

Japanese Journal of Fertility and Sterility

July 1972

日本不妊学会雑誌

第 17 卷

第 3 号

昭和 47 年 7 月 1 日

— 目 次 —

原 著

- 家兎卵管卵の体外受精……………沖 永 洋 子… 1
 卵管分泌液の化学的研究
 特に pH, 還元糖, タンパク分画, 遊離アミノ酸について……………本 田 岳… 17
 不妊に関する免疫学的研究……………満 野 博 章… 29
 男子副性器分泌物と酵素
 V. 不妊患者精液酵素活性に及ぼす Deposteron の影響……………石 部 知 行・他… 38
 人工妊娠中絶後の性機能と経口避妊……………東 山 秀 聲… 46
 Kupperman 試験と無月経婦人の各種尿中 hormone 排泄量の検討……………平 野 睦 男・他… 53
 Haemagglutination Inhibition 法 (Luteonosticon) を
 応用したヒト性周期における LH の動態……………堀 口 文・他… 58
 新生児にみられた X/XY/XX の染色体構成をもつ
 仮性男性半陰陽の一例……………矢 吹 朗 彦・他… 64
 Studies on the Biochemical Properties of the Rabbit
 Blastocyst Before and During Implantation
 II. Effect of Ovariectomy on Incorporation of
 Glycine-C¹⁴(U) Into the Blastocyst in Vivo……………S. Sugawara・他… 72
 人工卵管装着後の下垂体, 卵巣および副腎の組織学的変化について……………桐 村 正 憲… 77
 第16回日本不妊学会九州支部総会……………86
 第11回日本不妊学会中国四国支部総会……………90
 第58回日本不妊学会関東地方部会……………93

総 会 予 告 (第 2 回)

第 17 回日本不妊学会総会は、下記の要項にて開催されますので御参加下さい。

開 催 期 日 昭和 47 年 10 月 12 日 (木), 13 日 (金)
開 催 会 場 第 1 会場 高知市本町 24 番地
高知新聞放送会館 TEL 0888 (22) 2111
第 2 会場 高知市本町 18 番地 高知電気ビル TEL 0888 (75) 9271
学 会 1. 特別講演「肥満と不妊」

徳島大学医学部酵素研究施設酵素生理学教室
藤 井 節 郎 教授

2. シンポジウム

① 胞胚の形態と機能 司会 東北大 竹 内 三 郎 教授

1) 着床前後ラット胞胚の超微細構造について
ワイズマン研究所 館 隣

2) 胞胚の超微細形態と核酸、蛋白生成能
慶応大産婦 鈴 木 秋 悦

3) 着床前後における兎胚盤胞の物質代謝について
東北大農 菅 原 七 郎

4) 家兎胞胚の二、三の知見“主として MOOG”法を利用した成績
について 東邦大産婦 岩 城 章

5) 胞胚の形成と組織化学的变化 新潟大畜産 石 田 一 夫

② 機能性不妊症をめぐる 司会 神戸大 石 神 襄 次教授

1) 家畜の卵巣嚢腫について 大阪府大獣医 蘭 守 竜 雄

2) 不妊症率の組織学的検討 札幌医大泌尿 熊 本 悦 朗

3) 男性側よりみた不妊原因とその対策 千葉大泌尿 片 山 喬 彦

4) 循環抗精子抗体について 徳島大産婦 香 山 浩 二

5) 内分泌学的免疫生殖学のアプローチ 新潟大産婦 広 井 正 彦

③ 一 般 演 題

昭和 47 年 7 月 31 日

本会会員に限る。会員以外の方(共同発表の方も)は演題申込みと同時に 47

年度会費納入の上会員となつて下さい。

演題申込方法

1) 本誌に挿入されている所定の用紙を必ず使用し、600 字以内の講演内容
要旨を送つて下さい。申込演題は申込の時点で結論の出ているものに
限ります。

2) 演題の採択は会長に一任させていただきます。

3) 上記の講演内容要旨をもつて学会誌掲載用講演要旨とさせていただきます。

4) 採用決定後、演者に総会抄録集用抄録用紙(約 3000 字の予定)をお送り
致しますので、御提出下さい。

講演演者へのご注意

1) 講演時間は特別講演 30 分、シンポジウム 20 分、一般演題 7 分です。講
演時間は厳守して下さい。

2) スライド映写機は 2 台用意します。

3) スライド枚数はライカ判スライドで片側 6 枚以内、左右あわせて 12 枚
以内を厳守して下さい。

総会参加申込方法

1) 本誌に挿入されている所定の振替用紙を使用して下さい。

2) 参加申込締切日 昭和 47 年 8 月 31 日

総 懇 親 会 昭和 47 年 10 月 12 日 (木) 午後 6 時より。

宿泊、観光について

本誌に挿入されている用紙で早目に交通公社にお申込み下さい。

第 17 回日本不妊学会学術総会会長

徳島大学医学部産科婦人科学教室

足 立 春 雄

〒 770 徳島市蔵本町 2 丁目 50

TEL 0886 (54) 3111 内線 490, 491

ご 案 内 状

高知市堺町 21

(株)日本交通公社高知支店
宿泊事務局(電)0888-23-2320

平素弊社をご愛顧戴きまして誠に有り難く厚くお礼申し上げます。

さて今回当地で行なわれます第17回日本不妊学会総会の宿泊関係につきまして下記のようにご案内申し上げます。

お申込みの際は同封の申込書をご利用下さいますようお願い申し上げます。

なお宿泊関係の締切りは昭和47年8月15日でございます。

記

1. 宿泊旅館について

(1) 宿泊旅館の確保

総会の前日(11日)より13日迄高知市内の旅館客室を多分に保留いたしておりますから、宿泊のお申込みは弊所を通じていただくようお願いいたします。

(2) 宿泊料金

日本旅館(和室)

人数別			
A	1泊2食	税金奉仕料は別	4,000 円
B	"	"	3,500 円
C	"	"	3,000 円

個室の場合は1,000円~2,000円加算になります。

ホ テ ル

クラス別		1人	2人
	ルーム料のみ	4,000 円	3,000 円
	税金奉仕料(別)	ツインW/B	ツインW/B

なおホテルの場合は部屋数が少ないので、出来るだけ和室にして下さい。

2. 帰路の指定券について

国鉄指定券類、船、航空機等の座席は事前に最寄りの交通公社等でお早目にお申込み下さい。

3. 大会後のエキスカーションについて

海中公園指定第1号の足摺観光を計画しました。是非ご参加下さいますようお願いいたします。

海中公園足摺観光コース(1泊2日)、(全行程貸切バス)

10/14 高知県民ホール前——竜串(海中展望室)見残し——足摺岬
8:00 (泊)

10/15 足摺岬——中 村——高 知 解散
9:00 11:40 15:00 会費 12,000 円

切……………取……………線……………

第 17 回 日本不妊学会学術総会宿泊関係申込書

高知市堺町 21

日本交通公社高知支店殿

住 所	都府	市	町
氏 名	県	郡	
			(年齢 歳)
		同伴	名 合計 名

1. 宿泊関係

該当箇所に○印でご記入願います。

宿泊料金 日本旅館・ホテル ABC

宿泊期間 10月 日より10月 日まで 泊

宿泊人員 名(夫妻、グループ)

話室種別 同室・個室・シングル・ツイン

2. エキスカーション(申込金 2,000円) ○をつけて下さい、

海中公園足摺観光コース 申込みします。 しない

申込金の送付金額は { 宿泊のみでは1人につき 3,000円
エキスカーションについては 2,000円

現金書留にてご送付ねがいます。

切……………取……………線……………

CONTENTS

Fertilization In Vitro Using Rabbit Tubal Ova.....	<i>Y. Okinaga</i>	1
Chemical Investigation of the Oviduct Fluid: With Special Reference to the pH Value, Reducing Sugar, Protein Fraction, and Free Amino Acids in the Rabbit Oviduct Fluid.....	<i>T. Honda</i>	17
Immunological Studies on Infertility	<i>H. Mitsuno</i>	29
Male Adnexal Organ Secretion and Enzymes	<i>T. Ishibe & S. Matsuki</i>	38
Clinical Studies on the Administration of Oral Contraceptive to Women following Artificial Termination of Pregnancy	<i>S. Higashiyama</i>	46
Kupperman's Test and the Urinary Output of Steroid Hormone and FSH in Amenorrhea.....	<i>M. Hirano, H. Aoba & T. Yoshida</i>	53
Urinary LH Levels during the Menstrual Cycle Determined by Haemagglutination Inhibition test (Luteonosticon).....	<i>F. Horiguchi, N. Nishina, T. Kobayashi & R. Iizuka</i>	58
Male Pseudohermaphroditism in Newborn with Chromosome Mosaicism of Type X/XY/XX.....	<i>Y. Yabuki, M. Tateno, T. Ukita & T. Nakamura</i>	64
Studies on The Biochemical Properties of The Rabbit Blastocyst Before and During Implantation. II. Effect of ovariectomy on Incorporation of glycine-C ¹⁴ (U) into the blastocyst in vivo.....	<i>S. Sugawara, H. Tsujii & S. Takeuchi</i>	72
The Function of Pituitary Body, Ovary & Adrenal Gland after Application of Artificial Oviduct.....	<i>M. Kirimura</i>	77

家兎卵管卵の体外受精

Fertilization In Vitro Using Rabbit Tubal Ova

東邦大学医学部産婦人科学教室 (主任: 林基之教授)

沖 永 洋 子

Yoko OKINAGA

Department of Obst. & Gyn. Toho Univ. School of Med.

(Director, Prof. Motoyuki Hayashi)

最近, 人卵の体外受精および卵移植の問題が注目され, その臨床応用への賛否が検討されている. 一方生殖生理を解明する意味でも, 人および動物実験による体外受精の研究は重要な意味を有するものと思われる. 本研究では家兎卵管卵を用いて, 射精精子による体外受精を試み, 卵管卵の受精能を追求し, また Insemination 後の体外受精卵の動態を観察した.

1) 過排卵前処置としては PMS 処置し, 最終日に Estrogen を併用して48時間後に HCG 処置したもので最も採卵数が多く, 普通排卵の約3~4倍の採卵数を得た.

2) HCG 処置後, 12, 18, 24, 48時間でそれぞれ採卵し, 卵の性状を検討して, 各種類の卵に培養液を一定にして体外受精を行なったところ, 12および18時間卵では成功したが, 24時間以降の卵では不成功に終わった.

3) 卵の種類としては (6種類に分類してそれぞれ体外受精を行なった), 18時間卵にみられる卵丘細胞が1~3層程度付着し, 第1極体形成前の卵で最もよい成績を得た.

4) HCG 処置後18時間の卵を用い, 培養液は Mc COY'S5a Medium+30%家兎血清 (PMS, HCG 処置) にホルモン環境として水性 Estradiol, Estriol 各10 γ /dl, HCG 50i.u./dl を加えたものを用いて射精精子による体外受精を試み, Ring-Slide 培養による位相差顕微鏡下の観察を行ない, 第1極体形成, 卵黄表層隆起現象, 第2極体形成, 雌雄前核形成, 両核の合体, 核膜消失, 卵分割を観察し, これらのおおよその時間的経過を知ることができた.

I. 緒 言

1878年, Schenk¹⁾によつてモルモットや家兎卵胞卵の体外受精が初めて試みられて以来, 哺乳類卵の体外受精に関する実験は多くの研究者達によつて報告されて来た. Pincus¹⁹⁾, Pincus & Enzmann²¹⁾, Menkin & Rock¹⁷⁾, Moricard¹⁸⁾, Thibault & Dauzier²⁹⁾, Shettles²³⁾, Chang¹¹⁾, Bedford & Chang⁶⁾, Yanagimachi & Chang³²⁾³³⁾, Brackett & Williams⁷⁾, Suzuki & Mastroianni²⁷⁾²⁸⁾, Suzuki²⁶⁾等によつてその成功が報告されている. また最近では Edwards¹⁴⁾等が人卵胞卵の体外受精に成功し, なおいまだ多くの問題を残してはいるが臨床への応用も試みられつつある. 家兎卵管卵の体外受精に関

しては, 古くは Pincus¹⁹⁾が体外受精卵の卵管内移植に成功し, 初めて仔兎を分娩させており, 1959年には Chang¹¹⁾によつていわゆる Capacitated sperm を使用して同様に体外受精とその移植の成功が報告されている. またわが教室でもここ数年来, 人および家兎卵胞卵の体外受精を射精精子を用いて試みてきたが, 本研究では PMS, HCG 処置した家兎卵管卵を用い, 培養液を一定にして採卵時間別にみた卵管卵の性状を検討し, それぞれの卵に体外受精を試み, 採卵時間別, 卵の性状別からみた体外受精の成績を比較検討し, 卵管卵の受精能を追求した. またこの実験の卵割が正常分割か否かを検討するために HCG 処置後18時間で採卵した卵の一部を用い, Ring-Slide 法培養で体外受精を行ない, Insemination 後から

卵分割までの体外受精卵の動態を保温装置付位相差顕微鏡下で観察し、若干の知見を得たので報告する。

II. 実験材料および方法

1. 実験動物

生後4～6カ月の体重2.5～3.2kgの成熟日本雌白家兎を用いた。実験前4日間以上隔離し、水と固形飼料で飼育し、下記のごとき排卵処置を行なった。

雄家兎には Testosterone 2mg/日を約1週間筋注し、2～3日後に人工腔を用いて精液を採取した。

2. 過排卵処置法と HCG 投与後の採卵時間 (表1, 2)

