷⁾ (1966), Orgebin-Crist²⁰⁾ (1967) の報告に比較して、若干低値を示したが、尾部精子では92.9%と高値を示していた。頭部精子授精によつて74卵中3卵に受精卵を回収し得たことは、Bedford²⁷⁾ (1966) の報告と異なる点であるが、この場合は、体部に接近した頭部より採取した精子によるものと考えられる。

副睪丸精子は、下降に従い運動性に变化を認め、直進性の効率のよい運動に変化していく事実と、副睪丸各部位別精子の受精能の比較で、尾部精子で最も受精率がよいことが判明したが、両者の現象が、なんらかの機序で関連性があるかどうかということは興味深い問題である。Blandau & Rumery⁹⁾ (1964) は、この点に関して、副睪丸頭部精子をラット子宮腔内に授精した場合は、その運動性の非直進性から、精子は子宮卵管結合部を通過することが出来ず、それが受精率低下の原因であると報告しているが、家兎についての Orgebin-Crist²⁰⁾ (1967) の報告では、副睪丸頭部精子でも子宮卵管結合部を通過して卵管腔内に精子は移動するとしていることから、動物による種属差の存在が推定される。著者等の実験では、家兎に性腺刺激ホルモン負荷をして排卵を誘発した場合は、子宮卵管結合部は、生理的に一時閉鎖されることが明らかとなっているが、受精精子の卵管内移行についても、なお、検討の余地があるものと考えられる。さらに、精子が、例へ、卵管膨大部という受精の場に有効濃度移動したとしても、なお、卵子への貫入機序に関連して精子の運動様式が問題となる可能性も考えられる。Glover²⁴⁾ (1962), Gaddum & Glover²⁸⁾ (1965) 等は、家兎副睪丸頭部あるいは体部を結紮し、精子の下降を阻止して貯溜された精子の成熟過程を検討した結果、精子が副睪丸内を正常に移動しない状態でも、精子は成熟することができることを報告している。その後 Fulka & Koeford-Johnsen²⁹⁾ (1966) も、同一条件下での精子の形態学的問題を検討して Gaddum & Glover の報告を確認しているが、頭部又は体部精子を授精に用いて受精能を検討したが、受精卵を得ることはできなかつたと報じている。著者も副睪丸各部を結紮し、1~5週間後の精子の運動率および形態的变化について検討したが、副

睾丸各部結紮後4週間では、副睾丸頭部の著明な腫脹を認め、副睾丸頭部には全く精子を認めることができなく、同時に副睾丸尾部下端での尾部精子は、図10の如く、ほとんど精子頭部と尾部の分離したいわゆる、de-capitated sperm の存在を認めたとすぎなかつた。

一般に、哺乳類の交尾の時期は、卵胞成熟期、あるいは、発情期等の極く短時間に限局されているが、精子は射精後、急速に受精の場である卵管膨大部まで移動し、その場で卵子を待期している例が多い。したがって、精子の受精能維持期間は、卵子のそれに比較して、遙かに長いのが普通である。受精の場に到る精子と卵子の時期的相関は、家兔のような交尾刺激後排卵の惹起される動物では、比較的明確である。すなわち、家兔では交尾後約10時間で排卵するが、精子は交尾後直ちに卵管内まで移動を開始し、約3~4時間後に卵管膨大部に達すると報告されている。したがって、家兔では、排卵前約6時間を、精子は卵子を待つことになる。その間、精子は受精能を獲得するために、子宮あるいは卵管内にあつて、ある種の生物学的変化を行うもので、これは、精子の成熟過程とは本質的に異なるものであることが明らかにされ、Chang³⁵⁾ (1951), Austin³⁶⁾³⁷⁾ (1951, 1952)等は、これを精子の capacitation 現象と呼んだ。capacitation の本質は、未だ解明されていないが、最近、Austin³⁸⁾ (1963)は、精子の表面に脂肪蛋白被膜様の形で付着している高分子物質が、第1段階で除去され、次いで、精子の尖体消失という生理学的変化が第2段階で惹起されるという2段階現象で、その本質を説明している。先に、Chang³⁹⁾ (1957)は、既に、6時間以上、家兔子宮内で培養して受精能を獲得した精子を、稀積精漿中に20~30分間放置後、その精子を再び排卵直後家兔卵管内に移植した場合、全く受精卵を得ることができなかつたことから、精漿中には、精子の受精能を消失させるような、いわゆる、decapacitation 因子が含まれており、capacitation の本質とは、子宮または卵管内で、decapacitation 因子が破壊あるいは不活性化されることであると仮定している。Williams et al⁴⁰⁾ (1964)は、さらに、検討をくわえ、decapacitation 因子が副睾丸分泌液中にも含まれており、その因子は子宮内で破壊されることを報告した。

副睾丸尾部精子は、授精によって、射精精子と同様、高率の受精率を得ることは、著者の実験成績でも明らかとなつたが、著者は、さらに、詳細に尾部精子の capacitation について検討をくわえた。副睾丸尾部精子を一定時間子宮内で培養した後、いわゆる、capacitated sperm を排卵時家兔卵管膨大部に授精した。受精率は65.1%、前記尾部精子を直接受精の場に授精して、卵管

内で、capacitation を完了した場合の92.9%と比較して低値を示していた。これは、精子を子宮内で培養する場合、in vitro での処理の機会が多く、精子の生物学的特性に影響の加わる可能性が大であること、子宮内培養精子採取にあつて、精子懸濁液中に、時に多数の白血球の混入を認める等の理由が原因であると考えられる。受精率に若干の差は認められるが、以上の実験成績より、副睾丸精子は尾部に至り、capacitation に関しても、ほぼ成熟精子と同様の成熟過程を完了していると結論することができる。

In vitro で精子の capacitation を最初に試みたのは、1955年の Chang の報告⁴¹⁾であるが、家兔血清、必須アミノ酸、果糖およびブドウ糖等を含む生食水で、家兔精子を2~16時間培養後、培養精子を排卵時卵管内に移植したが、受精卵を得ることはできなく、さらに、子宮内膜組織片、摘出子宮腔内等で capacitation を試みたが、いづれも成功しなかつた。Noyes et al⁴²⁾ (1958)は、家兔精子を用い、子宮内膜組織片あるいは摘出子宮腔内で室温にて培養した結果、卵子の透明層内までは貫入するが、卵黄周囲腔内まで貫通不能の、不完全 capacitation 型ともいわれる精子を得ることができたことを報じ、精子の capacitation 経過中に内膜等の組織から基質を吸収するとすれば、capacitation の程度は、精子数と組織中の基質との質的な関係によつて左右されるものであると推論している。最近、Hafs et al⁴³⁾ (1965)は家兔精子を子宮内液あるいは、 β -amylase を含む磷酸塩緩衝 Lock 溶液中で培養した結果、in vitro で capacitation に成功したと報じており、Williams et al⁴⁴⁾ (1965)も、 β -amylase で精漿を処理することで、decapacitation 因子の活性が破壊されると報告している。しかし、その後、Hafs et al の β -amylase 説は多くの追試によつて否定されてきている。

卵管内には、性細胞の呼吸に必要な以上の高濃度の酸素が含まれていることが明らかにされて以来、雌性管からの分泌液の精子呼吸系に及ぼす影響が注目されてきた。Hamner & Williams⁴⁵⁾ (1963)は家兔精子を卵管分泌液中で培養した場合、精子の呼吸が約5倍も増加したことから、酸素摂取率の上昇と精子の capacitation 現象の相関を想定し、家兔卵管分泌液中の精子呼吸刺激因子として、分泌液中の重炭酸塩を同定した。

著者等は、卵管分泌液の精子および卵子に及ぼす影響、あるいは、受精および妊卵の初期発生の場としての卵管の生物学的意義について報告してきているが、Suzuki & Mastroianni⁴⁶⁾ (1965)は、家兔卵管分泌液を用いた in vitro での受精を報告しており、著者も、本実験において、家兔卵管分泌液を結紮法またはフラスコ法

にて採取、各種条件下で副睪丸尾部精子を培養し、培養精子の受精能を検討したが、Noyes et al⁴²⁾ (1958) の報告と同様、卵子の透明層までは貫入する不完全 capacitation 精子を得るにとどまり、完全な受精卵を回収することはできなかった。capacitation の本質が解明されていない現状で、in vitro での capacitation が果して可能であるかどうかということは、非常に疑問であり、卵管分泌液にくわえて、卵管粘膜から持続的に供給されるある種の物質が必須条件であることが考えられるが、この問題は、今後の生殖生物学発展上も、さらに、重要な課題として研究されなければならないものと思われる。

結 論

1. 家兎副睪丸各部位別精子の運動性の変化を連続映画撮影法によって観察した結果、副睪丸頭部精子では、ほとんどの精子が円運動または振動様運動を示し、直進運動を認めることはできなかった。しかるに、副睪丸を体部、尾部へと下降するに従い、射精々子と同様の、効率のよい活発な直進性の運動に変化した。

2. 副睪丸各部位別精子の受精能を、比較検討する目的から、各部位別精子を家兎卵管内に授精し、同時に人工排卵を惹起して、卵子の受精率を比較した結果、頭部精子、体部精子、尾部精子の順に、夫々、0.04%、20.8%、92.9%であり、尾部精子の受精能は射精々子のそれと同様に優れていることを知った。

3. 副睪丸尾部精子を家兎子宮腔内で一定時間培養後、培養精子を人工排卵直後の家兎卵管内に授精して、その受精能を検討した結果、62.7%の受精卵を得ることができた。この値は、副睪丸尾部精子の卵管内への直接的な授精後の数値より低値を示していた。

4. Capacitation の本質にかんしては、現在、なお、解明されていないが、著者は、性管内での卵管分泌液の意義に注目し、卵管両側結紮法またはフラスコ法によって採取した卵管分泌液を培養液として、副睪丸尾部精子を in vitro で培養し、in vitro での精子の capacitation の可能性について検討したが、卵子の透明層内に多数の精子を認めることはできたが、透明層を貫通して、卵黄周囲腔内、あるいは、細胞質中に貫入した精子を認めることはできなく、いわゆる、不完全型の capacitated 精子を得るにとどまった。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜わった野嶽幸雄教授に感謝し、終始、御指導、御鞭撻を賜わった飯塚理八助教授に感謝と敬意を表すると共に、直接、御指導をいただいた鈴木秋悦博士に、深甚なる謝意を表しま

す。また、実験に助力を戴いた戸張宏彦氏に感謝致します。

尚、本論文の要旨の一部は、第13回日本不妊学会総会(久留米)および第9回日本先天異常学会総会シンポジウム(京都)にて報告した。

文 献

- 1) Rikmenspoel, R.: In: Spermatozoan Motility. D. W. Bishop, ed. Amer. Ass. Adv. Sci., Washington D. C., No. 72: 31 (1962).
- 2) Tampion, D.: J. Reprod. Fert., 11: 371 (1966).
- 3) Bishop, D. W.: Physiol. Rev., 42: 1 (1962).
- 4) Holwill, M. E. J.: Physiol. Rev., 46: 696 (1966).
- 5) Nelson, L.: In: Fertilization. Comparative Morphology, Biochemistry and Immunology, Vol. 1. p. 27. Eds. C. B. Metz and A. Monroy. Academic Press, New York (1967).
- 6) Branham, J. M.: J. Reprod. Fert., 18: 97 (1969).
- 7) Duijn, C. van, & Rikmenspoel, R.: J. agric. Sci., 54: 300 (1960).
- 8) Tampion, D. & R. A. Gibbons: J. Reprod. Fert., 5: 249 (1963).
- 9) Bladau, R. J. & R. E. Rumery: Fertil. Steril., 15: 571 (1964).
- 10) Hammner, C. E. & Williams, W. L.: J. Reprod. Fert., 5: 143 (1963).
- 11) Gaddum, P.: Anat. Rec., 16: 471 (1969).
- 12) Tournade, A.: C. R. Soc. Biol., 74: 738 (1913).
- 13) Redenz, E.: Arch. f. mikrosk. Anat. u. Ent. mech., 103: 593 (1924).
- 14) Benoit, J.: Arch. d'Anat. d'Histol. et d'Embryol., 5: 173 (1926).
- 15) Moore, C. R.: J. Exper. Zool., 50: 455 (1928).
- 16) Young, W. C.: J. Exp. Biol., 8: 151 (1931).
- 17) Collery, L.: Proc. Roy. Irish. Acad. 49 B: 213 (1943).
- 18) Mukherjee, D. P. & P. Bhattacharya: Proc. Zool. Soc. Bengal., 2: 149 (1949).
- 19) Risley, P. L.: J. Cell. and Comp. Physiol., 45: 21 (1955).
- 20) Orgebin-Crist, M. C.: Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys., 7: 373 (1967).
- 21) Hammond, J. & Asdell, S. A.: J. Exp. Biol., 4: 155 (1926).
- 22) Redenz, E.: Wurzb. Abh. Ges. Med., 4: 107 (1926).
- 23) Brantod, C. & Salisbury, G. W.: J. Anim. Sci., 6: 154 (1947).
- 24) Glover, T. D.: Int. J. Fertil., 7: 1 (1962).
- 25) Amann, R. P. & Almquist, J. O.: J. Dairy

- Sci., 45 : 1516 (1962).
- 26) Bedford, J. M. : Nature, 200 : 1178 (1963).
- 27) Bedford, J. M. : J. Exp. Zool., 163 : 319 (1966).
- 28) Gaddum, P. & Glover, T. D. : J. Reprod. Fert., 1 : 119 (1965).
- 29) Fulka, J. & Koefoed-Johnsen, H. H. : Aarsberetn. Inst. Sterilitetsforskn K. Vet-og Landbohøjskole, Copenhagen, p. 213. (1966).
- 30) Fawcett, D. W. & Hollenberg, R. D. : Z. Zelloforsch., 60 : 276 (1963).
- 31) Bedford, J. M. : J. Reprod. Fert., 5 : 169 (1963).
- 32) Bedford, J. M. : J. Anat., 99 : 891 (1965).
- 33) White, I. G. & Wales, R. G. : J. Reprod. Fert. 2 : 225 (1961).
- 34) Toothill, M. C. & Young, W. C. : Anat. Rec., 50 : 95 (1931).
- 35) Chang, M. C. : Nature, 168 : 697 (1951).
- 36) Austin, C. R. : Aust. J. Sci. Res., 4 : 581 (1951).
- 37) Austin, C. R. : Nature, 170 : 326 (1952).
- 38) Austin, C. R. : In : Mechanism concerned with conception, C. G. Hartman, editor, New York, The Macmillan Company. p. 285 (1963).
- 39) Chang, M. C. : Nature, 179 : 258 (1957).
- 40) Williams, W. L., Weinman, D. E. & Hamner, C. E. : Proc. 5th International Congress on Reproduction. Trento, Italy (1964).
- 41) Chang, M. C. : Nature, 175 : 1036 (1955).
- 42) Noyes, R. W., Walton, A. & Adams, C. E. : J. Endocrinol., 17 : 374 (1958).
- 43) Hafs, H. D. : Presented at the Gamete Transport, Fertilization and Preimplantation Mechanism, Nashville, U.S.A., (1965).
- 44) Williams, W. L., Dukelow, W. R. & Chernoff, H. N. : Fed. Proc., 24 : 700 (1965).
- 45) Hamner, C. E. & Williams, W. L. : J. Reprod. Fert., 5 : 143 (1963).
- 46) Suzuki, S. & Mastroianni, L. : Amer. J. Obstet. & Gynec., 93 : 465 (1965).

Studies on the movement and fertilizing capacity of the epididymal spermatozoa in the rabbit.

Toshiro Imai, M.D.

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

The rabbit epididymides was divided into three segments : caput, corpus and cauda. The motility patterns were investigated by the time-lapse cine-microscopy and the fertilizing capacity of spermatozoa in each segment were compared by inseminating the spermatozoa into the Fallopian tube of the rabbit induced ovulation by injecting HCG. The spermatozoa recovered from the cauda epididymidis was incubated in the rabbit tubal fluid in vitro for 12 hours and the incubated spermatozoa was inseminated into the Fallopian tube for evaluating the sperm capacity after culture in vitro. The incompletely capacitated spermatozoa were recovered.

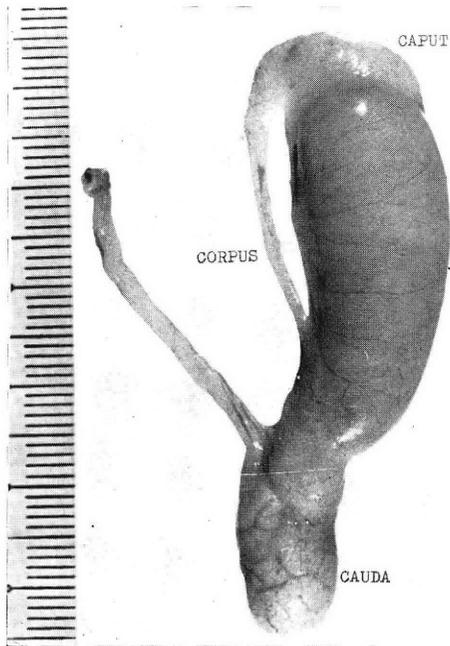


図 1 家兎副睪丸における頭部、体部、尾部の区分



図 2 両側結紮法による家兎卵管分泌液の採取

上図は卵管分泌液貯溜による腫大卵管
下図は正常卵管

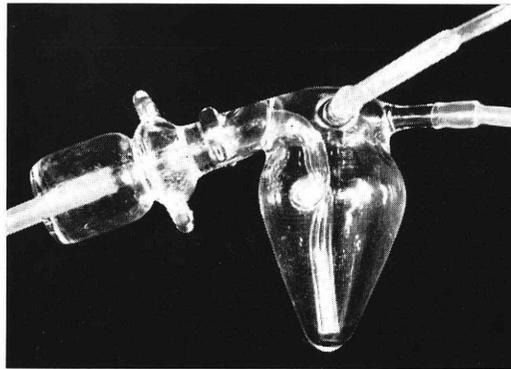


図 3 卵管分泌液採取に用いたフラスコ

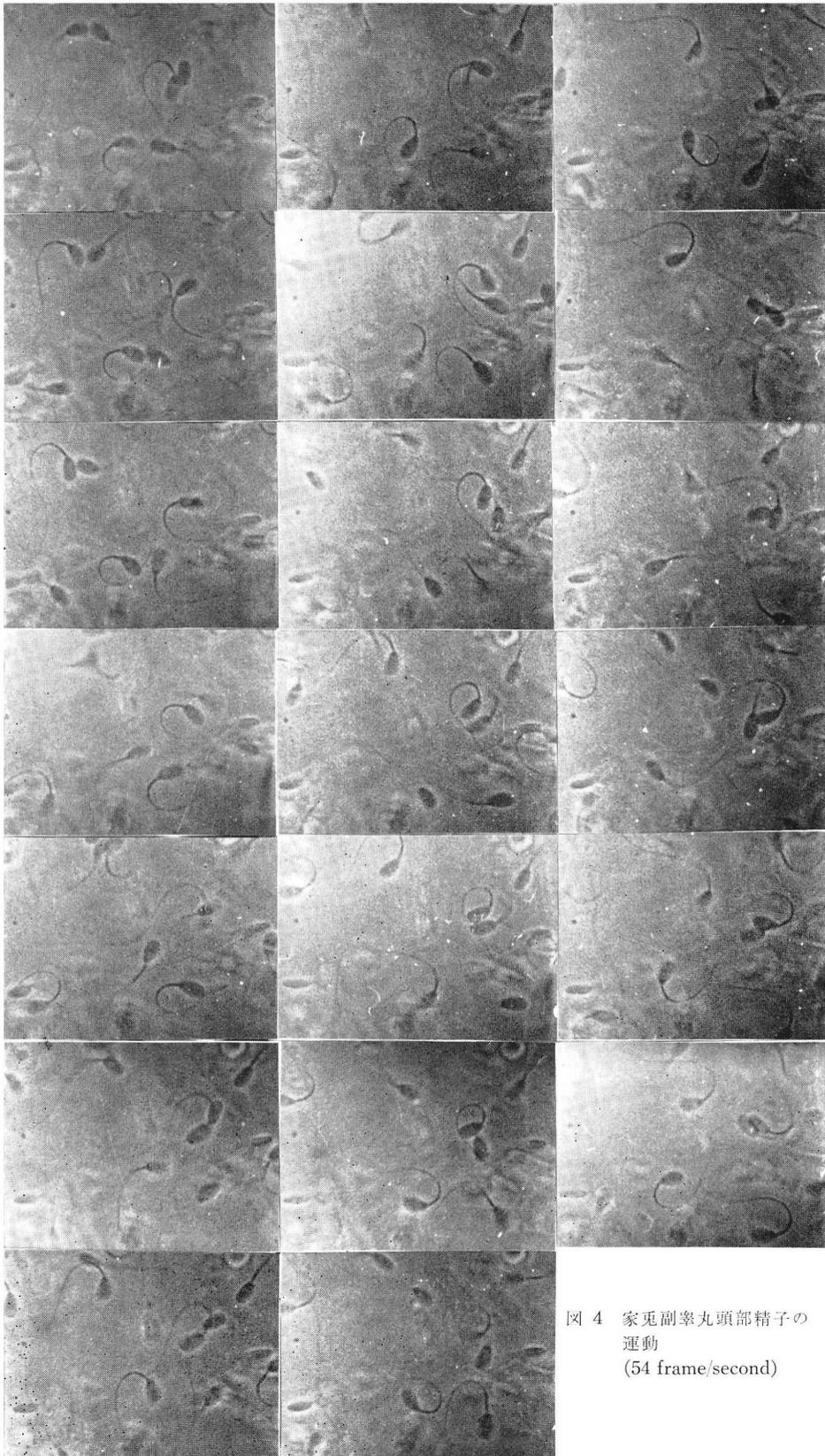


図 4 家兔副睾丸頭部精子の運動
(54 frame/second)

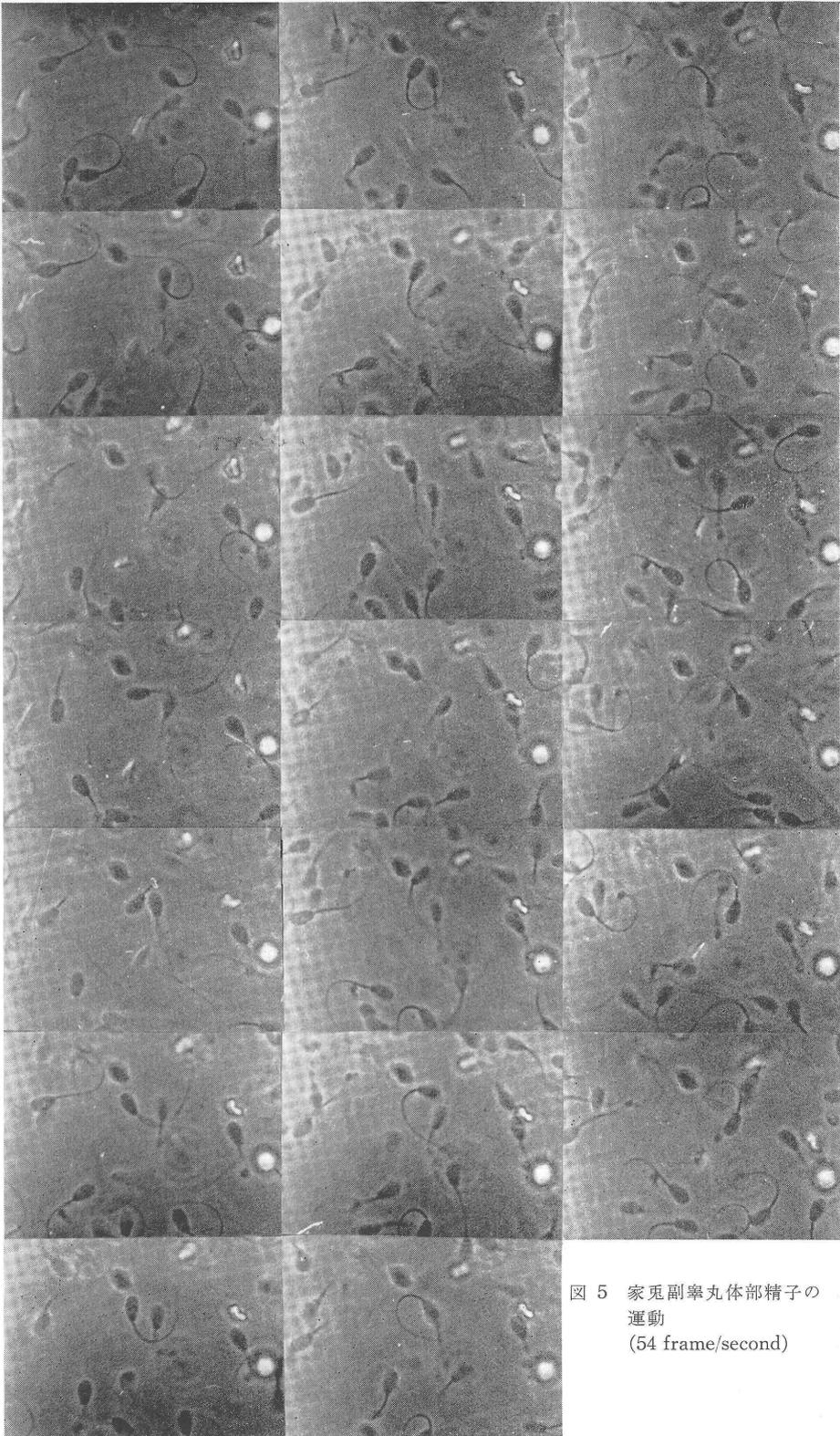


図 5 家兔副睪丸体部精子の運動
(54 frame/second)

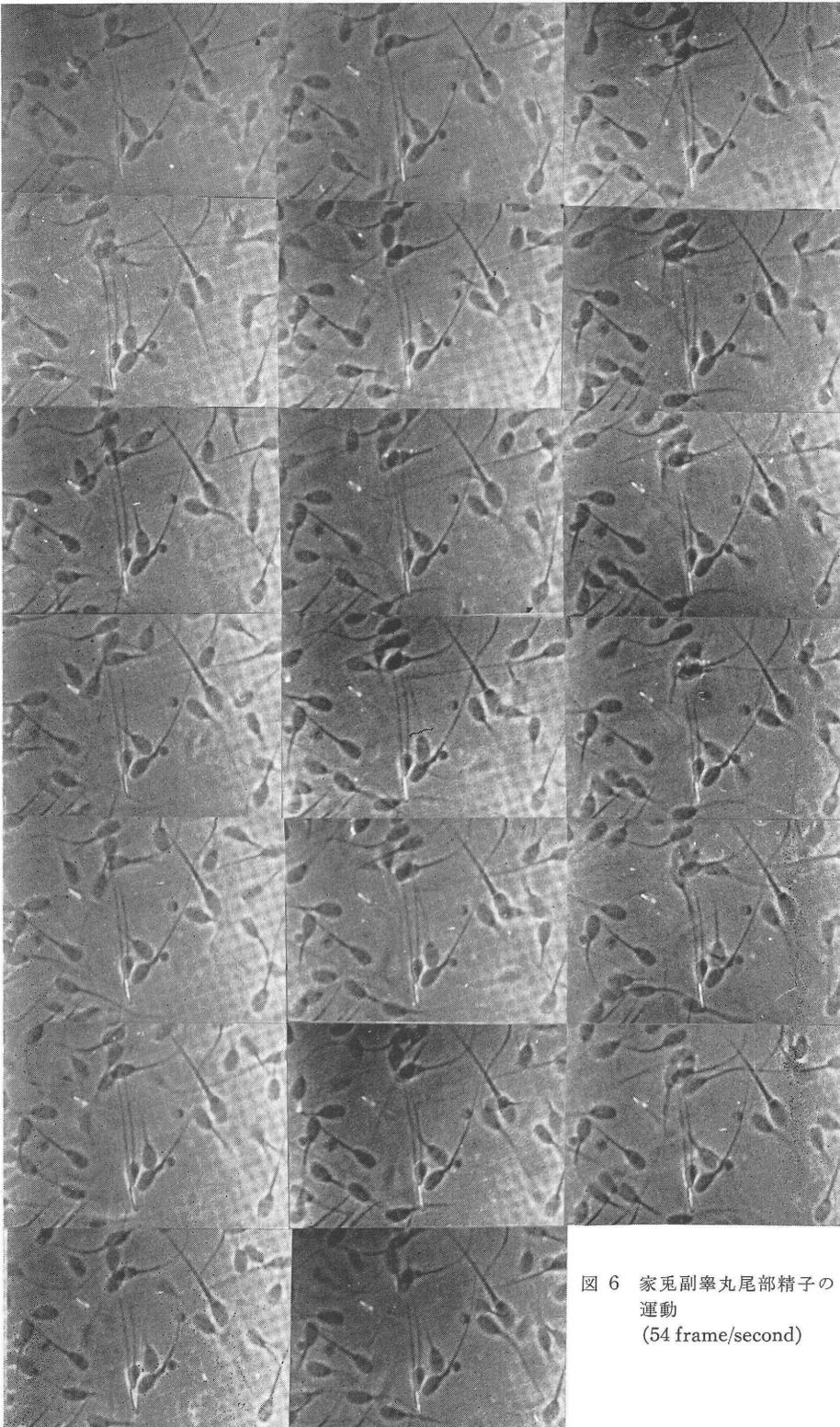


図 6 家兔副睾丸尾部精子の運動
(54 frame/second)

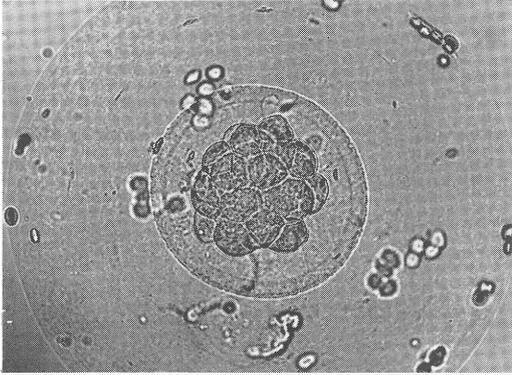


図 7 家兎副睾丸尾部精子授精後 4 日の子宮腔内より採取した正常桑実期胚

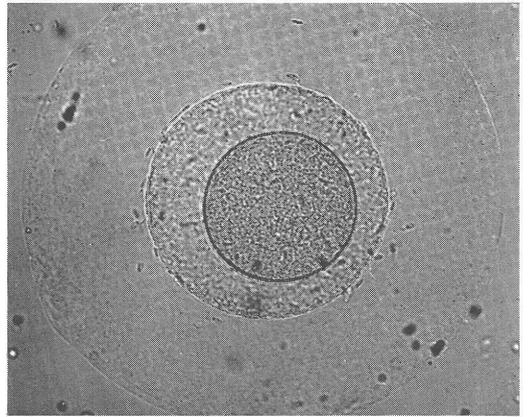


図 8 家兎副睾丸頭部精子授精後 24 時間の卵管内より採取した不受精卵。
退行変性等の異常変化は認められないが、外層のムチン層中に数箇の精子を認める。

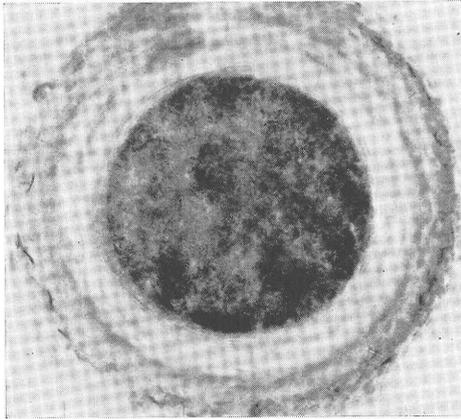


図 9 In vitro における家兎副睾丸尾部精子の capacitation.
透明層内に多数の精子を認めるが卵黄周囲腔内に貫入した精子を認めることはできない。

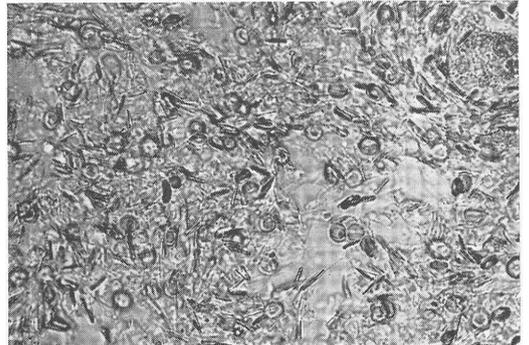


図 10 家兎副睾丸尾部の前後結紮によつて (4 週間) 貯溜された精子は、図の如く decapitated sperm として採取された。

男性不妊症の治療

I. 男性不妊症患者精液，血清生化学値ならびに尿中ステロイド排泄に及ぼす Metharmon M の影響

Medical Treatment of Male Sterility

I. Influence of Metharmon M on seminal fluid, biochemical values in serum and the amount of steroids excreted into urine

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 松木 暁 藤本 洋二
Tomoyuki ISHIBE, Akira MATSUKI and Yoji FUJIMOTO

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

対照17例を含む56例の男子不妊症患者に対し Metharmon M を1日6錠宛，1ヶ月以上3ヶ月にわたり経口投与し，1ヶ月毎に精液量，精子濃度，運動率を検討した。また薬剤投与終了時の血中 total protein, A/G 比, total bilirubin, TTT, total cholesterol, ALP, GPT, GOT, ecreatinine 及び尿中17-KS, 17-OHCS を測定し，治療前値と比較して次の成績を得た。

- (1) 精液に対する影響は精子濃度に対するものが大で，投薬中止後も高い値を維持しえた。
- (2) 血清 ALP 活性の増加がみられたが，GPT, GOT を含む肝機能については一定の変化を示さなかった。
- (3) 尿中17-KS, 17-OHCS に対してはその排泄を増加させるものが多かった。

男性不妊症，とりわけ精子減少症に対する治療に関しては精管に閉塞がなく精子がみられ明らかな内分泌障害のない場合，対症療法によつても時に効果のみられることが知られている。しかし今日のところ男性不妊症に対する治療法については一定の方式はなく，多くの場合ホルモン療法が月余にわたつて行なわれ，この結果によつて効果の判定が行なわれているにすぎない。治療薬として男性ホルモンないし性腺刺激ホルモンの単独あるいはこれらの併用がなお広く行なわれており，乏精子症に対しこのような薬剤を長期間ないし大量用いることは種々の危険を併うことが知られている (Schirren)。今回これら単独製剤と異つた代謝性総合ホルモン製剤であるメサルモンMを男性不妊症患者に対し使用し若干の成績を得たので報告する。

対象ならびに実験法

広島大学医学部附属病院泌尿器科において昭和43年7月より12月末までに来院した不妊期間3年以上の未治療患者56例を対象とし，精子数に応じて(1)無精子症群，(2)乏精子症群，(3)正精子症群に分けた。これらのうち39例に対しメサルモンM，1日6錠宛毎食後に3分服せしめ，1ヶ月以上3ヶ月経口投与し，残りを placebo 投与群とした。この間1ヶ月毎に精液量，精子濃度，運動率を検討した。精液の採取は4日以上禁慾した後用手法によつて行ない，30分間放置した後検査した。薬剤投与中止後の精液についても同様1ヶ月の間隔をおいて3ヶ月にわたつて検討した。また薬剤投与終了時の血清 total protein (以下 TP と略す。アタゴ卓上屈折計)，

A/G 比 (Biuret 法), total bilirubin (Jaffe 法), thymol turbidity test (以下 TTT と略す. Schank-Hoagland 法), total cholesterol (Zak-Henley 法), alkaline phosphatase (ALP と略す. King-Kind 法), glutamic pyruvic transaminase (GPT と略す. Reitman-Frankel 法), glutamic oxalacetic transaminase (GOT と略す. Reitman Frankel 法), creatinine (Jaffe 法)ならびに尿中17-KS(Drektor 神戸川変法), 17-OHCS (Gren-Nelson 神戸川変法)を測定し, 治療前値と比較した. これらの成績の判定は検査時点での症例数の違いならびに当科における判定上の誤差を考慮した上で治療前値に対し30%以上の変動をもって有意とし, 増加したものを, 減少したものおよび不変の3群に分けた.

