

Japanese Journal of Fertility and Sterility

October 1970

日本不妊学会雑誌

第 15 卷

第 4 号

昭和 45 年 10 月 1 日

— 目 次 —

原 著

- 家兎胞胚の体外培養，とくに Embryonic-disc の
分離培養による心臓原基の誘導について……………平 川 舜・1
- In Vitro 培養下，兎胚 (Preprimitive Streak Stage)
から Somite Stage への発達……………尾川昭三・他・22
- 排卵誘発物質 Compound F6066 の作用機序
—特に中枢神経系活動への影響—……………飯塚理八・他・27
- 小用量の norethindrone-mestranol 剤 (ノアルテン-S錠 1)
の経口避妊に関する研究……………東山秀声・他・34
- 最近経験した真性半陰陽を含む各種半陰陽 5 症例……………高田元敬・他・50
- 切迫流産における血中 HCG 値について (尿中 HCG 値との比較)……………伊藤俊一・56
- 17 α -hydroxy-19 nor-progesterone caproate の
頸管粘液におよぼす影響について (その I)……………小畑 義・他・62
- ホルモンによる避妊……………玉田太朗・他・70
- 不妊婦人における子宮頸管および子宮峽部の形態に関する
レ線学的研究……………田中良憲・他・79
- 我が教室における最近の排卵誘発成績……………植村次雄・他・84
- Gestagen-Estrogen 混合剤が妊孕現象，とくに胎仔に
及ぼす影響に関する実験的研究……………館野政也・他・90
- 不妊と頸管内細菌……………高田道夫・他・94
- 第 11 回 日本不妊学会東北支部総会抄録……………98

第7回 国際不妊学会会議

組織委員会

会長	長谷川敏雄
副会長	市川篤二
同	藤森速水
同	西川義正
事務総長	林基之
プログラム委員長	小林隆
財務委員長	松本清一
第16回日本不妊学会 総会会長	野嶽幸雄

日程

1971年10月17日(日)～25日(月)

月日	午前	午後	夜
10月17日(日)	理事会 受付	評議員会 受付	開会式
18日(月)	特別 講演 展示	シンポジウム 上映 展示	ウェルカム・ パーティ
19日(火)	同上	同上	
20日(水)	同上	同上	
21日(木)	同上	同上	
22日(金)	同上	同上	公式晩餐会
23日(土)	同上		
24日(日)	シンポジウム 主題群		
25日(月)	同上	閉会式・ サヨナラ・ パーティ	

○17日～23日は東京プリンスホテルに於て、24日、25日は国立京都国際会館に於て行われます。

学術プログラム

〔I〕 シンポジウム

★東京会議

1. 生殖現象の内分泌学的調節
Endocrine Control of Reproduction
2. 生殖現象における免疫学的因子
Immunological Factors in Reproduction
3. 卵管の生理と病態生理
Physiology and Pathophysiology of the Fallopian Tube
4. 人工授精
Artificial Insemination

5. 人工妊娠中絶
Induced Abortion
6. 生殖器結核の治療
Treatment of Genital Tuberculosis
7. 男性不妊
Male Infertility
8. 避妊における最近の傾向
New Trends in Fertility Control
9. 生殖現象における最近の研究
Recent Investigations in Reproduction

★京都会議

1. 哺乳類卵の試験管内培養と体内移植
In Vitro Culture of Mammalian Eggs and Transplantation into Recipients
2. 生殖現象における細胞遺伝学
Cytogenetic Aspects of Reproduction
3. 雌性器内におけるキャパシテーションと性細胞の生存
Capacitation and Gamete Survival in Female Genital Tract
4. 性器の臓器移植
Organ Transplantation in Reproduction

〔II〕 主題群

1. 卵巣機能の人工的調節
Artificial Control of Ovarian Function
2. 精液の生化学
Biochemistry of Semen
3. 頸管粘液の生化学
Biochemistry of Cervical Mucus
4. 試験管内精子貯蔵の生物学的諸問題
Biological Aspects of Sperm Storage in Vitro
5. 卵管疏通性の抑制
Control of Tubal Patency
6. 糖尿病と不妊
Diabetes and Infertility
7. 子宮腔内癒着の診断と治療
Diagnosis and Treatment of Intrauterine Synechia
8. 薬物と不妊
Drugs and Infertility
9. 子宮内膜症と不妊
Endometriosis and Infertility
10. 女性不妊の内視鏡検査
Endoscopy in Female Sterility
11. 生殖現象における遺伝学的諸問題
Genetic Aspects in Reproduction

12. 性腺の組織学と妊孕性
Histology of Gonad and Fertility
13. 男性不妊のホルモン療法と手術療法
Hormonal and Surgical Treatment of Male Sterility
14. 自然流産のホルモン療法と手術療法
Hormonal and Surgical Treatment of Spontaneous Abortion
15. 核医学と妊孕性
Nuclear Medicine and Fertility
16. 不妊の心身症
Psycho-somatic Aspects of Infertility
17. 生殖に及ぼす放射線の影響
Radiation Effects on Reproduction
18. ティーンエイジャー妊娠の社会的諸問題
Social Problems of Teenager's Fertility
19. 雄性の一時的不妊
Temporary Sterilization of Male
20. 不妊におけるトキソプラズマ症
Toxoplasmosis in Infertility
21. 卵巣機能障害の治療
Treatment of Ovarian Dysfunction
22. 卵管形成術
Tubal Plastic Surgery
23. その他
Others

参加登録手続き

1. 申込み方法

- (1) この会議に参加をご希望の方は、「FORM A」に所定の事項をご記入のうえ、1970年11月30日までに、事務局(表紙裏参照)にお申込みください。
- (2) 参加費は下記の通りとなっております。

	参加登録		昼食会議	サヨナラパーティ (於：京都)
	1970年12月31日までに お申し込みの場合	1971年1月1日以降 お申し込みの場合		
会員	30,000円	36,000円	2,700円	3,600円
同伴者	10,000円	12,000円	2,700円	3,600円

2. 送金方法

参加費のご送金は、下記のいずれかの方法にてお願いいたします。

① 銀行振込

取扱銀行 東京都文京区本郷 3-33-5 〒 113

三和銀行本郷支店 電話 (03) 813-5211

「第7回国際不妊学会組織委員会口座」

(口座番号) No. 41866

○お振込は最寄の三和銀行本店・支店(同封の赤枠の三連式払込依頼票をご使用ください)の窓口でお取り扱いたします。

○なお、止むを得ず三和銀行以外の銀行をご利用の際は、整理の都合上お手数ながら、受付銀行を通して振込通知書を三和銀行本郷支店宛お送りください。

② 郵便振替

最寄の郵便局の窓口で、お取り扱いたします。(同封の青枠の二連式払込票をご使用ください。)

3. 申込みの取消し

ご送金の後に、参加の取消しをなさる方には、取消しを事務局が1971年4月1日以前にお受けした場合には、ご送金額の全額を返金いたします。

上記金額の返金は、会議終了後に一括して行いますので予めご了承ください。

発表申込み手続き

1. 主題群

主題群には、シンポジウムの招請演者以外、誰でも発表できます。発表時間は1人8分ですが、1人1題に限ります。

a) 発表申込み

主題群に発表をご希望の方は、「FORM C-1」に所定の事項をご記入のうえ、1970年11月30日までに、事務局にお申込みください。

発表論文は組織委員会プログラム委員会で決定されます。

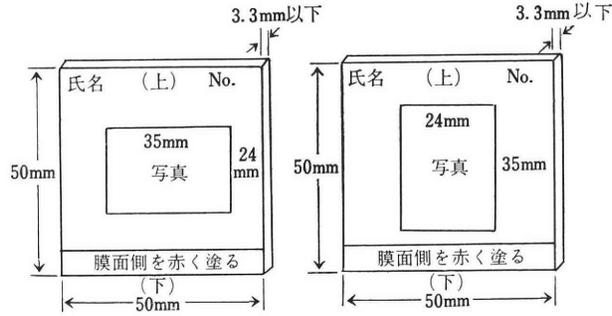
b) 抄録

抄録は、「FORM C-2」を使用して、必ず英文・和文の両方を事務局にお送りください。英文は200語以内でタイプライターを使用し、和文は楷書ではつきりとお書きください。締切日は1971年1月31日です。厳守されるようお願いいたします。

抄録の記載に際しては、できるだけ論旨を明確にし、研究の目的・方法・結果を簡略に述べ、結論を明らかにしてください。

c) 全文原稿

全文原稿は、抄録と同じく、英文・和文の両方をご提出ください。指定の書式はありませんので、英文はタイプ用紙、和文は400字詰原稿用紙(A4判横書)を使用してください。英文は800語以内でタイプライターを使



用、和文は楷書ではつきりとお書きください。締切日は1971年5月31日ですが、なるべく早目にご提出ください。

d) スライド・映画

発表者は、10枚以下のスライド或いは16mmの映画を使用することができます。スライドは、上記の規格に統一されております。ご注意ください。

2. 学術映画

学術映画発表をご希望の方は、「FORM D」に所定の事項をご記入のうえ、1970年11月30日までに事務局にお申込みください。

発表は1人1題に限り、15分以内とし、16mmフィルムのみ認められます。

選考は組織委員会にご一任ください。

3. 学術展示

東京会議と並行して、東京プリンスホテルにおいて、学術展示会が開催されます。

出展ご希望の方は、「FORM E」に所定の事項をご記入のうえ、1970年11月30日までに事務局にお申込みください。

展示物の選考は、組織委員会にご一任ください。

4. 商業展示

学術展示とともに、同会場において、商業展示が開催されます。

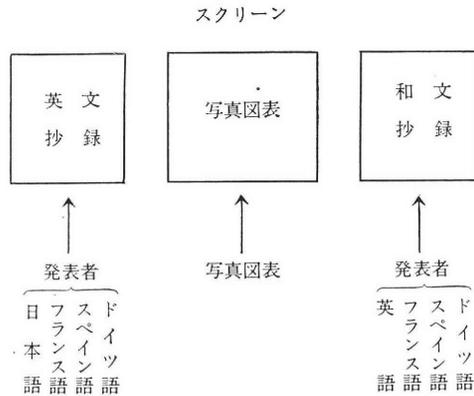
参加はご自由で、この会議内容に関するものであれば特に制限はありません。詳しくは、事務局にお問合せください。

会議における公用語

1. シンポジウム

シンポジウムにおける発表は、日本語、英語、フランス語、スペイン語、ドイツ語の5カ国語で行われます。

この会議では、同時通訳はありませんが、発表者の使用語以外の4カ国語で前以つて録音されたテープを、同



時に会場に放送いたします。

参加者は、レシーバーによりご自分の選択する国語をお聞きになれます。(レシーバーには5カ国語のチャンネル・セクターがあり、ご自由に言語を選択できます。)

2. 主題群

主題群の発表は、日本語、英語、フランス語、スペイン語、ドイツ語で行われます。ただし、同時通訳はありません。

なお、スクリーンを2面用意し、1つは英語以外の発表の抄録を英文で、他の1つは日本語以外の発表の抄録を和文で映写いたします。

社 交 行 事

- 1971年10月18日 歓迎パーティ
於：高輪プリンスホテル
19時30分～21時
- 10月22日 公式晩餐会(着席)
於：帝国ホテル
20時～22時30分
(平服)
- 10月25日 サヨナラパーティ
於：国立京都国際会館宴会場
13時～14時30分
(参加費 3,600円)

CONTENTS

Cultivation of the Rabbit Blastocyst In Vitro, especially Induction of Beating Cardiac Primordia from Dissected Embryonic-disc.....	<i>S. Hirakawa</i>	1
<i>In vitro</i> Development of the Rabbit Embryo from the Stage of Preprimitive Streak to Stage of Somites with Heart Beat.....	<i>S. Ogawa & A. Nozawa</i>	22
The Electrophysiological Study on the Ovulating Effect of Compound F6066 for the Rabbit Brain.....	<i>R. Iizuka, T. Makino & T. Hara</i>	27
Clinical Studies on the Low-Dosage Norethindrone-Mestranol Combination Method for Long-Term Oral Contraception	<i>S. Higashiyama, T. Obata, Y. Higashi, I. Ueha, S. Kizu, M. Kitazima & H. Sakamoto</i>	34
Five Cases of Various Hermaphroditism.....	<i>M. Takata, H. Tanaka & T. Niijima</i>	50
Serum HCG Estimations in Threatened Abortion (In Comparison with Urinary HCG amounts)	<i>S. Itoh</i>	56
Effects of 17 α -hydroxy-19-nor-progesterone Caproate on Human Cervical Mucus (I).....	<i>T. Obata, H. Fujita, I. Ueha & A. Murakami</i>	62
Contraception using hormone	<i>T. Tamada & S. Matsumoto</i>	70
The Radiographic Appearance of the Uterine Cervix and Isthmus of Sterile Women	<i>Y. Tanaka & K. Masumoto</i>	79
Latest Results of Treatments on the Ovulation Induction at our Clinic.....	<i>T. Uemura, N. Suzuki, J. Ogata, H. Akiyama & T. Koozaki</i>	84
Experimental Study of the Effect of Gestagen-Estrogen Compounds on the Conception, Development of Fetus and Delivery	<i>M. Tateno & H. Shimada</i>	90
Bacteriology of the Cervix in Human Sterility	<i>M. Takata, T. Watanabe, H. Yamada & H. Kamemori</i>	94

家兎胞胚の体外培養，とくに Embryonic-disc の 分離培養による心臓原基の誘導について

Cultivation of the Rabbit Blastocyst In Vitro, especially Induction of
Beating Cardiac Primordia from Dissected Embryonic-disc

東邦大学医学部産科婦人科学教室 (主任 林基之教授)

平 川 舜

Shun HIRAKAWA

Department of Obstetrics & Gynecology, School of Medicine, Toho University, Tokyo.

(Director: Prof. Motoyuki HAYASHI, M.D.)

自然交配により回収した家兎胞胚，6.0日胚，6.5日胚，7.0日胚を材料として，以下の実験を行なった。まず，in vivo における着床から着床直後における現象を検索する目的で，分離した embryonic-disc を primary explant として体外培養の結果，器官原基のうち，primitive tubular heart，血管内皮，血球を誘導した。引き続き同一材料の長期培養を行ない，器官原基誘導率，誘導時間，拍動数の経時的変動，温度による拍動数の変化，拍動数と培養細胞群の形態との相関性，同一細胞の集合現象，拍動細胞群の形態と aging との相関性等について分析し，さらに拍動機能が，細胞レベルで存在することを確認した。培養過程の観察後，組織学的検索を併せて行なった。次いでトロホプラスト領域細胞群の培養により，拍動コロニーが誘導された現象から，内胚葉を作用系，extra-embryonic mesoderm を反応系とする誘導的相互作用の canalization が推定され，従つて哺乳類の心臓血管系の誘導においても，この両胚葉が関与していることが示唆された。トロホプラスト細胞の単層培養より，本細胞は，培養液中 NaHCO_3 26 mM/L: pH 7.4の条件では，きわめて attachment の強い細胞であること，そのコロニー形成速度が，所謂二倍体増殖様式の中でも，HeLa 細胞にまさるようである。

緒 言

発生学の領域において，はじめて体外培養の技術を用いたのは，Schenck(1880)であるが，それ以後に発表された受精から着床に至る，所謂着床前期についての研究課題は，形態学的面から，最近では，とくに胞胚を中心に，その發育分化に不可欠な環境，栄養要求，代謝等の定量的分析が in vitro で行なわれ，多数の有意な研究成果が堆積されて，次第に複雑な初期発生過程が解明されつつある。しかし，着床準備態勢から着床直後に至る胚および環境の変化を，in vivo において動的に観察することは不可能に近く，一方 in vitro に移し観察することも，技術的にはなほ困難なため，未だ不明の点が多い。臨床的意義における器官発生と先天異常等の課題の究明には，まずこの過程の解明が急がねばなら

ない。そこで本実験では，この哺乳類胚における一連の妊娠成立機序のうち，とくにこの過程に焦点を絞り，そこに観察される現象を解析する目的で，家兎胞胚を材料とし，分離された embryonic-disc(以下 Em-d と略)の体外培養により，器官原基のうち，primitive tubular heart(以下 P.T.H. と略)を誘導し，引き続きその長期培養成績より，細胞の集合現象，培養心臓細胞の aging，細胞レベルでの拍動コロニーの誘導現象，細胞単位での拍動機能等を確認した。一方トロホプラスト領域細胞(以下 Tr. 領域細胞と略)の細胞培養による動態から，in vivo における着床時 Tr. 細胞の性状の分析を試み，さらに in vivo での胞胚よりみた着床現象の観察(林，1961，1967)を行ない，若干の知見をえたので報告する。

実験材料および方法

1. 材料

体重 2.8~3.0kg の生後 6~8 カ月の未産および 1~2 経産の成熟雌家兎より、交配確認時を 0-point とし、正確に 5 日 0 時間、5 日 12 時間、6 日 0 時間、6 日 12 時間、7 日 0 時間に回収した胎胚を使用した(付図 1, 2, 3, 4) (図 1)。

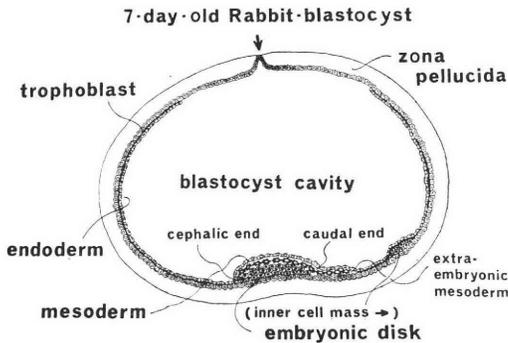


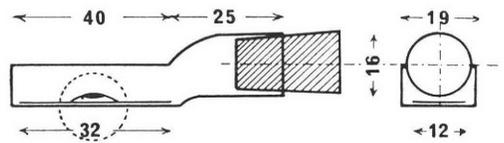
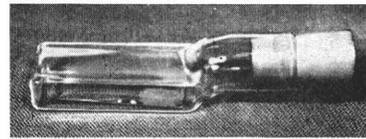
図 1

2. 胎胚採取法

雄家兎より隔離し、恒温室内、固形飼料にて飼育した上記成熟家兎を自然交配させ、腔内精子を確認直後に、HCG 250単位を静注した。ヘキサバルビタール 0.1 mg 静麻下に無菌的に開腹、子宮を摘出し、抗生物質 (Pc 500単位/ml, SM 500 μ g/ml) 添加 Hanks 液中に保存し、37°C に維持した。胎胚採取以後の操作は、無菌室にて無菌操作下に行なった。摘出子宮を Hanks 液中で附着赤血球を十分に洗い落とし、6.0 日胚以前の材料では、Hanks 液による子宮内洗浄法により、6.5 日胚以降では、子宮壁切開法により、胎胚を intact な状態で採取し、10% 仔牛血清添加 TCM 199 中で 37°C に保存した。

3. Em-d の分離および Tr 領域細胞のトリプシン処理

実体顕微鏡下で、無菌的に 0.45 \times 13 mm TELMO disposable syringe を用いて、透明帯を機械的に除去すると、胎胚腔内圧の変化に伴い、Em-d の部位が生理的状态とは逆に外方に凸出する(付図 5)。次いで Moog 法 (Moog, F. et al 1958) を応用した既発表の処理法 (林他, 1968) で胎胚を花卉状に展開する(付図 7, 8)。中央部の Em-d の辺縁に沿って、展開に用いた syringe の先端をきかせて、Em-d の辺縁に沿って、円形、楕円形、扇形等に切り離し(付図 6)、これをマイクロペットにて培養器(図 2, 三春 MA 8)、角チューブ内 10 \times 35mm カバーガラスの中央部に植込む。



Culture Flask (Miharu MA8)

図 2

(単位 mm)

Em-d 分離後残りの Tr 領域細胞は、胎胚 10個/0.1% トリプシン 0.1ml の割合で小型ペトリ皿に移し、37°C、3 分間静置する。続いてマイクロペットにて反復吸引すると単一細胞になり、これを 30% 仔牛血清添加 TCM 199, 2 ml に浮遊させる。細胞数 10⁴/ml の濃度で、0.2~0.4ml をカバーガラス入り角チューブ、および小型ペトリ皿 (Falcon plastic dish も併用) に植込む。この際カバーガラス上に細胞浮遊液を載せる状態とし、植込んだ Tr 細胞が、ガラス面に plate するまでは、培養液がこぼれぬように注意する。これは少数細胞培養のため、細胞損失を最小限にとどめるためである。

4. 培養液

基礎培養液として TCM 199 (中井, 奥村, 1964) を使用し、これに仔牛血清、牛血清、家兎血清 (妊娠、非妊娠)、馬血清、ヒト血清を夫々 10, 20, 30% に添加した 6 群 18 種類について検討したところ、30% 仔牛血清添加 TCM 199 に最も満足すべき結果が得られたので、これを本実験系の培養液組成とした。緩衝系として、NaHCO₃ 26 mM/L (2.2g/L) を、抗生物質としては、Pc 100単位/ml, SM 100 μ g/ml を加えた。

5. 培養法

1) Em-d の培養法

培養液約 0.2ml をマイクロペットにとり、角チューブ内カバーガラス上に植込まれた Em-d を被うように滴下する。ゴム栓を施す前に、CO₂-incubator (5% CO₂ in air に調整) 中で培養器内の気相を置換後、ゴム栓で密閉、所謂閉鎖系静置単層培養法 (中井, 奥村, 1964, Merchant, D. J. et al 1965, Parker, R. C. 1961) を行なう。最初の培養液交換は、12 時間後に、以後 24 時間毎に、さらに長期培養に移行してからは、原則として隔日に行なう。交換培養液量は、Tr 細胞がガラス面に plate してからは、0.5~0.6ml に増量し、長期培養の段階に入り、培養細胞数が増加してからは、1.0 ml 前後に増量する。

2) Tr 細胞の培養法

培養液および培養環境は, Em-d のそれに準じた. 培養法は, 角チューブを用いる閉鎖系静置単層培養法と, ペトリ皿 (Falcon plastic dish も併用) による開放系静置単層培養法を応用した. ただし後者では, 培養環境のうち, 気相は 5% CO₂ in air に調整された CO₂ incubator を使用した.

6. 培養環境

培養温度は 37±0.5°C に維持, 培養中の培養液の pH は, 培養器内気相を, 液交換の際に 5% CO₂ in air に置換し, さらに NaHCO₃ 26 mM/L の存在で, Phenol Red を指示薬として, pH 7.4±2 に維持した. 培養器内湿度を原則として 100% に維持することに努め, これを液交換の頻度を定める因子の一つとした. 培養は遮光下に行ない, 観察時間 (光源照射時間) を必要最少限にとどめ, 断熱フィルターを常用した.

7. 観察方法

培養細胞の観察は継続培養を目的としているため, 一般観察 (培養細胞の形態観察, 拍動数のカウント等), 映画撮影, 顕微鏡記録とも, すべて恒温箱を用い, 培養条件下で材料をとりだすことなく培養器外から行なつた. 一般観察には, オリンパス 倒立顕微鏡 CS により, 誘導過程の経時的記録には, 撮影装置オリンパス—モデル ACM-3, カメラ—Paillard Bolex を用いた 16 mm 顕微鏡映画撮影により, フジパクロネガ RP を使用し, 撮影画数 16 画/秒で行なつた. 顕微鏡写真撮影はオリンパス FH (PM 7), ニコン L (PFM) により, フィルムはネオパン F, ミニコピーを使用した.

8. 組織学的検索

培養拍動組織をリン酸緩衝液で洗滌後, 中性ホルマリンおよび酢酸アルコールにより二重固定し, 約 6 μ の切片とし H.E. 染色を行なつた. 一部は, 電顕標本作製法に準じ約 1 μ の切片とし, H.E. 染色を行ない光顕的に観察した.

Tr 細胞の初代培養におけるコロニー形成の観察は, pH 6.8 のリン酸緩衝液で洗滌後, pH 6.8 でのギムザ染色によつた.

実験成績

1. Primary explant (Em-d) の植込みより初期拍動までの培養経過

培養器内に植込まれた primary explant (Em-d) の形態は, Tr 細胞の増殖様式およびその性状より 2 群に分れる. すなわち Em-d の Tr 細胞層が, カバーガラス面に接して植込まれた系では, 48—72 時間の間に Tr 細胞のガラス面への attachment が始まり, 増殖速度の

はやい Tr 細胞がまず outgrowth し (付図 12), これを床として, その上で胚細胞が増殖分化する (A 群). 付図 13, 14 は Tr 細胞層を床として outgrowth する胚細胞を捉えたものである. 植込み操作の過程で, Em-d 側がガラス面へ向う群では, Tr 細胞のガラス面への attachment が阻害されるため, Tr 細胞は培養液中に浮遊状態で増殖し, やがて Tr 細胞間に融合がおり, その結果球状を呈し, 原基形成も浮遊状態で進行する (付図 15). この群では, その後の発育形成により, さらに 2 種類に分類される. すなわち心臓原基の形成直前, あるいはその後に Tr 細胞がガラス面に attach して安定する群 (B 群) (付図 16) と, 一定期間培養液中に浮遊して, 胎児形成が進行し, やがて変性に陥っていく群 (C 群) とに分かれる.

2. 心臓原基の誘導

1) 原基誘導過程での経時的拍動数と形態の変化

心臓原基誘導過程の経時的観察から, 定型的な系について, 初期拍動の確認時期, 拍動のリズム, 数, 培養拍動細胞群, 器官原基, outgrowth 後の拍動組織の形態および拍動持続日数等の観点から, 便宜上次の各期に分類した (図 3 a, 3 b).

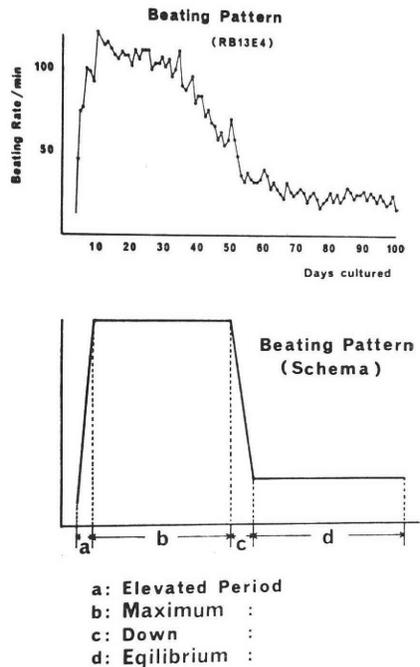


図 3

a) 初期拍動より拍動数上昇期および P.T.H. 誘導期

primary explant として Em-d を植込んでより, 48

—72時間の間に primitive streak の尖端部 primitive knot の両側に該当する部位に著明な細胞増殖がおこり(付図17),その中心部より不規則緩慢な拍動が始まり,定型的培養系の観察結果より,交配時を 0-point として,9日16時間後には,拍動数も次第に増加し,動きも律動的となり,ニワトリ胚の paired angioblastic rudiment (以下 P.A.R. と略)に相当する段階に入る(付図18).やがて左右から融合して10日12時間後には P.T.H. が形成され,拍動数は極値に達しリズムも安定する(付図19).この期間は,6.0日胚群で36—48時間,6.5日胚群で24—48時間,7.0日胚群で15—36時間である(図4).

を受け,器官としての立体性が失われ, outgrowth の結果,二次元方向への増殖が著明となり,培養器内の比較的広範囲で,一定のリズムのもとに拍動が持続する. P.T.H. 期より outgrowth 期に移行しても拍動数は不変で,かつ,全培養経過中の極値を呈する. 各胚令とも好条件下で,拍動数は120/分前後に要約され,とくに 6.5日胚群では,180/分,210/分,220/分に達した系が存在した(図5). 本期の継続期間は,6.0日胚群8—38日,6.5日胚群14—45日,7.0日胚群10—18日で,6.5日胚培養系が最も長く,胚令別長期培養日数に一致する(図6).

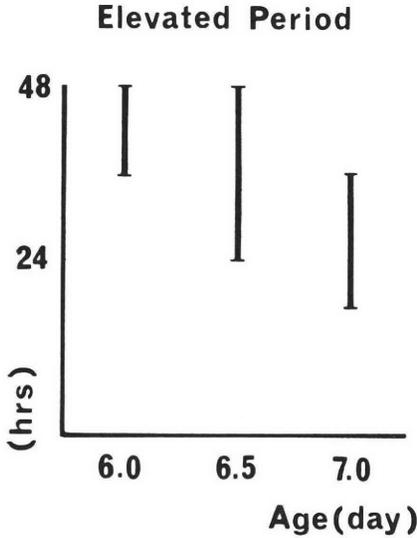


図 4

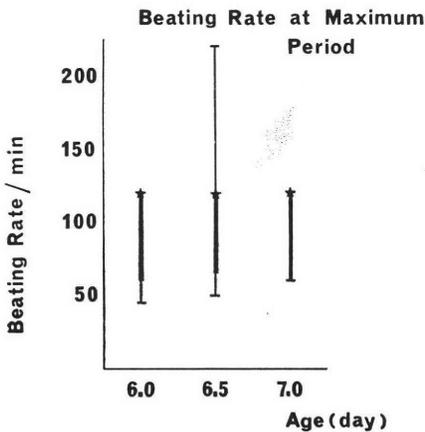


図 5

b) 拍動数極期および P.T.H. 誘導期より拍動組織の outgrowth 期

P.T.H. 誘導期を経過すると, 静置単層培養法の影響

Maximum Period

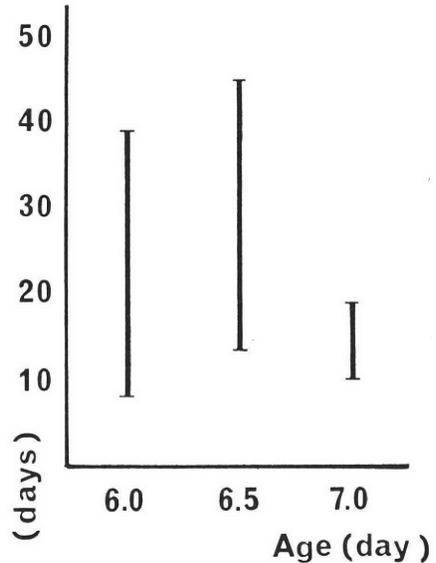


図 6

c) 拍動数下降期および拍動組織の outgrowth 期より集合期

拍動様式は,なお律動的であるが,拍動数は極値より急激に減少する.形態学的には,十分に outgrowth した拍動組織が増殖を停止し,次第に集合化への傾向をとり始める時期に一致する.各胚令別培養系とも,24—48時間以内に次の平衡期に到達する(図7).

d) 拍動数平衡期および拍動組織集合期より拍動コロニー形成維持期

拍動組織の集合現象の結果,数層の細胞層からなるコロニーを形成する.コロニーの形態は,物理的に最も安定した円形—楕円形群(付図21)が最も多く,次いで葉状群(付図22),帯状群(付図23),乳首状群(付図24)の順である.拍動数は6.0日胚群で,平均20/分(10—60/分),6.5日胚群で平均20/分(10—40/分),7.0日胚群で

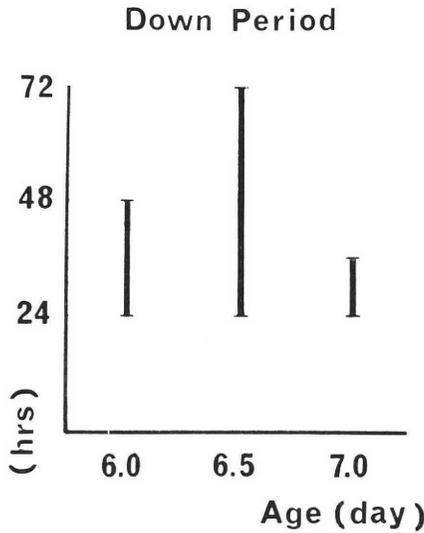


図 7

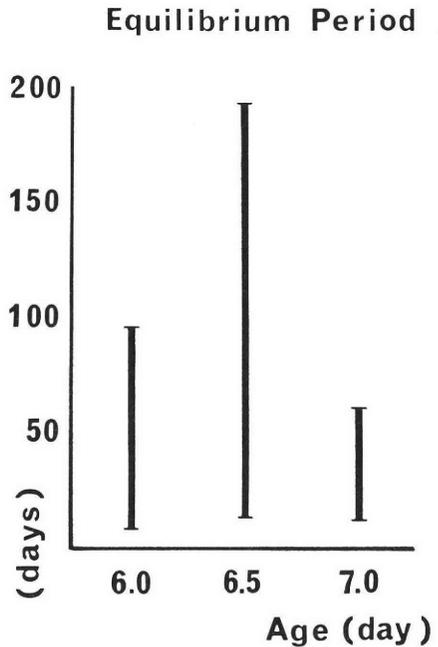


図 9

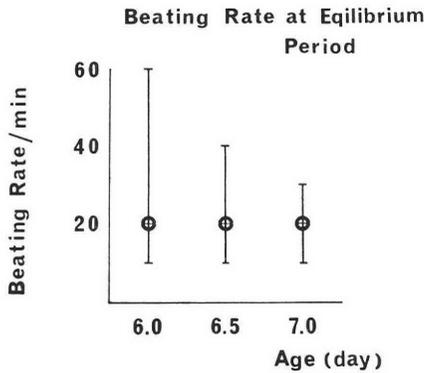


図 8

平均20分(10—30分)であり、拍動は律動的であるが、極期に比較して温度影響が強い(図8)。本期の持続日数は、6.0日胚群8—95日、6.5日胚群14—194日、7.0日胚群11—60日であった(図9)。

e) 拍動停止および拍動組織の変性期

C群は変性への移行がはやく、拍動期間はたかだか3—4週でいどである。AおよびB群ではその変性に至る経過は多様であり、培養日数と相関性がある。すなわち150日を越える培養系では、Tr細胞、胚細胞とも急激な形態変化を起こさず、次第に変性に移行した。150日前後の培養系で、床となっているTr細胞層の急激な培養器面からの剝離のため、あたかも巻いたジュウタンのような形態を呈しつつ、培養液中に遊離した系が認められた。培養50—150日群に多く観察された系は、Tr細胞が培養器面へattachできなくなり、培養細胞群の周辺部より剝離が続き、ついに培養液中へ浮遊してしまう。

このため床を失なつた胚細胞は、周辺部より一つ一つが球形を呈し遊離して行き、一方拍動部位を中心に極めて厚い細胞集塊を形成し、ついにはきわめて縮小された拍動組織群となる(付図25)。依然として拍動は継続するが、およそ1週以内に完全な変性に移行し拍動を停止する。少数例ではあるが、Tr細胞、胚細胞が浮遊消失した結果、拍動コロニーのみが球状を呈し、辛うじてガラス面にplateして、比較的長期に亘り拍動を継続するものもある(付図26)。

2) 誘導率

誘導成功率を論ずる際、胞胚の発育分化の程度により著差があるので、最初に胚令との相関性について、正確な規正が必要となる。そこで、Waddington (1933) および Lutwak-Mann (1961, 1962) の胚令と Em-d の成熟度を比較した分類表を criteria として検討した結果、両者の相関性が本実験条件を十分に満したので、便宜上胚令をもって代表させる(付図7, 8, 9, 10)。

胚令別誘導率は、5.0—5.5日胚：0% (0/84), 6.0日胚：52% (58/111), 6.5日胚：62% (84/135), 7.0日胚：85% (56/66), ただし、7.0日胚群では培養液の事故により1系列5培養系が変性に移行した例が含まれているので、これを除くと92%に達する(表1)。

3) 誘導までの所要時間

図10は、primary explantとしてEm-dを培養系に移してより、初期拍動確認までの時間函数を胚令別に示

表1 Induction Rate

Age (day) after mating	Rabbits	Blasto-cysts	Induced beating cardiac primordia	Induction Rate (%)
5.0	5	38	0	0
5.5	5	46	0	0
6.0	15	111	58	52
6.5	16	135	84	62
7.0	10	66(61)	56	85(92)
	51	396(391)		

Initiation of Myocardial Contractions

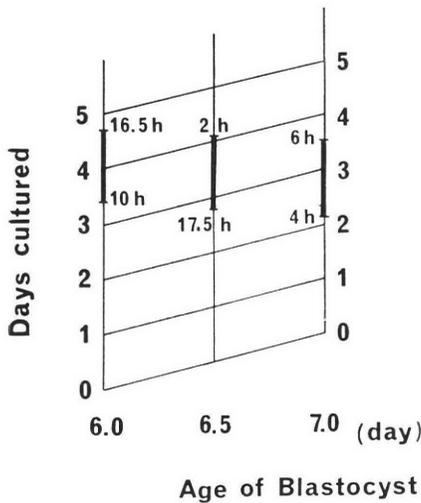


図 10

したものである。誘導までの所要時間は、培養系に移してから6.0日胚：3日10時間—4日16.5時間、6.5日胚：2日17.5時間—4日2時間、7.0日胚：2日4時間—3日6時間に分布する。そこで“胚令+培養系での誘導所要時間”を最も短い系で胚令別にみると、6.0日胚：9日10時間、6.5日胚：9日5.5時間、7.0日胚：9日4時間の成績がえられた。

4) 拍動持続日数

図11は、胚令別拍動持続日数を総括したものである。6.0日胚群：平均49日(16—81日)、6.5日胚群：平均67日(6—225日)、7.0日胚群：平均41日(8—86日)である。

5) 拍動数におよぼす温度の影響

培養温度を変えると、拍動数が変動する。36—38°Cでは、拍動数はほとんど変わらず、温度がこれ以上または以下になると減少する。また20—39°Cの間では、至

Days cultured (until beating stopped)

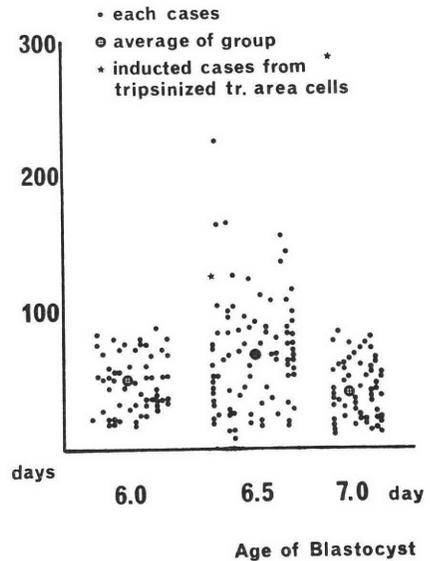


図 11

Correlation between Beating Rate and Temperature

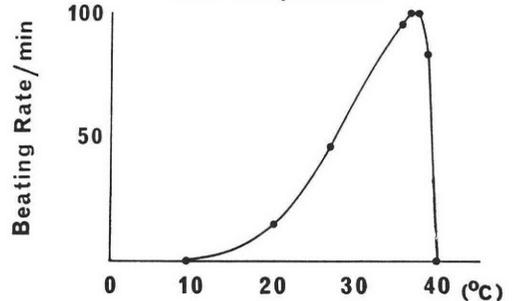


図 12

適温度に戻すと拍動数は、可逆性に極値に回復するが、この範囲を越えた40°C、10°Cでは不可逆性となり、拍動を停止する(図12)。27°Cでは36—38°Cの拍動数に比較して平均50%(40—67%)の低下を示す(図13)。

6) 心臓原基の組織像

拍動開始より10日目の6.0日胚より誘導された心臓原基のH.E.標本では、E好染の原形質中にH好染の楕円形核をもつ多核細胞が認められ、この細胞は内皮様細胞で連絡されている(付図27, 28)。培養30日目の6.5日胚では、E好染の筋原線維が観察され、核は長楕円形化し、6.0日胚の組織像に比較して、筋線維としての形態が具備され始めている(付図29, 30)。

3. 細胞レベルでの拍動

6.5日胚(培養系11E7)で、培養9日目、拍動細胞

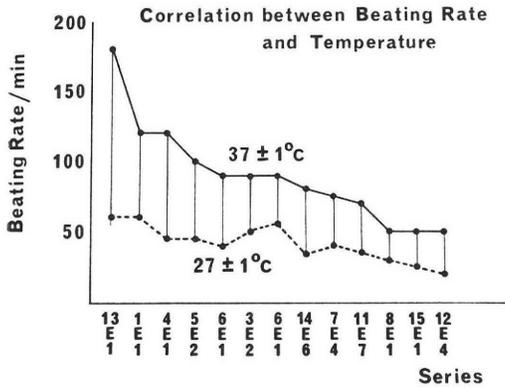


図 13

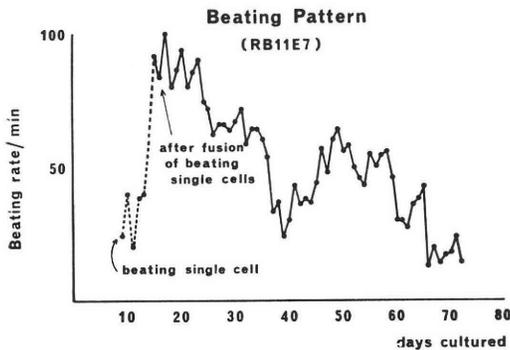


図 14

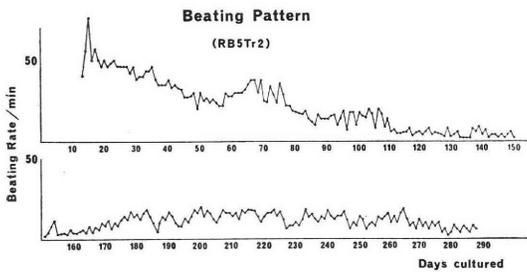


図 15

の outgrowth が始つた時期において、細胞レベルで、夫々独自のリズムの拍動現象が観察された(付図31)。その後、順次拍動細胞の融合がおり、培養15日目には、単一細胞より筋原線維としての形態を呈し、同時に一定のリズムに同調されて拍動するに至つた(付図32, 33)。図14は11E 7系の拍動パターンを示す。この系では、培養72日目に拍動が停止した。

4. 血管および血球の誘導

6.5日胚、培養32日目、エボン包埋標本で観察すると、筋原線維層内に管腔形成が認められ、管腔壁は幼若型立方上皮様細胞に囲まれ、その核は楕円形、細胞質は明る

く、一部に多核細胞もみられた。これらは所謂腫瘍型未熟細胞とも異なり、その細胞形態はきわめて特異である。管腔内には幼若血球成分が認められた(付図34, 35)。

5. Tr 細胞領域の培養成績

1) Tr 細胞の初代培養

Tr 細胞のトリプシン処理によりえられた単一細胞を植込んでより(付図36)、2—3時間後には既に細胞の plate が始まり(付図37)、5時間後には分裂が始まる。コロニーの経時的増殖度は、HeLa 細胞のそれにまさるようである。これを継続培養していくと、Tr 細胞のやや楕円形核で、細胞質の明るい大型の細胞が、規則正しく細胞分裂をくり返しつつ、コロニーを形成し(付図38)、やがてコロニー間の融合がこる。培養1週頃より細胞形態が、全く統制を失い細胞境界も不規則化し、空泡形成とともに、あたかも悪性腫瘍像を思わせるきわめて異様な形態を呈し始める(付図39)。培養 Tr 細胞が一層の状態から多層化への傾向をとり始め、比較的早期に変性過程に移行していく。

2) Tr 細胞の初代培養過程における拍動コロニーの誘導現象

6.5日胚の Tr 細胞領域のトリプシン処理による細胞培養から、3 Tr 1, 5 Tr 2 の2系列に拍動コロニーの誘導が観察された。3 Tr 1系では、培養4日目より一部に著明な細胞集積がおり、7日目より初期拍動を確認した。13日目より筋線維様の細胞集塊が、同一培養器内に比較的近接して、4カ所で拍動コロニーを形成し、拍動数およびリズムはすべて同数同律であつた(付図40, 41)。62日目にこれらのコロニーは、一カ所に融合し(付図42)、124日目に拍動が停止した。5 Tr 2系では、培養13日目より筋原線維の集束された樹木状の細胞群の形成とともに、一定方向にきわめて律動的な拍動を行ない(付図43, 44)、たまたま16日目に全く独自のリズムで拍動している単一細胞が観察され、29日目に他の拍動細胞群に融合した(付図45)。この系の拍動継続期間は288日に及んだ。形態学的には、コロニー形成はおこらず、拍動細胞群を含む胚細胞の outgrowth に続く増殖の結果、若干多層化の傾向をとり、終期には、拍動もわずかに培養細胞群の一部に観察されるに過ぎない状態となつた(付図46)。図15は5 Tr 2系の拍動パターンを示す。

6. in vivo に観察された Tr 細胞の透明帯穿通現象

着床直前に採取した7.5日胞胚に観察された現象で、ab-embryonic pole において、透明帯側に向つて Tr 細胞群がテント状に挙上され、その先端は透明帯を穿通し子宮内膜側に侵入していると思われる(付図47)。図1(矢印)はその略図である。

総括と考按

哺乳類における心臓原基の誘導に関する研究は、ラット、マウス、モルモット、家兎を材料とした、所謂“beating heart”の観察として、かなり古くから報告されているが、その報告例はきわめて少ない (Waddington, et al 1933, Nicholas, et al 1934, 1938, Jolly, et al 1938, Dwinnell 1939, Cole, et al 1965, 林他, 1968, Ogawa, et al 1969, Daniel 1970). 培養に用いられた材料は、胎胚より体節形成後の胎児に至るまで多様であり、培養法も、plasma clot を用いた watch glass 法, hanging drop 法, raft technique, 新しくは Daniel (1970) の培養液灌流法等による explantation であるため、培養期間が、たかだか1週ていどにとどまり、培養例数も制約を余儀なくされてきた。一方ニワトリ、両生類を用いた、所謂予定心臓細胞の移動軌跡から、その局在領域、誘導的組織相互作用の実験的証明等、一連の細胞レベルでの研究成果は、哺乳類における原基誘導過程の分析に際して、貴重な資料となる (Vogt 1929, Rudnick 1938, 1955, Spratt 1942, Spratt, et al 1942, Rawles 1943, Bacon 1945, Ebert, et al 1953, 1955, Mulherker 1958, De Hann 1963).