表 1 過排卵処置

HCG 投与前		7	6	5	4	3	2	1日	HCG 量 (i.u.)
家兎 群	家兎 数	PMS 量 (i.u.)							
I	17			/		100	"	"	100
II	46			/		100	"	"	200
III	13			/		150	"	"	150
IV	23	50	"	"	"	"	/		100
V	10	50	"	"	"	"	/		100
		+Estrogen 250 γ							
計	109								

表 2 各群の採卵時間と使用家兎数

家兎群	家兎数	HCG 静注後の採卵時間と家兎数			
		12時間	18時間	24時間	48時間
I	17	4	3	7	3
II	46	3	32	5	6
III	13	3	3	4	3
IV	23	3	13	4	3
V	10	/	10	/	/
計	109	13	61	20	15

第I群：PMS 100i.u. を3日間筋注し、最終日に HCG 100i.u. を静注後、12時間 (4羽)、18時間 (3羽)、24時間 (7羽)、48時間 (3羽) に採卵した。

第II群：この群がI群と異なるのは HCG 投与量を 200i.u. とした点である。採卵時間は同じく12時間 (3羽)、18時間 (32羽)、24時間 (5羽)、48時間 (6羽) である。

第III群：PMS および HCG の投与日数はI、II群と同じであるが、量をそれぞれ150i.u. としたものである。採卵時間は12時間 (3羽)、18時間 (3羽)、24時間 (4羽)、48時間 (3羽) である。

第IV群：PMS 50i.u. を5日間筋注後48時間の間隔を

おいた後に HCG を100i.u. 静注した。採卵時間は12時間 (3羽)、18時間 (13羽)、24時間 (4羽)、48時間 (3羽) である。

第V群：IV群の処置とほぼ同じであるが、PMS 投与の最終日に Estrogen 250 γ の筋注が加わっている。採卵時間はすべて18時間後のみであり、回収卵は Ring-Slide および角チューブ瓶培養を行なった。

3. 採卵方法

採卵時には大腿動脈を切断し、血清採取のための採血を行ない、直後に開腹して卵管、卵巢を切除した。開腹時、卵管損傷および奇形のあるものは除外した。排卵点を確かめてから卵巢を除去し卵管のみとした後に針先を鈍にした注射針付の5ml注射筒を用いて、Hanks 塩類溶液3～5mlで子宮角部の方向から卵管腔を洗い流して、時計血に採卵した。回収した卵管卵は直ちに実体顕微鏡下で30～40倍に拡大して検鏡し、採卵数および各々の採卵時間別にみられる卵の形態を観察記載してから卵を拾い出し、シャーレ中の Hanks 溶液中に移す。検出した卵は6種類に分類し、それぞれ、種類別に体外受精を試みた。

4. 培養方法 (表3, 図1)

(1) カレル瓶培養

本法ではI～IV群における12, 18, 24, 48時間後に採卵したすべての種類の卵を用いて体外受精を試みたが、これは採卵時間別および卵の性別からみた体外受精卵の分割状態を比較検討する意味で行なった。

採卵後シャーレ中の Hanks 溶液で洗った卵を毛細管ピペットを用いてカレル瓶内の培養液中に移す。培養液は TCM 199液に30% R.S. (以下過排卵処置家兎血清を R.S. と略す)、および Streptomycin 5mg/dl を加えたもので、pH は7.6に調整した。カレル瓶は直径約3.5cm、深さ5mmで、4～5mlの培養液を入れてある。卵はカレル瓶1個につき約7～9個の割とし、なるべく1カ所に集めて静置し、その周囲に毛細管ピペット (先端を曲げて操作しやすくしてある) で少量 (約1滴) の射精精液を加えた後、カレル瓶を静かに傾斜させながら精液が卵周囲に均等に行きわたるように操作する。この際精液は実験前約1～1.5時間に採取し、検鏡して正常な活性および形態を有することを確認した後使用した。続いてカレル瓶を37℃の Incubator に入れ、24～30時間培養後観察した。

(2) Ring-Slide 培養, 角チューブ培養

第V群すなわち HCG 投与後18時間の卵を用い、Insemination 後の卵の動態観察を目的として行なった。

この際採卵直後の卵を実体顕微鏡下の観察状態によって2種類に分類した。すなわち数個の卵が顆粒膜細胞塊

表 3 培養方法

方 法	培 養 法	使用卵の種類	培 養 液
(1)	カレル瓶培養	12 18 24 48 時間 卵 (I ~ IV 群)	199+30% 家兔血清 (PMS, HCG 処置) (Streptomycin 5mg/dl) pH7.6
(2)	Ring-Slide 培養 角チューブ培養	18時間卵(V群)	Mc COY'S5a Medium+30%家兔血清 (PMS, HCG 処置) 水性 Estradiol, Estriol 10 γ /dl. HCG 50 i.u. (Streptomycin 5mg/dl) pH7.6

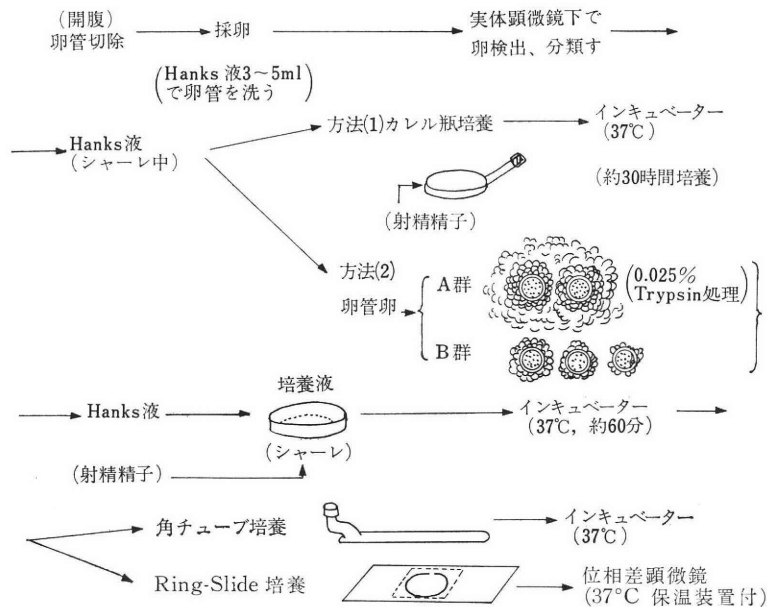


図 1 実験方法

中に存在し、各卵の卵丘細胞層が比較的厚いA群と、各卵が個々に分離し、1~2層の卵丘細胞を有するに過ぎないB群（このうち数%に第1極体を認めた）である。A群は0.025% Trypsin 液（Hanks 溶液 9 ml+0.25% Trypsin 液1.0ml）で卵丘細胞がほぼ1~2層付着程度になるまで処理する（5~6分間静かに攪拌する）。またB群の卵は Trypsin 処理を行わず、処理したA群の卵と混合してから、さらに Hanks 液で洗い、シャーレ中の培養液に入れる。続いて培養液10ml に対して毛細管ピペットで約2滴の割合で精液を加え、静かに均等に攪拌する（シャーレを静かにふる）。その後直ちに37°C Incubator に入れて約60分間培養後取り出し、この中の卵の一部は角チューブ培養瓶（薄型アール瓶）に移し、引き続き約30時間培養する。また一部は観察用として Ring-Slide 培養を行ない、37°C の保温装置付位相差顕微鏡下で培養しつつ観察した（Ring 1個に7~8個の卵を入れる）。この際使用した精液は(1)と同様に

採取、検査したものである。培養液としては、Mc COY'S 5a Medium に30% R.S. と水性 Estradiol および Estriol を各10 γ /dl, HCG 50i.u./dl および Streptomycin 5 mg/dl を加えたものを用いた。また pH は(1)と同様にほぼ7.6に調整した。

III. 実験成績

1. 卵の回収成績

(1) 卵の回収数（表4）

(i) 前処置別による差違（図2）

1羽当りの平均採卵数は第I群で9.7個、第II群13.9個、第III群8.9個、第IV群22.3個、第V群では27.6個である。すなわち PMS 50i.u. を5日間筋注し、最終日に Estrogen 250 γ 筋注し、48時間の間隔をおいて HCG 100i.u. を静注したものから最も多数の卵を得ることができた。第V群の処置から Estrogen 処置だけを除外した第IV群がこれに次いでいた。また第I群で1羽、第III

表 4 前処置群別、採卵時間別にみた採卵数

採 卵 時 間		12 時 間	18 時 間	24 時 間	48 時 間	平均採卵数
処置群	家兎数	(採卵数)	"	"	"	
I	17	32/4	24/3	97/7	12/3	9.7
II	46	37/4	421/32	164/5	18/6	13.9
III	13	22/3	25/3	46/4	23/3	8.9
IV	23	114/3	287/13	59/4	53/3	22.3
V	10	/	276/10	/	/	27.6
109 / 平均		15.7	16.9	18.3	7.1	

分母：家兎数

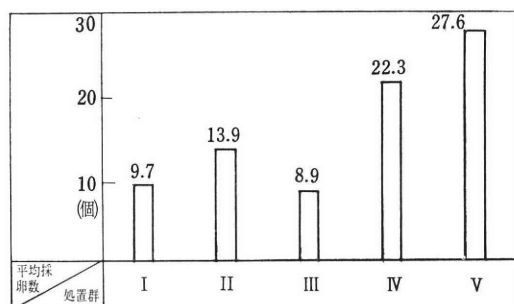


図 2 前処置別にみた平均採卵数

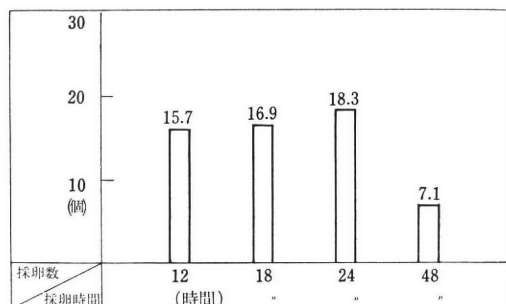


図 3 採卵時間別にみた平均採卵数

群では3羽に両側卵巣の血胞を認めたが、このような卵巣をもつたものでは採卵数は著しく少なかった。第III群では PMS が最高であるのに最低の採卵値を示した。

(ii) 採卵時間別による差違 (図3)

24時間で最も採卵数が多く、平均18.3個であり、次いで18時間の16.9個、12時間では15.7個であるが、48時間になると採卵数の低下は著明であつて、平均採卵数は7.1個に過ぎない。ただしいずれの採卵時間においても個体差による採卵数の差がかなり認められた。

以上のごとく過排卵処置法としては第V群の方法、採卵時間においては HCG 投与後24時間で最も多くの卵を回収できた。しかし第V群においては18時間後のみの回収であつて、著減の認められる48時間後の採卵を行なっていないので、これを考慮すると、第V群のホルモン処置法が最も多数の卵を回収する方法とは必ずしもいえない。この点を検討するため、さらに各前処置群および採卵時間別にみた実験家兎数および採卵数の詳細を表4にまとめてみると、第I～第IV群における18時間の採卵数は第V群の27.6よりはるかに低いので、採卵時間に関係なく第V群では最大値を示したと云えよう。

(2) 回収時の卵の形態的分類 (図4, 写真1～8)

卵回収時実体顕微鏡下で観察し、卵の形態的性状により下記のごとくに分類した。

a 卵: 数層の卵丘細胞が付着し、多くの場合数個の卵が顆粒膜細胞塊中に存在している。これらの卵は卵黄の充実した発育卵であつて第1極体は認められない(写真1)。

b 卵: 完全に個々に分離して存在し、卵丘細胞の付着程度によりさらに i～iii 型に分けた。i 型は卵丘細胞が1～3層付着のもの、ii 型はほとんど1層位の付着であつて部分的に多少厚く付着しているもの、iii 型は裸出卵に近いが、かろうじて卵丘細胞の部分的付着を認めるもの。このb型の卵では第1極体形成を認めるものもある(写真2～5)。

c 卵: 卵丘細胞が全く付着していない、いわゆる裸出卵であるが、いまだムチン層を形成していないもの。第1極体形成がみられるものもある(写真6)。

d 卵: 完全な裸出卵で、かつムチン層を付着したものの。ムチン層の厚さは採卵時間によつて異なるが、卵黄の充実したものをd卵とした。第1極体を形成しているものもある(写真7)。

e 卵: ムチン層の付着した裸出卵でかつ卵黄萎縮等の退行変化を認めるもの。ムチン層はかなり厚くなっている。

f 卵: 処女分割卵と考えられるもので、2～16分割程度までのものを認めた(写真8)。

以上の分類法に従い、採卵時間別に如何なる性状の卵

卵 の 種 類 採 卵 時 間	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)
12 時間	205 (個)	0	0	0	0	0
18	546	(i) (ii) 型 210 (P.b.22)	0	0	0	1 (2 分割)
24	0	(iii) 型 38 (P.b.16)	283 (P.b.213)	17 (P.b.17)	0	28 (2 分割 - 17 4 " - 3 16 " - 8)
48	0	0	0	89 (P.b.63)	16 (P.b.16)	1 (2 分割)

(P. b. 第 1 極体)