成 績

1. 精液所見に対する影響 (表1, 32例)

精液量に対する効果をみるとメサルモンM投与1ヶ月目に検討し得た27例中6例が増加を示し, 減少したものは2例であった. このような傾向は2ヶ月, 3ヶ月の投与例でも同様であり, その大半は±30%以内の変動であったが, 減少するものに比すれば増加するものが多かった. しかし精子数との間には影響に差がみられなかった.

精子濃度に対する効果をみると全体としては治療中や増加の傾向を示すものが多いが, 中止後も高い値を維持しており, 中止後1ヶ月および2ヶ月のいずれにおいても検討し得た20例中それぞれ12例及び11例が30%以上の増加を示した. この傾向は無精子症群より乏精子症群でより明らかであった.

運動率に対する効果をみるとメサルモンM投与2ヶ月までは約1/3の症例で30%以上の増加がみられており, 中止後も増加を示すものが多く, 中止後2ヶ月の場合には12例中9例に増加がみられている. 精子濃度との関係では乏精子症群が無精子症群に比し運動率の改善をみるものが多かったし, 中止後の運動率増加も乏精子症群でより多くみられた.

II. 血液所見に対する影響 (表2, 39例)

TP に対するメサルモンMの影響をみると全例30%以内の変動であり, A/G 比に対する影響も乏精子症の2例で増加を示したが, これ以外では30%以内の変動にすぎなかった.

total bilirubin に対する影響は増加したものを, 減少したものがほぼ同数でメサルモンM投与による一定した傾向はみられなかった.

ALP に対する影響をみると39例中14例に増加がみられた. 減少したものは4例でメサルモンMは血中 ALP

活性を増加せしめるといえる成績であった.

creatinine, BUN など腎機能示標と目されるものに対する影響は不定ではつきりした影響はない.

III. 尿中ステロイドホルモンに対する影響 (表3, 29例)

増加したものは17-KS では29例中11例, また17-OHCS では10例であり, 減少したものはそれぞれ2例, 4例であった. このことは尿中ステロイド排泄をメサルモンMが増加させるといえる成績である.

なお以上の成績を比較的全体として症例の多いメサルモンM投与3ヶ月目および投薬中止後2ヶ月目について対照と比較し, echi square を求め危険率5%でもって推計したものを表4に示した.

考 按

泌尿器科領域, とくに男性不妊症に対するホルモン療法は男性ホルモンの大量, PMS あるいは HCG と男性ホルモンの大量, さらにはその他の薬剤との併用といったような方法が過去20年間にわたって用いられてきた. しかしこれらの薬剤にも副作用があり, rebound phenomenon を期待した治療法自体にも生体内の代謝過程と全く異なる薬剤は好ましくないとの意見も最近強くなってきた. メサルモンMは乾燥甲状腺末7.5mg, testosterone 1.0mg, androstenedione 1.5mg, androstenediol 0.5mg, pregnenolone 1.0mg の合剤で, これらの協力によって生体内のホルモンバランスを改善せんとして作られた薬剤である.

このメサルモンM投与によって精液量にはほとんど影響を有しないが, 減少を示すものより増加するものが多かった. 精液量は極端に少ない場合以外不妊の原因としては重要ではないが, 男性ホルモンの投与によってこれが増量するとした田辺 (1965) の成績に比し劣つたことは本剤に含まれる testosterone の量が少ないことによると考えられる.

精子濃度に対する効果について沢崎ら (1966) は乏精子症および無精子症例では効果が期待できないとしているが, 著者の成績は前に述べたごとく精子量に対するより有効な例が多かった. 乏精子症群では無精子症群に比し改善率がよかつたこと, また相当長期間にわたって高い値を維持することが期待できたことは本剤が男性不妊症の治療薬剤たりうることを示すものである. また無精子症群に対する効果が乏精子症群に比し少なかったことは飯塚ら (1966) の成績と一致し, 沢崎ら (1966) の減精子症群で有効とした成績とも本質的には一致するものである.

運動性は卵との結合に必要であり, この因子に対する

Table 1 精液所見に対する Metharmon M の影響 (n=32)

	Total (n=32)	Azoospermia (n=14)						Oligospermia (n=16)						Normozoospermia (n=2)										
		使用後		中止後		使用後		中止後		使用後		中止後		使用後		中止後								
		1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M					
Volume	Control	cases	17	17	16	12	14	9	7	7	6	5	5	3	8	8	8	7	7	6	2	2	2	
		over 30% increased	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		within 30%	17	17	16	12	13	9	7	7	6	5	4	3	8	8	8	7	7	6	2	2	2	2
	Treated	over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		cases	27	21	18	20	21	8	10	9	4	8	4	4	15	10	12	12	11	4	4	2	2	2
		over 30% increased	6	3	4	8	6	2	2	3	2	2	4	2	4	0	2	6	2	0	0	0	0	0
Density	Control	cases	17	17	16	12	14	9	7	7	6	5	5	3	8	8	8	7	7	6	2	2	2	
		over 30% increased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		within 30%	17	17	16	12	14	9	7	7	6	5	5	3	8	8	8	7	7	6	2	2	2	2
	Treated	over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		cases	25	24	18	20	19	8	8	11	4	8	6	4	15	10	12	12	11	4	4	2	2	2
		over 30% increased	6	2	8	12	11	6	0	0	0	2	4	2	6	2	8	10	7	4	0	0	0	0
Motility	Control	cases	17	17	16	12	14	9	7	7	6	5	5	3	8	8	8	7	7	6	2	2	2	
		over 30% increased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		within 30%	17	17	16	12	14	9	7	7	6	5	5	3	8	8	8	7	7	6	2	2	2	2
	Treated	over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		cases	27	21	18	20	21	8	10	9	4	8	4	4	15	10	12	12	11	4	4	2	2	2
		over 30% increased	10	6	2	4	9	6	0	0	0	0	2	2	8	4	2	4	5	4	2	2	0	0
Treated	within 30%	17	15	10	12	12	2	10	9	4	8	6	2	7	6	4	4	6	0	0	0	0	0	
	over 30% decreased	0	0	6	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	4	0	0	0	0	0	

Table 2(I) 血清理化学値に対する Metharmon M の影響 (39例)

			Total n=39	Azoospermia n=19	Oligozospermia n=18	Normozospermia n=2
T P	Control	cases	17	7	8	2
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	17	7	8	2
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	39	19	18	2
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	39	19	18	2
		over 30% decreased	0	0	0	0
A/G	Control	cases	16	7	7	2
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	16	7	7	2
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	39	19	18	2
		over 30% increased	2	0	2	0
		within 30%	37	19	16	2
		over 30% decreased	0	0	0	0
T. Bilir	Control	cases	17	7	8	2
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	17	7	8	2
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	39	19	18	2
		over 30% increased	12	6	6	0
		within 30%	17	9	8	0
		over 30% decreased	10	4	4	2
T.T.T.	Control	cases	16	7	7	2
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	16	7	7	2
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	39	19	18	2
		over 30% increased	10	6	4	0
		within 30%	18	6	10	2
		over 30% decreased	11	7	4	0
T. chol.	Control	cases	17	7	8	2
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	17	7	8	2
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	39	19	18	2
		over 30% increased	6	6	0	0
		within 30%	31	13	16	2
		over 30% decreased	2	0	2	0

(II)

			Total n=39	Azoospermia n=19	Oligozoospermia n=18	Normozoospermia n=2
ALP	Control	cases	17	7	8	2
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	16	7	7	2
		over 30% decreased	1	0	1	0
	Treated	cases	39	19	18	2
		over 30% increased	14	8	6	0
within 30%		21	9	10	2	
over 30% decreased		4	2	2	0	
GPT	Control	cases	17	7	8	2
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	16	7	7	2
		over 30% decreased	1	0	1	0
	Treated	cases	39	19	18	2
		over 30% increased	12	4	6	2
within 30%		16	8	8	0	
over 30% decreased		11	7	4	0	
GOT	Control	cases	17	7	8	2
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	17	7	8	2
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	39	19	18	2
		over 30% increased	8	4	2	2
within 30%		25	11	14	0	
over 30% decreased		6	4	2	0	
Creatinine	Control	cases	17	7	8	2
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	17	7	8	2
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	39	19	18	2
		over 30% increased	8	6	2	0
within 30%		27	9	16	2	
over 30% decreased		4	4	0	0	
BUN	Control	cases	17	7	8	2
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	17	7	8	2
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	39	19	18	2
		over 30% increased	4	2	2	0
within 30%		27	11	16	0	
over 30% decreased		8	6	0	2	

Table 3 尿中ステロイド排泄値に対する Metharmon M の影響 (29例)

			Total n=29	Azoospermia n=12	Oligospermia n=17	Normozoospermia n=0
17KS	Control	cases	14	7	7	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	14	7	7	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	29	12	17	0
		over 30% increased	11	4	7	0
		within 30%	16	8	8	0
		over 30% decreased	2	0	2	0
17OHCS	Control	cases	14	7	7	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	14	7	7	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	29	12	17	0
		over 30% increased	10	8	2	0
		within 30%	15	4	11	0
		over 30% decreased	4	0	4	0

Fig. 4 chi square 検定

	Volume	Density	Motility
使用后 3 カ月目	×	○	○
中止後 2 カ月目	×	○	○

	TP	A/G	T. Bilir.	T. T. T.	T. chol.	ALP	GPT	GOT	Creati- nine	BUN	17-KS	17- OHCS
使用后 3 カ月目	×	×	○	○	×	○	○	○	×	×	○	○

註：○印；変動は危険率 5 % で有意である。
 ×印；変動は危険率 5 % で有意でない。

メサルモンMの影響は飯塚ら (1966) に反し増加するものがその 1/3 にみられた。この値は沢崎ら (1966) の 43.5 % に近いが、田辺 (1965) の testosterone+HCG の半数以上に増加がみられたとする成績に比すればその効果は弱い。

男性ホルモンには蛋白同化作用のあることが知られているが、今回のメサルモンM投与後 1 ないし 3 ヶ月の場合血中 TP および A/G 比に対する影響はみられなかった。

性ホルモン投与に伴う肝障害については数多くの報告がなされてきた。この度の total cholesterol, TTT, total bilirubin, GPT, GOT などに対する成績ではバラツキが多いが一定の成績はみられなかった。また男性ホルモンおよび甲状腺剤の投与による血中 cholesterol の減少も知られているが、今回の成績ではこれらに対する影響もみられなかった。しかし ALP 活性に対してはこ

れを増加させるものが多く今後の検討が必要と考えられる。

尿中 17-KS, 17-OHCS に対し男性ホルモン投与はその排泄を増加させるので本剤の投与に伴ってこれが増加することは当然期待でき、飯塚ら (1966) もその増加をみることが多いとし、今回の成績でも同様の傾向を認めた。

以上の事実からみて本剤にはとりあげるべき副作用もなく、精液、とくにその精子濃度に対する効果がかなり期待できたことは本剤が不妊症の治療に用い得ることを示すものであろう。

結 語

広島大学医学部附属病院泌尿器科に来院した男性不妊症患者 39 例に対しメサルモンMを 1 ~ 3 ヶ月にわたって経口投与した際の精液量、精子濃度、運動率に対する影

響と同時に血清生化学値, 尿中ステロイド値に及ぼす影響を検討し, 対照の17例と比較した。

(1) 精液に対する影響としては精子濃度に対するものが大で, 投薬中止後も高い値を維持しえた。

(2) 血清 ALP 活性の増加がみられたが, GPT, GOT を含む肝機能示標に対しては一定の変化を示さない。

(3) 尿中17-KS, 17-OHCS に対してはその排泄を増加させるものが多かった。

(稿を終るにあたり 恩師仁平寛已教授の御指導, 御校閲をあつく感謝するとともに, 種々御協力をいただいた日本臓器株式会社に感謝致します)。

文 献

- 1) 飯塚理八, 己斐秀豊, 中川欽司, 高橋輝雄, 仁科進弘: 代謝性総合ホルモン(メサルモンM)による男性不妊の治療, 産科と婦人科, 33: 1058-1064, 1966.
- 2) 沢崎千秋, 柳沢洋二, 長谷川雅宏, 前田元良: メサルモンMの不妊夫精子所見に及ぼす影響について. 日不妊会誌, 11: 130-135, 1966.
- 3) Schirren, C.: Die konservative Therapie von Fertilitätsstörungen des Mannes. Urologe, 7: 179-184, 1968.
- 4) 田辺泰民: 雄性副性器分泌液に関する研究. 泌尿紀要, 11: 1217-1228, 1965.

Medical Treatment of Male Sterility

I. Influence of Metharmon M on seminal fluid, biochemical values in serum and the amount of steroids excreted into urine

Tomoyuki Ishibe, Akira Matsuki
and Yoji Fujimoto

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

Fifty-six patients suffering from male sterility were divided into 2 groups: control (17 patients) administered on placebos only and others (39 patients) receiving 6 tablets of Metharmon M per oral daily during more than one month to less than three months.

Statistical studies were made on these groups of patients for the effects of the drug on the volume of seminal fluid, spermic density and the motility every month. In addition, after the administration of the drug had been performed, statistical studies were carried out on total protein, A/G ratio, total bilirubin, TTT, total cholesterol, ALP, GPT, GOT, Creatinine in blood and 17-KS and 17-OHCS in urine.

The results thus obtained are summarized as follows comparing the states of patients before treatment.

(1) Influence on seminal fluid was found to be greater for spermic density and after cease of medication also high values could be maintained.

(2) The activity of serum ALP was found to increase, but no definite changes were recognized on the hepatic functions including GPT and GOT.

(3) As for 17-KS and 17-OHCS in urine, the amount of excretion was found to increase.

男性不妊症の治療

II. 男性不妊症患者精液, 血清理化学値ならびに尿中 ステロイド排泄値に及ぼす Vitamin E の影響

Medical Treatment of Male Infertility

II. Effects of Vitamin E on the semen, blood chemistries and urinary steroids

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 松木 暁 数田 稔
Tomoyuki ISHIBE Satoru MATSUKI Minoru KAZUTA

対照 15 例を含む 34 例の原発性男性不妊症患者に対し Vitamin E を 1 日 300 mg 宛 1 カ月以上 3 カ月にわたり経口投与し, 1 カ月毎に精液量, 精子濃度, 運動率を検討した。また薬剤投与終了時点における血中 total protein, A/G 比, total bilirubin, TTT, total cholesterol, ALP, GPT, GOT, creatinine および尿中 17KS, 17-OHCS を測定し, 治療前値と比較して次の成績を得た。

(1) 精子濃度に対してはこれを増加させるものが多く, 投薬中止後も高い値を維持した。また運動性に対しては有効例が多く, これらの変動は有意であった。

(2) 血清理化学値に対しては TTT の増加, GPT, GOT の減少をみとめたが, ALP, total cholesterol, TP および A/G 比に対しては一定した影響を及ぼさなかった。

(3) 尿中 17-KS, 17-OHCS に対しては一定した影響を与えなかった。

男性不妊症に対する治療については男性ホルモン, 性腺刺激ホルモン, 食餌療法, ビタミン剤, アミノ酸製剤などの単独あるいはその併用が行なわれてきたが, Schirren (1968) によるまでもなくホルモン療法の副作用は無視できないものがある。

Vitamin E の不妊症に対する使用は Evans and Bishop (1922) が動物の不妊を予防するビタミンとしてこれを報告したのに始まり, 下垂体副腎皮質系とも関係し, 物質代謝における各種の酵素反応の調節に関与するものとされてきた。今回著者らは Vitamin E 投与に伴う精液所見, 血液理化学および尿中ステロイド排泄値の変動を検討したのでその成績を報告する。

実験対象ならびに方法

昭和43年1月より12月の間に広島大学医学部附属病院泌尿器科を訪れた不妊期間3年以上の男性不妊症患者34例中19例に対し, Vitamin E を1日300mg [ユベラ (エーザイ), 6錠] を3分のうえ経口投与し, 残る15例に

対しては placebo を同様に投与し, この間1カ月毎3カ月間にわたり4日以上禁欲させた精液を採取, 30分間放置したのちその量, 精子濃度, 運動率を検討した。また薬剤投与中止後の変動も3カ月間にわたり同様に検討した。さらに治療終了時, すなわち Vitamin E または placebo 投与3カ月目の血清 total protein (TP, アタゴ卓上屈折計), A/G 比(塩析法), total bilirubin (Jaffe 法), thymol turbidity test (TTT, Shank-Hoagland 法), total cholesterol (Zak-Henley 法), alkaline phosphatase (ALP, King-Kind 法), glutamic pyruvic transaminase および glutamic oxalacetic transaminase (GPT および GOT, Reitman-Frankel 法), creatinine (Jaffe 法), BUN (diacetylmonoxime 法), 尿中17-KS (Drekter 神戸川変法) および17-OHCS (Gren-Nelson 神戸川変法) の値を治療前のそれと比較した。これらの成績の判定には当科における測定上のバラツキを考慮したうえで治療前値に対し30%以上の変動をもつて有意とし, 増加, 不変ならびに減少の3群にわけたうえで,

Table 1 精液 所見に対する Vitamin E (ユベラ) の影響

	Total (n=19)						Azoospermia (n=6)						Oligospermia (n=12)						Normozoospermia (n=1)							
	使用後		中止後		3M		使用後		中止後		3M		使用後		中止後		3M		使用後		中止後		3M			
	1M	2M	1M	2M	1M	2M	1M	2M	1M	2M	1M	2M	1M	2M	1M	2M	1M	2M	1M	2M	1M	2M	1M	2M	3M	
Volume	Control	cases over 30% increased		15	15	14	12	9	7	7	6	5	3	8	8	8	7	7	6							
		within 30%		0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0						
	Treated	cases over 30% increased		15	15	14	12	9	7	7	6	5	3	8	8	8	7	7	6							
		within 30%		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
Count	Control	cases over 30% increased		19	17	15	8	2	6	6	4	0	1	0	10	10	8	7	2							
		within 30%		3	5	8	4	1	0	0	0	0	0	0	0	3	5	7	4	5						
	Treated	cases over 30% increased		13	10	5	3	1	5	5	3	0	1	0	7	5	1	3	2	2						
		within 30%		3	2	2	1	0	1	1	0	0	0	0	2	0	2	1	0	0	0					
Motility	Control	cases over 30% increased		15	15	14	12	9	7	7	6	5	3	8	8	8	7	7	6							
		within 30%		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
	Treated	cases over 30% increased		19	17	15	8	2	6	6	4	0	1	0	12	10	8	7	2							
		within 30%		3	5	4	4	1	0	0	0	0	0	0	3	5	7	4	5	0	0					

Table 2 血清理化学値に対する Vitamin E (ユベラ) の影響

			Total n=18	Azoospermia n=6	Oligozoospermia n=11	Normozoospermia n=1
T P	Control	cases	15	7	8	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	15	7	8	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	18	6	11	1
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	18	6	11	1
		over 30% decreased	0	0	0	0
A/G	Control	cases	14	7	7	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	14	7	7	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	18	6	11	1
		over 30% increased	1	1	0	0
		within 30%	17	5	11	1
		over 30% decreased	0	0	0	0
T. Eiril	Control	cases	15	7	8	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	15	7	8	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	18	6	11	1
		over 30% increased	4	0	4	0
		within 30%	11	5	6	0
		over 30% decreased	3	1	1	1
TTT	Control	cases	14	7	7	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	14	7	7	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	18	6	11	1
		over 30% increased	7	2	5	0
		within 30%	8	2	5	1
		over 30% decreased	3	2	1	0
T. chol	Control	cases	15	7	8	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	15	7	8	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	18	6	11	1
		over 30% increased	1	0	1	0
		within 30%	17	6	10	1
		over 30% decreased	0	0	0	0

			Total n=18	Azoospermia n=6	Oligozoospermia n=11	Normozoospermia n=1
ALP	Control	cases	15	7	8	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	14	7	7	0
		over 30% decreased	1	0	1	0
	Treated	cases	18	6	11	1
		over 30% increased	3	2	1	0
within 30%		13	3	9	1	
over 30% decreased		2	1	1	0	
GPT	Control	cases	15	7	8	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	14	7	7	0
		over 30% decreased	1	0	1	0
	Treated	cases	18	6	11	1
		over 30% increased	5	3	1	1
within 30%		3	1	2	0	
over 30% decreased		10	2	8	0	
GOT	Control	cases	15	7	8	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	15	7	8	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	18	6	11	1
		over 30% increased	3	2	0	1
within 30%		6	1	5	0	
over 30% decreased		9	3	6	0	
Crea- tinine	Control	cases	15	7	8	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	15	7	8	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	18	6	11	1
		over 30% increased	1	0	1	0
within 30%		13	4	8	1	
over 30% decreased		4	2	2	0	
BUN	Control	cases	15	7	8	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	15	7	8	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	18	6	11	1
		over 30% increased	2	0	2	0
within 30%		16	6	9	1	
over 30% decreased		0	0	0	0	

Table 3 尿中ステロイド排泄値に対する Vitamin E (ユベラ) の影響

			Total n=9	Azospermia n=4	Oligozospermia n=5	Normozospermia n=0
17-KS	Control	cases	14	7	7	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	14	7	7	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	9	4	5	0
		over 30% increased	2	1	1	0
		within 30%	4	2	2	0
		over 30% decreased	3	1	2	0
17-OHCS	Control	cases	14	7	7	0
		over 30% increased	0	0	0	0
		within 30%	14	7	7	0
		over 30% decreased	0	0	0	0
	Treated	cases	9	4	5	0
		over 30% increased	2	1	1	0
		within 30%	6	3	3	0
		over 30% decreased	1	0	1	0

chi square (2 × 3) および 直接確率計算でもつて検定を行なった。

成 績

I. 精液所見に対する影響 (表 1, 19例)

精液量に対する効果を投与 3 カ月目でみると 15 例中不変 11 例, 減少および増加各 2 例で, 投薬中止後もその大半が ±30% 以内の変動を示し, いずれも有意の変動ではなかった。精子濃度との関係をみると症例は少ないが, 乏精子症では無精子症群に比し増加するものが多かった。しかし精子濃度あるいは運動率に比すれば Vitamin E の精液量に対する効果は少なかった。

精子濃度に対する効果をみると早期より増加を示すものが多く, 3 カ月の投薬に際してはその半数に増加がみられ, その変動ならびに増加は 1% の危険率 ($\chi^2=14.2452$, $P=0.001$) で有意であった。また投薬中止後も増加したものが半数以上にみられ, この増加も 1% の危険率 ($P=0.003$) で有意であった。精子濃度との関係について Vitamin E の効果をみると, 乏精子症群では増加を来すものが多いが, 無精子症群ではその反応は少なかった。

運動率に対しても Vitamin E の投与によって悪化を来したものはなく, 不変ないし増加であり, 投与 3 ヶ月目の増加は危険率 10% ($P=0.057$) で有意であった。

投薬中止後も増加を示すものが多く, 投薬中止後 2 ヶ月目の増加は危険率 5% ($P=0.014$) で有意であった。

また精子濃度との関係をみると乏精子症例は無精子症例に比し増加するものが多くみられた。

なお本治療によつて 2 例 (10.5%) が妊娠に成功した。

II. 血液理化学値に対する影響 (表 2, 18例)

3 カ月間にわたる Vitamin E 投与に伴なう TP, A/G 比, total cholesterol, ALP および BUN の変動はいずれも有意ではなかった。total bilirubin は 18 例中 4 例に増加, 3 例に減少がみられ, その変動は 5% の危険率 ($\chi^2=7.4036$) で有意であり, その増加は 10% の危険率 ($P=0.074$) で有意であった。TTT では 18 例中 7 例に増加が, また 3 例に減少がみられ, その変動は危険率 1% ($\chi^2=11.3127$) で有意であり, またその増加も危険 1 率% ($P=0.009$) で有意であった。GPT, GOT, creatinine では増加するものに比し, 減少するものが多く, transaminase の変動はいずれも危険率 1% ($\chi^2=19.3684, 15.7139$) で有意であり, その減少も 1% の危険率 ($P=0.0031, 0.001$) で有意であった。また creatinine の減少は 10% の危険率 ($P=0.074$) でもつて有意であった。精子濃度との関係をみると TTT および total bilirubin の増加したものは乏精子症群に多く, また transaminase 活性の低下をきたしたのも乏精子症群に多くみられた。これに対し無精子症群では乏精子症群に比し ALP, GPT の増加を来すものが多くみられた。

III. 尿中ステロイド排泄値に対する影響 (表 3, 9 例)

Table 4. chi square (2 × 3) test

	Volume	Density	Motility										
Vitamin E 投与 3 カ月	×	**	×										
同上投与中止後 2 カ月	×	×	×										

	TP	A/G比	Biril. tot.	T.T.T.	Cholest. tot.	ALP	GPT	GOT	BUN	17-KS	17-OHCS	Creatinine
Vitamin E 投与 3 カ月	×	×	*	**	×	×	**	**	×	**	#	#

** : P < 1% * : 5% > P > 1% # : 10% > P > 5% × : not significant

Table 5. Probability test

		Volume	Density	Motility									
Vitamin E 投与 3 カ月後	increased	×	**	#									
	decreased	×	×	×									
同上投与中止後 2 カ月	increased	×	**	*									
	decreased	×	×	×									

		TP	A/G比	Biril. tot.	T.T.T.	Cholest. tot.	ALP	GPT	GOT	BUN	17-KS	17-OHCS	Creatinine
Vitamin E 投与 3 カ月後	increased	×	×	#	**	×	×	*	×	×	×	×	×
	decreased	×	×	×	×	×	×	**	**	×	×	×	#

** : P < 1% * : 5% > P > 1% # : 10% > P > 5% × : not significant

尿中17-KS は9例中3例では減少を示し、2例で増加し、また17-OHCS は9例中2例に増加、1例では減少したが対照に対し有意の変動ではなかった。

なお以上の成績を比較的全体として症例の多い Vitamin E 投与3カ月目および投薬中止後2カ月目について対照と比較し、chi square (2 × 3) ならびに直接確率計算を行なつて検定した成績を表4、5に示した。

考 按

Vitamin E の生理作用についてはなお明らかではないが、Evans and Bishop (1922) によるまでもなくこのビタミンは生殖機能にとって重要であるばかりではなく、細胞の代謝、性染色体の形成などとも関係していることが知られ、Vitamin E 欠乏雄ラットでは睪丸の萎縮および精細管の閉塞、あるいは睪丸精子の形成障害の起ることが知られ(石井, 1958), また藤野, 吉岡(1962)もラットに Vitamin E を投与することによつて精子形成および間質細胞の機能が亢進することを明らかにした。その作用機序としては Vitamin E が直接性ホルモンと関係するのではなく、下垂体を経由しての作用があると推定されている(山元, 森下, 1955)。

このようなわけで Vitamin E を男性不妊症に対して用いた報告は多く、百瀬は6例に1日300mg 宛連用し、

2例に有効であつたとし、Lindner (1958) は55例中20例に効果を認め、17例に挙子し得たとした。また沢崎ら(1964) は29例に使用し、精子濃度に対しては著効9例を認め、妊娠成功例3例を経験した。また精子濃度の高い症例にはその効果を期待出来るが、乏精子症、無精子症では全例無効であつたともした。これに対し著者らの場合妊娠成功例は2例(10.5%)であるが、投薬3カ月目にはその半数に30%以上の精子濃度の増加が認められた。このことは沢崎ら(1965), Lindner (1955) らの成績に比してその効果ないし有効例は多いといえるが、彼等ののべるような正精子症レベルにまで回復した症例は経験しなかつた。このことは対象が異なるにしても乏精子症、無精子症の場合精子濃度に対し大きな期待をもつことは無理と考えられる。しかし Vitamin E の投薬中止後も長い間極めて有意に高い濃度を維持できたことは興味ある成績である。

精子運動性に対する Vitamin E の影響について Lindner (1955) は精子濃度に比しすくないとしているが、今回の成績では投薬3カ月目には10%の危険率で、また投薬中止後2カ月目には5%の危険率で増加するものが多かつたことは、この面からの期待は大きいといえる。しかし運動率が80%以上に達したものはなく、精子濃度に比すればその効果は Lindner (1955), 泰 (1966) な

どの報告と同様劣っていた。

Vitamin E を動物に投与し、体重および内分泌臓器重量が増加することを佐々木 (1964) が明らかにし、また佐原 (1965) は性ホルモンのこれら内分泌臓器に対する作用を Vitamin E が軽減することを明らかにしているが、なおこれら臓器に対する影響は一定していない。Vitamin E 投与による血清蛋白量の変動について赤須ら (1966) はほとんど影響を与えないが、やや増加させるものが多く、これはアルブミン分画の増加が原因であるとした。今回の成績では18例中わずかに1例に A/G 比の増加を認めたのみで、これ以外では TP, A/G 比のいずれも $\pm 30\%$ 以内の変動にすぎなかった。含硫アミノ酸の欠乏によって起る肝壊死が Vitamin E の投与によって防止できることが György and Goldblatt (1949) によって知られ、酒井、近藤 (1965)、Hove (1949) など四塩化炭素によるラットの肝障害が Vitamin E によって軽減されることを明らかにした。今回の成績をみると急性の肝実質障害をよく反映するといわれる TTT の活性に増加をきたしたものが多くみられた。TTT と血清グロブリン値との関係が György and Goldblatt (1949) によって推定されており、これらとの関係も検討する必要があるが、TP および A/G 比のみからみた範囲内ではこの間に一定した関係を認め得なかった。しかし閉塞性肝疾患に関係するといわれる total bilirubin に対しては増加させるものが多く、肝組織の活動性、進行性変化に一致するといわれる transaminase 活性に対しては、これを減少させるものが多く、肝機能示標と目されるこれらの値に対する影響はなお問題が多いことが知られた。

内田 (1965) は Vitamin E の脂質代謝に対する影響を検討し、1日150ないし300mg の投与を行なったところ、血清コレステロール値が全例低下したとし、赤須ら (1966) も妊婦に対し Vitamin E を投与するとその甲状腺機能亢進作用によって血清コレステロール値が低下することを明らかにし、投与前に正常値を示すものではその影響は著明でないとした。しかし今回の成績ではその変動幅を30%でみたためか、山口、下山 (1965) と同様明らかに低下を来した症例を経験しなかつた。他方腎機能示標と目される creatinine, BUN 値に対する影響はすくなく、僅かに creatinine では減少を示すものがやや多くみられたにすぎなかつた。

Vitamin E の欠乏によって下垂体および性腺、内分泌機構に障害の起ることが知られている。尿中ステロイドに対する影響について Bäumer and Beckmann (1955) は Vitamin E 投与によって尿17-KS 排泄値が増加することを明らかにした。Lindner (1958) は精子形成障害

のある人に Vitamin E を投与すると同様尿中17-KS の増加と同時にゴナドトロピン排泄値の増加のあることを明らかにし、泰 (1966) は少量の Vitamin E は尿中17-KS 排泄値の増加と精子濃度の増大を、また大量によってはこれらの減少を認めたが、沢崎ら (1965) は無精子症例について検討し変化なしとした。著者らの場合尿中ステロイド排泄量に対する Vitamin E の影響は一定せず、17-KS については Wenig (1958) と同様かなりの割合に減少するものがみられた。しかし尿中へのステロイド排泄増加はかならずしも下垂体、副腎、性腺に対し Vitamin E が直接関係したのものではなく、先にのべたように肝機能とも密接な関係をもつものであることを考慮しておくべきである。また逆にこれらのステロイドが肝機能に対し影響を及ぼすこともありうると考えられる。

以上 Vitamin E の精液、血液、尿に対する影響を検討したが、効果の判定は治療においては大切なことではあるが、極めて困難な問題で、これは治療前の値が症例毎に大きく異っており、指標のどの様な方向への変動が改善であるとすべきかといったこととともに、改善があつたとしてもその評価に際して全症例について全経過を追究することは臨床実験である以上極めて困難であり、またこの様な場合の層化は困難となるため個々に成績を検討されるべきであると考え、今回は30%以上の変動を対照値、すなわち実験開始時に対してもつたものを有意とし、個々の症例について評価したが、30%という幅についても各示標の再現性がそれぞれ異っており、今後これらの点については症例を増し検討すべきところであろう。

結 語

広島大学医学部附属病院泌尿器科で経験した性腺異常、内分泌異常、精子通過障害などを有しない不妊症患者34例中19例に対し、Vitamin E (ユベラ、エーザイ) を1日300mg 宛経口投与し、精液所見、血液理化学値、尿中ステロイド排泄値などの面よりその効果を検討し次の成績を得た。

(1) 精子濃度に対してはこれを増加させるものが多く、投薬中止後も高い値を維持した。また乏精子症では無精子症に比し Vitamin E の影響を強くうけた。運動性に対する影響は精子濃度に比すれば弱いが、減少するものはなく、不変ないし増加を示し、この増加は有意であつた。

(2) 血液理化学値に対しては TTT の増加、GPT, GOT の減少を、また ALP, total cholesterol, TP および A/G 比に対しては一定した影響を及ぼさなかつた。

(3) 尿中17-KS, 17-OHCS に対しては一定した影響を与えなかつた。

(稿を終るにあたり恩師仁平寛巳教授の御指導, 御校閲を感謝致します, また種々御援助いただいたエーザイ株式会社に感謝致します。)

文 献

- 1) 赤須文男, 館野政也, 金城国弘: 妊娠と Vitamin E. 産婦の世界, 18: 707-714, 1966.
- 2) Bäumer, A. und Beckmann, R.: Zur Bedeutung einer Vitamin-E Erniedrigung im Serum. Klin. Wschr., 33: 431-434, 1955.
- 3) Evans, M. H. and Bishop, K. S.: On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. Science, 56: 650-651, 1922.
- 4) Fujino, K. and Yoshioka, I.: Histological observations of the testes of the vitamin E administered mouse. Okajima Folia Anat. Jap., 38: 239-45, 1962.
- 5) György, P. and Goldblatt, H.: Further observations on production and prevention of dietary hepatic injury in rats. J. Exper. Med., 89: 245-268, 1949.
- 6) Grayhack, J. T. and Kropp, K.: Changes with aging in prostatic fluid, citric acid, acid phosphatase and lactic dehydrogenase concentration in man. Trans. Amer. Ass. Genitourinary Surg., 56: 6-11, 1964.
- 7) 秦良麿: 産婦人科領域におけるビタミンに関する研究, とくに脂溶性ビタミンと性機能について. 日産婦会誌, 18: 825-834, 1966.
- 8) Hove, E. L.: Comparison of fetal tocopherol deficiency in rats with syndrome caused by CCl₄. Ann. N. Y. Acad. Sci., 52: 219-225, 1949.
- 9) 石井次男: 産婦人科領域と Vitamin E. 産婦の実際, 7: 470-473, 1958.
- 10) Linder, E.: Therapeutische Bedeutung des Vitamin E bei Störungen Der Spermatogenese. Internation. Z. Vitaminforsch., 34: 1-2, 33-40, 1958.
- 11) 百瀬剛一: 沢崎(15)による.
- 12) 酒井幸男, 近藤七郎: 慢性肝疾患におけるビタミンEの効果. References of Vitamin E, Vol. 2, 139-144, Eisai, Tokyo, 1965.
- 13) 佐藤金吾: 性ホルモンの生物作用に対するビタミンE(多量投与)の影響についての基礎的研究. 日産婦会誌, 18: 1037-1046, 1966.
- 14) 佐々木光司: Vitamin E の雌性性機能に及ぼす影響に関する実験的研究. (2) 体重及び臓器重量の変動. 日不妊会誌, 5: 402-408, 1960.
- 15) 沢崎千秋, 柳沢洋二, 吉川光夫, 久保田実良:

Vitamin E 剤ユベラの不妊夫精子所見に及ぼす影響. 日不妊会誌, 10: 38-42, 1965.