本実験の特徴は、次の点に要約される。すなわち、細胞レベルに近い材料の特殊性と、細胞培養に繁用される閉鎖系静置単層培養法の適用、および培養器の選定が相俟つて、多数の培養系を同時に、かつきわめて簡便な操作でとり扱うことができ、汚染の危険の低い状態で、頻回の培養液交換を可能とした。また培養材料をとりだすことなく、検鏡、顕微鏡写真撮影、16mm 映画撮影が容易である。一方材料の切り出しが explant でありながら、一次より二次器官原基への誘導過程の観察から、さらに継続して最長例 288日に及ぶ拍動コロニーの長期培養を可能とした点にある。

実験に際して、培養細胞の同定が必要となる。本培養系における培養細胞群が、心臓細胞（多くは心筋細胞）であることを同定する規準の一つとして、組織学的検索と並んで、律動的な拍動の確認がある。ただし、これと鑑別を要するものに、平滑筋および骨格筋がある。平滑筋では、律動的収縮は常におこるとは限らず、またすべての細胞におこることはない (Lewis 1920)。また10日ニワトリ胚の気管支の培養で、10日間に亘り律動的な収縮を観察し、その数は、38°C 1回/30秒、37°C 1回/60秒、36°C で停止した (Levi: 1934)。骨格筋では、自発的収縮は、筋原線維出現以前から見られるが、すべての線維が収縮し、あるいは、一定のリズムで動くことはない (Pogonoff, et al 1946)。従つて、平滑筋、骨格筋

ともに律動的な収縮運動を、ある期間観察できるが、これも常におこるとは限らず、単位時間内の数は、きわめて少なく、また収縮運動が同調されることなく、継続期間も非常に短い。この事実より培養系心臓細胞にみる拍動とは容易に鑑別が可能である。

胎胚より分離した Em-d を primary explant として植込んでより、A群に観察される Tr 細胞の性状は、attachment の強さ、および outgrowth にみる増殖速度において、in vivo での着床時 Tr 細胞の機能を推定するのに、興味ある結果がえられた。まず定量的検討を目的として、Tr 細胞のトリプシン処理による単層培養を行なつたところ、培養液の緩衝系 NaHCO_3 26 mM/L (pH 7.4) の条件下で、未処理ガラス面にすぐれた attachment を示す細胞であることが明らかとなった。この結果より、培養液中 NaHCO_3 濃度については、Lutwak-Mann (1954), Böving (1960) 等による、着床時に胎胚中の NaHCO_3 濃度が上昇し、Tr 細胞の粘着力を増すという報告に示唆されるところが大きい。また Tr 細胞の増殖速度については、材料の量的制約上、同型培養による正確な増殖曲線は不明であるが、そのコロニー形成速度を比較観察してみると、Tr 細胞と同じ二倍体増殖様式による HeLa 細胞のそれにまさるようである。primary explant に観察された Tr 細胞の動態も、この成績によく一致した。Paul, et al (1966) は別の観点より、irradiated HeLa feeder cells を置いたところ、Tr 細胞はこれをおしやつて増殖したと報告している。

Paul, et al (1965a, b, 1966) は、胚細胞のコロニー形成率を上昇させるため、コラーゲンで被覆されたカバースリップ (Ehrman, et al 1956) を使用して、初代細胞株を誘導しているが、本実験では、全く未処理のカバースリップを使用し、まずこれに attachment の強い Tr 細胞を plate させ、これを床として、その上に比較的安定した状態で、胚細胞を増殖分化させることを可能とした。たしかに、胚細胞が培養器のガラス面や合成樹脂面等の無機物質へ attach する力はきわめて弱く、かつポテンシイが高い故、ややもすると球状を呈し、培養液中へ浮遊していく傾向が強い。この現象を説明するものとして、Maximow (1925) は、Tr 細胞またはその他の食細胞により、胚細胞が喰食される結果ではないかと報告しているが、本実験の観察では、前述の如く、Tr 細胞は、むしろ胚細胞の支持細胞としての役割を果している成績がえられた。

C群（浮遊群）が、比較的短期間で変性に移行するのは、一般に explant の培養期間が、たかだか2—3週ていどである理由によるものである。培養経過中に、培養器面へ plate するB群は、A群に準じて長期培養が可

能となつている。

器官原基誘導過程における初期拍動は、Splanchnic mesoderm の移動集積による細胞集塊形成期に始まり、7.0日胚好条件例で、交配後培養系に移してより、9日4時間で観察された。Goss (1938) は、ラット 9.5日胚を材料とし、hanging drop 法により、初期拍動を、交配後9日14時間で確認したと報告している。家兎では、Waddington, et al (1933) が Watch glass 法により pulsating tube を、林, 他 (1968) は本実験の一部を心臓原基の誘導として、また intact な胞胚を材料に用い、Cole, et al (1965) は胞胚の透明帯脱出後に胎児形成が進み、beating heart を、Ogawa, et al (1969) は、6.0日胚より、Eagle+10%仔牛血清+10% bactotryptose phosphate 中で、培養8日目に beating heart を、Daniel (1970) は6日18時間より、F 10+20~25% 家兎血清を培養液とし灌流法により、培養72時間目で、12体節胚まで発育させ、beating heart をそれぞれ観察している。in vivo の環境では、Dwinnel (1939) が、家兎胎児の3—4体節期に初期拍動を観察している。本実験において、好条件例で、交配後、9日4時間で初期拍動を確認し、定型的培養系では、10日12時間に P.T.H. の誘導を観察しているので、少なくとも交配後9日目には、すでに Splanchnic mesoderm は予定心臓細胞に分化し、予定心臓細胞領域への移動を完了して、10日目にはいわゆる P.A.R. を経て、P.T.H. の誘導まで進むものと考えられる。培養経過中、予定心臓細胞の移動集積期は、最も微妙な状態にあり、とくに観察時の光に対する感受性が鋭敏であるため、原基誘導成績への影響および実験目的の一つが長期培養を目標としているため、この過程の観察を最少限にとどめることを余儀なくされた。

胚令別心臓原基誘導時間の時間函数をみると、胚令の進んだ材料ほど誘導時間がはやい。これは in vitro の系では、in vivo の細胞分化の速度に比較して遅れのあることを意味するもので、さらに培養液の組成、培養環境の検討を要するところであろう。

誘導率の成績にみる如く、Em-d の成熟度が進んでいる材料ほど、誘導率が良好であることは、同一培養条件下にあるため、当然の結果とも考えられるが、問題となるのは、5.5日胚以前の材料で原基の誘導が成功しなかったこと、着床直前の 7.0日胚で誘導率が著しく良好な点である。今日の発生過程の概念から、器官の発生が形成体による誘導の結果と考える場合、反応系の反応能力の一つとして、適当な成熟と特定の形成体に対し反応可能な時期とが条件づけられている。心臓の発生には内胚葉が形成体となり、中胚葉が反応系となることが、Mangold (1954), Chuang (1957), Jacobson (1960) 等

により両生類を材料として実験的に証明されている。この誘導的組織相互作用の概念から、胚令別誘導率を分析すると、まず 6.0日胚以降の材料で器官発生が成功したのは、既にこの胚令では、胚葉細胞の分化の指向が決定され、一部では細胞分化が進行し始めているため、培養系に移しても、本実験に用いた培養液および培養環境で、その後の細胞分化の過程が進み、内胚葉、中胚葉の分化とともに、両胚葉間の組織相互作用により器官原基が誘導されたものと考えられる。ちなみに、内胚葉は 6.0日胚で、中胚葉は 6.5日胚で、検鏡下に観察できる。5.5日胚以前の材料で、器官原基が誘導できない理由は、第一に未だ胚葉細胞とくに中胚葉が未分化な状態にあること、第二には、本実験系での培養液を含む培養環境では、細胞の栄養要求等が満たされないため、in vivo と同条件での細胞の成熟経過がえられない点にあり、少なくとも心臓細胞に限定してみても、胚葉細胞から予定心臓細胞の分化の引き金となる所謂 conditioned medium の検討が必要となる。次に着床に最も近い7.0日胚の誘導成績が最も良好である事実は、反応系である中胚葉の適当な成熟と、内胚葉に対する反応可能期が、理想的に一致していることを物語る。従つて6.5日胚以前の材料ほど誘導率が低下する理由の一つとして、この両因子のずれがより大きくなつていくためと考えられる。このずれの原因は前述したように、培養液を含む培養環境に帰される。

かくして拍動を開始した器官原基は、変性に至るまでに、特徴ある拍動パターンを描く。経時的観察から、この拍動パターンと、これに該当する培養細胞群との間に有意の相関性が確認された。

上昇期より極期に観察された拍動パターンは、最も in vivo に近い状態を示唆するもので、とくに不規則緩慢な初期拍動の確認から、P.T.H. に至る過程の拍動状態は、in vitro の系ならでは観察できない成績である。さらに in vivo での心臓原基形成期の拍動数を類推してみると、培養系における P.T.H. 以後の好条件例で、120/分前後に要約された事実より、ほぼこの値前後にあることが考えられる。かような拍動数で、律動的な運動を、極期で最長例45日間継続した成績からみても、心臓細胞が、胚細胞中でもきわめてポテンシの高い細胞であることがわかる。これに加えて、材料の特殊性と相俟つて、静置単層培養法によるところが、はなはだ大である。しかし器官誘導過程が、P.T.H. までで、その後立体性を失い平坦化して二次元方向への増殖形態に移行したのは、本培養法の影響によるものである。Smith (1964) も4—8体節期のマウス胚を材料とし、nutrient agar clot を用いて、培養中に卵黄のうおよび羊膜を破いたところ、やはり胚は立体性を失い平坦化した状態を観察し

ている。P.T.H.より outgrowth 期に移行した後も、拍動数が不変であるのは、少くとも培養環境における拍動機能は、器官としての形態を十分条件とするものではなく、むしろその機能は細胞レベルで存在する可能性を示唆するものと考えられる。またきわめて広汎に outgrowth した拍動組織が、全く一定のリズムで拍動する事実より、細胞単位での拍動を同調する何等かの調整因子が存在するはずであるが、その本態は不明である。

下降期が24—48時間以内に集約されるのは、拍動組織の集合現象への移行が、きわめて短期間に完了することを意味している。

平衡期における培養細胞形態の特徴は、拍動組織の集合現象による拍動コロニー形成に要約される。すなわち集合現象に入った拍動組織は、物理的に安定した円形、楕円形、葉状等の形態に集合し、見掛け上は全く増殖を停止して、拍動エネルギーを温存しつつ、平衡期のみで最長例 194日、培養開始より起算すると 225日の長期培養に耐えたものと考えられる。一方胚細胞の増殖分化の基盤すなわち床の機能を果している Tr 細胞層も、この長期培養を成功させた重要な要素を占めている。一般に細胞培養では、単層培養を行なつた場合、継代時期が遅れると、培養細胞は多層化し、細胞の変性速度がはやくなる傾向にある。しかし、本培養系における Tr 細胞は、outgrowth の過程で、何等かの抑制機構により細胞の多層化への傾向が阻害され、これがため比較的長期に亘つて支持細胞としての機能が維持できたものと推定される。本期の拍動数は、若干のパラツキはあるが、いずれの系においても20/分前後に集約されている点の特徴である。これは、培養細胞の集合現象の結果形成された拍動コロニーの形態が、胚令等とは無関係にほぼ同一形態を呈していることがその理由と考えられる。また極期に比較して、拍動数が減少しているのは、細胞形態の変異と、この過程が広義の変性への移行期であるため、細胞のポテンシの低下を意味するものと考えられる。

以上拍動パターンと培養細胞形態の相関性について考察したが、次いで培養細胞形態および材料の胚令差と細胞の aging との相関性について検討した結果、前者については有意の相関性があり、後者については有意の相関性がえられなかつた。培養細胞の aging に関して、興味ある実験を行ない、細胞自体に寿命のあることを証明したのは Hayflick (1961)であり、同じく Chang, R.H. (1961)もヒト胎児の各器官の primary explant より初代培養における細胞の増殖過程を、1. ガラスに付着する時期、2. 初代増殖期、3. 変性期、4. 形質転換期、5. 変異後増殖期に分析した。本実験における全培養経過を分析するに際して、この Chang, R.H. の実験から

示唆される点が多い。すなわち、最も aging の長い系は、培養器面への plate 群 (A群)であり、さらに、225日、288日に及ぶ培養系の存在するところから、拍動コロニー維持期 (平衡期)に、一種の形質転換に類似した現象が、培養細胞内におきている可能性が推定できる。しかしこの時期に至ると胚細胞の増殖は、見掛け上停止するので、一般株細胞とは次元が異なるようである。胚令別誘導原基拍動継続日数すなわち本実験系での培養細胞の aging の順位は、6.5日胚>6.0日胚>7.0日胚である。まず原基誘導の安定性の観点からは、誘導率に示した如く6.0日胚より6.5日胚の方が安定しており、これが体外培養における誘導器官原基の安定度 (aging) に結びつくことが十分に考えられる。しかし誘導率の最もよい 7.0日胚で、培養細胞の安定度が最も低い現象の理解に苦しむ。一つには、着床に近い胞胚自体は、着床現象という特異な時期にあるため、Tr 細胞、胚細胞ともきわめて不安定な状態にあることは容易に推定され、従つてこの胚令に限つては、誘導率と誘導器官原基の培養環境での安定度は、必ずしも一致しない可能性が考えられる。Hayflickによれば、形質転換できなかつた細胞には、最初から分裂回数が宿命づけられており、この分裂を終了した細胞は変性に陥り寿命がつきることが証明された。また当然幼若細胞の分裂回数の方が、成熟細胞のそれより多いという。この概念からすれば、6.5日胚>7.0日胚については、細胞の成熟度ひいては細胞に宿命づけられている分裂回数の多寡で説明できるが、6.5日胚>6.0日胚については矛盾する。結局、本実験系における材料の胚令差 (12—24時間)の範囲内では、その培養過程での aging に関しては、有意の差がないといわざるをえない。

さらに Hayflick の実験では、心臓細胞の分裂回数が他器官より少なく、従つて aging も最も短いと報告しているが、本実験において誘導された心臓細胞の aging は、むしろ長いという成績がえられた。

なお極期および平衡期継続期間の胚令別順位も全く同じ結果 (6.5日胚>6.0日胚>7.0日胚) がえられており、全培養期間が、主として極期および平衡期で占められている事実より、前の考察過程に一致するものと思われる。

平衡期は広義の変性期と見なされるが、平衡期の終焉に至ると、培養細胞群は明らかに変性への様相を呈し始める。この過程での特徴的現象は、培養 150日を指標として、胚細胞、Tr 細胞の変性過程が、3群に大別されたことで、前述した平衡期における形質転換様現象がもし存在するとすれば、あるいはこの 150日前後に意味があるかもしれない。また、A群、B群 (Plate 群)は安定度が高く、C群 (浮遊群)が最もはやく変性期へ移行す

る現象は、培養法が、静置単層培養法である点より、理解できる。

細胞レベルにおける誘導現象および細胞単位での拍動機能の存在に関する課題は、原基誘導過程の分析上、きわめて重要である。哺乳類における心臓細胞の細胞レベルでの拍動機能の存在は、実験的にラット (Harray, et al. 1963), ハムスター (Andrus 1967) の仔の心臓を材料として、トリプシン処理後単層培養により、細胞単位での律動的な拍動とコロニー形成現象が観察されている。本実験では、胞胚から誘導されたレベルで、細胞単位での拍動現象を観察したが、未だこの段階における報告例はない。11E7系, 5 Tr 2系に観察された過程を考察してみると、初期培養過程では、各細胞は夫々全く独自のリズムで拍動を継続しているが、やがて何等かの調整因子により細胞の融合がおり、これとともにリズムも一定のはやさに同調され、やがて拍動細胞群は筋原線維群の形態に変わる。この細胞単位から、細胞間の融合による筋原線維群形成に至る選択的な同一細胞群の集合現象と、前述の平衡期における心臓細胞の集合現象とともに、Moscona (1952, 1956, 1957 a. b. c) の“分化した組織や器官は、これ等を構成する個々の細胞レベルでも、それぞれの組織や器官の特性を保持する”という報告によく一致する成績である。この一次器官原基誘導過程で、既に将来の器官のもつ機能を細胞レベルで保持している現象の確認は、きわめて重要な知見である。次いで胚細胞 (ただし extra-embryonic mesoderm は除外) の混入を厳重に避けたトリプシン処理 Tr 領域細胞群の体外培養より、拍動コロニーの誘導された事実は、細胞レベルにおける誘導現象を説明するものとして興味深い。そこでこの過程を考察してみると、Em-d の尾部より Tr 細胞領域に向い遊走した Splanchnic mesoderm すなわち extra embryonic mesoderm (図 1) (付図 7, 8, 9) と内胚葉細胞が、植込み細胞群中に混在するため、この両胚葉細胞間に細胞レベルでの誘導的相互作用が働き、その結果、予定心臓細胞が誘導され、拍動が開始する canalization の存在が、理論的に推定される。

結 論

自然交配により回収した家兔胞胚, 6.0, 6.5, 7.0 日胚を材料として、分離した Em-d を primary explant とする体外培養より、器官原基のうち心臓原基を十分な再現性をもつて誘導でき、下記の知見をえた。

1. 初期拍動の確認は、Em-d 上、著明な細胞増殖域に緩慢不規則なリズムとして観察され、7.0日胚、好条件培養系で、交配時を 0-point として 9日4時間である。

2. 定型的培養系で、所謂 paired angioblastic rudi-

ment は 9日16時間、primitive tubular heart は 10日12時間で誘導された。

3. 培養細胞群の拍動パターンと培養細胞形態の間に有意の相関性を認めた。極期における原基形態および拍動数は、in vivo の環境に最も近く、P.T.H. で120/分に要約された。平衡期の安定度は、拍動組織の集合現象より形成されたコロニー形態の影響を受け、円形群が最もすぐれ、最長培養系は 225日に及んだ。

4. 培養細胞形態と細胞の aging の間に有意の相関性を認めた。拍動継続期間は、培養器面への plate 群においてすぐれ、浮遊群においておとる。

5. 心臓原基誘導率は、6.0日胚群: 52%, 6.5日胚群: 62%, 7.0日胚群: 85%で、Em-d の成熟度に比例する。

6. 拍動数は、36-38°C で極値を示し、拍動は、低温より高温による障害が強く、10°C, 40°C で不可逆性となる。

7. 拍動細胞群の組織像で、幼若筋組織、管腔形成および幼若血球成分を認めた。

8. 拍動機能が、細胞単位で存在することを確認した。

9. Tr 細胞領域 (extra-embryonic mesoderm, 内胚葉細胞を含む) のトリプシン処理による単層培養より、拍動コロニーを誘導して、その拍動継続期間は 288日に及んだ。この現象より家兎においても、心臓原基の誘導に、内胚葉を作用系、中胚葉を反応系とする誘導的組織相互作用の canalization の存在が推定された。

稿を終るに臨み、懇篤なる御指導、御校閲を賜った恩師林基之教授並びに直接御指導、御鞭撻をいただいた岩城章講師に深甚なる謝意を表します。なお、実験に際し多大の御指導と御便宜を賜った国立予防衛生研究所奥村秀夫博士、御協力をいただいた間壁さよ子博士および教室員各位に感謝の意を表します。

(なお、本論文の要旨は、第12回日本不妊学会総会、第13回日本不妊学会総会、第55回日本不妊学会関東地方部会において発表した)。

参 考 文 献

- 1) Andrus, W. D. et al: Exp. Cell Res. 47, 613-616, (1967).
- 2) Bacon, R. L.: J. Exp. Zool. 98, 87-121, (1945).
- 3) Böving, B. G.: Anat. Rec. 136, 168(abst.) (1960).
- 4) Chang, R. H.: J. Exp. Med. 113, 405-417, (1961).
- 5) Chuang, H. H. et al: Scientia Sinica (Peking) 6, 669-708, (1957).

- 6) Cole, R. J. et al: *Exp. Cell Res.* 37, 501-504, (1965a).
- 7) Cole, R. J. et al.: *Preimplantation Stages of Pregnancy.* 82-122, J. & A. Churchill, Ltd. London (1965b).
- 8) Cole, R. J. et al.: *Devel. Biol.* 13, 385-407, (1966).
- 9) Daniel, J. C. Jr.: *Nature* 225, 193-194, (1970).
- 10) De-Haan: *Acta Embryol. Morph. Exp.* 6, 26-38, (1963).
- 11) Dwinell, L. A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 42, 264-267, (1939).
- 12) Ebert, D. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* 39, 333, (1953).
- 13) Ebert, D. J. et al: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 60, 968-985, (1955).
- 14) Ehrmann, R. L. et al: *J. Natl. Cancer Inst.* 16, 1375-1403, (1956).
- 15) Goss, C. M.: *Anat. Rec.* 70, 505-524, (1959).
- 16) Harray, I. et al: *Exp. Cell Res.* 29, 451-465, (1963).
- 17) Harray, I. et al.: *Exp Cell Res.* 29, 466-474, (1963).
- 18) 林基之: *日産婦誌*, 13, 605-624, (1961).
- 19) 林基之, 他: *臨婦産*, 22, 841-847, (1968).
- 20) Hayflick, L. et al: *Exp. Cell Res.* 25, 585-621, (1961).
- 21) Jacobson, A. G.: *Devel. Biol.* 2, 138-154, (1960).
- 22) Jolly, P. J. et al: *Arch. Anat. Micros. T.* 34, 307-373, (1938).
- 23) Levi, G.: *Erg. Anat. u. Entw.* 31, 125-707, (1934).
- 24) Lewis, M. R.: *Contrib. Embryol. Carnegie Inst.* 9, 191-212, (1920).
- 25) Lutwak-Mann, C. et al: *Nature* 137, 268, (1954).
- 26) Lutwak-Mann, C. et al.: *J. Embryol. Exp. Morph.* 9(3), 468-491, (1961).
- 27) Lutwak-Mann, C. et al.: *J. Endocrin.* 24, 185-197, (1962).
- 28) Mangold, O.: *Arch. Entw. Or.* 147, 31-170, (1954).
- 29) Maximow, A.: *Tissue Culture of Young Mammalian Embryos.* *Contrib. Embryol. Carnegie Inst. Wash.* 16, 47-113, (1925).
- 30) Merchant, D. J. et al: *Handbook of Cell and Organ Culture.* 11. Burgess Publ. Co., Mineapolis (1965).
- 31) Moog, F. et al: *J. Embryol. Exp. Morph.* 6(1), 57-67, (1958).
- 32) Moscona, A.: *J. Anat.* 86, 287, (1925).
- 33) Moscona, A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 92, 410, (1956).
- 34) Moscona, A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* 43, 184, (1957a).
- 35) Moscona, A.: *J. Natl. Cancer Inst.* 19, 602, (1957b).
- 36) Moscona, A.: *Science* 125, 598, (1957c).
- 37) Mulherker, L.: *J. Embryol. Exp. Morph.* 6, 1-14, (1958).
- 38) 中井, 奥村, 他: *組織培養-基礎と応用*, 41, 94, 朝倉書店, 東京, (1964).
- 39) Nicholas, J. S. et al: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* 20, 656-658, (1934).
- 40) Nicolas, J. S.: *J. Exp. Zool.* 79, 399-425, (1938).
- 41) Ogawa, S. et al: *Nature* 223, 409-410, (1969).
- 42) Parker, R. C.: *Method of Tissue Culture.* 174, Paul. B. Hoeber, Inc. N. Y. (1961).
- 43) Pogonoff, I. A. et al: *Anat. Rec.* 95, 321-335, (1946).
- 44) Rawles, M. E.: *Physiol. Zool.* 16, 22-42, (1943).
- 45) Rudnick, D.: *J. Exp. Zool.* 79, 399-425, (1938).
- 46) Rudnick, D.: *Teleosts and Birds, Analysis of Development.* 297-314. Saunders. Philadelphia (1955).
- 47) Schenk, L. J.: *Mitt. Embryol. Inst. K. K. Univ. Wien.* 1, 107, (1880).
- 48) Smith, L. J.: *J. Embryol. Exp. Morph.* 12, 787-803, (1964).
- 49) Spratt, N. T.: *J. Exp. Zool.* 89, 69-101, (1942).
- 50) Vogt, W.: *Arch. Entw. Or.* 120, 384-706, (1929).
- 51) Waddington, C. H. et al: *J. Anat.* 67, 355-370, (1933).

Cultivation of the Rabbit Blastocyst In Vitro, especially Induction of Beating Cardiac Primordia from Dissected Embryonic-disc

Shun Hirakawa

Department of Obstetrics & Gynecology, School of Medicine, Toho University, Tokyo
(Director: Prof. Motoyuki Hayashi, M.D.)

The rabbit blastocysts were recovered at 6 day 0 hour, 6 day 12 hours and 7 day 0 hour after mating. From the primary explant, dissected embryonic-disc, the primitive tubular heart was induced with complete recurrence in vitro. Then at long term cultivation in vitro, the formation of beating colonies was observed as the result of the aggregation of outgrown beating cell groups.

The results are as follows:

1. The first contraction of cardiac primordia

was recognized at the thickly developed cell areas on the blastoderm. It was observed at 9 days 4 hours after mating in the case of the best conditioned group (7.0 day group) *in vitro*.

2. Typically, so-called paired angioblastic rudiment has been established at 9 days 16 hours after mating and the primitive tubular heart at 10 days 12 hours *in vitro*.

3. There was correlation between the beating pattern of the cell groups *in vitro* and its morphology at long term cultivation. The contraction in the primitive tubular heart (maximum period) had a regular rhythm and a rate of 120 per minute. The stability of equilibrium period was decided with the form of beating colonies and the best group was the round-formed. Its longest cultivation group reached 225 days *in vitro*.

4. There was correlation between the form of cell groups and its aging *in vitro*. The beating movement *in vitro* was continued for the longest period in the plating groups to the culture

vessels and the slowest in the floating groups.

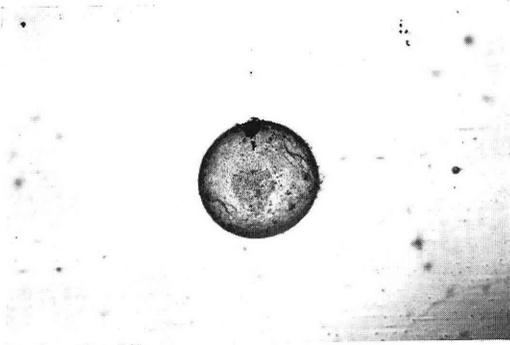
5. The induction rate of the contractile cardiac primordia *in vitro* was 52 per cent : 6.0 day groups, 62 per cent : 6.5 day groups and 85 per cent : 7.0 day groups.

6. The beating rate has reached to maximum at 36-38°C *in vitro*.

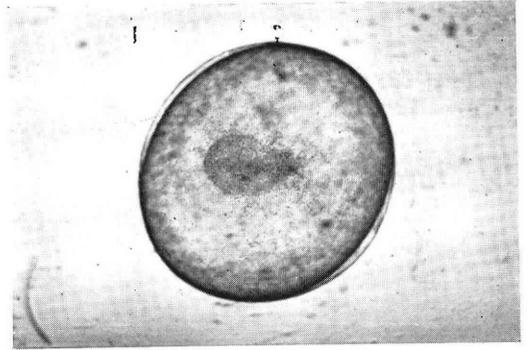
7. Histologically, the young heart muscles, blood vessels and blood corpuscles were observed.

8. It was recognized that the single cell had itself the beating activity.

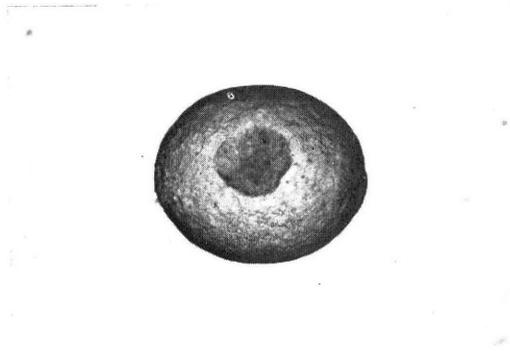
9. The beating colonies were induced from the cultivation of trypsinized trophoblastic area cells (containing the extra-embryonic mesoderm and endoderm cells). Its beating period has reached 288 days *in vitro*. According to this phenomenon, it is considered that the cardiogenesis in the rabbit embryos should proceed on the canalization and the prospective heart mesoderm is subjected to a positive inductive influence from the endoderm (organizer).



付図 1, 5.5日家兔胞胚 ×5



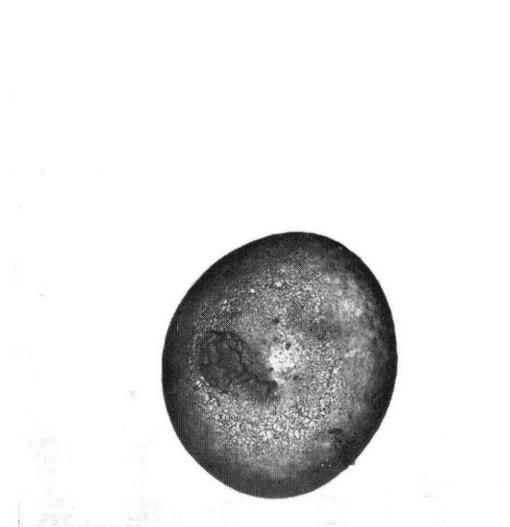
付図 4, 7.0日胚 ×5



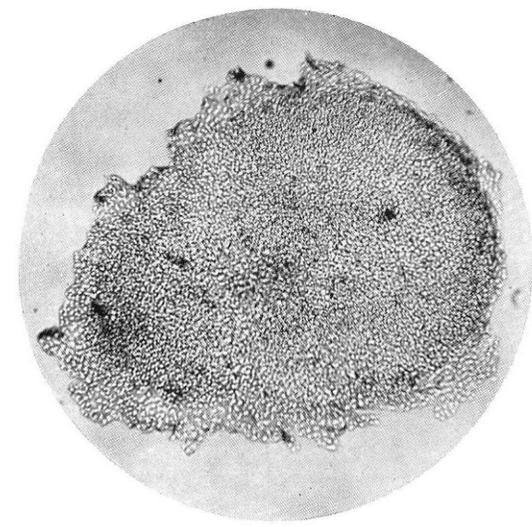
付図 2, 6.0日胚 ×5



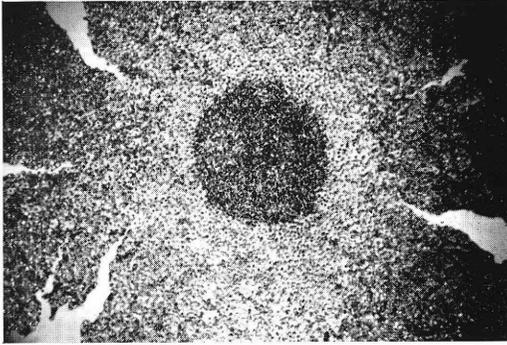
付図 5, 透明帯除去後 Em-d は外方へ凸出 ×20



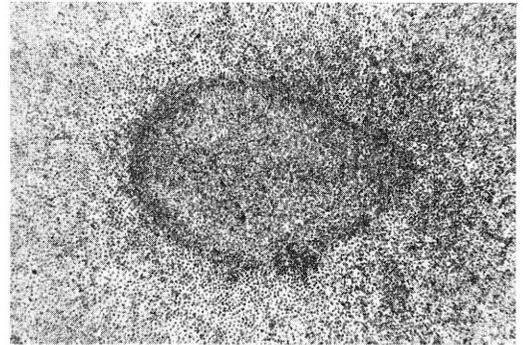
付図 3, 6.5日胚 ×5



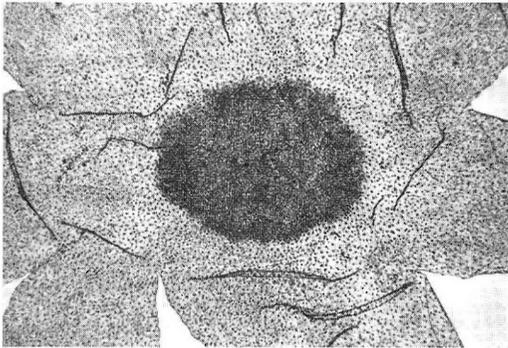
付図 6, 分離した Em-d ×28



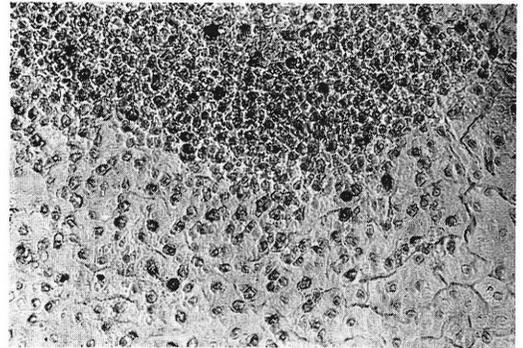
付図 7, Moog 法にて展開した5.5日胚 (Em-d: Stage A, Preprimitive streak) ×20



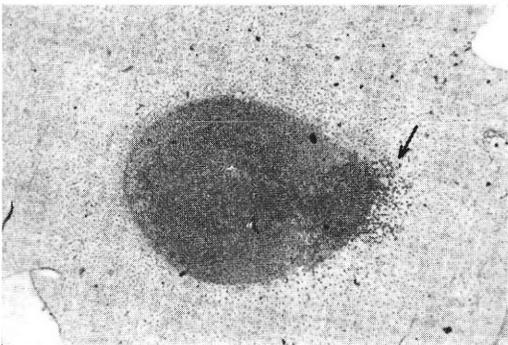
付図 10, 7.0日胚 (Stage E, medium primitive streak) extra-embryonic mesoderm の遊走範囲が広がる. ×20



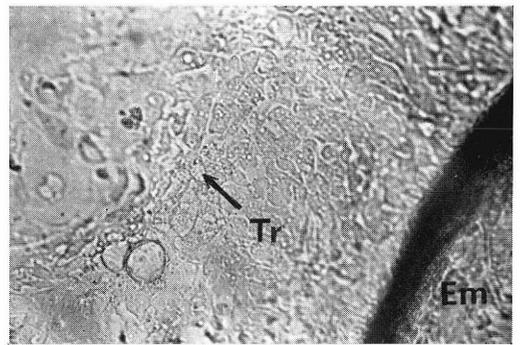
付図 8, 6.0日胚 (Stage B, preprimitive streak) ×20



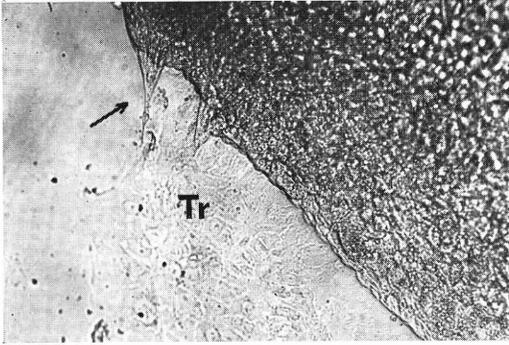
付図 11, Em-d 尾部より Tr 細胞領域へ向い遊走し始めた extra-embryonic mesoderm. ×100



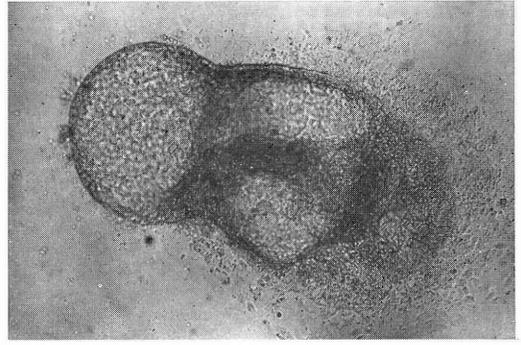
付図 9, 6.5日胚 (Stage C, posterior thickning) extra-embryonic mesoderm の遊走 (→印) ×20



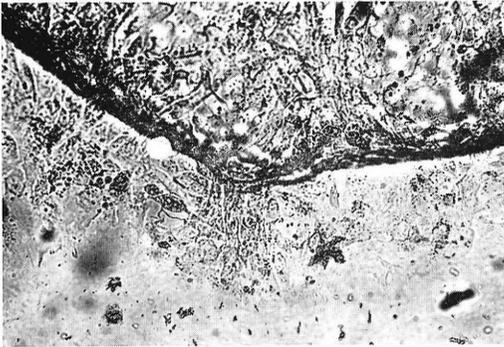
付図 12, Tr 細胞の outgrowth (→印), 右隅は胚細胞 ×100



付図 13, outgrowth した Tr 細胞層に, まさに attach しようとする胚細胞 (→印) ×100



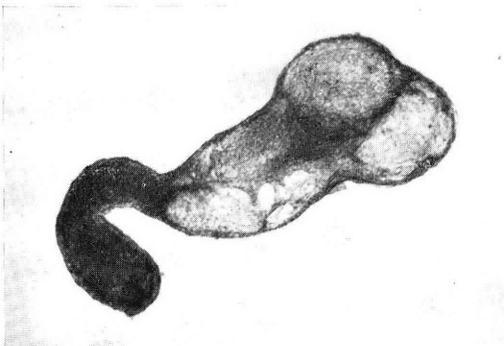
付図 16, B群: 浮遊状態より Tr 細胞の plate により培養器面へ固定されたところ, 培養 4.5日目, ×28



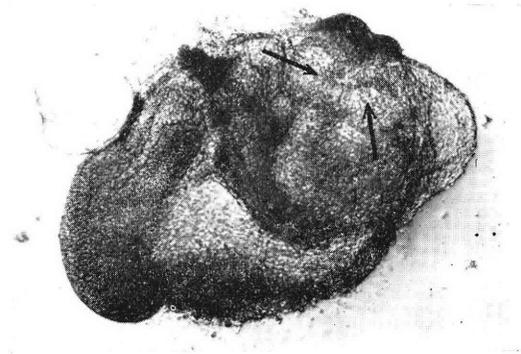
付図 14, (付図13) に引き続き, Tr 細胞層を床として outgrowth し始めた胚細胞群 ×100



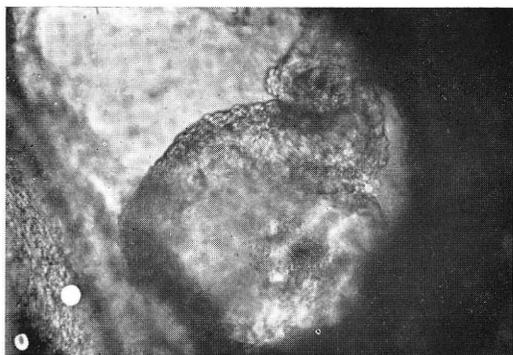
付図 17, 一部に著明な 細胞集塊の形成, この部位より初期拍動が始まる (→印), 9日4時間 ×40



付図 15, C群(浮遊群), 培養72時間目 ×20



付図 18, いわゆる paired angioblastic rudiment (→印部位が 拍動, 80~100/分), 9日16時間 ×20



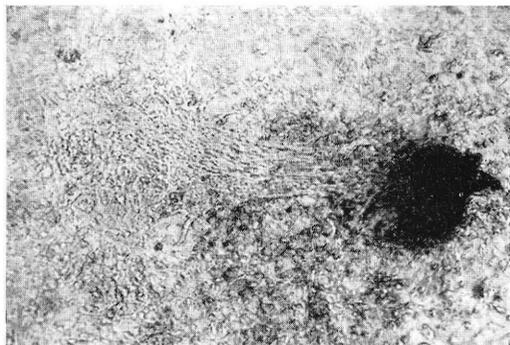
付図 19, Primitive tubular heart, 拍動数120/分. 律動的, 10日12時間 ×40



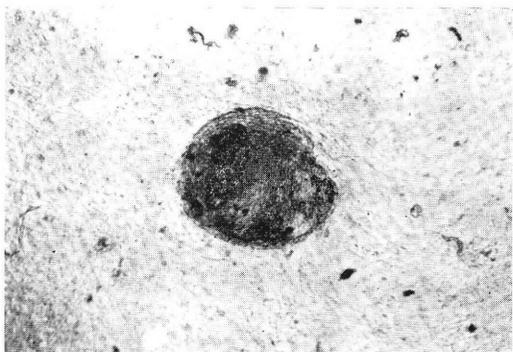
付図 22, 葉状拍動コロニー, 培養150日目 ×40



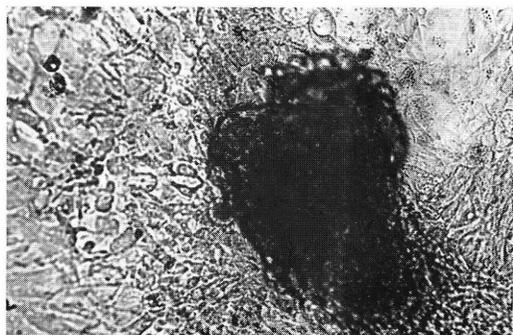
付図 20, 胚細胞群の outgrowth により器官原基の立体性が失われる. 培養15日 ×20



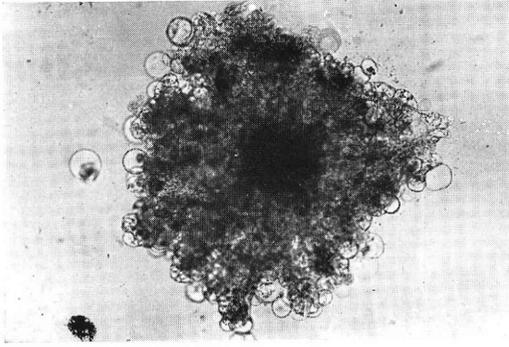
付図 23, 帯状拍動コロニー, 培養86日目 ×40



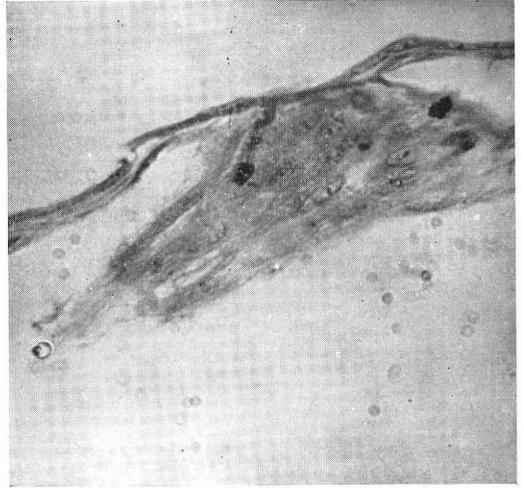
付図 21, 平衡期における円形拍動コロニー, 培養225日目 ×40



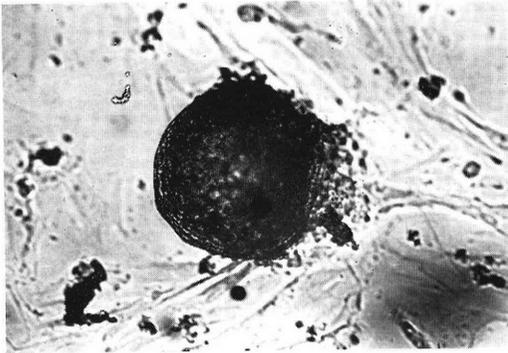
付図 24, 乳首状拍動コロニー, 培養52日目 ×100



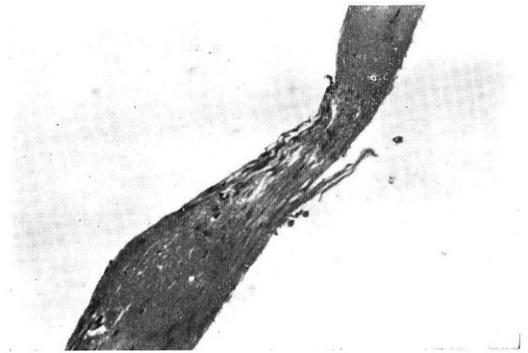
付図 25, Tr 細胞層の変性により胚細胞群は遊離, 拍動しながら変性期へ移行する. 培養 78 日 ×100



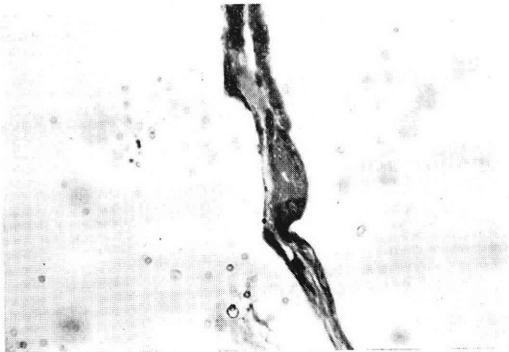
付図 28, 培養10日目, (付図27) よりも特徴的の多核細胞 ×400



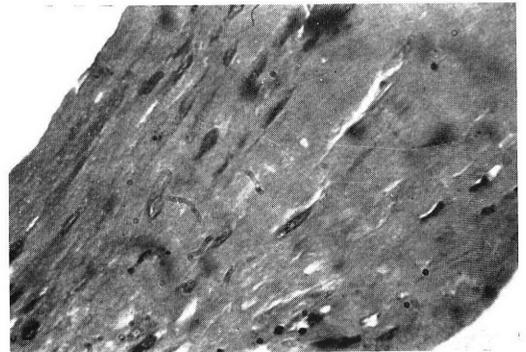
付図 26, わずかに培養器面に plate して拍動する球状コロニー, 培養120日 ×100



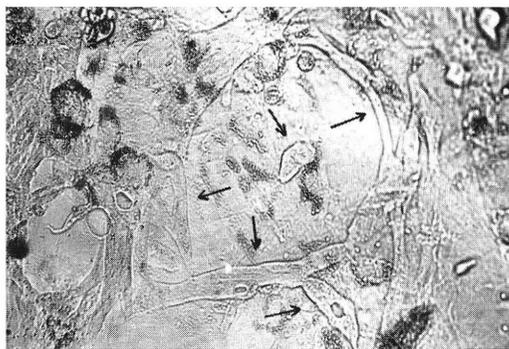
付図 29, 培養30日目, 筋原線維としての形態を具備 ×100



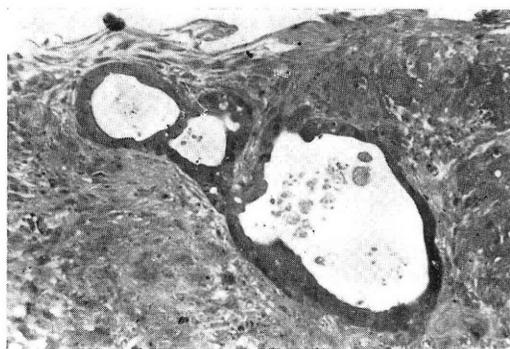
付図 27, 培養10日目, E好染の細胞質をもつ多核細胞が内皮様細胞で連絡される. ×400



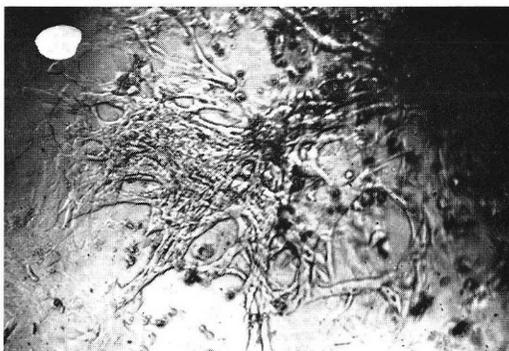
付図 30, E好染の筋組織中に長楕円形, H好染核を認める. (付図29の拡大像), ×400



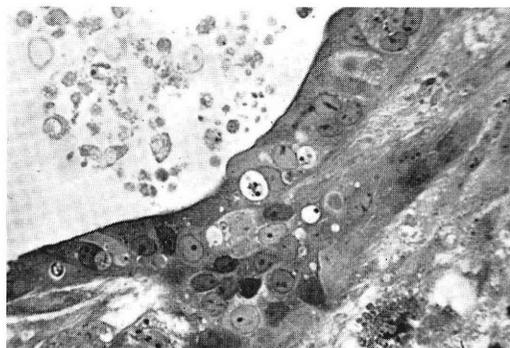
付図 31, 細胞単位で拍動, 細胞間にリズムの相関性はない. (→印) ×100



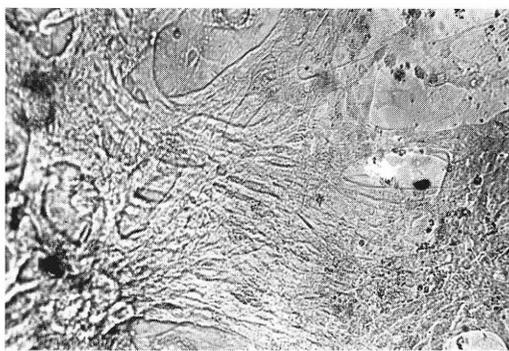
付図 34, 管腔形成 培養32日 ×100



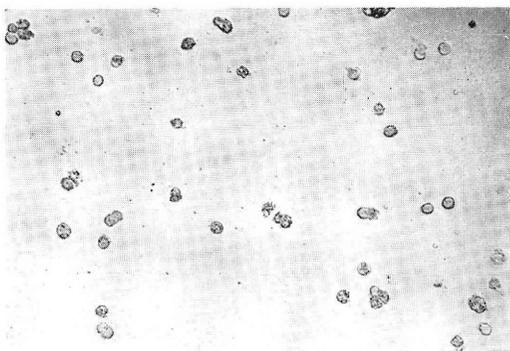
付図 32, 単一細胞間の融合により筋原線維としての形態を備えリズムは同調される. ×40



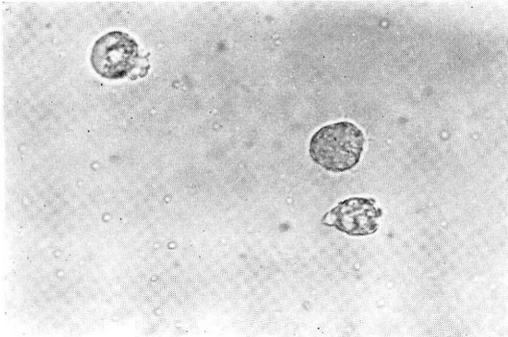
付図 35, 管腔壁は, 特異な 幼若型立方上皮様細胞からなり, 処々に多核細胞を認め, 管腔内に幼若血球成分を認める. ×400



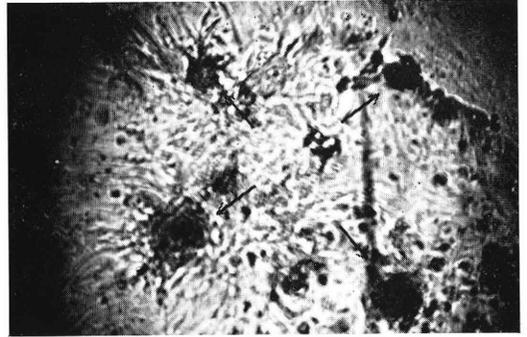
付図 33, (付図32) の拡大像 ×100



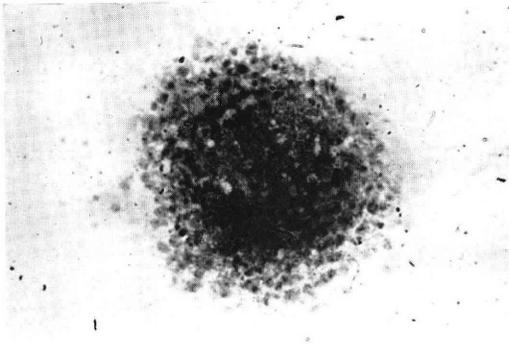
付図 36, Tr 領域細胞の初代培養, トリプシン処理後の植込み, (10⁴/ml) ×100



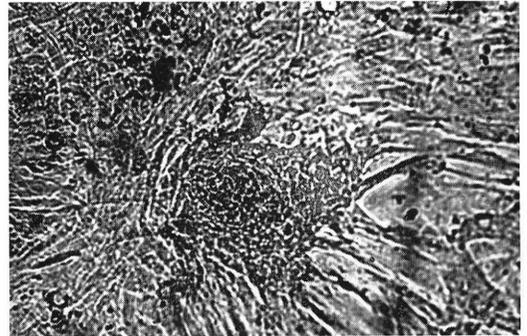
付図 37, 培養 2 ~ 3 時間後には, すでに培養器面への plate が始まる. ×400



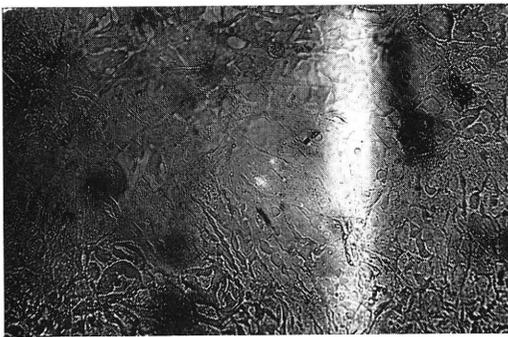
付図 40, トリプシン処理 Tr 領域細胞群, 3 Tr 1 系より誘導された拍動コロニー群(4カ所で拍動開始, リズムは同調されている). (→印) ×40



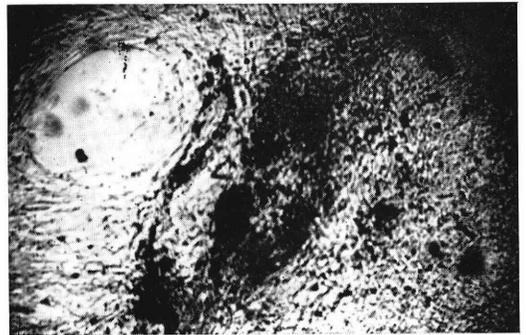
付図 38, 培養24時間後, 形成されたコロニー ×70



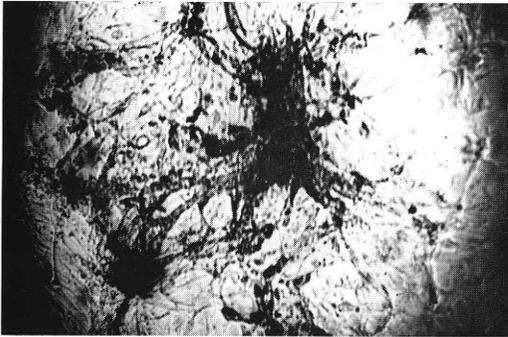
付図 41, (付図40)の拍動コロニーの拡大像 ×100



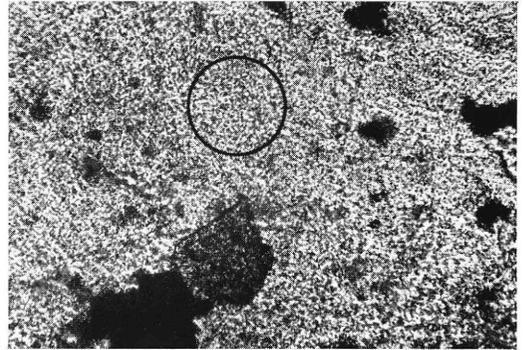
付図 39, コロニー同志の融合により, 細胞の多層化の傾向をとり, 地図状の奇異な像を呈する. 培養 7 日目 ×100



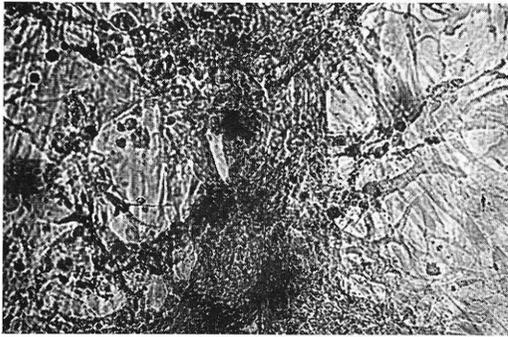
付図 42, 培養 62 日目に拍動コロニー群は集合現象により融合. ×40



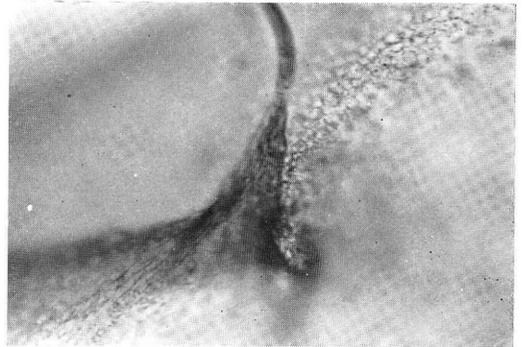
付図 43, トリプシン処理 Tr 領域細胞群 5 Tr 2 系より誘導された拍動コロニー(樹木状を呈し一定のリズムで拍動) ×40



付図 46, 5 Tr 2 系, 培養 288 日, 培養組織面の一部(○印)内がわずかに拍動 ×100



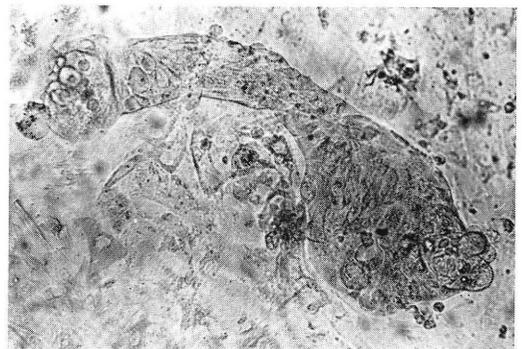
付図 44, (付図43)の拡大像, 筋原線維束として矢状方向にリズムカルに拍動 ×100



付図 47, 7.5日胚に観察された Tr 細胞層の透明帯穿通現象 (in vivo) ×100



付図 45, 培養 16 日日, 独自のリズムで拍動する単一細胞 (→印) ×100



付図 48, 培養 195 日, 同系群の集合現象をみたが, 細胞同定は不明 ×100

In vitro Development of the Rabbit Embryo from the Stage of Preprimitive Streak to Stage of Somites with Heart Beat

Shyozo OGAWA

Dept. of Animal Reprod., Coll. Agric. & Vet. Med., Nihon Univ., Setagaya-ku, Tokyo, Japan

Akiko NOZAWA

Dept. of Obst. & Gynec., School of Med., Toho Univ., Ota-ku, Tokyo, Japan

Summary: A 6-day *post coitum* rabbit blastocyst, which is preprimitive streak stage, develops well to somite stage, when cultured *in vitro* for 6 days in the medium 199 supplemented with 25 per cent calf serum, and 5 per cent Difco 'bactotryptose phosphate' under the condition of 36.5°C with constant flow of 5 per cent CO₂ in air. Each blastocyst was incubated placing in 9 ml of the culture medium renewed every 3 days. The most advanced stage of development reached was that of 6 to 20 somites with closed neural tube, optic vesicles, and heart beat.