図 4 回収時の卵の形態的分類

が回収できるかを検討した (図 5)。

i) 12時間卵: 観察した205個の卵のすべてが a 卵であった。

ii) 18時間卵: 採卵数757個中 a 卵は546個 (72.2%) であり, b 卵は210個 (27.7%) であった。b 卵はほとんどが b-i, ii 型のものであり, 22個 (10%) に第1極体を認めた。また2分割の処女分割卵と思われるものを1個認めたが, これはホルモン処置として第II群のHCG 200i.u. 静注したものにみられた。

iii) 24時間卵: この時期では最も多種類の卵を回収したが, 大部分は c 卵であり, 366卵中283個 (77.3%) を占めた。またこの283個中213個 (75%) に第1極体形成を認めた。次に多いのは b 卵38個 (10.4%) であるが, そのほとんどが裸出に近い b-iii 型の卵である。またこの中16個 (42.1%) に第1極体形成を認めた。d 卵は17個 (4.6%) であるが, その大部分は c 卵に近いも

ので, ムチン層はきわめて薄く, 附着しはじめたばかりと思われる卵である。f 卵がかなりの高率で認められ, 28個 (7.7%) であつて, その分割状態は2分割卵が17個, 4分割卵が3個, 16分割卵が8個である。この処女分割卵は第II群のホルモン処置を行なったものに25個, 第I群には3個を認めた。

iv) 48時間卵: d 卵が89個 (83.9%), e 卵が16個 (15.1%) であり, f 卵は1個の2分割卵を認めた。なお a~c 卵はまったくみられなかつた。

以上のごとく未受精の家兎卵管卵は排卵後1~2時間の時期では数層の卵丘細胞を有し, 顆粒膜細胞塊中に集団をなして存在する。数時間を経ると, 約30%の卵が個々に分離した状態で回収されるが, なお卵丘細胞が附着している。この中で裸出の傾向の強い卵では数%に第1極体形成を認めた。さらに6時間を経ると (HCG 投与後24時間), 約80%が裸出を完了し, 第1極体を形成し

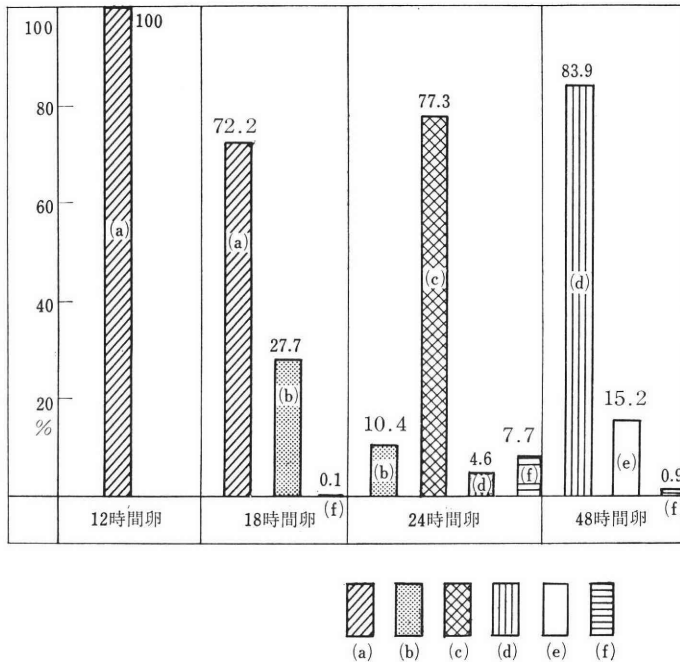


図 5 採卵時間別にみた卵の種類

ている。この時期前後からムチン層の付着がはじまり、漸次その厚さを増し、HCG 投与後48時間ではすべての卵に厚いムチン層を認め、変性過程の卵が増してくる。

2. 体外受精成績

体外受精の際得られた分割卵が正常な真の受精卵か否かは、分割卵を単に形態的に観察するのみでは判定出来ない。個々の卵の受精過程を追求し、雌雄両前核形成およびその核融合を観察し、はじめて受精卵と判定し得る。しかし多数の卵の個々について受精過程を連続して観察することは不可能であるから、本実験においては培養方法(2)の Ring-Slide 法で Insemination 後約1時間から卵分割に至るまでの間を位相差顕微鏡下で頻繁に観察して卵の動態を追求し、この際認められる前核形成の成績を基にして、他の実験方法の際も平等な分割球を持った分割卵を得た際は受精卵と判定した。すなわち培養方法(1)では HCG 投与後12, 18, 24, 48時間後に採取した卵をその性状により分類し、各々の種類の卵について培養条件を一定にして体外受精を試みたが、判定時に卵黄が充実している分割卵であつて、第2極体を形成しているか、卵黄周囲腔に精子侵入が認められるものを一応受精卵とした。

(1) 培養方法(1)による実験成績(表5, 6, 図6)

(i) 12時間卵: 実験卵数181個の中、正常分割卵とみなしたものの66個(36.5%)であつた。このうち2分割

卵41個(62.1%), 3~8分割卵は25個(37.9%)であつた。

(ii) 18時間卵: 実験卵数640個のうち a 卵が466個であり、そのうち正常分割卵は182個(39.1%)であつた。このうち2分割卵は106個(58.2%), 3~8分割卵は73個(40.1%), 16分割卵は3個(1.7%)であつた。なお第2極体を形成した未分割卵を29個と、Fragmentation と思われるいわゆる不等分割卵および一応分割に近い像を示しているが卵黄の変形または萎縮を来し、変性を起こしたものと考えられる卵を合せて20個認めた。

b-i~ii型の卵は174個のうち73個(42.0%)に正常分割卵を得た。そのうち2分割卵29個(39.7%), 3~8分割卵39個(53.5%), 16分割卵5個(6.8%)であつた。また第2極体を形成した未分割卵は16個および不等分割卵と変性卵は合せて12個であつた。

(iii) 24時間卵: 実験卵数159個のうち b-iii 型卵は38個であつて、卵黄が一応充実し一見正常分割とみられる2分割卵2個を認めたが、よくみると卵黄周囲腔が多少広い感じがするので判定困難とし、(?)で記した。また8個(21.1%)の不等分割卵があり18時間の b-i, ii型の6.9%に比して著しい高率を示した。c 卵104個では正常分割卵は0であつた。第2極体を形成した未分割卵は9個であつたが、卵黄に多少の変性徴候がみられた。また不等分割卵は24個(23.0%)であり、12時間の a 卵, 18時間の a および b-i, ii 卵より高率はもちろん、

表 5 採卵時間別、卵の種類別にみた体外受精の実験成績

採卵時間 (時間)	卵の種類	実験卵数 (個)	正常分割 卵 (個)	Insemination 後、約30時間の分割状態						第2極体形成 未分割卵	Frag.~Deg.*
				2	3, 4~8	16					
12	(a)	181	66	41 (62.1%)	19 (37.9%)	6 (1.7%)	0			14 (7.7%)	8 (4.4%)
18	(a)	466	182	106 (58.2%)	50 (40.1%)	23 (1.7%)	3			29 (6.2%)	20 (4.2%)
	(b) i~ii	174	73	29 (39.7%)	21 (53.5%)	18 (6.8%)	5			16 (9.2%)	12 (6.9%)
24	(b) iii	38	2?	2?	0	0	0			0	8 (21.1%)
	(c)	104	0	0	0	0	0			9	24 (23.0%)
	(d)	17	0	0	0	0	0			0	5 (29.4%)
48	(d)	42	0	0	0	0	0			0	27 (64.3%)

* Frag. Fragmentation Deg. Degeneration

表 6 卵の種類別にみた体外受精実験成績

卵の種類	実験卵数	分割卵数
(a)	647	248
(b) i~ii	174	73
(b) iii	38	(2)?
(c)	104	0
(d)	59	0

不等分割の程度も強く、卵黄の半分のみが16~32分割を示したような例もあった。d 卵も正常分割は0であり、5個(29.4%)に卵黄または透明帯の変形、萎縮等の変性を認めたが、いわゆる不等分割卵はなかった。

(iv) 48時間卵：この場合は他の卵と比較する意味で d 卵42個についても一応実験したが、分割卵は0であった。また27個(64.3%)が強い退行変性を示した。

ついで採卵時間に関係なく卵の種類別にみた実験成績をまとめると表6、図7のごとくである。すなわち正常分割像を示した卵は a 卵では647個中248個(38.3%)、b-i, ii 型卵では174個中73個(42.0%)である。b-iii 型卵になると、正常分割をしたとは判定し難く、また c 卵および d 卵では全く分割していない。

以上の成績を小括し、比較してみると、HCG 処置後18時間に採卵した卵の中で b-i, ii 型の卵、すなわち顆粒膜細胞塊がとけて個々に分離した卵で、かつ卵丘細胞が1~3層程度付着し、裸出が始まりかけており、しかも第1極体を形成していないものに最も良好な成績が得られた。次いで a 卵の成績が良いが、12時間で採卵したものではありません。卵丘細胞の結合が著しく密であつて、分割率は

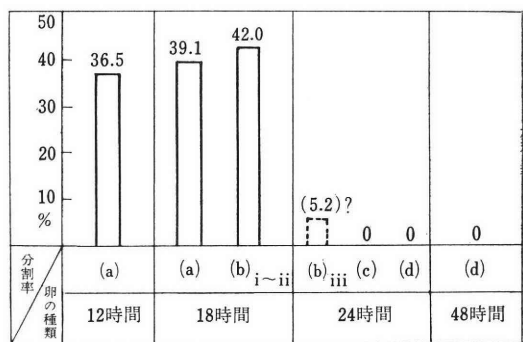


図 6 採卵時間、卵の種類別にみた体外受精卵の分割率

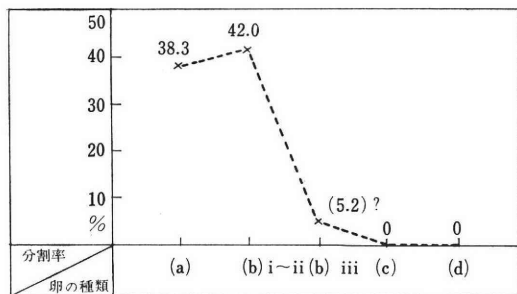


図 7 卵の種類と分割率

多少低下している。また分割の Stage も18時間の b-i, ii 型卵が最も進んでおり、18時間の a 卵、12時間の a 卵と続く。c 卵および d 卵のごとき裸出卵では正常分割は得られなかった。このうちムチン層を付着していない c 卵では Fragmentation への傾向が強く、かなりの

割合で不等分割卵を認めた。一方ムチン層が付着している d 卵では Fragmentation を起こさず、萎縮、変形等の変性傾向が強かった。

(2) 培養方法(2)による体外受精卵の観察

1) Ring-Slide 法培養による位相差顕微鏡下での観察 (写真9~22)

第1極体：採卵時すでに数%の卵にその形成を認めるが、Insemination から約60分後には約70%に認められた。観察中に第1極体放出の瞬間をとらえることができたが(写真9)，この放出は非常に短時間で、卵黄表層の隆起開始から放出終了までわずか数分である。

卵実質の変化：第1極体を形成するまでの時期においては卵黄周囲腔は狭く、培養中の卵の形態的变化はあまり著明ではないが、第1極体形成がすぎる時期から次第に卵黄周囲腔が広がり、卵黄は多少ゆがみをおびて部分的に圧縮されたような形を呈してくる。

また細胞質に濃淡が著明となり、疎密の感じが明瞭になってくるので、この時期の卵を連続的に観察していると、あたかも卵黄が伸縮運動をなしているかのごとき感がある。第1極体形成後でも一見して静止しているかのごとき外観を呈する卵もみられるが、このような卵はその後観察を続けていくとそのまま静止してしまう傾向が強く、卵分割まで進むものはほとんどなく、8卵の観察中分割したものはなかった。これに比べて前者のような変化の著明な卵の方は、その後の観察において第2極体形成、卵分割へと進む傾向が強くみられた。このような変化の著明な卵を追跡観察すると、22卵中正常分割と思われるもの15個、不等分割のまま静止したもの2個および第2極体形成まで進んだが卵黄が多少変形のままで終わった卵が5個あった。

卵黄表層の隆起現象：以上の変化は卵細胞全体にみられるものであるが、第1極体形成後の卵を観察中、次のような卵黄表層の隆起現象に気付いた。この現象は第1極体周辺の卵黄表層に限って起こるもので、まず一部に隆起が起こり、まもなくその頂点部位が破裂したようになるとともに、頂点の周囲および辺縁部が融けたように不明瞭になり、あたかも噴火口状を呈する。その後数分位すると、辺縁部が明瞭になりかつ厚く凸凹状になる。しばらくはこの状態のままであるが、次第に扁平になり元の形に戻る。なかにはなおしばらく多少隆起した厚い辺縁を残すものも認められる。この現象を写真12~17に示したが、模型図としては図8のごとき変化である。