- 16) Schirren, C.: Die konservative Therapie von Fertilitätsstörungen des Mannes. Urologe, 7: 179-184, 1968.
- 17) 内田茂美: ビタミンE(ユベラ)の動脈硬化症に対する治療成績. References of Vitamin E, Vol. 2, 15-19, Eisai, Tokyo, 1965.
- 18) Wenig: 秦(7)による.
- 19) 山元清一, 森下宗司: ビタミンEからみた副腎皮質と性ホルモンの態度. 日産婦会誌, 12: 743-748, 1960.
- 20) 山口 保, 下山 孝: ビタミンE(ユベラ)の使用経験—特に動脈硬化症について. References of Vitamin E, Vol. 2, 13-14, Eisai, Tokyo, 1965.

Medical Treatment of Male Infertility

II. Effects of Vitamin E on the semen, blood chemistries and urinary steroids

Tomoyuki Ishibe, Satoru Matsuki,
Minoru Kazuta

At the Urological Department of the Hiroshima University Hospital, 300 mg of Vitamin E (JUVELA, Eisai Co., Ltd.) per day was administered orally to the 19 cases of the 34 cases of sterility without sexual gland abnormality, endocrinosis, and sperma passage disturbance etc., and the following results were obtained from the study of its effects on semen, physico-chemical values of the blood, and the excretion of steroid in urine.

(1) Many cases showed the increase of sperm concentration, and the high value was maintained even after the interruption of the administration. The effect of Vitamin E on oligospermia was more marked than on aspermia. Though the effect on the movement of sperm was less marked when compared with that on the sperm concentration, the movement was not reduced but remained unchanged or increased. This increase was significant.

(2) With respect to the physico-chemical values, the administration caused the increase of TTT and the decrease of GPT and GOT, but it did not produce definite effects on total cholesterol, TP, and A/G ratio.

(3) The administration did not produce definite effects on 17-KS in urine and 17-OHCS.

男性副性器分泌物と酵素

III. 不妊患者精液酵素活性に及ぼすメサルモンMの影響

Male Adnexal Organ Secretion and Enzymes

III. Influence of Metharmon M on the enzyme activity in seminal plasma of patients with sterility

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 松木 暁

Tomoyuki ISHIBE Satoru MATSUKI

Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine

(Director: Prof. H. Nihira)

対照 17 例を含む 49 例の原発性男性不妊症患者に対しメサルモンMを1日6錠宛3カ月間内服せしめ、この間1カ月毎に精液中の酵素(LDH, LDH isoenzymes, ALP, LAP, TAP, PAP, GOT および GPT)活性の変動を検討するとともに、投薬中止後も3カ月間同様に変動を追及し、次の成績を得た。

(1) LDH 活性はメサルモンM投与により乏精子症群では増加するものが多く、投薬中止後も高い活性を維持したが、無精子症群では一定の変化を示さなかつた。

(2) メサルモンM投与によつて LDH, I, II 分画の増加を示すものが多くみられ、投薬中止後も高い割合をその多くが示した。

(3) TAP, GOT, GPT はメサルモンMの投与によつて活性を増大させるものが多かつたが、投薬中止に伴なう一定の傾向はみられなかつた。

(4) ALP, LAP 活性は一定の変動を示さなかつた。

健康男子に対しメサルモンMの投与をおこなうと尿中 17-KS の増加、精子濃度の増加などのみられることが報告されているが、精液中の酵素レベルに対する影響を検討したものはない。

本論文では男性不妊症患者に対しメサルモンMを投与した場合の精液中酵素活性の変動を検討した。

対象ならびに実験法

研究対象は広島大学医学部附属病院泌尿器科に3年以上の不妊を主訴として来院した正精子症(精子数 $21 \times 10^6/ml$ 以上)、乏精子症(精子数 $20 \sim 1 \times 10^6/ml$)ならびに無精子症(精子数 $1 \times 10^6/ml$ 以下)患者49例である。この際性腺機能不全患者、睾丸萎縮、性器奇型や内分泌

異常を認めるもの、さらに精子通過障害のあるものは除いた。これらの不妊症患者のうち32例(無精子症14例、乏精子症16例、正精子症12例)に対しメサルモンMを1日6錠宛3回に分服内服せしめ3カ月間にわたつて精液中の酵素レベルの変動を追及するとともに、中止後も3カ月にわたり同様にその変動を追及した。残る17例に対し placebo を投与し、対照とした。

測定した酵素は lactic dehydrogenase (Cabaut, Wroblewski unit/ml), lactic dehydrogenase isoenzymes (Wieme's agar gel electrophoresis, %), alkaline and acid phosphatase (King-Kind, King-Armstrong unit/ml), leucine aminopeptidase (Goldberg-Rutenb rg, Goldberg-Rutenb rg unit/ml), glutamic oxalacetic

(III)

	Total (n=32)												Azoospermia (n=14)						Oligospermia (n=16)						Normozoospermia (n=2)					
	使用後			中止後			使用後			中止後			使用後		中止後		使用後		中止後		使用後		中止後							
	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M						
ALP	Control	cases	13	12	16	9	11	8	6	6	6	7	4	3	4	5	4	4	7	5	6	4	2	2	2					
		over 30% increased within 30%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
		over 30% decreased	13	12	16	9	11	8	6	6	6	7	4	3	4	5	4	4	4	7	5	6	4	2	2	2				
	Treated	cases	24	16	20	20	20	6	4	6	4	6	8	6	2	2	16	10	12	12	12	4	2	2	2	2				
		over 30% increased within 30%	12	6	12	6	4	4	0	0	0	2	0	0	2	2	12	6	10	6	4	2	0	0	0	0				
		over 30% decreased	4	4	6	8	12	2	2	0	4	4	4	4	0	2	2	2	0	4	6	2	0	2	2	0				
LAP	Control	cases	13	12	16	9	11	8	6	6	6	7	4	3	4	5	4	4	7	5	6	4	2	2	2					
		over 30% increased within 30%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
		over 30% decreased	13	12	16	9	11	8	6	6	6	7	4	3	4	5	4	4	7	5	6	4	2	2	2	2				
	Treated	cases	24	16	20	20	20	6	4	6	4	6	8	6	2	2	16	10	12	12	12	4	2	2	2	2				
		over 30% increased within 30%	6	2	6	12	4	4	2	0	0	0	6	2	2	2	2	2	2	6	6	2	2	0	0	0				
		over 30% decreased	12	10	12	6	14	2	2	2	2	4	0	4	0	4	10	6	6	6	6	8	2	0	2	2				
TAP	Control	cases	13	12	16	9	11	8	6	6	6	7	4	3	4	5	4	4	7	5	6	4	2	2	2					
		over 30% increased within 30%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
		over 30% decreased	13	12	16	9	11	8	6	6	6	7	4	3	4	5	4	4	7	5	6	4	2	2	2	2				
	Treated	cases	24	16	20	20	20	6	4	6	4	6	8	6	2	2	16	10	12	12	12	4	2	2	2	2				
		over 30% increased within 30%	10	12	6	8	8	4	2	2	0	0	2	2	2	2	6	8	4	6	4	2	2	2	2	2				
		over 30% decreased	8	2	4	4	4	0	2	0	0	0	0	4	0	6	2	4	4	4	0	0	0	0	0	0				

(IV)

	Total (n=32)												Azoospermia (n=14)						Oligospermia (n=16)						Normozoospermia (n=2)							
	使用後			中止後			使用後			中止後			使用後			中止後			使用後			中止後			使用後			中止後				
	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M		
PAP	Control	cases	13	12	16	9	11	8	6	6	6	7	4	3	4	3	4	5	4	4	7	5	6	4	2	2	2	2	2	2	2	2
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Treated	cases	24	16	20	20	20	6	4	6	4	6	8	6	2	6	2	16	10	10	12	12	12	4	2	2	2	2	2	2	2	2
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	8	8	8	6	10	4	2	0	2	2	2	6	2	4	4	4	4	8	4	4	4	2	0	2	0	2	0	0	0	0
GPT	Control	cases	13	12	16	9	11	8	6	6	6	7	4	3	4	3	4	5	4	4	7	5	6	4	2	2	2	2	2	2	2	2
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Treated	cases	22	14	18	18	20	6	4	4	4	4	6	6	2	6	2	16	8	12	12	12	12	4	2	2	2	2	2	2	2	2
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	4	8	8	4	0	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	6	4	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2
GOT	Control	cases	13	12	16	9	11	8	6	6	6	7	4	3	4	3	4	5	4	4	7	5	6	4	2	2	2	2	2	2	2	2
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Treated	cases	22	16	18	18	20	6	4	4	4	4	6	6	2	6	2	16	10	10	12	12	12	4	2	2	2	2	2	2	2	2
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	12	8	8	6	6	2	4	2	2	2	2	2	0	0	0	2	6	4	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0

and pyruvic transaminase (Reitman-Frankel, Karmen unit/ml) であり lactic dehydrogenase isoenzymes zymogram は Lumicon P2 autorecording densitometer (萱垣) を用い、530m μ の波長で測定した。比色には QV-50 spectrophotometer (島津) を用いた。

精液は4日以上禁慾した後用手的にこれを求め直ちに精子数、精液量などを検した後、完全に液化するのをまつて30分後毎分に2000回転、20分間これを遠沈、その上清を試料とした。この際遠沈にもとづく精子崩壊の可能性については考慮を払っていない。遠沈後試料は直ちに酵素活性の測定に供したが、直ちに行ない得ない場合は -10°C の冷凍室に保存し、測定は24時間以内にすべてが終るようにした。これらの成績の判定は検査時点での症例数の違いならびに当科における判定上の誤差を考慮した上で、治療前値に対し30%以上の変動をもつて有意とし、増加したものを、減少したものおよび不変の3群に分けた。

実験成績

1. lactic dehydrogenase (LDH)

全体としての変動をみるとメサルモンMの投与にもとづく一定の傾向はなく、また投薬中止に伴う変動も少なかった。精子濃度との関係では無精子症群ではメサルモンM投与により減少し、中止後もとに戻るものが多かったのに対し、乏精子症群ではメサルモンM投与により増加し、投与中止後も高い活性を示すものが多かった。

2. LDH isoenzymes

全体としてみた場合第V分画はバラツキが大きいメサルモンMの投与によって30%以上の増加を示すものが多く、また投与中止後も高い割合を示した。しかし精子濃度との間には反応上の差は認められなかった。

第IV分画についてみるとメサルモンM投与に伴ってその占める割合が増加するものが多く、投与後3ヶ月目で見ると20例中6例に30%以上の増加がみられ、減少したものは認めなかった。他方投与中止によって逆に減少を示すものが増加した。この関係は乏精子症群に比し、無精子症群でより明らかであった。

第III分画はメサルモンM投与にともなつて大きく変動し、増加するものと、減少するものが多くみられたが、

後者がより多く、投与中止によって1ヶ月目には20例中10例が30%以上減少した。精子濃度との関係を見ると乏精子症群に比し、無精子症群はメサルモンM投与に伴つて減少するものが多かったが、投薬中止後の反応には差を認めなかった。

メサルモンM投与に伴う第II分画の変動はバラツキが大きいが増加するものが多く、投与3ヶ月目には対照に比しても有意の増加を示した。精子濃度に伴う反応上の差をみると乏精子症で増加するものが多くみられた。

第I分画はメサルモンM投与に伴う一定の傾向はなく、バラツキが大で、また中止に伴う変動も一定した傾向を示さなかった。

3. alkaline phosphatase (ALP)

メサルモンM投与に伴う ALP 活性への影響は一定したものはなく、また投薬中止に伴う変動も明らかではなかった。精子濃度に伴う反応の差をみると、乏精子症群では無精子症群に比しメサルモンM投与によって活性が増大するものが多く、投与中止後も高い値を維持した。

4. leucine aminopeptidase (LAP)

メサルモンM投与に伴う影響は明らかではないが、投与中止後1ヶ月目には増加するものが多かった。しかし精子濃度にもとづく反応上の差はみられなかった。

5. total acid phosphatase (TAP)

メサルモンM投与によって増加するものが多いが、中止に伴う変動はなく、精子数との間にも反応上の差はない。

6. prostatic acid phosphatase (PAP)

メサルモンM投与に対する態度は TAP におけると同様で一定した傾向はなく、精子濃度に伴う反応上の差はみられない。

7. glutamic pyruvic transaminase (GPT)

長期間のメサルモンM投与例では30%以上の増加を示すものがやや多く、中止後は減少するものがやや多かった。精子濃度との間には反応上の差はみられない。

8. glutamic oxalacetic transaminase (GOT)

メサルモンM投与によって30%以上の増加を示すものが GPT と同様多いが、投薬中止に伴う変動は明らかではない。このような傾向は乏精子症群では無精子症群に比しより明らかにみられた。

表 2 chi square 検定

	LDH	LDH-I	LDH-II	LDH-III	LDH-IV	LDH-V	ALP	LAP	TAP	PAP	GPT	GOT
使用後3ヶ月目	○	○	○	○	×	○	○	○	○	○	○	○
中止後2ヶ月目	○	○	○	×	×	○	×	×	○	○	×	○

○印 変動は危険率5%で有意である。×印 変動は危険率5%で有意でない。

なお以上の成績についてメサルモンM 3カ月間投与後および投薬中止後2カ月目について対照と比較し、chi square を求め、危険率5%で推計したものは表2に示したごとくである。

考 按

男性不妊症の治療には確実に有効なものはなく各種のホルモン製剤が用いられているが、長期間の投与が治療の性質上必要となり、副作用のすくない薬剤が希望されてきた。このため不妊症に対する大量の男性ホルモン療法、あるいは性腺刺激ホルモンの併用療法が近時の Schirren (1968) などによるまでもなく種々の面から批判の対象となつている。メサルモンMは pregnenolone 1.0mg, Δ^4 -androstenedione 1.5mg, Δ^3 -androstenediol 0.5mg, testosterone 1.0mg, 乾燥甲状腺末7.5mg を1錠中を含む薬剤で、志田によつて pregnenolone, androstenedione は動物率丸重量を維持する作用をもつことが明らかにされ、飯塚ら (1966)、沢崎ら (1966) などは男性不妊症の治療にこれを用いてきた。また精液中には多数の酵素が含まれ、これらのあるものはこれまでも精線の機能示標として用いられ、また性ホルモンレベルとの関係、あるいは性ホルモン投与に伴う変動もホルモンと酵素の interaction として検討されてきた。

精液中の LDH に関しては Grayhack ら (1964) は年齢とともにその活性が明らかに低下し、男性ホルモン作用と関係することを明らかにし、Caiola (1967)、著者ら (1967) も精子濃度の低い症例では LDH 活性が低く、男性ホルモンの投与によつてこれが増加することが多い事実を明らかにした。今回の成績はこの点からみれば一定の傾向を示さないが、治療の対象となり得る乏精子症群ではメサルモンM投与によつて活性が増大するものが多く、投薬中止後も跳返り現象を示さず、高い活性をその多くが維持したことはメサルモンMがいわゆる抑制作用をもたない生理的薬剤であり、またその含まれる男性ホルモン作用によつて精液中 LDH 活性を増加せしめたものと考えられ、この点からは跳返り現象の弱いこととともに治療上有用であると考えられる。

男性ホルモン投与によつて副性器における呼吸および酸化過程が促進されるという Bern (1953)、Williams-Ashman (1954) らの報告からすれば、LDH 第 I、II 分画の増加は本剤のもつ男性ホルモン作用にもとづく変化といえるが、LDH isoenzymes についての著者らの成績によると易動度の少ないM型が無精子症群で高く、易動度の大きいH型は無精子症群が最も低い割合を示し、M型の減少、H型の増加は機能がよい性腺からの精液の示標であるとした。この点から今回の成績をみると

メサルモンM投与によつてバラツキは大きい、投与後3カ月には20例中6例にH型の増加するものがみられたことは、この面からも効果が期待できると考えられる。

ALP は Mann (1964) によると雄性附属性腺では fructose の分解、形成に重要な役割を果すといわれ、ヒト精液中にも含まれるが、Moon ら (1967) によると精子濃度、fructose 含有量との間に関係がないとし、著者 (1967) も精子濃度との間に一定した関係のないことを明らかにした。これらのことは ALP 活性が精液の良否を決める示標としての価値が少ないことを示すものである。今回の成績でみるとメサルモンM投与による変動は少ないが、乏精子症で治療によつて増加するものが多かったことは、男性ホルモンによつて副性腺における ALP 活性の増大をみとめた Mann (1964) の成績と一致するが、本酵素の意義についてはなお今後の検討が必要と考えられる成績である。

LAP 活性をヒト精液について検討したものは少なく、著者は無精子症は乏精子症に比し低い LAP 活性を示すことを明らかにしているが、今回の成績では一定の影響を LAP 活性に与えることはなく、メサルモンM投与による尿中17-KS の増加が男性ホルモン作用であるとすればこの成績は問題のあるところである。

酸性フォスファターゼは精液中に多く含まれ、Mann (1964)、Kirk (1952) らにより fructose とともに性腺の機能示標として注目されてきた。男子不妊症患者精液中の本酵素活性については金子 (1962)、渡辺ら (1958) などの意見は分れるが、著者 (1967) の成績では不妊症群で低く、無精子症がもつとも低い活性を示していた。今回のメサルモンM投与による変化はその初期には増加を示すものが多いが一定した傾向はみられず、投薬中止後も跳返り現象がみられなかつたことから酸性フォスファターゼに対する影響は少ないといえる成績で、尿中17-KS の排泄と精液中酸性フォスファターゼの値が平行するという Grayhack ら (1964) の成績と、メサルモンM投与によつて尿中17-KS の増加があるとする飯塚ら (1966) らの成績からみるとなお問題の残るところであるが、われわれもメサルモンM投与に伴う尿中17-KS、17-OHCS の増加を明らかに証明し得た。

ヒト精液中のトランスアミナーゼについての検討は Pova and Villela (1960)、Gregoire ら (1961)、Joel and Herzberg (1965) などがあり、血清中に比し10~20倍もの高濃度に存在することが明らかにされ、精液中で proteolyse に関与するものである。Hankiewicz ら (1964) によると精液量、精子濃度などに関係なしとしており、またヒト前立腺に多く存在するクエン酸とも関係あることが Awapara ら (1952) によつて推定されている。今

回の成績では治療前の活性は過去の報告と一致したが、メサルモンM投与にもとづく変動はみられなかった。

結 語

男性不妊症の32例に対しメサルモンMを投与し、精液中の2, 3の酵素活性に対する影響を検討し次の成績を得た。

1. LDH 活性はメサルモンM投与により乏精子症群では増加するものが多く、投薬中止後も高い活性を維持したが、無精子症群では一定の変化を示さなかった。

2. LDH isoenzymes ではメサルモンM投与によって第I, 第II分画の増加するものが多く、投薬中止後も高い割合をその多くが示した。その他の分画については一定した傾向を見出さなかった。

3. 酸フォスファターゼ, GOT, GPT 活性はメサルモンM投与によって活性を増加するものが多いが、投薬中止に伴う一定の変動はみられない。

4. ALP, LAP 活性は一定の変動を示さなかった。

(稿を終るにあたり恩師仁平寛己教授の御指導、御校閲を厚く感謝するとともに、種々御協力をいただいた日本臓器株式会社に感謝します。なお本稿の要旨は第14回日本不妊学会総会において発表した。)

文 献

- 1) Awapara, J.: Distribution of transaminase in rat organs. *J. Biol. Chem.*, 194 : 497-502, 1952.
- 2) Caiola, G.: Attivita' Latticodeidrogenasica di Liquidi seminali umani in Diverse condizioni di Presunta capacita' fecondante. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 43 : 383-385, 1967.
- 3) Grayhack, J. T. and Kropp, K.: Changes with aging in prostatic fluid, citric acid, acid phosphatase and lactic dehydrogenase concentration in man. *Trans. Amer. Ass. Genitourinary Surg.*, 56 : 6-11, 1964.
- 4) Gregoire, A. T., Rakoff, A. E. and Word, K.: Glutamic-oxaloacetic transaminase in human semen and reproductive organs. *J. Reprod. Fertil.*, 10 : 185-188, 1965.
- 5) Hankiewicz, J., Hankiewicz, K., Hanus, S. und Szaflarski, J.: Die Aktivität der Sorbitdehydrogenase und der Transaminase (GOT und GPT) in dem Bullenejakulat. *Enzymologia*, 28 : 100-108, 1964.
- 6) Iizuka, R., Koi, H., Nakagawa, K., Takahashi, T. and Nishina, S.: 代謝性綜合ホルモン(メサルモンM)による男性不妊の治療. 産と婦, 33 : 1058-1064, 1966.
- 7) Ishibe, T.: Male andexal organ secretion and enzymes. *Acta Urol. Jap.*, 13 : 276-282,

1967.

- 8) Kaneko: Cited by Sakakura, K. et al., *Clin. Endocrinol. (Tokyo)*, 11 : 149-160, 1963.
- 9) Kirk, J. E.: The acid phosphatase concentration of the prostatic experimente during normal puberty. *J. Clin. Endocrinol.*, 12 : 338-345, 1952.
- 10) Mann, T.: The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. Methuen, London, 1964.
- 11) Moon, K. H. and Bunge, R. G.: Observation on the biochemistry of human semen. II. Alkaline phosphatase. *Fertil. Steril.*, 19 : 766-770, 1968.
- 12) Povia, H. Jr. and Villela, G. C.: Transaminase in seminal plasma of man. *Experimentia*, 16 : 199, 1960.
- 13) Sawasaki, C., Yanagisawa, Y., Hasegawa, M. and Maeda, M.: Influence of Metharmon M on sperm in the male sterility. *Jap. J. Fert. & Ster.*, 11 : 130-135, 1966.
- 14) Shida, K.: 飯塚(6)より引用.
- 15) Schirren, C.: Die konservative Therapie von Fertilitätsstörungen des Mannes. *Urologe*, 7 : 179-184, 1968.
- 16) Watanabe: Cited by Sakakura, K. et al., *Clin. Endocrinol. (Tokyo)*, 11 : 149-160, 1963.
- 17) Williams-Ashman, H. G.: The ketose of rat liver and accessory sexual organs. *J. Banek. Arch. Biochem. Biophys.*, 50 : 513-515, 1954.

Male Adnexal Organ Secretion and Enzymes

III. Influence of Metharmon M on the enzyme activity in seminal plasma of patients with sterility.

Tomoyuki Ishibe and Satoru Matsuki

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

Forty-nine patients suffering from male sterility were divided into 2 groups: control (17 patients) administered on placebo only and others (32 patients) receiving 6 tablets of Metharmon M per oral three times a day. Stastical studies were made on these groups of patients for the effects of the drug on the activity of LDH, ALP, LAP, TAP, PAP, GOT and GPT as well as on the LDH isoenzymes in the seminal plasma at a month intervals over 3 months period. The re-

sults thus obtained are summarized as follows.

1) With administration of Metharmon M, LDH activity were found to increase in the many oligospermic patients, but no definite changes were recognized in azospermic patients.

(2) As for LDH isoenzymes, LDH I and II fractions were clearly found increase during and after medication of Metharmon M, but on the other fractions administration of the drug had

little influence.

3) With medication of Metharmon M, the TAP, PAP, GPT and GOT activity were raised in many patients, but after stop of medication no definite changes were observed.

4) No changes were found in LAP and ALP activity during and after medication of Metharmon M.



ATOM®
ATOM 未熟児保育器
"ATOM" Infant Incubator

ATOM 自動蘇生器
Automatic Resuscitator

産婦人科器械・小児器械・看護病棟手術室用器械
ATOM 医理科器械株式会社 本社 〒113 東京都文京区本郷 3-18-15 ☎東京(03)815-2311 大代
 関西支店 〒540 大阪市東区徳井町2-41 鳥沢ビル ☎大阪(06) 943-5515 代

男性副性器分泌物と酵素

IV. 不妊患者精液酵素活性に及ぼす Vitamin E の影響

Male Adnexal Organ Secretion and Enzymes

IV. Effect of Vitamin E on the enzyme activity in seminal fluid of patients with sterility

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 松木 暁

Tomoyuki ISHIBE Satoru MATSUKI

対照 15 例を含む 34 例の原発性男性不妊症患者に対し Vitamin E を 1 日 300mg 宛 3 カ月間内服せしめ、この間 1 カ月毎に精液中の酵素(LDH, LDH isoenzymes, ALP, LAP, TAP, PAP, GPT および GOT)活性の変動を検討するとともに、投薬中止後も 3 カ月間同様に変動を追及し、次の成績を得た。

(1) Vitamin E 投与によつて LDH 活性は増大するものが多かつたが、投薬中止に伴う一定の傾向はみられなかつた。

(2) LDH isoenzymes 上第 V, VI 分画の増加がみられた。

(3) LAP および ALP は一定した変動を示さなかつた。

(4) TAP および PAP 活性は減少するものが多くみられた。一方 GOT は活性の増大を示すものが多くみられた。

約 20 年前までは不妊の原因は女性にあるとされてきたが、近年男性にもその原因のあることが明らかにされるとともに、治療にもその原因によつて種々の方法がとられるにいたつた。しかし原因のはつきりしない一見健常と目される症例でも不妊を訴えるものが多く、医学の中でもつとも難題な問題としてなお残されている。他方精液中に多くの酵素が含まれることは Mann(1964)の膨大な研究を始めとし数多くの報告があり、これらが精液の良否を決める示標として注目され、また性ホルモンによつて変動することが知られるにいたつた。しかし精液中の酵素活性に対する Vitamin E の影響についての検討はなお少なく、著者はその一環として今回 Vitamin E の精液中酵素活性に対する影響を検討したのでその成績を報告する。

実験対象ならびに方法

対象は広島大学医学部附属病院泌尿器科に 3 年以上の

不妊を訴えて来院した正精子症(精子数 $21 \times 10^6/\text{ml}$ 以上)、乏精子症(精子数 $20 \sim 1 \times 10^6/\text{ml}$)ならびに無精子症(精子数 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 以下)患者の 34 例である。この場合性腺機能不全、Klinefelter 症候群、睾丸萎縮、性器奇型、内分泌異常などをみとめるもの、さらに精子の通過障害のあるものは除いた。これらの不妊症患者のうち 19 例(正精子症 1 例、乏精子症 12 例、無精子症 6 例)に対し、Vitamin E (ユベラ、エーザイ)を 300mg 3 分のうえ毎日経口投与し、残りに placebo を投与し対照とした。このようにして投与 1 カ月、2 カ月および 3 カ月目とともに中止後も 1 カ月、2 カ月および 3 カ月目のごとき精液中の酵素活性を測定し、その変動を対照と比較した。

測定した酵素としては lactic dehydrogenase (Cibaud, Wroblewski unit/ml), lactic dehydrogenase isoenzymes (Wieme's agar gel electrophoresis, %), alkaline and acid phosphatase (King-Kind, King-

Armstrong unit/ml), leucine aminopeptidase (Goldberg-Rutenburg, Goldberg-Rutenburg unit/ml), glutamic oxalacetic and pyruvic transaminase (Reitman-Frankel, Karmen unit/ml) であり, lactic dehydrogenase isoenzymes zymogram は Lumicon P-2 autorecording densitometer (菅垣) を用い, 波長 530m μ でもつて作製した. 比色には QV-50 spectrophotometer (島津) を用いた.

精液は 4 日以上禁慾した後用手的にこれを求め, 直ちに精子数, 精液量などを検した後完全に液化するのをまつて, 30分後毎分に2000回転, 20分間これを遠沈し, その上清を試料とした. この際遠沈にもとづく精子崩壊の可能性については考慮を払っていない. 遠沈後試料は直ちに酵素活性の測定に供したが, 直ちに行ないえない場合は -10°C の冷凍室に保存し, 測定は24時間以内にすべてが終るようにした. これらの成績の判定は検査時点での症例数の違いならびに当科における判定上の誤差を考慮した上で, 治療前値に対し30%以上の変動をもつて有意とし, 増加したものを, 減少したのならびに不変の3群に分けた.

成 績

1. lactic dehydrogenase (LDH)

Vitamin E 投与1カ月目では10例中増加したものの3例, 不変4例, 減少3例であり, 3カ月目では13例中増加5例, 減少2例と Vitamin E 投与に伴つて対照に対し5% ($\chi^2=7.2180$) の有意差をもつて変動し, 危険率10% ($P=0.065$) で LDH 活性の増加がみられた. 投薬中止に伴なう一定した変化は認められなかった. 精子濃度による LDH 活性への Vitamin E の影響もみられなかった.

2. LDH isoenzymes

全体としてみると第V分画では Vitamin E 投与に伴つてみられる変動は1%の危険率 ($\chi^2=21.3016$) で有意であり, 同時に危険率1% ($P=0.001$) でもつて明らかにこの分画が増大したが, 精子濃度による反応上の差はみられなかった.

第IV分画についてみると不変ないし増加を示すものが多く, 投与3カ月目には13例中増加が5例にみられ, その増加は5%の危険率 ($P=0.024$) で有意であつた. また投薬中止後1カ月目では8例中4例に増加がみられたが, 2カ月目には有意の傾向ならびに変動を示さなかった. 精子濃度に伴なう反応の差をみると, 無精子症群に比し乏精子症群では Vitamin E 投与によつてこの分画の増加を示すものが多くみられた.

第III分画の変動は10%の危険率 ($\chi^2=5.7692$) で有意

であつた. また30%以上減少するものがかなりみられたが, その変動は $P=0.124$ と有意ではなかった. 投薬中止後2カ月目でみると8例中4例に減少がみられこれは危険率5% ($P=0.029$) で有意であつた. 精子濃度による反応上の差をみると無精子症群に比し乏精子症群ではその減少が大であつた.

第II, 第I分画ではその大半が30%以内の変動で, 増減相半ばし有意の変動ではなかった. また精子濃度に伴なう反応上の差もみられなかった.

3. alkaline phosphatase (ALP)

Vitamin E 投与による ALP の変動も30%以内の変動が多いが, この変動は5%の危険率 ($\chi^2=14.5380$, $P=0.040$) で有意であり, 減少, 増加のいずれも5%の危険率 ($P=0.040$, 0.015) で有意であつた. 精子濃度にもとづく反応上の差をみると, 乏精子症群では無精子症群に比し減少を示すものが多くみられた.

4. leucine aminopeptidase (LAP)

Vitamin E 投与によりやや減少するものが多いが, 投与3カ月目にはその変動は10%で有意 ($\chi^2=5.5147$) であつた. 投薬中止後増加するものはなく, 不変と減少が相半ばし, その減少は10%の危険率 ($P=0.082$) で有意であつた. 精子濃度にもとづく反応上の差はみられなかった.

5. total acid phosphatase (TAP)

Vitamin E 投与によつて30%以上減少するものが多く, 投与3カ月目には13例中9例において30%以上の減少を示し, この変動は危険率1%で有意 ($\chi^2=23.2612$) であり, また減少も1%の危険率で有意 ($P=0.00015$) であつた. また投薬中止後もなお低い値を示すものが多く, この変動は10%の危険率で有意 ($\chi^2=5.8843$) であり, その減少は10%の危険率で有意 ($P=0.082$) であつた. 精子濃度による反応上の差はみられなかった.

6. prostatic acid phosphatase (PAP)

TAP の変化と大体一致し投与3カ月目には1%の危険率 ($\chi^2=14.5380$) で, また中止後も1%の危険率でもつて ($\chi^2=13.3875$) 有意の変動を示し, いずれも減少の傾向をみとめた.

7. glutamic pyruvic transaminase (GPT)

Vitamin E 投与によつて30%以内の変動にとどまるものが多いが, 減少するものに比し増加するものも多く, 投薬3ヶ月目の変動は危険率5%で有意 ($\chi^2=6.0784$) であつた. また投薬中止に伴なつて10%の危険率で有意 ($\chi^2=5.3180$) に変動した.

8. glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)

GPT と異なり, Vitamin E 投与に伴う一定の増加を示すものが多かつたが, その変動は1%の危険率で有意

(II)

	Total (n=19)						Azospermia (n=6)						Oligospermia (n=12)						Normospermia (n=1)									
	使用後		中止後		使用後		中止後		使用後		中止後		使用後		中止後		使用後		中止後		使用後		中止後					
	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	
LDH-III	control	cases	10	8	12	8	9	7	7	4	3	5	2	3	3	6	5	7	6	6	4	4						
		over 30% increased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		within 30% over 30% decreased	10	8	12	8	9	7	7	4	3	5	2	3	3	6	5	7	6	6	4	4						
LDH-III	treated	cases	10	9	13	8	8	2	2	1	2	4		1		8	6	9	8	7	2	1	1					
		over 30% increased	2	3	2	1	1	0	1	2	2	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0				
		within 30% over 30% decreased	4	5	8	2	3	1	0	0	1	1	1	1	1	3	4	7	2	2	1	1	1	1				
LDH-IV	control	cases	10	8	12	8	9	7	7	4	3	5	2	3	3	6	5	7	6	6	4	4						
		over 30% increased	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
		within 30% over 30% decreased	10	8	12	7	9	7	7	4	3	5	2	3	3	6	5	7	5	6	4	4						
LDH-IV	treated	cases	10	9	13	8	8	2	2	1	2	4		1		8	6	9	8	7	2	1	1					
		over 30% increased	3	0	5	4	2	2	0	0	0	1	0	0	0	0	3	0	4	4	2	2	0	0				
		within 30% over 30% decreased	7	7	8	4	6	0	1	1	3	1	1	1	1	5	5	5	4	5	0	1	1	1				
LDH-V	control	cases	10	8	12	8	9	7	7	4	3	5	2	3	3	6	5	7	6	6	4	4						
		over 30% increased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
		within 30% over 30% decreased	10	8	12	8	9	7	7	4	3	5	2	3	3	6	5	7	6	6	4	4						
LDH-V	treated	cases	10	9	13	8	8	2	2	1	2	4		1		8	6	9	8	7	2	1	1					
		over 30% increased	3	4	8	5	4	1	0	1	3	1	3	1	1	3	3	5	5	3	1	0	0	0				
		within 30% over 30% decreased	3	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	1	0	1	1				

(III)

		Total (n=19)						Azospermia (n=6)						Oligospermia (n=12)						Normospermia (n=1)					
		使用後		中止後				使用後		中止後				使用後		中止後				使用後		中止後			
		1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M	1M	2M	3M
ALP	control	cases																							
		over 30% increased within 30%																							
		over 30% decreased																							
	treated	cases																							
		over 30% increased within 30%																							
		over 30% decreased																							
LAP	control	cases																							
		over 30% increased within 30%																							
		over 30% decreased																							
	treated	cases																							
		over 30% increased within 30%																							
		over 30% decreased																							
TAP	control	cases																							
		over 30% increased within 30%																							
		over 30% decreased																							
	treated	cases																							
		over 30% increased within 30%																							
		over 30% decreased																							

(IV)

	Total (n=19)						Azospermia (n=6)						Oligospermia (n=12)						Normospermia (n=1)						
	使用後		中止後		1 M 2 M 3 M		使用後		中止後		1 M 2 M 3 M		使用後		中止後		1 M 2 M 3 M		使用後		中止後		1 M 2 M 3 M		
	1 M	2 M	3 M	1 M	2 M	3 M	1 M	2 M	3 M	1 M	2 M	3 M	1 M	2 M	3 M	1 M	2 M	3 M	1 M	2 M	3 M	1 M	2 M	3 M	
PAP	control	cases	11	10	14	9	9	8	6	6	7	4	3	4	4	5	4	7	5	4	6	4			
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	treated	cases	10	9	13	8	8	2	1	2	4		1			8	6	9	8	7	2	1			
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	5	2	3	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	2	3	2	2	0	0		
GPT	control	cases	11	10	14	9	9	8	6	6	7	4	3	4	4	5	4	7	5	4	6	4			
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	treated	cases	7	7	8	6	4	1		1	2					6	5	6	6	6	4	1			
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	2	3	2	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	2	1	0	1	1	1		
GOT	control	cases	11	10	14	9	9	8	6	6	7	4	3	4	4	5	4	7	5	4	6	4			
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	treated	cases	7	7	9	6	5	1		1	3		1			6	5	6	6	6	4	1			
		over 30% increased within 30% over 30% decreased	1	1	3	2	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	2	2	2	1	1	0		

Table 2 chi square (2 × 3) test

	LDH	LDH-I	LDH-II	LDH-III	LDH-IV	LDH-V	ALP	LAP	TAP	PAP	GPT	GOT
Vitamin E 投与 3 カ月	*	×	×	#	×	**	**	#	**	**	*	**
同上投与中止後 2 カ月	×	×	×	*	×	**	*	×	#	**	#	×

** : P < 1 % * : 5 % > P > 1 % # : 10 % > P > 5 % × : not significant

Table 3 Probability test

		LDH	LDH-I	LDH-II	LDH-III	LDH-IV	LDH-V	ALP	LAP	TAP	PAP	GPT	GOT
Vitamin E 投与 3 カ月後	increased	#	×	×	×	*	**	*	×	#	#	×	*
	decreased	×	×	×	×	×	#	*	×	**	**	×	×
同上投与中止後 2 カ月	increased	×	×	×	×	×	*	×	×	×	×	×	×
	decreased	×	×	×	*	×	#	#	#	#	**	×	×

** : P < 1 % * : 5 % > P > 1 % # : 10 % > P > 5 % × : not significant

($\chi^2=9.6174$) であり、またその増加も危険率 5 % でもつて有意 (P=0.047) であった。

なお以上の成績について Vitamin E 3 カ月間投与後および投薬中止後 2 カ月目について対照と比較し、chi square (2 × 3) 検定ならびに直接確率計算を行なったものを Table 2, 3 にまとめて示した。

考 按

ヒト精液中の LDH の存在については Macleord and Wroblewski (1958) が報告したのに始まり、以後 Eliasson ら (1967)、著者 (1967) らにより報告され、Grayhack and Kropp (1964) は酸性 phosphatase とともに男性ホルモンに依存性をもち、無精子症ではその活性が低く、精液示標としても役立つとした。このような点から今回の成績をみると、Vitamin E 投与に伴う LDH 活性増加はやや有意といえる変化ではあるが、確実な増加はなく、この点からの効果は期待できないと考えられた。

LDH isoenzymes については Blanco and Zinkham (1963)、Goldberg (1964) などによつてヒト睾丸および精子中に 5 本の LDH isoenzymes の存在することが明らかにされたのに始まる。著者 (1967) はヒト不妊精漿について無精子症患者では正あるいは乏精子症患者に比し LDH-H 分画の占める割合の低いことを報告してきた。この点から今回の成績をみると Vitamin E の投与に伴って第 V, IV 分画が増加するものが多く、第三分画はこれに応じて減少するものが多かった。このことは Vitamin E の投与によつて LDH-H 分画の増加は期待できない成績である。Zinkham ら (1963)、Eliasson ら (1967)、Moon and Bunge (1968) らは成熟、精子中に

Band X なる分画が存在し、このものが受精に必要なエネルギーを与えるものであると報告した。この Band X の由来について Clausen and Øvliisen (1965)、Moon and Bunge (1968) は精子に由来するものとしたが、今回の成績では Band X は存在せず、これは用いた対象が無精子症例は当然であるとしても、乏精子症でも遠沈に伴なう精子の崩壊がなかつたこと、あるいは Eliasson ら (1967) ののべるように受精に必要なエネルギーをもつ精子が存在しなかつたことにもとづくものであろう。

Gutman and Gutman (1941)、Bell and Lake (1962) によるとヒト精漿中の ALP は酸性 phosphatase に比し活性が低く、Mann (1964) は精液中で fructose の産生に関与する可能性を推定している。一方 Roussel and Stallecup (1965) は運動率との間に相関ありとし、Moon and Bunge (1968)、著者 (1967) はこのような関係はなく、性ホルモン投与に伴う変動もみられないとしたごとく、なおその意義は明らかではない。しかしこの酵素は精子に高く、また精漿では前立腺由来であることが Moon and Bunge (1968) によつて知られている。今回の成績では Vitamin E の投与に伴って一定の傾向をみとめなかつたが、乏精子症群では無精子症群に比し活性の低下を示すものが多かつたことは、男性ホルモン投与によつても一定の傾向を示さなかつたのと較べて興味ある成績である。

LAP は exopeptidase に属し、精漿中でのその意義は明らかではないが、蛋白分解に関係することより卵との結合を容易にすることも考えられる。著者らの成績によると無精子症群では乏精子症群に比しその活性が低い。今回の成績では Vitamin E の投与によつて活性を低下

させるものが多く、この面からの改善を Vitamin E によって期待することはできない。また精子濃度にもとづく反応上の差もみられなかつた。

ヒト精液中の酸性 phosphatase については Mann (1964) の報告に詳しく、不妊との関係について渡辺 (1958), Gutman and Gutman (1941), 金子 (1962) などの意見は一致していない。しかし男性ホルモン作用によってその活性が増大することについては Kirk (1948), Mann (1964), 著者 (1967) らの意見は一致している。今回の成績では Vitamin E 投与によりその多くが 30% 以上の減少を示したことは、Vitamin E 投与により尿中 17-KS の増加があるとの報告と合せて、副腎皮質を経由しての性腺に対する作用も考慮されているところから今後の検討が必要で、簡単なものではないと考えられる。

肝壊死や心筋梗塞の診断に血清 GPT, GOT の測定が用いられてきたが, Pavao and Villela (1960), Flipse (1960), Gregoire ら (1961), Roussel and Stallcup (1966) らによって精液中の GOT 活性は血中レベルの 10~20 倍も高いことが知られ、同時に精液の良否を決める指標としての価値もあることが知られるにいたつた。Roussel (1966) によると GPT は精液の良否を決める示標とはならないが、GOT は運動率、精子濃度と負の相関をもつことを明らかにし、また我々はヒト精漿で GOT と精子濃度との間に関係なく、GOT, GPT のいずれもが男性ホルモンの投与によって増加することの多いことを報告してきた。今回の成績では Vitamin E の投与に伴って GOT は増加するものが多く、GPT に対しては一定の変化を示さなかつたが、その意義は明らかではない。

結 語

広島大学医学部附属病院泌尿器科で経験した男性不妊症患者 19 例に対し Vitamin E を 1 日 300mg 宛経口投与し、精漿中酵素活性に対する影響を検討した結果次の成績を得た。

1. LDH 活性は Vitamin E 投与によって増加するものが多く、投薬中止に伴う一定した変動はみられなかつた。
2. LDH isoenzymes 上第 V, IV 分画の増加がみられた。
3. LAP, ALP は一定した変動を示さなかつた。
4. TAP および PAP 活性は減少するものが多くみられたが、精子濃度による反応上の差はみられなかつた。
5. GOT は増加するものが多くみられた。

稿を終るにあたり恩師仁平寛巳教授の御指導、御校閲

をあつく感謝致します。なお本稿の要旨は第 14 回日本不妊学会総会において発表した。

(また種々御協力いただいたエーザイ株式会社に対して感謝致します)。

文 献

- 1) Blanco, A. and Zinkham, W. H.: Lactate dehydrogenase in human testes. *Science* (Lond.), 139: 601-602, 1963.
- 2) Clausen, J. and Øvliisen, B.: Lactate dehydrogenase isoenzymes of human semen. *Biochem. J.*, 97: 513-517, 1965.
- 3) Eliasson, R., Häggman, K. and Wiklund, B.: Lactate dehydrogenase in human seminal plasma. *Scand. J. Clin. Invest.*, 20: 353-359, 1967.
- 4) Flipse, R. J.: Metabolism of bovine semen. IX. Glutamic-oxaloacetic and glutamic-pyruvic transaminase activities. *J. Dairy Sci.*, 43: 773-776, 1960.
- 5) Goldberg, E.: Lactate dehydrogenase and malate dehydrogenases in sperm: studied by polyacrylamide gel electrophoresis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121: 560-570, 1964.
- 6) Grayhack, J. T. and Kropp, K.: Change with aging in prostatic fluid citric acid, acid phosphatase and lactic dehydrogenase concentration in man. *Trans. Amer. Assoc. Genitourinary Surg.*, 56: 6-11, 1964.
- 7) Gregoire, A. T., Rakoff, A. E. and Ward, K.: Glutamic oxaloacetic transaminase in semen of human, bull, and rabbit seminal plasma. *Internation. J. Fert.*, 6: 73-78, 1961.
- 8) Gutman, A. B. and Gutman, E. B.: Quantitative relations of a prostatic content (acid phosphatase) of human seminal fluid. *Endocrinology*, 28: 115-118, 1941.
- 9) Ishibe, T.: Male adnexal organ secretion and enzymes. I. Seminal fluid in patients with sterility and enzymes. *Acta Urol. Jap.*, 13: 276-282, 1967.
- 10) Kaneko: cited by Sakakura, K. et al. *Clin. Endocrinol.* (Tokyo), 11: 149-160, 1963.
- 11) Kirk, J. E.: Acid phosphatase concentration of prostatic fluid in young middle-aged, and old individuals. *J. Gerontol.*, 3: 98-104, 1948.
- 12) MacLeod, J. and Wroblewski, F.: Lactic dehydrogenase activity in human semen. *Proc. Soc. Exper. Biol.*, 99: 265-267, 1968.
- 13) Mann, T.: The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. Methuen, London, 1964.
- 14) Moon, K. H. and Bunge, R. G.: Lactate dehydrogenase isozyme patterns in pre- and postvasectomy seminal fluid. *Invest. Urol.*, 6: 223-226, 1968.

- 15) Moon, K. H. and Bunge, R. G.: Observation on the biochemistry of human semen. 11 Alkaline phosphatase. *Fertil. Steril.*, 19 : 766-770, 1968.
- 16) Pova, H. Jr. and Villela, G. C.: Transaminase in seminal plasma of man. *Experientia*, 16 : 199, 1960.
- 17) Roussel, J. D. and Stallcup, O. T.: Activity of lactic dehydrogenase and its isozymes in bovine semen. *J. Dairy Sci.*, 48 : 1506-1510, 1965.
- 18) Roussel, J. D. and Stallcup, O. T.: Parallelism between semen characteristics and bovine blood serum phosphatase and transaminase. *Fertil. Steril.*, 17 : 483-487, 1966.
- 19) Stallcup, O. T.: Acid and alkaline phosphatase activity in bovine semen as related to fertility. *J. Dairy Sci.*, 48 : 752-754, 1965.
- 20) Watanabe: cited by Sakakura, K. et al., *Clin. Endocrinol. (Tokyo)*, 11 : 149-160, 1963.
- 21) Zinkham, W. H., Blanco, A. and Kupchuk, L.: Lactate dehydrogenase in testis: Dissociation and recombination of subunits. *Science (N. Y.)* : 142 : 1303-1304, 1963.

Male Adnexal Organ Secretion and Enzymes

IV. Effect of Vitamin E on the enzyme activity of seminal fluid in patients with sterility

Tomoyuki Ishibe, Satoru Matsuki

At the Urological Department of the Hiroshima University Hospital, 300 mg of Vitamin E per day was administered orally to the 19 cases of male sterility, and the following results were obtained from the study of its effects on the enzyme activities seminal fluid.

1. In many cases the increase of LDH activity was caused by the administration of Vitamin E, and the constant fluctuation did not follow the interruption of the administration.

2. The increase of the Vth and IVth fractions of LDH isoenzymes was observed.

3. LAP and ALP did not show a constant fluctuation.

4. The activities of TAP and PAP were observed to decrease in many cases, but there was no difference in reaction due to the sperm concentration observed.

5. In many cases the increase of GOT activity was observed.

IUD の子宮内適合状況並びに障害との関係

Studies on Localization of IUD and Relationship between its Position and Disorders

順天堂大学医学部産婦人科学教室 (主任: 水野重光)

高田 道夫 落合 真

Michio TAKATA Makoto OCHIAI

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

(Director: Prof. Shigemitsu MIZUNO)

近年、避妊の目的に IUD が広く一般に使用される傾向にあり、幾多の臨床成績が報告されているが、IUD による障害発生の原因には、なお不明な点が多い。この問題を解明するために、従来よりおこなわれている IUD 除去時における検査法と、子宮卵管造影法、及び超音波断層法を用いて、IUD の位置と障害との関係について検討した。

障害例において、Polyethylene Ring, Metal Ring に、下降、子宮壁への喰込み、Wing に一方の子宮卵管角への偏位、Spiral Ring に変形を認め IUD の位置の不正が障害発生の大ききと原因であると推定された。

従って、子宮卵管造影法、及び超音波断層法は、IUD 挿入者に対して意義ある検査法であり、それぞれに特徴ある利点を具備している。

I. 緒 言

IUD による障害発生には、種々の原因が考えられるが、その一つとして子宮内 IUD の不適合という問題がある。しかし、その検索法としては、現在までのところ除去、交換時に、これを Retrospective に観察して、その解析が試みられているにすぎない。

IUD の不適合の状態を客観的、実写的、且つ、非観血的に判定する方法があれば、さらに詳細な分析ができるばかりでなく、IUD の形状、材質の改良にも役立つはずである。

また、除去、交換が必要か否かを判定することが可能であり、これによつて除去例では、術前に位置を確認できるという便宜があり、非不適合障害例では、除去することなく保存的治療をおこなうことも不可能ではない。

このような観点から、子宮卵管造影法と超音波断層法を併用して、子宮内 IUD の位置と障害並びに妊娠との関係を検索した。

II. 当教室における IUD 挿入例の1年間の障害発生率および除去理由

IUD の子宮内位置と障害との関係について述べる前に、当教室における IUD 挿入例の障害発生頻度及び除去理由についての臨床成績を紹介して、障害の種類、障害発生時期、妊娠率、1年後の保有率についても触れてみたいと思う。

当教室を訪ずれ避妊を希望した健康婦人を選んで IUD を挿入し、十分な管理下で観察をおこなった。

太田型 Polyethylene Ring 125例における1年間の障害発生状況は、表1のように、挿入後3カ月迄は、出血、下腹痛、腰痛、月経異常、妊娠等の医学的理由のみにより除去しているが、6カ月以後においては、医学的理由のみならず、妊娠希望、他の避妊法への切換、医師、知人の勧めなどの理由が加っている。

障害発生例は、125例中、11例、障害発生率は、8.8%で、そのうちわけは、出血6例(4.8%)、下腹痛、腰痛6例(4.8%)、月経異常、5例(4.0%)であり、また、妊娠は、1例(0.8%)で、すべて除去されている

表 1 IUD 挿入者の 1 年間における障害発生及び除去理由

	総 数	除 去 数 (障 害 数)	手 術	妊 娠 希 望	癌 の 恐 怖	別 居	不 安	不 快	他 の 避 妊 法	へ の 切 換	医 師 ・ 推 知 人 め	出 血	下 腹 痛	腰 痛	帯 下	感 染	月 経 異 常	脱 落 妊 娠	妊 娠 落
	125																		
1 カ月	123	2 (2)										2							
2 カ月	122	1 (1)										1	1			1			
3 カ月	120	2 (1)											1						1
6 カ月	113	7 (2)		1					1	3		1	2			1			
9 カ月	109	4 (1)								3						1			
12 カ月	105	4 (4)										2	2			2			

が重篤な障害例は認めていない。

なお、1年間挿入を基準とした際の IUD 保有率は障害により除去した例、その他、非医学的理由により除去した例が、125例中19例〔(15.2%)、妊娠希望1例を除く〕あり、84.8%であった。さらに、1年間挿入後、妊娠希望、医師、知人の推め、他の避妊法への切換、癌の恐怖等の理由により交換、または継続挿入を希望しなかつたものは、105例中30例(28.6%)である。

III. IUD の子宮内適合状況

1) IUD 除去時における検索成績

IUD 除去の際、位置を検索した110例(表2)のうち、2例に脱落妊娠、1例に脱落が認められた。

位置正常と判定したのは、85例(77.9%)で、位置異常例は、24例(22.1%)である。

位置異常のうちわけは、下降、13例(54.2%)のうち、子宮下部への下降は、9例(37.5%)、子宮頸管部への下降は、4例(16.7%)であり、変形6例(25.0%)、子宮壁への喰込み3例(12.5%)、子宮卵管角への偏位、2例(8.3%)であった。

また、位置正常例中、2例(2.3%)、位置異常例中、5例(下降3例、偏位1例、変形1例)(20.8%)に妊

娠を認めた。

2) 子宮卵管造影法による成績

子宮卵管造影法により、50例について検索した成績では(表3)、位置正常例は、37例(72.5%)、位置異常例は、14例(27.5%)である。

位置異常例、14例のうちわけは、下降、8例(57.2%)うち、子宮下部下降、4例(28.6%)、頸管部下降、4例(28.6%)、変形、3例(21.3%)、偏位及び子宮壁への喰込み、各1例(7.2%)で、この他、斜位撮影法により初めて位置を確認できた小児頭大子宮筋腫への挿入例、1例がある(写3)。

3) 超音波断層法による成績

超音波断層法による45例(表4)の成績では、位置正常例は、27例(60.0%)、位置異常例は、14例(31.1%)、判定不能、4例(8.9%)であり、位置異常のうちわけを検討してみると、下降、6例(42.9%)でこのうち、子宮下部下降、4例(28.6%)、頸管部下降、2例(14.3%)であり、偏位、5例(35.7%)、変形、2例(14.3%)、傾斜、1例(7.1%)である。

なお、判定不能例、4例は、子宮頸管部下降、子宮卵管角への偏位、変形、子宮筋腫、各1例である。

4) 3法による検索成績の比較

表 2 IUD 除去時の検査成績 (110例)

IUD の 種類	例 数	位置異常 発見例数 (発見率)	位置異常の内訳				
			下 降		子宮壁 への 喰込み	子宮卵 管角へ の偏位	変 形
			子 宮 下 部	子 宮 頸 管 部			
P	86	14	7	4	2*1		1*
W	8	3			1		2
SP	9	6	1				
M	4	1	1				

脱落妊娠 2例 脱落 1例 * 位置正常

表 3 子宮卵管造影法による検査成績 (50例)

IUD の 種類	例 数		位 置 異 常 発 見 例 数 (発 見 率)		位 置 異 常 の 内 訳					
					下 降		子宮壁 への 喰込み	子宮卵 管角へ の偏位	変 形	変 移
					子 宮 下 部	子 宮 頸 管 部				
P	35	49例	9	14例 (27.5%)	3	4	1*	1	1*	1
W	6		1		1	1				
S P	7		3		2					
L	1		1							

子宮筋腫への挿入1例 * 位置正常

表 4 超音波断層法による検査成績 (45例)

IUD の 種類	例 数		位 置 異 常 発 見 例 数 (発 見 率)		位 置 異 常 の 内 訳				
					下 降	偏 位		傾 斜	変 形
						右	左		
P	28	41例	10	14例 (31.1%)	6	1	2	1	
W	7		2		2				
S P	5		2		1	1			
L	1		1						

IUD の位置不明4例：子宮頸管部下降，子宮卵管角への偏位，変形，子宮筋腫

前項にのべた3法の成績を比較すると、図1のように、位置異常の発見率は、超音波断層法において、31.1%、次いで、子宮卵管造影法、27.5%、除去時の検索法、22.1%、となり、一見、超音波断層法が最もすぐれているようにみえるが、位置異常を種類別に比較検索した成績では、図2のように超音波断層法においては、偏位の発見率が、他の2法に比べてまさっているが、下降、変

形、喰込みが判明しにくい欠点があり、最も障害との関係において重要と考えられる下降、変形という面からみれば、子宮卵管造影法が、超音波断層法よりもまさっているともいえる。

また、喰込みの発見率からみれば、除去時観察例が最もすぐれ、ついで子宮卵管造影法の順であり、子宮内下降の発見率は、子宮卵管造影法において最もすぐれている。

そこで、超音波断層法、子宮卵管造影法を併用して検索した31例について、改めて観察すると(表5)、子宮卵管造影法において、子宮頸管部下降の1例は、超音波断層法で位置不明であり、また、前者における変形、変位、各1例は、後者で位置正常、後者における偏位、1

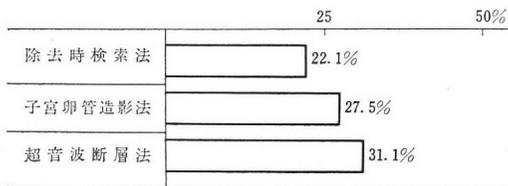


図1 3法による位置異常発見頻度

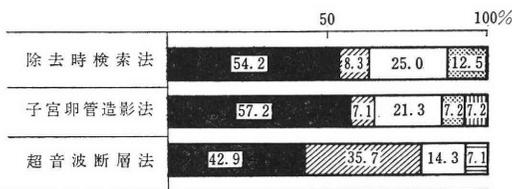


図2 位置異常の種類と頻度

表 5 子宮卵管造影法と超音波断層写真法の比較 31例

位置異常 発見例数 (発見率)	位 置 異 常 の 内 訳					位 置 不 明
	下 降		変 形	偏 位	変 位	
	子 宮 下 部	子 宮 頸 管 部				
子宮卵管 造影法 10例 (33.3%)	2	3	3	1	1	0
超音波断 層法 8例 (26.7%)	2	2	2	2	0	1

子宮筋腫へ挿入1例

例は、前者で位置正常と判定した。

従って、両方法を比較した場合、それぞれ特徴があり、一概に優劣は決め難く、操作が簡便であり患者に苦痛を与えない、或いは検査施行後、検査時の随伴症状の発現が少ないという面からすれば、超音波断層法は、そのまま挿入を継続する場合などには、簡便、且つ優れた検査方法といえる。また検査法の改良によって更に成績を向上させることも可能と考えられる。

IV. IUD の位置と障害

第II項においても述べたように IUD 挿入例においては、重篤な障害例は認められていないが、出血、月経異常、腰痛、下腹痛等の訴えのあつたものでは、全例が除去されている。但し、これら症例の中には IUD の位置さえ正常であれば保存的な治療により主訴を解消できる例も含まれていると考えられる。このような症例を発見して保存的な治療の可能性を試みることは、本研究の目的の一つでもあり、観血的操作を必要とし、Retrospective な観察方法である除去時検索例を除き、超音波断層法及び子宮卵管造影法の両者により、障害と位置との関係を検索した。

なお、検査法によるわけは、子宮卵管造影法、超音波断層法併用例30例、子宮卵管造影法19例、超音波断層法14例、計63例であり、うち2例に位置は、正常であるが変形と子宮壁への喰込みが認められた。

1) 位置正常例における障害頻度

位置正常と判定したのは、42例で、このうち5例(11.9%)が障害例であつたが、すべて子宮卵管造影法において、はっきりと子宮底部への IUD の接着がみられた例である。

2) 位置異常例における障害頻度

位置異常例21例での障害例は、16例(76.1%)と正常例における11.9%に比較して障害発生頻度は、はるかに高く、これらの例について位置異常の種類と障害の関係を検討してみると(表6)、下降が10例(47.6%)と約半数を占め、次いで偏位5例(23.8%)、変形3例(14.2%)、傾斜、変位、子宮壁への喰込み各1例(4.8%)で、障害発生頻度の面からみると、下降、変形例はすべて障害例であり、偏位例では、3例(60.0%)が障害例であつた。なお、残り偏位例2例、傾斜例、変位例、子宮壁への喰込み例、各1例では、障害は認められなかつた。

3) 障害例における位置異常並びに下降との関係

非観血的に IUD の適合状況を観察しえた症例63例における無症状例は、42例、障害例は、21例であり、無症状例中での位置異常は、5例(11.9%)、障害例での位

表 6 位置異常の種類と障害の関係

	例数	発生頻度	障害発生頻度	
			50	100%
下降	10	47.6%		
変形	3	14.2%		
偏位	5	23.8%	3例(60.0%)	
傾斜	1	4.8%		
変位	1	4.8%		
子宮壁への喰込み	1	4.8%		

置異常は、16例(76.1%)と明らかに障害例において位置異常頻度が高く、うち下降例は、障害例に10例(47.6%)であり、無症状例中には認められなかつた。

4) 障害の種類と IUD 下降との関係

次に障害の種類と下降との関係(表7)をみると、帯下、下腹痛、腰痛は、下降例においては程度の差こそあれすべてにみられるが、特に、帯下、下腹痛との関係が密接であり、全例に認められ、出血、月経異常は、ともに50%をしめている。頸管部下下降例よりも子宮部下下降例において表記障害頻度が高いことは興味あることである。

また、下降例、10例における障害のわけは、子宮部下下降例では、帯下4例、出血2例、月経異常3例、下腹痛4例であり、頸管部下下降例では、帯下1例、出血1例、腰痛の1例で、月経異常は認めていない。

なお、IUD の位置と妊娠との関係については、後述し、さらに別の機会に詳細に述べたいと思う。

表 7 障害の種類と位置下降との関係

	総数	下降例	障害頻度		各対降障害の頻に下度
			50	100%	
帯下	5	5	子宮下部	4例(80.0%)	100.0%
			頸管部	1例(20.0%)	
出血	6	3	子宮下部	2例(33.3%)	50.0%
			頸管部	1例(16.7%)	
月経異常	6	3	子宮下部	3例(50.0%)	50.0%
			頸管部		
下腹痛腰痛	5	4	子宮下部	4例(80.0%)	100.0%
			頸管部	1例(20.0%)	

5) 挿入期間と位置との関係

位置異常例21例について挿入期間との関係をみると(表8)、子宮部下下降例、変形例は、比較的挿入期間も短く、早期に障害が発生すると思われるが、偏位例、頸管部下下降例においては、晩期障害が多いように思われ

表 8 挿入期間と位置異常との関係

位置異常		挿入期間		1 年	1 年半	2 年以上
		~ 6 月	9 月			
下 降	子宮下部	6	3			
	頸管部	4	1	1	2	
変 形		3	3			
偏 位		5	①	1	①	1
傾 斜		1	①			
変 位		1			①	
子宮壁への喰込み		1				①

○非障害例

る。

なお、子宮壁への喰込み例は、挿入期間5年である。

6) IUD の位置と妊娠との関係

我々が、IUD 挿入例において妊娠と認めたものは、9例であり、うち2例は脱落妊娠で、IUD が子宮内に存在しているにもかかわらず妊娠した例は、7例である。

妊娠の確認と同時に IUD の子宮内存在を証明した7例のうち、上記2法により非観血的に位置を確認できたのは、6例で、子宮頸管部下降3例、子宮卵管角部への偏位1例、正常位置例2例である(表9)。

表 9 位置と妊娠との関係

		例数	発生頻度
非観血的に証明した例数 6例	正常位置	2	33.3%
	子宮卵管角部への偏位	1	16.7%
	子宮下部	0	
	頸管部	3	50.0%

この成績から IUD 子宮内存在下における妊娠は、頸管部下降例に多いが、子宮底部に正常に位置している2例においても妊娠例が認められたことは、IUD の避妊機序と関係して重要なことであり、今後の検討を必要とする。

V. 考按並びに結語

従来の IUD の位置判定法には、観血的な方法が多く、IUD 除去時の観察、子宮内視鏡による検索は、いずれもこの範中に属するものである。勿論、子宮内視鏡による観察法は、子宮内膜と IUD との関係など目的を異にする検査法として意義も大きく多くの長所を備えている。

桜林、毛利(1969)は、子宮内視鏡検査、子宮卵管造影法により、IUD の子宮内における状況を観察し、特

に内膜との関係を詳細に報告し、さらに IUD が子宮底部に密着している例においては、障害例並びに妊娠例は殆んど認められないことも述べている。

今回、我々は、IUD の子宮内適合状態と障害との関係、さらに障害例において除去することなく保存的治療を行いうる可能性を追求する目的から従来の除去時観察と超音波断層法、子宮卵管造影法による成績を比較しつつ、特に、非観血的な後2者について詳細な検索を試み、次の結果を得た。

1) 3法による位置異常発見率は、除去時における検索では、22.1%、子宮卵管造影法27.5%、超音波断層法31.1%であった。

2) 超音波断層法においては、他の2法に比べて、偏位、傾斜の発見率が高いが障害との関係において最も重要である下降、変形という面が判明しがたい欠点がある。

但し、偏位の発見率は高く、且つ操作が簡単であり、患者に苦痛を与えない、或いは、検査施行後、検査時の随伴症状の発現が少ないという面からみれば優れた検査法といえる。

なお、喰込み状態は除去時の検査において最もよく観察された。

3) 位置正常例では、42例中、5例(11.9%)に障害がみられたにすぎないが、位置異常例では、21例中、16例(76.1%)に障害を認め、位置異常が障害発生に大きく関与していることが判明した。また、位置異常例中、下降例10例(47.6%)、変形例3例(14.2%)は全て障害例であり、偏位例では、5例中、3例(60.0%)が障害例であった。

4) Wing では、子宮卵管角部偏位、Spiral Ring では、変形、Loop では、変位、太田型リングでは、喰込み、下降例が多かった。

5) 挿入期間との関係においては、子宮下部下降例、変形例では早期障害が多く、偏位例、頸管部下降例においては、晚期障害が多いように思われる。

6) 障害の種類と位置との関係において、位置下降例では、帯下、下腹痛、腰痛が全例に認められ、そのなかでも帯下、下腹痛との関係が密接であった。

また、頸管部下降例よりも、かえって子宮下部下降例において障害頻度が高く、月経異常は、全て子宮下部下降例で頸管部下降例には、認められなかった。

但し、妊娠は、逆に、頸管部下降例3例(50.0%)に認めた。

7) 現在までのところ、IUD の位置と障害についての検索は、主として観血的方法により行われているが、子宮卵管造影法、超音波断層法は、非観血方法として

IUD 挿入後、経過が観察できる優れた方法であり、特に超音波断層法は、苦痛を与えることなく、経日的検索ができるという利点があり今後の検査法の改良と相まつて意義ある検査方法と考えられる。

稿を終るに臨み御指導、御校閲を賜った水野教授に深謝致します。

なお、本論文の要旨は、第14回日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) 小林充尚, 他: 産婦治療, 18: 328 (1969).
- 2) Peter M. Shimkin: Radiology, 92: 353(1969).
- 3) 桜林元夫, 他: 日不妊会誌, 14: 309 (1969).

Studies on Localization of IUD and Relationship between its Position and Disorders

Michio Takata, Makoto Ochiai

Department of Obstetrics and Gynecology
Juntendo Medical University School
of Medicine

(Director: Prof. Shigemitsu Mizuno)

Though there are several techniques referring to the situation of IUD in the uterus, non-ope-

rative techniques should be chosen to decide whether inserted IUD must be removed or not.

In this report, the localization of the IUD was carried out in 63 cases by the both of hystero-graphy and ultrasound compound scanning technique.

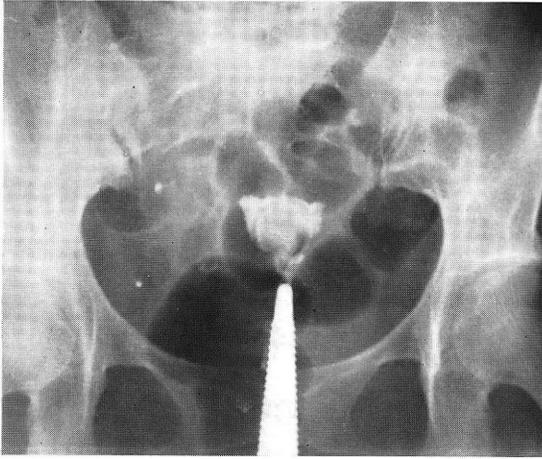
As a result, the descending of the IUD in the uterine cavity and the relationship between the IUD and the uterine wall were well defined by hystero-graphic technique. However, in this technique three dimensional observation could hardly been done. Ultrasound compound scanning technique could reveal the one-sided situation of the IUD, such as to the right, to the left, to the anterior or to the posterior in the uterine cavity.

Moreover, ultrasound examination is harmless and painless.