Introduction

In general, the mammalian blastocyst of preprimitive streak, unlike that of primitive streak stage, has been said to be difficult to maintain itself *in vitro* and to undergo differentiation.

Lutwak-Mann, Hay, and Adams (1962)¹⁾ succeeded in making the primitive streak and extra mesoderm development from a 6-day rabbit blastocyst in culturing for 24 hours. Cole and Paul (1965)²⁾ mentioned that, when the zona pellucida has been removed from rabbit blastocysts by pronase, the blastocysts developed further into embryos *in vitro*, with amniotic folds closed and heart beat started. They gave, however, no details in the development of the primitive streak, somites, and heart beat.

Recently, Daniel (1970)³⁾ has reported that rabbit blastocysts explanted 6 days and 18 hours *post coitum*, when cultured in recirculating medium, develop to the stage of 20 somites, closed neural tube with optic vesicles, and beating heart.

In a previous paper (Ogawa & Imagawa, 1969)⁴⁾, it was shown that 6-day rabbit blastocysts could develop into pulsating em-

bryos *in vitro*. After that, explosive studies were made on the cultivation of blastocysts in various nutrient solutions.

This communication describes a successful cultivation *in vitro* of a rabbit blastocyst which has developed into a pulsating embryo of somites with brain, neural folds, and optic vesicles through the almost normal process of differentiation.

Materials and Methods

Adult virgin does weighing more than 2.7 kg were used. Superovulation was induced in these animals by injection of 40 I.U. of pregnant mare serum gonadotrophin daily for 5 days. Two days after the final injection, the females were mated with fertile males, and then injected with 50 I.U. of Prolactin every other day.

The nutrient solution used was medium 199 (Morgan et al., 1950)⁵⁾ supplemented with 25 per cent calf serum and 5 per cent Difco'bacto-tryptose phosphate'. This medium was most effective for inducing embryonic development.

Blastocysts were flushed out of the uterine horns 6 days after coitus by washing with

the nutrient medium. When ova were collected, no primitive streak was found in the area of germinal disc. The blastocysts were transferred to an Earle flask (of type TD., 12 ml in capacity) containing 9 ml of the medium.

In each culture flask was placed 1 blastocyst. The flask, with an aluminum cap loosely crowned on the mouth, was kept at 36.5°C in a humidified incubator with a constant flow of 5 per cent CO₂ in air. The culture medium was renewed every 3 days. Some of the fresh blastocysts in the medium were placed in a refrigerator at 3 or 4°C for 15 hours. Then the resulting embryos were placed in the incubator. All the cultures were examined daily for 8 days by an inverted microscope.

Results and Discussion

The blastocysts expanded and reached 5.5 mm in maximal diameter on the 3rd day of cultivation. During the first 2 days of cultivation, the area of germinal disc became pearshaped, and primitive streak appeared. The streak was short at the posterior board of the disc.

Hatching of blastocysts from the zona pellucida began on the 2nd or 3rd day and proceeded up to the end of the 4th day of cultivation. Of 56 blastocysts cultured, 34 showed no hatching during the period of cultivation. In 18 of the zona-encased cultures, an almost normal embryo of somites developed in the following way. The primitive streak reached its maximal length on the 4th day of cultivation; primitive groove, primitive pit, and Hensen's node were present (Fig. 1). Definite neural folds appeared at the anterior end of the neural tube in these cultures. Pairs of somites with neural folds were complete on the 5th or 6th day of cultivation (Figs. 2 & 4). The structure corresponding to amniotic folds was also present (Figs. 3, 5 & 6).

The most advanced stage of development reached was that of 6 to 20 somites with closed neural tube and optic vesicles (Fig. 6). In these cultures, heart beat began to be noted on the 6th to 7th day of cultivation. The development achieved here

seem to be comparable that with reported by Daniel (1970)³⁾.

In 4 cultures which were reincubated after cooling, no herniation occurred to the zona pellucida, but differentiation was in progress at the incubation. On the 6th to 7th day of cultivation embryos developed to have neural tube and brain, somites and beating heart. The process of development in this culture, though it was retarded about half day, was quite similar to that in cultures which had not been subjected to such cooling. This result agrees with the statment of Waddington and Waterman (1933)⁶⁾ that a mammalian embryo of relatively early stage may be subjected a process of lowering temperature without markedly affecting development *in vitro*.

Of the 22 zona-free cultures, 13 collapsed within 3 days of cultivation. The remaining 9 continued to develop after hatching into pulsating embryos on the 6th day of cultivation, with the primitive streak completely formed. These embryos, however, were quite different in shape from those originated from the zona-encased specimens. They were of abnormal form, with vesicles in varying size and buds convoluted.

From these results it appears that the presence of the zona pellucida allowed the blastocysts to develop into embryos with somites formed and the heart beating.

In both the zona-encased and zona-free specimens, heart beat was no longer observed on and after the 8th day of cultivation, but noticeable necrosis was present in some parts of the embryos. This fact may indicate that the stage of 6 to 20 somities is the limit of development of embryo *in vitro* derived from the blastocyst stage of the pre-primitive streak in the condition of open culture dishes containing static medium.

Daniel (1970)³⁾ described, in his paper reporting an advanced stage of embryonic development achieved *in vitro* cultivation, that the use of culture system of recirculating medium provides a culture environment that supports growth of rabbit embryos better than any other system used formerly. To induce more advanced stage of development than that attained in the present study, an attempt is being made on the cultivation

using the system of recirculation medium through an artificially-devised placental environment.

Acknowledgement

The authors are grateful to Professor Motoyuki Hayashi for interest in this work. Thanks are also given to Mr. Yoshiro Ishijima for his valuable advice on the induction of superovulation.

Reference

1. Lutwak-Mann, C., Hay, M. F., & C. E. Adam: J. Endocrinol., 24:185 (1963)
2. Cole, R. J., & J. Paul: Ciba Foundation Symposium on Preimplantation Stages of Pregnancy, P. 82., Ed. by Wolstenholm, G. E. W., & M. O'Conner (Little Brown and Co., Boston, 1965)
3. Daniel, J. C.: Nature, 225:193 (1970)
4. Ogawa, S., & D. T. Imagawa: Nature, 223:407 (1969)
5. Morgan, J. E., Morton, H. J., & R. C.

Parker: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 73:1 (1950)

6. Waddington, C. H., & A. J. Waterman: J. Anat., 67:355 (1933)

In Vitro 培養下, 兎胚 (Preprimitive Streak Stage) から Somite Stage への発達

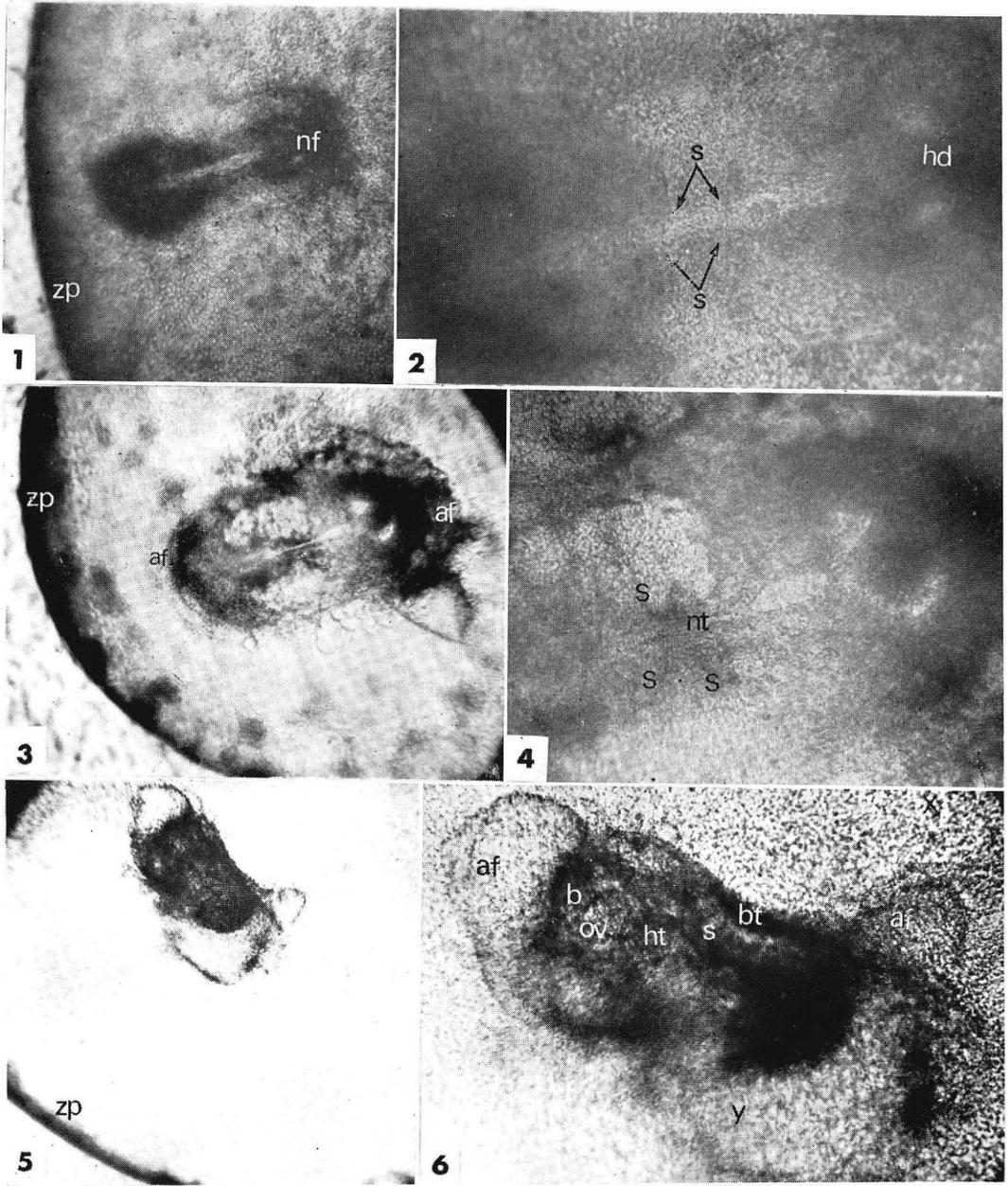
尾川 昭三

日大農獣医学部家畜繁殖学研究室

野沢あき子

東邦大学医学部産婦人科教室

交配6日後の兎 blastocyst を 25% Calf serum, 5% Difco 'bacto-tryptose phosphate' を含む medium 199 (9 ml) にて6日間培養することにより Somite Stage まで発達せしめた。培養条件は 36.5°C, 湿度飽和, 空气中 5% CO₂ 流量の開放系で, 培養液は3日毎に新鮮なものと交換した。最もよく発達したのは6~20 Somite Stage で, 神経管, 眼胞, 心拍動が認められた。



Abbreviations ; af : amniotic fold, b : brain, bt : body trunk, hd : head, ht : heart, nf : neural folds, nt : neural tube, ov : optic vesicle, s : somite, y : yolk sac, zp : zona pellucida

Fig. 1 An embryo encased in the zona pellucida on the 4th day of cultivation of rabbit blastocyst ($\times 18$).

Note the neural folds and well-developed primitive streak in the germinal area.

Fig. 2 A magnification ($\times 45$) of the germinal area of the specimen shown in Fig. 1 on the 5th day of cultivation.

The streak has reached its maximal length. Pairs of somite with the neural folds are visible.

Fig. 3 The same embryo as shown in Fig. 1 on the 6th day of cultivation. ($\times 18$).

Note rudiments of amniotic folds in the marginal area of the embryo.

Fig. 4 A magnification ($\times 45$) of the embryonic area shown in Fig. 3.

Note pairs somites with a neural tube.

Fig. 5 A lateral view of the pulsating embryo on the 7th day of cultivation ($\times 13$).

The embryo curves dorsally, which is still encased in the zona pellucida. Note swelling of the structure corresponding to the amniotic folds.

Fig. 6 A magnification ($\times 35$) of the embryo shown in Fig. 5.

A more advanced differentiation achieved in comparing with that of Figs. 1 & 3 is visible. Note the well-developed brain and body trunk with somites and the structures corresponding to the amniotic vesicles, heart, optic vesicle, and yolk sac.

排卵誘発物質 Compound F6066 の作用機序

——特に中枢神経系活動への影響——

The Electrophysiological Study on the Ovulating Effect of Compound F6066 for the Rabbit Brain

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 (主任 野嶽幸雄教授)

飯塚理八 牧野恒久

Rihachi IIZUKA Tsunehisa MAKINO

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Keio University

同精神神経科学教室 (主任 保崎秀夫教授)

原常勝

Tsunekatsu HARA

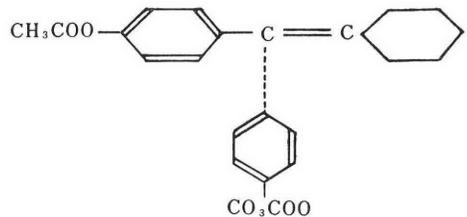
Department of Neuropsychiatry, School of Medicine, Keio University

Compound F6066 の排卵誘発機序を明らかにするために、脳の電気生理学的閾値の変動と去勢前葉の組織変化を観察した。この結果、成熟雌家兎を去勢後、Compound F 6066 前処置のあと Estrogen を投与すると、家兎の脳の視床下部・大脳辺縁系の活動水準が著明に亢進する結果を得た。実際の臨床例の内分泌パターンと考え合せて、Compound F 6066 の排卵誘発機序はあるレベル以上の内因性または外因性 Estrogen との相互作用によるもので、作用部位としては下垂体前葉より上位の中枢神経系と推論した。また Compound F6066 それ自体の weak estrogenic activity または anti-estrogenic activity は排卵誘発機序には直接関連が薄いものと思われる。

はじめに

排卵・受精・着床などの一連の現象を対象とした内分泌学、生殖生物学の近年の発展が実際の臨床の分野にもたらした貢献は、はかり知れぬものがある。排卵現象一つを取り上げてみても、この5年前後の年月の間に、以前とは比較にならぬ効力を発揮する排卵誘発法、抑制法が開発されてきた。しかし一方では、臨床面への応用が急であるため、その効力のみが先行して、作用機序・薬理作用・副作用などが解明し尽されずに用いられるものが少なくない。私達は、近時、排卵誘発物質として臨床面で用いられ始めた Compound F6066 について、その排卵誘発機序はいかなるものか、特に中枢神経系への作用機序を中心に検討したのでここに報告する。

Compound F6066 (Bis (P-acetoxyphenyl) cyclo-



(Compound F6066)

第1図

exylidenemethane) (第1図) は asymmetric な diphenylethenes に属する化合物で、1963年、Miquel¹⁾ らにより Ferrosan 社において合成された。臨床面では、まず前立腺癌の治療に用いられたが、gonadotropin の分泌に関与することが注目され、最近では人の排卵誘発に用いられ始めている。その生物活性として、estrogenic

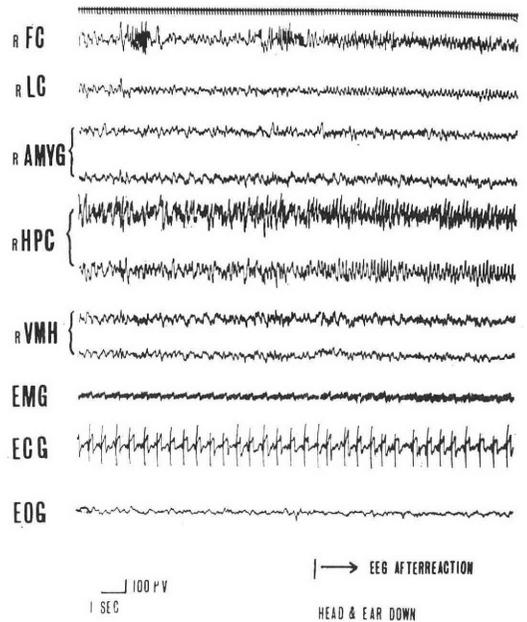
activity は estradiol の約1/1,000といわれ、このほか末梢作用としては、卵巢黄体への直接作用、中枢神経系では視床下部への作用が考えられるが、排卵誘発に至る真の作用機序については不明の点も少なくない。排卵機序そのものについても、まだ不明な点が少ないが、下垂体-卵巢系の hormonal feed-back の上に中枢神経系、とくに視床下部-辺縁系の neuronal feed-back も大きな役割を果していることは一般に認められている。

実験方法

Compound F6066 の中枢神経系への作用機序を実験動物の脳内各部位の電気生理学的閾値の変動より考察した。この方法は脳内各部位または一連の機能系の活動水準の変化を、連続して、長時間、in vivo という条件で観察出来る利点がある。

実験動物には New Zealand 系の体重 2.5kg 以上の成熟雌家兎を使用した。これらの家兎は、それぞれ別個の cage に収容し、固型飼料を用い、12時間切り換えの人工照明のもとで飼育した。静脈麻酔(Nembutal 25 mg/kg) の下で去勢後、同じく静脈麻酔で家兎を定位脳固定装置で固定し、Sawyer et al.²³ (1954) の stereotaxic atlas に従って脳内各部にポリウレタン系樹脂(ストロン=カシュー)で coating した平行電極または同心電極を挿入(第2図)、歯科用セメントで頭蓋骨上のソケットに固定した。この手術の後、少なくとも4週間の回復期間をおき、植え込み電極を用いて刺激・誘導の各実験を行なった。

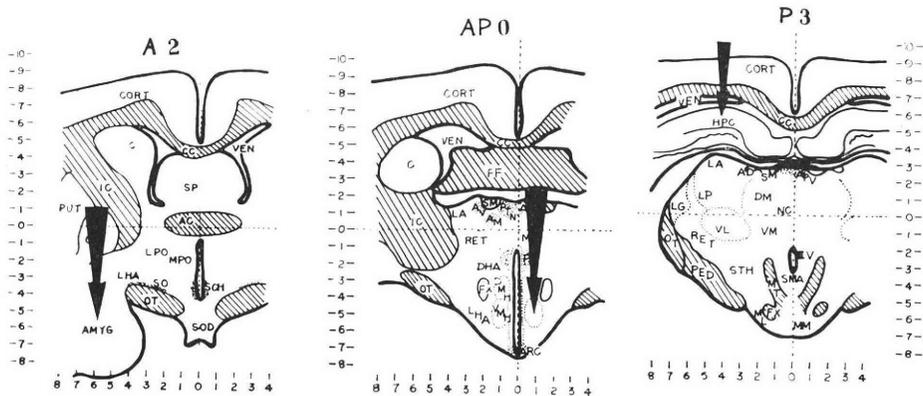
視床下部-下垂体前葉系の機能の示標としては視床下部の内分泌に関する多くの核の中から腹内側核 (VMH) を選び、これを 6 cps, 0.5m. sec duration, 30 sec, 0.2~8.0volts の parameter で刺激、Sawyer-川上²³(1959) の E.E.G. Afterreaction (以下 E.A., 第3図)を誘発



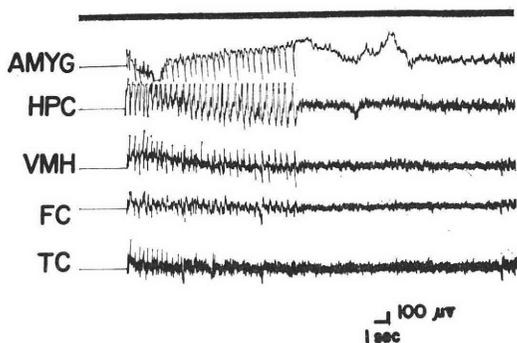
第3図 視床下部腹内側核 (VMH) を刺入電極で直接電気刺激に誘発した E.E.G. afterreaction. Spindle phase から突然 hippocampal hyperactivity の状態になり、E.O.G., E.M.G., E.C.G., にも変化が生じる

し、その誘発閾値、latency, E. A. の duration などからその活動水準の判定を行なった。大脳辺縁系の活動水準の判定には Afterdischarge^{4,5)} (以下 A. D., 第4図)を用いた。これは扁桃核 (AMYG)、海馬 (HPC) を 50 cps, 2 m. sec duration, 5 sec, 0.2~10.0 volts の parameter で A. D. を誘発し、この誘発閾値と A. D. の duration の変動を示標とした。刺激装置には日本光電 MSE-3 型を用い、誘導・記録には同型を使用した。

実験終了後、脳は剔出し、10%ホルマリンに固定後、組織学的に電極の刺入部位を確めた。



第2図 家兎脳の stereo-taxic atlas
AMYG: 扁桃核. VMH: 腹内側核. HPC: 海馬



第4図 扁桃核直接刺激により誘発した After discharge

AMYG: 扁桃核, HPC: 海馬, VMH: 視床下部腹内側核, FC: 前頭皮質, TC: 側頭皮質

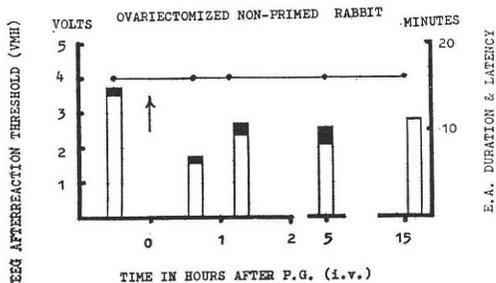
また下垂体は Mallory-Azan 染色を行なった.

実験結果

Compound F6066 の作用機序を解明するために, Estradiol の作用機序と比較を行なった. また両者共通の溶媒である propylene glycol 自体の中枢神経系への作用の有無についてもあらかじめ検討を加えた.

溶媒 (propyleneglycol) の検討

Compound F6066 と Estradiol benzoate 共通の溶媒である propyleneglycol そのもの中枢神経系への影響の有無について検討した (第5図). 電極を挿入した

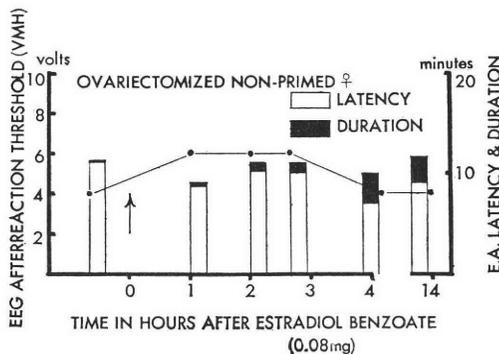


第5図 去勢雌家兎に無処置のまま propyleneglycol 3 ml 静注後の E.A. を示す, 白柱は E.A. の latency を, 黒柱は duration を示す

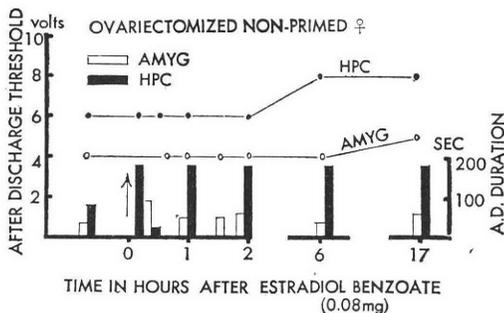
無処置去勢家兎の耳静脈より propyleneglycol 3 ml を静注した後の視床下部-下垂体系の活動水準の変化を E. A. の誘発閾値から観察すると殆んど変化しないことが判る. E. A. の latency 及び duration の面から考えて僅かに活動水準が高まる程度であろう.

Estrogen 単独の視床下部・大脳辺縁系に及ぼす影響

去勢, 無処置の家兎の耳静脈より 80% の Estradiol benzoate を静注し, 視床下部・大脳辺縁系の活動水準



第6図 去勢雌家兎に無処置のまま estradiol benzoate 80% 静注後の E.A. の変化, 折れ線グラフは E.A. の閾値を示し, 白柱は E.A. の latency を, 黒柱は duration を示す

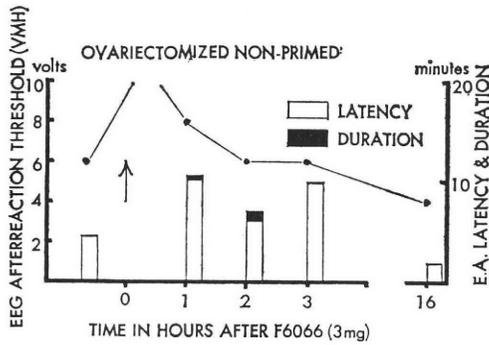


第7図 無処置去勢雌家兎に estradiol benzoate 80% 静注後の A.D. の変化, 折れ線グラフは A.D. 閾値の変化を示し, 白柱は AMYG の A.D. の duration を, 黒柱は HPC. のそれを示す

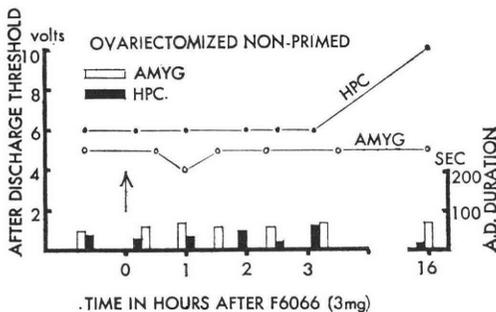
の変化を調べた (第6図, 第7図). まず第6図のように視床下部腹内側核刺激による E. A. の閾値は極く軽度程度上昇し数時間で元に戻る. 然る後, E. A. の duration はやや延びる結果を得た. 一方, 大脳辺縁系の海馬・扁桃核の A. D. の閾値は第7図のように 80% の Estradiol benzoate に殆んど変化を示さず, 投与6時間後より海馬が軽度抑制される結果が得られた.

Compound F 6066 単独の視床下部・大脳辺縁系に及ぼす影響

第8図は無処置の去勢家兎に 3 mg の Compound F 6066 を耳静脈より静注した後の視床下部腹内側核の E. A. の誘発閾値の変動を示したものである. 静注直後, E. A. 誘発が不可能の時期の生ずる例もあるが, 総じて E. A. の閾値は最初の数時間の間, 軽度上昇し, 10時間以後になって, これも軽度に閾値が低下する結果を得た. また 3 mg の Compound F6066 を同様の方法で投与した後の大脳辺縁系の海馬・扁桃核の A. D. の



第8図 無処置去勢雌家兔に Compound F 6066 3 mg 静注後の E. A. の変化, 折れ線グラフは E. A. の閾値の変化を示し, 白柱は E. A. の latency を, 黒柱は duration を示す

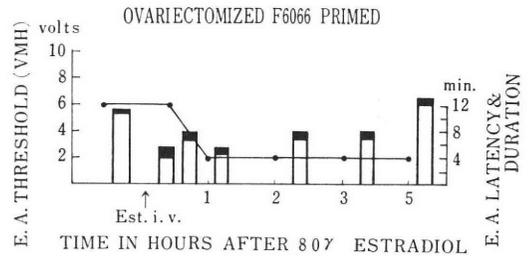


第9図 無処理去勢雌家兔に Compound F6066 3 mg 静注後の A. D. の変化, 折れ線グラフは A. D. の閾値の変化を示し, 白柱は AMYG の A. D. の duration を, 黒柱は HPC. のそれを示す

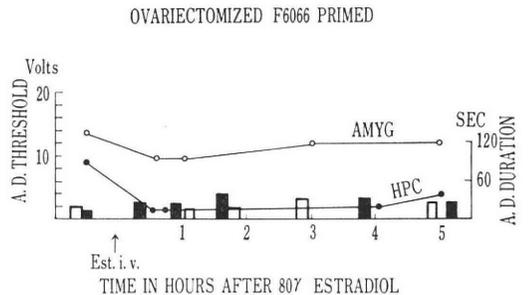
閾値の変化を第9図に示した。この図からも判るように、Compound F6066 投与後、海馬・扁桃核の A. D. 誘発閾値 duration も殆んど変動せず、10時間以後、Estrogen の場合と同様に海馬 (HPC) の A. D. 誘発閾値が上昇するなど、Compound F6066 は視床下部の E. A., 大脳辺縁系の A. D. から判断すると Estradiol benzoate のそれとほぼ類似した結果が得られ、Compound F6066 単独ではこれら脳活動水準の変動は比較的弱い。

Compound F 6066 前処置家兔への Estrogen の及ぼす影響

これまでの一連の実験は、Estradiol benzoate または Compound F6066 単独投与の影響を観察したわけであるが、Compound F6066, 3 mg を 24 時間おきに 2 日間、皮下に前処置投与した後、Estradiol benzoate 80 γ を耳静脈より静注投与すると、視床下部・大脳辺縁系の活動水準は興味ある著明な変化を来たした (第10図, 第11図)。すなわち、Estradiol benzoate 投与直後より視



第10図 去勢雌家兔に F6066, 3 mg/day 2 日間前処置後, Estradiol 80 γ 投与後の E. A. の変化, 著明な E. A. 誘発閾値のほか, latency も短縮している



第11図 去勢雌家兔に F6066, 3 mg/day 2 日間前処置, Estradiol 80 γ 投与後を静注した後の AMYG., HPC. の A. D. の変化, AMYG., HPC. の A. D. 閾値の低下と共に Duration の増加もみられる

床下部一下垂体系の E. A. の閾値も、大脳辺縁系の海馬・扁桃核の A. D. の閾値も著明な低下がみられた。この閾値の低下はいずれの例においても数時間より14~15時間続き、その後回復した。とくに E. A. 閾値低下の傾向は著しく、Estradiol benzoate 投与後、無刺激の状態のまま、E. A. が繰り返し出現する例さえ生じた。

Compound F 6066 の去勢前葉の組織像に及ぼす影響
成熟雌家兔を去勢すると下垂体前葉は写真1のように

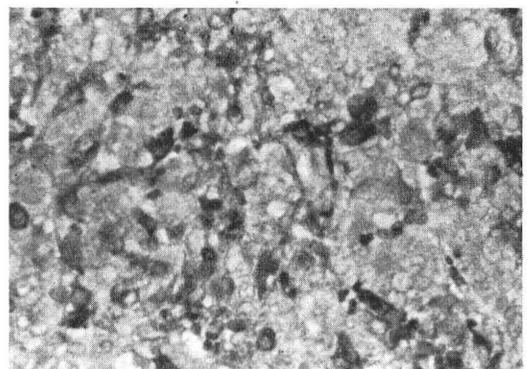


写真1 去勢前葉

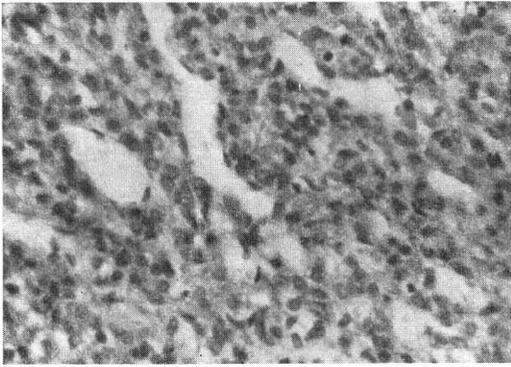


写真 2 去勢前葉に estradiol benzoate を負荷した像

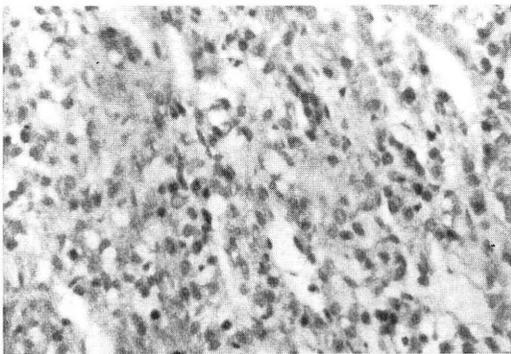


写真 3 去勢前葉に Compound F6066 を負荷した像

α cell も β cell も細胞数が増加，胞体は腫大し，核もそれ従つて腫大，核膜も明瞭となり，核仁は消失，一部は空胞化するなど，いわゆる去勢前葉の像を示す。これに Estradiol benzoate を投与すると，写真2のように胞体の腫大もなくなり，核も空胞化せず homogen になり，去勢像は著明に修正されたものになる。一方去勢家兎に Compound F6066 を投与した下垂体前葉は写真3のように Estradiol benzoate を投与した像と同様に，去勢前葉の像がきわだつて修正されたものになった。

考 按

実験に用いた Compound F6066 も Estradiol benzoate も溶媒として propylene glycol を用いた。この種の実験では比較的低濃度の Compound F6066 なり，Estradiol を用いるので相対的に溶媒の量が多くなる。しかも耳静脈より投与することにより，速やかに体内を循環し，脳への影響も無視出来ない溶媒も多い。われわれの使用した propylene glycol は，E. A. の閾値から判断する限り，まずこれら一連の実験を進めていく上に適当な溶媒と考えられる。

次に Compound F6066, Estradiol benzoate それぞれ単独の中枢作用を検討した。その結果，視床下部一下垂体前葉系に対しても大脳辺縁系の海馬・扁桃核に対しても，電気生理学的閾値から眺めると，いずれも極く軽度の抑制傾向で両者は極めて類似した作用をもたらしていることが判明した。いいかえれば，Compound F6066 は中枢神経系のこれらの部位に weak estrogenic activity を有していることになる。この作用の裏づけは去勢前葉への Compound F6066の作用が，Estrogen のそれとほぼ同様の組織像が得られたことから証明し得る。すなわち，電気生理学的手法からも，下垂体前葉の組織像からも，Compound F6066 の estrogenic activity は否定出来ないものであろう。しかし，この作用が実際の臨床上の排卵誘発効果とどのように結び付くのであろうか。これまでのデータからは真の排卵誘発機序は窺うことが出来ない。そこで次の実験の前に実際の臨床例について少し検討してみる必要があるように思われる。

慶応義塾大学病院，産婦人科，ホルモン外来を訪れた無月経症，無排卵周期症に Compound F6066 を 400~600mg/day，月経または消退出血終了後，約 7 日間投与した成績は次のようになる。投与総数 206例，この内排卵誘発に成功したもの 107例，51.9%となつた。内訳は第 1 度無月経 128例中，排卵例 58例，45.3%，無排卵周期症 77例中，排卵例 49例，62.0%で第 2 度無月経症には無効であつた。妊娠例は総数 31例，このうち分娩例は 11例で全て単胎，性別は男児 5 例，女児 6 例で大差がない。症例別妊娠の割合は，第 1 度無月経 19例，無排卵周期症 12例で，前者がやや上まわる。これは排卵誘発率とは逆の結果となつた(第 1 表)。副作用には見るべきもの

第 1 表 Compound F6066 による臨床排卵誘発成績

	治療 周期数	排卵誘 発成功 周期	%	妊娠例
第 1 度無月経	128	58	45.3	19
第 2 度無月経	/	/	/	/
無排卵周期症	78	49	62	12
総 計	206	107	51.9	31

はなかつた。内分泌学的検索所見についても検討した⁶⁾。その結果，投与前尿中 estrogen 値が多少高値のもので，尿中 total gonadotropin 値が低値を示す症例に排卵誘発成功例が多いことに気付く。また 17-OHCS, 17-KS 値は成功例，失敗例の間に差がみられなかつた。内分泌学的所見をさらに文献的に考察を加えてみよう。まず Compound F6066 の作用部位についてみると卵巣黄体への直接取り込みが認められているが⁷⁾，黄体への作

用と排卵誘発機序を結び付けるのは至難と思われる。下垂体とくに前葉に対する作用を報告する文献も多い。われわれも前述のように去勢前葉の組織像が Estradiol benzoate と同様に Compound F6066 によっても変化をうけることを述べたが、本邦においても Compound F6066-¹⁴C の放射能が下垂体前葉に他の脳組織・筋・血中よりも長時間にわたって高いこと⁹⁾、下垂体前葉へ直接 Compound F6066 を植え込むことにより、血中 LH, FSH が有意に変化すること¹⁰⁾などが報告されている。しかしながら、一方では成熟雌性白鼠に 50~500 μ g の Compound F6066 を投与した後、下垂体前葉の LH に差がないという報告¹⁰⁾もあり、Compound F6066 の排卵誘発機序が下垂体前葉への直接作用とした場合、前葉の中にいかなる形で chemoreceptor が存在するか、Prepituitary mechanism, いかえれば正中隆起以上の中枢神経系の作用ならびに gonadotropin releasing factors の存在を無視して Compound F6066 と前葉のみの関係で FSH, LH の産生・放出を考えることは無理がある。

ところで、臨床の排卵誘発成功例、不成功例の内分泌パターンで特に差があるのは、尿中 Estrogen の差である。また Compound F6066 の作用様式が *in vivo* の実験の際、内因性 Estrogen の多少によつて大きく左右されといわれている¹¹⁾。これは本質的に Compound F6066 に anti-estrogenic activity があり、それが内因性の Estrogen を block, いかえれば Estrogen の negative feed back を block して排卵誘発に至らしめるものか、あるいは全く別の作用機序によるものか、一つの解明の鍵がひそんでいるように思われる。去勢家兎に Compound F6066, 3 mg を 24 時間毎に 2 日間、皮下注射して、この前処置完了後、Estradiol benzoate 80 γ を静注射すると、視床下部-下垂体系も、大脳辺縁系の海馬・扁桃核の活動水準の閾値も著明に低下した。いかえれば Compound F6066 前処置の中枢神経系へ、Estrogen を投与すると、Compound F6066 単独投与ではみられなかつた活動水準の亢進がみられるのである。

以上の一連の実験及び文献の考察から、Compound F6066 の排卵誘発機序は内因性または外因性の Estrogen との相互作用により、視床下部・大脳辺縁系の活動水準が亢進したことにより惹起されるもので、weak estrogenic activity または anti-estrogenic activity は排卵誘発機序の本質的作用とは別個のものであるという結論に達した。

参考文献

- 1) Miquel, J. F., H. Wallstam, K. Olson and B. Sundbeck; J. Med. Chem., 6, 774(1963).
- 2) Sawyer, C. H., J. W. Everett and J. D. Green; J. Comp. Neurol., 101, 801(1954).
- 3) Sawyer, C. H. and M. Kawakami: Endocrinol. 65, 622(1959).
- 4) 稲田憲昭: 米子医誌, 10, 1456(1959).
- 5) 玉井充: 精神神経学雑誌, 69, 472(1967).
- 6) 野嶽幸雄他: 第 1 回 F6066 研究会演題要旨.
- 7) Hanngren, A., Jensen, N. and Ullberg, S.,: Nature, 208, 461(1965).
- 8) 小林隆, 小林拓郎, 加藤順三: 第 2 回 F6066 研究会, 演題要旨.
- 9) 松本清一, 佐藤恒治他: 第 2 回 F6066 研究会, 演題要旨.
- 10) 御園生雄三, 関光倫: 第 2 回 F6066 研究会, 演題要旨.
- 11) 野嶽幸雄, 飯塚理八, 牧野恒久他: 第 1 回 F6066 研究会, 演題要旨.

The Electrophysiological Study on the Ovulating Effect of Compound F6066 for the Rabbit Brain

Rihachi Iizuka and Tsunehisa Makino

Department of Obstetrics and Gynecology
School of Medicine, Keio University

Tsunekatsu Hara

Department of Neuropsychiatry, School
of Medicine, Keio University

In order to clarify the mechanism of ovulation induced by Compound F6066, the electrophysiological activities of the brain of 10 ovariectomized mature New Zealand white rabbits were examined. Two different EEG phenomena were applied for this investigation, i.e., (1) EEG after-reaction on the hypothalamus and (2) after-discharge on the limbic system. The alteration of brain activities was indicated by the electrical threshold, duration and latency of these two EEG phenomena. The results were as follows; (1) By intravenous injection of 0.08 mg of estradiol benzoate, hypothalamic activity was depressed slightly and briefly. The threshold of the amygdaloid discharge remained unchanged, while that of the hippocampus, however, was slightly depressed. (2) Three mg of Compound F6066 showed an effect quite similar to that of estrogen. (3) After priming with Compound F6066 (with a daily dose of 3 mg per animal for two days), the brain activities of these areas revealed marked excitatory changes when 0.08 mg of estradiol

benzoate was injected intravenously. Although Compound F6066 has revealed weak estrogenic and anti-estrogenic effects, it is, therefore, strongly

suggested that this agent has a marked excitatory effect on the brain with the combination of estrogen.

小用量の norethindrone-mestranol 剤 (ノアルテン-S錠1) の経口避妊に関する研究

Clinical Studies on the Low-Dosage Norethindrone-Mestranol Combination Method for Long-Term Oral Contraception

京都府立医科大学産婦人科学教室 (主任 徳田源市教授)

東山秀声 小畑義東 義隆
Syusei HIGASHIYAMA Tadashi OBATA Yoshitaka HIGASHI

上羽至 木津収二 北嶋正智
Itaru UEHA Syuzi KIZU Masatomo KITAZIMA

坂本弘宣
Hironobu SAKAMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology, Kyoto Prefectural University of
Medicine, Kyoto, Japan
(Director: Prof. G. Tokuda)

norethindrone 1 mg と mestranol 0.05mg の合剤 Norluten S1 を経口避妊の目的に使用した。避妊希望の健康な経産婦85例に、投与第1周期は月経周期第5日より、第2周期以後は前周期の最終投与日から7日の休業期間をおき、1日1錠連続21日間投与した。延周期は1,311周期、最長投与周期数は39周期であり、実験中1例の妊娠も認めていない。投薬中は周期日数、出血持続日数、経血量とも投薬前に比較してどれも減少し、また出血発来までの日数は投薬終了後3~4日にみられるものが最も多い。破たん出血は4.3%に、無月経は2.1%にみられた。副作用は胃腸障害がおもなもので、他の薬剤にくらべると非常に少ない。臨床検査成績では肝機能で投薬中に軽度の異常上昇を示すものがみられたが、多くは一過性で、継続中でも正常値にかえった。また4例の血圧上昇例以外は心、副腎、腎機能に異常は認められなかった。休業後の性機能は休業第2周期には正常にかえった。

I. はじめに

臨床的に progesterone を経口的に使用して排卵を阻止し、避妊の目的を達成する steroid contraception の方法が1965年 Pincus らによつて確立された。しかし、progesterone の避妊効果は認められたが、その後の追試により避妊効果をあげるには大量の progesterone を必要とし、また副作用があることや、高価である点で実際的な利用価値は低いとされた。

しかし、近年の steroid 合成化学の発展に伴つて、経口投与で強い黄体ホルモン様の活性を示す多くの種類の progestin が開発され、これらの経口合成 progestin の多くのは実験動物だけではなくヒトにおいても排卵

抑制効果を示すことが認められた。このようにして合成 progestin は progesterone にかわつて経口避妊の目的に応用されるようになった。

現在、これらの progestin は排卵抑制効果の増強、破たん出血の防止、あるいは規則的な月経様出血の発来などの目的のため estrogen と併用投与されることが多い。

従来から、われわれは多くの種類の progestin-estrogen 剤の経口避妊への臨床応用を試みて、すでに報告してきた。この実験では combination pill であるノアルテンS錠1についての臨床成績を報告する。

ノアルテン-S錠1

Table 1

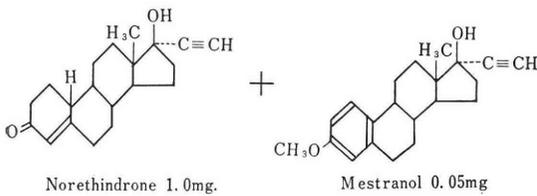


Fig. 1

II. 組 成

この実験に使用したノアルテン-S錠1は Fig. 1に示すように19-norsteroid系の progestin に属する17 α -ethynyl 19-nortestosterone(norethindrone) 1mg と17 α -ethynyl-estradiol-3-methyl ether (mestranol) 0.05mg からなる合剤である。

III. 実験成績

1) 投与対象

本学産婦人科外来および瑞穂病院産婦人科外来を訪れ避妊を希望した健康な経産婦に対し、投薬前に実験の主旨をよく説明した後、月経周期がほぼ整調で基礎体温曲線が2相性を示すものを対象とした。

投薬前に過去の避妊方法、既往症、月経周期、出血持続日数、経血量、月経時障害、妊娠回数、分娩、流早産および人工妊娠中絶等を精査し、婦人科的疾患についても調べた。投与対象婦人の年齢は23~42歳、平均年齢は31.9歳であり、既往妊娠回数は平均 4.2回、分娩回数は平均 2.3回である。

2) 投与方法

投与第1周期は他の combination pill と同様に月経周期第5日よりノアルテン-S錠1を1日1錠、連続21日間投薬したが、第2周期以後は休薬期間7日をおいて、消退出血の開始日に関係なく次の周期の投与を開始する combination method によるのを原則とした。このような投与方法を行なうと、服用者は服用第1周期の第1日目の曜日が次周期以後の開始日の曜日となり、一定するという便利さがある。

本剤投与開始後は基礎体温の測定を励行させ、また毎月1回必ず受診させ、基礎体温曲線、副作用などを診査し、年2回の精密諸検査を行なった。

IV. 実験成績

1) 投与症例の分布

投与症例の分布は Table 1に示すように85例、最長投与周期数は39周期、延周期数は1,311周期である。そのうち12周期以上の投与症例数は55例、24周期以上のそ

Cycle	No. of Patients	No. of Cycles	Number Closed out
1	4	85	4
2	2	81	2
3	3	79	3
4	4	76	4
5	2	72	2
6	2	70	2
7	1	68	1
8	5	67	5
9	2	62	2
10	4	60	4
11	1	56	1
12	2	55	2
13	5	53	5
14	5	48	5
15		43	
16	2	43	2
17	2	41	2
18	7	39	7
19	2	32	2
20	4	30	4
21	5	26	5
22	3	21	3
23	1	18	1
24	7	17	7
25	2	10	2
26	1	8	1
27	1	7	
28	1	6	
29		5	
30		5	
31		5	
32		5	
33	1	5	
34	1	4	
35	1	3	
36		2	
37	1	2	
38		1	
39	1	1	
40			
Total	85	1,311	78

れは17例である。

2) 避妊効果

実験期間中、投与の間に避妊に失敗し、妊娠した症例

は1例も認められず、したがって本剤の避妊効果は 100%である。

3) 投与中の周期日数

投与中の周期日数の分布は Fig. 2 に示すようであり、投与前の周期日数と比較して短縮し、またより規則性を示すようになる。すなわち、投薬前の平均周期日数は30.8日であるが、投薬中の平均日数は27.3日であり、周期日数の peak は27日に認められ、82.4%は26~29日であった。したがって、本剤の月経周期におよぼす影響は既報の norethindrone 2 mg+mestranol 0.1 mg 剤のそれと同じ傾向である¹⁾。

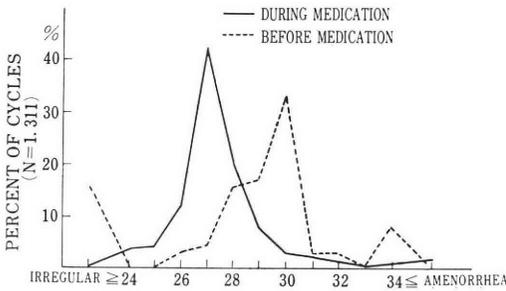


Fig. 2 Length of menstrual cycles during medication

4) 出血発来までの日数

出血がおこるまでの日数は Fig. 3 のようで、投与終了後3日に出血を開始するものが最も多く、次いで4日であり、平均3.4日であった。また、その90.5%は2~5日であった。

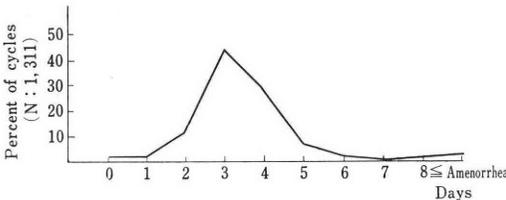


Fig. 3 Onset of menstruation time in days after the last tablet at which bleeding usually occurs