本実験の観察開始時には約70%の卵に第1極体を認めているので、極体形成後からこの変化の起るまでの時間は明らかではない。しかし観察開始時にはごく一部の卵

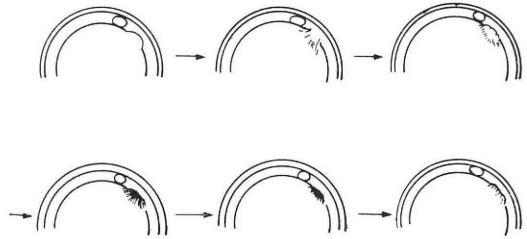


図8 卵黄表層の隆起現象

にはすでにこの変化が始まっており、他のものも観察開始後まもない時期に認められる変化であるから、おそらく第1極体形成後数十分以内に生ずるものと思われる。この変化の持続時間は多くは約20~30分位であるが、長いものでは40分位のものもみられた。またこの期間中においては変化部位周辺の卵黄周囲腔や透明帯には特別な変化は認められなかった。なお前核形成、接近の時期においてはこの隆起現象の痕跡は不明瞭となつている。

第2極体(写真11)：上記の現象を最初は第2極体形成のための変化ではないかと考えたが、第2極体の放出はこの現象の復元する頃、またはしばらくしてから他の部位から形成、放出された。その放出は非常に短時間である。

第2極体形成後の卵は連続的观察では卵黄内でたえず変化がおこっているようにみられるが、数分間隔の断続的观察では形態的には著明な変化はみられない。一方この頃になると透明帯は一見して弾力性を失なつたような感を呈し、精子の付着状態が著しく脆くなるように感じられる。卵の透明帯反応が起こると云われる時期があるとすればこれがその時期ではないかと思われる。

前核形成、接近、核融合：第2極体形成後の卵では観察の間隔を15~30分位にしたが、本実験成績では Insemination 後、雌雄両前核の形成までの時間は、大部分の卵で約4時間前後であつた。続いて両前核の接近が起こり、大小の両前核が接触してダルマ様を呈する(写真18, 19)。この状態はそのままかなり長時間続き、やがて両核の接触部位の核膜がまず不明瞭となり、続いて両核が互に対側へ引き伸ばされるような形を呈しながら全体の核膜が次第に消失し、核も埋没するように消失してしまう。この前核形成から核融合までの時間は卵によってかなりの差がみられ、5, 6時間から長いものでは8時間近いものもみられた。

卵分割(写真20~22)：核融合がおこつてから完全に両前核が消失し、第1回の卵分割のおこるまでの時間は比較的一定しており、大体1時間前後である。写真22の卵は分割完了する直前の状態で、卵黄収縮がみられる。従つて Insemination から第1回の卵分割がおこるまでの

表 7 Insemination から卵分割までの卵変化とその大体の時間的経過 (18時間卵)

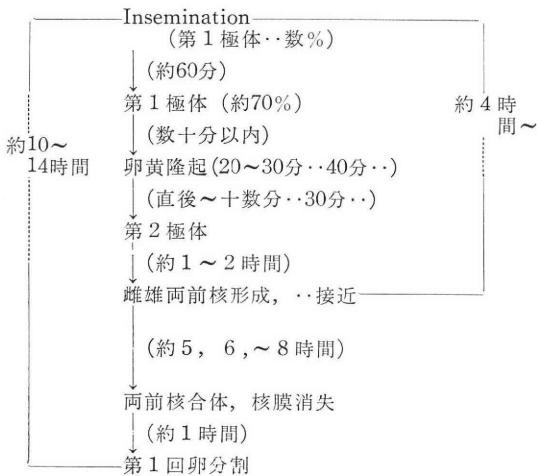


表 8 Insemination 後, 約30時間の体外受精卵の分割状態

培 養 法	培養卵数	分割卵数	未分割卵	不 等 分割卵	分 割 状 態		
					2	3 ~ 8	16
Ring-Slide 培養	87	48 (55.2%)	31	8 (9.2%)	16 (33.3%)	27 (56.2%)	5 (10.4%)
角チューブ培養	118	75 (63.5%)	37	6 (5.0%)	16 (21.3%)	50 (66.6%)	9 (12.0%)

時間は, ごく一部に9時間位のものもみられたが, 大部分は10時間から14時間位の間であり, かなりの時間的变化がみとめられた。

表7はおおよその時間的経過をまとめたものである。

2) Ring-Slide 法および角チューブ培養の分割成績 (表8)

(i) Ring-Slide 法: 実験卵数87個で, 正常分割と思われるもの48個 (55.2%), 不等分割卵8個であつた。分割の状態は2分割は16個 (33.3%), 3~8分割卵は半数以上の27個 (56.2%) であり, 16分割は5個 (10.4%) であつた。

従つて Insemination 後30時間前後の分割卵の Stage は3~8分割期が50%以上をしめている。

(ii) 角チューブ培養: Insemination 後約30時間の培養成績は, 118卵中75個 (63.5%) の正常分割を得, 実験 (i) の培養成績より高かつた。不等分割卵は6個 (5.0%) であり, 未分割卵37個中第2極体を形成しているものは8個であつた。分割の状態は3~8分割卵が50個 (66.6%) を占め, 次いで2分割卵16個 (21.3%), 16分割卵は9個 (12.0%) であつた。以上を Ring-Slide 培養によるものと比較してみると, 後者の方が分割率が低くかつ不等分割卵が多かつた。また第2極体を形成した

未分割卵でも卵黄の変形したものが多くみられた。このことは頻回の観察による物理的刺激の影響の結果であろうと思われる。

IV. 考 按

家兎卵管卵の体外受精に際し過排卵処置を行なうことは多数の卵を回収し得, 実験資料提供の点に関して意義がある。本実験では過排卵処置法を5種類に分け, 各々の採卵数を検討したが, PMS 5日間投与後48時間の間隔において HCG を使用した第IV群および第V群においては, PMS 3日間投与後直にちに HCG 使用した第I~III群におけるより有意に多くの卵を採取することができた。

これは前者では PMS 量は少いが投与期間が長く, また48時間において, 卵胞成熟に十分時間をかけたことによるものであろう。第V群の最良の成績は石島等¹⁵⁾の

報告に述べられたごとく, Estrogen が効果的に作用したものと考えられる。過排卵された卵が正常な卵で, 受精可能であることは多くの報告によつて明らかであるが, 卵を取扱わない他分野を研究する産婦人科医よりしばしば質問を受ける点である。最近においても石島等³²⁾は PMS 処置後48時間放置し, 卵胞の成熟が十分になされた場合には家兎の過排卵処置卵の受精率は99%以上であり, さらにその分割速度も正常交配による受精卵の Stage とほとんど一致すると述べている。本実験における高い分割成績からみて, 体外受精実験においてもまったく正常な成熟卵とみなして取扱つてよいと考える。

体外受精において正常な分割卵を得るのは12時間, 18時間卵で, しかも a~b-i, ii 型の卵に限られることと, 回収時の卵の形態的性状からみて, 24時間卵ではある程度の変性が始まり以後漸次その過程が進むことは明らかである。これが48時間卵の採取数が少ないことの一因となつていと云える。18~24時間の間では採卵数が次第に多くなるのは排卵の遅れたものが時間の経過とともにすべて完了したことによると考える。

家兎卵管卵の体外受精の研究は Moricard, R.¹⁸⁾, Chang, M. C.¹¹⁾, Brackett, B. G. & Williams, W. L.⁷⁾, Suzuki & Mastroianni, L.²⁷⁾²⁸⁾ 等によつてその成

功が報告されているが、これらの場合いずれも精子は雌性性器を通過させたいわゆる Capacitated sperm を使用している。1951年以来多くの報告では体外受精の成功には精子の Capacitation が必須であるとされている。わが教室では体外受精および移植の臨床への応用、特に臨床的基礎実験の場合には人の Capacitated sperm の採取は種々の面からみて問題があると思うので、射精精子による実験の成功を期待し、これまでに人および家兎卵胞卵で試みてきた。精子の Capacitation は雌性生殖器内のみでなく、体外においても内性器分泌物が存在すれば可能であるとされている。しかし Chang と Yanagimachi³⁹⁾は Golden Hamster の HCG 処置後15~17時間の卵管卵と副睾丸精子を用い、培養液としては単純な Tyrode 液を使用して体外受精に成功している。また最近、射精精子を用いて人卵の体外受精に成功している Edwards¹³⁾も卵胞液や卵管液の成分が以前考えられた程 Capacitation 獲得のために重要ではなく、確かに体外でも受精能を得るであろうと述べている。本実験では Ring-Slide 法において雌雄両前核形成、合体、分割までの動態を観察することができたので、本実験において観察した分割卵は体外受精卵と判定して誤りないと考える。したがって雌性性器分泌物を付加することなく射精精子単独を用いても体外受精に成功しようと云える。しかし本実験中何らかの形で Capacitation されていたのかもしれない。

位相差顕微鏡下の観察から得た Insemination より極体形成、前核形成の時間的経過から判断して、比較的最早い時期に精子の卵への侵入が生ずると考えられる。すなわち精子の Capacitation 獲得に必要な時間は従来考えられていた以上に短時間ではないかと推測することが可能である。このことは Chang⁹⁾や Austin²³⁾の報告とはかなりの相違がある。彼らは排卵直後の卵を対象として考えており、これらの卵への侵入遅延時間をもつて精子の Capacitation 獲得時間とみなしている。Chang⁹⁾は卵管采に注入した射精精子と交尾等のいわゆる雌性性器を通過した精子とを比較しながらその Capacitation を検討しているし、Austin²³⁾は交尾して雌性性器を上昇した精子でも2時間以上してから初めて卵への侵入がみられると述べているが、卵の受精能力についてはほとんど考慮していない。今回の実験において、排卵後約2時間の卵管卵で体外受精に成功したが、その後6時間を経た HCG 投与後18時間の卵で最高の成績を得た。すなわち厚い卵丘細胞が裸出作用を受け1~3層付着程度になった、第1極体形成前の卵が最大の受精能力を示した。24時間卵ではほとんど正常な分割を得ていないので、すでに卵の受精能力は消失しているものとみなし

うる。

したがって排卵直後の卵の受精能力は比較的低いが、次第にその能力を増し、裸出過程に入つた排卵後8時間前後でその極に達し、以後は急速に失われていくのではないかと考えられる。よつて精子侵入遅延時間をまつた精子側からだけ考えて Capacitation 獲得に要する時間とみなすのは実際に要する時間よりも長いものと判断されるので、卵の受精能力も考慮に入れるべきではないだろうか。

培養方法(2)では(1)に比べてかなり高い率の正常分割を得ている。この際主たる培養液は前者では McCoy's 5a Medium、後者では TCM 199 液と異つてはいるが、その組成には大差はないので、(2)の方法に付加した Estradiol, Estriol, HCG が何らかの形で受精現象に好適な環境を提供したものと考えられる。これは楊²⁴⁾の人卵胞卵における成績と同様の結果となつたが、その意義についてはなお不明であるので、今後検討の必要がある。

細胞分離には通常0.25%の Trypsin 液が使用されるが、卵の裸出においてこの濃度を使用すると裸出が急激に生ずること、また体外受精培養時に Fragmentation をおこす卵が多かつたので、順次濃度を減少して基礎実験を試みた。その結果0.025%では裸出作用は緩徐で、Trypsin 無処理の場合と比べて成績にもほとんど影響なく、位相差顕微鏡下の観察のための余分な顆粒膜細胞塊の除去、卵の Stage を揃える点で効果的であつたので、本実験では専ら0.025%を使用した。

今回の成績中最も興味を持つたのは、第1極体形成後の卵で第2極体形成前に起る卵黄表層の隆起現象である。哺乳類卵についてはこの所見に類似する報告はみられない。前述のごとく最初は第2極体の放出部と考えたが、その後の実験成績よりこの考えは否定された。ウニにおける受精丘と呼ばれる精子進入時の進入部位の変化がこの現象に類似している。第1極体形成後で第2極体形成前に観察され、この現象が生じた卵の大部分が正常分割へ進む点からみて、家兎においてもウニにおけると同様な現象ではないかと考えたい。残念ながら今回の観察期間中この部位からの精子進入を確認し得なかつたので今後の検討が必要であらう。

V. 結 論

1) 109羽の家兎から採取した1,227個の卵管卵と射精精子を用いて体外受精を試みた。

2) 家兎の過排卵処置として、PMS 50i.u. を5日間、最終日に Estrogen 250 γ 併用し、48時間後に HCG 100 i.u. 静注した家兎群で最も採卵数が多く、平均27.6卵で

あつた。

3) 卵管卵の性状を卵丘細胞の付着状態などにより 6 種類に分類してそれぞれ体外受精を行なつて、採卵時間別、卵の性状別にみた卵の受精能を検討した。

4) HCG 処置後、12, 18時間採卵のもので体外受精に成功し、特に18時間卵で卵丘細胞を1~3層程度付着した第1極体形成前の卵で最もよい成績を得た。HCG 処置後24時間以降の卵では不成功であつた。

5) 培養液としては TCM 199+30% R. S. よりも Mc COY'S 5a Medium+30% R.S. に水性 Estradiol, Estriol 各10 γ /dl, HCG 50i.u./dl を加えたもので、より高い分割率 (63.5%) を得た。また分割の Stage も進んでいた。

6) HCG 処置後18時間の体外受精卵を使用し、第1極体形成、卵黄表層の隆起現象、第2極体形成、雌雄前核形成、両前核合体、核膜消失、卵分割を位相差顕微鏡下で観察した。Insemination 後、前核形成まで約4時間、第1回卵分割まで約10~14時間であつた。