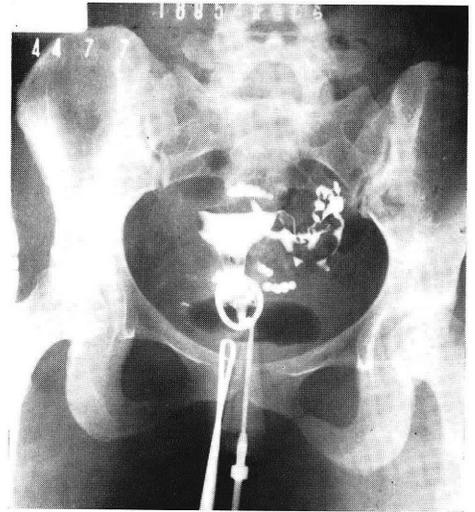
In the 63 examined cases, the majority of cases with clinical symptoms were found to be the cases which were diagnosed as abnormal position of the IUD by the both techniques. In the descended 10 cases, situation to the lower part of the uterine cavity was seemed to cause severer clinical symptoms than descending into the cervical canal. Clinical symptoms of vaginal discharge and lower abdominal pain were frequently found in the former cases.

It should be emphasized that 2 cases of pregnancy with normally located IUD were experienced.

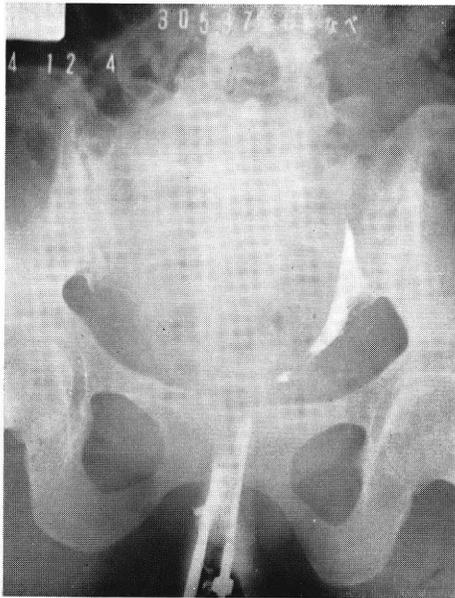
子宮卵管造影法



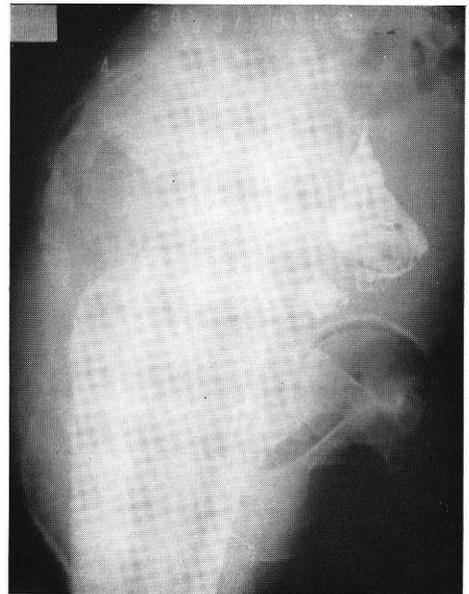
〔写真1〕 位置正常例



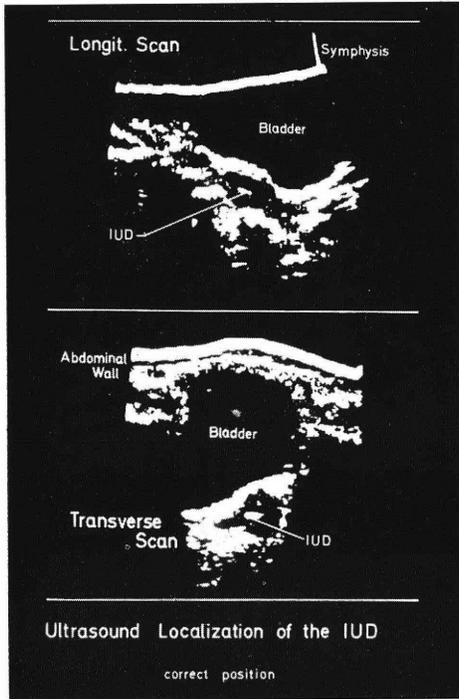
〔写真2〕 子宮頸管部下降例



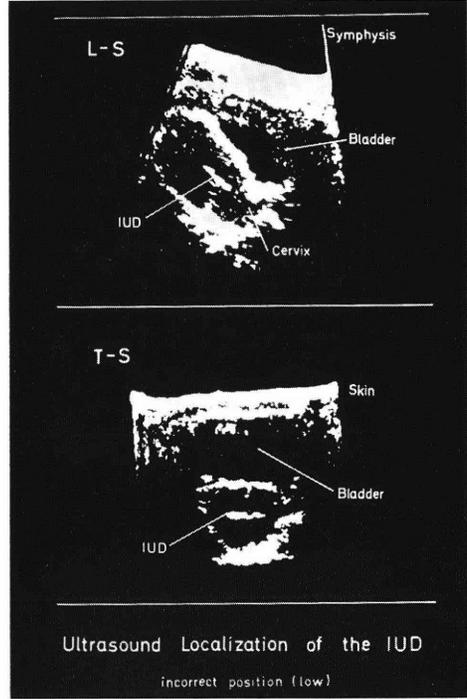
〔写真3〕 子宮筋腫へ挿入例



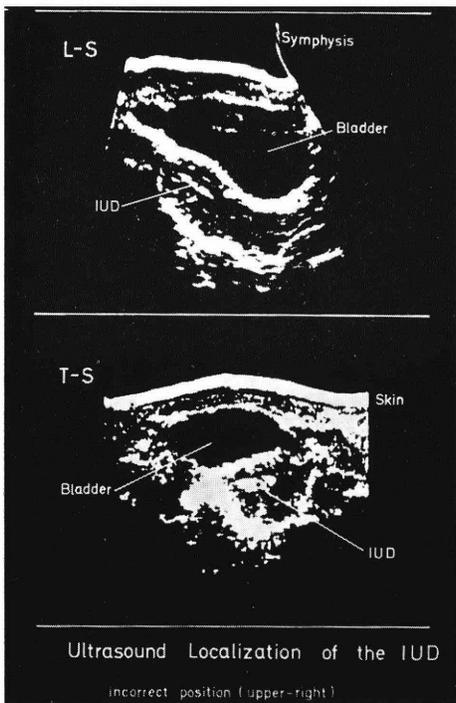
超 音 波 断 層 法



〔写真Ⅰ〕 位置正常例



〔写真Ⅱ〕 子宮下部下降例



〔写真Ⅲ〕 右側偏位例

Follicle Stimulating Hormone (FSH) 特異抗体の作製 と Radioimmunoassay への適用の可能性

Preparation of anti-FSH specific serum and trial application of the
serum to FSH radioimmunoassay

徳島大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 足立春雄教授)

香山 浩二 田中 千春 磯島 晋三
Kouji KOUYAMA Chiharu TANAKA Shinzo ISOJIMA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,
Tokushima University, Tokushima, Japan.
(Director: Haruo Adachi)

部分精製 HMG-preparation を用いて家兎を免疫し、抗 HMG 家兎血清を作製した。これを小児尿蛋白、ヒト血清蛋白及び HCG で充分に吸収すると、ゲル内沈降反応及び免疫電気泳動によつて HMG-preparation とのみに1本の沈降線を示す吸収抗 HMG 血清を得ることができた。この吸収抗 HMG 血清は *in vitro* に於ける FSH 及び LH(HCG) 生物活性中和実験によると、FSH 活性のみを特異的に中和し、FSH に特異的な抗血清であることが明らかとなつた。この FSH 特異抗血清を用いて二重抗体法による FSH-radioimmunoassay の条件検討を試み、5 mIU/ml の感度を有する標準曲線を得ることができたが、ヨード化抗原として用いた FSH-preparation が非常に不純であつた為に沈澱中の maximal per cent radioactivity が7% にすぎず、測定には誤差が大きくなり、実用には至らなかつたが、より純度の高い FSH-preparation をヨード化抗原として用いることにより、この吸収抗 HMG 血清を用いて FSH-radioimmunoassay が可能であることが実証できた。

1. 緒 言

蛋白性ホルモン assay に免疫学的測定法が応用され、内分泌学の研究面のみならず、臨床面においても、診断、治療効果判定、経過観察等に非常に貢献していることは明らかである。産婦人科領域においても Wide¹⁾らにより赤血球凝集阻止反応を利用した人絨毛性ゴナドトロピン (HCG) の免疫学的測定法が報告されて以来、HCG の immunoassay は長足の進歩をとげ、現在では isotope を利用した radioimmunoassay により非常に微量の HCG も検出可能となつて来た²⁾³⁾。また、下垂体性ゴナドトロピン (FSH, LH) に関しても、LH の免疫学的測定は LH の HCG との抗原性の交叉を利用して測定可能となり、LH-radioimmunoassay が登場するに至つた⁴⁾⁵⁾⁶⁾。FSH の免疫学的測定は抗原としての FSH の

精製が容易でなく、精製 FSH が得られればその免疫学的測定は困難ではないが、本邦においては radioimmunoassay に用いるような精製 FSH の入手が現在のところ不可能であり、充分な検討がなされるに至つていない。

Saxena⁷⁾, Tamada⁸⁾⁹⁾, Mori¹⁰⁾らは、pituitary FSH あるいは urinary FSH を用いて FSH の抗原性を検討し、両 FSH とも抗原性を有しており、FSH に対する抗 FSH 血清は FSH の生物活性中和能力を有していることを報告している。Midgley¹¹⁾, Faiman¹²⁾¹³⁾, Aono¹⁴⁾らはヒト下垂体から抽出した精製 FSH (50~100 NIH-FSH S₁ U/mg) を抗原として、FSH の radioimmunoassay を検討し、血清中または尿中 FSH を測定する限り、LH の影響はほとんど考慮する必要のない FSH に特異的な測定法を報告している。

著者らもすでに HCG 及び LH の radioimmunoassay を確立し¹⁵⁾¹⁶⁾, 最近その rapid assay についても報告した¹⁷⁾¹⁸⁾. FSH に関しては, 抗原としての精製 FSH を得ることができず, 未だ測定段階に至っていないが, 閉経後婦人尿より抽出した部分精製品である Pergonal-500 TM (FSH 75 IU, LH 75 IU) を抗原として, 抗 Human Menopausal Gonadotropin (HMG) 血清を作製し, これを尿蛋白, 血清蛋白及び抗 LH 抗体を除く為に抗原性の交叉する HCG でもって吸収し, FSH に特異的と思われる抗血清を得ることが出来たので報告する.

2. 実験方法

a. 抗 HMG 血清の作製 (第1表)

Pergonal-500 TM 1 アンプルを生理的食塩水 1 ml に溶解し, 等量の Complete Freund's Adjuvant を加え

第 1 表

Preparation of Antisera to HMG
Rabbit

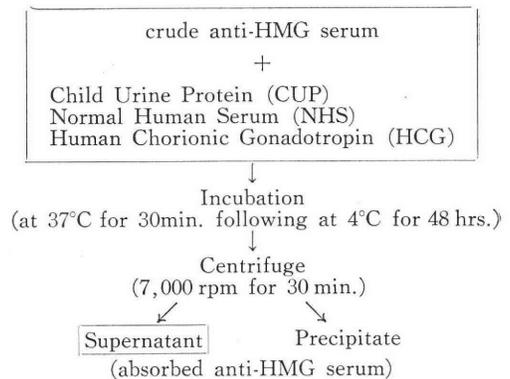
1st Injection.....intracutaneous HMG (FSH 75 IU, LH 75 IU) with Complete Freund's Adjuvant		2 weeks
2nd Injection.....intracutaneous HMG (FSH 75 IU, LH 75 IU) with Complete Freund's Adjuvant		3 weeks
Booster Injections.....intraperitoneal HMG (FSH 75 IU, LH 75 IU) in Saline every other day, 5 times		1 week
		Bled by cardiac puncture

emulsion とし雌成熟家兎の両足蹠趾間及び背皮内に 1 ケ所 0.1 ml ずつ注射した. 2 週間後同様の注射を行い, さらに 3 週間後 booster 注射として Pergonal 1 アンプルを生理的食塩水 1 ml に溶解したものを腹腔内に隔日に計 5 回注射した. 最後の注射から 1 週間後に心臓穿刺によって全採血し, 血清を分離して, 56°C で 30 分間非働化した後 -20°C に保存した.

b. 抗 HMG 血清の吸収 (第2表)

抗 HMG 血清 1 ml に正常ヒト血清蛋白 (NHS) 60 mg 及び小児尿蛋白 (CUP) 120 mg を加え 37°C で 60 分 incubate し, 更に 4°C で一夜放置した後遠心 (7,000 rpm, 30分間) して, 上清をゲル内沈降反応及び免疫電気泳動にて, ヒト血清及び小児尿蛋白と反応を示さないことを確認した上, この血清 1 ml に HCG 5,000 IU

第 2 表
Absorption of antiserum



を加えて 37°C で 60 分間 incubate し, 更に一夜 4°C に放置した後遠沈 (7,000 rpm, 30分間) して上清を吸収抗 HMG 血清とした.

c. ゲル内沈降反応及び免疫電気泳動

抗血清及び抗原分析は Ouchterlony's micro agar gel diffusion¹⁹⁾ 及び Scheidegger's micro-immunoelectrophoresis²⁰⁾ を用いた.

d. 吸収抗 HMG 血清による FSH 生物活性中和実験

FSH の生物活性は Steelman Pohley 法²¹⁾ を用い, HCG の priming には 40 IU を用いた. 中和実験は HCG, FSH 及び吸収抗 HMG 血清混合液を 37°C で 60 分間 incubate した後, 雌幼若ラット (生後 22~23 日目) の背皮下に連日 4 日間 0.5 ml ずつ注射し, 5 日目に卵巣重量を測定した. 対照群も同様に 37°C で 60 分間 incubate した材料を注射に用いたが, incubation 中に HCG 及び FSH の生物活性が低下することはなかった.

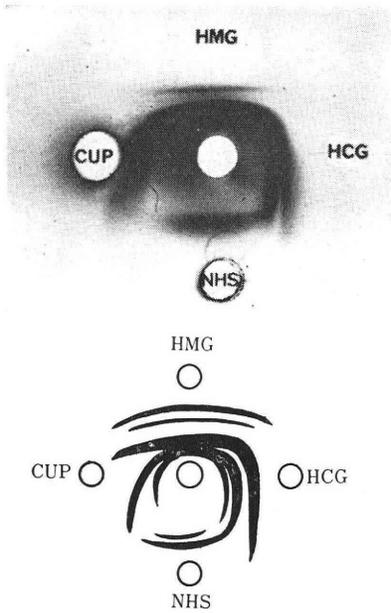
e. FSH-radioimmunoassay 法

HMG のヨード化 (¹²⁵I) は Greenwood et al.²²⁾ の chloramine T 法の変法で, すでに著者らが発表した方法¹⁵⁾ に従って行った. FSH (Pergonal) 250 m IU (約 3.8 µg) に ¹²⁵I 2 mC をラベルし, specific activity 270 µC/µg を得た. 抗 FSH 抗体と ¹²⁵I FSH 結合物は抗 γ-globulin 血清を用いて分離する. いわゆる二抗体法に従って行った.

3. 実験結果

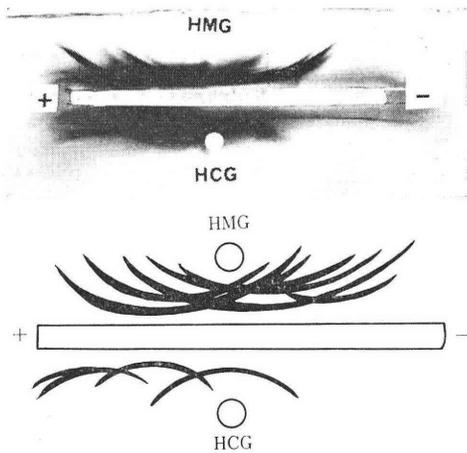
a. FSH 特異抗体の調製

Pergonal 免疫により得た抗 HMG 家兎血清を用いてゲル内沈降反応をすると第 1 図のように HMG (FSH 750 IU/ml, LH 750 IU/ml) との間に多数の沈降線が見られ, また HCG (1,000 IU/ml), CUP (100 mg/ml) 及び NHS (100 mg/ml) とともに沈降反応を示していること



HMG : Human Menopausal Gonadotropin
 FSH : 750 IU/ml, LH : 750 IU/ml.
 HCG : Human Chorionic Gonadotropin 1000 IU/ml.
 NHS : Normal Human Serum 100mg/ml.
 CUP : Child Urine Protein 100mg/ml.

第1図 Agar Gel diffusion of unabs. anti HMG serum



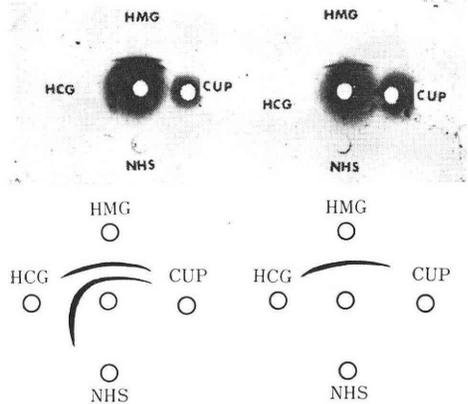
HMG : Human Menopausal Gonadotropin
 FSH : 750 IU/ml, LH : 750 IU/ml.
 HCG : Human Chorionic Gonadotropin
 1000 IU/ml.

第2図 Immunoelectrophoresis of unabsorbed anti-HMG serum

が解る。免疫電気泳動によると、第2図のように HMG との間に少くとも7本の沈降線が、HCG とも4本の沈降線がみられた。すなわち免疫抗原として用いた HMG

中には FSH 及び LH のほかにも血清成分と尿成分に由来すると考えられる多数の夾雑抗原物質が含有されており、したがって得られた抗 HMG 血清中にもこれら夾雑物に対する抗体が多数含まれていることが明らかとなった。

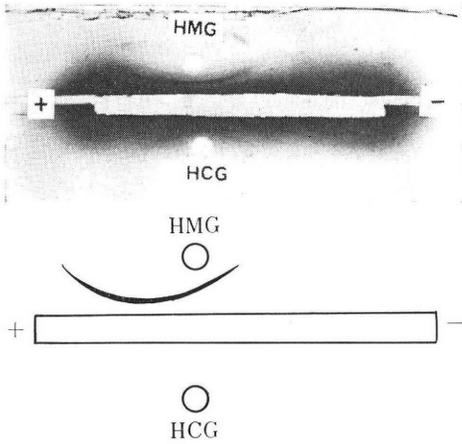
ゲル内沈降反応と免疫電気泳動により抗 HMG 血清中には多数の不純抗体が含まれていることが解つたので、第2表に示すような吸収操作によつて順次 CUP と NHS で吸収してゆくと、最後に第3図の左側のゲル内沈降反応に見られるように、HMG と2本、HCG と1本の沈降線を示し、CUP 及び NHS とはもはや反応を示さない抗 HMG 血清を得ることができた。また、HCG との間に見られる1本の沈降線は HMG との間に見られる抗体孔側(中央孔)の沈降線と完全に融合しているのが解る。なお、CUP は3歳以下の小児尿から冷アルコール沈澱法により尿蛋白を抽出したものを、NHS は青年男子血清を凍結乾燥したものをを用いた。



HMG : Human Menopausal Gonadotropin
 FSH : 750 IU/ml, LH : 750 IU/ml.
 HCG : Human Chorionic Gonadotropin 1000 IU/ml.
 NHS : Normal Human Serum 100mg/ml.
 CUP : Child Urine Protein 100mg/ml.

第3図 Agar Gel-diffusion of anti-HMG serum absorbed with CUP & NHS

CUP 及び NHS で充分に吸収した後もなお HMG との間に2本の沈降線が見られるが、これは抗 HMG 血清中に抗 FSH 抗体と抗 LH 抗体が産生されており、これらが HMG 中の FSH 及び LH 成分と沈降反応を起してきたものと考えられる。また、HCG との間に見られる1本の沈降線は HCG が LH と交差する抗原性を示す為、抗 HMG 血清中の抗 LH 抗体と反応したものと考えられ、したがって第3図左側に見られるように、HMG との間の2本の沈降線の内の1本と完全に融



HMG : Human Menopausal Gonadotropin
 FSH : 750 IU/ml, LH : 750 IU/ml.
 HCG : Human Chorionic Gonadotropin
 1000 IU/ml.

第4図 Immunoelectrophoresis of anti-HMG serum absorbed with CUP, NHS & HCG

合しているのである。

次に、抗 LH 抗体を除去するために、HCG (1,000 IU) でもって段階的に吸収してゆくと、最後に第3図右側のゲル内沈降反応に見られるように、HMG とのみ1本の沈降線を示すようになる。免疫電気泳動によっても第4図のように、HMG とのみ1本の沈降線を示しているのがわかる。すなわち、この吸収抗 HMG 血清中には、もはや CUP, NHS 及び LH に対する抗体成分はすべて吸収され、抗 FSH 抗体のみが存在しているものと考えられる。

b. 吸収抗 HMG 血清による FSH 生物活性中和実験

HMG とのみただ1本の沈降線を示すようになった吸収抗 HMG 血清がはたして FSH に特異的なものであるかどうかを FSH の生物活性中和実験によって検討した。

第3表に示すように HCG 40 IU 単独、HCG 40 IU プラス正常家兔血清 (NRS) 0.01 ml、及び HCG 40 IU プラス吸収抗 HMG 血清 0.01 ml 群の卵巣重量はそれぞれ 42.9mg, 48.7mg, 45.2mg であり、有意の差は認められなかった。すなわち吸収抗 HMG 血清では HCG 活性は中和されることが解った。しかるに、HCG 40 IU プラス FSH 3 IU 及び HCG 40 IU プラス FSH 6 IU 群では、卵巣重量はそれぞれ 83.1 mg, 126.3 mg となり明らかに HCG 40 IU 単独注射群に比べて卵巣重量が増加している。ところが、FSH 3 IU 及び 6 IU

第3表

Effect of absorbed anti-HMG upon biologic FSH activity in the Ovarian Augmentation Reaction

Preparation and Dosage	Ovarian Weight (mg)
Saline	11.7 ± 1.0
HCG 40 IU	42.9 ± 8.2
HCG 40 IU+FSH 3 IU	83.1 ± 14.2
HCG 40 IU+FSH 6 IU	126.3 ± 26.8
HCG 40IU+FSH 3IU+NRS 0.01ml	77.8 ± 8.9
HCG 40 IU+FSH 3 IU+anti-HMG 0.002ml	50.7 ± 6.0
HCG 40 IU+FSH 6 IU+anti-HMG 0.002ml	83.2 ± 7.3
HCG 40 IU +NRS 0.01 ml	48.7 ± 4.7
HCG 40 IU +anti-HMG 0.01ml	45.2 ± 7.0

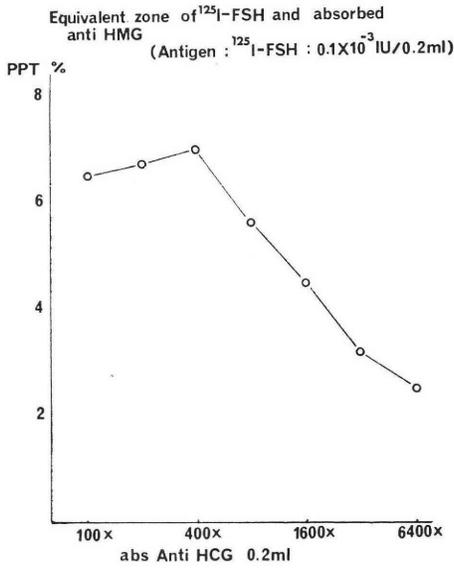
群にそれぞれ吸収抗 HMG 血清を 0.002ml (原血清にして)を加えた群においては卵巣重量は50.7mg と83.2mg に減少し、明らかに吸収抗 HMG 血清により卵巣重量増加作用が阻止されたことが解る。前述したように HCG 活性は吸収抗 HMG 血清により中和されないことが解っているので、この卵巣重量増加作用の阻止は、FSH 活性が吸収抗 HMG 血清により中和された為に起ったものと考えられる。なお、HCG 40IU プラス FSH 3 IU 群に NRS を 0.01 ml 加えても卵巣重量増加に影響はなかった。

以上の結果より、この中和実験に使用した吸収抗 HMG 血清は FSH 生物活性を特異的に中和する作用を有しており、HCG 活性には影響を及ぼさないことが明らかとなった。したがって、この吸収抗 HMG 血清は FSH に特異的な抗 FSH 抗体を含んでいるが、LH 作用を中和する抗 LH 抗体はほとんど完全に除去されたものと考えられることができる。

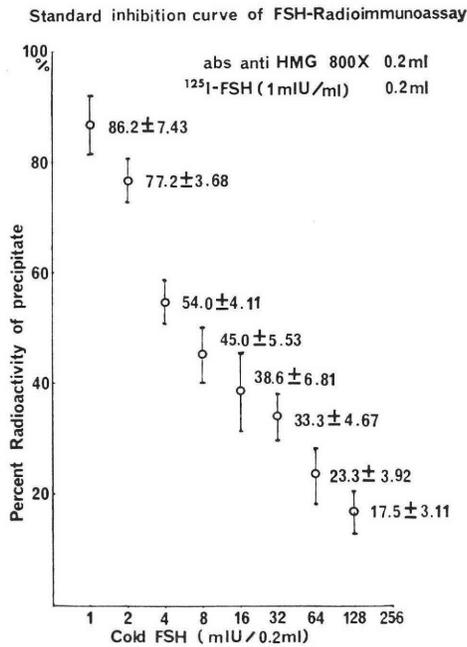
c. FSH-radioimmunoassay の検討

FSH に特異的と考えられる吸収抗 HMG 血清を得ることができたので、はたしてこの抗血清を用いて FSH-radioimmunoassay が可能であるか否かを検討した。

第5図は ¹²⁵I-FSH と吸収抗 HMG 血清との抗原抗体最適濃度を検討したものであるが、吸収抗 HMG 血清 400倍において maximal precipitate 7%を得た。ヨード化に使用した抗原 FSH が非常に不純であるために、7%の maximal precipitate しか得られなかったが、もつと純度の高い FSH 抗原が使用できれば、maximal precipitate を高めることが可能である。第6図は FSH-radioimmunoassay の standard assay curve を作成したものである。FSH 1mIU/0.2ml においてすでに



第 5 図



第 6 図

inhibition が起つており非常に感度はすぐれているが、standard error でもつて示したように、正確度に於いてもつと検討の必要があるものと考えられる。これは先にも述べたように、ヨード化に使用した抗原 FSH の純度が低いため抗 FSH 抗体と反応して沈澱して来る。 ^{125}I -FSH の割合が非常に少く、従つて沈澱物中のカウント数が上清のカウント数に比べて非常に少くなり、わずかの technical error がその沈澱物中のカウント数に大き

く影響し、その為に standard error が大きくなつたものと考えられる。より純度の高い FSH 抗原が利用できれば、maximal precipitate は高くなり、誤差も小さくなり、この吸収抗 HMG 血清を用いての FSH の radioimmunoassay も可能と考えられる。

4. 考 察

Reichert et al.²⁹⁾はヒト下垂体から FSH の精製を試み、FSH 活性3798 IU/mg, LH 活性169 IU/mg を含有する精製 FSH-preparation を分離し、これは polyacrylamide gel を用いた電気泳動において1本の band として示されたと報告している。今回、著者らは Human Menopausal Gonadotropin (HMG) である Pergonal を用いて FSH 特異抗血清の作製と粗製 FSH を用いての radioimmunoassay に関して検討を試みたが、著者らの抗原 FSH として用いた Pergonal は1アンプル中に FSH 75 IU と LH 75 IU を含んでおり、OD 280 m μ による蛋白量測定では1アンプルが約1.14 mg であつた。これは Reichert らの精製 pituitary FSH に比べて非常に不純であり、多数の夾雑物質が含まれているものと考えられる。ゲル内沈降反応と免疫電気泳動で示したように、未吸収抗 HMG 血清中には血清成分と尿成分に対する抗体が多数産生されており、HMG と少なくとも7本の沈降線を示した。吸収操作により NHS と CUP で順次吸収してゆくと、この NHS 及び CUP 吸収抗 HMG 血清は、もはや NHS とも、また CUP とも沈降反応を示さず、HMG と2本の、HCG と1本の沈降線を示すようになる。HCG との1本の沈降線は HMG との沈降線の内の1本と完全に融合しており、これは抗 HMG 血清中の抗 LH 抗体によるものと考えられる。次で、抗 LH 抗体を除くために、LH と抗原性を交叉する HCG で吸収してゆくと最後に HMG とのみ1本の沈降線を示し、もはや NHS、CUP 及び HCG とは全く沈降反応を示さない、吸収抗 HMG 血清を得ることができた。この吸収抗 HMG 血清で in vitro における FSH 活性中和実験を試みると第3表に示したように、FSH 活性のみを特異的に中和することが明らかとなつた。Mori¹⁰⁾は部分精製 HMG である urinary FSH を用いて、FSH の抗原性を検討し、crude 抗 FSH 血清を下垂体摘出患者尿蛋白と正常ヒト血清蛋白及び部分精製 LH で十分に吸収すると、この吸収抗 FSH 血清はゲル内沈降反応と免疫電気泳動で FSH preparation とのみ1本の沈降線を示し、また complement fixation test と FSH 活性中和実験で FSH に特異性を示したと報告している。Tamada et al.⁹⁾も HMG preparation である urinary FSH を用いて FSH の抗原性を検討

し、crude な抗 FSH 血清を3歳以下の小児尿蛋白及び HCG で吸収すると、この吸収抗 FSH 血清は Latex agglutination inhibition test で FSH preparation のみに特異性を示し、また FSH 活性中和実験 (in vivo 及び in vitro) でも FSH に specificity を示したと報告している。いずれにしても、crude な FSH 抗原を用いて抗 FSH 血清を作製し、これを吸収操作によつて FSH に特異的な抗血清とするのであるが、はたして、この FSH 特異抗血清を用いて FSH の免疫学的測定が可能であるか否かを二重抗体法による radioimmunoassay system で検討したところ、第5図及び第6図に示したように、FSH preparation によつて特異的な inhibition curve を得ることができたが、ヨード化に使用した FSH 抗原があまりにも不純であつたために precipitate のカウント数が上清のカウント数に比べて非常に少く (maximal precipitate 7%)、そのために誤差が大きくなり、実際に FSH の定量をするには不適当であつた。したがつて、より純度の高い FSH preparation をヨード化抗原として使用する必要がある。Midgley¹¹⁾、Faiman^{12,13)}、Aono¹⁴⁾らは精製 pituitary FSH をヨード化抗原として用いて、FSH の radioimmunoassay に成功しているが、著者らも精製 FSH を得ることができた時には、この吸収抗 HMG 血清を用いて充分 radioimmunoassay も可能であると考えている。現在 crude HMG preparation より radioimmunoassay のヨード化抗原として用いる FSH を分離精製し、radioimmunoassay の使用を検討中である。

5. 結 語

HMG preparation である Pergonal (FSH 75 IU, LH 75 IU) を用いて抗 HMG 家兔血清を作り、これを小児尿蛋白、ヒト血清蛋白及び HCG で順次吸収してゆき、最後に HMG とのみ1本の沈降線を示す吸収抗 HMG 血清を得ることができた。この吸収抗 HMG 血清は FSH 活性のみを特異的に中和する能力を有しており、HCG 活性 (LH 活性と同じ生物作用を有すと考えられている) には全く影響がなかつた。この FSH 特異抗血清を用いて FSH-radioimmunoassay を検討したが、ヨード化に用いた抗原 FSH があまりにも不純であるため、maximal precipitate が7%しか得られず、FSH の定量のためには、更に精製した FSH 抗原を用いる必要がある。

謝 辞

御指導をいただいた足立春雄教授に深謝し、Pergonal の提供をうけた東洋醸造 K.K. に感謝の意を表する。

文 献

- 1) Wide, L. and C. A. Gemzell. *Acta Endocr.* 35, 261 (1960).
- 2) Wilde, C.E., H.A. Orr and K.D. Bagshawe. *Nature* 205 : 191 (1966).
- 3) Midgley, A. R. Jr. : *Endocr.* 79 : 10 (1966).
- 4) Bagshawe, K.D., C.E. Wilde, and H.A. Orr. *Lancet* 1 : 1118 (1966).
- 5) Odell, W.D., G.T. Roos and L.P. Rayford. *Metabolism* 15 : 287 (1966).
- 6) Midgley, A. R. Jr. and R. B. Jaffe. *J. Clin. Endocr.* 26 : 1375 (1966).
- 7) Saxena, B. B. and Philip. H. Henneman. *J. Clin. Endocr.* 24 : 1271 (1964).
- 8) Tamada, T., Michael Soper and Melvin L. Taymor. *J. Clin. Endocr.* 27 : 379 (1967).
- 9) Melvin L. Taymor, T. Tamada, M. Sopor and W. F. Blatt. *J. Clin. Endocr.* 27 : 709 (1967).
- 10) Mori, K. F. *Endocr.* 81 : 1241 (1967).
- 11) Midgley, A. R. J. *J. Clin. Endocr.* 27 : 295 (1967).
- 12) Faiman, C. and R. T. Ryan. *J. Clin. Endocr.* 27 : 444 (1967).
- 13) Faiman, C. and R. T. Ryan. *J. Clin. Endocr.* 27 : 1711 (1967).
- 14) Aono, T. and Melvin L. Taymor. *A. J. Obst. & Gynec.* 100 : 110 (1968).
- 15) 磯島晋三, 他 : 日内泌誌, 43 : 1097 (1968).
- 16) 磯島晋三, 他 : 産婦の世界, 20 : 193 (1968).
- 17) 磯島晋三, 他 : 日内泌誌, 45 : 595 (1969).
- 18) 磯島晋三, 他 : 日内泌誌, 45 : 1635 (1970).
- 19) Ouchterlony, O. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 26 : 507 (1949).
- 20) Scheidegger, J. J. *Intern. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 7 : 103 (1955).
- 21) Steelman, S. and F. M. Pohley. *Endocr.* 53 : 604 (1953).
- 22) Greenwood, F. G., W. M. Hunter and J. S. Glover. *Biochem. J.* 89 : 114 (1963).
- 23) Reichert, L. E., Ralph, H. Kathan and Robert J. Ryan. *Endocr.* 82 : 109 (1968).

Preparation of anti-FSH specific serum and trial application of the serum to FSH radioimmunoassay

Kohji Kouyama, Chiharu Tanaka and Shinzo Isojima

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Tokushima University, Tokushima, Japan.

(Director: Haruo Adachi).

Anti-HMG sera were prepared by injecting rab-

bits with partially purified HMG (Pergonal 500 TM: FSH 75 IU, LH 75 IU). The antiserum was absorbed stepwisely with normal human serum (NHS) and child urine protein (CUP), and further absorbed with HCG in order to remove nonspecific antibodies and anti-LH. After complete absorption, the antiserum showed only a single band to HMG preparation but no bands to NHS, CUP and HCG by agar gel diffusion test and microimmunoelectrophoresis. The absorbed antiserum neutralized only FSH activities by the ovarian augmentation reaction but did not LH activities. From these results, the absorbed anti-

HMG serum seemed to contain only the specific antiserum to FSH, and was applied to FSH radioimmunoassay.