5) 出血持続日数

Fig. 4 に示すように出血持続日数は投与前の月経持続期間と比較して明らかに短縮する。すなわち、投与前の平均出血日数は4.8日であるが、投与中のそれは3.4日、peak は3日に認められ、その85.9%は2~4日であった。

6) 経血量的変化

投与中の出血持続期間が投与前と比較して短くなるのと一致して、経血量も一般に投与前よりも減少する症

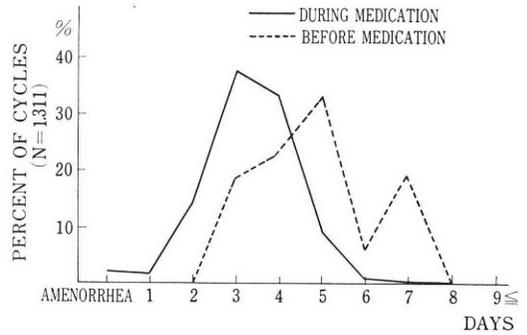


Fig. 4 Duration of menstrual flow

Table 2 Incidence of Breakthrough Bleeding & Effect on Volume of Menstrual Flow

	Cycles	Percent
Spotting	57	4.3
Breakthrough Bleeding		
Amenorrhea	28	2.1
Increase in Flow	10	0.8
No Change in Flow	391	29.8
Decrease in Flow	882	67.3

例がきわめて多い。すなわち、Table 2 に示すように投与前と比較して増加する例は 0.8%、変化しない例は 29.8%であるのに対し、減少する例は67.3%におよんでいる。さらに消退出血がみられない、いわゆる silent menstruation の例は11例、延28周期、2.1%に認められた。

このように投薬中には出血持続日数が短縮し、経血量が減少するのは norethindrone 2 mg+mestranol 0.1 mg 剤の場合と同じ傾向であり、これは本剤の持つ estrogenicity によるものと考えられる。

7) 破たん出血、点状出血

合成 progestin を10日以上続けると破たん出血、あるいは点状出血“spotting”がみられることがある²⁾。この破たん出血の発生率は投与された progestin の estrogen 様作用(添加 estrogen を含めて)と深い関連性があり、estrogen 様作用が強いほど発生率は低い。ノアルテン S1 錠による破たん出血、点状出血の発生率は Table 2 のように、1,311周期中の57周期、4.3%に認められた。これは norethindrone 2 mg+mestranol 0.1mg 剤による発生率¹⁾である 0.4%の10倍以上と高いが、このことは本剤に添加されている estrogen が少量であり、したがって本剤の estrogenicity が弱いと考えられる。

また、破たん出血の発生率は投与開始初期に比較的高い傾向がある。なお、本剤による破たん出血のうちには

1～2日間の服用忘れのために出現したものがかなりみられたから、その発生率は実際にはもう少し低く推定される。

8) 基礎体温曲線 (BBT 曲線)

実験期間中に BBT 曲線は 1,165周期について調査することができた。BBT 曲線のうち投与開始の翌日から上昇を始め、投与開始後 2～4日 で最高に達し、その後は終了日まで高温期が続き、投与終了後 1～2日 から低下し始める、いわゆる高温 1 相型が最も多く、67.0%であった。しかし、時には投薬中にも体温が上昇しない低温 1 相型を示すものもみられ、3.7%であった。また排卵が推定される 2 相型の BBT 曲線を示す症例も 70 周期、6.0%に認められた。なお、低温 1 相型にも 2 相型にも属さない不定型の BBT 曲線を示す症例が 23.3%にみられ、高温 1 相型について多く認められた (Table 3)。

このような本剤の体温上昇効果はノアルテン-S 錠 1 の主成分である norethindrone の thermogenic effect によるものである。

9) 自覚的副作用

一般に薬剤投与による自覚的副作用は患者の薬剤に対する不安感、あるいは患者に対する問診の方法によつて

Table 3 BBT

		Number of Cycles	Percent
Monophase	high	781	67.0
	low	43	3.7
Biphasic		70	6.0
Irregular		271	23.3
Unknown		146	—

著しく左右される。

本剤投与中にみられる副作用は破たん出血、点状出血を除外すれば、Table 4 に示すように悪心、嘔吐などの胃腸障害が多く、次いで体重の変化、とくにその増加である。その他の副作用としては頭痛、腰痛などがおもなものである。

胃腸症状は表のように投薬開始後の比較的早期である第 3 周期までの発現率が高い。progestin 剤の副作用のうち胃腸障害の発生は薬剤の持つ estrogenicity や estrogen の増量と関連があり、本剤でみられる胃腸症状もその estrogen 様作用によるものである。しかし、本剤による胃腸障害の発現率 1.9%は norethindrone 2 mg + mestranol 0.1mg 剤の 4.6%に比べて非常に低く、これはノアルテン-S 錠 1 の estrogen 添加量が少なく、

Table 4 Side Effects

	Cycles	Percent	Cycle Number					
			1~3	4~6	7~12	13~24	25~	
Vomiting	1	0.1	0	0	0	1	0	
Nausea	10	0.8	7	0	2	1	0	
Gastro-Intestinal Discomforts (Except Nausea & Vomiting)	6	0.5	5	0	1	0	0	
Breast Discomforts	2	0.2	2	0	0	0	0	
Lower Abdominal Pain	7	0.5	1	1	2	1	2	
Lumbago	6	0.5	1	1	1	2	1	
Headache	8	0.6	1	0	2	3	2	
Dizziness	1	0.1	0	1	0	0	0	
Aggravation of Psychosomatic Complaints	0	0	0	0	0	0	0	
Edema	3	0.2	1	1	1	0	0	
Acne	2	0.2	0	2	0	0	0	
General Fatigue	1	0.1	0	0	1	0	0	
Cloasma	0	0	0	0	0	0	0	
Libido Change	0	0	0	0	0	0	0	
Weight Change	Gain Loss	1.6	14	0	2	6	6	0
			7	0	0	3	4	0
Lactation Change	1	0.1	0	1	0	0	0	
Change in Amt. Discharge	0	0	0	0	0	0	0	
Visual Disturbance	0	0	0	0	0	0	0	
Others	2	0.2	0	2	0	0	0	

したがって estrogen 様作用が弱いためである。

なお、この胃腸症状は投与開始後の早期の周期に発生することが多いことは他の経口避妊剤と同様であり¹⁾³⁾⁻⁵⁾、投与周期を長くすると薬剤に対する“なれ”が生じて、症状の発現が低くなると思われる。

体重の変化、とくにその増加は投与周期が長くなるとその発現頻度が増加する。これは本剤の estrogen 様効果により浮腫がおこることも一因と考えられるが、norethindrone の持つ anabolic effect によることも考えられる²⁾。

また、本剤による体重の増加、あるいは浮腫そのものが aldosterone の分泌や代謝の変化とも関連することが推測されるが⁶⁾、これにはなお、電解質平衡との関係が解明されなければならない。

10) 投与中止例

Table 1 に示したように投与中止例は78例であるが、そのうち投与予定終了者56例を除く22例中、副作用が強いという理由で止むなく休薬したものは2例である。その2例のうち、1例は無月経が続くため、他の1例は浮腫を理由で中止している。また妊娠希望の理由で3例が、他の17例は服薬続行を希望しなかつたり、あるいは来院しなかつたりなどで中止している。

11) 臨床検査成績

各症例についての臨床諸検査は血液一般、心機能、肝機能、副腎皮質機能ならびに腎機能について原則として投与前、投与中は6周期ごと、および投与終了後に行なつた。また子宮内膜生検、視力検査ならびに視野・眼底検査についても適時行なつた。

i) 血液一般検査

血液系におよぼす影響については赤血球、赤血球形態、血色素量、ヘマトクリット値、白血球数、白血球分画、血小板数、血液凝固時間、赤血球沈降速度に関して検討した。

Fig. 5 ~ 6 に示すように赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値のいずれの検査値も投与前のそれらと比較して投与中も著しい変化は認められなかつた。白血球数、白血球分画も投与前と比較して、同様に著しい変動はみられなかつた。

薬剤の過敏性の問題と関連して好酸球数が軽度増加する症例があることが報告されている⁷⁾⁸⁾。好酸球数の正常値を0~10%とすると、本剤では好酸球数の増加する例は認められない。

最近、海外において経口避妊剤による静脈血栓症の発症がとくに問題となつてきている。この実験においても栓球数ならびに血液凝固時間について検討したが、投薬中は投与前と比較して著しい変動はみられず、血栓症の

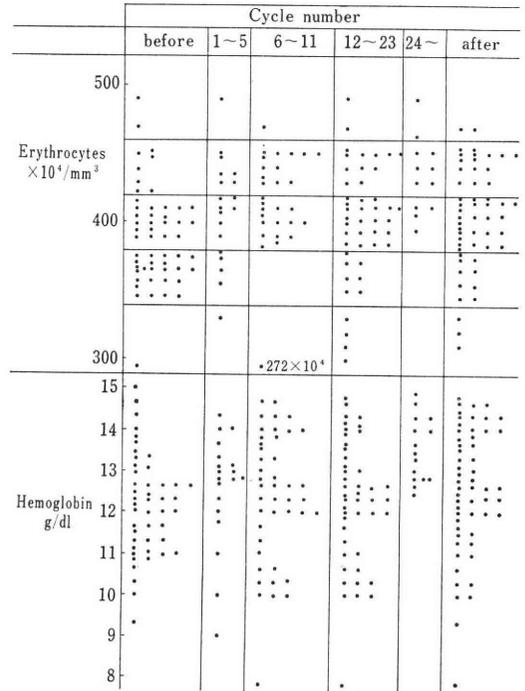


Fig. 5 Blood Examination (I)

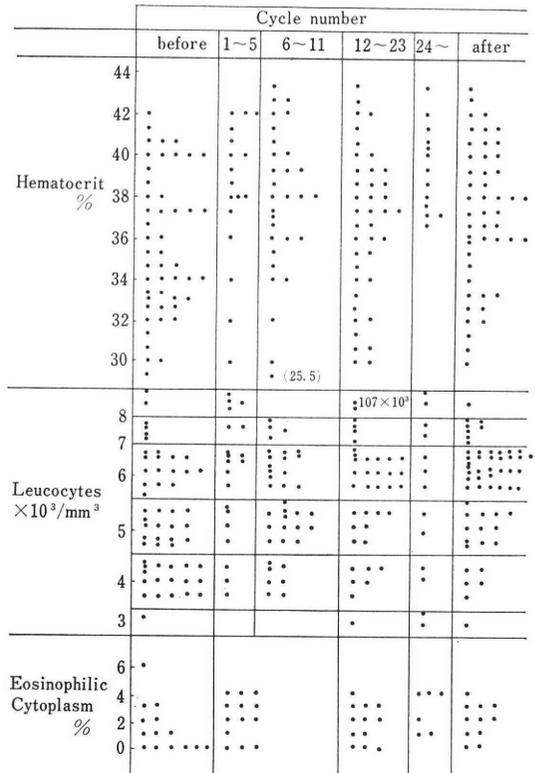


Fig. 6 Blood Examination (II)

発症例は 1 例も認められていない。

ii) 肝機能

progesterin あるいは mestranol のような合成の steroid を健康な婦人に対し、長期間投与した場合の肝への影響の有無に関して種々の検討を加えた。

検査項目は steroid による潜在性肝障害の発見、肝胆道疾患の鑑別をおもな目標として血中ならびに尿中 bilirubin 検査, BSP 試験, 高田反応, チモール混濁試験 (T.T.T.), 硫酸亜鉛混濁試験 (Zn. T.T.), 血清アルカリ性リン酸酵素活性測定, 血清蛋白量, A/G, およびアミノ酸転移酵素である Glutamic Oxaloacetic Transaminase (GOT), Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT) の血清中の活性度を測定した。

おもな検査成績は Fig. 7~9 に示すようである。

BSP 値については 45 分値が 6%以下を正常値とすると、検査例 19 例中の 3 例に投与中に軽度の排泄障害が認められたが、どれも一過性と考えられ、投与継続中にすでに正常値の範囲内にもどった。

GOT, GPT 活性値の正常範囲を Reitman-Frenkel 氏法で GOT は 50 単位以下, GPT は 45 単位以下とすると, GOT は 78 例中の 1 例 (1.3%) に異常上昇が認められた。この症例は投与第 21 周期で投与予定終了の症例であり、投薬最終日に検査を行なったところ, GOT が 133 単位まで上昇した。投薬終了 1 週後でも GOT はなお 63 単位を示したが、終了 2 週後には正常値にかえった。

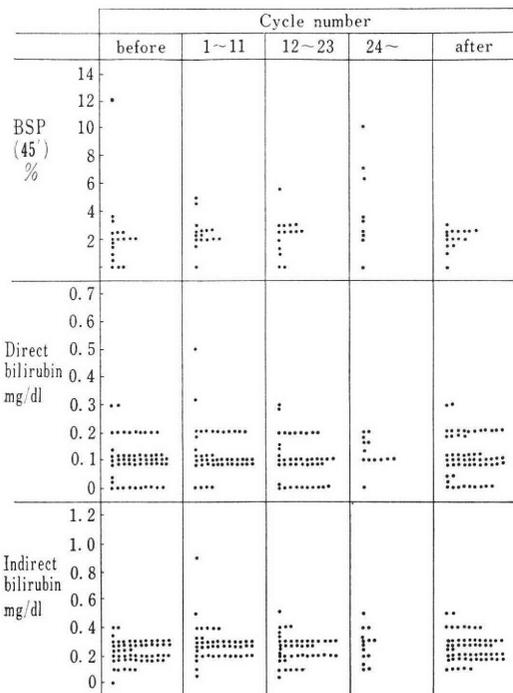


Fig. 7 Liver Function Tests

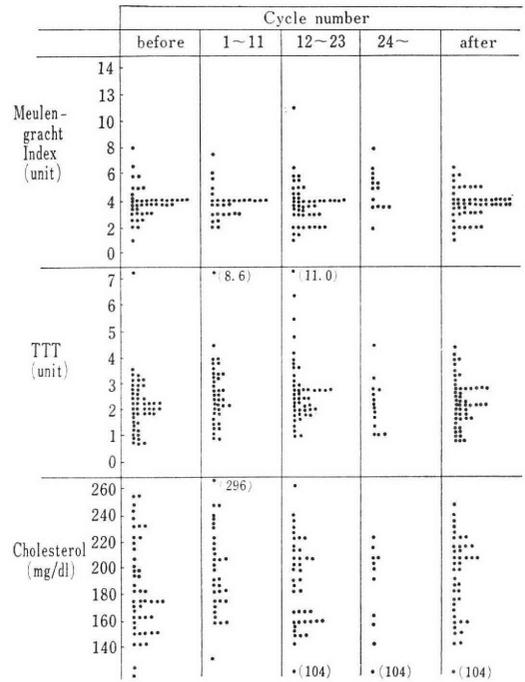


Fig. 8 Liver Function Tests

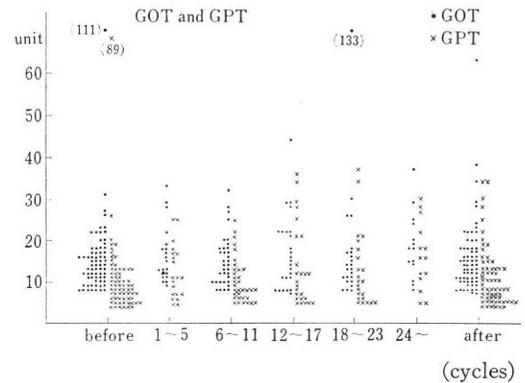


Fig. 9 GOT and GPT

なお、この症例は GOT のみが異常上昇したものであり、GPT を始め、他の肝機能検査値は正常範囲内にとどまっていた。

そのほかの検査施行例では GOT, GPT とも投与中に正常範囲内で上昇する症例がみられたが、投与中止後は投与前の活性値まで下降した。

なお、投与前に GOT 111 単位, GPT 89 単位と異常値を示した 1 例は、検査成績未知のまま投薬し、第 1 周期終了時に再検査したが GOT 17 単位, GPT 16 単位と正常値であり、そのほかにも異常はみられず、投薬を継続した。この投薬前の異常値はあるいは測定の誤りであったのかも知れない。

黄疸指数はその正常値を6単位以下とすると、66例中4例(6.0%)に投与中軽度の上昇がみられ、直接ビリルビン値は70例中2例(2.9%)、間接ビリルビン値は70例中1例(1.4%)に、また TTT では4単位以下を正常値とすれば64例中8例(12.5%)に軽度の上昇が認められた。しかし、ほとんどの症例はどれも投与中止後はもちろん、投与継続中でも正常値に復帰した。

そのほかの肝機能検査では異常を示した症例は認められなかった。

なお、本剤での黄疸発症例はない。

iii) 腎機能

尿比重、尿蛋白、尿糖および尿沈査について検討したが、とくに異常を示した症例は認められなかった。

iv) 副腎皮質機能

progestin の副腎皮質機能におよぼす影響についての基礎的な研究はかなり多く、ある種の progestin では実験動物でその機能低下が認められている⁹⁾⁻¹²⁾。ヒトでも一部の progestin-estrogen 剤で尿中17-Ketosteroid(17-KS)、17-Hydroxycorticosteroid (17-OHCS) 排泄値の減少が報告されている¹³⁾⁻¹⁵⁾。また、Layne ら⁶⁾の研究によると cortisol 分泌率は norethynodrel, mestranol,あるいは両者の合剤で減少するという。

そこで本剤投与時の副腎皮質機能への影響をみるために尿中のホルモン定量として17-KS、17-OHCS 排泄値について測定を行なった。

尿中17-KS、17-OHCS 値の成績は Fig. 10に示したよ

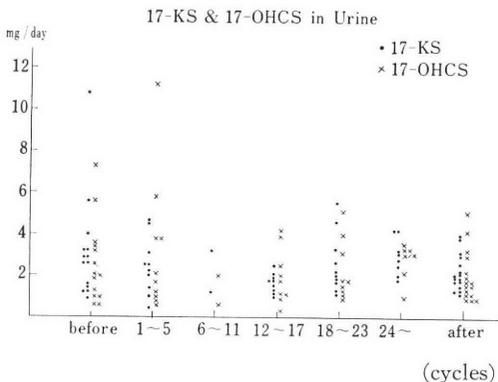


Fig. 10 17-KS & 17-OHCS in Urine

うにいずれも正常値域にある。しかし一部の症例では投薬期間中に両排泄値が軽度に変動するのがみられるが、投与終了後は投薬前の level まで復帰した。

したがって、このことから本剤によつて副腎皮質の機能が低下するとは考えられない。

v) 心機能

来院時には原則として聴診、打診、脈拍数、不整脈、

血圧などについて検査を行ない、心機能の異常が疑われる症例には心電図による検討を行なった。

成績は血圧を除いて、全例にとくに異常は認められなかった。

血圧に関しては、投与中軽度の上昇傾向にあるものがみられた。そのうち、収縮期圧 160 mmHg 以上、拡張期圧 100mmHg 以上が測定された症例は3例である。収縮期圧が高くなったのは3例全例にみられ、拡張期圧のそれは2例である。しかし、血圧の変動は投薬続行中でもみられ、正常範囲内に下降することもある。また、投薬前に血圧の高い症例は投薬継続でより高くなるようである。この点、高血圧婦人への投薬は好ましくない。

vi) 視力、視野、眼底検査

血液凝固の問題と関連して経口避妊剤投与時の脳血栓による視力障害が注目されている。本剤による障害について、ほとんど全例に検査を行なったが、異常例は認められない。

12) 子宮内膜への効果

原則として、本剤を21日間投与し、投与終了後内膜生検を行ない組織学的に検索した。

腺は投与第2周期目ぐらゐから小形の、しかも円形の腺腔を示すようになり、腺上皮は円形ないしは円形の核が配列し、腺腔内分泌はほとんどないか、あつても軽度に認められるにすぎない (Fig. 11)。一方、間質には脱落膜様細胞が上皮下に連続的に出現するようになってくる。また、子宮内膜上皮は扁平な、しかも一層の上皮からなっている。このような変化は7周期頃まで続くと思われる (Fig. 12)。

さらに投与周期を長くすると、腺は同じように小形の、しかも円形の腺腔を示して、前回の腺の形態とあまり変化がないような反応を示しているが、間質には浮腫が著明に現われる。血管は拡大して、あまり蛇行しないまつすぐな血管として現われてくる。さらに、脱落膜様細胞も出現し、この間紡錘形の形をした細胞が現われてくる (Fig. 13)。このような変化は投与周期が15周期頃まで続くものと思われる (Fig. 14)。

しかし、さらに投与周期を延長すると、腺はほとんど消失し、大部分が間質成分によつてしめられるようになり、脱落膜様細胞および拡大された血管が現われてくるようになる。このような変化は投与周期が20ないし25周期くらいまで続くものと考えられる (Fig. 15)。

13) 尿中 gonadotropin

ノアルテン S1 錠投与婦人の尿中 gonadotropin のうち FSH について、1例であるが連日ホルモン定量を行ない、その成績を Fig. 16に示した。FSH 測定は Steelman-Pohley 法によつた。

卵の抑制

末梢因子として

2) 頸管腺の妊娠性変化による精子の頸管粘液貫通性の阻害

3) 子宮内膜への妊卵の着床阻害

4) 卵管における卵の輸送の障害, あるいは受精卵の変性

などが考えられている。

しかし, 少数の薬剤服用忘れの場合に妊娠率が上昇することから⁴⁹⁾, これらの諸因子のうちでも急速に作用がおよぶ下垂体, 視床下部に対する抑制がより重要と考えられる。

estrogen, progesterone, さらには多くの合成 progestin は下垂体 gonadotropin の抑制効果を示し, 薬剤の投与を受けた動物の下垂体 gonadotropin の含有量が減少することは多くの学者によつて報告されている。また, Hecht-Lucari¹⁶⁾ は 19-norsteroid 系の progestin の実験で, 下垂体 gonadotropin は合成よりも分泌が障害されるとのべている。このように性 steroid が下垂体 gonadotropin を抑制するのは下垂体に直接作用するのではなく, 視床下部の排卵中枢に作用し, 下垂体 gonadotropin の放出に必要な Gonadotropin Releasing Factor をおさえることによると考えられる。すでに報告したように¹⁷⁾⁻¹⁹⁾, estrogen や多くの種類の progestin 単独投与, あるいは estrogen-progestin 合剤投与ネズミでは FSH-Releasing Factor, LH Releasing Factor の放出抑制がおこることを *in vitro* で認めている。

ヒトにおいてもこれらの性 steroid が下垂体 gonadotropin の抑制, ひいては排卵の抑制効果を持つことは以前から知られており, estrogen では Sturgis & Albright²⁰⁾ が月経困難症の治療に使用してその有効性を認め, その効果は estrogen の排卵抑制によるものであることを報告した。天然の progesterone でも排卵の抑制効果は認められるが, 経口投与するにはあまりにも大量を必要とし, 長期間の使用には適当ではない。一方, 合成 progestin は正常婦人においても, 少量の経口投与で強力な排卵抑制効果を持つことが Rock ら²¹⁾ により報告され, 長期間投与に適したものとして経口避妊の目的に広く使用されることとなった。

最近, estrogen-progestin 剤では 1錠中の steroid の量を減少させる試みが行なわれ, mestranol-norethindrone 剤でも norethindrone の量は 5 mg から 2 mg, さらに 1 mg に, mestranol は 0.1mg から 0.05 mg へ減量され, 現在では小用量の合剤は排卵抑制機序のうえでは progestin よりも estrogen が重要な役割を演じている

と考えられるようになった。

臨床的にヒトにおける合成 progestin 剤の排卵抑制機序に関して, 尿中 gonadotropin の測定はおもに total gonadotropin (G) の定量が行なわれ, その推移を追求することによつて, その抑制機序が推測されてきた。19-norsteroid の 15~20mg/day といった大量投与では G の分泌は抑制されるが²²⁾⁻²⁵⁾, 日常使用する程度の量ではその抑制は認められないで, 排卵のみが抑制されるという報告がある²⁶⁾⁻²⁹⁾。一方では抽出法や測定法が改良されるにしたがつて, 少量投与でも G は抑制されるという報告も多い³⁰⁾⁻³⁵⁾。さらに Shearman²⁶⁾, Brown ら²⁷⁾, Fuchs ら²⁷⁾, そのほか多くの報告者により progestin 投与中の婦人では尿中 estrogen, pregnandiol 値が減少することが認められている。したがつて, 単純に G が抑制されるというよりは排卵に必要な gonadotropin 相互間の平衡関係が変化することによると考えられ, 通常の G 測定法では FSH・LH ratio の変化が反映されないため, 最近では尿中 G の分離定量を行ない, FSH, LH をそれぞれ測定することにより性 steroid 投与中の gonadotropin の動態の研究が行なわれるようになった。

性 steroid 投与中の婦人の尿中 gonadotropin 分画定量の報告は最近散見されるようになった。Fig. 16 に示したノアルテン S 1錠についてのわれわれの研究では, 投薬前と投与期間中の FSH 定量実験で投薬中の婦人の尿中 FSH 量は明らかに抑制された。したがつてノアルテン S 1錠では卵胞の発育は強くおさえられると推測される。すでにわれわれが報告したように¹⁷⁾, 実験動物の卵巣組織所見において本剤では卵胞の発育が強く阻害された。しかもこの発育阻害は mestranol の FSH 分泌抑制によることを認めている。このことはヒトの場合の FSH 抑制の成績とよく一致する。

Vorys ら³⁹⁾ (1965) は種々の estrogen や progestin を投与して尿中 gonadotropin の分画定量を行ない, ethynylestradiol の少量投与は初期に FSH 分泌を促進するが, 0.07mg/day 以上の投与では抑制がおこり, 一方 LH 分泌は midcycle の peak が前後へずれるのを認めている。また mestranol は FSH 抑制効果が最も強く, 0.08mg/day の投与で FSH 分泌が抑制されるため卵胞は LH の作用にる排卵がおこる段階にまで発育しないと, 一般に estrogen では FSH の分泌は抑制されるが, LH の midcycle peak 出現はあまり影響を受けず, やや LH 分泌は刺激状態にあると報告している。

また, 彼らは progestin では 17-acetoxypregesterone 系の chlormadinone acetate の FSH, LH 分泌に対する作用は estrogen のそれとよく似ているとのべてい

る。

19-norsteroid について, Vorys らは norethindrone, ethynodiol diacetate および norethynodrel 投与中の FSH は正常月経周期におけるそれとは分泌の pattern が変化し, midcycle に向つての下降曲線は消失し, 一般に不規則となるが, 全体としての FSH 分泌量は増加傾向にある。一方, LH は midcycle の peak は消失するが, 時には投与周期の早期, すなわち卵胞がまだ十分に発育していない時期に LH の peak が認められるとして, FSH 分泌よりも LH 分泌がより阻害されると報告している。

ある種の 19-norsteroid と estrogen の合剤としての gonadotropin 分泌への影響に関しては Stevens ら³⁹⁾ は estrogen の量が一定の時, FSH の分泌は progestin の量により異なるとのべている。すなわち, 彼らは mestranol 0.1mg と ethynodiol diacetate 2.0mg, 1.0 mg および 0.5mg 製剤について投与前の周期と比較検討し, 2.0mg の合剤では FSH 分泌は促進される傾向にあり, 1.0mg の薬剤では FSH 分泌は影響を受けず, 0.5mg 剤では分泌が抑制されるとしている。一方, LH 分泌は ethynodiol diacetate の量には無関係に一般に midcycle の peak が抑制される。しかし 17 周期の実験期間中 2.0mg と 0.5mg の合剤でおのおの 1 周期で LH の peak が認められるが, どの例もその peak は midcycle からのずれを生じたと報告している。すなわちこの合剤の gonadotropin 分泌への効果の特徴は progestin 対 estrogen の比が大きいときは FSH 分泌は刺激状態にあり, その比が小さいときは FSH は抑制されるが, LH 分泌はどの場合にも midcycle の LH level の抑制がおこると考えられる。

しかし, 五十嵐⁴⁰⁾は norethindrone やその estrogen 合剤, あるいは sequential pill を投与した婦人の尿中 FSH 分泌はどの場合にも抑制されるが, LH 分泌は早期に異常に刺激され, その peak が不著明になるのを認め, これが排卵の抑制の原因であろうとしている。

さらに最近, progestin-estrogen 剤による下垂体 gonadotropin の動態は combination pill 投与時と sequential pill 投与時とによつて異なり⁴¹⁾, また同じ combination pill でも progestin の種類で相違するという報告もみられる³⁹⁾⁴²⁾⁵⁸⁾。

以上のような諸家の報告からみると, 経口避妊剤による排卵抑制作用といつても, 使用された性 steroid の種類や量により抑制機序に差が生じると考えられ, 尿中 FSH, LH の時期的な変化とともに質的, あるいは量的な変化がおこることは確実である。そしてこれには視床下部の神経組織から抽出された peptide substance で

ある Gonadotropin Releasing Factor が下垂体門脈を介して調節し, 影響をおよぼしている。

なお, 排卵抑制に関して経口避妊剤の卵巣への直接作用も論ぜられており, この面からの検討も将来に残された問題である。

最近, 経口避妊剤の排卵抑制以外の機序による避妊効果があることが論ぜられるようになった⁴³⁾。

このノアルテン-S錠 1 の実験において, 1,311 周期中の 70 周期, 6.0% の症例が BBT 曲線は 2 相性を示し, 排卵が推定されたにもかかわらず, 妊娠の成立はみられなかつた。Pincus⁴⁴⁾は progesterone を毎日 300mg 経口投与することにより 71 周期に妊娠例がみられないのに, 月経周期第 20~26 日に開腹し, 10 例中 2 例に新鮮黄体を認めたと報告している。Goldzieher ら⁴⁵⁾は norethindrone 10mg+mestranol 0.06mg 投与婦人 210 例, 6,232 周期中の 88 周期の尿中 pregnandiol 値を測定し, その 6 周期 (6.8%) に正常黄体期の pregnandiol level を認め, 2 例は疑わしい値であつたとし, また sequential pill 投与の 553 周期中の 2.5% に排卵後にえられるような高い pregnandiol 値を認めたが⁴⁶⁾, どの場合も妊娠例はなかつたと報告している。最近, Gual ら⁴⁷⁾も Lynestrenol 2.5mg+mestranol 0.075mg 投与の 170 周期中 10 周期 (5.9%) に 0.9mg/day 以上の pregnandiol 値を認めたとのべている。

経口避妊剤の避妊効果は確実であるが, このように個々の排卵抑制も同じように確実というわけではなく, breakthrough ovulation がおこることも示されたわけである。したがつて, 排卵の抑制によらない避妊機序が存在することが確実となり, 前述のような補助的因子が考えられるにいたつた。

sequential pill ではその性質上から子宮内膜因子や頸管粘膜液の因子は否定できると考えられる。しかしこの実験において, 着床が期待される時期の内膜に強い変性や萎縮の像がみられ, 卵の着床が阻害される所見がえられたこと, また progestin 剤投与時の頸管粘液の精子貫通性の阻害が認められることから⁴⁵⁾⁴⁹⁾⁵⁹⁾⁶⁰⁾, 本剤のような combination pill ではこれらの因子がその抗妊娠作用に対して一役を演じていることは確実と考えられる。

estrogen が受精卵の変性をおこして着床を阻害したり⁵⁰⁾⁻⁵²⁾, 卵管の分泌や運動を亢進させて卵の輸送を促進させる作用がある⁵³⁾⁻⁵⁷⁾ことは実験的に動物で認められているが, ヒトでもこのような作用があるかどうか不明である。しかし sequential pill を含めて経口避妊剤のすぐれた抗妊娠効果を考えると, このような機構が補助的な避妊効果として働くことは十分に推測される。

VI. むすび

norethindrone 1 mg と mestranol 0.05 mg からなる

ノアルテン S 1錠を経口避妊の目的で健康な婦人85例、延1,311周期、最長39周期にわたって使用し、次のような結果がえられた。

1) 投薬中には妊娠例は1例も認められず、本剤の避妊効果は100%である。

2) 投与中の周期日数はその82.4%が26~29日であり、peakは27日、平均日数は27.3日である。投与前の周期日数と比較して短縮し、またより規則性を示すようになる。

3) 消退出血がおこるまでの日数は90.5%が2~5日にみられ、そのpeakは3日、平均3.4日である。

4) 出血持続日数のpeakは3日に認められ、その85.9%は2~4日にあり、平均3.4日である。したがって、投与前の持続日数の平均3.4日と比較して明らかに短縮する。

5) 経血量は出血持続日数が短縮するのと一致して、投与前の量に比べて減少する例が多く、67.3%に認められた。一方、投与前よりも増加する例は0.8%、不変であるものは29.8%であった。

6) 消退出血が認められない“silent menstruation”は28周期、2.1%であった。

7) 以上のような出血持続日数の短縮、経血量の減少は本剤の持つ estrogenicity によるものと考えられ、子宮内膜には強い萎縮像がみられる。

8) spotting、破たん出血は4.3%に認められ、とくに投与開始4周期までの出現率が高い。

9) 投与中のBBT曲線は高温1相型の症例が最も多く68.0%であり、次いで不定型を示すものが23.3%であった。しかし、時には低温1相型のBBT曲線も認められ、3.7%を占めた。また、投薬中に排卵が推定された2相型が70周期、6.0%にみられた。

10) 自覚的副作用は破たん出血を除くと悪心、嘔吐などの胃腸障害が最も多く1.9%に認められ、また投与開始後の3周期までの発現率が高い。しかし、本剤による胃腸障害の発生率はほかの経口避妊剤のそれと比較すると非常に低い。また、本剤などの経口避妊剤によるこの障害は薬剤の estrogenicity によるものであり、投与周期が長くなると発現率が低下するのは estrogen に対する“なれ”によるものと考えられる。

次に頻度の高いのは体重変化、とくにその増加である。この体重の増加は norethindrone の anabolic effect と estrogen の電解質および水の貯溜作用によるものと考えられるが、さらに本剤投与による aldost-

erone の分泌、代謝が関与することも推測される。しかしなお、電解質平衡との解明が必要である。

他の副作用の頻度はきわめて低い。

11) 肝機能検査では BSP 試験は19例中3例(15.8%)に軽度の排泄障害が認められ、GOTは77例中1例(1.3%)に、黄疸指数は66例中4例(6.0%)、直接ビリルビン値は70例中2例(2.9%)に、間接ビリルビン値は70例中1例(1.4%)に、また TTT では64例中8例(12.5%)に投与中に軽度の異常上昇が認められたが、ほとんどの症例は投与中止後はもちろん、継続中でも正常値に復帰した。現在までに黄疸発症例はみられない。

そのほかの検査ではとくに異常を示した例はみられなかった。

12) 血液検査、心機能、副腎皮質機能、腎機能、および視力、視野、眼底検査でとくに異常を示した症例は血圧異常を除いては認められなかった。

薬剤の過敏性と関連する好酸球数の増加はみられなかった。

投薬中に血圧上昇を示す症例が3例あり、その全例が収縮期圧は160mmHg以上となり、また2例は拡張期圧が100mmHg以上となった。したがって高血圧婦人への薬剤の投与は好ましくない。

13) 副作用の理由で投薬を中止したのは2例である。

14) 子宮内膜生検では内膜には強い萎縮像が認められ、小円形の腺と著明な脱落膜様細胞の出現がみられ、変性過程をたどる所見がえられた。

15) 投与中の尿中 FSH 分泌は投与前の特有の pattern が消失し、その分泌が抑制された。

16) 投与中止後の性機能は周期日数が第1周期には長くなるものが71.4%に認められたが、出血持続日数、経血量、BBT 曲線は中止後第1周期にすでに正常に帰った。

17) 投与中止後の子宮内膜は中止第1周期には、投与周期数が長くなるほど正常内膜を回復するものが少なく、とくに腺成分の回復は間質に比べて遅い。

18) 以上のことから、投薬中止後の性機能は中止後第1周期にはなお薬剤の影響が残ると考えられるが、投与中止後第2周期には正常の機能を回復すると推測される。

19) この実験成績から、本剤は医師の管理下で使用されるならば、すぐれた経口避妊剤であると考えられる。

この論文の要旨は第40回近畿産科婦人科学会総会でのべた。(昭和44年5月、於京都市)。

ノアルテン-S錠1の提供を受けた塩野義製薬株式会社
に謝意を表す。

(徳田源市教授の御校閲を感謝します)。

主要文献

- 1) 徳田源市ほか：日不妊会誌, 13 : 87, (1968).
- 2) 徳田源市：第16回日本産科婦人科学会特別講演要旨, (1964).
- 3) 徳田源市ほか：産婦進歩, 20 : 391, (1968).
- 4) 徳田源市ほか：日不妊会誌, 13 : 352, (1968).
- 5) 徳田源市ほか：日不妊会誌, 14 : 180, (1969).
- 6) Layne, D. S. et al : J. Clin. Endocr., 21 : 107, (1961).
- 7) Larsson-Cohn, U. et al : JAMA, 193 : 422, (1965).
- 8) Cullberg, G. et al : Brit. Med. J., 1 : 695, (1965).
- 9) 東山秀声：産婦進歩, 17 : 279, (1965).
- 10) Glenn, E. M. et al : Metabolism, 8 : 265, (1959).
- 11) Edgren, R. A. et al : Endocrinol., 65 : 605, (1959).
- 12) Holub, D. A. et al : ibid, 68 : 173, (1961).
- 13) Young, C. C. et al : Pacific Med. Surg., 73 : 35, (1965).
- 14) Walser, H. C. et al : Int. J. Fertil., 9 : 189, (1964).
- 15) Besch, P. K. et al : Metabolism, 14 : 387, (1965).
- 16) Hecht-Lucari, G. : Int. J. Fertil., 9 : 205, (1964).
- 17) 東山秀声ほか：第42回日本内分泌学会総会, (1969).
- 18) 東山秀声ほか：日本内分泌学会第17回西部部会, (1969).
- 19) 東山秀声ほか：日内泌誌, 45 : 1197, (1970).
- 20) Albright, F., & S. H. Sturgis : Endocrinol., 26 : 68, (1940).
- 21) Rock, J. et al : Science, 124 : 891, (1956).
- 22) Apostolakis, M. : Acta Endocr., 37 : 75, (1961).
- 23) Buchholz, R. : Geburtsh. Frauenheik., 19 : 851, (1959).
- 24) Buchholz, R. : Acta Endocr., Suppl. 51 : 927, (1960).
- 25) Martin, L. & K. Cunningham : J. Clin. Endocr., 20 : 529(1960).
- 26) Parada, J. et al : Acta Endocr., 35 : 211, (1960).
- 27) Brown, J. B. et al : J. Endocr., 25 : 331, (1962).
- 28) Loraine, J. A. et al : Lancet, 2 : 902, (1963).
- 29) Loraine, J. A. et al : Int. J. Fertil., 9 : 155, (1964).
- 30) Douglas, M. et al : Proc. Roy. Soc. Med., 53 : 427, (1960).
- 31) Garcia, C. R. & J. Rock : Acta Endocr., Suppl. 51 : 603, (1960).
- 32) Ueda, Y. et al : J. Jap. Obstet. Gynec. Soc., 9 : 26, (1962).
- 33) Demol, R. & J. Ferin : Int. J. Fertil., 9 : 197, (1964).
- 34) Taymor, M. L. : J. Clin. Endocr., 24 : 803, (1964).
- 35) Buchholz, R. et al : Int. J. Fertil., 9 : 231, (1964).
- 36) Shearman, R. : Lancet, 1 : 197, (1963).
- 37) Fuchs, F. et al : Int. J. Fertil., 9 : 147, (1964).
- 38) Vorys, N. et al : Amer. J. Obstet. Gynec., 93 : 641, (1965).
- 39) Stevens, V. C. et al : Metabolism, 14 : 327, (1965).
- 40) 五十嵐正雄：第19回日本産科婦人科学会総会宿題報告要旨, (1967).
- 41) Diczfalusy, E. : Brit. Med. J., 2 : 1394, (1965).
- 42) Overbeek, G. A. & J. De Visser. : Acta Endocr., Suppl. 90 : 179, (1964).
- 43) Lunenfeld, B. : Int. J. Fertil., 9 : 167, (1964).
- 44) Pincus, G. : Acta Endocr., Suppl. 28 : 18, (1956).
- 45) Goldzieher, J. W. et al : JAMA, 180 : 359, (1962).
- 46) Goldzieher, J. W. : Med. Proc., 12 : 320, (1966).
- 47) Gual, C. et al : Amer. J. Obstet. Gynec., 97 : 443, (1967).
- 48) 46) より引用.
- 49) Zanartu, J. : Int. J. Fertil., 9 : 225, (1964).
- 50) Burdick, H. O. & G. Pincus : Amer. J. Physiol., 111 : 201, (1935).
- 51) Banik, U. K. & G. Pincus : Proc. Soc. Exper. Biol., 116 : 1032, (1964).
- 52) Rudel, H. W. & F. A. Kincl. : Acta Endocr., Suppl. 105, (1966).
- 53) Greenwald, G. S. : Endocrinol., 69 : 1068, (1961).
- 54) Harrington, F. E. : ibid 75 : 461, (1964).
- 55) Kincl, F. & R. I. Dorfman : J. Reprod. Fertil., 10 : 105, (1965).
- 56) Benett, J. P. et al : Acta Endocr., 53 : 443, (1966).
- 57) Morris, J. M. G. V. Wagenen : Amer. J. Obstet. Gynec., 96 : 804, (1966).
- 58) 東条伸平ほか：産婦の世界, 20 : 577, (1968).
- 59) Cohen, M. R. : Fertil. Steril., 19 : 405, (1968).
- 60) Bowman, J. A. : Amer. J. Obst. Gynec., 102 : 1039, (1968).

Clinical Studies on the Low-Dosage
Norethindrone-Mestranol Combination
Method for Long-Term Oral
Contraception

**Syusei Higashiyama, Tadashi Obata,
Yoshitaka Higashi, Itaru Ueha,
Syuzi Kizu, Masatomo Kitazima
and Hironobu Sakamoto**

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

(Director: Prof G. Tokuda)

The purpose of this report is to evaluate the efficiency and safety as a low dose of oral contraceptive use with NORLUTEN-S1, which contains 1 mg norethindrone and 0.05 mg mestranol, in 85 women for a total of 1,311 cycles.

In the first treated cycle, the pill was administered 1 tablet daily for 21 days, beginning from Day 5 of the cycle. After waiting 7 days the 21-day course was started again on the same day of the week, regardless of whether menstruation had occurred in the interim or was still in progress. This schedule of administration was repeated for each of the cycles.

In this study, there were no cases of pregnancies in a total of 1,311 cycles.

The cycle length in women taking the pill was stabilized and 82.4% of all treated cycles were 26 to 29 days long. The mean cycle length was 27.3 days of the treated group, and significant difference was observed in the cycle length before and during the treatment.

The onset of withdrawal bleeding was occurred 2 to 5 days in 90.5% of the treated cycles. The menstrual duration and quantity were markedly decreased as compared with those of untreated cycles. In 85.9% of all cycles, withdrawal bleeding was of 2 to 4 days duration.

Spotting and breakthrough bleeding occurred in a total of 57 cycles (4.3% of all cycles), and most of these episodes occurred within the early few cycles of medication. The frequency of breakthrough bleeding was seemed to relate the omission of taking drugs in some cases.

Amenorrhea was observed in 2.1% of 1,311

treated cycles.

The side effects usually encountered with drugs of this type are nausea and vomiting, and they were the most troublesome. Nausea and vomiting under the treatment of NORLUTEN-S1 occurred in 1.9% of all cycles. In comparison with the frequencies in studies of other pills, this is a spectacularly low incidence. Other side effects were weight changes, especially its gain, headache and lumbago. Weight changes were observed in 1.6% of all cycles and increased during the lasting of medication. Other symptoms were infrequent.

Liver-function tests were carried out at regular intervals in the majority of women who received the pill, and the incidence of abnormal liver-function tests in this study was compared with tests before medication. BSP retention in 15.8% of 19 cases, GOT in 1.3% of 77 cases, Meulengracht's index in 6.0% of 66 cases, direct bilirubin in 2.9%, indirect bilirubin in 1.4% of 70 cases and TTT in 12.5% of cases elevated over normal ranges respectively. These incidence of abnormal levels rapidly returned to normal levels after discontinuance of the treatment. In this experiment, there occurred no jaundice in any cases.

Seventeen Ketosteroid and 17-Hydroxy corticosteroid excretions in urine were evaluated at regular intervals during the medication. From these results, adrenal function seemed to be not changed by administration of the pill.

There was no noticeable evidence of thrombophlebitis.

Endometrial biopsy was taken on the following days after the last tablet administration in each cycle. It showed regression of the glands, and appearance of edema and decidua like transformation in the stroma. Thus the picture of the endometrium was quite different from that of the menstrual cycle.

Following discontinuance of NORLUTEN-S1 therapy, the succeeding menstrual cycles in 38 women were varied and usually prolonged. By the second month, however, the cycle length was normalized. As measured by BBT, ovulations of the first post-treatment cycle were seemed to occur in 37 of 38 women. Four pregnancies were observed in the first 4 cycles.

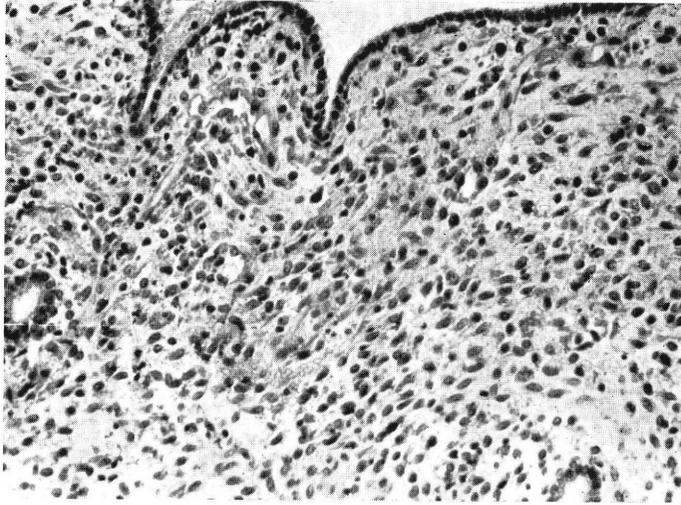


Fig. 11. Endometrium of a 27 years old taken NORLUTEN-S1 on twenty-seventh day of the 2nd cycle, receiving from the 6th day through the 26th day. Endometrial glands are very sparse, small and round in configuration. Decidua like transformation is prominent in stroma. Surface epithelium is cuboidal and low columnar.

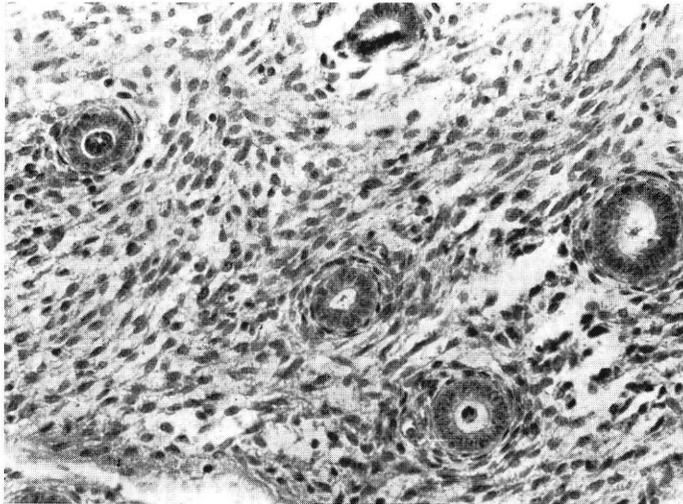


Fig. 12. Endometrium of a 31 years old biopsied on twenty-fifth day of the 7th cycle administered NORLUTEN-S1 from the 5th day through the 25th day. Endometrial glands are small, similar to proliferative architecture. Intraluminal secretion appears in glandular cavity. Decidua like cells generalize in stroma.

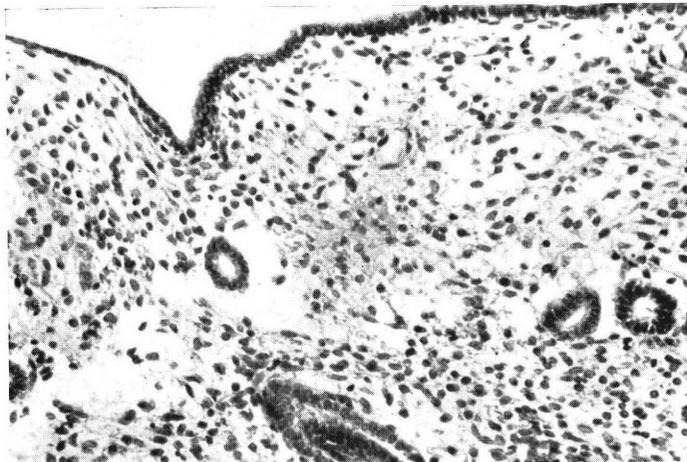


Fig. 13. Endometrium of a 31 years old, receiving NORLUTEN-S1 from the 5th day through the twenty-fifth day, taken on the twenty-sixth day of the 9th cycle. Endometrial gland is irregular in shape. Glandular secretion in glandular cavity decreases. Decidua like cells and spindle-shaped stromal cells appear.

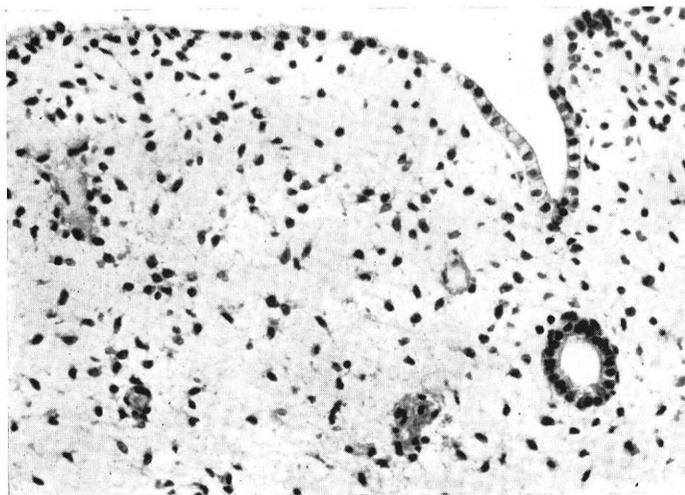


Fig. 14. Endometrium of a 29 years old, taken on the twenty-sixth day of the 15th cycle, receiving NORLUTEN-S1 from the 5th day to the 25th day of menstrual cycle. Endometrial gland is very sparse, inactive and small. Stromal edema is prominent. Vascular proliferation is moderate. Surface epithelium is low.