7) 第1極体を形成した体外受精卵で、極体周辺の卵黄表層にウニの受精丘に類似した隆起現象を観察した。

本論文の一部は第7回国際不妊学会(東京)において発表した。

稿を終るに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師林基之教授に衷心より謝意を表します。また御指導戴きました岩城章助教授に深謝致しますと共に、研究を御援助下さいましたシネサイエンス研究室の浅香時夫先生、ならびに当教室研究室の野沢あき子助手に心から御礼申し上げます。

文 献

- 1) 天野悦男: 日産婦会誌, 17, 1091, (1965).
- 2) Austin, C. R.: Austral. J. Scien. Res., Series B, Biol. Sci., 4, 581, (1951).
- 3) Austin, C. R.: Nature, 170, 326, (1952).
- 4) Austin, C. R.: Int. Rev. Cytol., 12, 337, (1961).
- 5) Austin, C. R.: J. Rep. Fertil., 12, 39, (1970).
- 6) Bedford, J. M., Chang, M. C.: Nature, 193, 898, (1962).
- 7) Brackett, B. G., Williams, W. L.: J. Exp. Zool., 160, 271, (1965).
- 8) Braden, A. W. H., Austin, C. R.: Aust. J. Biol. Sci., 7, 391, (1954).
- 9) Chang, M. C.: Nature, 168, 697, (1951).
- 10) Chang, M. C.: J. Exp. Zool., 128, 379, (1955).
- 11) Chang, M. C.: Nature, 184, 466, (1959).
- 12) Edwards, R. G., Bavister, B. D.: Nature, 221, 632, (1969).
- 13) Edwards, R. G., Bavister, B. D.: Res. Reprod. 1, 1, (1969).
- 14) Edwards, R. G., Steptoe, P. C.: Nature, 227, 1307, (1970).
- 15) 石島芳郎, 佐久間勇次: 家畜繁殖誌, 14, 43, (1968).
- 16) Jacobson, C. B., Sites, J. G.: Int. J. Fertil. 15, 103, (1970).
- 17) Menkin, M. F., Rock, J.: Am. J. Obst. Gynec. 55, 440, (1948).
- 18) Moricard, R.: Nature, 173, 1140, (1954).
- 19) Pincus, G.: Proc. Roy. Soc. B, 107, 132, (1930).
- 20) Pincus, G., Enzmann, E. V.: J. Exp. Biol., 9, 403, (1932).
- 21) Pincus, G., Enzmann, E. V.: J. Exp. Zool., 73, 195, (1936).
- 22) Pincus, G., Purshottam, N.: Anat. Rec., 140, 51, (1961).
- 23) Schenk, S. L.: Mitt. Embryol. Inst. K. K. Wien, 1, 107, (1878).
- 24) Shettles, L. B.: Am. J. Obst. Gynec. 66, 235, (1953).
- 25) Shettles, L. B.: Fertil. Steril. 6, 287, (1955).
- 26) Suzuki, S.: Cytologia, 31, 416, (1966).
- 27) Suzuki, S., Mastroianni, L.: Am. J. Obst. Gynec. 93, 465, (1965).
- 28) Suzuki, S., Mastroianni, L.: Fertil. Steril. 19, 716, (1968).
- 29) Thibault, C., Dauzier, L., Winterberger, S.: C. R. Soc. Biol. Paris, 148, 789, (1954).
- 30) Whitten, W. K.: Nature, 177, 96, (1956).
- 31) Yanagimachi, R., Chang, M. C.: J. Exp. Zool. 148, 185, (1961).
- 32) Yanagimachi, R., Chang, M. C.: Nature, 200, 281, (1963).
- 33) Yanagimachi, R., Chang, M. C.: J. Exp. Zool. 156, 361, (1964).
- 34) 楊文勳: 日産婦会誌, 15, 121, (1963).

Fertilization In Vitro Using Rabbit Tubal Ova

Yoko Okinaga

Department of Obst & Gyn.

Toho Univ, School of Med.

(Director, Prof. Motoyuki Hayashi)

1) Fertilization in vitro was studied with rabbit tubal ova and ejaculated sperm.

2) The largest number of ova (averages 27.6) were recovered from the rabbits which treated by PMS 50 i.u. intramuscularly during 5 days, Estradiol 250 γ at the last day and then HCG 100 i.u.

intravenously after 48 hours.

3) These tubal ova were morphologically classified in six types. Type a: surrounded by cumulus and granulosa cells densely. Type b: isolated each other and accompanied by thin layer of the cumulus cells. Type c: denuded but not covered by mucinous coat. Type d: completely denuded and covered by dense mucinous layer. Type e: degenerated or fragmented. Type f: cleaved by parthenogenesis.

4) Fertilization in vitro was succeeded most frequently in the ova which recovered about 18 hrs. after HCG treatment. (Type b).

5) The culture media used here as follows: TCM 199+30% rabbit serum or McCOY'S 5a

Medium+30% rabbit serum+Estradiol 10 γ /dl, Estriol 10 γ /dl, HCG 50 i.u./dl. Using the latter medium, relatively high cleavage rate (63.5%) was obtained.

6) By phasecontrastmicroscopy, following phenomena were observed: formation of the first polar body, protuberance of vitellous surface, release of the second polar body, appearance of pronuclei, syngamy and cleavage of ova.

7) At the ova which had finished the first polar body formation, the protuberant phenomenon which was resemble to the fertilization cone in the sea urchin oocytes, was observed to one part of vitelline membrane near the first polar body.

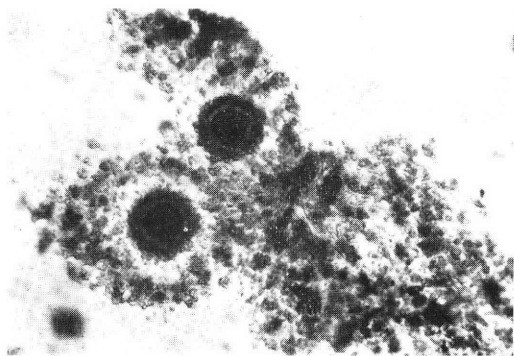


写真 1 a 卵

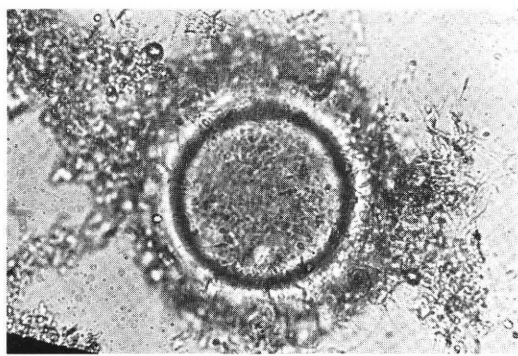


写真 2 b-i 型卵 (Insemination 直後)

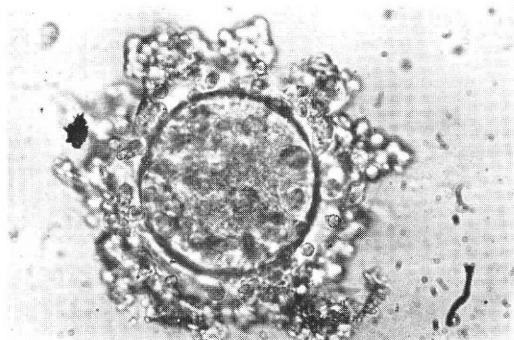


写真 3 b-ii 型卵

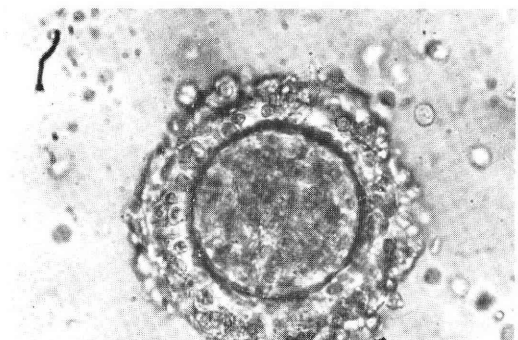


写真 4 b-ii 型卵



写真 5 b-iii 型卵

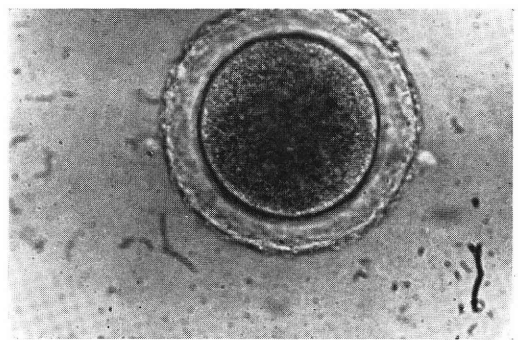


写真 6 c 卵

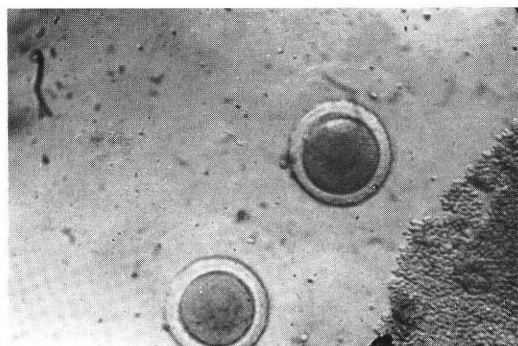


写真 7 d 卵 (HCG 処置後48時間)

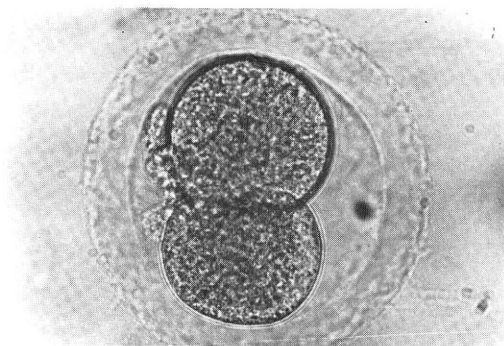


写真 8 f 卵 (HCG 処置後24時間, 処女分割卵)

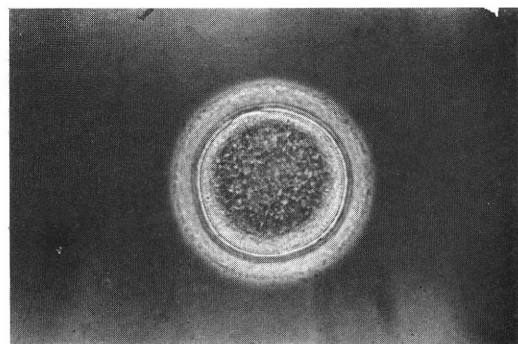


写真 9 第1極体隆起開始

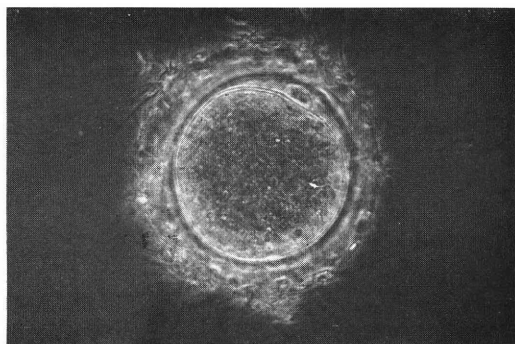


写真 10 第1極体形成

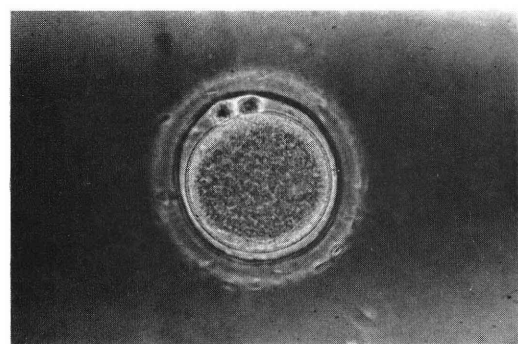


写真 11 第2極体形成

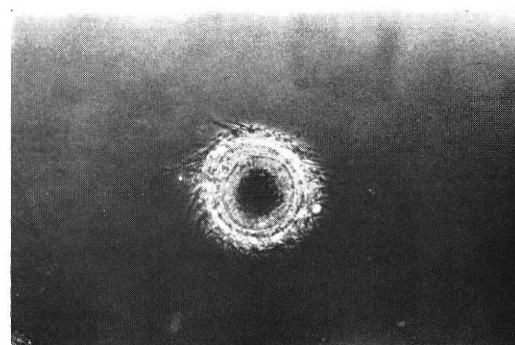


写真 12 卵黄表層隆起現象 (12~17)