Pergonal was used as labeled antigen, and FSH standard assay curve was made. The sensitivity of assay was 5 mIU/ml. The maximal per cent radioactivity in precipitate showed only 7% because the labeled antigen was too crude, therefore this antiserum could not be used for radioimmunoassay by its low accuracy. If further purified FSH preparation could be used as the labeled antigen, FSH radioimmunoassay could be possible by using this absorbed anti-HMG serum.

月経周期異常の精神身体医学的研究

とくに無排卵，無月経における自律神経失調について

Psychosomatic Studies on Menstrual Disorders
with Special Reference to Autonomic Nervous Disorders

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室（主任：野嶽幸雄教授）

村田高明

Takaaki MURATA

Department of Obstetrics and Gynecology School of Medicine, Keio University
(Director Professor Yukio Notake)

性機能が外界の変化および精神的変動によつて影響を受けることは臨床的経験から推定できる。これ等によつて起る反応形式は個人差，心理的背景，生活環境等によつて異なることは当然考えられる。そこで，著者は無排卵，無月経患者を研究対象とし情動障害の検索，自律神経失調症状の把握，自律神経機能検査および内分泌機能検査を用いて総合的な検討を試みた。その結果，月経周期異常度の高じるに従い，情動障害が強まり，自律神経失調症状の愁訴率の増加，MT におけるN型の稍々増加と MI 値の低下，自律神経失調症型が幾分減じ，PSD 型の増加が認められた。内分泌動態では17-KS, 17-OHCS は全般的に高値であり，estrogens は略々正常範囲内，pregnanediol は低値，total gonadotropin は正常範囲内にあつた。排卵誘発療法施行後および排卵誘発成功後の検索では情動障害が減じ，自律神経失調症状愁訴率の低下と MI の低値から高値への移行が認められた。

はじめに

性機能が外界の変化および精神的変動によつて影響を受けることは種々なる臨床的経験から推定できるところであるが，Marshall¹⁾が外部環境と生殖機能との間に密接な関係のあることを強調し，特に食餌，気温，光，群棲等の環境因子が動物の性周期を条件づける重要なものであることに注目している。性周期に対する stress の時期による影響については，排卵前の卵胞期の stress は排卵を抑制し，周期の変動を来たし，排卵後に加えられた stress は性周期におよぼす影響は少ないとされている。標的臓器の感受性も stress を受けとる側の感受性によつてその反応形式は異なってくることは当然と考えられる。mouse の性周期における stress の影響でも連続発情，あるいは連続静止への反応の仕方は異なっている²⁾。

婦人にみられる心理的不安・生活環境の変化等の外因

にしても，その反応の形式は個々の個人差，心理的背景等によつても異なり，男性に較べより感情の易変性が高いばかりでなく，月経，妊娠，分娩，閉経等の内分泌環境の変動がみられ，これらに伴つて情動の変化がついには自律神経機能の失調をも生ずると考えられる。

月経周期異常患者の治療を行うには，その基本である間脳，下垂体，卵巣系の円滑な調整を促し，個々の hormone を十分に分泌させることが重要であるが，それにはこの系におよぼす諸種の影響について検討しなくてはならない。そこで，これ等の諸種の影響の内でも，心理的・精神的要因と身体的要因との両側面について究明し，心身相関の立場から情動障害，自律神経失調症状，自律神経機能および内分泌機能との関連について検討を試みてみた。

研究対象と検査方法

昭和37年4月から昭和42年3月迄の慶大病院産婦人科

外来患者で続発性月経周期異常を訴えたものの内、散発性無排卵症32名、持続性無排卵症 153名、第一度無月経症 149名および第二度無月経症 106名、総計 440名を対象とした。

情動障害の検索には客観的に、しかも簡便に行い得る質問紙に記入させることによつて心身両面にわたる自覚症状を把握できる健康調査表 Cornell Medical Index (深町³⁾および阿部⁴変法による、以下 CMI) による分類と、自律神経失調症状の検索には CMI の身体的愁訴項目について検討を行った。自律神経機能検査には Mecholyl chloride を注射した後の血圧下降の回復の様相から自律神経中枢たる間脳機能状態を推定する Mecholyl Test (諏訪法⁵)による、以下 MT) を用いて Me-

cholyl Index⁶⁾ (以下 MI) を算出した。尿中 hormone 排泄状態については 17-KS は Director 神戸川変法⁷⁾, 17-OHCS は Glenn Nelson 神戸川変法⁸⁾, estrogens は Brown 神戸川変法⁹⁾, pregnanediol は Klopffer 神戸川変法¹⁰⁾, total gonadotropin は Brabbury 松島変法¹¹⁾により夫々検索を行った。

研究検査成績

(1) CMI による検査成績 第一表に示した如く、情動障害といわれるⅢ領域(所謂神経症的傾向)およびⅣ領域(神経症)の占める頻度率は平均27.9%, 対照14.0%で月経周期異常度が進むに従い頻度率は高かつた。自律神経失調症状である身体的愁訴, A~L区分の愁訴数

第1表 CMI の分布

領域	I	II	III	IV	計	III・IV	A~L	C・I・J	V
散発性無排卵症	14 (43.8%)	12 (37.5%)	5 (15.6%)	1 (3.1%)	32	6 (18.7%)	21.2	4.2	6.1
持続性無排卵症	51 (33.3%)	62 (40.5%)	31 (20.3%)	9 (5.9%)	153	40 (26.2%)	23.6	4.5	6.4
第一度無月経症	51 (34.2%)	49 (32.9%)	36 (24.2%)	13 (8.7%)	149	49 (32.9%)	21.9	4.3	6.5
第二度無月経症	30 (28.3%)	41 (38.7%)	24 (22.6%)	11 (10.4%)	106	35 (33.0%)	26.9	5.5	8.6
計	146 (34.0%)	164 (38.1%)	96 (22.3%)	34 (5.6%)	440	130 (27.9%)	23.6	4.6	6.9
治療後	64 (45.4%)	47 (33.3%)	24 (17.0%)	6 (4.3%)	141	30 (21.3%)	17.6	2.8	5.0
排卵誘発成功後	61 (54.9%)	31 (27.9%)	18 (16.2%)	1 (1.0%)	111	19 (17.2%)	17.2	2.7	4.8
対照(某銀行)	1,508 (48.8%)	1,151 (37.2%)	393 (12.7%)	40 (1.3%)	3,092	433 (14.0%)	17.0	3.2	5.8
対照(不妊患者)	38 (38.0%)	38 (38.0%)	16 (16.0%)	8 (8.0%)	100	24 (24.0%)	22.7	4.4	7.7

第2表 CMI の各区分の頻度 (%)

区分	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
	目と耳	呼吸器	心臓循環器	消化器	骨格筋肉	皮膚	神経	泌尿生殖器	疲労感	既往症	その他の疾患	生活習慣
散発性無排卵症	55.2	79.4	58.7	89.8	58.7	51.7	41.4	82.8	55.2	34.5	69.0	51.7
持続性無排卵症	69.6	77.8	66.7	93.5	31.4	63.9	58.2	77.2	54.3	33.4	75.4	71.3
第一度無月経症	54.5	84.9	67.0	96.5	67.9	61.5	66.0	87.5	58.0	45.5	78.5	71.4
第二度無月経症	54.2	86.0	76.1	94.5	69.1	73.8	86.0	69.4	57.0	67.2	90.3	69.4
計	59.2	81.9	68.2	94.2	55.1	64.2	65.7	83.2	56.4	40.9	79.3	69.2
治療後	47.1	91.4	57.0	91.9	64.1	52.1	52.1	72.9	46.5	26.1	28.7	64.1
排卵誘発成功後	36.1	71.2	53.2	89.2	58.6	54.1	51.3	68.3	43.4	27.9	29.8	62.1
対照(某銀行)	42.2	67.2	49.2	93.4	34.4	35.2	50.8	64.8	44.4	26.2	58.7	63.9
対照(不妊患者)	56.0	81.0	70.0	98.0	69.0	48.0	53.0	86.0	59.0	31.0	82.0	67.0

第3表 V項目の頻度率

番号	項目	散発性 無排卵	持続性 無排卵	第一度 無月経	第二度 無月経	計	治療後	排 卵 成 功 後	対 照 (某 銀 行)	対 照 (不 妊 患 者)
9	いつも耳鳴りがする	0	6.7	5.4	6.9	5.6	2.4	2.7	0	5.0
21	喘息がある	0	1.9	0.9	0	0.9	0.8	0	0	1.0
24	ひどく寝汗をかくことがある	3.3	5.7	9.0	4.1	6.3	5.5	0	6.2	8.0
30'	胸か心臓の所がしめつけられるような感じがある	10.0	1.0	6.2	6.9	5.0	0	0	4.9	14.0
30''	胸か心臓の所がおさえつけられるような感じがある	0	1.9	3.5	4.1	2.8	0	0	3.3	11.0
31	動悸がうつつて気になることがよくある	16.5	17.3	21.6	24.6	19.7	15.5	13.5	6.6	22.0
32	心臓が狂つたように早くうつことがある	6.7	7.6	8.0	9.6	8.1	5.5	5.4	4.9	6.0
32'	時々脈が狂うことがある	10.0	6.7	9.8	9.6	8.8	5.6	4.5	3.0	4.0
33	よく息苦しくなることがある	10.0	13.3	15.2	20.6	15.2	7.1	9.0	4.9	14.0
34	人より息切れしやすい	23.3	22.8	23.4	31.5	25.0	10.7	18.0	13.2	28.0
35	時々坐つていても息切れすることがある	0	1.0	3.5	2.7	2.2	0.8	0	0	1.0
37	夏でも手足が冷える	30.0	30.0	33.0	27.4	33.2	24.7	23.4	8.2	29.0
37''	手足の先が紫色になることがある	3.3	4.8	7.2	9.6	6.6	0.8	0	9.4	12.0
45	いつも食欲がない	0	5.7	3.5	0	3.1	0.8	2.7	1.6	3.0
48'	嘔気があつたり吐いたりする	23.3	20.0	18.7	31.5	22.5	13.9	14.8	8.2	17.0
51	胃の具合が悪くてひどく気になることがある	13.3	26.6	20.5	24.6	22.8	18.3	17.2	13.2	22.0
52	消化が悪くて困る	6.7	7.6	13.4	15.1	11.1	12.9	18.0	9.8	15.0
54	いつも胃の具合がわるい	13.3	14.3	15.2	12.3	14.1	11.2	10.8	8.2	15.0
56'	食事の後か、空腹時に胃が痛む	13.3	12.4	12.5	21.9	14.7	9.2	9.9	9.8	17.0
57	よく下痢をする	10.0	14.3	19.8	13.7	15.6	12.0	12.6	13.2	15.0
60	よく便秘をする	23.3	28.6	17.8	31.5	29.1	35.9	26.1	16.4	38.0
67'	肩や首筋がこる	46.8	56.2	56.2	58.9	55.9	50.0	44.1	24.6	65.0
69'	足がだるい	16.5	18.2	23.4	31.5	22.8	24.9	19.8	6.6	38.0
69''	腕がだるい	0	1.0	9.0	4.1	4.4	0	0	0	8.0
72	ひふが敏感でまけやすい	30.0	28.6	31.2	32.9	30.7	30.3	34.2	13.2	31.0
74	顔がひどく赤くなることがある	16.5	26.7	9.8	31.5	20.9	14.1	15.3	21.8	29.0
75	冬でもひどく汗をかく	6.7	2.9	4.5	46.6	13.8	3.9	2.7	1.6	5.0
77	よく皮膚に尋麻疹が出る	6.7	12.4	13.4	9.6	11.6	11.2	11.7	6.8	9.0
79	よくひどい頭痛がする	16.5	18.2	26.8	16.5	20.7	18.3	9.0	8.2	20.0
80	いつも頭が重かつたり痛んだりする為気がふさぐ	6.7	15.2	20.5	16.5	15.9	13.4	13.5	9.8	13.0
82	急に体があつくなつたり冷たくなつたりする	10.0	22.8	17.8	17.8	18.9	12.9	9.0	3.8	5.0
83	度々ひどい目まいがする	3.3	19.1	9.8	16.5	13.4	9.9	10.8	9.8	17.0
85	今迄2回以上気を失つたことがある	6.7	6.7	3.5	10.9	6.6	6.4	2.7	5.3	7.0
86	体のどこかにしびれや痛みがある	6.7	8.6	11.6	16.5	11.1	3.2	1.8	6.6	14.0
89''	手足がふるえることがある	10.0	7.6	9.0	9.6	8.8	0.8	0.9	4.5	6.0
108	疲れてぐつたりすることがよくある	40.0	44.8	48.2	49.3	46.6	35.9	31.5	35.6	48.0
108''	特に夏になるとひどく体がだるい	16.5	14.3	19.6	24.7	15.6	0.8	0	23.9	43.0
109	仕事をすると疲れ切つてしまう	20.0	22.8	20.5	28.9	23.2	16.2	18.0	14.7	19.0
110	朝起きるといつも疲れ切つている	6.7	9.6	9.0	12.3	10.0	7.1	7.2	6.2	8.0
111	一寸仕事をただけで疲れる	6.7	14.3	9.8	23.3	14.7	12.0	11.7	3.3	14.0
123''	気候の変化によつて体の調子が変わる	10.0	5.7	9.8	6.9	7.8	0	0	15.1	20.0
138''	特異体質と医者にいわれた	3.3	1.9	8.0	5.5	3.8	0	0	4.9	10.0
138'''	乗物に酔う	16.5	8.6	19.6	23.3	16.6	0.8	0	29.5	41.0

は平均23.6, 対照17.0であり, 深町³⁾がいう愁訴の多い3区分, 即ち CIJ 区分の愁訴数は平均 4.6, 対照 3.2で, 阿部の自律神経失調指数⁴⁾(以下V)は平均 6.9, 対照 5.8であり, 各区分およびVの各項目別の頻度率は第二表および第三表に示した如くで, A~L区分の内では DHBKLCGFAIEJ の順位に 愁訴率が 高く認められた.

(2) MT²⁾による自律神経機能検査 第四表の如く周期異常患者の59.2%にP型, N型は25.5%, S型は15.3%に認められ, 無排卵症(以下症を省略)に比較し, 無月経にはP型が少々少く, 無月経のN型は幾分増していた. 平均 MI²⁾を算出してみると周期異常度の進むにつれ低下が認められた. 対照としての規則性月経周期の各期における MT 分布は, P型の占める率は月経期に最

も多く, N型は排卵期, S型は黄体期に多かつた. 縦軸に MI をとり夫々の MI 値を plot すると二棘性の変動波がみられ, 即ち月経期ではP型に, 卵胞期はP型に近いN型, 排卵期ではP型に, 黄体期はS型に近いN型, 月経前期ではP型に近いN型を示した.

(3) CMI と MT による病型分類 阿部⁴⁾の自律神経失調症の分類に習い月経周期異常患者を分けると, 第五表の如く自律神経失調症型(以下 Au 型)は平均48.1%の頻度に存し, PSD 型(以下 Ps 型)は平均28.5%であった. 周期異常度が進むに従い Au 型が幾分減少する傾向がみられ, Ps 型は増加する傾向がみられた.

(4) 尿中 hormone 排泄状態 散発性無排卵は被験例が少々除外したが, 17-KS は第六表の如く, 17-OHCS は第七表の如くその平均値は総じて高値を示すものが多

第 4 表 Mecholyl Test による分類

MT分類	P	N	S	計	平均 MI
周期異常					
散発性無排卵症	23 (71.9%)	5 (15.6%)	4 (12.5%)	36	0.844
持続性無排卵症	68 (58.3%)	29 (26.1%)	8 (15.7%)	115	0.740
第一度無月経症	66 (54.5%)	33 (27.3%)	22 (18.2%)	121	0.727
第二度無月経症	48 (61.6%)	21 (26.9%)	9 (11.5%)	78	0.731
計	205 (59.2%)	88 (25.5%)	53 (15.3%)	346	0.743

$$MI = P < 0.847 < N < 1.300 > S$$

第 5 表 Mecholyl Test, CMI による病型分類

型分類	自律神経失調症型	PSD 型	神経症型	心理・自律神経的正常	計
周期異常					
散発性無排卵症	17 (53.1%)	7 (21.9%)	4 (12.5%)	4 (12.5%)	32
持続性無排卵症	54 (52.5%)	23 (22.3%)	9 (8.7%)	17 (16.5%)	103
第一度無月経症	50 (46.3%)	37 (34.3%)	12 (11.1%)	9 (8.3%)	108
第二度無月経症	29 (42.0%)	22 (31.9%)	6 (8.7%)	12 (17.4%)	69
計	150 (48.1%)	89 (28.5%)	31 (9.9%)	42 (13.5%)	312
対照(不妊患者)	54 (54.0%)	21 (21.0%)	6 (6.0%)	19 (19.0%)	100

第 6 表 尿中 17-KS 排泄状態

分類	P	N	S	自律神経失調症型	PSD 型	神経症型	心理・自律神経的正常
周期異常							
散発性無排卵症	11.20(1)					11.20(1)	
持続性無排卵症	5.31(28)	7.55(17)	4.05(5)	5.23(25)	5.76(11)	6.41(6)	8.96(8)
第一度無月経症	7.33(38)	7.20(19)	6.91(15)	7.44(34)	6.72(17)	6.92(5)	6.39(6)
第二度無月経症	5.80(28)	5.42(8)	8.46(7)	6.16(22)	6.52(8)	5.34(4)	5.75(5)
計	6.32(95)	7.01(44)	6.78(27)	6.41(81)	6.38(36)	6.60(16)	7.30(19)

() 症例数, 正常範囲 3~5mg

く, estrogens は第八表の如く略々正常範囲内にあり, 傾向をみ, total gonadotropin については第十表の如く
pregnenediol は第九表の如く当然のことながら低値の 稍々低値から略々正常範囲内にあつた。

第7表 尿中 17-OHCS 排泄状態

分類	P	N	S	自律神経失調症型	PSD 型	神経症型	心理・自律神経的正常
周期異常							
散発性無排卵症	2.97(1)					2.97(1)	
持続性無排卵症	3.00(30)	3.36(15)	2.88(4)	3.26(25)	2.47(11)	2.75(6)	3.50(8)
第一度無月経症	4.20(37)	3.32(18)	3.19(18)	4.27(33)	3.47(17)	2.44(4)	3.24(6)
第二度無月経症	3.10(27)	2.89(8)	4.78(8)	3.54(22)	3.63(8)	3.20(4)	2.48(5)
計	3.49(95)	3.25(41)	3.58(30)	3.75(80)	3.20(36)	2.80(15)	3.14(19)

() 症例数, 正常範囲 0.7~2.5mg

第8表 尿中 estrogens 排泄状態

分類	P	N	S	自律神経失調症型	PSD 型	神経症型	心理・自律神経的正常
周期異常							
散発性無排卵症	53.20(1)					53.20(1)	
持続性無排卵症	28.09(32)	25.50(16)	24.59(4)	26.86(25)	31.08(11)	22.32(6)	30.58(8)
第一度無月経症	37.71(35)	38.01(12)	23.12(12)	32.82(35)	33.85(12)	55.85(4)	26.91(5)
第二度無月経症	29.79(25)	68.55(6)	54.02(7)	37.28(21)	33.23(8)	15.08(3)	79.64(5)
計	32.44(93)	37.51(34)	32.78(23)	32.14(81)	32.70(31)	32.56(14)	43.18(18)

() 症例数, 正常範囲 5~30 μ g

第9表 尿中 pregnenediol 排泄状態

分類	P	N	S	自律神経失調症型	PSD 型	神経症型	心理・自律神経的正常
周期異常							
散発性無排卵症	0.32(1)					0.32(1)	
持続性無排卵症	0.70(30)	0.80(17)	0.60(5)	0.74(24)	0.74(11)	0.40(2)	0.79(8)
第一度無月経症	0.72(35)	1.10(15)	0.53(11)	0.70(35)	0.64(12)	1.29(4)	0.74(5)
第二度無月経症	0.50(23)	0.33(6)	0.81(7)	0.60(20)	0.56(8)	0.33(3)	0.67(5)
計	0.65(89)	0.84(38)	0.67(23)	0.69(79)	0.65(31)	0.64(14)	0.74(18)

() 症例数, 正常範囲, 卵胞期 0.5~1.2mg, 黄体期 1.4~3.0mg

第10表 尿中 total gonadotropin 排泄状態

分類	P	N	S	自律神経失調症型	PSD 型	神経症型	心理・自律神経的正常
周期異常							
散発性無排卵症	16.0(1)					16.0(1)	
持続性無排卵症	21.3(32)	12.5(15)	12.0(5)	17.0(24)	11.8(11)	18.0(6)	10.5(8)
第一度無月経症	14.6(34)	13.9(15)	18.6(14)	15.8(35)	19.3(12)	15.0(4)	10.4(5)
第二度無月経症	15.9(27)	12.0(6)	12.6(7)	18.6(21)	12.4(9)	10.7(3)	11.2(5)
計	17.3(94)	13.0(36)	15.7(26)	16.9(80)	18.3(32)	15.4(14)	10.7(18)

() 症例数, 正常範囲 4~16u.

総 括

1) 精神身体医学的背景 臨床上疾患を取扱う際にはその疾患に関与すると思われる種々なる因子—心理的精神的要因, 身体的要因の程度を配慮しながら, 全体的に, 総合的に考慮されるのが望ましいといわれている¹²⁾. 内分泌疾患に伴う精神的症状についての報告は myxedema についての精神障害が屢々認められることから端を発したといわれ, 殆ど全ての内分泌疾患に精神症状が随伴し, 各種の精神障害が月経周期と密接な関連をもつて変動していることが証明され, 内分泌機能と精神機能とは相互に密接な関連を持つていることが判明している¹³⁾. Klinefelter¹⁴⁾, Whitacre¹⁵⁾, Fairmann¹⁶⁾, Rakoff¹⁷⁾, Theobald¹⁸⁾等によつて報告されている如く, 婦人に特有な月経, 妊娠, 分娩, 授乳, 閉経等の内分泌環境の変動とこれらに伴つて起る情動の変化が, 更にはこれ等と密接な関連のある自律神経系にも変化をもたらしているといわれている. 産婦人科領域における現在迄の報告は主として個々の症例あるいは少数の症例についてのみであつた. そこで著者は無排卵, 無月経患者を研究対象として情動障害の検索としての心理検査, 自律神経失調症状愁訴の把握, 自律神経機能検査および内分泌機能検査を用いて総合的な検討を試みた.

2) 情動障害と自律神経失調症状の検索 客観的な診断法としての質問紙法による心理検査法に表われる情動障害の把握と身体的自覚症状の愁訴に着目し, 深町⁹⁾および阿部⁴⁾による CMI を用いて検索した. 月経周期異常の内, 続発性無排卵および無月経を対象として検索してみると情動障害である CMI のⅢ領域およびⅣ領域は周期異常度の重症化するに従ひ頻度率を増し, 散発性無排卵では 18.7%, 持続性無排卵では 26.2%, 第一度無月経では 32.9%, 第二度無月経では 33.0%, 平均 27.9% で対照 14.0% の約 2 倍の頻度率であつた. 深町⁹⁾は心理正常者の 30% はⅢ・Ⅳ領域に属し, 神経症のそれは 72% であつたと報じ, 小此木等²⁰⁾は神経症患者の 75% はⅢ・Ⅳ領域に属し, 青山²¹⁾および安藤²²⁾は正常対照群のⅢ・Ⅳ領域は夫々 12.5%, 20.5% であつたと報じ, 長谷川²³⁾は心因性無排卵月経患者のⅢ・Ⅳ領域は 71% で, 心因性無月経患者では 48% であつたと述べている. 身体的愁訴である A~L 区分の愁訴数は夫々散発性無排卵 21.2, 持続性無排卵 23.6, 第一度無月経 21.9, 第二度無月経 26.9, 平均 23.6 で対照 17.0 に比較し数項目の訴えを多くしている. 無排卵では散発性よりは持続性に, 無月経では第一度よりは第二度に訴え数をより増している. 深町⁹⁾がいう神経症患者の中で愁訴の多い区分, CIJ 区分については夫々, 4.2, 4.5, 4.3, 5.5, 平均 4.6, 対照 3.2 でも

同様にその愁訴数を増して居り, 阿部の V⁴⁾についても夫々 6.1, 6.4, 6.5, 8.6, 平均 6.9, 対照 5.8 で同様の傾向がみられて, 身体的愁訴は第二度無月経において最多の愁訴数をみている. 各区分について検索してみると月経異常患者の平均愁訴率と不妊患者のそれとが類似の傾向を有していることは興味深い. A 区分(目と耳)の頻度率は持続性無排卵において特に著しく多く, B 区分(呼吸器), C 区分(心臓循環器), D 区分(消化器), E 区分(骨格, 筋肉)の 4 区分とも無月経に多くみられ, F 区分(皮膚)および G 区分(神経)では共に第二度無月経に多く, H 区分(泌尿器, 生殖器)では第一度無月経に多く, I 区分(疲労感)では各周期異常群とも略々同程度であつたが, J 区分(既往症)では無月経に多く, 第二度において著明, L 区分(生活習慣)では散発性無排卵を除き他は略々同程度の頻度であつた. 各区分の頻度率のみによる順位は DHBKLCGFAIEJ であり, 対照集団との対比を考慮に入れなければならないが, しかし, 環境, 年齢等の条件が当然影響を及ぼすと考えられ, その対比は全体的な傾向を知る上での参考にするのみで, その頻度差の多少の評価の意味づけは難しいと考えられる. 対照と比較しその差の多いものの順位では FEKCHAIGBJLD であつた. 深町⁹⁾は神経症患者には CIJ に高い数値をみ, DE の区分では心理正常でもかなりの頻度に訴えがみられたと述べており, 小此木²⁴⁾はこの点について正常者といへども精神上必ず存在するもの故, 被検者のその病態にどれだけの意味をもつか評価することが重要であると述べ, 心理正常者との有意性順位は DBGLEIACHFJK の順であつたと報じている. 自律神経失調指数 V の頻度率の高い項目は 67', 108, 37, 72, 60, 34, 109, 51, 69', 48' であり, 対照との差の多い項目は 67', 37, 57, 72, 69', 82, 48', 31, 60, 79 であつた. 深町⁹⁾は A~H 区分の主として自律神経機能異常に基づく訴えは 67', 31, 33, 80, 34, 32, 48, 30, 84, 69' であり, 肩や首筋のこりが最多であるが, 心臓循環系の訴えが上位にあり, I~L 区分の疲労度や疾病に対する関心の度合や生活様式への訴えは 121, 139', 123, 108, 111, 117, 109, 122, 118 であつたと述べている. この他, 小此木²⁴⁾は神経症患者には 108, 121 の訴えが特徴的であると述べている.

3) 性周期と自律神経系との関連について 諸家の研究により, 視床下部諸神経核の性機能の支配調節の意義が疑いのないものとされている. 倉智²⁵⁾は刺戟実験により排卵を起し得た部分の全ては B 交感系領野及び B 交感神経線維系によつて連絡される部位に属し, Hohlweg Junkmann の所謂性中枢と一致し, その刺戟によつて家兎の全身性交感性反応が認められ, 実験的に

自律神経系と性機能調節とは密接であることを立証している²⁶⁾。卵巣に対する自律神経系の意義は大動脈神経叢や卵巣神経叢より副交感神経線維が第10胸髄節から卵巣神経叢を通じて交感神経線維が卵巣を支配し、卵巣の周期性変化がこれ等の神経路に上つて調節されている²⁷⁾。Kraul²⁸⁾は adrenalin で卵巣周期が停止し、pilocarpin で卵巣成熟を認めているが、しかし、倉智²⁹⁾は卵巣支配神経切断あるいは眼底内卵巣移植で排卵現象は阻止されず、剔垂家兎での視床下部刺激で排卵を起し得なかつた実験により、末梢では間接的自律神経作用特に血管運動系の影響が考慮されると結論づけている。著者等²⁾も実験的神経 stress により mouse の gonadotropin 感受性が低下し、自律神経遮断剤の投与によりその反応の改善されたことから、血行血流の変動が卵巣の gonadotropin 感受性に影響していると報告している。

4) 月経周期の自律神経系の律動について 基礎体温、基礎代謝を始め、蛋白、糖、脂質、水電解質代謝等の全般に所謂性器外周期性変化をもたらす、その結果、血液性状、免疫機転にも影響し、心血管、肺、肝、腎機能の上にも変動を示し、月経周期の各相に特徴を与えている²⁹⁾。著者は規則性月経周期の不妊患者に Mechoyl test による自律神経機能検査を施行し、MT 分布について月経期では P 型80%、N 型15%、S 型5%、平均 MI 0.753、卵胞期では夫々、70%、15%、15%、0.869、排卵期では夫々65%、35%、0%、0.699、黄体期では夫々55%、20%、25%、1.167、月経前期では夫々60%、30%、10%、0.894であり、MI の変動がみられ、月経期 P 型、卵胞期 P 型に近い N 型、排卵期 P 型、黄体期 S 型に近い N 型、月経前期 P 型に近い N 型を示した。坂倉³⁰⁾は adrenalin, pilocarpin, atropin により月経期および月経後期では副交感神経緊張あるいは不安状態で、交感神経緊張低下等の例も混在し、排卵後は月経前期に至る迄に、全植物神経、交感神経緊張亢進、または不安状態であつたと報じ、長沢³¹⁾は月経前緊張症患者について、MT により N 型は月経前期に最も少く、月経期、月経後期、中間期に増し、P 型は月経期に高率、S 型は月経前期に高率であつたと述べている。

5) 月経周期異常と薬効的自律神経機能について 著者は MT により検索し、P 型は59.2%、N 型は25.5%、S 型は15.3%で総計74.5%に機能失調を認め、無排卵に比較し無月経は P 型が少々減少し、逆に無月経の N 型が少々増加する傾向を認めた。各周期異常例では散発性無排卵では P 型は 71.9% で頻度高く、N 型は 15.6% で低く、持続性無排卵および無月経では P、N、S とも近似の頻度率であつた。また、平均 MI については周期異常度が高じるに従い低値への傾向がみられた。これは散

発性無排卵において P 型は MI-P 低値で、S 型は MI-S 低値を示し、持続性無排卵では P 型は MI-P 低値、S 型は MI-S 高値、第一度無月経では P 型は MI-P 低値、S 型は MI 少々 S 高値、第二度無月経では P 型 MI-P 低値、S 型は MI-S 高値を示し、しかもその平均 MI は P 型に存していることは後 3 周期異常群の MI 値ともばらつきの大であることを意味している。坂倉³⁰⁾は無排卵、無月経患者を adrenalin, pilocarpin, atropin で検索し、SP 型39.6%、S 型32.8%、P 型13.8%および N 型13.8%で86.2%に機能失調を認めており、松本³²⁾は MT で長期や原発性無月経例に P 型が多いと述べている。Artner³³⁾は続発性無月経患者の内、sympathische Hypertonie は 4.0% で少く、Parasympathikotonie 25.3%、parasympathische Hypertonie 64.0% が高率に見られ、また amphotone Spannungsstörung 6.7% のものもみられたと報告している。諏訪³⁴⁾は神経症の自律神経機能は正常範囲内に含まれるものが多いが、一般に分散度が大きいことを認めている。

6) MT と CMI との相関について P 型における CMI 分布は I 領域35.9%、II 領域39.1%、III 領域18.8%、IV 領域 6.2%、CIJ 区分 4.0、A~L 区分22.5、V 6.6であり、N 型においては夫々、36.4%、32.5%、19.5%、11.6%、4.9、24.1、7.9、また、S 型においては夫々49.0%、28.6%、18.3%、4.1%、4.1%、24.3、9.1であつた。III 領域は各型とも略々同様な頻度率であるが、IV 領域では N 型が多く、P および S 型はむしろ少ない傾向を示した。これは IV 領域には自律神経失調症状よりも神経症的傾向を有する症例の多いことを示している。V は S 型に多くをみ、そして CIJ 区分におけるよりも、他の区分の内の V に表わされる項目のものに愁訴を多くみる傾向が認められた。

MT および CMI による阿部⁴⁾の自律神経失調症の分類に準じた Au 型は散発性無排卵53.1%、持続性無排卵52.5%、第一度無月経46.3%、第二度無月経42.0%、平均48.1%、対照54.0%で周期異常の度が進むにつれ減少する傾向がみられ、また Ps 型では夫々21.9%、22.3%、34.3%、31.9%、平均28.5%、対照21.0%であり、逆に増加の傾向がみられた。阿部⁴⁾は不定愁訴患者では Au 型25%、Ps 型45%であり、田辺³⁵⁾は夫々17%、12%であつたと報告している。不妊患者においても月経周期異常患者と同様の傾向が見られるが、Au 型がより多く、Ps 型および神経症型は少かつた。

7) 月経周期と精神障害 鳩谷³⁶⁾は非定型周期性精神病について興奮錯乱状態や昏迷状態の際には無排卵性月経を繰返しており、山下³⁷⁾は抑うつ状態の際には無排卵性月経がみられたことを報告しているが、各種の精神障

害時にみられる無月経が精神症状の改善されるに従い月経が回復し、治療効果の指標の一つになり得るとも述べている。また各種の精神疾患の精神病像と月経周期とはかなり密接な関連で変動することが知られ、周期性精神病の治療に hormone 剤を用い効果を認めた報告¹³⁾もみられる。

8) 自律神経失調状態における内分泌動態について
MT による分類での17-KS では、P型 6.32 mg, N型 7.01 mg, S型 6.78 mg で P, S 型ともN型より低値であり、17-OHCS では夫々3.49 mg, 3.25 mg, 3.58 mg で P, S 型はN型に較べ高値であった。estrogens では夫々 32.44 μ g, 37.51 μ g, 32.78 μ g で略々正常範囲内であり、pregnanediol は夫々0.65mg, 0.84mg, 0.67mg で P, S 型とも低い傾向がみられ、total gonadotropin は夫々17.3 u, 13.0 u, 15.0 u で略々正常値から稍々低値であった。阿部の分類によるものでは17-KS は全般的に高値をみ、第一度無月経では Au 型が、第二度無月経では Ps 型が夫々高値であり、17-OHCS では同様に全般的に高値をみ、各周期異常とも Au 型が高値であり、第二度無月経では Ps 型でも高値が認められた。estrogens については異常高値をみたものもあるが略々正常

範囲内にあり、pregnanediol は低値、total gonadotropin では正常範囲内にあるものが大部分を占めていた。副腎皮質系との関係についての報告は、神経症では機能低下乃至正常範囲内、あるいは低下、亢進等まちまちである³⁸⁾。17-OHCS については血中、尿中とも増量しており³⁹⁾、諏訪⁴⁰⁾は不安神経症の女性の精神症状の悪化した期間は17-OHCS の著明な増加が認められたと報