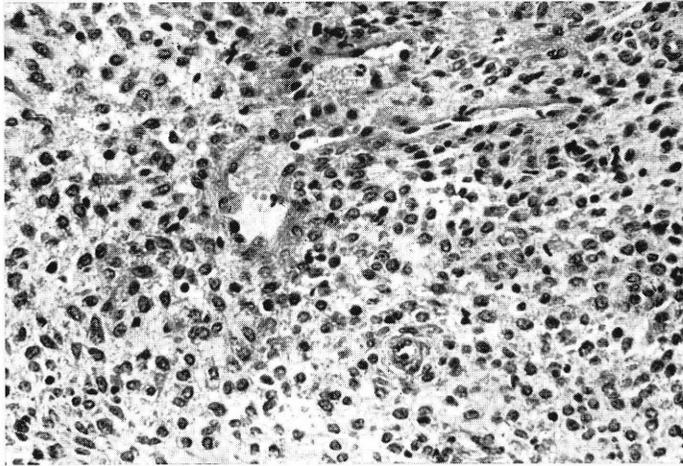


Fig. 15. Endometrium of a 31 years old, given NORLUTEN-S1 between the 5th day and the 25th day of cycle, taken on the twenty-sixth day of the 28th cycle. Glandular elements are very sparse. Decidua like transformation is marked. Vascular proliferation is moderate.

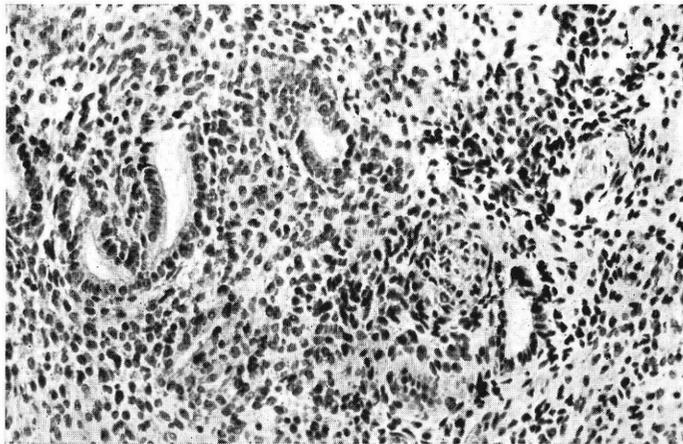


Fig. 17. Endometrium of a 34 years old, discontinued NORLUTEN-S1 administration of the 24 cycle, taken on the twenty-sixth day. Glandular elements develop moderately, but are small and inactive. Decidua like cells appear in stroma. There is no sign of secretory activity.

最近経験した真性半陰陽を含む各種半陰陽5症例

Five Cases of Various Hermaphroditism

岡山大学医学部泌尿器科教室 (主任：新島端夫教授)

高田元敬 田中啓幹 新島端夫
Motoyoshi TAKATA Hiroyoshi TANAKA Tadao NIIJIMA

Department of Urology, Okayama University, School of Medicine, Okayama, Japan
(Director: Prof. T. Nijima)

最近相次いで経験した5例の半陰陽症例に対し、性染色体検査、尿中ホルモン定量、試験開腹等を施行して、Genetic, Gonadal, Somatic Sex を決定、次のごとき診断を得た。すなわち、真性半陰陽1例、男性仮性半陰陽1例、女性仮性半陰陽3例である。

症例1：4歳、戸籍上女性、性染色体は、46XY+45XO。外・内性器系共に女性、性腺は、右側は睾丸、左側は卵巣であった。真性半陰陽と診断、右除睾術および陰核切除術を施行した。症例2：9歳、戸籍上女性、性染色体は、46XY。性腺は両側共に睾丸であった。男性仮性半陰陽と診断、家人の希望により除睾術を施行した。症例3、4、5は、すべて、性染色体は、46XX。外・内性器系共に女性、性腺も両側共に卵巣であり女性仮性半陰陽と診断、症例3、5には、陰核切除術を施行、症例5では、戸籍を女性に変更した。

緒言

半陰陽の研究は、Klebs¹⁾によつて始めてその医学的分類が試みられて以来多くの研究がなされており、その後の内分泌学・遺伝学の進歩により長足の進展をとげた。当教室においても先に、単純尿道下裂の診断で尿道形成術後判明した男性仮性半陰陽の1例を報告したが²⁾、最近相次いで5例の半陰陽症例(真性半陰陽1例、男性仮性半陰陽1例、女性仮性半陰陽3例)を経験したので報告する。

症例

〔第1例〕 4歳、戸籍上女性

初診：[REDACTED]

主訴：外陰部異常

家族歴：第1子、家系に血族結婚なく、妊娠時、母親のホルモン剤使用等は不明である。

既往歴：特記すべきものなし

現病歴：分娩・発育共に正常であるが、生下時より外陰部異常を認めていた。2歳の時、右ソケイヘルニアの診断で手術をうけ、その際、右ソケイ部の腫瘤を生検した所、睾丸である事が判明した。今回、さらに精査する

目的で入院した。

入院時現症：身長91.5cm。体重12.5kgとやや小柄である。胸部には理学的に異常所見を認めず、腹部は平坦で軟、両腎も触知されない。外陰部は、陰核の肥大を認めるが、外観上女性型であり、腔口と思われるものも認

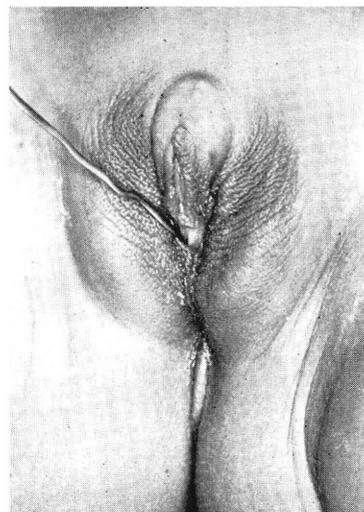
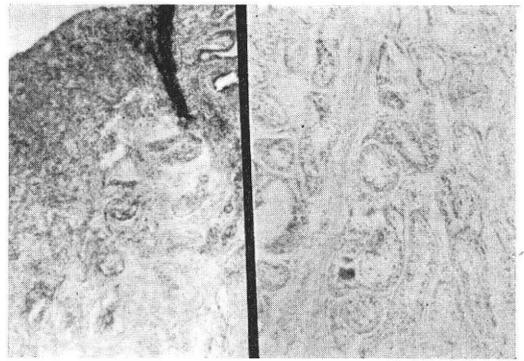


図1 第1例外陰部

める (図 1).

臨床検査成績：血沈値：1時間値4mm. 2時間値14mm, 血液像：赤血球数 413×10^4 , 血色素量12.4g/dl, 白血球数7200, 白血球分画-好中球43%, 好酸球2%, 好塩基球1%, 単球4%, リンパ球50%, H. t. 30.5%, B.U.N: 9mg/dl, 血清電解質：Na 136.0mEq/l, K 4.5mEq/l, Ca 10.2mg/dl, Cl 106mEq/l, 胸部レ線像：著変なし, E.C.G.：正常, 腹部単純写真：著変なし, I.V.P.：正常, 尿路奇型(-).

内分泌学的検査成績：尿中ホルモン定量：17KS 1.13mg/day, 17 OHCS 1.25mg/day, Estrogen 3.43 μ g/day, Gonadotropin $6 > m.u.u./day$, Suppression Test \cdot ACTH Test：正常, トルコ鞍：正常, 骨年齢：1.5~2.5歳,



(卵巣) (睾丸)
図 4 第 1 例 Gonad 組織学的所見

Sex-Chromatin (Buccal Smear)：陰性, Sex-Chromosome：46 XY+45 XO.

入院後経過：[redacted], 全麻下に試験開腹術を施行してみた所, 子宮を認め, 左側は, 子宮~卵管と続き, 卵管の中途に 2×8 mm 黄白色の卵巣と思われるものが付着していた(図 2). 生検の結果, 卵巣と判明した. 右側は, 子宮~卵管様索状物と続き, その先端に小指頭大の睾丸を認めた(図 3). すなわち, Gonad は, 右側睾丸, 左側卵巣と判明(図 4), 真性半陰陽と診断された. 家人より女性として養育したいとの強い希望があり, 右除睾丸を施行すると共に, 陰核成形術を行なった.



図 2 第 1 例開腹所見

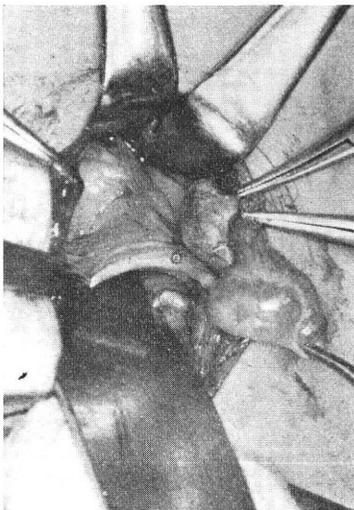


図 3 第 1 例開腹所見

〔第 2 例〕 9 歳, 戸籍上女性

初診：[redacted]

主訴：外陰部異常

家族歴：第 2 子, 家系に血族結婚なく, 妊娠時母親のホルモン剤使用等是不明である.

兄弟には奇型はない.

既往歴：特記すべきものなし

現病歴：分娩・発育共に正常であるが, 生下時より外陰部異常を認めていた. また, 生後 1 カ月目, 某医にて両側ソケイヘルニアを指摘されたが放置していた. 昭和 42 年 3 月末, 左ソケイ部の腫瘤に気付き, 某医にて摘除をうけた所, 生検にて, その腫瘤は, Atrophic testis と診断された. 今回, 更に精査する目的で入院した.

入院時現症：身長126.5cm. 体重26.5kg. 体格・顔貌は女性的であるが, 声・性格・行動等は男性的である. 胸部・腹部共に, 理学的に異常所見を認めない. 外陰部は, 陰核の肥大を認め, 尿道下裂様外観を呈しており, 膣口は認めていない.

臨床検査成績：血沈値：1時間3mm, 2時間7mm, 血液像：赤血球数 497×10^4 , 血色素量13.8g/dl, 白血球数8650, 白血球分画-好中球46%, 好酸球6%, 好塩基

球1%, 単球5%, リンパ球42%, H.t. 38%, B.U.N: 11mg/dl, 血清電解質: Na 137.5mEq/l, K 4.5mEq/l, Cl 105mEq/l. 胸部レ線像: 左心室肥大, E.C.G.: 左心室肥大, 空腹時血糖: 96mg/dl.

内分泌学的検査成績: 尿中ホルモン定量: 17 KS 0.62 mg/day, 17 OHCS 2.95mg/day, Estrogen 2.67 μ g/day, Gonadotropin 3>m.u.u./day, トルコ鞍: 正常, 骨年齢: 8~10歳, Sex-Chromatin (Buccal Smear): 陰性, Sex-Chromosome: 46XY.

入院後経過: [redacted], 全麻下に試験開腹術を施行してみた所, 子宮・卵管等女性内性器は全く認めず, 右内ソケイ輪の部に向い腹膜外側を精索静脈叢様のものを認め, その遠位端に小指頭大の柔い睾丸様のものを認め, 生検で睾丸と判明した(図5). すなわち, Gonad は, 両側共睾丸であり, 男性仮性半陰陽と診断された. 家人の女性として養育したいとの強い希望もあり, 右除睾丸を行なった. 本例では, 女性ホルモン投与時期, 造陰術施行時期等, 今後検討を要する問題が多いと考える.

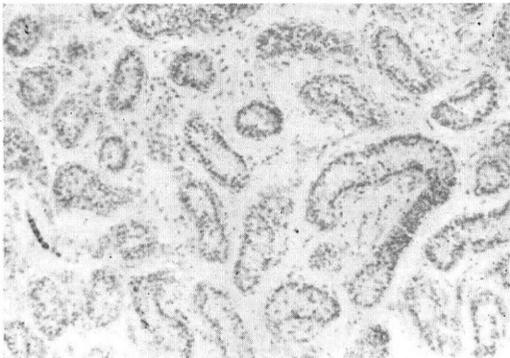


図5 第2例 Gonad 組織学的所見

〔第3例〕 3歳, 戸籍上女性

初診: [redacted]

主訴: 外陰部異常

家族歴: 第1子, 家系に血族結婚なく, 妊娠時母親のホルモン剤使用はない.

既往歴: 特記すべきものなし

現病歴: 分娩は正常であつたが未熟児であつた. しかし, その後の発育は正常である. 生後1カ月目, 外陰部異常に母親が気づき, 精査の目的で今回入院した.

入院時現症: 身長 107cm. 体重15kg. 体格, 顔貌共に女性的である. その他全身所見に著変を認めない. 外陰部は, 陰核の肥大を認めるが, 膣口と思われるものは認めない. Hypospadias Penis 様外観を呈していた(図6).

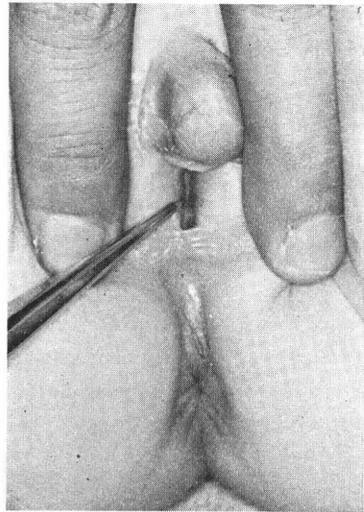


図6 第3例外陰部

臨床検査成績: 血液像: 赤血球数 496×10^4 , 血色素量13.6g/dl. 白血球数12650, 白血球分画-好中球49%, 好酸球3%, 好塩基球1%, 単球2%, リンパ球45%, B.U.N.: 8 mg/dl, 血清電解質: Na 141.5mEq/l. K 4.4mEq/l. Cl 110mEq/l, 胸部レ線像: 著変なし, 腹部単純撮影: 著変なし, I.V.P.: 正常, 尿路奇形(-), Urethrocytogram: Sinus urogenitalis の存在を認める(図7).



図7 第3例 Urethrocytogram

内分泌学的検査成績: 尿中ホルモン定量: 17KS 3.21 mg/day, 17 OHCS 1.49 mg/day, Gonadotropin 3>m.u.u./day, トルコ鞍: 正常, 骨年齢: 2~3歳, Sex-Chromatin(Buccal Smear): 陽性, Sex-Chromosome: 46 XX

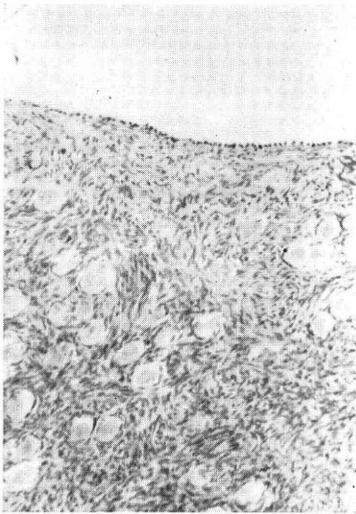


図 8 第 3 例 Gonad 組織学的所見

入院後経過：[redacted]，全麻下に試験開腹術を施行した所，子宮・卵管を認め，正常女兒の内性器とほぼ同じであり，又，両側の性腺も生検の結果，卵巣と判明した（図 8），女性仮性半陰陽と診断，陰核成形術を行なった。尚，外尿道口造設等他の外陰部の成形手術は後日にもちこした。

〔第 4 例〕 2 歳，戸籍上女性

初診：[redacted]

主訴：外陰部異常

家族歴：第 1 子，家系に血族結婚なく，妊娠時母親のホルモン剤使用はない。

既往歴：特記すべきものなし

現病歴：鉗子分娩であるが，その後の発育は正常である。生来，外陰部異常を認めており，今回精査の目的で入院した。

入院時現症：身長 83cm。体重 10kg。体格・顔貌共に女性的である。その他全身所見に著変を認めない。外陰部は，陰核の肥大を認めるが，膣口は認めていない。Hypospadias penis 様外観を呈していた。

臨床検査成績：血液像：赤血球数： 542×10^4 ，血色素量 14.6g/dl。白血球数 11550，白血球分画—好中球 34%，好酸球 5%，単球 1%，リンパ球 60%，B.U.N.：10mg/dl。血清電解質：Na 140.5mEq/l。K 4.2mEq/l。Cl 107mEq/l。胸部レ線像：著変なし，E.C.G.：正常，Uretrocystogram：Sinus urogenitalis の存在を認める。

内分泌学的検査成績：トルコ鞍：小，骨年齢：2 歳，Sex-Chromatin (Buccal Smear)：陽性，Sex-Chromosome：46 XX。

入院後経過：[redacted]，全麻下に試験開腹術

を施行した所，子宮・卵管を認め，又，両側の性腺を生検した所，両側共卵巣と判明，女性仮性半陰陽と診断した。外陰部成形等は，後日にもちこした。

〔第 5 例〕 4 歳，戸籍上男性

初診：[redacted]

主訴：外陰部異常

家族歴：第 1 子，家系に血族結婚なく，妊娠時，母親のホルモン剤使用等は不明である。

既往歴：特記すべきものなし

現病歴：分娩・発育共に正常であるが，生下時より外陰部異常を認めており，今回精査のため入院した。

入院時現症：身長 104cm。体重 17kg。全身所見に著変を認めない。外陰部は，陰核の肥大を認める以外，正常女兒外陰部と大差なく，外尿道口および膣口を認めた。

臨床検査成績：血沈値：1 時間値 6 mm。2 時間値 18 mm，血液像：赤血球数 470×10^4 ，血色素量 13.2 g/dl。白血球数 7100，白血球分画—好中球 41%，好酸球 2%，単球 7%，リンパ球 50%，H.t. 33.5%，B.U.N.：10 mg/dl。血清電解質：Na 138.5 mEq/l。K 5.38 mEq/l。Ca 9.8 mg/dl。Cl 104 mEq/l。肝機能：正常，胸部レ線像：著変なし，E.C.G.：正常，腹部単純撮影：著変なし，I.V.P.：正常，尿路奇型（-）Colpogram：（正常な）膣を認める。

内分泌学的検査成績：尿中ホルモン定量：17 KS 1.22 mg/day，17 OHCS 0.37 mg/day，Estrogen 3.19 μ g/day Gonadotropin 3 m.u.u./day，Suppression Test，ACTH Test：正常，トルコ鞍：小，骨年齢：4 歳，Sex-Chromatin (Buccal Smear)：陽性，Sex-Chromosome：46 XX。

入院後経過：[redacted]，全麻下に試験開腹術を施行した所，子宮・卵管を認め，両側共 Gonad は，生検にて卵巣であった。女性仮性半陰陽と診断し，陰核成形術を行なうと同時に，家族の納得の上，戸籍を女性に変更した。

考 按

胎生の極く初期では，性腺原基は，性染色体の如何にかかわらず，将来睾丸にも卵巣にも発育出来る両要素を有しており，正常な個体では，性染色体に一致した要素のみが分化発育し，反対の要素は退化萎縮する。しかし，その発育過程に何等かの障害が起ると，外部形態異常，両性腺共存等を来す。すなわち，半陰陽はその発育障害によつて，①染色体による性別，②性腺の構造，③内性器の形態，④外性器系の形態のくいちがいを有する先天性異常といえる。

1873年 Klebs¹⁾ は，性腺の組織学的所見より半陰陽を

次の如く分類している。すなわち、性腺の中に男性要素(睪丸)と女性要素(卵巣)とが同時に共存するものを真性半陰陽、性腺は、睪丸或は卵巣であつても、内外生殖器がおのおの反対の性別要素をもつものを仮性半陰陽とし、さらにそれを男性仮性半陰陽および女性仮性半陰陽に分類している。以来、多くの人々によつて³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾分類がなされているが、十分なる分類法は確立されていない。

真性半陰陽について、ここに Jones & Scott⁹⁾の分類法を引用してみると表の如くである(表1)。これによると、われわれの第1例は、第I群、すなわち一方の性腺が睪丸で他方が卵巣の型に属し、今迄に一番多数みられたものに入る。

表1 真性半陰陽の型式 (Jones & Scott)

Group	Gonad (One side)	Gonad (Opposite side)
Alternating (Lateral) Variety		
I	Ovary	Testis
Bilateral Variety		
IIa	Ovotestis, Ovary	Ovotestis, Ovary
IIb	Testis, Ovary	Testis, Ovary
Unilateral Variety		
IIIa	Ovary	Ovotestis
IIIb	Ovary	Ovary, Testis
IIIc	Ovary	Two Ovotestis
IV	Testis	Ovotestis
V	Ovary, Testis	No gonad
VI	Ovotestis	Not examined

男性仮性半陰陽についてみると、この半陰陽の臨床所見は複雑多彩であり、種々の移行型が存在している。落合⁸⁾が、Jones & Scott の分類に準じて次の3つの亜型に大別している。すなわち、[I]。一般に、睪丸性女性化症候群 (Testicular feminisation syndrome) とよばれているもの、[II]。外陰部から男女いずれとも判定出来る形態或は大體男性と判定出来るような形態を示し、乳房の發育を伴わない男性仮性半陰陽、[III]。Hernia uteri inguinalis とよばれているものの3つである。これによると、自験例は、第2次性徴発来前に受診しているが、I型のいわゆる Testicular feminisation syndrome に属すると考えられる。

女性仮性半陰陽についてみると、この疾患の定義はあまり的確でないと言える。Campbell³⁾によると、性染色体陽性で、Gonad が卵巣であり、内生殖器が女性型であるもので、外生殖器が男性型、または、その両方が男性型であるものとされている。すなわち、この半陰陽の特徴を列記してみると、次の如くである。

① 外陰部の状態:

- ① 陰核肥大
- ② 陰唇癒合・陰閉鎖
- ③ cloaca の形成

② Gonadal の性は女性

③ Sex-Chromatin 陽性, Sex-Chromosome XX

④ 尿中17-KS 量は、正常女子量

⑤ 症状の進行なし

⑥ 妊娠中の母親の黄体ホルモン療法の既往

われわれの症例では、妊娠中の母親の黄体ホルモン療法の既往はなかつた。

最近の目ざましい染色体の研究により、半陰陽に関しても、Sex-Chromatin, Sex-Chromosome の面よりの報告が数多くみられるようになった。真性半陰陽についてみると、佐々木ら¹⁰⁾が蒐集した本邦63例の真性半陰陽の内41例に、Sex-Chromatin の検索を行なつており、41例中22例が、陽性、19例が陰性であつたと報告している。自験例の Sex-Chromatin は、陰性であつた。また、Sex-Chromosome に関しては、1967年高井¹²⁾が詳述しており、その後、近藤¹³⁾らが表示している。それにその後の発表を加えたものによると¹⁰⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾、本邦では、22例に検索を行なつており、XX 13例、XY 8例、XO/XY 1例となつている。その他、外国例では¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾、XX/XY, XX/XXY, XO/XY/XX, XX/XY/XXY, XX/XXY/XXYYY, XX/XXX, XX/XXF がある。われわれの症例は、XO/XY であつた。

最近この分野の研究の急激な発展により、半陰陽もこと診断に関しては、さ程困難を感じなくなつて来た。しかし、患者、家族の意向、戸籍上の問題等で、その治療に当つては、いつもわれわれを悩ませるものである。

次に、各半陰陽についての治療法についてふれる。真性半陰陽については、内生殖器の發育程度によつて治療をするのであるが、患者・家族の希望を考慮に入れるべきである。

男性仮性半陰陽については、Cecil²³⁾、Jones & Scott、落合らは次のように述べている。すなわち、痕跡的な陰は、そのまま放置し、停留睪丸で固定可能ならば、睪丸固定術を行なつてやる。また、不可能ならば、除睪術を行ない、男性ホルモン補給療法をする。女性仮性半陰陽については、Gonadal に女性であるので、先ず陰形成をしてやる事である。また腸等による代用陰形成も行なわれている。同時に陰核切除等外陰部成形を行なう事はいうまでもない。自験例についてみると、真性半陰陽症例には右除睪術・陰核成形術を行ない、男性仮性半陰陽例にも除睪術を行なつた。陰形成・女性ホルモン補充等は後刻検討する事にした。女性仮性半陰陽では3例中2例

に陰核成形を行なったのみで、膣形成等に関しては今後その方針を検討する。尚、1例戸籍を女性に変更した。

結 語

最近相次いで経験した真性半陰陽1例、男性仮性半陰陽1例、女性仮性半陰陽3例、計5例の半陰陽症例を報告した。

(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) Klebs, E.: Handbuch der Pathologischen Anatomie, Lfg. 4, 1873.
- 2) 田中, 高田: 皮と泌, 30: 875, 1968.
- 3) Wilkins, L. et al: Pediatrics, 16: 287, 1955.
- 4) Jost, A.: Schweiz Med. Wschr., 87: 275, 1957.
- 5) Jones, H. W. & Scott, W. W.: Hermaphroditism, Anomalies and Related Endocrine Disorders, The Williams & Wilkins Co. Baltimore, 1958.
- 6) 前田: 皮尿誌, 23: 701, 1923.
- 7) 米山: 福岡医誌, 24: 1153, 1931.
- 8) 落合: 日本泌尿器科全書, 8 II: 475, 1961.
- 9) Campbell, M. F.: Urology, Saunders. C. London, 1819, 1963.
- 10) 佐々木他: 臨泌, 23: 311, 1969.
- 11) 大越他: 臨泌, 23: 573, 1969.
- 12) 高井他: 日泌尿会誌, 58: 331, 1967.
- 13) 近藤他: 西日泌尿, 31: 378, 1969.
- 14) Ferguson, Smith, M. A., Jonston, A. W. and Weinberg, A. N.: Lancet, 2: 126, 1960.
- 15) Fraccaro, M., Taylor, A. I., Bodian, M. and Neuns, G. H.: Cystogenetics, I, 104, 1962.
- 16) Lonsdale, D. et al.: Cleveland clin. Quart., 30: 207, 1963.
- 17) Van Buskirk, K. E. & Edwards, J. W.: J. Urol. 97: 909, 1967.
- 18) Hung, W. et al: J. Urol. 96: 565, 1966.
- 19) 市川: 日泌尿会誌, 49: 390, 1958.
- 20) 駒瀬: 日泌尿会誌, 54: 456, 1963.
- 21) 酒徳: 泌尿紀要, 10: 38, 1964.

- 22) 佐藤: 日泌尿会誌, 55: 407, 1964.
- 23) Cecil A. B.: J. Urol. 62: 709, 1949.
- 24) 竹内他: 臨泌, 23: 153, 1969.

Five cases of various hermaphroditism

Motoyoshi Takata, Hiroyoshi Tanaka
and Tadao Nijjima

Department of Urology, Okayama University
School of Medicine, Okayama, Japan
(Director: Prof. T. Nijjima)

We report five cases of various hermaphroditism observed in a recent period. Genetic, Gonadal and Somatic Sex were determined by the examination of sex chromatin and chromosome, urinary hormonal assays and experimental laparotomy.

Case 1 is a 4 years old, socially female. Sex chromatin was male type and sex chromosome was XO/XY type.

The histopathology of the right gonad showed the testicle and that of the left gonad showed the ovary.

Right castration and the amputation of clitoris were performed as a case of true hermaphroditism.

Case 2 is a 9 years old, socially female. Examination of sex chromatin and sex chromosome were male type.

No female internal genitals were found in the abdominal cavity.

The histopathology of the both gonads showed the cryptorchid testicles.

Bilateral castrations were performed as a case of male hermaphroditism.

Examination of sex chromatin and sex chromosome in another three cases were all female type. The histopathology of these gonads showed the ovary.

These three cases were diagnosed the cases as female hermaphroditism. In case 3 and 5, the amputation of clitoris were performed, and in case 5, social sex was changed from male to female.

切迫流産における血中 HCG 値について (尿中 HCG 値との比較)

Serum HCG Estimations in Threatened Abortion (In Comparison with Urinary HCG amounts)

横浜市立大学医学部産婦人科学教室 (主任 梅沢実教授)

伊 藤 俊 一

Syun-ichi ITOH

Department of Obstetrics & Gynecology, School of Medicine, Yokohama
City University, Yokohama, Japan.
(Director: Prof. M. Umezawa)

簡易、迅速性に Hemagglutination Inhibition Reaction(HAIR) による血中 HCG 測定 of 臨床応用は、妊娠の早期診断はもとより、妊娠経過中の異常変化の確認、予後の判定、また異常妊娠の診断上極めて有効な手段となつている。これは、尿中 HCG に比べて血中 HCG 値がより正確に生体内 in situ の HCG-level を示すため、特に異常妊娠においてより価値ある診断法であると言える。

HAIR により33例の切迫流産の血中 HCG を測定して比較的容易にその予後の良否を判定しうることを認め、その診断的価値の高さを知るとともに、その他外妊、奇胎における血中 HCG 分泌の傾向と尿中 HCG 値との関係について検討した。

I. 緒 言

最近10年間における妊娠診断法の進歩は目覚ましいものである。このうち、とりわけ免疫学的反応を用いた方法の開発は、産婦人科領域における最もルーチン化された検査法の一つをもたらした。そして、この方法の有用性については周知の通りである。

赤血球凝集阻止反応(HAIR)を用いた妊娠反応では、これ迄その測定すべき検体の対象は専ら妊婦尿などの排泄成分であり、そのためこれによる尿中 HCG (Human Chorionic Gonadotropin)の定量は、生体内 HCG 量を直接反映しているとは言い難く、従つて妊娠各期における HCG と他の steroids との hormone balance を正しく比較することは勿論、妊娠経過中の異常発生の場合における生体内 HCG 分泌量の変化を早急に察知することは不可能である。

この問題を解決するための一手段として、われわれは acetone 沈澱法を用いて比較的簡単に血清中 HCG を抽出し、これを HAIR で測定して生体内 in situ の HCG

を直接定量する方法を検討してその信頼性と実用度の高さを確認した結果¹⁾、現在では外来診療で異常妊娠を疑がわれた症例は勿論、外来および入院患者に対する妊娠異常の経過観察、予後の判定、また一部の奇胎、絨腫管理において本法を臨床ルーチンに実施して意義ある成績²⁾を得ている。

今回はそのうち切迫流産など妊娠初期における異常妊娠の血中 HCG の変動について述べる。

II. 基礎実験成績

HAIR を用いて血中 HCG 測定を行なつて得られた基礎実験の主要成績を示すと、

(1) 抽出法

Wide の原法を³⁾修正して図1に示したように cold acetone を2回用いるのみに止める操作の簡素化を計つた。血清 1~2 ml を pH 3~5 に調整して回収上の効果をあげ、biological activity については Aschheim-Zondeck 法(第2反応)で血中、尿中値が共に等しく、 $1 \text{ mu} \doteq 4 \text{ iu}$ であり、本抽出法の実用性の高さを認め

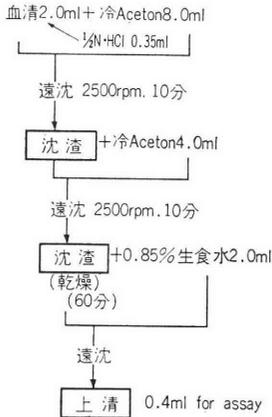


図 1 血清中 HCG の抽出

表 1 妊娠 5 週 0 日迄における検出率

No	症 例	妊 娠 週 日	HCG iu/ml	
			血 中	尿 中
1	遠 ○	4-3	16	—
2	神 ○	4-3	—	—
3	稻 ○	4-4	8	—
4	三 ○	4-4	—	—
5	稻 ○	4-4	—	—
6	橋 ○	4-4	2	—
7	石 ○	4-4	—	—
8	石 ○	4-5	1~2	—
9	尾 ○	4-5	—	—
10	平 ○	4-6	4	—
11	佐 ○	4-6	1~2	—
12	西 ○	4-6	16	—
13	平 ○	5-0	4	—
14	高 ○	5-0	1~2	—
15	小 ○	5-0	4	—
16	藤 ○	5-0	12	—
17	進 ○	5-0	—	—

検出率：11/17=64.7%
(但し、測定感度=1.0 iu/ml)

た。回収率は平均90%であり、再現性においては尿の場合と比べて検体を濃縮して測定する場合により勝れていることを認めた。

(2) 検出率

妊娠初期における検出率をみると表 1 の如くに最終月経開始から第31日目において測定されるものがあり、妊娠第 5 週 0 日迄の検出率は64.7%である。尿中との検出率の比較ではこの時期では明らかに血中において勝れ、このことから血中 HCG の測定は妊娠の早期診断に極め

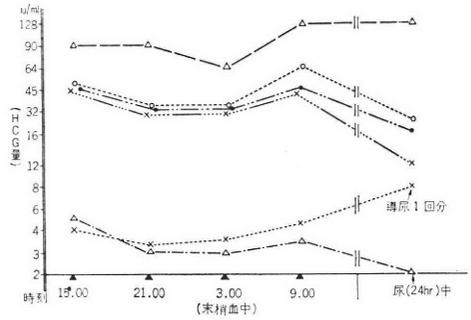


図 2 血中 HCG の日差変動

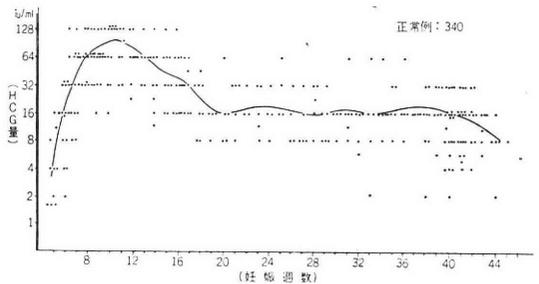


図 3 末梢血中 HCG の消長

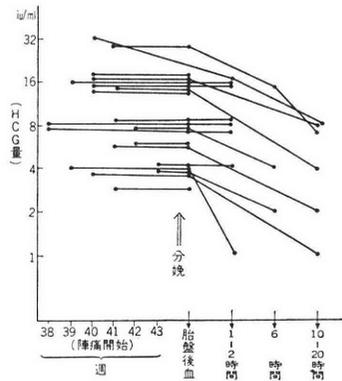


図 4 胎盤娩出後における血中 HCG 消失の推移 (母体血中 HCG 値の半減期)

て有効であると思われる。

(3) 血中 HCG 量の日差変動

図 2 にみる如く、各時刻毎の血中 HCG 値の変化は基礎代謝の日差変動に類似した傾向を示し、また 24 時間尿中値との比較では一般に血中値がやや高かった。

(4) 血中 HCG の半減期

妊娠経過に伴う血中 HCG の正常な消長の傾向は図 3 に示したようにほぼ尿中の傾向に平行しているが、胎盤娩出を境とした前後数時間における血中 HCG および胎盤後血中 HCG を比較した結果、母体血中における HCG の半減期は 6 時間前後であることを認めた。これ

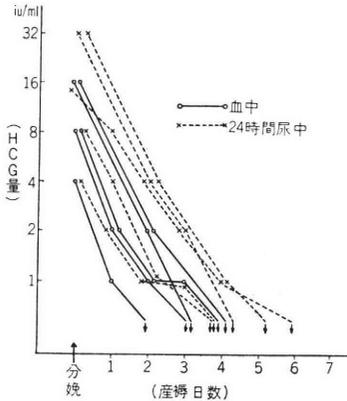


図 5 産褥における血中 HCG 値の消長

は切迫流産などの症例に gonadotropin 製剤を投与する際の時間的因子として考慮されるべき点である(図 4)。

(5) 血中 HCG の消失 (産褥期の消長)

正常分娩の産褥期における血中 HCG の消失は図 5 の如くでこれも尿中での消失にほぼ平行していると言えるが、血中での消失は一般に尿中より 1~2 日早目に測定範囲以下の減少を示し、産褥平均 3~4 日目で検出不能となる。

以上の基礎的成績をもとにして、次に切迫流産を中心にその他 2, 3 の異常妊娠についての血中 HCG の分泌傾向を特に尿中 HCG との比較により検討してみる。

II. 異常妊娠

(1) 切迫流産

外来診断で早急に要加療と判定された切迫流産の33例についてその血中および尿中 HCG 値を測定、これらを単に graphic に対比したのが図 6 であるが、このうちその後の妊娠経過より予後良好と判明したもの17例 (51.5%), 予後不良のもの16例 (48.5%) であつた。これを全体的にみると、血中ではすでに低値を示しているのに対して尿中値は比較的 normal 範囲内或いは測定可能な値を示す例の多いことが認められる。このことから、尿中 HCG 値のみで切迫流産の診断或いは予後判定を行なうことは極めて不確実なものとなり易いことは明らかである。図のうち個々の数値は各症例につきまだ一回の測定値を示したに過ぎないものであるが、これにより妊娠経過からみた両者の予後の判定が比較的容易に行なうことは逆にいえば血中値の診断的価値の高さを示すと同時に本測定法の有用性を如実に表していると言える。このような同一症例における血中、尿中の HCG 値間の unbalance の発生の原因は、勿論両者の測定時期の問題や体液循環と血中 HCG の尿中排泄への時間的因子も関与し

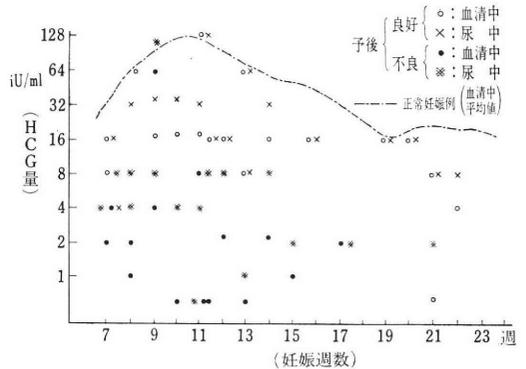


図 6 切迫流産における血中 HCG 値

てくるが、その後得られた病理組織学的検査の結果から考察して、血中 HCG が正常或いは測定範囲以下の値をとる場合は明らかに生活絨毛の欠如を示すと同時に、血中 HCG 値が妊卵の運命を物語る真の値を表わしていると考えられる。

この他尿中、血中値間の同様な unbalance な関係を示すものに外妊、奇胎などがあるが、そのいくつかを次に示す。

(2) 外妊

本症における尿中および血中 HCG 値間の unbalance の原因のうち、生活絨毛存在の有無の示す比重は切迫流産例の場合に比べるとより少なく、むしろ臨床症状の急峻さの程度により強く影響されていると言える。すなわち図 7 でみる如く、全身症状が急激に発現したような新

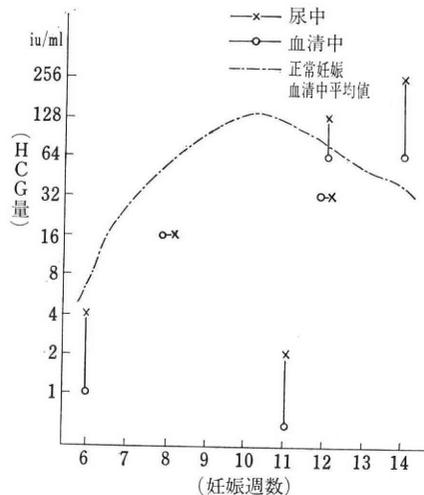


図 7 外妊における HCG 値

鮮例においては血中値がほぼ正常範囲内にあるのに対して、尿中値は図の上方に異常に高値をとっている。すなわち尿上型を示している。これは全身状態が著明に侵

された結果水分摂取量が制限され、一時的に腎機能の低下から尿量減少を来し、その結果尿の異常濃縮を起したためと考えられる。

一方、初診時すである程度時間を経過して臨床症状の軽微な陳旧例では、尿中値がまだ正常値附近にあるのに対して血中値は下方に向かい測定範囲以下の値をとり易く、しかもそのバラツキは大きい。即ち血清下方型を示し、これは切迫流産の予後不良群の傾向と同様なものと言える。

(3) 奇胎

診断時採血、採尿した血中および尿中 HCG 値間の unbalance な関係は圧倒的に尿上方型であり、しかも尿中 HCG の異常濃縮はより著明である (図 8)。

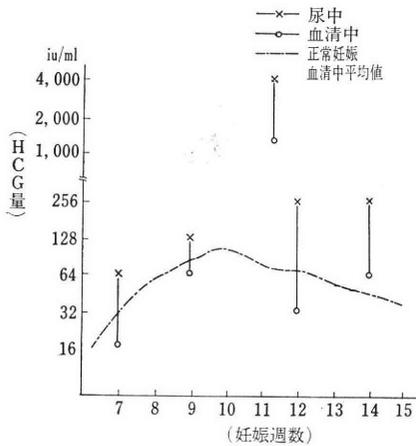


図 8 胎状奇胎における HCG 値

奇胎における HCG 分泌は血中、尿中ともに一般に高く、殊に臨床症状を強度に伴う場合は尿中 HCG 濃縮は異常に高度であり、これはまた臨床症状と極めてよく一致している。しかし一方では、臨床症状が比較的軽度で流産徴候を伴なつて経過したような症例では HCG 値は特に高くなく、また血中、尿中 値間の unbalance な関係にも差のない場合がある。このような症例では定型的な臨床所見を欠如するため、時にはその治療時期を逸して予後の不良を招く危険の可能性があると言える。そのため、妊娠初期に何らかの異常所見が認められる症例については、尿中 HCG の定性反応を行なう許りでなく血中 HCG の定量を試みるような細心の注意を払うことが大切である。また尿中 HCG の定量のみによる誤診の可能性についても考慮すべきである。これは既報²⁾の如く、重症妊娠悪阻症や早期の妊娠中毒症では時としてかなり高度な尿中 HCG の濃縮が認められるからである。

(4) 妊娠初期における血中 HCG の消失

正常分娩における産褥期 HCG の消失傾向は図 5 に示

した通りであるが、妊娠初期における HCG 消失の傾向を 2, 3 の症例で観察してみると、流産例では子宮腔内の絨毛組織の消失とともに血中 (尿中) HCG は極めて速かに消失していると言える。一方、奇胎についてこれをみると、奇胎排出後における処置の仕方によって様子は多少異なるが、特長なことは、繰返し子宮腔内の curettage を行なつたにも拘らず血中 HCG の消失が遅延する傾向を示すことである。しかも curettage で得られる子宮腔内の rest には往々病理学的に絨毛成分を証明することも少なくない。そこで、奇胎における血中 HCG 消失遅延の原因が、単に正常妊娠とは異なる絨毛組織の性質のためのみによるものであるか否かをみるために、初期の正常妊娠を curettage により中絶したものについて、その後数回に亘つて子宮内容を病理学的に検索してこれと血中 HCG 値とを比較してみた。すると、通常的人工妊娠中絶においてさえ必ずしも 1 回の curettage で完全に絨毛成分を除去しうるとは言えず、絨毛成分の残存が多少ともある場合には、これと一致して血中 HCG が比較的長時間に証明される例のあることを認めた。この事実から推定して、奇胎排出後における血中 HCG 消失時期の延長の原因として、単に絨毛成分が子宮腔内に残存したためによる因子も比較的重要視されるべき点であろう。図 9 でみる右卵管妊娠中絶 (胎状奇胎*印) の 1 例は、この仮定を強調するための好例であると言える。すなわち、同じ奇胎であつてもこの例のように病巣 (奇胎成分) が完全に摘除されれば、血中 HCG の速やかな消失が認められる。従つて、奇胎排出後も長期に亘つて HCG 分泌が認められる症例では、当然子宮腔内における奇胎成分の残存を考えるべきであり、繰返し curettage を行なつてもすでに絨毛組織が証明されず、しかも HCG 反応が持続する場合には、一応悪性変化を疑がい治療方針を立てるべきである。

III. 考按ならびに結論

産婦人科臨床面での免疫学的妊娠反応の応用価値の高さは周知の通りであるが、この方法による血中 HCG 測定法の確立は臨床学上、殊に異常妊娠の治療管理の面で更に大きな意義を与える。生物学的方法に対する免疫学的測定法の特長とするところは、高い信頼性と測定操作上の簡易、迅速性にあると言える。このことは妊娠経過中の異常の発生を速やかに察知する上に極めて有効な手段であり、これは血中 HCG を定量することにより、より確実となる。

本法の如き比較的 rough な半定量的測定で血中 HCG 値の日差変動が認められる事実は、これ迄一般に認容されている HCG 分泌に関する考え方²⁾、すなわち一定時

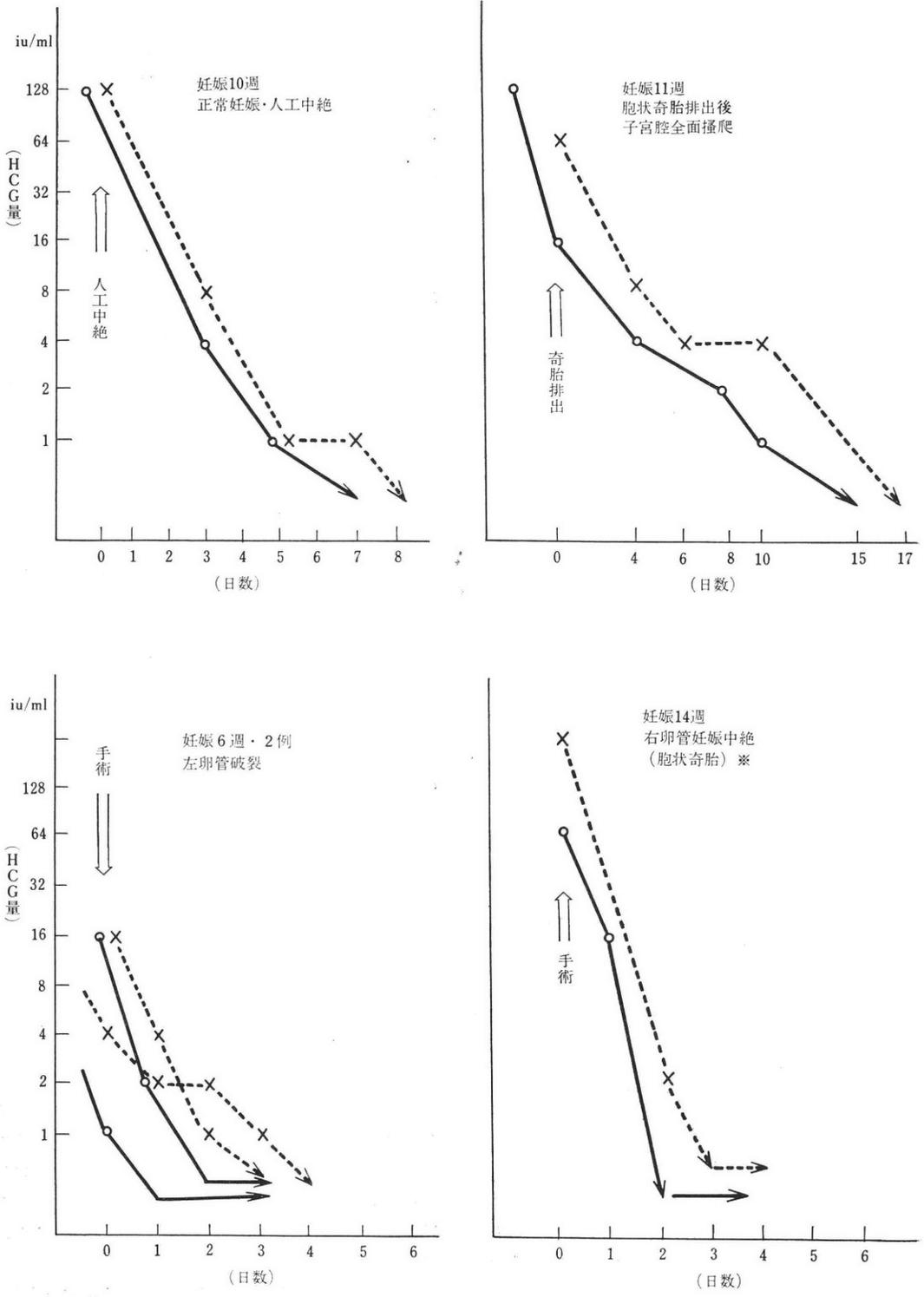


図 9 絨毛組織の有無と HCG 分泌傾向

間内の尿試料から一日の total HCG 量を算出すること、
 或いは24時間尿中 total HCG 量から単位時間当りの
 HCG 分泌量や血中 HCG の循環量を推測することは必
 らずしも適当とは言いがたい。この血中 HCG の日差変動
 と母体血中 HCG の半減期の問題は、治療上 gonadot-
 ropin 投与を行なう場合の重要点であると考えられる。

典型的な臨床症状を示す外妊や奇胎例で認められた血
 中および尿中における HCG 値間の unbalance の現象
 は、それぞれの絶対値が比較的大きいことから、診断的
 に決定的な誤りを犯す可能性は少ないと考えられるが、
 全身症状が極めて軽微でしかも両者の HCG 値が全体的
 に低下している流産型の場合には問題がある。この時の
 尿中 HCG は比較的正常範囲内の値を示し、しかもこの
 傾向は不全流産或いは稽留流産例においてさえも比較的
 長期に亘り認められる。そのため、尿中 HCG 値のみか
 ら直ちに妊娠の状態や予後の良否を判定することは難か
 しく^{5,6)}、診断の根拠はむしろ臨床症状の中から見出す
 ことが容易である場合が多い。しかし、これも血中
 HCG 値を測定することで事情が変ってくる。図6で示し
 たような極めて簡単な血中および尿中 HCG 値の対比に
 より妊娠経過の予後が比較的容易に判別しうることは、
 この比較方法が切迫流産の診断上極めて有用性の高いも
 のであることを示す。更にこれを詳細に観察すると、予
 後不良群における血中 HCG 値は尿中値とは特に関係な
 く異常低値をとるものが圧倒的に多く認められ、この血
 中値の低下が診断の根拠となっている。そのため実際の
 臨床応用においては、血中 HCG 値を測定することで十
 分その意義を発揮すると言える。

実際の測定では、HAIR における第2反応の完結迄
 に2時間を要するとして、血清 HCG 抽出の所要時間は
 約2時間であるから、合計4時間後には血中 HCG 値に
 よる妊娠状態の的確な診断が可能である。これはまた、
 hair-drier などを用いて乾燥に要する時間を節約するこ
 とで更に短縮することも可能である。この血中 HCG 測
 定による診断の迅速性は、切迫流産のみならずその治療
 方針を正しく決定する必要のある外妊や奇胎、重症の妊
 娠悪阻症などの鑑別診断にも極めて有効であることは言
 う迄もない。

以上の如く、血中 HCG 値は全身状態の変化にも比較
 的影響されない生体内 in situ の値を示すことから、
 HAIR による血中 HCG の測定を行なうことにより、
 (1) 生活絨毛の存在の有無を速かに判定し、(2) 更には
 妊卵の運命を正しく推測することが可能である。しかも
 これは異常妊娠においてより有用性の大きいことが認め
 られ、臨床上殊に切迫流産の確診とその予後の判定、更
 にホルモン治療を行なう上に極めて価値ある診断法であ

ると言える。

稿を終るに臨み、御校閲を賜った恩師梅沢実教授に
 謹んで感謝の意を捧げます。なお、本論文の要旨は昭
 和44年第54回日本不妊学会関東地方部会において発表し
 た。

参考文献

- 1) 伊藤俊一：日産婦神奈川会誌，6：23，1969.
- 2) 伊藤俊一：産婦の世界，22：55，1970.
- 3) Wide L. Acta Endocr. (Suppl) 70：1，1962.
- 4) 石塚直隆：産婦の世界，18：212，1966.
- 5) 岡田：産婦の実際，13：978，1964.
- 6) 藤井久四郎他：産婦の実際，13：1018，1964.