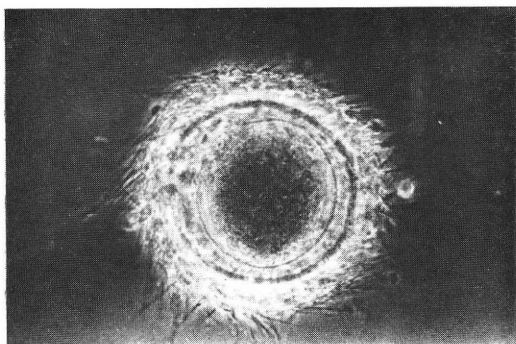


写真 13

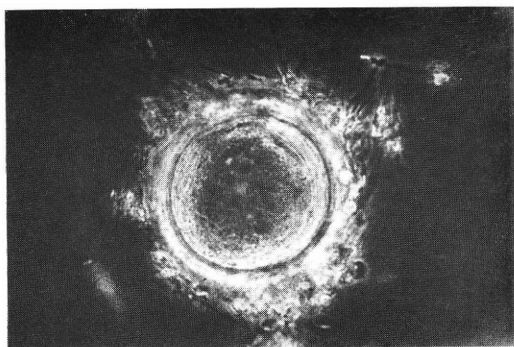


写真 14

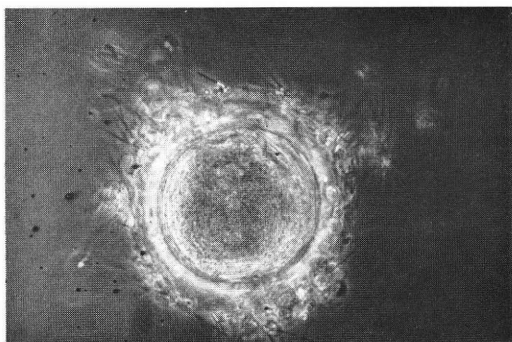


写真 15

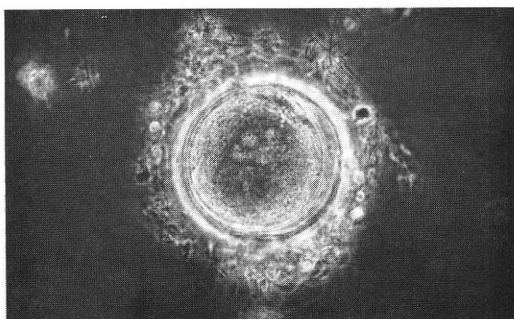


写真 16 (辺縁修復)

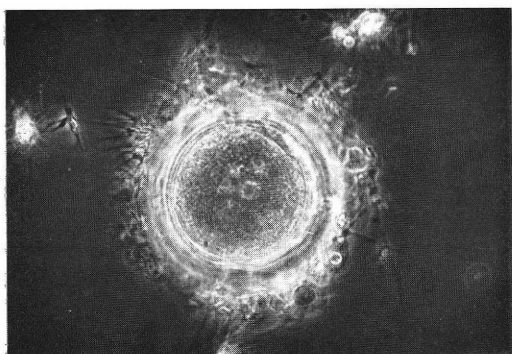


写真 17 (修復, 厚い辺縁)

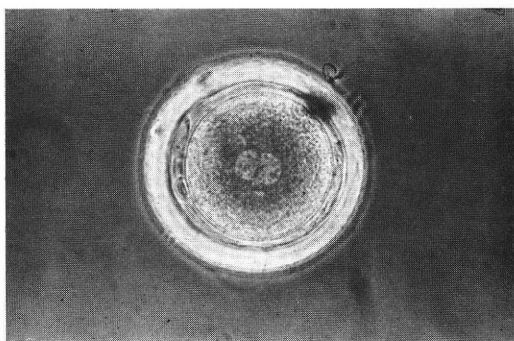


写真 18 前核形成 (卵黄周囲腔内精子)

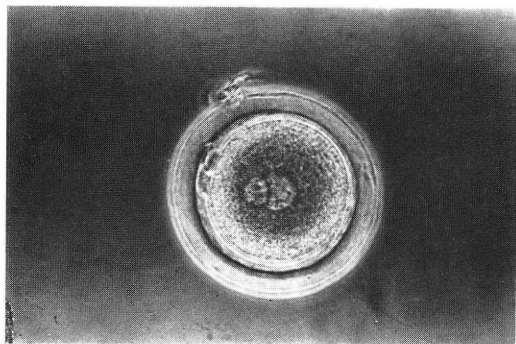


写真 19 前核形成

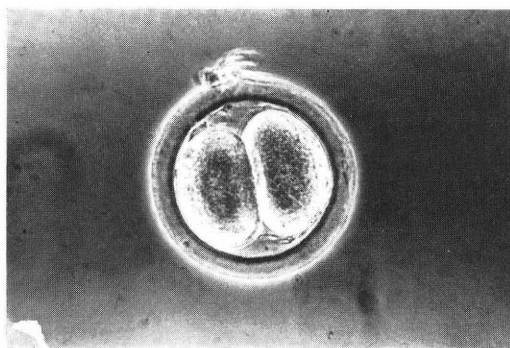


写真 20 2分割卵

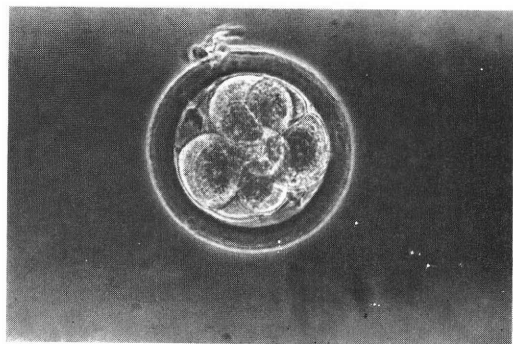


写真 21 8~16分割卵

(写真 19~21 は同一の卵)

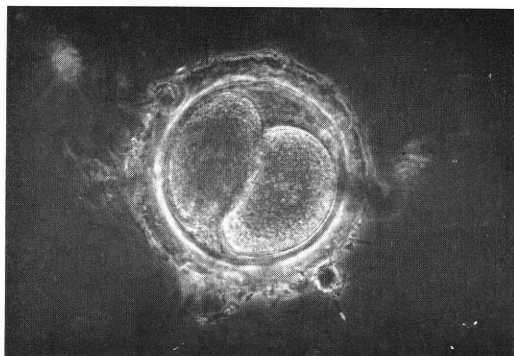


写真 22 第1回卵分割完了直前

卵管分泌液の化学的研究

特に pH, 還元糖, タンパク分画, 遊離アミノ酸について

Chemical Investigation of the Oviduct Fluid: with Special Reference to the pH Value, Reducing Sugar, Protein Fraction, and Free Amino Acids in the Rabbit Oviduct Fluid

福島医科大学産科婦人科学教室 (主任: 福島務教授)

本 田 岳
Takeshi HONDA

Department of Obstetrics and Gynecology Fukushima Medical College, Fukushima, Japan
(Director: Prof. Tsutomu Fukushima, M.D.)

家兎を卵胞群, 排卵群, 妊娠群, 去勢群の異なつた内分泌環境に分けて, その卵管分泌液を採取し化学的分析を加え, 受精, 受精卵への卵管環境の面から検討した。

pH は7.5~8.9の範囲を内分泌環境の変化に伴つて変動するのが観察された。

還元糖は個体差が大きく内分泌環境の変化に伴つた特定の傾向は認められなかつた。

総タンパク量は個体差はあるも, ほぼ1 g/dl であつた。

タンパク分画は Cellulose acetate sheet 電気泳動 Ponceau 3R, Nigrosin 染色によつて5画分, ディスク電気泳動 Amido Black 10B 染色によつて11画分, PAS 染色では7画分を分離できた。

遊離アミノ酸は Try, Lys, His, Arg, Taurine, Hypo, Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Cys, Val, Met, Ileu, Leu, Tyr, Phe が検出され, これらが内分泌環境の変化に伴つて変動するのが観察された。

I. 緒 言

卵管の病態生理に関してはその形態学的研究は数多く見られるが, 直接受精の場を構成する卵管分泌液については研究の歴史も浅く, 多くの未解決の問題が残されている。

卵管の機能としては卵巣より排出された卵の摂取, 精子移動に対する作用, 受精環境の構成, 受精卵の保護とその栄養環境構成などが考えられる。しかし直接受精の場を作り, 受精卵が子宮腔に到達するまでの3日から6日の間受精卵の保護および栄養を司り, 受精卵の初期発生に重要な役割をもつと考えられる卵管分泌液の化学的性状については不明な点が多く, これの解明は女性不妊の面から重要なものとなつて来ている。

Woskressensky¹⁾ (1891) は家兎卵管の子宮-卵管結合部と采部を結紮し, 卵管内に分泌液が貯留すること

を認め, また Bishop^{2,3)} (1956, 1957), Clewe & Mastroianni⁴⁾ (1960) らは卵管分泌液は内分泌環境の変化によつて影響を受ける分泌液であり, 濾出液ではないと報告し, その後卵管分泌液に関しては組織化学的^{5,6)}, あるいは生化学的研究^{7,8,9,10)}が行なわれて来ている。しかし卵管分泌液が受精に関与していかなる作用をもつかいまだ明解に研究されたものはない。本研究はこの受精に関与する卵管内因子の解明を目的とし, 異なつた内分泌環境のもとで家兎卵管分泌液を採取し, その pH, 還元糖, タンパク量, タンパク分画, 遊離アミノ酸の分析を行ない, その変動を観察したものであるが, これによつて卵管分泌液の成分におよぼす内分泌環境の影響について若干の知見を得たので報告する。

II. 実験材料

実験材料には雄と隔離した3~5.6 kg. の成熟雌家兎

を用い各々についてその開腹所見によつて排卵もしくは排卵出血を認めなかつた（卵胞期に相当する）ものを卵胞群（対照群），交配後24時間から26時間で排卵を確認したものを排卵群，交配後15日目で妊娠を確認したものを妊娠群，両側卵巣を摘出し，15日間放置したものを去勢群とする4群に分け，それぞれの卵管の子宮側を結紮した後，卵管采に内径1mm，外径1.7mmのpolyethylene tubeを約1cm挿入固定し，その一端にballoonを装着，腹壁を閉じてから72時間後再び開腹し，balloonに貯留した分泌液を採取してこれを実験に供した。

III. 実験方法

1) pHの測定：試料採取後ただちにpH meter（東亜電波 HM-5A）を用いて測定した。

2) 還元糖の定量：試料として卵管分泌液1.0ml，あるいは10倍希釈血清1.0mlを取り，これに5% (W/V) $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5ml および0.3N $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 0.5mlを加えて除タンパクし，その上清を10倍に希釈し，Glucoseを標準としてSomogyi-Nelson法¹¹⁾およびGlucose oxidase法¹²⁾（Glucomesser 東京臓器）で定量した。

3) 総タンパク量：ヒト血清タンパクを標準としてLowryら¹³⁾の方法で測定した。

4) タンパクの分画定量：次の2法を行なつた。① Cellulose acetate sheet 電気泳動法¹⁴⁾，卵管分泌液をVisking tubeに注入し，その周囲にSephadex G-50をまぶしてから冷蔵庫に24時間放置して約 $\frac{1}{8}$ に濃縮する。その約1.5 μl を長さ7mmの細い線としてSeparax（常光産業）上に塗布し，ついでVeronal buffer (pH 8.6, $\mu=0.06$)を用い0.8mA/cmの条件下で30~35分間泳動した後，Ponceau 3RあるいはNigrosinで染色乾燥，流動パラフィンで透明化した後デンストメーターによつて記録した（Ponceau 3Rでは504 μm ，Nigrosinでは608 μm ，スリット幅1mm）。② Polyacrylamide gel ディスク電気泳動法¹⁵⁾。試料として卵管分泌液は0.2ml，血清および腹水は0.1mlを用いた。Tris-Glycine buffer (Tris 6.0g, Glycine 28.8gを脱イオン水で溶かし1lとする)でゲル1本あたり1.5~3mAの電流の条件下で90分間泳動後，Amido Black 10Bで40分間染色し，ついで7%酢酸で24時間脱色した後デンストメーターによつて記録した（波長608 μm ，スリット幅0.1mm）。

なお以下の順序でPAS染色¹⁶⁾を行なつた。すなわち泳動後12.5%トリクロル酢酸に30分浸した後25秒水洗，ついで1%過ヨード酸に50分浸してからふたたび一晩流水で水洗したものを暗所でSchiffの試薬¹⁷⁾に50分浸した後，0.5%メタ重亜硫酸ナトリウムで10分間水洗する。これを波長504 μm ，スリット幅0.1mmで記録した。

5) 遊離アミノ酸の測定：卵管分泌液，腹水，血清それぞれ1.0mlに1%ピクリン酸5.0mlを加えて除タンパクしその上清をDowex 1 $\times$ 8（100~200メッシュ， Cl^- 型）カラム（1.8 $\times$ 3cm）にのせ流出終了後20mlの0.02N HClで洗浄し流出液および洗液を合わせ減圧濃縮乾固する。これを0.2N クエン酸緩衝液（pH 2.2）2.0mlに溶解しアミノ酸自動分析機（日本電子 JLC-5AH）により分析した¹⁸⁾。

IV. 成績

卵管分泌液のpH：卵管分泌液のpHは卵胞群7.7~8.7，排卵群7.6~8.4，妊娠群7.5~8.3，去勢群8.0~8.9の範囲にあり，また個体差および左右差のあることが観察された。一方，腹水では卵胞期において，7.7~8.1，排卵期において7.7~8.4，妊娠期において7.8~7.9の範囲をしめし，また卵胞期家兔血清は7.7~8.1であつた。

以上のことから卵管分泌液のpHは一般に血清，腹水に比してややアルカリ性で，卵胞群，去勢群においては排卵群，妊娠群に比してさらにアルカリ性に傾き，卵管分泌液のpHは内分泌環境の変化に伴なつて変動することが観察された。これに対し腹水は血清よりややアルカリ性であり，排卵期において卵胞期，妊娠期よりややアルカリ性に傾くが大きな変動は認められなかつた。