第11表 自律神経・精神安定剤による
排卵誘発成績

薬 剤	投 与 周期数	排 卵 周期数	排 卵 率 (%)	投 与 人数	排 卵 人数	排 卵 率 (%)
Chlorpromazine	276	75	27.2	195	56	28.7
Thioridazine	231	45	19.5	179	35	16.6
Meprobamate	50	16	32.0	48	16	33.3
Diazepam	15	3	20.0	12	3	25.0
Chlordiazepoxide	45	13	38.9	30	12	40.0
Promethazine	92	12	13.0	68	9	13.2
Tropenzillium & Piperylon	101	23	22.8	82	19	23.5
Hyoscine-N- butylbromide	267	58	21.6	205	40	19.5
Dihydroergotamine	415	87	21.0	260	58	22.3
γ -Oryzanol	332	57	17.2	172	36	20.9

第12表 自律神経・精神安定剤による単独或いはホルモン併用療法の排卵誘発成績

治 療 法	周 期 別	投 与 周 期 数	排 卵 周 期	排 卵 率	投 与 人 数	排 卵 人 数	排 卵 率
単 独	散発性無排卵症	26	6	23.1%	24	6	25.0%
	持続性無排卵症	748	234	33.1	465	162	34.8
	第一度無月経症	707	123	17.4	487	95	19.5
	第二度無月経症	344	27	7.8	275	21	7.6
	計	1,825	389	21.3	1,251	284	22.7
ゴ ナ ド ト ロ ピ ン 併 用	散発性無排卵症	—	—	—	—	—	—
	持続性無排卵症	90	63	70.0% (36.4%)	81	57	70.4% (39.5%)
	第一度無月経症	78	54	69.2 (33.7)	66	48	72.7 (44.0)
	第二度無月経症	43	15	34.9 (15.6)	42	15	35.7 (25.0)
	計	211	132	62.1 (29.2)	191	120	62.9 (36.5%)
ブ レ マ リ ン 併 用 (衝 撃 か え り 連 続 法)	散発性無排卵症	23	15	65.4% (69.2%)	() 対照		
	持続性無排卵症	48	25	52.1 (50.0)			
	第一度無月経症	33	8	24.2 (33.3)			
	第二度無月経症	19	3	15.8 (7.1)			
	計	123	51	41.5 (39.7)			

告している。月経周期異常患者では全般的に高値がみられるが、Au型がその内でも稍々高めであることから副腎皮質系との関連も考慮されなければならない。estrogen と progestin については保崎⁴¹⁾はその比が重要であるとも述べている。Rakoff⁴²⁾は psychogenic anovulation の hormone pattern について simple hypogonadotropism 39%, low FSH 15%, normal FSH, low estrogens 10%, normal FSH, normal estrogens 18%, high FSH, low estrogens 18%であったと報告しており、坂倉⁴⁰⁾は estrogens は略々正常値であったとも述べている。松本³²⁾は環境性無月経患者は estrogens 及び gonadotropin は正常乃至低値で、17-KS と 17-OHCS は高値乃至正常値で、gonadotropin は低値であり、17-OHCS, 17-KS の高値を示すものが最も多かったと述べている。

9) 排卵誘発療法施行後および排卵誘発成功例における変動 CMI ではⅢ・Ⅳ領域の頻度は療法施行後21.3%、誘発成功例17.2%でその頻度率の減少が認められ、CIJ 区分では夫々 2.8, 2.7, A~L 区分では夫々 17.6, 17.2, Vでは夫々 5.0, 4.8, 各区分については B.E 区分を除き殆ど減少が認められ、B.E 区分についても誘発成功例では減少の傾向が認められた。MT では随伴症状の多いことから追試再検する困難性を有し、その為経過を追い得た症例は 4 例のみであり、誘発成功前後の MI の変動は 0.840→1.194, 0.729→1.400, 2.030→1.367, 0.692→0.840で MI の低値は高値への傾向がみられ、排卵後は N 型のむしろ高値乃至 S 型への移行が推測され、黄体期の MI が S 型側に移行するのと一致がみられた。

10) 自律神経剤及び精神安定剤による排卵誘発法、著者は月経周期異常患者には前述の如く、かなりの頻度で自律神経失調症状あるいは PSD 型的症状がみられることから諸種の自律神経剤および精神安定剤を用い、単独あるいは所謂 hormone 療法との併用による排卵誘発療法⁴²⁻⁴⁵⁾を試み第十一表および第十二表に示した如くの成績を挙げ報告して来た。

結 論

続発性無排卵及び無月経患者を対象として CMI, MT および hormone 動態を検討した。

1) Cornell Medical Index のⅢ・Ⅳ領域の占める頻度率、A~L 区分、CIJ 区分および V 指数は月経周期異常度の高じるに従い増加する傾向が認められた。

2) Mecholyl test では無排卵に比較し、無月経では P 型が少く、N 型が稍々増加の傾向が認められ、Mecholyl Index は月経周期異常度が高じるに従い低値を

認めた。

3) 月経周期異常度が重症化するに従い、自律神経失調症型は幾分減じ、PSD 型の増加する傾向が認められた。

4) hormone 動態については、17-KS および 17-OHCS は全般的に高値であり、estrogens は略々正常範囲内、pregnenediol は低値、total gonadotropin は正常範囲内にあつた。

5) 排卵誘発療法施行後および排卵誘発成功後の CMI のⅢおよびⅣ領域の頻度率、A~L 区分と CIJ 区分の愁訴数、V 指数は共に減少し、MI の N 型の高値乃至 S 型への移行がみられた。

6) 自律神経剤及び精神安定剤の単独療法あるいは hormone 療法との併用を試みかなりの率に排卵誘発に成功をみた。

本稿を終るに臨み、御指導、御校閲を戴きました野嶽幸雄教授、坂倉啓夫前教授、飯塚理八助教授に謹んで感謝いたします。また、御指導、御援助を戴きました北大精神科諏訪望教授、故慶大医化学安藤晴弘講師、慶大心身症センター岩淵庄之助博士、当教室渡辺光広博士、鈴木秋悦博士に感謝いたします。尚、本論文の一部は 1967 年国際心身医学、催眠医学会（於京都）および昭和 42 年度日産婦臨床大会で発表した。

文 献

- 1) Marshall, F. H. A.: Proc. Roy. Soc. B. 122, 413, 1937. (Harris, G. W. 脳下垂体の神経調節, 医歯薬出版, 昭 33. より引用)
- 2) 坂倉啓夫, 村田高明: 昭和 39 年文部省総合研究「胎生卵巣・成熟婦人卵巣並びに卵巣腫瘍の臨床的並びに基礎的研究」分担業績報告集
- 3) 深町建: 福岡医誌, 50: 2988, 昭 34.
- 4) 阿部達夫, 他: 自律神経失調症, 金原出版, 昭和 42.
- 5) 諏訪望: 精神神経学誌, 59: 2833, 昭 34.
- 6) 三浦敬一郎: 精神神経学誌, 69: 221, 昭 42.
- 7) 神戸川明: 昭和医誌, 20: 1, 1960.
- 8) 神戸川明: ホと臨, 11: 189, 1963.
- 9) 神戸川明: 日内分泌誌, 38: 807, 1961.
- 10) 神戸川明: ホと臨, 8: 964, 1961.
- 11) 松島早苗: ホと臨, 10: 169, 1962.
- 12) 池見西次郎: 最新医学, 17: 2043, 昭 37.
- 13) 本多裕: 病気の生化学, 秋元他編集, 9(Ⅱ), 中山書店, 1966.
- 14) Klinefelter, H. F. et al.: J. Clin. Endocrinol. 3: 529, 1943.
- 15) Whitacre, F. E. et al.: J. A. M. A. 124: 399, 1944.
- 16) Fairmann, S. E.: Akush, i. Ginek, 1: 36, 1945. (Abstract in Quart. Rev. Obst. Gyn. 5: 280, 1947)

- 17) Rakoff, A. E.: Fert. Steril 13: 1, 1962.
- 18) Theobald, G. W.: Brit. med. J. i, 1038, 1936.
- 19) 深町建: 福岡医誌, 50: 3001, 昭34.
- 20) 小此木啓吾, 他: 精身医, 5: 183, 1965.
- 21) 青山不二男: 鹿大医誌, 12: 210, 昭35.
- 22) 安藤一也, 他: 精身医, 6: 35, 1966.
- 23) 長谷川直義: 第20回日産婦学会宿題要旨, 昭43.
- 24) 小此木啓吾: 精身医, 5: 375, 1965.
- 25) 倉智敬一: 第17回日産婦学会宿題要旨, 昭40.
- 26) 倉智敬一: 産婦の治療, 12: 309, 1960.
- 27) 宇尾野公義: 自律神経, 5: 8, 1968.
- 28) Kraul, C.: Archiv. f. gynaekologie Bd 131: 601, 1927.
- 29) 松田正二: 第11回日産婦学会宿題要旨, 昭34.
- 30) 坂倉啓夫: 第13回日産婦学会宿題要旨, 昭36.
- 31) 長沢潤, 他: 最新医学, 19: 1554, 昭39.
- 32) 松本清一: 月経とその異常, 医学の世界社, 昭37.
- 33) Artner, J.: Wiener Med. Wschr. Nr 17/18: 380, 1965.
- 34) 諏訪望: 日本の医学の1959年V. 1959.
- 35) 田辺久雄: 日本医事新報, 2209: 21, 昭41.
- 36) 鳩谷竜: 精神神経学誌, 64: 29, 昭37.
- 37) 山下格, 他: 精神医学, 3: 1029, 1961.
- 38) 池見西次郎, 他: 病気の生化学, 秋元他編集, 9(II). 中山書店, 1966.
- 39) Levi, L.: Acta Endocrinol 37: 38, 1961.
- 40) 諏訪望, 他: 医学のあゆみ, 32: 1, 昭35.
- 41) 保崎秀夫: 日本精神医学全書, 秋元他編集, 4(II). 金原出版, 昭42.
- 42) 坂倉啓夫, 村田高明, 他: 産婦の治療, 6: 479, 1963.
- 43) 飯塚理八, 村田高明: 産婦の実際, 15: 1093, 1963.
- 44) 坂倉啓夫, 村田高明, 他: 産婦の治療, 14: 507, 1967.
- 45) 村田高明: プレマリンシンポジウム集(II). 1967.

Psychosomatic Studies on Menstrual Disorders with Special Reference to Autonomic Nervous Disorders

Takaaki Murata

Department of Obstetrics and Gynecology
School of Medicine, Keio University
(Director Professor Yukio Notake)

Cornell Medical Index, Mecholyl test and hormone excretion tests were applied to secondary

anovulatory and amenorrhea subjects based on the psychosomatic aspects, with reference to the autonomic nervous disorders.

The conclusions are as follows:

In the CMI test, the III and IV regions were found about 27.9% of the subjects.

The figures were found to have tendencies to increase in proportion as the degree of menstrual disorder rises.

In the mecholyl test for autonomic nervous functions, Type P was found about 59.2% of the subjects, Type N about 25.5% and Type S about 15.3% respectively. The percentage of Type P for the amenorrhea subjects was lower than that for the anovulatory subjects and the percentage of Type N for the former was a little higher than that of the latter.

The result of classification by Abe system based on psychological tests and autonomic nervous function tests was that the autonomic nervous disorder type 48.1% and the P.S.D. type 28.5% respectively. As menstrual disorder became more serious the autonomic nervous disorder type decreased and P.S.D. type increased.

As for the hormone pattern, 17-KS values were generally high, while 17-OHCS values also high and especially remarkable for the autonomic nervous disorder type, estrogens being in the range of normal values, pregnanediol showing low values and total gonadotropin being in the range of normal values.

In the CMI test applied after giving ovulation treatments and succeeding in ovulation induction, the percentages of the III and IV regions decreased, and the numbers of complaints were showing decreases. In the MT, a tendency was presumed of the mecholyl index to concentrate on the range of Type N.

Therefore, it seemed to be necessary to take into account the psychosomatic consideration in the induction therapy of ovulation in menstrual disorders, and at first, to be carried out the above-mentioned examination and then administered drugs for autonomic nerve or tranquilizers. The administration of these drugs alone could have caused the induction of ovulation to some degree. The patients who did not show any therapeutic effects by the drugs received further administration of these drugs or received treatment with the hormone therapy.

^3H -6-Dehydro-retro-progesterone 投与後の 組織内放射活性の測定

The Study of the Radioactivity in the Tissues of Rats after
Administration of ^3H -6-Dehydro-retro-progesterone

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 (主任: 野嶽幸雄教授)

大 西 武 夫

Takeo ONISHI

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

^3H で標識した 6-Dehydro-retro-progesterone (^3H - $\Delta^6\text{RP}$) を去勢雌ラットに投与し、その組織内放射活性を経口投与後24時間及び静脈内投与後1時間を中心に測定した。

1) 経口投与後の ^3H - $\Delta^6\text{RP}$ の吸収排泄は非常に速やかに行われ、投与放射活性の24%が尿中に24時間以内に排泄され、糞便中には9%が排泄された。また、組織内放射活性はかなり低かつたが、肝及び腎には比較的高い放射活性が認められた。

2) 静脈内投与後の血中濃度は急激に下降し、尿中排泄量は逆に急激に上昇した。組織内放射活性は肝、腎、副腎、下垂体及び視床下部に高く、子宮、膈などは低かつた。また、下垂体及び視床下部の放射活性は時間とともに急激に下降した。このことは $\Delta^6\text{RP}$ が中枢抑制作用が弱い事実と考え合わせると興味深いものがある。

3) 妊娠ラットに静脈内投与した後の1時間の成績では、肝、腎、副腎、下垂体及び視床下部の外に卵巣にも多量の放射活性を認めたが、予期に反して胎盤には多くなかつた。

緒 言

6-Dehydro-retro-progesterone は中枢抑制作用が無いと云われ、我々は Gestagen の長期継続投与を必要とし、しかも育児を希望している症例には好んで本ホルモンを使用し、かなりの成果をあげ得ており、この新しいホルモンの生体内での動きに興味を持っている。しかるに、内因性、外来性にかかわらず黄体系ホルモンの種々組織内に於ける測定の結果は非常に少く、 $\Delta^6\text{RP}$ に関する報告は見当たらない。幸いにも ^3H - $\Delta^6\text{RP}$ を入手したのでラットを用いて ^3H - $\Delta^6\text{RP}$ 投与後の種々な組織内に於ける放射活性を測定し、興味ある結果を得たので報告する。

実験方法

1. 使用動物

150~200 gm の Wister 系雌ラットを使用した。ホルモンの内部環境を一定に保つため去勢し、2週間以上経過したものには Estradiol dipropionate 50 μg を筋注し、5~7日後に実験に供した。

2. 投与方法

^3H - $\Delta^6\text{RP}$ (1.7 mc/mM) 3.0 mg を生理食塩水 0.4ml に混じて水性浮遊液となし、経口投与の場合は金属性胃チューブを用いて胃内投与し、静脈内投与の場合は大腿部皮下静脈に静注した。

3. 投与総放射活性

上記投与方法では注射器、注射針、胃チューブなどに付着するため実際に投与された放射活性は、下記 Scintil-

lator で測定した場合

経口投与 3926 × 10⁴ cpm

静脈内投与 4729 × 10⁴ cpm

であった。

4. 臓器採取法

尿 : 尿道にカテーテルを留置し経時的に採集

便 : 一定時間内に排泄されたものを採集

血液 : 経時的に尾先端を切断し、滴下せる血液を heparinized capillary tube に 0.035 ml 吸引

臓器 : 一定時間後頸部切断瀉血し屠殺後直ちに採取

5. 試料調整法²⁾

臓器は Wet の状態で余分な水分を口紙で吸収後その 30 mg を、全量で 30 mg に達しないものはその全量を、血液は 0.035 ml を 2 N-methanolic KOH 0.5 ml にて共通ジムロートを用いて 70°C 約 30 分で液化せしめその全量を下記 Scintillator 10 ml に加えて測定した。尿、羊水はそのままその一定量を Scintillator に加え、糞便は臓器処理に準じた。

6. Scintillator³⁾

PPO	4.0 gm
POPOP	0.2 gm
Naphthalene	60.0 gm
Ethylene Glycol	20.0 ml
Methanol	100.0 ml
Dioxane	ad 1000.0 ml

7. 測定

Liquid Scintillation Counter (Nuclear-Chicago Model 6850) を使用、同一資料を 3 回一分間計測、自然計数を引いて平均値を出した。

Quenching 補正は標準試料添加法⁴⁾により、標準試料として ³H- Δ^6 RP 溶液 370 × 10⁴ ~ 450 × 10⁴ cpm/ml を使用した。

成 績

経口投与

1) 経口投与後 24 時間までの血中放射活性を 2 匹のラットについて測定した結果は第 1 表及び第 1 図の如くで 10 分後には既に、血中に放射活性が認められた。例 1 に於ては 24 時間後にもなお血中濃度は上昇しつつあり、例 2 では減少して来ているがなお高い血中濃度を保つていくことがわかる。

2) 例 1 についての 24 時間に於ける尿中及び糞便中の放射活性を第 2 表及び第 2 図に示した。尿についてみると投与後 2 時間で既に多量の放射活性が認められ、4 時間前後で 1 時間当りの排泄量は最も多く、以後急速に減少している。また、投与された放射活性の 24% が 1 日

表 1

時 間	例 1	例 2
10 分	86	53
20 分	163	86
30 分	192	86
1 時間	240	106
2 時間	470	134
4 時間	581	312
8 時間	566	325
12 時間	715	437
24 時間	950	365

³H- Δ^6 RP 経口投与後の血中放射活性 (cpm/0.035ml)

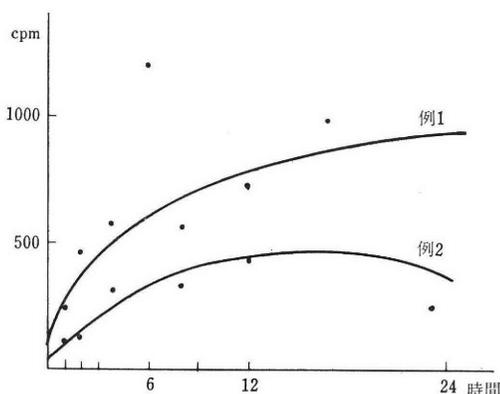


図 1 ³H- Δ^6 RP 経口投与後の血中放射活性

排泄されている。糞便中には 2 時間後には放射活性が認められ、8 時間前後に最も多く排泄され、その後は徐々に減少している。1 日で投与量の 9% が糞便によって排泄された。

3) 組織内分布 : 第 1 図の如く、経口投与された場合の血中濃度は 24 時間前後に最も高くなると考えられるので、経口投与後 24 時間で前記方法によって各組織内放射活性を調べ第 3 表に揚げた。肝、腎及び胃の順に比較的

表 2

時 間	尿			便		
	測定値	累積値	一時間当り	測定値	累積値	一時間当り
0~2	31	31	16	1	1	0.3
2~4	213	244	107	35	36	18
4~8	235	479	59	86	122	22
8~12	211	690	53	68	190	17
12~24	233	923	19	180	370	15

例 1 における ³H- Δ^6 RP 経口投与後の尿中及び便中放射活性 (10⁴cpm)

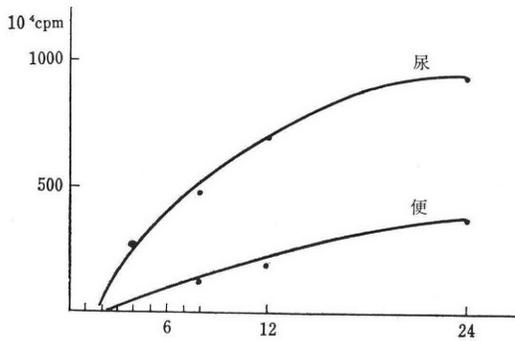


図2 例1における³H-Δ⁴RP 経口投与後の尿中及び便中放射活性

表 3

	例 1	例 2	例 3	例 4	例 5	平均
子宮	168	84	90	61	125	106
膣	232	—	123	53	95	126
筋	221	86	142	99	112	132
下垂体視床下部	96	317	—	22	118	138
脾	172	105	214	102	228	168
肺	197	185	122	223	273	200
副腎	204	168	303	96	231	200
胃	207	200	746	98	445	339
腎	178	274	350	607	350	352
肝	614	803	688	1290	1696	1018

³H-Δ⁴RP 経口投与後 24 時間の組織内放射活性 (cpm/30mg)

多くの分布をみたが、その他の組織には大きな差が無かった。

静脈内投与

経口投与では組織の放射活性が低く、血中濃度からみても吸収速度に個体差が大きいことを考えて、静脈内投

与を試みた。

1) 静脈内投与後24時間の血中濃度、尿中排泄量の時間的推移は第3図に示した。静注後1時間前後に最も尿中排泄量が増大し、血中濃度は静注後急激に減少している。

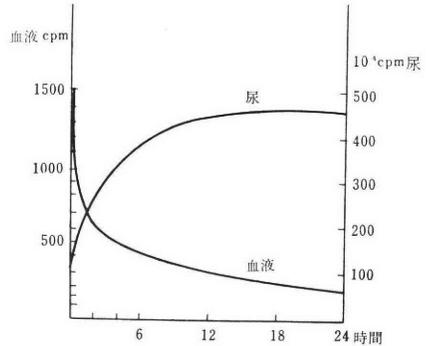


図3 ³H-Δ⁴RP 静注後の血中濃度 (cpm) 及び尿中排泄量 (10⁴cpm)

2) 組織内分布：静注後1時間、4時間、12時間について測定した成績を第4表に揚げた。また、4時間後のものについて各組織全体に含まれる放射活性を第5表に

表 5

	例 1	例 2	例 3	平均
下垂体視床下部	381	403	464	416
副腎	1998	3252	4512	3254
膣	4628	4973	3360	4320
子宮	6772	7073	4405	6083
胃	23076	20591	37426	27031
脾	28182	72779	8747	36569
腎	59852	79375	211979	117069
肝	756230	1463424	1568320	1262658

³H-Δ⁴RP 静注後 4 時間の臓器内総放射活性 (cpm)

表 4

	1 時間 後			平均	4 時間 後			平均	12 時間 後			平均
筋	964	957	1231	1057	383	581	637	534	317	205		261
下垂体視床下部	2141	3235	2947	2774	573	755	496	608	221	221		221
子宮	1253	1491	1140	1295	597	684	629	637	177	247		212
膣	2265	1722	1616	1868	694	829	560	694	364	367		366
胃	2069	1796	2538	2134	805	557	1012	791	385	588		487
脾	1768	1992	1414	1725	2349	1967	536	1617	1663	2622		2143
副腎	4596	4722	4140	4486	1998	2439	2256	2231	867	666		767
腎	5316	4564	3887	4589	2944	2977	4000	3307	3264	2960		3112
肝	8371	10003	8349	8908	3283	5018	4640	4314	1306	1376		1341

³H-Δ⁴RP 静注後 1, 4, 12 時間後の組織内放射活性 (cpm/30mg)

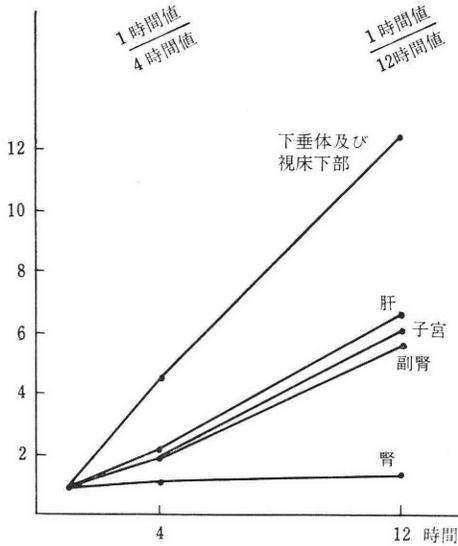


図 4 $^3\text{H}-\Delta^6\text{RP}$ 静注後の組織内放射活性の減少度

表 6

	例 1	例 2	平均
膻筋	529	781	655
脾	983	726	855
胎盤	630	1281	956
下垂体視床下部	882 966	1441 1121	1103
胃	1411	1174	1293
副腎	812	2324	1568
腎	2136	4113	3125
卵巣	2171	4297	3234
肝	3386	5164	4275
	4246	7760	6003
羊水*	1152	1968	1560

$^3\text{H}-\Delta^6\text{RP}$ 静注後 1 時間の妊娠ラット組織内放射活性 (Cpm/30mg) * 0.1ml

示したが、各臓器重量には個体差が大きく、従つて臓器内総放射活性には個体差が大きくなつてゐる。第 4 図は子宮、肝、腎、副腎、下垂体及び視床下部について、1 時間値に対する 4 時間値、12 時間値の逆数を図示したものである。下垂体及び視床下部に於ける放射活性が時間と共に急激に減少していることが注目される。

次に、妊娠ラットについてその Third Trimester で同様に静注後 1 時間の組織放射活性を測定し第 6 表に揚げた。

考 按

1938年 Inhoffen⁹⁾等により Ethynyl testosterone が発表されて以来、今日まで多数の合成黄体ホルモン剤が生まれて来ている。これ等の多くは経口避妊薬として用いられている如く、中枢抑制作用が強く、用途によつては不便な面もあつた。1960年 Reerink 等¹⁰⁾によつて発表された 6-Dehydro-retro-progesterone は、その生物学的作用は天然の Progesterone (Prog.) に近く、経口で著しい黄体ホルモン様作用を示し、しかも排卵抑制作用が全く無いと云われ⁷⁻⁹⁾、我国でも 1965年に発売された。その生物学的作用、臨床的応用例についての報告は我国に於ても数多く発表されている。我々も現在 Gestagen の長期継続投与を必要とする挙児希望例に本ホルモンを使用し、その作用面における Prog. との相異に興味をいだいており、先ず最初にその組織分布を検索した。

Prog. 測定法も Reynolds と Ginsberg¹⁰⁾以来進歩発展して来ているが、更に近年放射性同位元素が医学の分野にも導入され、生体内での物質代謝に関する研究に新しい武器となつて来ている。特に微量で大きな効果を期待出来るホルモンやビタミン等の代謝や分布の研究には不可欠なものと考え云える。幸いにも $^3\text{H}-\Delta^6\text{RP}$ が入手出来たのでラットに投与してその組織内放射活性を測定した。

血中、尿中及び糞便中の放射活性の推移

経口投与された場合の本剤の吸収が非常に速かであることは、第 1 表に示した如くに 10 分後には既に血中に放射活性が認められることから明らかである。又一旦吸収された $\Delta^6\text{RP}$ が排泄されるのも速かである。経口投与後 2 時間以内に尿中に排泄される量は尿中に排泄される 1 日量の 6% に達することや、静注した場合の急激な血中濃度の下降と尿中排泄量の急増によつても知られる。24 時間以内に投与された放射活性の 24% が尿中に、9% が糞便中に排泄された。Hautman 等¹¹⁾が $^3\text{H}-\Delta^6\text{RP}$ を人体に経口投与した成績では 20~30 分以内に尿中に放射活性が現われ、24 時間以内に 48~50% が尿中に、15% が糞便に排泄された。岡田等¹²⁾は家兎に $^3\text{H}-\Delta^6\text{RP}$ を経口投与した場合、第 1 日に約 30%、3 日間で約 50% が尿中に排泄されたという。また、静注した場合速かに胆汁中に多量に排泄され、4 時間後にはみられなくなつた。この尿中及び糞便中の排泄型は $\Delta^4,6,9\beta, 10\alpha$ -Pregnadien-20 α -ol-3 one であつたと報告している。また 2 人の更年期後の婦人に投与した場合の尿中排泄型も 90% はこの型であつた¹³⁾。Prog. についてもほぼ同様の結果が得られており、Riegel 等¹⁴⁾はマウスの腹腔内に ^{14}C -Prog. を投与し、50% 以上が糞中に排泄された。Barry 等¹⁵⁾もマウス腹腔内

に ^{14}C -Prog. を投与して尿中糞中合せて62~75%を回収している。胆瘻のある患者に ^{14}C -Prog. を静注した Wiest 等¹⁶⁾は24時間で投与量の64%が回収され、その65%が胆汁に35%が尿中に排泄されたと云っている。Davis等¹⁷⁻¹⁹⁾は数多くの妊婦について筋注で ^{14}C -Prog. を投与しその排泄に関して詳細に報告している。即ち投与量の15.3~61.7%, 平均39.6% (対象: 9~17週の10人)が尿中に排泄され(5人の非妊婦では14.9~44.6%, 平均34.1%) 18~29時間に最も急激に増加した(対象, 10週の1人)。便中には10日間で 28.54%が排泄された。

血中の放射活性については先にも述べた如く急激に減少して行くが, Short 等²⁰⁾は3人の帝王切開患者について, 胎盤除去前後の血中 Prog. を測定し, そのうちの1人は2分後にすでに定量出来なくなり, 他の2人についても血中からの消退が速かったことから, 循環血液中に於ける Prog. の半減期は5分以内であろうと推定している。Castrén 等²¹⁾は17~24週の妊婦4人に ^{14}C -Prog. を静注し, 10分後に投与量の1%しか血中の放射活性は認められなかった。また, 5~10分後に胎児の血中濃度は母体のそれと同じになったと云う。その他 Kaufmann 等²²⁾, Haskins²³⁾, Davis 等¹⁷⁾, 荒井等²⁴⁾いずれも静注された Prog. が短時間に血中から消失して行くことを報告している。

組織内放射活性

Hautman 等¹¹⁾はラットに経口及び皮下注射によつて ^3H - $\Delta^6\text{RP}$ を投与し, 投与後の組織の放射活性の測定を試みたが極端に低く, 組織内の貯蔵は認められなかったと云う。Prog. に関して系統的に組織分布を調べた報告は少ない。しかし少数の組織について Prog. を測定した報告はかなり認められる。Kaufmann 等²²⁾は妊婦脂肪組織から1.7 γ の Prog. を証明し, Pearlman 等²⁵⁾は満期の胎盤に1~2 mg/kg と云い, Ejarque 等²⁶⁾は19Wの妊婦について1日75.5 mg の Prog. が分泌され, その70%が胎盤由来であると報告している。子宮組織からは Barnes 等²⁷⁾が1964年に報告し, 胎盤付着部0.63 $\mu\text{g}/\text{gm}$ 非付着部0.31 $\mu\text{g}/\text{gm}$ であつた。Wiest 等²⁸⁾は妊娠ラットについて卵巣 7.9 $\mu\text{g}/\text{gm}$, 血液0.07 $\mu\text{g}/\text{gm}$, 脂肪0.12 $\mu\text{g}/\text{gm}$ が証明されたが胎児, 胎盤, 羊水, 子宮には証明されなかったと云う。Davis 等¹⁸⁾は11~18 W の妊婦に ^{14}C -Prog. を筋注して, 子宮筋, 脱落膜, 胎盤, 脂肪, 黄体などに放射活性を認めている。

^3H - $\Delta^6\text{RP}$ を経口投与した場合, 先にも述べた如く24時間前後の血中放射活性が最も高いことから, 24時間後の臓器内分布を検索した。代謝の場である肝, 排泄臓器の腎及び胃の順に比較的高い値を認めたが, 相対的に放射活性が低く, 吸収排泄速度に個体差が大きかつた。こ

のことは実験的環境に動物を長時間さらしたことにとも一因があると思われる。例えば Schriefers²⁹⁾によると肝に於けるステロイドの代謝は種々な原因によつて影響され, ストレスについてみると外科的処置, 失血, 痛みといったもので注射された Corticosteroid の消退は極端に遅延すると述べている。そこで静脈内投与1時間後の臓器内放射活性を主として測定し, 合せて4時間後, 12時間後の分布について検索した。静注後1時間では肝, 腎, 副腎, 下垂体及び視床下部の順に明らかに放射活性が高い。4時間後も肝, 腎, 副腎はなお高い分布を示す。ここで特に注目されるのは下垂体及び視床下部の放射活性の減少が著しいことである。この傾向は12時間後に於ても同様であり, 第4図をみると一目瞭然である。

妊娠ラットについても去勢ラットとほぼ同様の結果が出たが卵巣にかなり多く分布し, 胎盤には期待したほど多くなかつた。

以上 ^3H - $\Delta^6\text{RP}$ について得られた知見と Riegel 等¹⁴⁾がマウスに ^{14}C -Prog. を腹腔内投与し8~24時間後の分布をみた成績及び Laumas 等³⁰⁾が去勢雌ラットに ^3H -Prog. を静注し1時間後までの分布をみた成績とを比較してみると, Riegel 等 (1950) は下垂体及び副腎の Activity index は8~24時間後にも ### ($\sim\text{###}$)で子宮, 肝, 腎は ++ と報告しているが, Laumas 等 (1966) の成績では肝, 腎, 次いで視床下部を含む脳及び下垂体に多く分布し, 脳及び下垂体の放射活性は注射後20分頃までに急激に減少し以後は子宮と同じような勾配で下降し, Riegel 等とは全く相反する結果となつている。

$\Delta^6\text{RP}$ は初期に報告された如く全く排卵抑制が無いと云い切れることは疑問である。我々の長期継続投与例中にも排卵が抑制される症例が散見されるし, Jaffe³¹⁾が行つた臨床実験で LH, FSH, Pregnandiol, BBT の測定からも本剤の中枢抑制作用は否定出来ない。しかし他の Gestagens と比較すれば排卵抑制は少いことは事実である。このことと ^3H - $\Delta^6\text{RP}$ 投与に際し視床下部及び下垂体に於ける放射活性が急激に下降し, 12時間後にもなお同様の傾向がみられる事実と考え合せると非常に興味深いものがある。この2つの事実を直線的に結びつけてよいかどうかは更に検討を続けなければならない問題である。

Prog. と共に婦人科領域に於けるもう一つの代表的ホルモンである estrogen (estradiol) は Prog. と分布を異にして肝, 腎よりも下垂体, 子宮, 膣に多く分布し, しかも肝, 腎からは急激に放射活性が減少するのに target organ である子宮, 膣の放射活性の減少はゆるやかであるという^{32,33)}。

このように組織にとり込まれた性ホルモンがそこでのように代謝されて作用を発揮するのかいまだ不明の点が多く残されており今後更に検索を続けて行きたい。

本論文の一部は第 14 回日本不妊学会総会において発表した。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜りました野嶽幸雄教授に深く感謝するとともに終始御指導いただきました田村昭蔵講師始め研究室諸兄に感謝致します。

更に、 $^3\text{H}-\Delta^6\text{RP}$ の精製および施設の利用など種々御協力下さった薬科学研究所豊島博士、及び施設を提供して下さいました慶応がんセンターの皆様へ感謝致します。

主要文献

- 1) 野嶽幸雄, 他: 第 14 回日本不妊学会総会(1969).
- 2) 鶴藤丞, 中川秀夫: 第 24 回日本薬学会抄録, 478 (1966).
- 3) 樫田義彦, 岩倉哲男: *Radioisotopes*, 14: 152 (1965).
- 4) 木原弘二: *慶応医学*, 42: 398 (1965).
- 5) Inhoffen, H. H. et al.: *Ber Deutsch Chem Ges*, 71: 1024 (1938).
- 6) Reerink, E. H., Schöler, H. F. L.: *Nature*, 186: 168 (1960).
- 7) Tillinger, K. G., Diczfalusy, E.: *Acta Endocr*, 35: 197 (1960).
- 8) Schöler, H. F. L.: *Acta Endocr*, 35: 188 (1960).
- 9) Bishop, P. M. F. et al.: *Acta Endocr*, 40: 203 (1962).
- 10) Zander, J., Simmer, H.: *Klin Wschr*, 32: 529 (1954). より引用
- 11) Hautman, A. C. et al.: *Biochemical Investigation of Retrosteroids labeled with Tritium. XI Philips-Duphar Research Laboratories*(1964).
- 12) 岡田弘二, 他: *日内分泌会誌*, 44: 15 (1968).
- 13) Diczfalusy, E. et al.: *Nature* 200: 79(1963).
- 14) Riegel, B., Hartop, W. L., Kittinger, G. W.: *Endocrinology* 47: 311 (1950).
- 15) Barry, M. C. et al.: *Endocrinology*, 50: 587 (1952).
- 16) Wiest, W. G., Fujimoto, G. I., Sandberg, A. A.: *J. Clin Endocr*, 18: 972 (1958).
- 17) Davis, M. E., Plotz, E. J.: *Amer J. Obstet Gynec*, 76: 939 (1958).
- 18) Davis, M. E., Plotz, E. J.: *Recent Progr Hormone Res*, 13: 347 (1956).
- 19) Davis, M. E., Plotz, E. J.: *Fertil Steril*, 8: 603 (1957).
- 20) Short, R. V., Eton, B.: *J. Endocr*, 18: 418 (1959).