Serum HCG Estimations in Threatened Abortion (In Comparison with urinary HCG amounts)

Shun-ichi Itoh

Department of Obstetrics & Gynecology, School
 of Medicine, Yokohama City University,
 Yokohama, Japan.

(Director: Prof. M. Umezawa)

In order to estimate serum HCG concentra-
 tion by hemagglutination inhibition reaction
 (HAIR), a very simplified procedure with acetone
 precipitation method was proposed, and this pro-
 cedure has been much appreciated in our clinical
 studies.

Thirty-three cases of threatened abortion
 have been evaluated with serum and urinary
 HCG levels respectively. 17 cases (51.5%) were
 proved to take a good prognosis and 16 cases
 (48.5%) were found with poor results. Although
 both the serum and the urinary HCG levels in
 the former cases exhibited within normal range,
 the serum HCG concentrations in the latter group
 with poor results indicated apparently subnormal
 or out of measurable limits, while the urinary
 HCG amounts still remained within normal excre-
 tion levels.

The same attitude of serum HCG fall was
 also seen in some cases of ectopic pregnancy,
 hyperemesis gravidarum and hydatidiform mole.
 But the discrepancy of HCG levels between serum
 and urine is reasonably attributed to pathological
 urinary HCG concentration caused by physical
 disorders of pregnant women.

From this point of view, serum HCG estima-
 tion is well suggested to give a more reliable
 index of HCG excretion amount particularly in
 the cases of pathological pregnancies, and in
 those cases which hormone therapy is necessary.

17 α -hydroxy-19-nor-progesterone caproate の 頸管粘液に及ぼす影響について (その I)

Effects of 17 α -hydroxy-19-nor-progesterone Caproate on
Human Cervical Mucus (I)

京都府立医科大学産婦人科学教室 (主任 徳田源市教授)

小畑 義 藤田 博 丕 上 羽 至
Tadashi OBATA Hiroo FUJITA Itaru UEHA

村 上 旭
Akira MURAKAMI

Dept. of Obst. & Cynec., Kyoto Pref. Univ. of Med., Kyoto.
(Director: Prof. Gen-ichi Tokuda)

新しく合成された 17 α -hydroxy-19-nor-progesterone caproate を正常性周期婦人に投与して、その頸管粘液におよぼす影響について検討し、次のような結果をえた。

- 1) 頸管粘液量に関しては 5 mg, 20mg 投与してもほとんどが 0.3ml 以下であった。
 - 2) 牽糸性については 5 mg, また 20mg 投与してもほとんどが 10cm 以下にとどまった。
 - 3) 結晶形成についても数例の例外を除いて、いずれも定型的な結晶形成はみられなかった。
 - 4) 精子通過性は 5 mg また 20mg 投与のどちらにおいてもほとんどが強拡大視野中に 7 個以下であった。
- 以上 5 mg また 20mg 両方とも頸管粘液に対する影響のうち 5 mg 投与では中間期に、20mg 投与では月経周期が延長されるため後半期にいたって例外的に数例だけ精子通過可能な性状を示した。

I. 緒 言

Kristeller⁽¹⁾ (1871) が膈内に射精された精子はそれ自身の運動によつて子宮頸管内へ移行するらしいということ初めて報告して以来、Miller & Kurzrok⁽²⁾ (1932) は in vitro で精子が頸管粘液内に侵入する状態を観察し、精液と頸管粘液との間に Phalanx を形成して精子が頸管粘液内に侵入して行くと報告した。しかしこの Phalanx は精子が頸管粘液内に侵入するために形成しなければならないものではなく、頸管粘液の粘度が強い場合には形成されるが、薄い水様性の、しかも細胞成分の少ない粘液の場合には本現象はみられず、容易に精子は通過することができると実験的に確証している⁽³⁾⁽⁴⁾。一方この頸管粘液が正常性周期婦人の場合周期性をもつて変化すると Seguy⁽⁵⁾ (1933) によつて報告され、これらの変化はエストロゲンの影響をうけて変化し、排卵期には頸管粘液量がピークとなり、精子が一層通過しやすい

状態になると考えられている。そして排卵後プロゲステロンが分泌されるがそのプロゲステロンは頸管粘液の分泌に対し、抑制的に作用するために頸管粘液量が急激に減少してくると考えられている⁽⁶⁾。プロゲステロンと同様の作用を持つと考えられる合成黄体ホルモンを投与して排卵日における頸管粘液の増加を抑制し、精子の通過を少なくするか、または抑制する⁽⁷⁾ ということに着目されるようになった。今まで避妊の目的で排卵を抑制する方法がとられていたが、最近では頸管粘液の分泌抑制によりその目的を達する方向も考えられるようになって来た。われわれも今回 17 α -hydroxy-19-nor-progesterone caproate を用いてどの程度まで頸管粘液の性状を変化することができるかについて検討を加え、次のような結果を得た。

II. 対象および方法

対象としては 23 歳から 38 歳までの正常性周期婦人のう

ち、種々の不妊検査の結果、卵管が閉塞している以外は認めるべき所見のないものをえらび、月経周期第5日目ないし第8日目に17 α -hydroxy-19-nor-progesterone caproate 5mg または20mg を投与し、投与後1日ないし2日の間隔で頸管粘液を検索し、その頸管粘液の量、牽糸性、結晶形成、精子の侵入程度を検査し、頸管粘液に対する17 α -hydroxy-19-nor-progesterone caproate の影響を対照周期と比較検討した。また投与後周期日数についても対照周期を比較した。

頸管粘液に対しては次のような基準にもとづいて検索をこころみた。

1) 量：外子宮口を綿花でふきとり、ツベルクリン注射器筒を外子宮口に接して、子宮頸管内にある頸管粘液を吸引して、その量を測定した。

2) 牽糸性：頸管粘液をツベルクリン注射器で採取し、スライドガラスの上におき、その上にカバーガラスを垂直にもち上げて粘液牽糸が切れる直前の距離を cm で表現した。

3) 結晶形成：頸管粘液を採取し、スライドガラスの上のせて一定の室温で自然乾燥後、検鏡により次のように分類した⁷⁾。

卍：標本全体に定型的結晶形成を認め、少数の上皮細胞だけが認められるもの。

卐：標本の一部に定型結晶形成を認めるが、他の部分は結晶が陰性かまたは非定型的結晶で上皮細胞は少数しか認められないもの。

卍：標本の一部につる状、草状、苔状または樹枝状等の不定型結晶がみられるとともに多数の上皮細胞のみみられるもの。

一：結晶形成は全く陰性で無数の上皮細胞だけがみられる。

4) 精子の侵入程度：頸管粘液採取後、スライドガラスにのせ検鏡のうえ強拡大(×400)視野内の精子の数を数えた。

III. 臨床成績

1) 周期日数に対する影響

対照周期日数が25日から32日(平均27.9日)の正常性周期婦人の月経周期第5日目ないし第8日目に本剤20mgを投与してみると、投与後周期日数は27日から59日(平均34.7日)となり、明らかに周期日数の延長が認められた。対照周期日数と本剤投与後周期日数との相関々係を見ると図1のようである。本剤を減量して5mgについて検討してみると、対照周期日数が24日から32日(27.3日)の正常性周期婦人に月経周期第5日目ないし第8日目に本剤を投与すると、投与後周期日数は25日から28日(平均

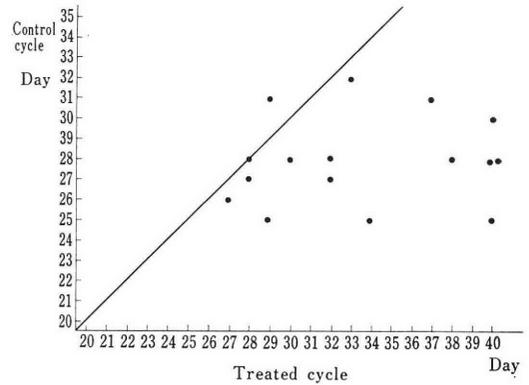


Fig. 1 Length of menstrual cycle treated with 20mg 19 NPC on D₅-D₈

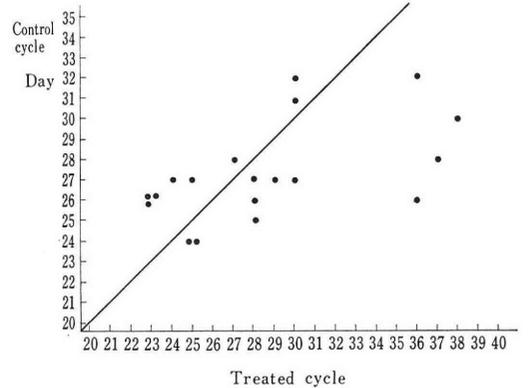


Fig. 2 Length of menstrual cycle treated with 5mg 19 NPC on D₅-D₈

28.6日)となり、20mg 投与時にみられた周期日数の延長はほとんどみられなかつた。そして対照周期日数と本剤5mg 投与後周期日数との相関々係を図に示すと図2のようである。

2) 基礎体温に対する影響

本剤20mg を投与すると投与翌日から0.2ないし0.5°Cの上昇を認める。そして次第に下降して自然排卵とともに再び上昇する2峰性の基礎体温曲線を示す。ほとんどの症例において本剤投与後4日ないし10日目に消退出血を認めたが、16例中2例に消退出血が出なかったものもあった。また16例中1例だけが基礎体温曲線のうえから排卵が抑制されたと推定されたが、ほとんどの症例に排卵の時期が延長された。これを基礎体温曲線のうえからみると第3図のようである。しかし本剤を5mg に減量してみると投与後基礎体温の上昇はほとんどないか、あったとしてもごく軽度の上昇にすぎない。したがって5mg 投与後基礎体温曲線は自然排卵の上昇だけでほとんどが1峰性の曲線をえがく。本剤5mg 投与後消退出血

Quantity	ml.	
	≥ 0.3	••••
	$0.2 \sim < 0.3$	••
	$0.1 \sim < 0.2$	••••
	< 0.1	••••••••
not aspirated	••••••••••••••••••••	
Spinnbarkeit	cm.	
	≥ 10	••••
	$5 \sim < 10$	••••
	< 5	••••••••
Crystallization	##	••••••
	#	••••
	+	••••
	-	••••
Sperm penetration	≥ 7	•
	$4 \sim < 7$	•••••
	$1 \sim < 4$	••
	\pm	•
	-	••••••••
Menstrual cycle		5 8 11 14 17 20 23 26 29 32
		7 10 13 16 19 22 25 28 31

Fig. 7 Various properties of cervical mucus during 5 mg 19 NPC-treated cycle on D₅-D₈

対照周期として図5に示すように、月経周期第11日ないし第16日目に定型的結晶形成を認めるものをえらび、その対象に本剤20mgを投与すると図6に示すように月経周期第11日ないし第16日に認められた定型的結晶形成は全く認められないが、月経周期第20日ないし第31日目に定型的結晶形成を認めるものが4例だけ認められたにすぎない。しかしながら本剤を5mgに減量してみるとほとんどが定型的結晶形成は認められないが、少数例だけが中間期に定型的結晶形成を認めた。

iv) 精子通過性に対する影響

対照周期として図5に示すように月経周期第11日ないし第16日目によく精子の頸管粘液への通過を示すものをえらんだ。この対象に本剤20mgを投与すると図6に示すように頸管粘液の精子の通過は月経周期第11日ないし第16日目では1視野1ないし3個で明らかに抑制が認められるが、月経周期第26日ないし第28日に1視野に7個以上認められるものが1例認められた。また1視野に4個ないし7個認められるものが月経周期第23日ないし第31日目に3例、月経周期第8日ないし第10日目に1例認められた。そして数視野調べてやつと精子を見つけることができるものが5例あった。これに対して本剤5mgを投与すると図7に示すように月経周期第14日ないし第16日目に1視野中に7個以上の精子を認めるものが1例あり、月経周期第11日ないし第22日目に1視野中4個ないし7個認めるものが4例あった。また月経周期第14日な

いし第19日目に1視野中1個ないし3個認めるものが2例あり、ほとんど精子の通過が障害されている。

IV. 考 按

1933年に Seguy et Vimeux³³⁾は頸管粘液が正常な月経周期婦人の月経周期に一致して変動することを報告して以来、多くの研究者によつて研究されてきた⁸¹⁾⁻⁸²⁾。そして Benett³³⁾³⁴⁾またはその一派は更年期婦人のエストロゲン療法に頸管粘液を目標とした。さらに Pommerenke et Viegiver³⁵⁾ (1946)は膈上部切断術と両側卵巣摘出をうけた婦人にエストロゲンを投与すると頸管粘液が増量するが、プロゲステロンを投与すると減少することを実証した。その後、排卵によつてプロゲステロンが分泌されると、そのプロゲステロンが頸管粘液の分泌を抑制すると報告された⁶⁷⁾³⁶⁾。

最近多数の合成黄体ホルモンが合成され、その多くが避妊に応用されているが、その作用機序が排卵抑制に向けられていた。しかし最近さらに頸管因子、特に頸管粘液の分泌を抑制することによつて精子の通過を抑制することに目が向けられてきた³⁷⁾⁻³⁹⁾。

Viegiver & Pommerenke⁴⁰⁾ (1944)は正常月経周期婦人の頸管粘液の量的変動について検索し、中間期には200~700mgにおよぶという。原田¹⁸⁾¹⁹⁾ (1951)は月経中間期において60mgをこえ最高641mgに達すると報告し、この時期において精子の通過性が証明されたとのべている。また五十嵐⁴⁰⁾⁴¹⁾⁴²⁾ (1962)は頸管粘液量が300mm³以上の時は卵巣に成熟またはそれに近い卵胞が存在していることが推測され、400mm³をこえる時には卵胞成熟が完了し排卵が近いことを暗示している、さらに頸管粘液量が300mm³をこえるときには排卵は3日以内に、400mm³をこえるときには一両日中に排卵の起こる可能性がたついとのべている⁴³⁾。

そこで今回本剤の投与によつてほとんどが0.3ml以下の頸管粘液量の減少を認めた。しかし20mg投与群では月経周期第20日ないし第28日目に4例、また5mg投与群では月経周期第14日ないし第22日目に4例が0.3ml またそれ以上に認められた。しかし Mogh-issi⁴⁴⁾ (1966)は norethindrone acetate 2.5mg と ethynyl estradiol 0.05mg を含有する Norlestrin を月経周期第5日目から第25日目まで投与してほとんどの例で0.1ml かそれ以下に抑制することができ、1例だけ月経第26日目に0.2mlの頸管粘液量を認めたと報告している。

牽糸性については Clift¹¹⁾ (1945)⁴⁵⁾ (1950)によつて見出され、この性質は排卵期に最高となると報告して以来、Cohen et al⁴⁷⁾ (1952)は牽糸性なし20cmの時

は精子通過可能な時期とし、0 ないし 1 cm の時は精子通過不可能な時期としている。また最高の牽糸性を示す時には人工授精に適当な日であるとしている⁴⁷⁾。同様に原田 (1954)²³⁾ は月経中期に平均 102.7 cm の牽糸性を認め、Speck & Halter⁴³⁾ (1956) も牽糸性 12 cm 以上を良としている。五十嵐⁴⁰⁾⁴¹⁾ (1962) 杉本⁴⁹⁾ (1965) も牽糸性 10 cm 以上を良好としている。

本剤投与後の牽糸性については対照周期に比較して明らかに抑制されているが、数例において 10 cm またはそれ以上の牽糸性を認めた。合成黄体ホルモンを投与した時の頸管粘液の牽糸性については Zanartu⁷⁾ (1964), Cohen et Perez-Pelaez⁵⁰⁾ (1965), Moghissi⁴⁴⁾ (1966), Cohen⁵¹⁾ (1967) などが報告しているが、Zanartu⁷⁾ (1964) は牽糸性が対照周期比較して少なくなるという。Cohen et Perez-Pelaez⁵⁰⁾ (1965) は Dydrogesterone 1 日 10 mg を 10 ないし 30 日投与すると牽糸性は 2 cm となったという。Moghissi⁴⁴⁾ (1966) は norethindrone acetate 2.5 mg と ethynyl estradiol 0.05 mg を含有する製剤を用いて牽糸性は 4 ~ 5 cm 以上にはならなかったと報告している。Cohen⁵¹⁾ (1968) は norethindrone 1 mg と ethynyl-estradiol の 3-methyl-ether 50 μ g を含有する製剤を用いて頸管粘液の牽糸性について調べたところ完全に牽糸性は抑制されたと報告している。

頸管粘液の結晶形成に関しては、最初 Papanicolaou⁵²⁾ (1945)⁵³⁾ (1946) が子宮頸管粘液乾燥標本に硝酸銀によく染まる樹枝状模様が出現し、しかもこれが周期的に変動を示すことを発表した。しかし Rydberg⁵⁴⁾ (1948) はこの模様は単に塗抹乾燥しただけでも現われるものであることを立証し、この結晶は NaCl の結晶であろう、そしてこの結晶は閉経後にはなくなるが estrogen を投与することによってふたたび現われると報告した。Bergman⁵⁵⁾ (1950), Campos da Paz⁵⁶⁾ (1951)⁵⁷⁾ (1953) Loeckle⁵⁸⁾ (1953) は結晶形成について分類をし、Grünberger & Holkup⁵⁹⁾ (1952) は排卵日の 1 日だけに結晶核が現われると発表している。さらにこの頸管粘液を利用して、Roland⁶⁰⁾ (1952) は排卵日の決定、エストロゲン活性の決定または妊娠の判定に利用できるのとべている。Zondek & Rozin⁶¹⁾ (1954) にいたつては正常妊娠の時には結晶形成がなく、結晶形成が現われると流産にまで移行するとまでいつている。さらに市川 & 市川⁶²⁾ (1953), 綿引⁶³⁾ (1954), 田中⁶³⁾ (1954), Neumann & Lehfeldt⁶⁵⁾ (1955) は結晶形成を妊娠の診断に利用している。この結晶形成は大谷⁶⁶⁾ (1953) によると estrogen の消長と密接な関係があるとし、吹田、大石⁶⁷⁾ (1953), 石田²⁶⁾⁶⁸⁾ (1954) は粘液中のクロールの量と平行するといい、彦坂⁶⁹⁾⁷⁰⁾ (1954), 赤谷⁷¹⁾ (1955) は NaCl の濃

度の変化にもとづくと考えている。さらに安武⁷²⁾ (1954) は結晶の形成機序について研究をすすめ人工的に結晶を作り出した。この他に豊島⁷³⁾⁷⁴⁾ (1954)⁷⁵⁾ (1955)⁷⁶⁾⁷⁷⁾ (1956) は結晶の形成と分類をこころみたり、五十嵐²⁷⁾⁷⁸⁾ (1954)²⁹⁾ (1956) は頸管粘液の周期的変化と結晶形成について、長崎⁷⁹⁾ (1959) は結晶形成の臨床応用について、尾辻⁸⁰⁾ (1961) は B.B.T. と結晶形成の関係について報告している。Campos da Paz⁸⁴⁾ (1955) によれば結晶形成は精子の通過を示すのに価値があると結論づけている。

今回の実験でも本剤投与周期においては対照周期に比較して結晶形成は明らかに抑制されている。しかしこの結晶形成も本剤 5 mg 投与例では月経周期第 11 日目ないし第 22 日目に定型的結晶形成を認めたもの 5 例あり、本剤 20 mg 投与では月経周期第 20 日目ないし第 31 日目に定型的結晶形成を認めたものが 4 例あつた。Zanartu⁷⁾ (1964) は 5 mg Norethisterone acetate, 2 mg 6-chloro-6-hydro, 17 α -acetoxyprogesterone, 5 mg Lynestrenol および 5 mg Norethynodrel と estrogen との合剤を用いて結晶形成は減少したと報告しているし、Cohen & Perez-Pelaez⁵⁰⁾ (1965) は Norethindrone acetate 2.5 mg または 1 mg と ethynyl-estradiol が 0.05 mg の合剤を用いて検索したところ結晶形成は常に陰性であつたと報告している。さらにまた Dydrogesterone 20 mg を 10 ~ 14 日投与すると結晶形成は陰性であつたが、本剤 10 mg を 10 ~ 30 日投与しても結晶形成は非定型的な形態をとり陰性にまで抑制されなかつたと報告している。Moghissi⁴⁴⁾ (1966) は norethindrone acetate 2.5 mg と ethynyl estradiol 0.05 mg の合剤をもちい、結晶形成は陰性かまたは非定型的結晶形成を示したとし、Cohen⁵¹⁾ (1967) は norethindrone 1 mg と ethynyl estradiol の 3 methyl-ether 50 mg を含有する合剤を投与すると結晶形成は陰性になるとのべている。精子通過性については Sims-Huhner test によつて判定をこころみたり。本剤投与時における精子通過性はほとんどが強拡大 ($\times 400$) 視野 7 個以下の精子数に抑制することができたが、強拡大視野中に 7 個またそれ以上に認められたものが 20 mg 投与群と 5 mg 投与群とにおのおの 7 例ずつ認められたにすぎなかつた。Zanartu⁷⁾ (1964) は精子を強拡大で 1 ないし 15 個まで抑制されるといい、Moghissi⁴⁴⁾ (1966) は精子通過を完全に抑制できるといい、Cohen⁵¹⁾ (1968) は精子を認めることができず、頸管粘液効果のみで妊娠を防止することが可能であると結論づけている。

本剤の基礎体温に対する影響についても、最初 Rubenstein⁸¹⁾ (1937) が毎朝覚醒直後で起床前に測定する体温を基礎体温と名づけ、Barton & Wiesner⁸²⁾ (1945)

が progesterone によつて基礎体温が上昇することを認めて以来、数多くの合成黄体ホルモンの投与により一部の例外を除いて上昇することが認められている。村上、小畑⁸⁰⁾ (1967) も本剤を無排卵性無月経患者に投与し、20mg 投与群において基礎体温上昇効果を認めているが、正常性周期婦人でも同様に20mg 投与群において2峰性の曲線の基礎体温曲線を得、前の山は本剤投与による体温上昇であるが、5mg 投与群では正常性周期の基礎体温曲線をえがいている。

以上の結果からして20mg 投与群では中間期での頸管粘液の抑制効果は著明であるが、周期が延長されるために月経周期後半で頸管粘液の抑制効果は減弱されてくる。これに対して周期が延長されない量、すなわち5mg 投与群では完全な抑制はできないが、ある程度までの抑制が可能である。そしてこのある程度まで抑制された精子がただちに妊娠に結びつくかどうかさらに検討を加えてみる必要があると思われる。

V. 結 論

正常性周期婦人を対象として 17 α -hydroxy-19-nor-progesterone caproate を投与して、月経周期日数、基礎体温、および頸管粘液におよぼす影響について検討し、次のような結果をえた。

1) 月経周期日数については20mg 投与群では、27ないし59日(平均34.7日)、5mg 投与群では23ないし38日(平均28.6日)となり、20mg 投与群では明らかに月経周期日数の延長がみられたが、5mg 投与群では対照周期とほとんど変りはなかつた。

2) 基礎体温については20mg 投与群では投与翌日から0.2~0.5°Cの上昇を認め、投与後4~10日目に消退出血が現われた。また5mg 投与群では投与後基礎体温の上昇はほとんどないが、あつてもごく軽度にすぎなかつたし、消退出血もほとんどなかつた。

3) 頸管粘液については量、牽糸性、結晶形成および精子の通過性に関して検討した。

i) 頸管粘液量は20mg 投与群および5mg 投与群の両群ともほとんどが0.3ml以下に抑制されたが、少数例に0.3mlまたはそれ以上を示すものが20mg 投与群に月経周期第20~28日目に、5mg 投与群に月経周期第17~22日目に認められた。

ii) 牽糸性についてはほとんどが10cm以下に抑制されたが、10cmまたはそれ以上を示すものが20mg 投与群では月経周期第8日目ないし31日目に、5mg 投与群では月経周期第11日目ないし第22日目に少数認められた。

iii) 結晶形成についてはほとんどが定型的結晶形成

は認められなかつたが、ごく少数のみが20mg 投与群で月経周期第20~31日目に、5mg 投与群で月経周期第11~22日目に定型的結晶形成を認めることができた。

iv) 精子の通過性に関してはほとんどが強拡大視野中7個以下の精子しか通過しておらず明らかに抑制されているが、20mg 投与群で月経周期第26~28日目に、5mg 投与群で月経周期第14~16日目に強拡大視野中に7個以上を示すものがおのおの1例あつた。

以上から本剤20mg 投与では月経周期が延長されて本剤の作用効果の消退時に頸管粘液に及ぼす効果がうすれてくる。しかし5mg 投与では頸管粘液に及ぼす効果は不完全であるように思われる。

終わりに臨み、御指導と御校閲を賜つた恩師徳田源市教授に心から謝意を捧げる。

また本剤の提供を受けた日本シェリング株式会社に感謝の意を表す。

本論文の要旨は第12回日本不妊学会総会において発表した。

文 献

- 1) Kristellers, S.; Berel. Klin. Wchnschr. 8: 315(1871).
- 2) Miller, E. G., and Kurzrok, R.; Am. J. Obst. & Gynec. 24: 19(1932).
- 3) Perloff, W. H., and Steinberger, E.; Fertil. & Steril. 14: 231(1963).
- 4) Moghissi, K. S., Dabich, D., Levine, J. and Neuhaus, O. W.; Fertil. & Steril. 15: 15(1964).
- 5) Seguy, J., and Vimeux, J.; Gynec. et obst. 27: 346(1933).
- 6) Bergman, P.; Fertil. & Steril. 4: 183(1953).
- 7) Zanartu, J.; Int. J. Fertil. 9: 225(1964).
- 8) Seguy, J. and Simonnet, H. L.; Gynec. et obst. 28: 657(1933).
- 9) Lamar, J. K., Shettles, L. B., and Delfs, E.; Am. J. Physiol. 129: 234(1940).
- 10) Viergiver, E. and Pommerenke, W. T.; Am. J. Obst. & Gynec. 48: 321(1944).
- 11) Clift, A. F.; Proc. Roy. Soc. Med. 39: 1(1945).
- 12) Barton, M. and Wiesner, B. P.; Brit. med. J. 2: 606(1946).
- 13) Viergiver, E. and Pommerenke, W. T.; Am. J. Obst. & Gynec. 51: 192(1946).
- 14) Pommerenke, W. T.; Am. J. Obst. & Gynec. 52: 1023(1946).
- 15) Viergiver, E., and Pommerenke, W. T.; Am. J. Obst. & Gynec. 54: 459(1947).
- 16) Atkinson, W. B., Shettles, L. B. and Engle, E. T.; Am. J. Obst. & Gynec. 56: 712(1948).

- 17) 原田輝武：日産婦誌，44：67(1949).
- 18) 原田輝武：臨婦産，5：54(1951).
- 19) 原田輝武：臨婦産，5：87(1951).
- 20) 原田輝武：臨婦産，5：136(1951).
- 21) 原田輝武：臨婦産，5：180(1951).
- 22) 原田輝武：臨婦産，6：565(1952).
- 23) 原田輝武：産婦の世界，6：15(1954).
- 24) 青木信行，渡辺久雄，屋代定夫：日産婦誌，7：189(1955).
- 25) 坂倉啓夫，青木信行，藤田一善：ホと臨，3：1237(1955).
- 26) 石田美枝，千葉ヨリエ，吉田茂子：日産婦誌，6：150(1954).
- 27) 五十嵐正雄：日産婦誌，6：151(1954).
- 28) 柚木祥三郎，秋山牧子，菊地るい子，関美枝子，高橋キミ，石田美枝，千葉ヨリエ，吉田茂子，魏貞子：日産婦誌，7：188(1955).
- 29) 五十嵐正雄：日産婦誌，8：1395(1956).
- 30) 石田美枝：日産婦誌，9：793(1957).
- 31) 青木信行：日産婦誌，9：1433(1957).
- 32) 千葉ヨリエ：日産婦誌，10：855(1958).
- 33) Bennett, H. G., Jr.; Am J. Obst. & Gynec. 44：296(1942).
- 34) Bennett, H. G. Jr. and TeLinde, R. W.; JAMA 118：1341(1942).
- 35) Pommerenke, W. T. and Vieregger, E.; J. Clin. Endocrinol. 6：99(1946).
- 36) Abarbanel, A. R.; West.J. Surg. 56：26
- 37) Mears, E. and Grant, E. C. G.; Brit. med. J. 2：75(1962).
- 38) Goldzieher, J. W., Moses, E. L. and Ellis, L. T.; JAMA 180：359(1962).
- 39) Holmes, R. L., and Mandl, A. M.; Lancet. 1：1174(1962).
- 40) 五十嵐正雄：産婦人科治療，5：157(1962).
- 41) 五十嵐正雄：ホと臨，10：116(1962).
- 42) 五十嵐正雄，佐藤昭吾：産と婦，28：1519(1961).
- 43) 五十嵐正雄：産と婦，34：1410(1967).
- 44) Moghissi, K. S.; Fertil. & Steril. 17：663(1966).
- 45) Clift, A. F., Clover, F. A. and Scott-Blair, G. W.; Lancet 1：1154(1950).
- 46) Cohnen, M. R., Stein, I. F. and Kaye, B. M.; Fertil. & Steril. 3：201(1952).
- 47) Cohen, M. R., Stein, I. F. and Kaye, B. M.; Fertil. & Steril. 7：141(1956).
- 48) Speck, G. & Halter, P. E.; Fertil. & Steril. 7：341(1956).
- 49) 杉本修：産婦人科治療，11：436(1965).
- 50) Cohen, M. R., and Perez-Pelaez, M.; Fertil. & Steril. 16：141(1965).
- 51) Cohen, M. R.; Fertil. & Steril. 19：405(1968).
- 52) Papanicolaou, G. W.; Anat. Rec. 91：293(1945).
- 53) Papanicolaou, G. W.; Am. J. Obst. & Gynec. 51：316(1946).
- 54) Rydberg, E.; Acta Obst. et Gynec. scandinav. 28：172(1948).
- 55) Bergman, P.; Acta Obst. & Gynec. scandinav. (Suppl. 4), 29：1(1950).
- 56) Campos, da Paz, A.; Am. J. Obst. & Gynec. (Supp.), 61A：790(1951).
- 57) Campos, da Paz, A.; Fertil. & Steril. 4：137(1953).
- 58) Loeckle, W. E.; Zbl. Gynäk. 75：421(1953).
- 59) Grünberger, V. und Holkup, H.; Archiv f. Gynäk. 182(2/3)：213(1952).
- 60) Roland, M.; Am. J. Obst. Gynec. 63：81(1952).
- 61) Zondek, B., and Rozin, S.; Obst. & Gynec. 3：463(1954).
- 62) 市川秀一，市川とし子：産婦の世界，5：1204(1953).
- 63) 綿引洋平：産と婦，21：446(1954).
- 64) 田中英雄：産と婦，21：636(1954).
- 65) Neumann, G. and Lehffdt, H.; Am. J. Obst. & Gynec. 70：650(1955).
- 66) 大谷善彦：産と婦，20：189(1953).
- 67) 吹田清純，大石穰：臨婦産，7：139(1953).
- 68) 石田美枝：日産婦会東京地方会報，3：1(1954).
- 69) 彦坂恭之助，梶窪秀夫，久木田和子：日産婦誌，6：152(1954).
- 70) 彦坂恭之助，梶窪秀夫，久木田和子：産と婦，21：81(1954).
- 71) 赤谷勇：産婦の世界，7：24(1955).
- 72) 安武豊志男：臨婦産，8：143(1954).
- 73) 豊島研：産婦の世界，6：17(1954).
- 74) 豊島研：日産婦誌，6：151(1954).
- 75) 豊島研，渡辺久雄：日産婦会東京地方会報，4：55(1955).
- 76) 豊島研，渡辺久雄，羽仁宮生，蓮井敬子：産婦の実際，5：322(1956).
- 77) 豊島研：臨婦産，10：347(1956).
- 78) 五十嵐正雄：日産婦誌，6：1167(1954).
- 79) 長崎康夫，三谷景一，青山巧郎：日産婦誌，11：105(1959).
- 80) 尾辻慶彦：産婦の世界，13，13：1037(1961).
- 81) Rubenstein, B. B.; Am. J. Physiol. 119：635(1937).
- 82) Barton, M. & Wiesner, B. P.; Lancet 2：633(1945).
- 83) 村上旭，小畑義：日内泌会誌，44：952(1968).
- 84) Campos da Paz, A.; 産婦の世界，7：299(1955).

Effects of 17 α -hydroxy-19-nor-pro-
gesterone Caproate on Human
Cervical Mucus (I)

Tadashi Obata, Hiroo Fujita, Itaru Ueha
and Akira Murakami

Dept. of Obst. & Gynec., Kyoto
Pref. Univ. of Med., Kyoto.

(Director: Prof. Gen-ichi Tokuda)

The purpose of this report was to present our clinical data on sperm penetration and the cyclic variations of properties of cervical mucus in women during normal menstrual cycles and cycles in which 17 α -hydroxy-19-nor-progesterone caproate was administered.

Thirty-one women without clinical evidence of pelvic diseases or abnormalities except for the obstruction of both Fallopian tubes were selected for this preliminary studies.

The cervical mucuses of these subjects were obtained from each woman every 1 or 3 days throughout pretreated and posttreated cycles. Each samples of cervical mucus were tested as follows;

- 1) Quantity; The amounts of aspirated mucus were measured in milliliters.
- 2) Spinnbarkeit; The length of the mucus thread was measured in centimeters.
- 3) Crystallization; Fern-like pattern test was evaluated in term of - to ††† indicated a negative to typical fern-like pattern.

4) Sperm penetration; The sperm penetration test was performed in vivo according to a Sims-Huhner's method.

The results after its administration were as follows;

1) In most specimens after injection of 20 mg or 5 mg 17 α -hydroxy-19-nor-progesterone caproate, the quantity generally did not exceed 0.3 ml.

2) Spinnbarkeit were almost less than 10 cm.

3) Crystalization was not typical except in a few cases.

4) Sperm penetration test revealed less than 7 sperms in each high power microscopic field in the most cases except a few cases.

BBT elevated 0.2 to 0.5°C after injection of 20 mg of this hormone and withdrawal bleeding appeared 4 to 10 days after its injection. On the other hand, BBT after injection of 5 mg of this hormone, did not elevate, or if any, elevated in minimal degrees and withdrawal bleeding did not appear in the most cases.

The length of menstrual cycle was prolonged after 20 mg but did not prolonged after 5 mg injection. In other words, if the prolongation of ovulation time occurred, the menstrual cycle also prolonged after 20 mg injection. As the results, cervical mucus increased to 0.3 ml or more, showed typical fern-like pattern and the Spinnbarkeit became 10 cm or more in a few cases. The effects of 5 mg injection on cervical mucus were not so strong.

ホルモンによる避妊

Contraception using hormone

群馬大学医学部産科婦人科学教室 (主任 松本清一教授)

玉田 太朗 松本 清一

Taro TAMADA Seiichi MATSUMOTO

Department of Obst. Gynec. School of Medicine, Gunma University

(Director: Seiichi Matsumoto)

ホルモンによる避妊法は、その確実性と acceptability によつて広く使用されるようになり現在では世界中で1,500万以上の婦人が本法を用いているものと推定されている。しかし、血栓々塞症の発生率がホルモン常用者で明らかに高いという英国の報告は、同国やアメリカで人工妊娠中絶が許可されはじめたことと相俟つて、本法の再評価が必要であることを示唆した。本稿では1955年の Pincus によるプロゲステロン内服法以来の混合法、順次法、週1回内服法、月1回内服法、ミニピルなどの歴史をふり返ると共に膣内リング法、翌朝錠など、より安全且簡便な方法の開発が行なわれている現状をのべ将来の展望をも行なつた。また避妊薬として開発されたホルモン剤が、産婦人科ホルモン療法の発展に大きく寄与していることも無視できない。最近発表された新しい薬剤も含めて現時点での、これらホルモン剤を整理し、あわせて使用上の禁忌、具体的な注意ものべた。

はじめに

最近、ホルモンによる避妊なかんづく経口避妊法が一般の話題になることが多い。このことは避妊の目的でホルモンを集団的にしかも長期にわたつて投与するというこの方法が、Pincus らによつて確立されてから、既に10年余の歴史を持つにもかかわらず、なお未解決な問題の多いことを反映している。ステロイドにより実験的あるいは治療的に排卵が抑制されることは周知の事実であつたから、経口避妊法の原理は目新しいものではなかつたが、従来の治療学的な薬の概念から離れて、プロゲステロンを健康人に集団的に長期投与するというところにこそ、Pincus らの独創性と決断性がみられるのであろうが、しかし同時に、このような薬の使用法は、効果、副作用および耐容性などの点で治療薬以上にきびしい規準での批判を受けることになる。このような薬は、薬というより一種の食品としての性格を持つことになり社会的に及ぼす影響も非常に大きいからである。

経口避妊薬の使用は、わが国ではなお公的に許可され

ていない。しかし世界の情勢を見ると、その使用者は年々増加し、現在では、1500万人を超えているものと推定される。これは爆発的な人口増加という人類の危機に対して、経口避妊薬が理想的ではないまでも、確実性や使用の容易さなどの特徴から、避妊法としてすでに確固たる地位をしめたことを示している。また一方続々と新しい製剤が開発され、それが大規模に人類に適用されることから得られるデータは、人の生殖生理学の研究上きわめて興味ある貴重な多くの知見を与えつつある。

さらに経口避妊薬研究の進歩とともに、私共婦人科医は、月経異常・機能性出血・子宮内膜炎などに対する新しいすぐれた薬を持つようになった。実地臨床を行なう場合、これらの薬の特性を十分吟味、理解した上で適当に撰択する必要があり、その点についても簡単にふれたい。

ホルモンによる避妊の歴史と展望

表1に示したように、Pincus が「妊娠中に再び妊娠することはない」というアイデアにもとづき、しかも昔

表 1 ホルモンによる避妊の歴史と展望

●天然プロゲステロン内服法	Pincus(1955)
○混合内服法(エストロゲン合成プロゲステロン)	Pincus & Rock (1956)
○順次内服法(エストロゲンエストロゲン合成プロゲステロン)	Goldzieher(1963)
●エストロゲン単独内服法	Aronet(1969)
○低量混合内服法	
●“ミニ・ピル”	Martinez-Manautou ら(1966)
△週 1 回内服法	Anasari ら(1969)
●月 1 回内服法	Greenblatt (1967)
△月 1 回注射法	Taymar ら(1964)
△3 月 1 回注射法	Zanartu ら(1968)
	Soichet(1969)
△腔内リング法	Mishell ら(1969)
△皮下移植法	Tatum(1969)
△翌朝錠	U-11555 A U-11100 A ORF 3858
○市販されているもの	●Field Trial の行なわれているもの
	△人における効果が検討済みあるいは検討中のもの

から実験的には排卵を抑制することが知られているプロゲステロンに目をつけ、正常人に対して天然のプロゲステロンを1日 300mg ずつ、月経周期の第5日から第25日まで毎日経口投与すると排卵が抑制され、月経は投与中止後2~3日で発来することを認め、従つてこの方法で内服薬による避妊を行なうことができることを、昭和30年東京で開かれた「家族計画に対する第5回国際会議」で発表した。この研究はわが国でも、直ちに研究班が作られて臨床的に追試され、1957年にその成績が発表された。その結果を要約すると、プロゲステロンを 300mg ずつ毎日経口投与すると大体排卵を抑制することができ、副作用も大したことはなく、投与を中止すれば直ちに卵巣機能が回復して、排卵性の周期が起ることが認められるので、この方法は避妊法として応用し得る方法と考えられるということであつた。しかし当時治療に用いられていた黄体ホルモンの量とくらべ 300mg 連日というのは途方もない大量であり、ことに費用の点で実用は不可能であると結論されている。天然のプロゲステロンは内服すると肝臓でこわされるので十分効果を發揮させるには、1日 300mg という大量を用いなければならなかつたのであるが、一方1954年頃から内服でも少量で強い黄体ホルモン作用を發揮するいくつかの新しいホルモンが発見され合成されて臨床的に用いられるようになってきた。そこで Pincus らはこれらのホルモンを用い、1日10mg の内服で排卵が抑制されることを報告、更にプエルトリコの婦人で大規模な集団投与を行ない、この方法が有効な避妊法になることを認めた。その後、合成

プロゲステロンに少量のエストロゲンを加えて同時投与すると、服用中の破綻出血の頻度がへり、消褪出血も規則的に起ることがわかり、いわゆる、Pincus 方式として、プロゲステロンとエストロゲンの合剤を月経周期第5日より20ないし21日間内服させる混合内服法が確立された。

混合内服法でも排卵を抑制する作用は、その中のエストロゲン含量に密接な関係があるのではないかと考えられていたのであるが、1963年になつて Goldzieher が20日間のうち、はじめの15日間はエストロゲン剤を単独で内服させ、最後の5日間だけそれに合成プロゲステロンを加えても排卵が抑制でき、規則的な消褪出血を起すことができる。また避妊効果もすぐれているということから、順次内服法 (Sequential method) を発表した。表1の左端につけた白丸は現在市販され公的に許可されている使用法であるが、混合内服法 (減量法も含む) と、この順次内服法が、現在使用されている2大方法となつている。

ちなみに新薬の開発に当つては、動物実験がすんだ後、人においてまず毒性が検討される。この第1段階のテストを通過すると、小人数の患者を対象に、臨床的効果が検討される。この段階で動物実験の結果から期待されていた通りの効果がみられることもあるが、人では無効であつたり、あるいはクロミフェンの例のように、動物では避妊効果があつたものが人では排卵誘発効果があるというような場合もある。表1で△印をつけたものが、この第2段のテスト中あるいはテストを終えたものであつて、結果は後にのべるように期待通りであつたり無効であつたりする。この段階で用量、用法が決定される。次に避妊薬の場合には、集団長期投与により最終的に効果が評価される。たとえば12週期以上の長期使用が100以上、総のべ周期は最低2000周期を必要とする(経口避妊薬の製造承認申請書に添付を必要とする資料)。

この観点から表1をみると、将来の発展あるいは展望という意味からは●印あるいは△印のなかにいくつか期待されるものがある。その第1は“ミニ・ピル”である。従来の内服法でも合成プロゲステロンの量ははじめ Pincus のさだめた10mg から5mg、2mg というふうには減少させても有効であるということで1錠中の含量の少ないものが市販されているが、ここではこれは低量混合内服法という分類に入れたので、ここで“ミニ・ピル”というのは、0.5mg 程度のプロゲステロン(主として chlormadinone acetate) を連続的に投与し続けると排卵は抑制されないのに避妊効果があるという南米学派的な新しい考えにもとづいた少量持続投与法を意味する。これは経口避妊薬の発達上、上述した混合法、順次法につぐ新しい発見といえよう。とくに教育程度の低い国で

は、カレンダーを使わないで生活している人もあつて1月20日服用すらすらむずかしい。そんな人のためにこの方法は要するに連続して一つの薬を飲めばよいのであるから、きわめて受け入れられやすい方法といえる。この方法の避妊効果は、100女性、年につき、2~3という数字がでている。またある研究では50%の婦人に排卵が起つてることが確認されている。いわゆる副作用もきわめて少ないが、最大の欠点は月経周期が異常になつたり、中間期出血や破綻出血が多いということで、この点を補正するために月経周期中のある期間だけエストロゲンを併用すれば、月経周期を整順にするのは容易であるが、そのため服用法が複雑になり本法本来の長所が失なわれるという矛盾におちいる。

週1回内服法あるいは月1回内服法も、上述した諸方法とやや異なる原理にもとづいている。すなわち、Quinestrol という新しい長期間有効なエストロゲンの誘導体を内服して、避妊する方法である。Greenblattはこのエストロゲン剤と短期間働らくプロゲステン(chlormadinone, dydrogesterone, その他)を月経周期25日に1回内服させると、数日後消褪出血が起る。そして次周期の妊娠は長期間作用するエストロゲンのため防止することができるという原理による月1回投与法を発表した。その他の方法のうち、一寸変つているのが膈内リング法であるが、これは Medroxyprogesteron をシリコンでリング状に固めたものをペッサリーのよう患者が自分で膈内に挿入する方法である。そうするとプロ

ゲステンは少量ずつ持続的に膈粘膜から吸収される。期間をきめておいて、リングを取り除くと消褪出血が起り、月経周期も調節できるという方法である。

月1回あるいは3月1回注射法においては、前者では Deladroxate が後者では Medroxyprogesterone が主に用いられる。欠点として内服法でないこと、前者では不正出血が起りやすいこと、後者では、注射終了後、卵巣機能が正常に回復するのに長期間(3~6カ月)必要なことなどがあげられよう。

最後に翌朝錠(morning after pill)あるいは事後錠(mating after pill)というのが盛んに研究されつつある。その例としてここに3例あげた。いずれも動物実験では着床障害を起すことが期待されていたものであるが、人ではなかなか期待通りに作用しないようである。たとえば ORF-3858 についての私共の経験によると、これを婦人に連日ないし3日に1度程度投与すると避妊効果が認められるが、同時に殆んど例で排卵が抑制された。本剤は動物でエストロゲン活性の強いことが知られており、人での避妊機序もエストロゲン活性による抗排卵作用ではないかと推定され、排卵がありながら避妊効果があるという量は現在迄まだ確定するに至らない。私共の知る限りでは、現在有効な翌朝錠はまだないようであるが、もしこのような薬剤で有効なものができれば、その作用機序は局所に限局されたものになるはずであり、全身的障害という点からみても、あるいは利用法が簡便であるという点からも、理想的な経口避妊薬になる

表 2 各国における経口避妊薬の推定使用者数

国名	推定使用者 (単位万)	国名	推定使用者 (単位万)
アメリカ	500~550	バキスタン	3.5
カナダ	45~55	インド	3.5
全北米	545~605	タイ	1.9
ブラジル	64.6	ホンコン	1~3
アルゼンチン	26	韓国	1
メキシコ	17	その他	9.4
その他	77.4	全アジア	40
全ラテンアメリカ	185	エジプト	20
イギリス	41.5~55	トルコ	4.5
ヨーロッパ	39~75	イラン	1.5
オーストラリア	46.5~48	イラク	1.3
ニュージーランド	13	その他	17.7
日本	9	全中近東	45
シンガポール	6	アフリカ	10
マレーシャ	3.7	合計	965~1,076

表 3 経口避妊の効果

報告者	実験場所その他	例数	投与周期数	100 婦人年に対する失敗率
Pincus	プエルトリコ, ハイチ	1,500	25,421	1.7
Goldzieher	サンアントニオ(米国)	210	12,147	0.0
Rice-Wray	メキシコ	5,379	37,463	0.52
Mears	英国	1,913	20,000	0.74
Goldzieher	米国, 順次投与法	6,070	82,085	1.3
植田	日本全国の集計(1962)	778	3,494	0.34
小林	内分泌委員会集計(1966)混合法	1,328	14,461	0.0
	〃 順次法	185	1,314	0.0
松本	日本全国の集計(1967)混合法	2,170	26,213	0.40
	〃 順次法	867	7,667	0.68

可能性があると期待される。

使用者数

表 2 に経口避妊薬使用者数の推定数を示した。このような薬は大衆に受け入れられることがまず重要であるが、この統計は受け入れられ易さを物語るものといふことができる。これは1966年の推定であるが、1968年に米国だけで800万の服用者があると推定されている。

この表によると発展途上国だけでなく、オーストラリアとかイギリスなど先進国でも普及している方法であることがわかる。オーストラリアは土地・資源からみて世界中でも最も人口密度が少ない、人手不足のところであるのに、このような多くの経口避妊薬使用者がおり、避妊ということが先進国では個人的な動機から行なわれるものであることを示唆するといえよう。

効果

経口避妊法の効果率を表 3 に示した。また表 4 には他の避妊法による失敗率との比較を示した。この 2 つの表は、本法が効果の点で、他の方法にくらべ断然すぐれていることを示しており、この確実性が本法の一大特徴で

表 4 他の避妊法との効果の比較 (100人, 年)

コンドーム	7.5~28.3
ベッサリー	7.2~33.6
錠剤	11.9~42.8
ゼリー	7.8~40.6
子宮内器具	1.6~ 6.8
混合法	0.1*
順次法	0.5*

* Segal ら, 1969

あり、失敗が許されない国において、また完全な避妊法を求める婦人により、経口避妊法が選ばれる理由である。順次法が混合法にくらべ、やや成績が劣ることも一般的に認められている所であるが、両法の避妊機序が異なることを示唆するデータであると思われる。この点に

ついては作用機序の項でふれる。

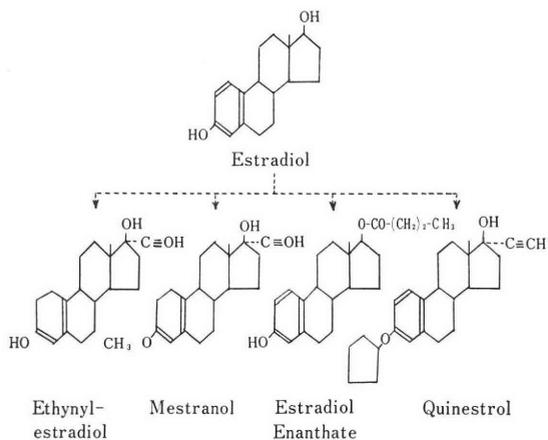
使用されている薬剤およびその選択

混合投与では20~21日間同じ錠剤(プロゲステン, エストロゲン混合剤)を服用させる。臨床的研究の段階にあるものを含めて、現在10種類のプロゲステンと4種類のエストロゲンが用いられており(図1)、製剤の種類は30種類にも上る。わが国で市販されているものを表5に示した。順次投与法では、はじめ15~16日間エストロゲンだけの錠剤を使用させ、続いて5日間プロゲステンとエストロゲンとの混合剤を服用させるのが基本的な方法であるが、後述するようにエストロゲンに対し感受性の高い婦人では、この方式ではエストロゲン過剰になるというので、プロゲステン・エストロゲン合剤を投与する日数をふやしたり、服用しない期間があると却つて飲み間違いや飲み忘れが多いというのでその期間だけ偽錠を与える方法などがある。これらを含めると順次投与法の製剤は数種類にのぼる(図2)。