排卵群，妊娠群の卵管分泌液のpHと排卵期における腹水のpHは近似していた（Fig. 1）

卵管分泌液中の還元糖：卵管分泌液中の還元糖はSomogyi-Nelson法で，痕跡程度から150.5mg/dl（平均50mg/dl）の範囲で測定された。Glucose oxidase法によるGlucoseも痕跡程度から120mg/dl（平均45mg/dl）の範囲であつても個体差が大きく，内分泌環境の変化によつて特定の傾向は認められなかつた。また血糖値も80mg/dlから130mg/dl（平均105mg/dl）と大きな変動はなかつた。

同一家兔の卵管分泌液をSomogyi-Nelson法およびGlucose oxidase法によつて測定するとGlucoseは血

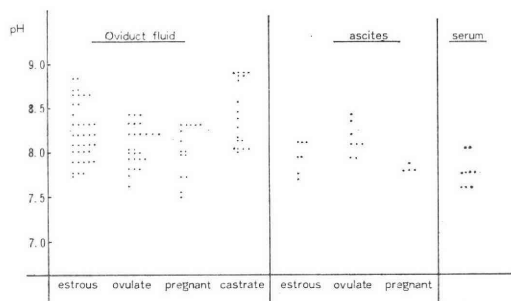


Fig. 1 pH Values of Rabbit Oviduct Fluid

Table 1 Reducing Sugar of Oviduct Fluid and Serum (mg/dl)

Rabbit	Oviduct Fluid				Serum
	Somogyi-Nelson method		Glucose Oxidase method		Somogyi-Nelson method
No.	Left	Right	Left	Right	
1	147	70			
2	—	150.5			
3	44	—			
4	39	—			
5	88	—			
6	63	135			
7	trace	18			
8	~2	~2			
9	18	18			
10	20	30			
11	18	~2			
12	21	101			
13	25.5	27			
14	39.5	49			
15	—	9	—	trace	98
16	13	25.5	5	9	105
17	110	120	90	120	130
18	115	46.5	79	26	115
19	33	60	28.5	49	80
Av.	46.8	54	50.6	40.8	105.6

糖値より低値をしめすが血糖値との相関はなく、時に左右差が認められる程度であった。

各例とも Somogyi-Nelson 法による値が Glucose oxidase 法による値を上まわっていたが還元糖の大部分は Glucose と思われた (Table 1)。

卵管分泌液の総タンパク量：卵管分泌液の総タンパク量は0.18~1.82g/dl (平均 1g/dl) で個体差が大きく、内分泌環境の変化に伴う特定の傾向は認められなかった。なお腹水の総蛋白量は1.15g~2.68g/dl (平均1.85g/dl) と卵管分泌液の総タンパク量のほぼ2倍をしめしていた (Table 2)。

卵管分泌液のタンパク分画：① Cellulose acetate sheet 電気泳動を行ない Ponceau 3R および Nigrosin で染色したものは Albumin, α_1 , α_2 , β , γ の5画分 (Fig. 2) を検出し、デンストメーターによつて Fig. 3, A-1, -2 のごときパターンを得た。

Ponceau 3R 染色では卵管分泌液は血清に比較すると Albumin 画分の易動度が低く、 α_1 と α_2 画分の分離のわるいことが認められた。Albumin 画分は卵胞群に比較して排卵群で減少を示し、妊娠群で軽度の減少、去勢

Table 2 Protein Contents of Oviduct Fluid and Ascites

Oviduct Fluid		Ascites	
No.	g/dl	No.	g/dl
1	1.2	1	1.42
2	1.33	2	1.84
3	0.5	3	2.18
4	0.5	4	1.53
5	1.82	5	1.43
6	1.43	6	1.15
7	0.99	7	1.9
8	1.03	8	1.88
9	1.18	9	1.3
10	0.43	10	1.71
11	0.18	11	2.68
12	0.68	12	2.14
13	0.29	13	2.22
14	0.75	14	2.39
15	0.73	15	1.93
16	1.78	16	1.98
17	1.13		
18	1.13		
19	1.03		
20	1.57		
21	1.47		
Av.	1.01	Av.	1.85

群では卵胞群と大きなちがいは認められなかった。 α_1 画分は排卵群、妊娠群で増加し、 α_2 画分は排卵群で増加をしめすが妊娠群、去勢群でやや減少していた。 β 画分は排卵群、去勢群で増加、妊娠群で軽度の増加を示していた。 γ 画分は排卵群で増加していた。

A/G 比は卵胞群1.61, 排卵群0.64, 妊娠群1.42, 去勢群1.53, 卵胞期血清は1.87で、排卵群に著明な A/G 比の減少が認められた (Table 3)。

Nigrosin 染色によつてもほぼ同じ傾向が認められたが Ponceau 3R 染色に比較すると α_1 , α_2 , β , γ -Globulin 画分のそれぞれが著明に染色された。このため A/G 比は Ponceau 3R 染色に比して低下していた (Table 4)。

Polyacrylamide gel ディスク電気泳動の分離は Fig. 4 のごとくであり、これをデンストメーターによつて記録すると Fig. 3, B-1, -2 のごときパターンを示した。これを中村の分類¹⁵⁾に従い ρ , Alb, α_L , α_1 , α_2 , F α_2 , Tr, β'_2 , Hp, S α , S β の11画分に分画して定量し卵胞群 (対照群) と各群のそれぞれを比較すると排卵群では Alb の低下, α_2 , Hp の軽度の増加、妊娠群では Hp に著明

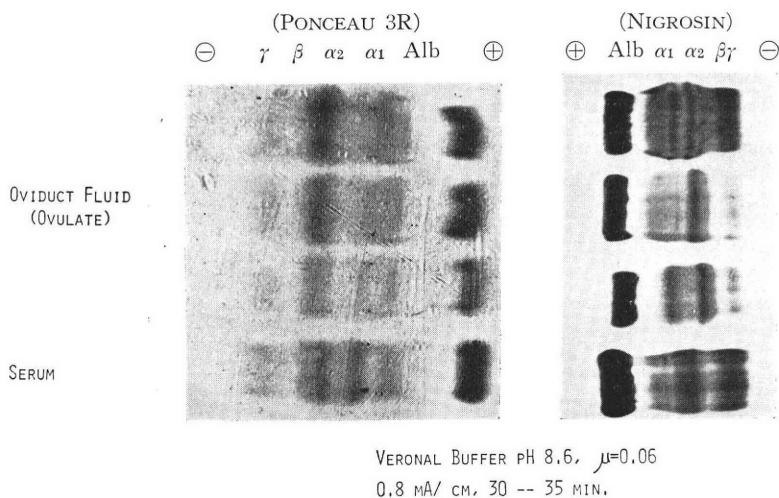


Fig. 2 Electrophoresis on Cellulose Acetate Sheet

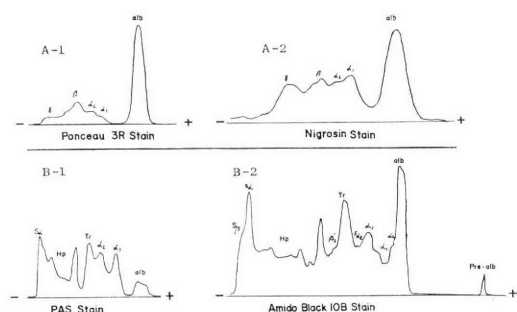


Fig. 3 Electrophoretic patterns of oviduct fluid from the ovulated rabbit.

A: Typical patterns on cellulose acetate sheets stained with Ponceau 3R (A-1) and with Nigrosin (A-2).

B: Typical patterns on Discelectrophoresis stained by PAS-reaction (B-1), and with Amido Black 10B (B-2).

な増加が認められ、去勢群では Alb, α_L , α_1 , Hp に軽度の増加, $F\alpha_2$, Tr, β'_2 に減少が認められた。その他の画分では各群に著明な差は認められなかつた。ρ画分は肉眼的には全例に認められたが微量のためデンシトメーターによつて記録することはできなかつた (Table 5, Fig. 5)。

ディスク電気泳動では7個のPAS陽性画分が検出されたのでこれらをそれぞれI~VIIとして同時に泳動したAmido Black 10B染色のタンパク画分と比較するとIはAlb (BPBによる吸収を考慮に入れて), IIは α_1 , IIIは α_2 , IVはTr, Vは β'_2 , VIはHp, VIIは $S\alpha$ に相当するものと考えられた (Table 6, Fig. 4)。

さて、これらの増減について卵胞群と各群を比較してみると排卵群ではIの減少, II, III, VIIの増加, 去勢群

ではII, IIIの消失, VIの減少, VIIの増加, さらに他の群には認められないバンド ($S\beta$ 画分に相当) の出現が認められた (Fig. 6)。

卵管分泌液の遊離アミノ酸: 卵管分泌液の遊離アミノ酸は Hypro およびアミノ酸誘導体としての Taurine を含む20種が検出された。内分泌環境の変化に関係なく Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Val, Met, Ileu, Leu, Tyr, Phe が常に認められ、これに加えて排卵群では Try, Lys が痕跡的に認められ、妊娠群では Try, Lys, His, Arg, Cys が認められた。

総アミノ酸量は卵胞群に比し排卵群では約20%の増加, 妊娠群では2倍強の増加であつたが去勢群では約30%の減少で、すなわち妊娠群は去勢群の約3倍強の量を示していた (Table 7)。

検出された遊離アミノ酸のうちで Gly が総アミノ酸の30~40%と最も多く、次に Glu (10.6~18.1%), Ser (5.6~11.3%), Thr (6.0~12.0%), Ala (9.7~10.1%) が多かつた。卵胞群と比較して特徴的なことは排卵群では Thr, Pro, Val, Ser, Gly, Ala が著明に増加し、Try, Lys が痕跡的に認められた。妊娠群においては他の群には認められないか、あるいは痕跡的に存在する Try, Lys, His, Arg, Cys が出現ならびに増加すること、Val, Met, Ileu, Leu, Tyr, Phe が卵胞期の5ないし6倍、Thr, Pro, Gly, Ala が2倍の増加を示していることである。去勢群ではいずれの遊離アミノ酸も減少を示しているが、特に著明な減少を示したものは Ser, Glu, Pro, Gly, Ala であり、Try, Lys, His, Arg, Cys は検出されなかつた (Fig. 7, 8)。

血清より検出された遊離アミノ酸は Try, Lys, His, Arg, Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Val, Met,

Table 3 Fractional Determination of Oviduct Fluid Protein by Electrophoresis on Cellulose Acetate Sheet (Ponceau 3R Stain)

		Alb (%)	α_1 (%)	α_2 (%)	β (%)	γ (%)	A/G
estrous	min.	54.5	2.7	9.8	3.0	3.6	1.61
	max.	67.1	10.4	15.4	11.9	15.4	
	Av.	61.8	7.1	13.4	8.0	9.8	
ovulate	min.	36.4	5.1	5.6	9.86	7.95	0.64
	max.	44.3	14.8	20.3	20.5	18.2	
	Av.	39.2	12.6	15.3	15.5	17.6	
pregnant	min.	40.7	8.9	6.7	7.9	6.8	1.42
	max.	72.8	16.3	10.6	17.8	14.6	
	Av.	58.7	11.4	8.6	11.3	10.1	
castrate	min.	58.9	4.4	8.2	8.7	5.9	1.53
	max.	62.0	13.1	11.3	19.3	7.7	
	Av.	60.5	8.8	9.8	14.0	6.8	
serum	min.	34.5	2.3	6.6	2.0	1.9	1.87
	max.	74.9	12.5	15.7	12.9	14.6	
	Av.	64.7	11.0	10.1	7.6	6.4	

Table 4 Fractional Determination of Oviduct Fluid Protein by Electrophoresis on Cellulose Acetate Sheet (Nigrosin Stain)

		Alb (%)	α_1 (%)	α_2 (%)	β (%)	γ (%)	A/G
estrous	min.	34.9	7.9	14.0	8.9	12.6	0.54
	max.	35.4	29.0	23.8	23.3	15.3	
	Av.	35.2	18.5	18.9	16.1	14.0	
ovulate	min.	32.7	17.3	8.6	7.6	7.2	0.58
	max.	40.9	25.1	31.0	19.0	16.8	
	Av.	36.7	20.8	15.9	15.0	12.0	
pregnant	min.	61.6	6.6	13.1	3.1	2.6	2.27
	max.	63.4	15.7	15.2	10.9	7.9	
	Av.	62.5	11.2	14.2	7.0	5.3	
castrate	min.	27.9	10.8	9.9	11.6	9.3	0.54
	max.	44.2	22.1	18.9	20.7	21.6	
	Av.	35.1	17.9	13.9	15.9	17.2	
serum	min.	37.8	14.7	11.1	11.5	8.4	0.72
	max.	47.1	16.9	21.2	19.1	17.3	
	Av.	42.0	16.4	16.1	14.0	11.4	

Ileu, Leu, Tyr, Phe, Taurine の18種類で、全体量は卵管分泌液における遊離のアミノ酸の約10倍であつた。

そのなかで多いものは全アミノ酸を100%として Gly (14.8%), Thr (10.8%), Arg (9.7%), Leu (9.6%), Ala (9.3%) などであつた。