- 21) Castrén, O. et al.: *Acta Endocr*, 39: 506 (1962).
- 22) Kaufmann, C., Zander, J.: *Klin Wschr*, 34: 7 (1956).
- 23) Haskins, A. L.: *Proc Soc Exp Biol Med*, 73: 439 (1950).
- 24) 荒井清: *産婦の世界*, 13: 1182 (1961).
- 25) Pearlman, W. H., Cerceo, E.: *J. Clin Endocr*, 12: 916 (1952).
- 26) Ejarque, P. M., Bengtsson, L. D.: *Acta Endocr*, 41: 521 (1962).
- 27) Barnes, A. C., Kamar, D., Goodno, J. A.: *Amer J Obstet Gynec*, 84: 1207 (1962).
- 28) Wiest, W. G.: *Endocrinology*, 65: 825(1959).
- 29) Schriefers, H.: *Vitamins Hormones*, 25: 271 (1967).
- 30) Laumas, K. R., Farooq, A.: *J Endocr*, 36: 95 (1966).
- 31) Jaffe, R. B., Midgley, A. R., Goebelsmann, U.: *Amer J Obstet Gynec*, 1031 (1969).
- 32) Eisenfeld, A. J., Axelrod, J.: *Endocrinology*, 79: 38 (1966).
- 33) Jensen, E. V., Jacobson, H. I.: *Recent, Progr Hormone Res*, 18: 387 (1962).

The Study of the Radioactivity in the Tissues of Rats after Administration of ^3H -6-Dehydro-retro-progesterone

Takeo Onishi

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

In this investigation ovariectomized adult female rats were primed with estradiol and then tissues and blood samples were removed after varying intervals of time after the administration of tritium labeled 6-Dehydro-retro-progesterone ($^3\text{H}-\Delta^6\text{RP}$). The radioactivity in the tissues or blood samples was determined with a liquid scintillation counter after dissolving the samples in 2N-methanolic KOH.

The data on the distribution of radioactivity in the tissues after the administration of $^3\text{H}-\Delta^6\text{RP}$ intravenously indicated that the rate of disappearance of the radioactivity from the pituitary and hypothalamus was very rapid. This disappearance continued after 4-12 hours yet.

When $^3\text{H}-\Delta^6\text{RP}$ was administered orally about 24% of the radioactivity was recovered from the urine and 9% from the feces within 24 hours.

RECIPROCAL TRANSPLANTATION OF EGGS BETWEEN RAT AND HAMSTER

Chi-Hsiang LIN

Department of Obstetrics and Gynecology, Taipei Municipal Chungshing Hospital
and

Department of Reproductive Physiology, Taipei Medical College, Taipei, Taiwan,
Republic of China

(Director: Prof. Wun Hsun Yang)

Abstract: Fertilized 1-day rat eggs transferred into periovarian space of pseudopregnant hamsters early on day 1 developed to the 2-cell (100%) and 4-cell stage (100%) 2 and 3 days later. Eighty-eight percent and 40% of transferred 2-cell rat eggs developed into morulae and blastocysts after 2 and 3 days in the hamster tube. Rat morulae developed into blastocysts respectively 1 day after transfer (100%), but none was recovered 2 days after transfer into the periovarian space. Most rat morulae (88%) transferred into the hamster uterus on Day 3 had developed into blastocysts 12 hours later, but only 2.0 to 2.9% of these produced deciduomata in the hamster.

After transfer of 1 to 3 day hamster eggs into the periovarian space of pseudopregnant rats early on Day 1, 1-cell hamster eggs developed to the 2-cell (45%) or 4-cell stage (9%) 2 days later, but all other eggs had degenerated after 3 days. Two-cell hamster eggs developed into 4-cell eggs (38%) or morulae (14%) within 2 days, but only degenerated eggs were observed 3 days later. Most 4-cell hamster eggs placed in the rat periovarian space degenerated within 2 days. Seventy-one percent of hamster morulae transferred into the rat uterus late on Day 4 had degenerated after 12 hours, and only 19% developed into blastocysts. Fifteen percent of hamster morulae and 16.6% of hamster blastocysts produced deciduomata after their transfer into the pseudopregnant rat uterus on Days 4 and 5 respectively, but no fetal tissue was present at the decidual sites.

It is concluded that rat eggs can survive and develop better in tubes or uteri of hamsters, than can hamster eggs in the converse situation in the rat. Hamster blastocysts will, however, induce a decidual reaction in the rat endometrium more easily than will rat blastocysts in the hamster.

Introduction

Warwick and Berry ('49) first studied interspecific transfer of eggs between sheep and goat and demonstrated that sheep eggs can survive and develop in the uterus of goat for 30-45 days; goat eggs in the sheep, however, survived for less than 22 days. Subsequently, Lopyrin, Loginova and Karpov ('51) reported the birth of a dead but fully formed sheep fetus after transfer of blastocysts into a goat.

Short term survival of eggs has been demonstrated after their transfer between widely differing species; for instance, sheep eggs can survive and develop into the Fallopian tube of the rabbit for a few days and will grow normally after retransfer to a synchronized ewe (Hunter, Bishop, Adams and Rowson, '62). Ferret eggs can survive in the Fallopian tube of the rabbit, but rabbit eggs cannot survive in the ferret (Chang, '66).

Briones and Beatty ('54) have transferred

eggs between a number of different species of laboratory animals. They reported that rabbit eggs could develop for about 2 days in the genital tract of mouse, rat and guinea pig and that mouse eggs behaved similarly in the rat, guinea pig and rabbit; but no development occurred following the transfer of rat eggs to the mouse. The development and implantation of mouse blastocysts in rats, and rat blastocysts in mice has since been accomplished, however (Tarkowski, '62).

The present paper reports the transfer of rat eggs at different stages of development into different parts of the genital tract of hamsters, and vice versa, to determine: (1) whether there is any relationship between the age of the egg and its ability to develop in the genital tract of another species, (2) whether the Fallopian tube or the uterus is a better location for survival and development of foreign eggs, and (3) whether decidual formation and implantation can occur following such transfers into the uterus.

Experimental Animals and Procedures

Mature virgin female golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) weighing between 100–130 gm were kept in an air conditioned room (5–6 animals per cage) between 23–25°C under constant 12-hours artificial light (7 a.m.–7 p.m.). Estrus animals were first selected according to the method of Deanseley ('38): (Females which had a viscous postestrus vaginal exudate were separated; it was expected that these would come into estrus 3 days later). On the night at the expected estrus, donor and recipient hamsters were placed respectively with normal fertile and vasectomized males. Mating was observed in each animal during the night. The day following was designated as Day 1.

Mature virgin female rats (Sprague-Dawley) weighing between 200–250 gm were housed 6 per cage and maintained on normal laboratory diet. The light period was maintained from 7 a.m. to 7 p.m. and the temperature was controlled between 23–25°C. Vaginal smears were taken daily, and on the night of proestrus donor and recipient females were placed respectively with normal fertile and vasectomized males. The morning when the

vaginal plug or spermatozoa were found was designated as Day 1. As the rate of development of hamster and rat eggs differs somewhat, the timing of the transfers was arranged according to developmental rather than to strictly temporal criteria.

For the transfer of 1, 2, and 3-day-old hamster eggs into rats, the eggs were collected from the Fallopian tube and were placed into the periovarian space of Day 1 pseudopregnant rats with small amounts of tissue culture medium (0.005–0.01 ml TC 199) in the early morning (6–7 a.m.). Late Day 3 hamster eggs were injected into the uterine horn of Day 4 rats between 9–10 p.m., early Day 4 eggs were injected similarly into Day 5 rats between 6–7 a.m. In the converse situation, 1, 2, and 4-day-old rat eggs were placed similarly into the hamster periovarian space in the early morning. Late Day 4 and early Day 5 rat eggs were also injected into uterine horns of Day 4 pseudopregnant hamsters at about 10 p.m. and 7 a.m., respectively. The recipient animals were killed 12 hours to several days after transfer, and the eggs were either squeezed from the Fallopian tube, or flushed from the uterus with Hanks solution. The recovered eggs and blastocysts were examined in the fresh condition with a phase-contrast microscope.

The following control experiments were performed: Day 4 rat morulae were transferred into the periovarian space of rats on Day 1, and were recovered and examined 24 hours later; Day 1 rat eggs were transferred into Day 4 pseudopregnant rat uteri, which were examined for decidual formation 4 days later. To check the possibility of non-specific decidual formation, 0.01 ml TC 199 was injected into the left uterine horn and the right was traumatized throughout its length, in Day 4 hamsters and rats; these animals were examined for decidual swellings 4 days later. Both rat and hamster pronuclear eggs obtained between 3–5 p.m. of Day 1 were also cultured for 1 day *in vitro*, in 5% CO₂ at 38°C, in a media containing 0.6 ml TC 199 and 0.4 ml Day 1 rat or hamster sera.

Results

I) Transfer of rat eggs into the periovarian space of hamsters.

A total of 116 fertilized rat eggs at the 1-cell stage, 129 eggs at the 2-cell stage, and 85 eggs at the morula stage, were transferred into periovarian space of Day 1 hamsters. It may be seen from Table 1 that 60.4% of the 43 one-cell eggs and 56.7% of the 60 two-cell eggs were recovered 2 days after transfer, of which 100% and 88% had reached 2-cell (Fig. 1) and 8-cell stages respectively (Fig. 2). Eight of 25 one-cell eggs and 10 of 33 two-cell eggs were recovered 3 days after transfer. At this time 100% of the recovered 1-cell eggs had developed to 4-cell stage, but only 40% of the 2-cell eggs had developed into blastocysts. Thirty-one of 61 transferred rat morulae were recovered 1 day after transfer, all of which had developed into blastocysts. However, none of 24 morulae were recovered 2 days after transfer. In the control when 94 rat morulae were similarly transferred to Day 1 rats, 89% of the 32 eggs recovered had developed into blastocysts, 1 day later. This suggests that most rat eggs can survive and develop for 2-3 days in hamster tubes although the cleavage of 1-cell eggs seemed to be somewhat delayed under these conditions (1-cell eggs became 2-cell and 4-cell stages 2 and 3 days later).

II) Transfer of rat morulae and blastocysts into the hamster uterus.

A total of 198 rat morulae and 102 rat blastocysts were transferred, respectively, into Day 3 and Day 4 hamster uteri. Although 17 of 39 morulae were recovered 12 hours after transfer, none of 31 morulae were recovered 2 days after transfer into the uteri of late Day 3 hamsters (Table 2). Eighty-eight percent of the morulae recovered after 12 hours had developed into blastocysts (Fig. 2). Only two decidual swellings had developed 4 to 9 days after the transfer of 98 rat morulae into five hamsters of Day 3. Three decidual swellings were present 4 to 9 days after the transfer of 102 rat blastocysts into five hamsters of Day 4. In the control, deciduomata were not induced by injection of TC 199 or by traumatization of the uteri of Day 4 pseudopregnant hamsters. Thus it appears

that although most rat morulae are able to continue their development into blastocysts in hamster uteri, both rat morulae and blastocysts have little ability to induce decidual formation in the hamster.

Transfer of hamster eggs into peri ovarian capsules of rats.

A total of 145 one-cell, 156 two-cell, and 29 four-cell hamster eggs were transferred into the peri ovarian capsules of pseudopregnant rats on the morning of Day 1. Approximately 38% of 82 one-cell eggs were recovered 2 days later; of these 45% and 29% had developed into 2-cell and 4-cell stages respectively (Fig. 4), 6 eggs had remained at the 1-cell stage and 2 eggs had degenerated. Four of 29 one-cell eggs were recovered in a degenerated stage from the uterus 3 days after transfer; no 1-cell eggs were recovered from the tube or the uterus 4 days after transfer. Forty-two percent of 88 two-cell eggs were recovered from the tube 2 days after transfer; of these 16 (43%) had degenerated (Fig. 5), 2 had remained at the 2-cell stage and 14 (38%) had developed to the 4-cell and morula stages respectively. Three degenerated eggs were recovered 3 days after transfer of 32 two-cell eggs, but none was found 4 days after transfer of 32 two-cell eggs. After 29 four-cell eggs were transferred into the peri ovarian capsules, 7 were recovered 2 days later; of these 5 had degenerated and 2 had developed to the morula stage. Hamster eggs, especially older one, thus appear to have little ability to continue their development in the rat tube.

IV) Transfer of hamster morulae and blastocysts into the rat uterus.

A total of 203 hamster morulae and 96 blastocysts were transferred into Days 4 and 5 rat uteri respectively. Twelve hours after transfer of 44 hamster morulae into uteri of Day 4 rats, 21 eggs (47.7%) were recovered; of these, 15 (71%) had degenerated, 2 had remained as morulae and 4 had developed into blastocysts (Table 2); neither morulae nor blastocysts were recovered in this group 2 days after transfer. Eighteen (19%) decidual swellings were found when 120 morulae were transferred into the uterus in six rats of Day 4 (Fig. 6), and 16(19.6%) were found after 96 blastocysts had been transferred likewise. No

fetal tissue was evident in sections of these deciduomata histologically (Fig. 7).

When, in the control, 94 rat morulae of Day 4 were transferred into five rat ovarian capsules of Day 1, 36 transferred eggs (38.3%) were recovered 1 day later, 32(88.9%) of which had developed into blastocysts, the other 4 eggs remaining as morulae. When 106 rat eggs of Day 1 were transferred into 8 pseudopregnant rats of Day 4, only 2 decidual swellings (1.9%) were found in the lower part of the uterus in one rat; injection of small amounts of TC 199 into 8 pseudopregnant rats of Day 4 did not induce deciduoma formation in one horn of animals in which deciduomata had formed in the contra-lateral horn following traumatization.

Fresh serum of the rat and hamster had no adverse effect *in vitro* on the early development of hamster and rat eggs, respectively; 96.4% of 56 one-cell rat eggs collected at 3-5 p.m. on Day 1, cleaved normally within 1 day, in a medium of TC 199 containing 40% hamster serum, while 91.1% of 56 one-cell hamster eggs developed similarly in a medium of TC 199 containing 40% rat serum.

Discussion

The results obtained in these experiments demonstrate that, in general, the rat zygote will for a time develop rather more readily in the hamster oviduct than will the hamster zygote placed likewise in the rat. The later stages of development of the hamster zygote seemed to be particularly sensitive to the foreign milieu of the rat. It is known that rabbit eggs will develop rather more easily than mouse, rat or guinea pig eggs when transferred into the genital tract or body cavity of other species. Although it has been claimed that mouse eggs survive better in the Fallopian tube of rabbit than in that of the rat and guinea pig, and that transferred rat eggs could not develop in mouse or rabbit (Briones and Beatty; '54), considerable development of rat and mouse eggs in the Fallopian tube of the mouse and rat respectively, has since been reported (Tarkowki, '62). Recently a marked difference has been found in the capacity for further development after reciprocal transfer

of eggs between the ferret and rabbit; for ferret eggs can develop in the tube of a rabbit whereas rabbit eggs cannot survive in the ferret (Chang, '66). The present results support the general impression that there is some degree of species difference in specific requirement of eggs for their successful early development.

In the present experiments, the high percentage of development of Day 4 rat morulae into the blastocyst stage within a day in the Day 1 rat tube, indicates that the marked degeneration of older hamster eggs in this situation cannot be attributed merely to asynchronous transplantation. Furthermore, since media containing TC 199 with either rat or hamster serum seem to allow equally well the first cleavage of both rat and hamster pronuclear eggs *in vitro*, the common failure of cleavage of the hamster egg in the rat oviduct and uterus was probably not induced by simple toxic factors for some heterologous eggs, present in the serum of man, sheep, cattle, goat, and fowl, and which can kill Day 1 rabbit eggs within 10 minutes (Chang, '49). It is possible that the unsuitability of the rat female tract for hamster eggs may be due to some specific factor in the reproductive tract.

Although rat morulae can easily develop into blastocysts in the hamster uterus, they have virtually no ability to induce deciduomata in the hamster. Hamster morulae do not have the same capacity for development in the rat uterus, but hamster morulae and blastocysts will, however, induce some degree of deciduoma formation in the rat uterus. The ability of rat and hamster eggs to survive in the hamster and rat uterus, respectively, do not, therefore, parallel their capacity for the induction of deciduomata. This difference may well be due to an innate difference in the sensitivity of rat and hamster uteri for deciduoma formation. Although the decidual reaction may be induced by nonspecific means such as traumatization, agar or oil (Finn and Keen, '63), no decidual reaction was induced in the present experiments by injection of small amounts of TC 199 in the control group, and only 1.9% of Day 1 rat eggs transplanted into Day 4 pseudopregnant rats induced deciduomata. It seems likely, therefore, that

the decidual formation induced by transfer of hamster morulae into rat uteri, and vice versa, was produced by some specific reaction between blastocysts and endometrium rather than by other non-specific trauma. Since no fetal tissue could be found in the region of deciduomata 4 days after the transfer of morulae or blastocysts, it is possible that degeneration of eggs occurred during the process of implantation.

Acknowledgement

Sincere thanks are due to Professor Motoyuki Hayashi for suggesting this study. The author is also grateful to Dr. Chien-Tien Hsu, Dean of Taipei Medical College, and Dr. Wen-Hsun Yang, Professor of Taipei Medical College for their valuable advice and encouragement during this study.

References

- 1) Adams, C. E., L. E. A. Rowson, G. L. Hunter, and G. P. Bishop (1961): Long distance transport of sheep ova. Proc. 4th Int. Cong. Anim. Reprod. The Hague, 2: 381-382.
- 2) Averill, R. L. W., C. E. Adams, and L. E. A. Rowson (1955): Transfer of mammalian ova between species. Nature, 176: 167.
- 3) Briones, H. and R. A. Beatty (1954): Interspecific transfers of rodent eggs. J. Exp. Zool., 125: 99-118.
- 4) Chang, M. C. (1949): Effect of heterologous sera on fertilized rabbit ova. J. Gen. Physiol., 32: 291-300.
- 5) Chang, M. C. (1966): Reciprocal transplantation of eggs between rabbit and ferret. J. Exp. Zool., 161: 297-305.
- 6) Deanesly, R. (1938): The reproductive cycle of the golden hamster (*Cricetus auratus*). Proc. Zool. Soc., Series A, 108: 31-37.
- 7) Finn, C. A. and P. M. Keen (1963): The induction of deciduomata in the rat. J. Embryol. Exp. Morph., 11: 673-682.
- 8) Hunter, G. L., G. P. Bishop, C. E. Adams, and L. E. A. Rowson (1962): Successful long distance aerial transport of fertilized sheep ova. J. Reprod. Fertil., 3: 33-40.
- 9) Lopyrin, A. I., N. V. Loginova, and P. L. Karpov (1951): (The effect of changed conditions during embryogenesis on growth and development of lambs). Soviet Zootech., 6: 83-95. Anim. Breed. Abstr. 20: no. 729,

1952.

- 10) Tarkowski, A. K. (1962): Inter-specific transfers of eggs between rat and mouse. J. Embryol. Exp. Morph., 10: 467-495.
- 11) Warwick, B. L. and R. O. Berry (1949): Intergenetic and intra-specific embryo transfers in sheep and goats. J. Hered., 40: 297-303.

ラットとハムスターにおける受精卵の 交互移植

林 其 祥

(台北市立中興医院産婦人科および私立台北
北医学院生殖生理学科, 台北市, 中華民國)

妊娠第1日目のラット受精卵(1細胞期)を偽妊娠第1日目のハムスター卵巣周囲嚢内に移植して2日後, 3日後, 卵管内にそれぞれ2細胞卵(100%)および4細胞卵(100%)に發育することを認めた。同様に妊娠第2日目のラット受精卵(2細胞期)を妊娠第1日目のハムスター卵巣周囲嚢内に移植して2日後, 3日後, 卵管内にそれぞれ移植卵の88%および40%がそれぞれ桑実期卵および胞胚期卵になる事を確め得た。さらに, ラットの桑実期卵を偽妊娠第1日目のハムスター卵巣周囲嚢内に移植して1日後子宮内に100%の移植卵が胞胚期卵に發育することを認めたが, 移植後2日目には移植卵を回収することができなかった。殆んどラット桑実期卵(88%)は偽妊娠第3日目のハムスター子宮内に移植して12時間後に胞胚期卵に發育したが, 僅か2.0~2.9%の移植卵が deciduoma を形成した。

次に, 妊娠第1日目より第3日目に至るハムスター受精卵を偽妊娠第1日目のラット卵巣周囲嚢内に移植して, 第1日卵(1細胞期)が2日後ラット卵管内で2細胞期卵(45%), 4細胞期卵(9%)に發育したが, 3日後にはすべての卵が変性していた。また第2日卵(2細胞期)を移植して, 2日後4細胞期卵(38%)および桑実期卵(14%)を得たが, 3日後にはただ1個の変性卵を回収することができた。さらに, 第3日卵(4細胞期)を第3日の早期に移植して2日後には全部卵管内で変性した。これに反して, 第3日卵(桑実期)を夜間偽妊娠第4日目のラット子宮内に移植して, 12時間後に12%の移植卵が胞胚期に發育し, 71%は変性した。なお妊娠第3日夜のハムスター桑実期卵および第4日早期の胞胚期卵をそれぞれ偽妊娠第4日目, および第5日目のラット子宮内に移植して, 各々15%, 16.6%, deciduoma を形成したが, 胎児組織を確めることができなかった。

ラットの幼若受精卵はハムスターの幼若受精卵に比較して, 他方の卵管内で生存發育しやすいが, 一方ハムスター胞胚期卵はラット胞胚期卵に比して他方の子宮内で decidual reaction を誘発しやすいような結果が得られた。

TABLE 1. TRANSFER OF RAT ZYGOTES INTO THE PERIOVARIAN SPACE OF HAMSTER

Exper. Series	No. of Recip.	Eggs Age	Transferred Stage No.	Exam. Days After Transfer	Eggs Recovered from		Conditions of eggs
					Tubes No. (%)	Uteri No. (%)	
Rat eggs to the 1-day hamster peri ovarian space	4	1-day	1-cell 43	2	26(60.4)	0	26 two-cell (100%)
	2	"	" 25	3	0	8(32.0)	8 four-cell (100%)
	4	"	" 48	4	0	0	
	6	2-day	2-cell 60	2	34(56.7)	0	2 degen.(5.9%), 2 two-cell 30 morulae (88%)
	3	"	" 33	3	0	10(30.3)	2 degen.(20%), 4 morulae, 4 blastocysts (40%)
	3	"	" 36	4	0	0	
	4	4-day	morula 61	1	31(50.8)	0	31 blastocysts (100%)
	2	"	" 24	2	0	0	

TABLE 2. TRANSFER OF RAT ZYGOTES INTO THE UTERUS OF HAMSTER

Exper. Series	No. of Recip.	Eggs Age	Transferred Stage No.	Exam. Days After Transfer	Eggs Recovered from		Conditions of eggs
					Tubes No. (%)	Uteri No. (%)	
Rat morulae to the 4-day hamster uterus	4	4-day	morula 39	1/2	—	17(43.6)	2 morulae, 15 blastocysts (88%)
	3	"	" 31	2	—	0	
	5	"	" 98	4-9	—	—	2 deciduomata (2.0%), no fetal tissue

TABLE 3. TRANSFER OF RAT ZYGOTES INTO THE UTERUS OF HAMSTER

Exper. Series	No. of Recip.	Eggs Age	Transferred Stage No.	Exam. Days After Transfer	Eggs Recovered from		Conditions of eggs
					Tubes No. (%)	Uteri No. (%)	
Rat blastocysts to the 4-day hamster uterus	5	5-day	blastocyst 102	4-9	—	—	3 deciduomata (2.9%), no fetal tissue

TABLE 4. TRANSFER OF HAMSTER ZYGOTES INTO THE PERIOVARIAN SPACE

Exper. Series	No. of Recip.	Eggs Age	Transferred Stage No.	Exam. Days After Transfer	Eggs Recovered from		Conditions of eggs
					Tubes No. (%)	Uteri No. (%)	
Hamster eggs to the 1-day rat peri ovarian space	7	1-day	1-cell 82	2	31(37.8)	0	2 degen., 6 one-cell, 14 two-cell (45%), 9 four-cell (29%)
	3	"	" 29	3	4(13.9)	0	4 degen.
	3	"	" 34	4	0	0	
	7	2-day	2-cell 88	2	37(42.0)	0	16 degen.(43%), 2 two-cell 14 four-cell (38%), 5 morulae (14%)
	3	"	" 36	3	3(8.3)	0	3 degen.
	3	"	" 32	4	0	0	
	3	3-day	4-cell 29	2	7(24.1)	0	5 degen.(71%), 2 morulae (29%)

TABLE 5. TRANSFER OF HAMSTER ZYGOTES INTO THE RAT UTERUS

Exper. Series	No. of Recip.	Eggs Age	Transferred Stage No.	Exam. Days After Transfer	Eggs Recovered from		Conditions of eggs
					Tubes No. (%)	Uteri No. (%)	
Hamster morulae to the 4-day rat uterus	3	3-day	morula 44	1/2	—	21(47.8)	15 degen. (71%), 2 morulae (9.5%), 4 blastocysts (19%)
	3	"	" 39	2	—	0	
	6	"	" 120	4-9	—	—	18 deciduomata (15%), no fetal tissue

TABLE 6. TRANSFER OF HAMSTER ZYGOTES INTO THE PERIOVARIAN SPACE

Exper. Series	No. of Recip.	Eggs Age	Transferred Stage No.	Exam. Days After Transfer	Eggs Recovered from		Conditions of eggs
					Tubes No. (%)	Uteri No. (%)	
Hamster blastocysts to the 5-day rat uterus	5	4-day	blasto- 96 cyst	4-9	—	—	16 deciduomata (16.6%), no fetal tissue

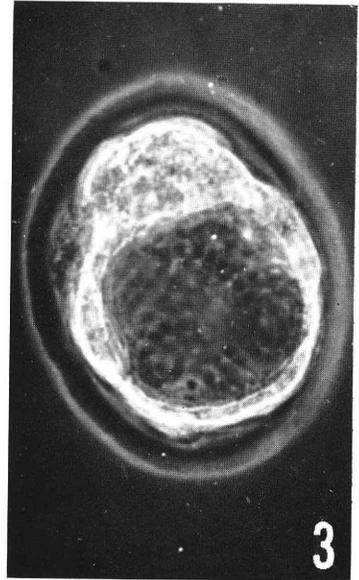
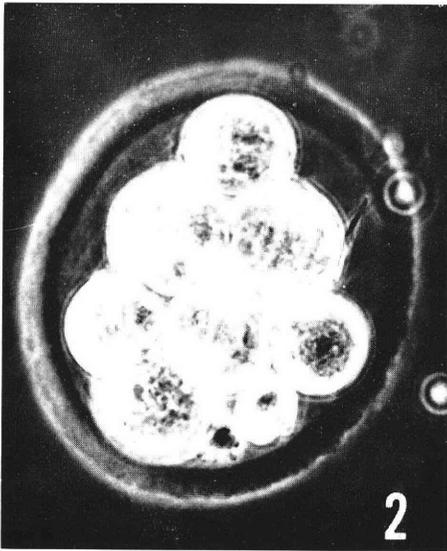
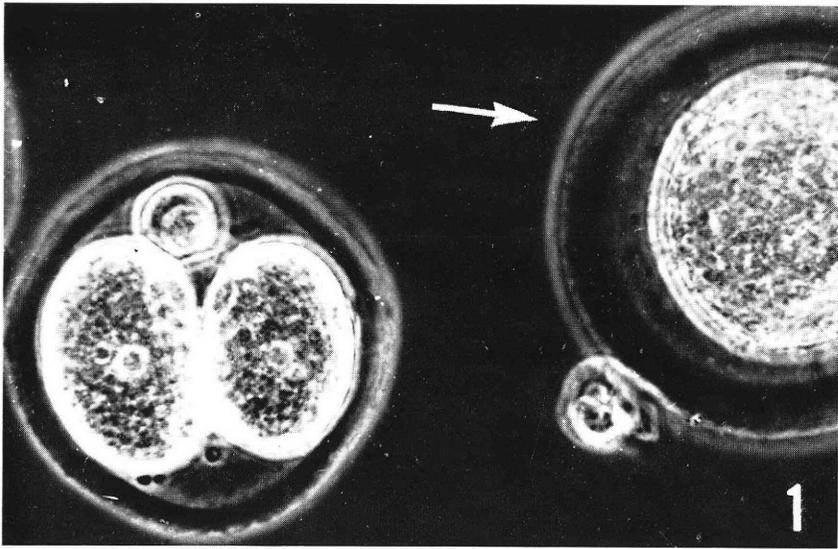
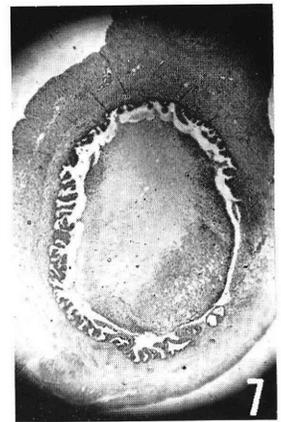
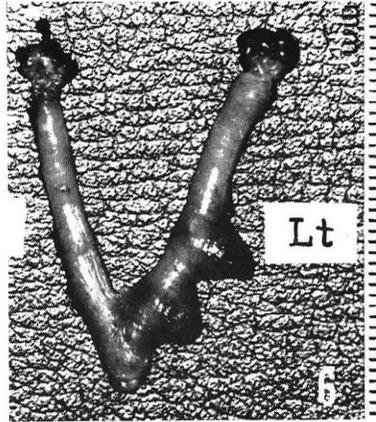
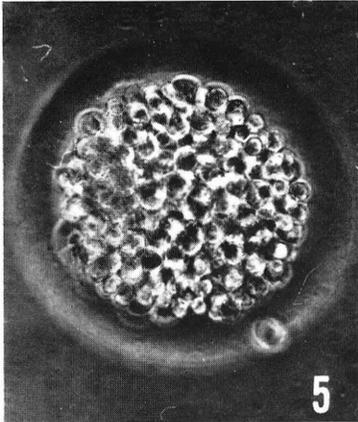
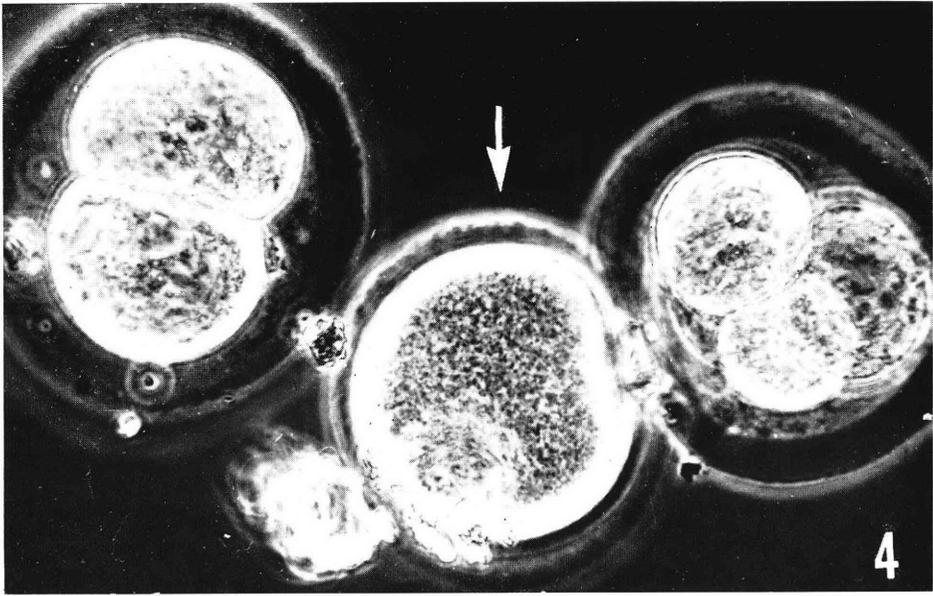


PLATE 1

(All figures except figure 6 and 7 were photographed under a phase-contrast microscope.)

1. A smaller 2-cell rat egg with a larger uncleaved hamster egg (arrow), recovered from the hamster Fallopian tube 2 days after transfer of 1-cell rat egg. Approx. $\times 480$.
2. Eight-cell rat morula, recovered from the hamster Fallopian tube 2 days after transfer of 2-cell rat eggs, note the sperm head visible at 2 o'clock in the perivitelline space. Approx. $\times 480$.
3. A rat blastocyst recovered from the hamster uterus 12 hours after transfer of rat morulae. Approx. $\times 480$.



4. Two hamster eggs cleaved into 2-cell and 4-cell stage respectively, with a smaller uncleaved rat egg (arrow), recovered from the rat Fallopian tube 2 days after transfer of 1-cell hamster eggs. Approx. $\times 480$.
5. A degenerated hamster egg, recovered from the rat Fallopian tube 2 days after transfer of 2-cell hamster eggs. Approx. $\times 480$.
6. Deciduomata induced in the left lower uterus of the rat 9 days after transfer of hamster morulae. Approx. $\times 1.8$.
7. Histological section of the upper swelling shown in figure 6. Note the cellular decidual tissue which fills the uterine lumen and the absence of any differentiated fetal elements. H. E. stain Approx. $\times 18.2$.

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とする。

日本不妊学会雑誌 15巻3号

昭和45年6月25日印刷

昭和45年7月1日発行

編集兼 芦原慶子
発行者

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