経口避妊薬に用いられているプロゲステンは、大別して17-OH-Progesteron(17-OH-P と略)の誘導体と Testosterone (T と略)(大部分が19-Nor-testosterone)の誘導体とに分けられる。これらの生物学的作用をみると、下垂体ゴナドトロピン抑制作用は、19-Nor-T 誘導体に強く、17-OH-P 誘導体には弱いかほとんど無い。胎児男性化作用は Norethynodrel を除く 19-Nor-T 誘導体が強く、17-OH-P 誘導体にはない。Norethynodrel および Dimethisterone を除き、エストロゲン作用に拮抗する作用がある。また Norethindrone および Norethynodrel は化学的に近い関係にあるエストロゲンに身体内で変化することが知られている。

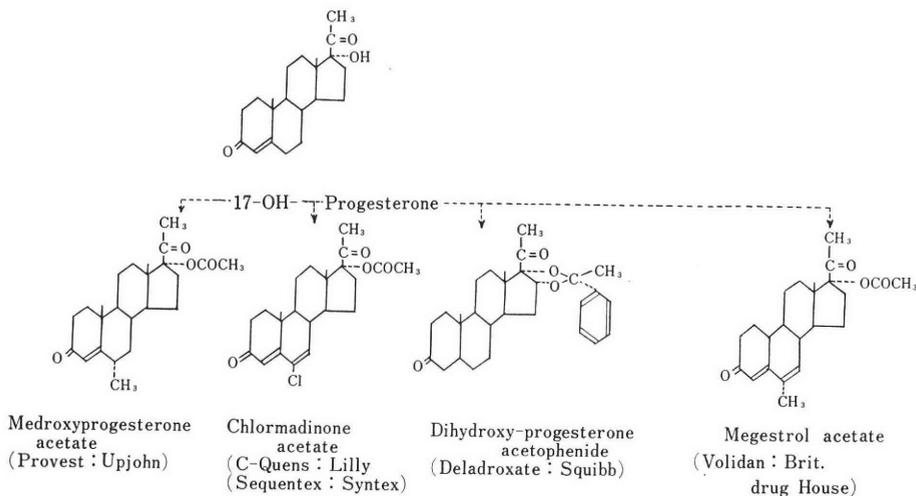
このように製剤に含まれている合成プロゲステン自身に質的な相異があるし、抗エストロゲン作用にも差があるので、単に一錠中のプロゲステンとエストロゲンの量

I. エストロゲン



II. プロゲステロン (含有する製剤, 会社名)

(a) 17-OH-Progesterone 誘導体



(b) Testosterone 誘導体

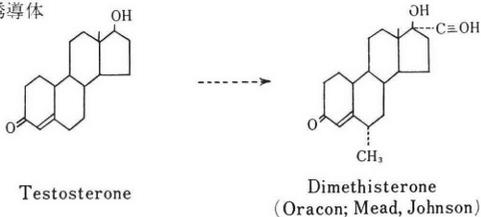


図1 避妊に應用されているホルモン剤

ストロゲン作用とプロゲステロン作用のバランスがとれた薬剤の3群に分けることができるが、その関係を市販製剤について示したものが表6である。

製剤の種類により総合作用が異なるのと同時に、患者個人のエストロゲンならびにプロゲステロンに対する感受性および内因性エストロゲンおよびプロゲステロンの量により、反応が異なるので、個々の患者について作用および副作用を検討し、製剤を変えることが必要である。最近 Dickey & Dorr は経口避妊薬を服用している300人の患者を、製剤の種類を変えたりしながら長期間観察し、各製剤のエストロゲン作用およびプロゲステロン作用を評価すると共に、各ステロイドの過剰ならびに欠乏の症状を以下のようにまとめている。

エストロゲン過剰：はきけ、頭痛、浮腫、下腿けいれん、めまい、白帯下増加、筋腫の増大、肝斑、子宮のけ

的比率だけではある製剤の総合作用は推測できないから、各種の製剤が持つあらゆる作用をその強さをよく吟味した上で適当に使分けなければならない。

製剤を大ざっぱに、1) エストロゲン作用を強く現わす薬剤、2) プロゲステロン作用が特に強い薬剤、3) エ

いれん様疼痛(すなわち胃腸症状・水分貯溜とエストロゲン標的器官に現われる症状を主体としあたかも早期妊娠、月経前症候群に現われる症状に似る)。

エストロゲン欠乏：神経質、いらいら、顔のほてり、子宮脱、膣モニリア、周期の早期から中期にかけての破

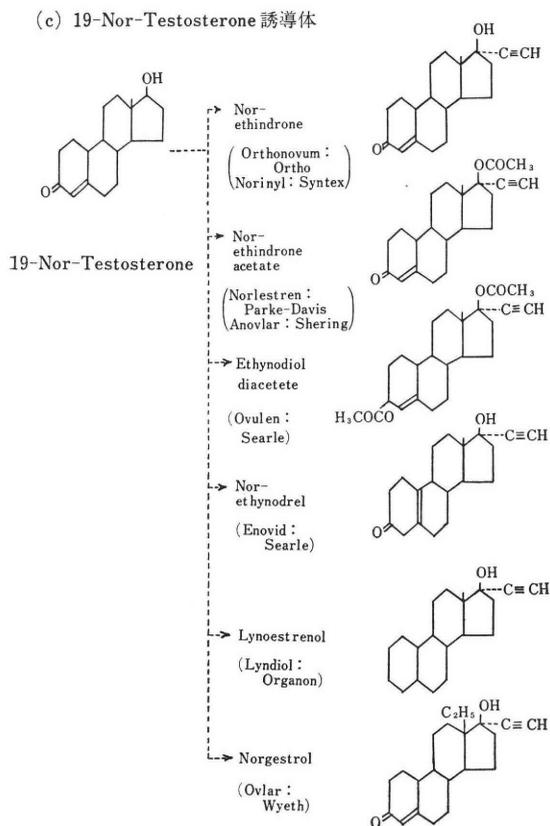


図 1 避妊に应用されているホルモン剤

黄疸, 月経日数減少, アレルギー性発疹 (すなわち妊娠中の症状に似る)。

プロゲステン欠乏: 周期後期の破綻出血, 過多月経, 稀発月経, irregular sheeding など。

この症状と, 表 6 に示した各薬剤の特徴とから薬剤を撰択する指標が得られるであろうが, 臨床的に経験されるように, エストロゲン過剰の症状の中には投与早期にのみ現われ漸次消失するものもあるので, ある薬剤を評価するには 3 ないし 6 週期の投与が必要である。

併 発 症

経口避妊薬は排卵という生理的な現象を抑えて, 非生理的な状態を作るものであるし, また投与されたホルモン自身も身体の諸所におそらくいろいろな複雑な影響を与える。いわば全身の変調を人工的に起させていることになるので, これを殊に長期間続けて投与した場合には, 種々有害な影響が起こる可能性がある。これまで広汎な多くの研究が行なわれているが, ここでは最近問題になった血栓症および頸癌の問題をとり上げるに止めた。

1962年英国で経口避妊薬を服用している婦人に, 血栓静脈炎の発生を見たと報告されて以来, 同様の報告が相次ぎ, 中には肺栓塞を起こして死亡した婦人もあつたため, 重大な障害として重要視された。しかし血栓症は欧米の婦人ではそう珍らしくない病気であり, アメリカ食糧薬剤局 (FDA) が1963年統計的調査を行なつた結果で

表 5 現在利用できる製剤

製 剤 名 (会社)	プロゲステン (mg)	エストロゲン (mg)
Ovulen (大日本)	Ethinodiol diacetate 1.0	Mestranol 0.1
エナビット (大日本)	Norethynodrel 10	Mestranol 0.15
	5	0.075
	2.5	0.1
Lyndiol (三共)	Lynoestrenol 5	Mestranol 0.15
Lyndiol 2.5 (三共)	2.5	0.075
プロベスト (日本アプジョン)	Medroxy progesterone acetate 10	Ethinylestradiol 0.05
ポリダン (山ノ内)	Megestrol acetate 4	Ethinylestradiol 0.05
ソフィア (帝国臓器)	Norethindrone 10	Mestranol 0.06
(シオノギ)	2	0.10
Anovlar } (シェーリング)	Norethindrone acetate 4	Ethinylestradiol 0.05
Gynovlar }	3	0.05
S-3800 C (シオノギ)	2.5	0.05
シークエンス (エイザイ)*	Chlormadinone acetate 2.0	Mestranol 0.08
S-3850 (シオノギ)		
ソフィア C (帝国臓器)		

* 順次投与法

綻出血, 無月経, 月経血量の減少 (すなわち閉経期, 月経直前, 妊娠後期に現われる症状に似る)。

プロゲステン過剰: 食欲増進, 体重増加, 疲れ易さ, 憂うつ, 性欲減退, にきび, 頭皮脂症, 多毛, うつ滞性

は, 経口避妊薬の使用で血栓性栓塞症によつて死亡する危険性が著明に増加していないと結論された。

しかし, 1967年以後イギリスの3つのグループとアメリカの Sartwell らにより, 有意な危険性を示唆する統

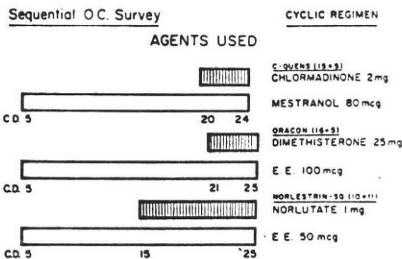


Figure 1.

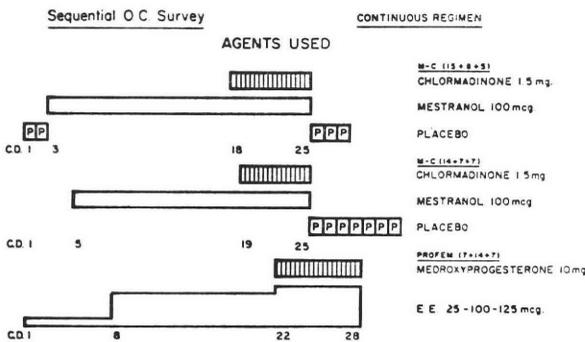


Figure 2.

図 2

表 6 Clinical Potency of Oral Contraceptives in Order of Relative Effect in Patients

	Estrogenic potency (fluid retention)	Progestational potency (effect on menses)
High	Oracon* C-Quens* Ortho-Sq : Norquen* Norlestrin-2.5	Norlestrin-2.5 Norinyl-2 : Ortho-Novum
Intermediate	Enovid-E Norlestrin-1	Ovulen Norlestrin-1
Low	Ovulen Norinyl : Ortho-Novum-2	Ortho-Novum-1 : Norinyl Enovid-E
Vey low	Ortho-Novum : Norinyl-1 Provest	Provest Norquen : Ortho-Sq* C-Quens* Oracon*

* Sequential.
Dickey & Dorr (1969) より

計(表7)が発表されるに及び再び経口避妊薬と血栓性疾患の関係が重大視されることになった。表7に示したいずれの統計も年齢、結婚歴、妊娠分娩歴、職業、生活程度などで対応する注意深い対照群がとられている。表7の①は29人の医師のグループが一定期間に見た静脈血栓症の患者について、②はロンドンの19の総合病院に1964年

表 7 血栓性疾患

① Royal College of General Practitioners (英, 1967)	OCs 服用者	
	人	(%)
静脈血栓症	97	16.5
対 照	194	6.7
② The Medical Research Council (英, 1968)		
静脈血栓症	84	50
肺 栓 塞	42	
対 照	168	13.7
③ Committee on Safety of Drugs (英, 1968)		
肺 栓 塞	36	58.3
脳 血 栓	21	
対 照	175	15.8
④ Sartwell ら (米, 1968)		
静脈血栓症	175	38.3
肺・脳血栓	67	
対 照	175	13.1

から1968年の間に静脈血栓症・肺栓塞で入院した患者について、③は1966年中に肺栓塞・脳血栓で死亡した生殖年齢の女性について、④はアメリカの5大市の生殖年齢の女性について、血栓性静脈炎、肺栓塞、脳血栓性疾患で入院して生きて退院した15~44歳の女性についての統計である。Committee on Safety of Drug の統計によれば、これら疾患による死亡率は、対照群にくらべ経口避妊薬使用者で約7倍高いことになり、また他の統計を通じて、血栓性疾患に罹患する率も3~6倍高いという結果

が得られた。これらの統計にもとづくイギリスでの推計によると、経口避妊薬を服用しているため血栓栓塞症で死亡する人の数は1年に10万につき3人となる。15~44歳の婦人の死亡率は10万につきほぼ100人である。一方非合法中絶を除いて、妊娠分娩による死亡率は出生10万につき25である。参考迄に日本では出産10万につき1967年に65であった。

血栓栓塞症が増加する機序はまだ明らかでない。血液の凝固因子に及ぼす影響については、まったく影響を認めないものもあるが、ある種の凝固因子の作用が高まることを認めているものもある。私どもも服用者では第7因子活性が妊娠中や産褥時と同様に昂進することを認めたが、これだけで血栓症が起り易くなるとはいえない。最近イギリスの上記委員会ではエストロゲンを50 μ g以上常用すると、静脈血栓症を起こす疑いがあるので少量の含有薬を処方するよう医師に勧告したがエストロゲンの量的な問題とだけすることに対する反論もある。

いずれにせよ、以前血栓症を患った婦人や静脈瘤のある婦人、それらが妊娠中増悪する婦人への経口避妊薬投与はさけ、投与中急性肺症状腸症状の発現には注意しなければならぬ。冠動脈栓塞症との関連は、上述した統計では否定されている。

エストロゲンは癌の発生を促すことが、動物実験で認められているので、エストロゲンの長期投与で、子宮癌や乳癌が起り易くなるという心配がある。子宮癌の発生率を経口避妊薬服用群と対照群と比較する時には、両群に含まれる症例の年齢、分娩歴、宗教、収入などのほか、初性交の年齢、性交の頻度、関係した相手の男の数、などがすべて対応したものを選ぶ必要があるが、そのような完全な統計で、癌発生率の増加を報告したものは、現在迄見当らない。

しかし人における癌誘発因子の作用は、遷延性であることが知られているから、経口避妊薬の場合にも更に長期にわたる観察が必要であろう。

避妊の機序

表8にまとめた。順次内服法では周期の前半期には、エストロゲンが単独で投与されているので、避妊の機序は排卵抑制、それも脳下垂体からのFSH分泌を抑制するためと考える研究者が多い。エストロゲンの抑制作用は、FSHに対して早期にしかも常に現われる。これに対し卵巣の組織所見から、或程度の卵胞発育がみられるからFSHに対する抑制作用よりもLHに対する抑制作用を重要視する人もある。LHに対しては、エストロゲンが排卵時ピークを抑制するとする説と、比較的高いレベルで周期を変動するというデータがあるが、いずれ

表 8 避妊の機序

排卵抑制	エストロゲン単独
ESH ↓ LH ↓ FSH ↓ LH ↑	順次内服法
排卵抑制 > 附加的機序*	混合内服法
排卵抑制 < 附加的機序*	同上 減量法
排卵(+) 精子上昇阻止	"ミニ・ピル"
受精または着床阻害	翌朝錠

* 1) 頸管粘液の減少, 粘稠化, 精子不親和性
 2) 非生理的子宮内膜
 3) 卵の輸送の異常
 4) 精子の Capacitation の阻害
 5) その他

にせよ、正常周期の分泌パターンとは著るしく異つており、排卵抑制に一役買っているものと思われる。

これに対し混合内服法では、主たる機序は排卵抑制であろうが、その他に副次的な抗妊孕作用があるものと思われる。この根拠として、避妊失敗率が低いものに対して排卵が起きている例の率が高いこと(たとえば6.8%)、順次投与法にくらべ薬を飲み忘れた場合でも失敗率が低いこと、頸管粘液の減量、粘稠性増加、精子不親和性などが証明されていることなどがあげられる。

これに対し"ミニ・ピル"であるchlormadinone 0.5mg 継続投与では、排卵が50%以上で抑制されていないので、排卵以外の因子の重要性が増すわけであるが、性交後頸管粘液検査法や卵管に精子が証明できないことなどからみて、精子の上昇阻止や受精の障害などがかなり大きい比重を持つものと考えられている。

翌朝錠は前にも述べたように、現在なお実用的な薬剤がないわけであるが、投与のタイミングから考え、作用機序としては受精または着床阻害ということが前提となるらう。

おわりに

経口避妊薬の歴史と展望をのべた。全身的障害を及ぼす可能性のよりすくない薬剤、投与法の完成が期待される。

現状では、経口避妊は有効度が非常に高いから、コンドームやペッサリーのような機械的な方法ではよく失敗する。あるいはこういう方法が行ない得ない夫婦で、殊に妊娠し易いものには最も適した方法といえよう。月経不順なため他の避妊法が失敗し易い人にも適している。

健康な成熟婦人なら服用させてならない場合はない。しかし副作用の頻度や服用中の臨床検査データから現在または既往に肝疾患にかかったもの、静脈瘤があると血栓症の既往のあるもの、しかもこれらが妊娠時に増悪するもの、甲状腺機能亢進症、Cushing 症候群、糖尿病などの内分泌疾患のあるものなどに服用させること

は禁忌である。結核、高血圧症、心疾患、腎疾患、偏頭痛、テンカン、ある種の精神病、乳癌、子宮癌、子宮筋腫なども比較的禁忌とするべきである。

生理的に成熟しない少女に投与することは、性機能の完成以前に性ステロイドホルモンを長期間投与するとその発達に重大な影響を及ぼすおそれがあるので控えるべきである。更年期の婦人に投与することは差支えない。分娩後に避妊を行ないたい場合にも適当な方法である。

経口避妊法は、非常に有効な方法であるが既に明らかにされた副作用の他に、長期投与により種々の悪影響が身体に起こる可能性がないとはいえないので今後共慎重な研究が必要である。

このような点から、経口避妊薬を使用する場合には必ず予め医師の健康診断によって服用に適するかを調べ、医師の処方によつて服用させ、しかも必ず定期的に診察を受けさせてよく監視することが必要である。投与前の検査としては、1) 婦人科的既往歴 ことに月経歴の他、アレルギー性疾患、肝障害、血栓症浮腫などについて非妊時および妊娠時の状態を訊く必要がある。2) 内診、膣鏡診、乳房の検査、体重測定などを行なう。投与

中は3月ないし半年ごとに検査をするが、この検査には上述の診察の他に、肝機能検査、血液学的検査、膣スミア(パパニコロー)、必要に応じて諸種内分泌機能検査を行なう。

これは、Harvard 大学 Dr. Kistner を迎え、日産婦東京地方部会ならびに東京母性保護医協会会員に行なつた講演(昭和45年2月14日)の要旨である。

Contraception using hormone

Seiichi Matsumoto and Taro Tamada

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Gunma University.

Contraception by means of progestins and estrogens has widely used in virtue of its absolutely high effectiveness. High incidence of the thromboembolism among the users, which seems now to have been proven statistically, however, is urging us to reevaluate this method. In this paper the history and development of the method was thoroughly reviewed and evaluated and promising improvements in the future was foreseen.

不妊婦人における子宮頸管および子宮峡部の 形態に関するレ線学的研究

The Radiographic Appearance of the Uterine Cervix and Isthmus of Sterile Women

岡山大学医学部産婦人科教室 (主任 橋本清教授)

田中良憲 升本敬一

Yoshinori TANAKA Keiichi MASUMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyoshi Hashimoto)

Asplund (1951) は子宮頸部及び峡部のレ線像の臨床的意義について報告しているが、其の後これに関する研究は極めて少ない。我々は不妊婦人の子宮卵管造影写真の内、頸管像の明らかな369例について観察を行ない、次の結果を得た。不妊婦人の頸管の形態は紡錘型、円柱型、西洋梨型、球型に分類し得るが臨床的意義に乏しい。それに反し子宮峡部の異常像として縦走粘膜ヒダ、不規則屈曲、ダクトやフィステルに注目すると、此等は不妊症の約18%に出現するが、特に不規則屈曲、ダクトやフィステルは卵管閉鎖例に多い事から、峡部像の異常と不妊要因との関係の存在が想像された。子宮卵管造影に於いて峡部に上記の異常を認めた時は卵管の疎通性に特に気をつける必要がある。

習慣性流産の原因として頸管不全症が注目されて以来、子宮卵管造影術に際し頸管の形態も卵管、子宮腔と同時に観察の対象となつて来たが、単に内子宮口の広狭のみに主点がおかれ、頸管全体の形態やフィルム上の微細構造には殆んど考慮が払われていない。既に Asplund¹⁾は従来の報告を参考とし乍ら、造影上の所見から正常頸管は巨視的形態として、紡錘型 (spindle)、西洋梨型 (pear)、球型 (ball) の3型に分類され、更に其の辺縁は粘膜の palmate fold (第1図に見られる如きヒダ) が明らかで鋸歯状を呈するものと、それが不明瞭で平滑なものとの2型に分けられる事を指摘している。又正常子宮峡部に就いては円柱型、逆円錐型、球型、細長型に分類しているが、頸管、峡部共に其の形態の持つ臨床上の意義に関しては殆んど言及していない。

Asplund は又異常所見として、頸管では著るしい拡大、不規則な屈曲、著るしい鋸歯状辺縁を持つやや不規則屈曲、ポリープ、頸管腺の造影等を、峡部では縦走する粘膜シワ (第2図に認められる)、フィステル、導管 (duct) (第3図)、不規則屈曲 (第4図) 等を挙げ、その一部は頸部、峡部の炎症に由来する事を述べている

が、他の臨床所見との関連については余り触れていない。

彼の報告は子宮卵管造影の解釈に際して等閑にされていた頸管、峡部の形態に意義を与えた点で極めて興味があるが、其の後内外共にこれに関する報告は少なく、本邦では吉田等²⁾が触れているに過ぎない。我々は多数の造影所見を検討した結果、Asplund の言う如き様々の型が存在する事を確認し、次いで其等と2、3の臨床上の要点とを対比したので報告する。

対象および方法

岡大産婦人科不妊外来を訪れた習慣性流産を除く挙子希望例の増殖期に岡大式又は吸引装着式注入器を用いてエンドグラフィン10ccを注入し、通常の条件による子宮卵管造影術を行ない、その内頸管が造影されている396例に就いて次の観察を行なった。但し頸管形態は、紡錘、円柱、西洋梨、球型、造影不明瞭の5型に、辺縁は鋸歯状、平滑、不明瞭の3型に分類し、峡部の異常としては縦走粘膜ヒダ、ダクト及びフィステル、不規則屈曲の3点を取りあげ、子宮腔部ビラン、フナーテス



図1 palmate fold (粘膜のヒダ) が著明な紡錘型頸管

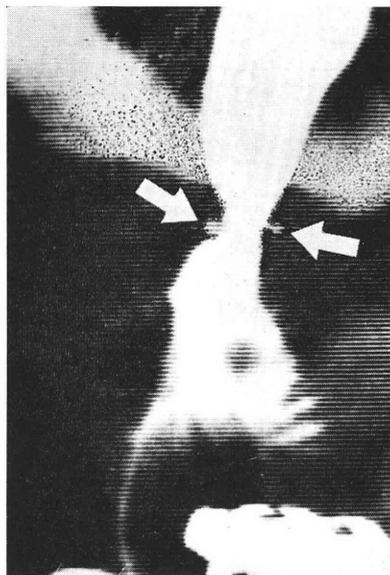


図3 子宮峡部の duct

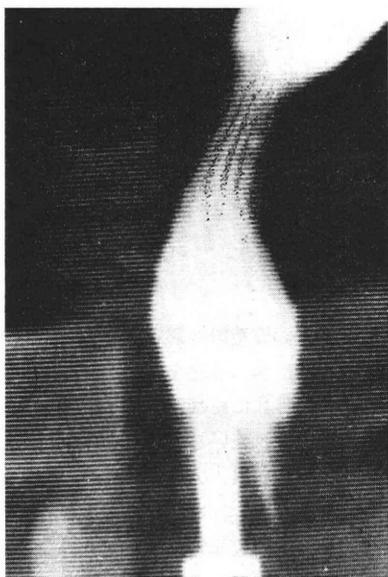


図2 子宮峡部の縦走粘膜シワ

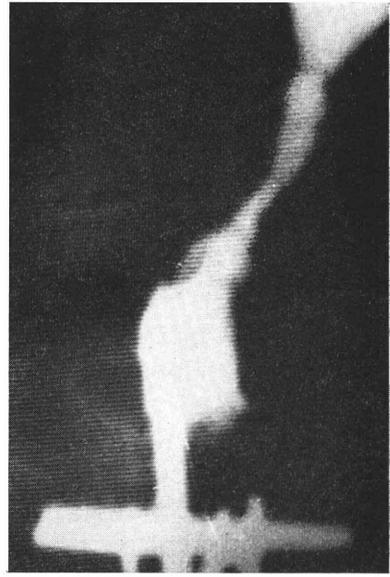


図4 子宮峡部の不規則屈曲

ト、頸管粘液、卵管疎通性等との関係を求めた。尚頸管の広狭に関しては今回は割愛した。

結 果

1. 子宮腔部ビランの有無と頸管像

第5図の如く、形態では紡錘型が圧倒的に多く、円柱型、西洋梨型が其れに次ぎ、辺縁は鋸歯型と平滑型が同数であった。その各々は腔部ビランの有無とは関係がなかった。

2. フーナーテストと頸管像

第6図の如く、フーナーテストの陽性率は頸管形態、その大小、辺縁像とは無関係の様に思われた。

3. 頸管粘液量と頸管像

第7図に示す如く、排卵期の頸管粘液が0.3cc 以上のものと未満のものに分けてみたが、頸管形態、頸管の大きさ、辺縁像共に関係は無かった。

4. 子宮腔部ビランの有無と峡部像の異常

第8図に示す如く、縦走粘膜ヒダはビランの存在する

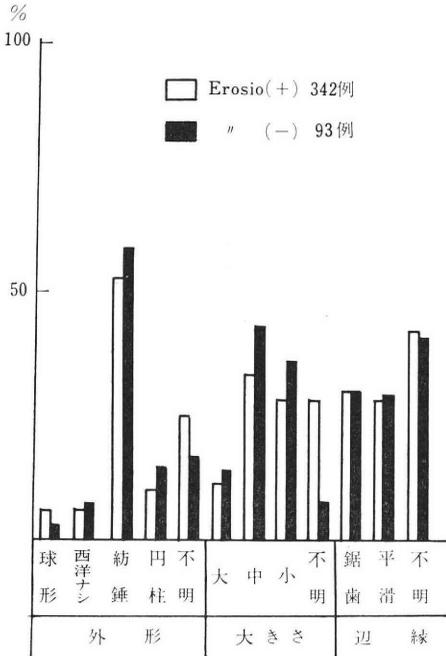


図 5 膣部ビランと頸管像

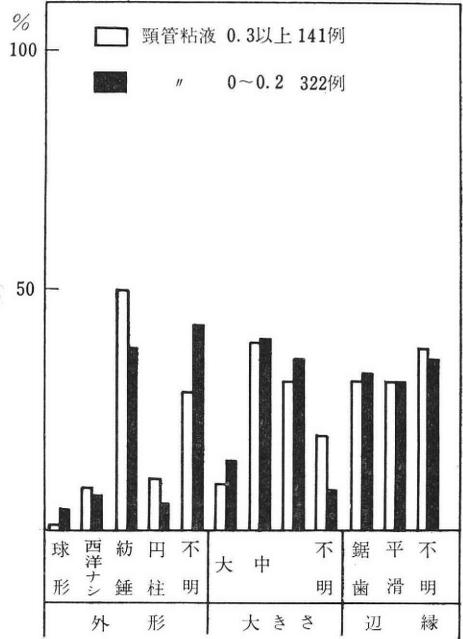


図 7 頸管粘液と頸管像

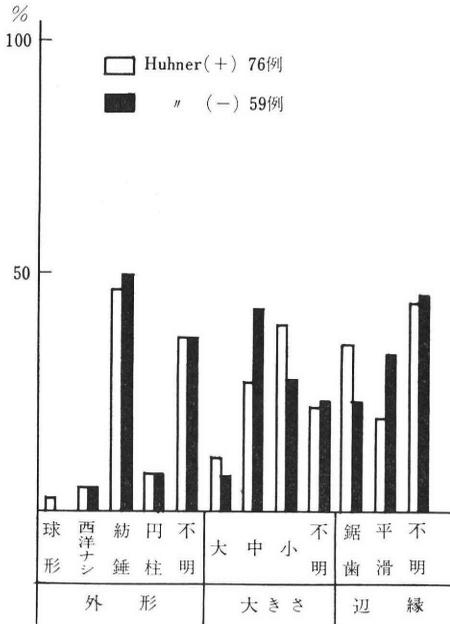


図 6 Huhner Test と頸管像

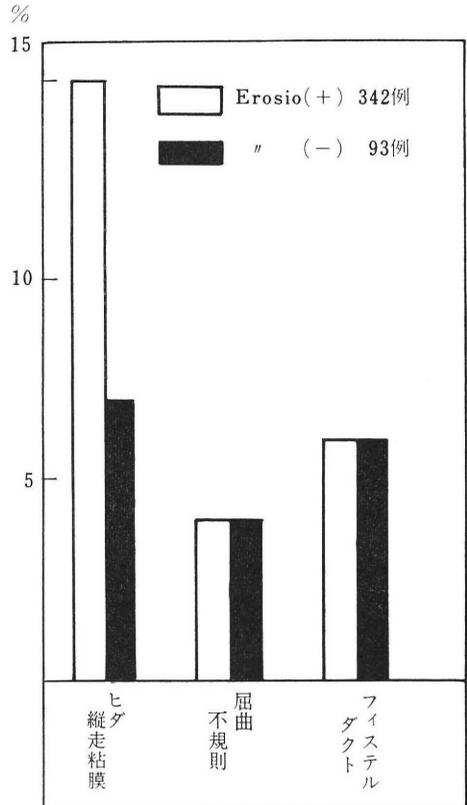


図 8 膣部ビランと子宮峽部異常

群に著明に多かつたが、不規則屈曲、ダクトやフィステルとビランとは無関係であつた。

5. 卵管疎通性と峽部像異常

第 1 表に示す如く 356 例中のべ 62 例 (18%) に上記の異常峽部像の何れかが認められた。此れを卵管疎通性の

表 1 卵管疏通性と峡部異常

	例数	縦走粘 膜ヒダ	不規則	ダクトフ ィステル	計
開放	202 100%	19 10%	5 3%	5 3%	29 16%
開放? 閉鎖?	88 100%	5 6%	5 6%	7 8%	17 20%
閉鎖	66 100%	7 11%	4 6%	5 8%	16 25%
計	356 100%	31 9%	14 4%	17 5%	62 18%

表 2 卵管疏通性と子宮峡部異常—未妊妊別

	未妊婦				妊婦				計	
	例 数	l. m. f.	不 規 則	ダ ク ト フ ィ ス テ ル	例 数	l. m. f.	不 規 則	ダ ク ト フ ィ ス テ ル		
開放	143	10	0	4	14	59	9	5	1	15
開放? 閉鎖?	55	1	4	1	6	33	4	1	6	11
閉鎖	47	6	1	3	10	19	1	3	2	6
計	245	17	5	8	30	111	14	9	9	32

l. m. f. は縦走する粘膜炎の略

表 3 頸管と子宮峡部異常

Isth.	例数	l. m. f.	不規則	ダクトフ ィステル	計
Zerv. 鋸 歯	149	31 20%	6 4%	11 7%	48 31%
平 滑	156	18 12%	8 5%	9 6%	35 23%
不 明	91	12 13%	4 4%	6 7%	22 24%
計	396	61 15%	18 5%	26 7%	105 27%

l. m. f. は縦走粘膜炎の略

有無につき分類すると、峡部異常像は疎通性の良好な202例では29例(16%)に対し、卵管閉鎖例66例では16例(25%)と高く、疎通性疑問例では其の中間に位置した。又峡部異常像の中では不規則屈曲とダクトやフィステルが特に卵管疎通性と関係が深く、縦走粘膜炎ヒダでは関係が認められなかった。尚第2表は未妊、妊婦の別に観察した結果であるが、妊婦例に異常像の出現が高い傾向がうかがわれた。

6. 頸管辺縁と峡部異常像

第3表に示す如く、頸管辺縁が鋸歯状を示す例に縦走粘膜炎ヒダが出現する率が多い傾向にあったが、不規則屈曲、ダクトやフィステルに関しては無関係であった。

ま と め

不妊婦人の子宮頸部をレ線学上紡錘型、円柱型、球型、西洋梨型に分類したが、紡錘型が圧倒的に多く、Asplund¹⁾の報告に一致した。然し腔部ビランの有無、頸管粘液量、フーナーテストの良否とは何等の関係も認められなかった。又辺縁像には鋸歯状のものと平滑なものがあるが、これも又上記臨床検査と相関はなかった。即ち頸管のレ線の形態と不妊の要因との間に関連を見出すのは困難であった。

これに反し、子宮頸管子宮峡部像の内、縦走粘膜炎ヒダ、不規則屈曲、ダクトやフィステルに注目すると、不規則屈曲とダクトやフィステルは卵管閉鎖例に多く出現する事から、不妊と何等かの関係があると想像される。Asplund¹⁾はこれ等は産後や結核性内膜炎、子宮内膜症による事が多いと述べているから、峡部異常像は過去における感染を意味するものと解すれば、今回の結果も理解出来るよう。

結 論

子宮卵管造影法により不妊婦人の頸管形態は数種類に分類出来るが、不妊におけるその意義を認める事は困難であった。これに反し、子宮峡部の形態は臨床的意味があり、不規則屈曲、ダクトやフィステルが認められた時は、しばしば卵管の閉鎖を伴っている所から、子宮峡部形態の判読は不妊のレ線診断上1つのポイントを占めるものと考えられる。

(本論文の要旨は昭和40年第10回日本不妊学会総会で発表した)。

文 献

- 1) Asplund J.: acta radiol. suppl. 91(1952).
- 2) 吉田俊彦, 武田佳彦, 升本敬一, 相良祐輔: 日本不妊誌, 10, 203(1965).

The radiographic appearance of the uterine cervix and isthmus of sterile women

Yoshinori Tanaka, Keiichi Masumoto

Department of Obstetrics and Gynecology, Okayama University Medical School (Director: Prof. Kiyoshi Hashimoto)

The radiographic appearance of the uterine cervix of three hundred ninety six sterile women had been able to be divided into four types (spindle, cylinder, pear and ball), but there had been no correlation between the type of the

cervix and several physical examinations for sterility. These evidences may suggest that the feature of the cervix does not contribute to sterility.

On the contrary, the abnormal pattern of the isthmus (irregular pattern of the isthmic mucosa, duct like projection and fistula) has been

observed frequently in the cases associated with the occlusion of the Fallopian tubes.

A possibility exists that the abnormal pattern of the isthmus indicates the evidence for the past inflammatory process. The tubal patency should be examined carefully when the abnormal pattern of the isthmus has been observed.

我が教室における最近の排卵誘発成績

Latest Results of Treatments on the Ovulation Induction at our Clinic

横浜市立大学医学部産婦人科教室 (主任 塩島令儀教授)

植村次雄 鈴木直行 緒方淳
Tsuguo UEMURA Naoyuki SUZUKI Jun OGATA

秋山治也 鴻崎次夫
Haruya AKIYAMA Tsuguo KOOZAKI

Department of Obstetrics and Gynecology, Yokohama University,
School of Medicine, Yokohama.
(Director: Prof. Y. Shiozima)

最近の新しい製品の開発により、排卵誘発法は著しく変化して来た。我々は最近の排卵誘発法の成績を検討し、若干の検討を加えてみた。治療を受けた排卵障害患者は73名であり、治療法別排卵誘発成績はHMG-HCG療法が66.7%で1番良く、次いでClomipheneが62.2%であり、以下Metharmon F, PMS-HCG療法, premarin 静注法, F6066, の順であった。

これらの結果から、HMG-HCG療法, Clomipheneは極めて優秀な排卵誘発法であると思われた。premarin, F6066については前処置, 反復投与の問題を含めて、投与方法について、更に検討すべきだと思われた。しかしながら、従来のKaufmann療法, PMS-HCG療法もまだ見捨てることの出来ない利点を有する療法であると考えられる。

不妊症患者の診療にあたって、排卵障害の治療は大きな問題である。従来、Kaufmann療法など性Steroid hormoneによる方法や、PMS-HCGによるGonadotropin療法などが広く行なわれてきたが、最近、F6066 Clomiphene, HMG等が相次いで開発され、排卵障害患者の治療が急速に進歩している。ところで、最近の我々の教室における排卵誘発成績をまとめ、従来の排卵誘発法と新しい排卵誘発法について、若干の検討を加えてみた。

I. 受診患者とその診断名

昭和42年1月1日より昭和45年2月28日までの3年2カ月間に当産婦人科外来を訪れた外来患者総数は13,228名であり、そのうち不妊を訴えたものは714名で全体の5.4%である。その内、排卵障害のあったものは137名であり、不妊症患者の19.2%にあたる。又137名のうち、治療を行なったものは73名であった。

II. 各種治療法による治療成績

不妊症の治療成績は症例により異なるので直ちに療法の優劣を断ずるのはむずかしいが、一応単一療法後の排卵及び妊娠を、治療法別にみると、表1の如くなる。各

表1 治療法別排卵誘発成績

治療法	例数	排卵例数	妊娠例数	排卵率 (%)
Kaufmann	18	5	0	27.8
PMS-HCG.	13	5	1	38.4
Metharmon F	5	2	1	40.0
Premarin 静注	5	1	0	20.0
F6066	16	1	0	6.2
Clomiphene	37	23	12	62.2
HMG-HCG.	3	2	1	66.7
その他	7	1	0	16.7
	104	40	15	

種療法別の排卵誘発成績をみると、HMG-HCG 療法が、例数は少ないが66.7%と最もよく、Clomiphene の62.2%がこれに次ぎ、以下 Metharmon F. PMS-HCG 療法, Kaufmann 療法, Premarin 静注療法の順で、F6066 はあまり有効でなかつた。尚、本症例中には甲状腺機能異常、副腎機能異常例は含まれていない。療法別に検討すると、

i) Kaufmann 療法

Kaufmann 療法は1~5周期続けて行ない、その後の自然排卵の状態を観察した。排卵率は27.8%であるが、妊娠例は1例も認められなかつた。排卵率は第1度無月経例によく、第2度無月経例で不良であつた。

ii) PMS-HCG 療法

PMS-HCG 療法では排卵率38.4%、妊娠例は13例中1例にみられた。診断別にみると、第2度無月経例に比して、第1度無月経例及び無排卵周期症の排卵誘発成績がよく、妊娠成功の1例は第1度無月経のものである。

iii) Metharmon F

Metharmon F は Steroid biosynthesis の骨格をなし、androgen, estrogen, および corticoid 等の steroid hormone の前駆物質や中間代謝物質を配合した製剤である。本剤は第2度無月経を除く排卵障害例に投与した。第1度無月経例、無排卵周期例に同程度の排卵誘発効果をみたが、妊娠成功例は持続性無排卵周期の1例であつた。

iv) Premarin 静注

Premarin 静注法はまだ例数が少なく、これから検討すべき療法である。現在の所、第1度無月経例及び無排卵周期例で、頸管粘液が0.2~0.3ml 以上になつた時、Premarin 20mg. 静注する方法をとっている。投与例数5例中、ほぼ全例に消退出血を認めたが、排卵したのは第1度無月経の1例であつた。

v) F 6066

F6066 は Sweden の Forrasan 社で開発された非ステロイド系の排卵誘発剤である。本剤の投与方式についてはまだはつきりきまつたものはないが、我々は600mg 5日間連続投与を1クールとし、その排卵誘発成績を調べた。投与例数16例中1例に排卵をみたが、妊娠例はない。診断別の排卵誘発成績は表2、反復投与と排卵については表3の如くである。排卵日は投与開始後16日目1例、17日目1例であつた。副作用は認められなかつた。

vi) Clomiphene

Clomiphene citrate はアメリカの Merrel 社により開発された非ステロイド系の排卵誘発剤である。投与方法は1日50mg を連続5日間投与し、2クール行なつても排卵が認められない場合には、1日100mg 5日間投

表 2 F6066 排卵誘発成績

	投与 症例数	排 卵 症例数	投 与 周期数	排 卵 周期数	妊娠数
第1度無月経	9 (未婚 2)	0 (0%)	10	0 (0%)	0 (0%)
第2度無月経	1	0 (0%)	1	0 (0%)	0 (0%)
散発性無排卵 周期症	3	0 (0%)	3	0 (0%)	0 (0%)
持続性無排卵 周期症	3 (未婚 1)	1 (33.3%)	6	2 (33.3%)	0 (0%)
計	16 (未婚 3)	1 (6.3%)	20	2 (10.0%)	0 (0%)

表 3 F6066 投与回数と排卵

	投与周期数	排卵周期数
第1回目	16	1(6.3%)
第2回目	3	1(33.3%)
第3回目	1	0(0%)

表 4 Clomiphene 排卵誘発成績

	投 与 症例数	排 卵 症例数	投 与 周期数	排 卵 周期数	妊娠数
第1度無月経	17 (未婚 2)	11 (64.7%)	39	19 (49.0%)	4 (26.7%)
第2度無月経	5 (未婚 1)	0 (0%)	9	0 (0%)	0 (0%)
散発性無排卵 周期症	2	2 (100%)	4	3 (75%)	2 (100%)
持続性無排卵 周期症	13	10 (76.9%)	24	13 (54.2%)	6 (46.1%)
計	37 (未婚 3)	23 (62.2%)	76	35 (46.1%)	12 (35.3%)

与を行なつた。投与開始時期は月経又は消退出血後5日目を原則とした。

排卵誘発成績は表4に示す如くであり、投与症例37例中23例(62.2%)、投与周期76周期中35周期(46.1%)に排卵をみ、12例(35.3%)が妊娠した。これを臨床診断別にみると、第1度無月経17例中11例(64.7%)が排卵し、うち4例が妊娠した。散発性無排卵周期2例では2例(100%)とも排卵、妊娠に成功した。持続性無排卵周期13例では10例(76.9%)に排卵が起り、うち6例が妊娠した。しかし、第2度無月経の5例は全例排卵に成功しなかつた。又、表5に示す如く、続発性不妊症における排卵誘発効果の方が原発性の場合よりやや良い様であるが、大差はない。本剤投与と年齢関係をみると、表6の如く、25~29歳の排卵率が高率であり、これに対して、30~34歳で低率であつた。

投与量と排卵との関係についてみると、表7の如く、50mg 5日間投与の場合48.3%、100mg 5日間投与の

表 5 原発性, 続発性不妊と排卵, 妊娠 (Clomiphene)

	投与症例数	排卵症例数	妊娠症例数
原発性不妊	23	14 (60.9%)	8 (33.3%)
続発性不妊	11	8 (72.7%)	4 (36.4%)
未婚	3	1 (33.3%)	—
計	37	23 (62.2%)	12 (35.3%)

表 6 年齢と排卵 (Clomiphene)

年齢	投与症例数	排卵症例数	妊娠症例数
20~24	6 (未婚 2)	4 (66.7%)	2 (50%)
25~29	21	15 (71.4%)	9 (42.9%)
30~34	10 (未婚 1)	4 (40%)	1 (11.1%)
計	37 (未婚 3)	23 (62.2%)	12 (35.3%)

表 7 投与量と排卵 (Clomiphene)

投与量	投与周期数	排卵周期数	妊娠例
50mg×5日	58	28 (48.3%)	11
100mg×5日	18	7 (38.9%)	1
計	76	35 (46.1%)	12

場合は38.9%であった。100mg 投与例は50mg 投与で排卵誘発が不成功であった例であることを考えると、50mg 投与法に比して、100mg 投与法の方が排卵誘発効

果が劣るとは断定出来ない。他方、妊娠例は殆んどが50mg 投与例で100mg 投与例では1例しか妊娠に成功しなかった。

投与開始より排卵までの日数は表8の如くであり、早くて5日、遅くて47日、平均12.8日と広く分布しているが、全体としてみると、10~16日にかけてピークがある様に見られる。Clomiphene で排卵を誘発した場合、次周期に自然排卵が見られるか否かは臨床的に極めて重要な問題である。妊娠に移行したものの、次周期に Clomiphene の再投与したものを除く16例についてこの点を観察した。そのうち次周期に自然排卵をみたものは5例(31.3%)のうち4例が妊娠に移行した。

Clomiphene による妊娠例12例の妊娠経過は表9の如くである、即ち、4~5カ月で流産したもの3例(25%)と高率であったが、現在妊娠中は5例で、4例は既に満期産で男児3、女児1を得ている。いずれも奇形は認められず発育は普通であった。流産、分娩後の性機能は症例1の持続性無排卵例では妊娠4カ月で流産後、黄体機能不全型の排卵周期が2周期みられたが、その後再び無排卵周期に戻った。この症例は Clomiphene により再度排卵誘発を試み、排卵、妊娠し、現在妊娠中である。症例3の場合は、持続性無排卵周期で満期分娩後再び無排卵周期に戻った。症例7の第1度無月経の場合は妊娠5カ月で流産したが、排卵周期は1度もなく、再び第1度無月経の状態となった。症例9は第1度無月経であり、

表 8 Clomiphene 投与開始より排卵までの日数

5日	6日	7日	8日	10日	11日	12日	13日	14日	15日	16日	19日	20日	23日	33日	47日	不明
2	1	1	1	2	2	5	2	3	3	2	1	1	2	1	1	5
計 35																
平均 12.8日																

表 9 Clomiphene による妊娠例

①	持続性無排卵周期	妊娠 → 妊娠4カ月流産 → 2周期黄体機能不全型排卵 → 持続性無排卵周期
②	持続性無排卵周期	妊娠 → 現在妊娠7カ月
③	持続性無排卵周期	妊娠 → 妊娠10カ月分娩 → 持続性無排卵周期 ♀ 3,100g 奇形(-)
④	持続性無排卵周期	妊娠 → 現在妊娠4カ月
⑤	散発性無排卵周期	次周期妊娠 → 妊娠10カ月分娩 → 現在授乳中 ♂ 3,610g 奇形(-)
⑥	散発性無排卵周期	次周期妊娠 → 現在妊娠4カ月
⑦	第1度無月経	次周期妊娠 → 妊娠5カ月流産 → 第1度無月経
⑧	第1度無月経	妊娠 → 妊娠10カ月分娩 → ♂ 3,060g 奇形(-)
⑨	第1度無月経	妊娠 → 妊娠10カ月分娩 → 排卵周期2 → 妊娠 → 現在妊娠2カ月 ♂ 3,540g 奇形(-) 周期
⑩	第1度無月経	次周期妊娠 → 妊娠5カ月流産 →
⑪	持続性無排卵周期	妊娠 → 現在妊娠3カ月
⑫	持続性無排卵周期	妊娠 → 現在妊娠3カ月

妊娠，分娩後自然排卵があり，2 周期目に妊娠し，現在妊娠中である。

Clomiphene の副作用は卵巣腫大 3 例，発疹，悪心，食欲不振，各 1 例であった。発疹，悪心，食欲不振は服用終了後すぐ消失したが，卵巣腫大は鶏卵大から小鶏卵大の大きさで，縮小までにはかなりの時間を要した。

vii) HMG-HCG 療法

更年期婦人尿から抽出された HMG を使用して，Clomiphene，PMS-HCG 療法などで排卵誘発に成功しなかった 3 例の第 2 度無月経例に排卵誘発を試みた。投与方法は HMG 150iu を 1 日量として連続投与して 3 日毎に頸管粘液を検査し，頸管粘液が 0.3ml 以上を示した時投与をやめ HCG 3,000iu。3～4 日間投与する方法をとった。その結果 3 例中 2 例に排卵が見られ，内 1 例が妊娠に移行したが妊娠 9 カ月で三卵性三胎を早産した。その症例は次の通りである。

症例 ○藤○子：32 歳 0 回経産

結婚 25 歳，初潮 15 歳，月経周期 90～180 日，持続 1～7 日

主訴：不妊

既に大学病院などで数年間不妊治療受けるも妊娠しなかった。

諸検査所見：Buccal smear (Sexchromatin) female type, BBT 1 相型，頸管粘液（消退出血後 78 日目）0.01 ml 以下，Farnbildung（-），子宮内膜（消退出血後 78 日目），low columnar, non-secretory, hypoplastic, 子宮卵管造影法，異常なし，精液検査，異常なし，progesterone 消退出血（-），estrogen-progesterone 消退出血（+）。

治療経過：BBT は図 1 に示す如くであり，clomiphene で排卵誘発は出来なかった。HMG 150iu。を 1 日量として 3 日毎に頸管粘液を検査しながら連日投与した。投与後の頸管粘液は 3 日目 0.1 ml，Farnbildung（±），Spinnbarkeit 0 cm，6 日目には 0.3 ml Farnbi-

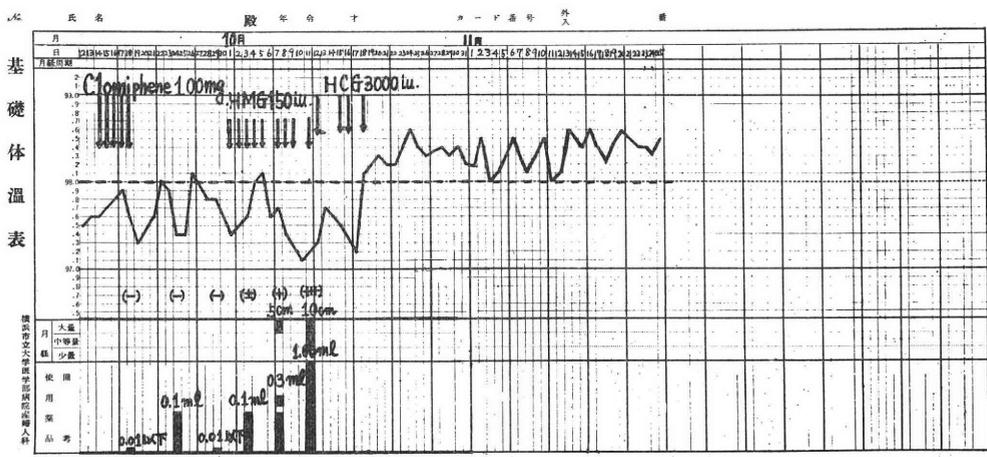
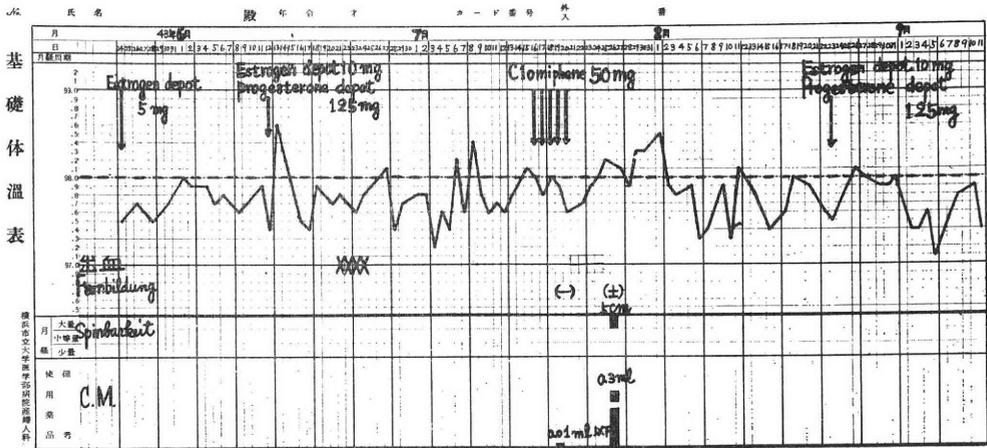


図 1

lung(+), Spinnbarkeit 5 cm, 9 日目には頸管粘液量 1.0ml, Farnbildung (卅), Spinnbarkeit 10 cm となつたので翌日より HCG 1 日 3.000iu. に切換えて 4 日間投与した所, BBT は HCG 投与開始後 4 日目より上昇し, そのまま高温相を持続し妊娠反応陽性となつた. 尚その間, 卵巣腫大などの副作用は認められなかつた. 妊娠 9 カ月半頃より軽度妊娠中毒症状を呈し, 妊娠 35 週で品胎を早産した. 児は 1545 g, 1745 g, 1840 g で奇形なく, 血液型, 胎盤所見より三卵性三胎であることが確認された. 児は三児共健康に生育している.

患者は分娩後月経をみず, 1 年を経た今日に於ても無月経である. なお授乳は行なわなかつた.

viii) その他

その他の療法として, HCG 単独療法, progesterone 大量療法, 子宮發育不全を伴つた症例への偽妊療法などを行なつたが, 排卵の認められたのは progesterone 大量療法を行なつた 1 例だけであつた.

III. 考 按

排卵障害患者の治療として従来 Kaufmann 療法, PMS-HCG 療法が主としておこなわれている. その治療成績は Kaufmann 療法では 10%~20%, PMS-HCG 療法では 40~60% の排卵誘発率と云う報告が多い. 我々の Kaufmann 療法の成績は 29.4% であり, 妊娠例は無く, PMS-HCG 療法は 38.4% で妊娠例は 1 例認められた. PMS は抗体産生や種特異性の点から, 反復使用に適さない. 従つて PMS-HCG 療法では 2 周期の投与で奏功しないとき, それ以上の使用は無意味であると思われる. しかしながら, HMG が非常に高価な今日ではまだ有用な療法と考える. Kaufmann 療法は排卵誘発を促進する意味があるからだけでなく, 子宮發育を促進する意味があるから, 子宮發育不全を伴う不妊症患者に, clomiphene や HMG の使用前試みることは有意義であると思われる. Metharmon F は Pregnenolone, Δ^4 -Androstenedione, Δ^5 -Androstenediol, Testosterone, Estrone, Thyroidea Sicca を含み, 生体内の Steroid 代謝の balance を改善して, 性機能の賦活を計るのを目的とした製剤であり, 我々は黄体機能不全症の治療に使用し著効を認めている¹⁾. 軽症の排卵障害例では本剤の投与のみで有効の場合もある.

F6066 は weak estrogen 作用をもち, 間脳下垂体系に働いて, ゴナドトロピン分泌を促し, 特に FSH と LH との比を変化させると同時にその estrogen 作用は target organ レベルでも効果をあらわす²⁾と報告されているが, その作用機序の詳細はまだ明らかでない. 実際に使用して頸管粘液が著しく増加することから直接的

な estrogen 作用も否定出来ないと思われる. 排卵誘発成績は諸家の報告によつてまちまちであるが, 我々の成績はあまり良くない. 投与方法は現在まだ検討されている段階であり, 1 日 400mg~600mg を 5 日~10 日間投与する方法, 漸減投与方法などがよいとされている.

我々は 600mg 5 日間連続投与を行なつたが尚, 更に投与量, 反復投与等について検討の余地がある. 他方黄体機能不全症に F6066 を使用してみたが, その場合には BBT の改善がみられ, 妊娠例も数例見られた. 副作用もないことから, この方面への使用価値もあると考えられる.

Clomiphene はラットにおいて抗エストロゲン作用, 抗ゴナドトロピン作用, 妊娠阻止作用を示すが, 人間では抗エストロゲン作用及び強力な排卵誘発作用を示す²⁾と報告されている. その作用機序については Clomiphene の中枢作用とする報告³⁾⁴⁾が多い. 五十嵐⁵⁾はラットの脳内移植実験により視床下部正中隆起と前部視床下部とに clomiphene は直接作用し, LH の放出を促進すると述べている. 実際に使用してみて, 頸管粘液が急速なる減少を示すことから少なくとも末梢に対して抗エストロゲン作用を示すと思われる. clomiphene の排卵誘発成績は第 1 度無月経 64.7%, 第 2 度無月経 0%, 散発性無排卵周期 100%, 持続性無排卵周期症 76.9%, 平均 62.2% であり, 37 例(未婚 3 例)中 12 例 (35.3%) が妊娠した. 第 2 度無月経では 5 例中排卵例皆無で, 極めて悪い成績であつた. これは, clomiphene が LH の産生, 放出を強く促進するが, FSH の産生は促進しないという報告⁶⁾からもうなずけることである. 原発性不妊群と続発性不妊群について, 夫々の排卵誘発率を比べると, 後者が高値を示したことは既述の通りであるが, これはその障害の程度が続発性不妊群で軽く, 排卵が誘発されやすいためと思われる.

投与量と排卵率については 50mg 投与群と 100mg 投与群ではそれほど大きな差はないが妊娠例は 12 例中 11 例までが 50mg 投与例であることから, 50mg 投与による奏功群の障害が 100mg 群より軽度であるためとも解せられる.

鈴木⁷⁾も 100mg 投与群の妊娠率が 7.5% に対し, 50mg 投与群のそれは 15.1% と, 又高橋⁸⁾も妊娠成功例 9 例中 8 例が 50mg 投与群であつたとしている. 投与開始より排卵までの日数は 5 日~47 日で 12~16 日にピークが見られた. この点に関して石塚⁹⁾は 11~14 日目, 高橋⁸⁾は 10~16 日目と我々とほぼ同じ成績を得ている. しかし排卵までに 47 日を要したのものもあることは, clomiphene 投与の成果判定には 1 カ月では短く, 1 カ月半乃至 2 カ月の観察が必要と思われる. 排卵誘発後, 自然排卵を来

たしたものは31.3%であった。この自然排卵についての報告は40%~22%と幅が広く、更に次々周期以後となると、自然排卵は急減するので、排卵周期の持続を期待するには、自然排卵後の次周期に clomiphene 投与が望ましいという意見もある。clomiphene の副作用は卵巣腫大以外は、服用中止後すぐ消失する軽度のものばかりであった。反復使用する場合には卵巣腫大に気をつけなければならない。

clomiphene による妊娠12例についてその予後をしらべたところ、25%と高率の流産が認められた。これには子宮發育不全などが関与していると思うが、妊娠後の嚴重な管理の必要を感じさせる。

clomiphene による妊娠、流産後の排卵についてみると、妊娠4~5カ月の流産例では1~2周期の排卵があるとしても、その後再び以前と同様な無排卵状態に戻ってしまった。分娩例では第1度無月経の例は分娩後2回の排卵周期の後再度妊娠した。持続性無排卵周期の例では分娩後無排卵の状態が続いている。これらのことから clomiphene により排卵、分娩に成功した場合でも、1~2周期の排卵周期があるとしても再びもとの無排卵の状態に戻ることを示している。これらのことから、clomiphene による妊娠、分娩例については、流産、分娩後も嚴重な管理が必要である。尚、HMG-HCG 療法による分娩例も clomiphene の場合と全く同様に分娩後は無月経であった。PMS 製剤では反復使用による成果を上げることが出来なかつたが、これは本剤が抗体産生性を有する異種蛋白であることも考慮する必要がある。かかる欠点のない強力な FSH 作用を有する HMG を、第II度無月経の3例に試みた所、3例中2例が排卵し、その1例は3卵性3胎を妊娠、分娩した。HMG-HCG 療法は強力な排卵作用を示すため、一時に多数の排卵が起る⁸⁾⁹⁾ことからみて、この3卵性3胎は HMG-HCG 療法によるものと考えられる。HMG-HCG 療法の副作用として顕著な卵巣腫大、時に腹水、胸水の合併などが報告されているが、我々はこの様な副作用は経験しなかつた。我々の場合、幸い三児共に無事生育したが、排卵作用が極めて強力なことは使用に際し十分考慮する必要がある。特に HCG への切換時期の決定は重要で、我々は頸管粘液の測定を以つてこれにあてた。高価なることを除けば HMG は極めて有効な排卵誘発剤といえる。

IV. 結 語

最近、新しい製品の開発により、排卵誘発法は著るしく変化してきた。我々は教室における最近の成績を検討し、次の如き結果を得た。clomiphene, HMG-HCG

療法は極めて優秀な排卵誘発法である。Premarin, F6066については前処置、反復投与の問題を含め投与方法、更には投与量の点について今後なお検討の余地があると思われる。従来の Kaufmann 療法、PMS-HCG 療法もまだ見捨てることの出来ぬ利点のある療法である。

(拙筆にあたり、指導と校閲とを賜つた恩師塩島令儀教授に深謝します。

本論文の要旨は昭和44年12月8日第54回日本不妊学会関東地方部会に於て発表した。))

文 献

- 1) 岩崎他：日不妊会誌，12，23，1967.
- 2) 鈴木：排卵，第21回日産婦総会特別講演要旨，1969.
- 3) 関：産婦治療，18，208，1969.
- 4) 鈴木：産婦治療，19，473，1969.
- 5) 五十嵐他：産婦治療，16，604，1968.
- 6) 高橋他：産婦世界，21，41，1969.
- 7) 石塚：産婦治療，185，17，1968.
- 8) 古畑：日産婦誌，21，643，1969.
- 9) 石塚他：臨婦産，22，685，1968.

Latest Results of Treatments on the Ovulation Induction at our Clinic

Tsuguo Uemura, Naoyuki Suzuki,
Jun Ogata, Haruya Akiyama
and Tsuguo Kozaki

Department of Obstetrics and Gynecology,
Yokohama University School of
Medicine, Yokohama
(Director: Prof. Y. Shiozima)

Recently, the method of inducing ovulation were advanced with new preparations. Results of treatments on the ovulation induction in anovulatory sterile women at our clinic were discussed. 73 patients were treated at our clinic for 3 years and 3 months. The induction of ovulation was observed in 66.7% of patients who were treated with HMG-HCG, 62.2% with clomiphene, 40.0% with metharmon F, 38.4% with PMS-HCG, 27.8% with Kaufmann-kur, 20.0% with premarin and 6.2% with F6066.

From these clinical results, it was confirmed that HMG-HCG and clomiphene were found to be most effective drugs in inducing ovulation. With regard to premarin and F6066, the dosage and method to induce ovulation must be studied further. However, Kaufmann-kur and PMS-HCG therapy were found to be valuable method and could not be given up.

Gestagen-Estrogen 混合剤が妊孕現象、とくに胎仔に 及ぼす影響に関する実験的研究

Experimental Study of the Effect of Gestagen-Estrogen Compounds on
the Conception, Development of Fetus and Delivery.

金沢大学医学部産科婦人科学教室 (主任 赤須文男教授)

館野 政也 嶋田 久徳

Masaya TATENO Hisanori SHIMADA

Department of Gynecology & Obstetrics, Faculty of Medicine, Kanazawa
University, Kanazawa, Japan.
(Director: Prof. F. Akasu)

Gestagen-Estrogen 混合剤の避妊作用は排卵抑制であることが認められているが、排卵以後の妊娠の成立過程やその後の発育に対しても、何んらかの影響をあたえるのではないかと考えられる。著者は妊娠マウスに G-E 混合剤を経口的に投与して比較検討、男化傾向その他を研究し、また G-E 混合剤の主作用は E であり、G と混合することにより、その作用は相乗的に強化されることを認めた。

- (1) 胎仔体重は G-E 混合剤投与群に減少の傾向が見られた。
- (2) 胎仔性別は G-E 混合剤投与群ではオスが多くなる傾向が見られた。
- (3) 生殖結節肛門間距離は G-E 混合剤投与群に延長しているのが知られた。

第1章 緒言

いわゆる避妊については世界の関心を集めているがその中で経口避妊薬と子宮内器具による方法が最も広く実施されているようである。而して、経口避妊薬に関する基礎的研究は内外の多くの学者によって行なわれてきているが、おおむね母体にも胎児にも無害であることが知られている。もつとも、長期間使用後一旦使用を中止してから妊娠による児への影響については、なお多数の観察が必要であろう。我々は前回、妊娠ラットで Norethisteron と Ethinylestradiol との混合剤の胎仔に及ぼす影響を観察したが、今回は妊娠マウスを用いて、同様の胎仔に及ぼす影響の観察を行なったので以下、記述する。

第2章 実験材料および方法

- 1) 実験使用動物
体重15~20g前後の雌マウスを使用した。
- 2) 使用した薬剤

Norethisterone と Ethinylestradiol との混合剤、Gynovular (以下 GOV と略) を用いたが、これは1錠中 Norethisterone acetate 3mg と Ethinylestradiol 0.05mg とを含有するものである。

3) 妊娠マウス

雌及び雌マウス各々1匹づつを雌マウスの発情期に一昼夜同居せしめ、翌日、膣スミア中に精子を認めた場合、その日を妊娠第1日と定めた。尚、精子の認められなかつたものは分離して経過を観察したが、妊娠したものは何れも7日後、腹部触診により妊娠を確認した。

4) 薬剤の投与方法

上記の如くにして妊娠したマウスに妊娠第8日目より上記の GOV を蒸留水中で細く砕き、水性懸濁液状となし、1日1回3/40錠宛を経口的に連日投与した。投与期間は7日間とした。尚、GOV を投与しない対照群には水を同様に投与した。

5) マウスの分類

- a) 薬剤投与群: 20例の妊娠マウス
- b) 薬剤非投与群

表 1 G. O. V. 投与群および非投与群に於ける雌雄別仔数, 体重および A. G. D の長期観察所見

	生後日数	使マウス数	雌 胎 仔			雄 胎 仔		
			胎仔数	A. G. D.	体 重	胎仔数	A. G. D.	体 重
対照群	5	20	72	1.9(1.3~3.0)±0.85	3.1(1.8~ 3.8)±0.95	70	2.6(1.9~3.4)±0.85	3.4(2.5~ 4.6)±0.44
	21	4	16	5.6(4.2~6.8)±0.36	9.0(7.7~10.0)±0.79	16	8.3(5.5~8.8)±0.99	9.5(8.0~10.4)±0.72
投与群	5	20	44	2.3(1.7~3.0)±0.11	2.9(2.2~ 3.4)±0.79	58	2.9(2.2~3.6)±0.37	3.1(2.5~ 3.8)±0.26
	21	5	4	7.8(7.2~8.5)±0.43	8.3(7.9~ 8.7)±1.02	10	8.3(8.0~8.5)±0.45	8.7(8.4~ 9.8)±0.60

表 2 G. O. V. 投与群および非投与群に於ける雌雄別仔数, 体重および A. G. D. の比較

		G. O. V. 投 与 群			対 照 群		
	生後日数	胎 仔 数	体 重	A. G. D.	胎 仔 数	体 重	A. G. D.
雌	5	2.2 (0~5)	2.9 (2.2~3.4)	2.3 (1.7~3.0)	3.5 (2~7)	3.1 (1.8~ 3.8)	1.9 (1.3~3.0)
	21	0.8 (0~2)	8.3 (7.9~8.7)	7.8 (7.2~8.5)	4.0 (2~7)	9.0 (7.7~10.0)	5.6 (4.2~6.8)
雄	5	2.9 (1~5)	3.1 (2.5~3.8)	2.9 (2.2~3.6)	3.6 (2~7)	3.4 (2.5~ 4.6)	2.6 (1.9~3.4)
	21	2.0 (1~4)	8.7 (8.4~9.8)	8.3 (8.0~8.5)	4.0 (2~7)	9.5 (8.0~10.4)	8.3 (5.5~8.8)
合計	5	5.1 (2~10)	3.0 (2.2~3.8)	2.7 (1.7~3.6)	7.1 (3~10)	3.3 (1.8~ 4.6)	2.2 (1.3~3.4)
	21	2.8 (1~6)	8.5 (7.9~9.8)	8.0 (7.2~8.5)	8.0 (6~10)	9.3 (7.7~10.4)	7.0 (4.2~8.8)

以上の如く操作し, 分娩後5日目に, 胎仔数, 胎仔体重などを測定, 外表奇型, 口, 形成異常の有無, 胎仔の雌雄別確認, さらに生殖結節肛門間距離 Anogenital distance (以下 A.G.D と略) を測定し, 夫々の値を比較検討した。又, 少数例に於いて生後21日目の胎仔の観察も行なった。

第 3 章 実験成績

以上の如くして行なった実験成績は第 1 表及び第 2 表の如くで, 先ず, 雌雄別胎仔数をみると生後 5 日群に於いて, 対照群ではメス胎仔は第 2 表の如く, 平均 3.5 匹 (2~7 匹), オス胎仔は平均 3.6 匹 (2~7 匹), で雌雄別には殆んど差がみられなかつた。

GOV 投与群ではメス胎仔は平均 2.2 匹 (0~5 匹), オス胎仔は平均 2.9 匹 (1~5 匹) でメスに比してオスが多くなるのがみられた。また, 胎仔の合計では対照群は平均 7.1 匹 (3~10 匹), GOV 投与群は平均 5.1 匹 (2~10 匹) で GOV 投与群に胎仔数が著明に少なくなるのが知られた。

また, 生後 21 日群では対照群のメス胎仔数は 4 匹 (2~7 匹), オス胎仔数は 4 匹 (2~7 匹) で差はなく, GOV 投与群ではメス胎仔数 0.8 匹 (0~2 匹), オス胎仔数は 2 匹 (1~4 匹) でやはり, オスが多くなり, 胎仔数の合計では対照群の 8.0 匹 (6~10 匹) に比し, GOV 投与群では, 2.8 匹 (1~6 匹) と著明に少なくなり, 5 日群とほぼ同様の傾向を示した (第 2 表)。

次に胎仔体重は生後 5 日群では対照群のメスは平均 3.1g (1.8~3.8g), オスは 3.4g (2.5~4.6g) と差異はないが, GOV 投与群ではメスの平均は 2.9g (2.2~3.4g), オスでは 3.1g (2.5~3.8g) で, 投与群に於いて胎仔体重の減少傾向がみられた。

又, 生後 21 日群でも, 対照群のメス胎仔体重は平均 9.0g (7.7~10.0g), オスは 9.5g (8.0~10.4g) で GOV 投与群では, メス 8.3g (7.9~8.7g), オス 8.7g (8.4~9.8g) というように 5 日群とほぼ同様に, 投与群に減少の傾向がみられた (第 2 表)。

次に A.G.D を調査すると, 先ず生後 5 日群では, 対照群で, メスの胎仔の A.G.D の平均は 1.9mm (1.3~3.0mm), オスは 2.6mm (1.9~3.4mm), GOV 投与群ではメスは 2.3mm (1.7~3.0mm), オスは 2.9mm (2.2~3.6mm) でメス, オス共に GOV 投与群に延長の傾向がみられた。又, 生後 21 日群ではメスの A.G.D の平均は対照群で 5.6mm (4.2~6.8mm), GOV 投与群では 7.8mm (7.2~8.5mm) と延長しており, GOV 投与による A.G.D の延長は, かなり長期まで残っていることが知られた。しかし, オス胎仔の A.G.D は殆んど差異が認められなかつた (第 2 表)。

次に外表奇型の発生数をみると, 対照群で, 口蓋破裂がメス, オス胎仔にそれぞれ 1 例づつ, GOV 投与群では足欠損がメスに 1 例, 口蓋破裂がメス, オスそれぞれ 1 例づつ認められ, 両群の間に奇型発生数では認むべき差がなかつた。

第4章 考按と結論

経口避妊薬の研究は我国でもかなり古くから行われて来ており、ヒトに使用した場合は、一応24周期以内の連用では異常をみとめないという医学的結論が出されている。ただしこれを日常生活に応用する点については尚、社会的倫理的問題があり実用化してはいない。

ただここで、必然的に問題になるのは、避妊薬連用中或いは持続的使用を中止した後の妊娠の胎児に及ぼす影響の問題がある。

けれども現実には Progestin を中心とする避妊薬を正しく使用している間は妊娠しないから、問題はむしろ長期間連用中止後の妊娠にある。今回、我々は GOV を使用し、主としてこれの胎仔に与える影響を実験的に追求してみた。このさい少し文献的な考察を行なつてみると、1960年 Revers et al¹⁾ は Progestational Compounds を妊娠ラットに与えて、その胎仔に及ぼす影響、特に男化作用の問題について検討を加えている。すなわち、妊娠第15日より20日目まで薬剤を投与し、生下時及び生後20日の胎仔の生殖器を観察した結果、17 α -ethinyl-19 Nortestosterone, 6 α -methyl-17 α acetoxyprogesterone は Pseudohermaphroditism の仔を発生させるが、Progesterone では異常が発生しなかつたと報じている。Leonard, J. Lerner, et al は 16 α , 17 α -dihydroxyprogesterone の誘導体と他の Progestational steroids とで妊娠全期を通じて、これら薬剤のラット胎仔の男化作用に及ぼす影響の比較を行ない、両者とも性比の差異を引き起さず、内外生殖器に異常をきたさないとしたが、19 Norsteroids では性比をみると、オスが多くなり、A.G.D. の測定によると、いわゆる Intersex を招来し、更に内外生殖器の男化を来すと述べている。石塚らも 19 Norsteroids ではほぼ同様の成績を得ている。又、1961年 G.K. Suchowsky et al²⁾ も Progestin のラットメス胎仔に及ぼす男化作用について研究し、17 α -Hydroxy-progesterone の誘導体は大量でも男化作用を来たさないと報じている。

Madjerek et al³⁾ は妊娠時 Oral gestagen である Allylestrenol は胎仔外生殖器に異常を与えないと報じ、Schöler et al⁴⁾ もラット胎仔に関して、ほぼ、同様の見解を述べている。

以上の他にこれに関する基礎的並びに臨床的研究は数多くみられるが⁵⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾、最も問題とされるのはメス胎仔の男性化の問題、ことに Intersex の問題であると思われる。その他、外表及び内臓の奇型発生については問題とするものはないようである。我々の実験で、先ず胎仔数と体重についてみると、GOV 投与群にいずれ

も対照群に比して減少がみられた。

これは、前回の我々のラットを用いた実験とほぼ一致しているのが知られた。又、A.G.D. からみると、メス、オス胎仔共に GOV 投与群に延長がみとめられた。尚、これらの延長はメスでは生後21日たつてもまだ継続しており、GOV の影響は、その投与をやめてもかなりおそくまで回復しないことが知られた。

この点については Leonard, Revers からも延長を認めている。次に足欠損や口蓋破裂などの奇型が極く少数例にみられたが対照群と投与群との間に差異はみとめられなかつた。

しかし、奇型発生には色々の問題があり、例えば、内臓奇型の精査の困難性、例数不足、薬剤投与量、投与期間、投与時期の問題などから即座に結論を下すことは困難である。

以上、我々は GOV 投与群、対照群、それぞれ20例のマウスで実験し、その成績を比較検討した結果、次の如き結論を得た。

結 論

(1) 胎仔体重は GOV 投与群に減少の傾向がみられた。

(2) 胎仔性別は対照群では、メス、オス共に同数であるが、GOV 投与群ではメスに比し、オスが多くなる傾向がみられた。

(3) 生殖結節肛門間距離はメス、オス共に対照群に比し GOV 投与群に延長しているのが知られたが、それは生後、相当長期まで持続していることが知られた。

(4) 外表奇型などの発生は特にみられなかつた。

(5) 以上より妊娠中の動物に対しては GOV 投与により、その仔に男性化の傾向がわずかながら示唆された。

けれどもこのことは、避妊薬使用中止後の妊娠でその仔に悪影響を与えることを意味するものではない。

摺筆にあたり、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜つた恩師赤須文男教授に深く感謝の意を表すると共に、尚 Gynovular を附与された日独薬品に深謝する。

文 献

- 1) Revers, C, Chappel. C. I. & Gaudry. R. : Endocrinol., 66, 140 (1960).
- 2) Suchowsky, G. K. & K. Junkmann. : Endocrinol., 68, 341 (1961).
- 3) Leonard, J. L. Michael, de Phillippo, Euripides, Yiacas, David Brennan & Aleck Borman. : Endocrinol. 71, 448 (1962).
- 4) Z. Madjerek, J. de Visser, J. van der Vies & G. A. Overbeek. : Acta endocrinol., 35, 8 (1960).

- 5) Schöler H. F. L. & A. M. de Wachter. :
Acta endocrinol., 38, 128(1961).
- 6) 石塚直隆：日内分泌誌, 38, 443(1962).
- 7) 赤須文男：日独医報, 9, 2, 213(1964).
- 8) 成田収：日産婦誌, 17, 6, 517(1965).
- 9) 植田安雄：日産婦誌, 15, 6, 504(1963).
- 10) 森山豊：日産婦誌, 16, 10, 1006(1964).
- 11) 滝一郎：日産婦誌, 16, 8, 693(1964).
- 12) 石塚直隆：日産婦誌, 15, 11, 1039(1963).
- 13) 徳田源市：日産婦誌, 16, 8, 683(1964).
- 14) 赤須文男：最新医学, 16, 3228(1961).
- 15) 山下裕国：日不妊会誌, 11, 1(1966).

Experimental Study of the Effect of Gestagen-Estrogen Compounds on the Conception, Development of Fetus and Delivery.

Masaya Tateno & Hisanori Shimada

Department of Gynecology & Obstetrics,
Faculty of Medicine, Kanazawa
University, Kanazawa, Japan.
(Director: Prof. F. Akasu)

It is generally admitted that the so-called
contraceptive action of a gestagen-estrogen com-
pound is based on its inhibitory action on ovula-
tion.

In the author's experiments in mice un-
dertaken to ascertain whether or not such a com-
pound affects the postovulation process of preg-
nancy and the masculinisation, gestagen-estrogen
were administered by per os to observe and com-
pare how the hormones affect conception, growth
of fetus, fatality and masculinisation and these
were given in the primary period of pregnancy to
examine its effects on delivery and the fetus.

The results obtained are as follows;

1) The animals were given gestagen-estrogen
compound, daily for a week from their 8th
pregnant day.

The minimum effective daily oral dose was
3/40 Tab. of gynovular; 3mg of Norethisterone
acetate puls 0.05 mg of Ethinylestradiol-3-methyle-
ther (E-Ed).

2) Daily administration of a gestagen-estro-
gen compound on the postcoital day and for the
subsequent days resulted that fetal weights were
decreased.

3) The male sexuality of the fetus was
many more than female sexuality.

4) Anogenital distance was elongated.

5) It was demonstrated that in a gestagen-
estrogen compound the two component agents
were each strengthened by the other in its pro-
bable injurious action and that estrogen was far
more injurious than gestagen.

不妊と頸管内細菌

Bacteriology of the Cervix in Human Sterility

順天堂大学医学部産婦人科学教室 (主任 水野重光教授)

高田 道夫 渡部 忠興
Michio TAKATA Tadaoki WATANABE

山田 陽久 亀森 英武
Haruhisa YAMADA Hidetake KAMEMORI

Department of Obstetrics and Gynecology, Juntendo University,
School of Medicine, Tokyo
(Director: Prof. Shigemitu Mizuno)

不妊症ならびに頸管炎における頸管内細菌を検索し、その検出率が検索方法により相当大きな差のあることを認め、菌種別観察から精子凝集性を示す *E. coli* の検出されることは比較的少ないこと、頸管内細菌の約1/3は嫌気性菌であり、経目的観察において好気性菌、嫌気性菌ともに激しく変動していることを知りえた。さらに不妊症例中、卵管因子、子宮因子、内分泌因子、男性因子の証明された例を除き、Huhner test の結果から頸管性不妊と診断された16例について頸管の不妊因子を分析し、細菌による精子凝集作用に基づく頸管不妊の稀なことを認めえた。

頸管性不妊の因子として重要なものは reversible な頸管内細菌感染ではなく、基礎体温2相性、月経正順における頸管粘液形成不全、炎症後における頸管腺細胞機能破綻、頸管粘液性状に異常のない Huhner-Test 陰性例であり、これら因子は決して reversible なものばかりでないことを強調した。

緒 言

排卵期頸管粘液の精子通過性を妨げる因子として、頸管内細菌による精子凝集作用が Rosenthal (1931, 1943) によつて報告されて以来、頸管内細菌が女性不妊を構成する1因子としてとりあげられ、数多くの報告が行われてきた。しかしわれわれが他の目的の摘出子宮について頸管内細菌を培養検索した際の成績では、細菌検出率はさほど高くはなく、菌数も少数の場合が多く、従来の経腔検索による不妊患者の頸管内細菌は検出頻度、菌種別重複出現頻度とは趣を異にするようである。

頸管はその隣接部につねに豊富な常在菌叢をもつ腔をひかえており、頸管内細菌の検索手技のいかんによつてはその成績に大きな差を生ずる結果となる。

今回はこのような意味から、不妊症における頸管内細菌の意義を検討したのでその成績を報告する。

実験方法

腔内容を後陰門蓋部で採取、培養し、一方頸管内材料

は腔を洗滌、0.1% マーゾニンで消毒、滅菌乾綿で清拭後、細い滅菌綿棒を子宮腔部周囲にふれることなく頸管内に挿入して採取し、管底に臨床用 TGC 培地を 0.5 cm の高さに入れた試験管中に移し、可及的速やかに好気性、嫌気性菌培養を行なった。なお腔内細菌の混入により成績の不正確になることをおそれ、必らず塗抹、グラム染色を併行し、腔乳酸桿菌、腔扁平上皮細胞所見から明らかに腔内容の混入したと思われる症例は除外して検索した。

分離培地としては BTB 培地、血液寒天培地、Liver Veal 寒天培地、GAM フェニール、エチルアルコール培地を使用し、さらに確認培養を行なつて菌種を決定した。

なお嫌気性菌の培養は黄磷法、Steel-Wool 法により、菌種決定は Bergy の分類法を用いた。

実験成績

1. 不妊症における腔、頸管内細菌

不妊症例中臨床所見から腔、頸管内細菌の培養検索を施行した62例における細菌検出頻度ならびに検出細菌の

表 1 不妊症62例における腔，頸管細菌

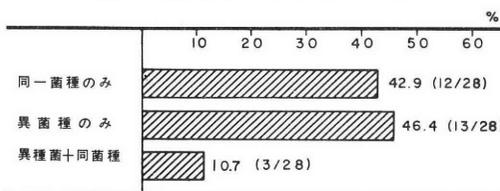
検 出 菌	検 査 部 位	
	腔	頸 管
Staphylococcus albus	25	4
Staphylococcus aureus	2	1
Streptococcus	15	4
Enterococcus	9	2
Micrococcus	3	3
Neisseria	1	1
E. coli	8	3
Klebsiella	2	1
Alkaligenes	1	1
Pseudomonas	2	1
Corynebacterium	6	4
Peptococcus	5	3
Peptostreptococcus	1	0
Veillonella	1	0
Bacteroides	6	2
嫌気性グラム陽性桿菌	6	3
Lactobacillus	28	2
Candida	6	1
検出例数(株数)	62例 (117株)	28例 (36株)

種類は表1のように、腔からは全例(117株)に好気性菌あるいは嫌気性菌が検出されているが、頸管での検出率は62例中28例(36株)45.2%で、菌種別にみると Peptococcus, Bacteroides, 嫌気性グラム陽性桿菌, 嫌気性 Corynebacterium などの嫌気性菌が12株、約 1/3 に検出され、好気性菌中 E. coli, Klebsiella, Alkaligenes, Pseudomonas などのグラム陰性桿菌は 6株にすぎない。

腔内細菌と頸管内細菌との関係を見ると表2のように同一菌種が認められた例は28例中15例、53.6%、異菌種が認められた例は28例中16例、57.1%であり、うち腔と関係のない異菌種のみが証明された例が46.4%を占めている。もちろん、検査材料の採取法による差も考えられるが、1回の検査時の成績からみれば案外に腔内細菌と関係がない菌が多いことがわかる。

さらに不妊患者の経腔検索群の対象として、正常例24例について同様の方法で検索した成績では25.6%の検出

表 2 頸管細菌と腔細菌との関係



率を示し、明らかに不妊症例において検出率が高い。また経腔検査群における腔内細菌の混合を考慮してその対照として40例の子宮筋腫摘出例について頸管下2/3と上1/3にわけて培養検索した成績では、前者22.8%と正常例の成績に近い出現率が認められているが、後者では約10%と低率である。なお菌種別に観察すると、不妊群、正常群、子宮筋腫摘出群3者の間に有意の差は認められない。

表 3 頸管における細菌検出率

方法	疾 患	採取部位	検査例数	検出例(株数)	検出率
経腔	正 常 (避妊希望)	頸 管 (全)	24例	6例(9株)	25.0%
	不 妊	頸 管 (全)	62例	28例(36株)	45.2%
摘出	子宮筋腫	頸 管 (下 2/3)	40例	9例(13株)	22.5%
		頸 管 (上 1/3)	40例	4例(4株)	10.0%

2. 頸管内細菌の経日的消長

頸管内細菌が比較的長期間定着しているのかあるいはつねに変動しているのかを観察する目的で同一人の周期を月経後期、排卵期、月経前期の3期にわけて11症例について検索した。表4(その1)のように症例4、8においては一部に2期間にわたり同一菌種が証明された例もあるが、同一周期内でも頸管内細菌は多くの場合著しく変動しているようである。さらに3周期にわたって同一人について同一周期に検索した12例についてみると表4(その2)のように一定の傾向は全く認め難いが、一

表 4 (その1) 頸管細菌の消長 (同一周期)

	月 経 後 期	中 間 期 (排 卵 期)	月 経 前 期
1	(-)	Peptococcus	(-)
2	(-)	(-)	(-)
3	(-)	嫌気性グラム陽性桿菌	(-)
4	嫌気性グラム陽性桿菌	(嫌気性グラム陽性桿菌 Staph. aureus)	Staph. aureus
5	(-)	(-)	E. coli
6	(-)	(-)	(-)
7	(-)	(-)	(-)
8	嫌気性グラム陽性桿菌	Corynebacterium	Corynebacterium
9	(-)	(-)	(-)
10	Peptococcus	(-)	(-)
11	(-)	α-Streptococcus	(-)

表 4 (その2) 頸管細菌の消長 (3 周期観察例)

	1	2	3
1	嫌気性グラム陽性桿菌	Bacteroides	嫌気性グラム陽性桿菌
2	Corynebacterium	嫌気性グラム陽性桿菌	(-)
3	E. coli	Micrococcus	(-)
4	(-)	Staph. albus	(-)
5	嫌気性グラム陽性桿菌	Staph. albus. Pseudomonas	(-)
6	(-)	(-)	α -Streptococcus
7	Peptococcus	Streptococcus	α -Streptococcus
8	(-)	(-)	Bacteroides
9	Peptococcus	Corynebacterium	Corynebacterium
10	(-)	(-)	Klebsiella
11	(-)	Staph. albus	(-)
12	Straph. alb. Micrococcus	(-)	(-)

部に2周期にわたって同一菌の証明された例、一度消失した菌が再び出現した例もある。しかしこの傾向は好気性菌よりも嫌気性菌において著明である。なお、頸管内に細菌を証明する機会は排卵期においてやや高いように思われる。

3. 頸管炎における細菌学的検索並びに不妊との関係

頸管炎、強度の子宮腔部びらんを伴い病理組織学的に頸管炎と診断された群 (A群) と臨床所見上外子宮口部に発赤を認め、頸管粘液の膿性または強度混濁を認める頸管炎 (B群) との2群において観察した。

A群中不妊を訴えた20例における頸管内細菌検出率は6例 (10株) 30%であり、菌種別には Peptococcus 4株, Peptostreptococcus, Bacteroides 各1株, Staph. albus, α -Streptococcus 各2株である。また20例における頸管粘液の性状は混濁増量7例, 透明増量13例で、頸管粘液の物理的性状に変化のみられたものは20例中3例と案外少く、いずれも白血球の増加、牽引性の低下、pH の下降が認められており、3例中2例が Huhner test 陰性である。しかし細菌の検出例はうち1例にすぎず、Bacteroides 検出例である。

不妊症例ではないが強度の頸管炎を伴う10例についてみると頸管内細菌は全例から証明され、菌種別には Staph. aureus 2株, Staph. albus 5株, Neisseria 1株, E. coli 2株, Alkaligenes 1株, Peptococcus, Bacteroides 各3株計17株である。なお10例中4例は排卵期頸管粘液とはいえないまでに性状が変化し、他の6例においても頸管粘液性状に異常の認められなかつたも

のは1例にすぎない。また検出された E. coli 2株中1株では明らかに試験管内精子凝集作用が陽性を示している。しかしこのような重症頸管炎は頻度が少く、症状が著しいため速やかに来院治療するものが多く、頸管粘液の異常もごく短期間に止まると考えられ、これら10例の既往歴には不妊の訴えはない。

なお10例中 Miller-Kurzrok test は1例を除き全て陰性であり、陽性を示した1例では Huhner test による精子通過性も良好であった。

4. 頸管性不妊における頸管内細菌の意義

先にわれわれは197例の不妊患者について不妊の原因を追求し、11例5.6%に他に不妊の原因を認め難い Huhner test 陰性の頸管性不妊 (機能性9例, 器質性2例) を見出しえたが、その後判明した症例を追加して頸管性不妊の原因を分類すると原発性不妊9例, 続発性不妊7例, 計16例のうち頸管粘液性状の異常例は8例50%, 頸管腺の機能破綻例2例12.5%, 頸管粘液性状に異常を認め難いもの5例31.1%, 細菌による精子凝集性が不妊の原因と考えられたもの1例6.3%である。また頸管性不妊症16例のうち頸管内細菌検出例は8例50%で、頸管腺の機能破綻を示した器質性不妊の2例は排卵期頸管擦過 smear 上の細胞の配列, 形態, 染色性, 核の形態染色性ならびに白血球の所見から判定されたものである。

表 5 頸管性不妊の内訳

	頸管因子	症例数
原発性不妊 (9例)	頸管粘液異常	5例
	頸管粘液正常	2 "
	頸管内細菌による精子凝集	1 "
	頸管腺細胞の機能破綻	1 "
続発性不妊 (7例)	頸管粘液異常	3 "
	頸管粘液正常	3 "
	頸管腺細胞の機能破綻	1 "

なお外子宮口部に異常の認められたものは子宮腔部びらん6例, 頸管ポリープ, 頸管裂傷, 頸管狭窄各1例, 肉眼的頸管炎2例である。

考按ならびに総括

不妊の頸管因子における頸管内細菌の意義を考察してみると

1) 不妊患者における頸管内細菌検出率は45.2%と正常対照群あるいは子宮筋腫摘出群における検出率に比較して確かに高いが、菌種別に観察すると、その約1/3は嫌気性菌であり、グラム陰性桿菌は約1/6である。

2) なお逐次例数を追加して頸管内細菌を検索した不

妊患者84例, 頸管炎30例から分離された *E. coli* は5株で, うち2株が試験管内精子凝集性を示したにすぎず, うち1株は不妊症の訴えない頸管炎より分離されたものである。

3) *E. coli* 以外に頸管内から検出された *Klebsiella*, *Alkaligenes*, *Pseudomonas* 等のグラム陰性桿菌, α -*Streptococcus*, *Staph. aureus*, *Staph. albus*, *Micrococcus*, *Neisseria*, *Enterococcus* 等の球菌では精子凝集作用は認められず, 嫌気性球菌, 桿菌では精子凝集試験は不可能である。

4) *E. coli* による試験管内精子凝集作用は 10^4 /ml以上の菌数において証明され, この菌数は頸管内 *E. coli* の培養時菌数をはかるに上廻っている。

5) 頸管から *E. coli* を証明する機会は比較的少ないばかりでなく, 頸管内細菌は同一月経周期中, さらに3週期にわたる検索においてもつねに変動し, 時に同一菌種がひきつづき証明されることはあつても, このような傾向は嫌気性菌でみられることが多い。

6) 膣鏡診, 内診, 基礎体温曲線, 頸管・子宮・卵管造影法, 頸管粘液の物理学的, 細菌学的, 細胞学的症状, Huhner test, Miller-Kurzrok test, 精液検査, 子宮内膜組織診等の諸検査を行い, 頸管以外に不妊因子を発見することのできなかつた Huhner test 陰性の頸管性不妊16例での不妊因子の分析において, 精子凝集による不妊と考えられたものは *E. coli* の証明された1例のみである。

以上の成績から頸管内細菌の不妊に及ぼす意義はさして大きなものではなく, 頸管性不妊の原因はいずれの臨床因子によるにしても頸管粘液形成不全, 物理化学的, 細胞学的性状の変化が第一義的であり, 頸管の細菌感染は器質的腺細胞の異常を伴わない限り reversible なものと言える。

今回の検索においてむしろ重要な因子として考えられることは基礎体温曲線2相性, 月経正順な例での細菌感染を伴わない頸管粘液性状の異常であり, さらに頸管粘液中に異常所見のみられない Huhner test 陰性例であるが, かかる例では治療の困難な場合が多く, 今後検索すべき幾多の問題を残していると考えらる。

また頸管粘液中に異常があり, 特に頸管ポリープ, 陳旧性頸管裂傷, 強度の子宮腔部びらんを伴うような症例では直ちに不妊の頸管因子として考えがちであるが, このような例のなかにも案外と Huhner test 陽性例のあることに留意すべきである。

稿を終わるに臨み水野重光教授の御校閲に深謝するとともに御教示を戴いた臨床病理学教室小酒井望教授に感謝する。

文 献

- 1) Buxton. C. L. & Wong. A. S. H.: *Fertil & Steril*: 2: 342, 1951.
- 2) Buxton. L., et al: *Fertil & Steril*: 5: 493, 1954.
- 3) 林基之: 産婦人科治療, 2: 18, 1961.
- 4) 林基之他: 日本不妊学会誌, 6: 240, 1961.
- 5) Hok. T. T., et al: *Am. J. Obst. & Gynec.* 98: 786, 1967.
- 6) 飯塚理八, 甲斐秀豊: 産婦人科治療, 11: 448, 1965.
- 7) Kaye, B. M. et al: *Obst. & Gynec.* 3: 644, 1954.
- 8) Laughton, N.: *Proc. Soc. Fertil.*, 3: 18, 1951.
- 9) Rosenthal, L.: *J. Bact.*, 45: 545, 1943.
- 10) 坂本啓夫: 第13回日産婦学会宿題報告要旨, 1961.

Bacteriology of the Cervix in Human Sterility

Michio Takata, Tadaoki Watanabe,
Haruhisa Yamada and Hidetake Kamemori

Department of Obstetrics and Gynecology,
Juntendo University, School of Medicine
(Director: Prof. Shigemitsu Mizuno)

1) The material is based on 62 cases which are clinically suspected cervical factors of sterile women.

2) In cervical culture of these patients the various bacteria were found about 45%, positive rate of bacterial culture is higher than that in cervical mucus on the control group and extracted myoma of the uterus.

3) In distribution of the various bacterial species, gram negative bacilli were isolated in about 16.7% and the most frequent members of the flora were anaerobic bacilli, 33.3%.

4) These cultures were taken in postmenstrual phase, at the time of ovulation and in the premenstrual phase. It was found that cervical bacterial flora was changeable in the course of menstrual cycle.

5) Five strains of *E. coli* were detected, in which only two strains were shown spermicidal activity.

6) As the result of present studies, clinical significance of organismus from cervical cultures has less value, therefore it was concluded that the important factors might be physical and cytological disorders in cervical mucus and dysfunction of cervical glands.

7) Further more a few interesting cases of negative Huhner test notwithstanding pathogenic cervical mucus were found.

第11回 日本不妊学会東北支部総会

日時 昭和45年6月13日(土)午後2時

場所 秋田市秋田県医師会館会議室

1. 経口男性ホルモン mesterolone の男子不妊症への応用

竹内睦男・一条貞敏・佐々木桂一
白井将文(東北大泌尿)

新しく開発された経口男性ホルモン剤 mesterolone (1α -methyl-5 α -Androstan-17 β -ol-one)を乏精子症患者25名に投与し、その治療効果および Rebound phenomenon について検討した。精子濃度に対する効果、 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以上増加した著効例10例(40%)、 $10 \times 10^6 \sim 19 \times 10^6/\text{ml}$ 増加の有効例6例(24%)、 $5 \times 10^6 \sim 9 \times 10^6/\text{ml}$ 増加の若干有効例4例(16%)、減少 $\sim 4 \times 10^6/\text{ml}$ の無効例5例(20%)。運動率に対する効果、50%以上増加の著効例2例(8%)、30 \sim 47%増加の有効例3例(12%)、10 \sim 29%増加の若干有効例9例(36%)、9%以下の無効例11例(44%)。運動精子数に対する効果、精子濃度と同様の判定基準により、著効5例(20%)、有効4例(16%)、若干有効12例(48%)、無効12例(48%)であった。又中枢抑制効果についてみると、25例中5例に中枢抑制効果と考えられる所見が得られた。

2. 流行性耳下腺炎性睾丸炎後の造精機能について

白井将文・一条貞敏・竹内睦男
佐々木桂一(東北大泌尿)

男子不妊症患者の既往歴の中で一番多い疾患は流行性耳下腺炎であり、したがって耳下腺炎が不妊の原因の一つではないかと考えられている。われわれは最近25歳の男子で流行性耳下腺炎に一侧睾丸炎を併発した症例を経験し、ごく初期より経過を追跡することが出来たのでその成績を述べる。来院時精液所見では精子数、 $52 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率38%であったが漸次減少し数 $9 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率3%となった。睾丸生検でも著明な造精機能障害がみられた。その後種々なる造精機能促進剤の投与を行なったところ9カ月後には数 $55 \times 10^6/\text{ml}$ 、運動率67%と改善をみた。そこで再度患側の睾丸生検を行なってみたところ造精機能は全く認められなかった。

以上の如く一度睾丸炎を併発した場合には造精機能の回復は困難であるので残った造精機能を賦活するような

薬剤の投与を早期より行なう必要がある。

3. 内分泌不妊婦人の尿中ステロイド分析—特にアンドロゲンを中心として

高橋克幸・平野睦男(東北大産婦)

続発無月経、無排卵の内分泌不妊婦人9人について、尿中 estrogen, pregnanediol, 17 KS, 17 OHCS, testosterone を測定したが、さらに、昇温ガスクロマトグラフィーによる副腎皮質ステロイド(特に中性ステロイド)の連続分析を行なった。

多毛症を伴う例には尿中 testosterone の高値を示す例が多いが(6例中3例)、17-KS とは必ずしも平行せず、estrogen, 17-KS, testosterone 排泄値に一定の相関を見出し得なかった。昇温ガスクロによる連続分析では、androsterone, DHA, etiocholanolone, pregnanetriol, pregnanediol, THA, THE, THF, cortolone, cortol などが、同時に分析出来、17-KS の高値を示した例に androsterone, DHA, etiocholanolone の peak の上昇しているのが見られた。pregnanetriol 上昇例は4例に見られたが、うち1例は他のステロイド排泄値に異常を認めないにもかかわらず triol だけが異常排泄を示している、副腎性の不妊であることが判明した。

4. Sexovid による排卵誘発成績

平野睦男・高橋克幸(東北大産婦)

昭和44年2月より45年3月までの14カ月間、東北大学ホルモン不妊クリニックを受診した排卵障害患者のうち、無排卵周期症19例、第1度無月経18例、計37例98周期に Sexovid を投与し、その排卵誘発作用を検討した。その結果、排卵率は無排卵周期症で39%、第1度無月経で25%であり、これは Clomid が各々83%、55%の排卵率を示すのに比し低い値であったが、妊娠例は4例ずつ計8例であった。この Sexovid の服用開始から排卵までの日数は一定せず、Clomid が11 \sim 16日にほぼ集中するのと対照的であった。また反復排卵率をみると Clomid は70%の反復排卵率を維持するのに比し、Sexovid では初回排卵例も2回、3回目の使用で排卵率は低

下した。このように Sexovid は Clomid に比して中枢刺激作用が弱く、したがって排卵率も低かったが、妊娠する例が多いので、排卵障害患者にはまず使用すべき薬剤である。

5. 燕麦葉抽出物質の臨床的研究

福島峰子(秋田大産婦)
渡辺尚(仙台市立産婦)

従来から、自然の機序に則つて排卵を起こさせるような性中枢刺激物質を探求してきた。その中で燕麦葉抽出物質に活性部分があることを知り、動物実験にて詳細な基礎的検討を行なつた。毒性、副作用についても問題がないと考えられたので、性周期の規則的な健康婦人に月経周期 5 日目から連日 15 mg 5 日間投与し尿中 LH の変動、基礎体温、月経周期の短縮化、Androgen 分析等施行した。正常婦人では投与 4 ~ 5 日、すなわち内服中に LH 放出があることを知つた。そして排卵時期が変動した。

そこで無排卵周期症、第 1 度無月経、第 2 度無月経の

計 30 名に排卵誘発の目的で投与した。投与時期、投与量も検討したが、無排卵、無月経を来たしている機序、従つて適応の点が非常に問題と考えられた。抽出物投与開始から排卵までの日数は投与中の排卵は 8 周期、それ以上の日数を要するものも多く、機序に関し考察した。一応排卵率は 50% で将来、排卵誘発剤として臨床応用の可能性が考えられた。

特別講演

男性インポテンスの診断と治療

白井将文(東北大泌尿器)

男性インポテンスは近年増加の傾向がみられる。これらインポテンス患者は大別して機能的インポテンスと器質的インポテンスになるが、その容観的な鑑別診断は必ずしも容易ではない。これら鑑別診断法の最近の進歩について述べると共にその治療法、とくに従来不可能とされて放置状態にあつた器質的インポテンスの各種治療法についても述べた。

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、特に号数が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宛とする。

日本不妊学会雑誌 15巻4号

昭和45年9月25日印刷

昭和45年10月1日発行

編集兼
発行者 芦原慶子

印刷者 向光枝
東京都品川区上大崎3-12-15

印刷所 一ツ橋印刷株式会社
東京都品川区上大崎3-12-15

発行所 日本不妊学会
東京都大田区

大森西7丁目5番22号

Tel(762)4151 内線258

振替口座番号 東京 93207