腹水の遊離アミノ酸は Lys, His Arg, Asp, Thr,

Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Cys, Val, Met, Ileu, Leu, Tyr, Phe, Hypro およびアミノ酸誘導体としての Taurine を含む19種であり、そのなかで多いものは全アミノ酸を100%として Ser(8.3~50.7%), Thr (9.6~20.9%), Gly (7.4~18.4%) であつた。

卵胞期腹水の遊離アミノ酸に比して排卵期では全体と

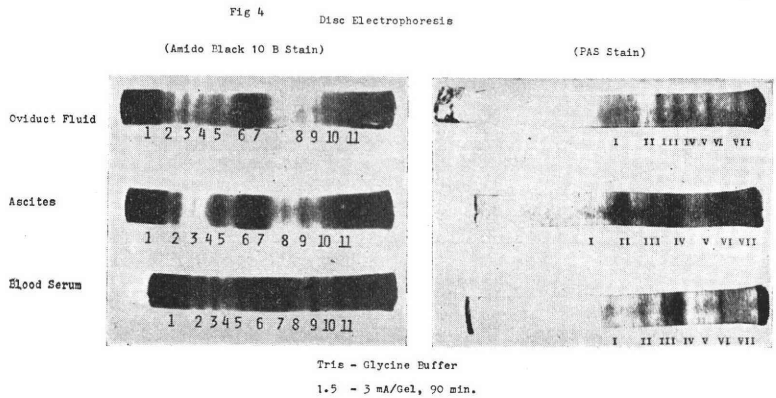


Fig. 4 Disc Electrophoresis

Table 5 Variation of Oviduct Protein Levels with Sexual Stages
Disc Electrophoresis Amido Black 10B Stain

		ρ	A (%)	α_L (%)	α_1 (%)	α_2 (%)	F α_2 (%)	Tr (%)	β'_2 (%)	Hp (%)	S α (%)	S β (%)
estrous	min.	+	24.7	2.9	1.0	1.0	6.1	13.3	4.7	17.1	8.6	1.2
	max.	+	26.5	3.4	2.5	5.1	7.6	27.7	7.6	20.0	10.2	8.6
	Av.		25.6	3.2	1.8	3.1	6.9	20.5	6.2	18.6	9.4	4.9
ovulate	min.	+	14.7	1.9	1.1	1.1	2.0	9.3	1.5	22.0	3.2	—
	max.	+	28.6	5.2	2.3	11.1	10.5	20.9	6.5	34.4	17.8	8.1
	Av.		21.9	3.7	1.8	5.2	5.5	14.2	3.9	31.4	10.0	2.9
pregnant	min.	+	24.3	5.1	0.8	1.9	2.6	9.4	3.4	34.9	8.5	—
	max.	+	38.6	5.8	6.0	6.0	6.3	27.3	4.5	58.0	11.4	3.4
	Av.		31.5	5.5	3.4	4.0	4.5	18.4	4.0	46.5	10.0	1.7
castrate	min.	+	22.5	2.6	1.7	3.0	2.6	11.4	1.3	5.4	6.5	—
	max.	+	34.2	6.2	6.2	5.5	13.4	21.8	5.0	35.7	14.0	2.6
	Av.		28.1	4.7	2.9	3.7	6.0	17.0	2.6	24.6	9.4	0.8

+ : trace

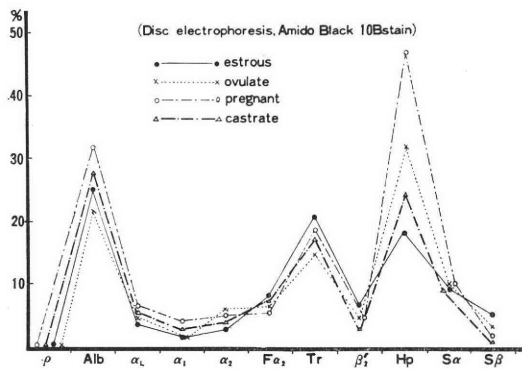


Fig. 5 Variation of Oviduct Protein Levels with Sexual Stages

卵管分泌液、腹水、血清の遊離アミノ酸構成を比較すると Table 8のごとく、卵管分泌液においては Gly の占める割合が大きいが、腹水においては Ser の占める割合が大きいのが特徴的であつた。一方、血清では全体の30%から40%を占める遊離アミノ酸は認められなかつた。

以上の遊離アミノ酸と共に卵管分泌液において尿素、アンモニアを検出し、さらに未同定の Ninhydrin 陽性物質を卵胞群で0~2個、排卵群で1~4個、妊娠群で3~4個、去勢群で1個を検出することが出来た。

V. 考 案

卵管分泌液の pH は Hadek¹⁹⁾ (1953) は羊で6.8~7.0, Olds & Demark²⁰⁾²¹⁾ (1957) は牛で6.4~6.7, Blandau & Rumery²²⁾ (1958) はラットで7.31~8.53 と報告しているが、さらに彼らは交尾期のラットの卵管

して約30%程度の増加を示し、妊娠期では卵胞期におけるアミノ酸量の 1/2 以下に減少していたが、卵胞期、排卵期には認められない Taurine, Hypo が認められた。

Table 6 Variation of Oviduct Protein Levels with Sexual Stages
Disc Electrophoresis PAS Stain

	I (Alb)	II (α_1)	III (α_2)	IV (Tr)	V (β'_2)	VI (Hp)	VII (S α)
estrous	5.2	0.3	9.6	16.5	3.4	47.5	13.8
ovulate	3.6	6.6	15.0	15.5	4.5	31.6	23.4
castrate	0.6			18.5	3.6	22.7	23.1
serum	8.7		8.5	41.0	2.0	30.8	0.9

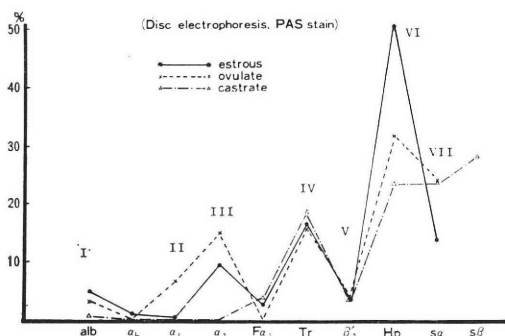


Fig. 6 Variation of Oviduct Protein Levels with Sexual Stages

分泌液を部位別に採取することにより腹腔内に近い部分の分泌液はよりアルカリ性に傾くと報告している。家兎について秋山ら²³⁾ (1961) は 8.6~9.5, Bedford & Chang²⁴⁾ (1962) は 7.6~8.2, Vishwakarma²⁵⁾ (1962) は特殊な装置を用いて 7.710~8.286, Hamner & Williams²⁶⁾ (1965), Suzuki, S. & Mastroianni²⁷⁾ (1965), 野嶽ら²⁸⁾ (1968) は 7.8~8.2 と報告しており、いずれもおおよそ 7.6~8.2 の範囲の報告が多い。

著者の実験では卵管分泌液の pH は同時に採取された血清、腹水よりややアルカリ性で、卵胞群では 7.7~8.7, 排卵群では 7.6~8.4, 妊娠群では 7.5~8.3, 去勢群では 8.0~8.9 とおおよそ 7.5~8.9 の範囲に観察され、上述の報告と同様、7.6~8.2 付近の例が多かった。この pH 測定には個体差の大きいことから厳密には同一家兎によってその卵胞期、排卵期、妊娠期、去勢時の卵管分泌液を採取し pH を測定すべきであろう。しかし卵管分泌液採取が困難であったので、著者は家兎を 4 群に分けて卵管分泌液を採取し、それらを対比することによって異なった内分泌環境でのおおよその傾向を知ることが出来た。Bedford & Chang²⁴⁾ (1962) は in vitro において受精は培養液の pH が 7.6~8.2 で最も成功率が高かったと報告し、Suzuki, S. & Mastroianni²¹⁾ (1965) も家兎卵管分泌液を培養液とした in vitro の受精の実験で卵管分泌液の pH を 8.0~8.2 にする必要があると報告した。

著者の実験成績では卵管分泌液の pH が 7.6~8.2 の

ものが卵胞群(58.9%), 排卵群(76.9%), 妊娠群 (66.6%), 去勢群 (47.4%) に認められることから排卵, 受精, 受精卵の初期発生にはやはり 7.6~8.2 付近の pH が至適と考えられる。Lutwak-Mann²⁹⁾ (1962) が卵管および子宮分泌液中に重炭酸塩を含んでいることを報告し、Hamner & Williams³⁰⁾³¹⁾ (1964) は重炭酸塩が精子の代謝促進因子として重要であると報告したが卵管分泌液の pH を決定する因子としては卵管分泌液中の CO₂, 重炭酸塩が考えられており、卵管分泌液 pH が内分泌環境の変化に伴なって変動することから、重炭酸塩の含有量が内分泌環境の影響を受けるのではないかと考えられる。

卵管分泌液の還元糖については Bishop²⁾ (1956) は Glucose, Fructose をごく少量認めたにすぎないと報告し、Holmdahl & Mastroianni³²⁾ (1965) らは卵管分泌液の細菌感染および酵素作用を防止するために Clewe & Mastroianni⁴⁾ (1960) らの装置に冷却装置をつけて卵管分泌液を採取し、'cold' 側と 'warm' 側とを比較し、'cold' 側に Glucose の多いことを報告している。Hamner & Williams²⁶⁾ (1965) は遊離の糖として Ribose, Erythrose, Arabinose, Fucose, Xylose, Lyxose, Rhamnose, Sorbose, Galactose, Fructose, Mannose, Glucose を検討したがごく少量の Glucose を認めたのみと報告している。

著者の実験においてもやはり卵管分泌液の還元糖は痕跡程度のもので 100mg/dl 以上をしめすものまで測定され、個体差が大きく、内分泌環境の変化に伴った特定の傾向は認められなかった。卵管分泌液の Glucose と血糖を同時に測定すると (Table 1, No. 15~19) 卵管分泌液の Glucose 量は血糖値より高くなることはないが血糖との相関もなかった。しかし卵管の左右によって差のあることを認め、しかも Somogyi-Nelson 法により測定した還元糖の値より Glucose が常にやや下まわることから、卵管分泌液には Glucose 以外の還元糖、または還元性物質の存在が推定される。

卵管分泌液の総タンパク量については Hamner & Williams²⁶⁾ (1965) が家兎で 0.273g/dl, 山崎³³⁾ (1963)

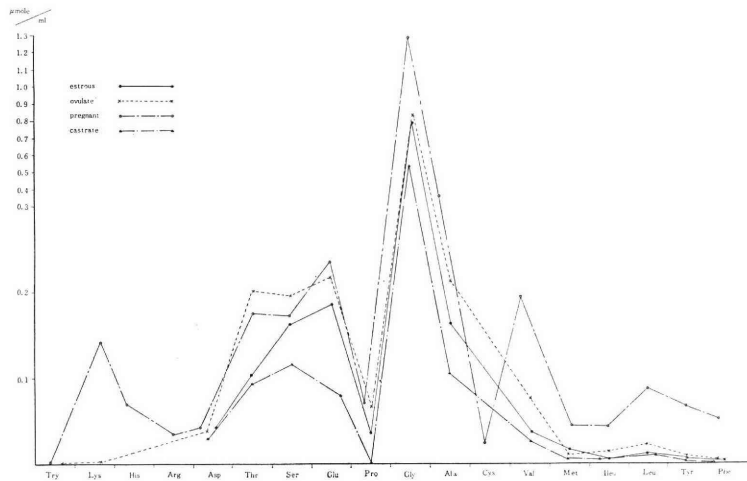


Fig. 7 Free Amino Acids in Rabbit Oviduct Fluid

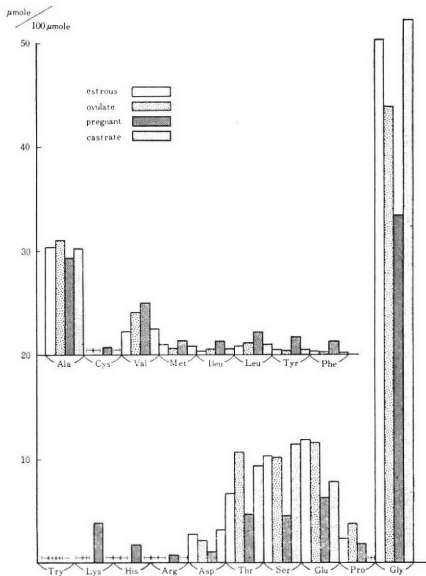


Fig. 8 Molar Composition of Free Amino Acids in the Oviduct Fluid

は卵管分泌液を凍結乾燥し、そのタンパク量を測定したところ25.2~34%がタンパクであつたと報告し、Perkins & Goode³⁴⁾ (1966) は雌羊で3.03mg/dl と報告している。これらの報告に比較すると著者の測定値は0.29~1.82g/dl (平均1g/dl) と個体差はあるもやや高値をしめしており、内分泌環境の変化に伴つた特定の傾向を観察することはできなかった。

生殖器分泌液のタンパク分画については Albers & Castro³⁵⁾ (1961) がラットの子宮分泌液で5画分を認め、

家兎卵管分泌液のタンパク分画については秋山ら²³⁾ (1961) が Albumin+ α_1 , α_2 , β , γ の4画分を分離したことを報告している。Marcus³⁶⁾ (1965) がアカゲザルの卵管分泌液について Albumin, α_1 , α_2 , β , γ 画分を認め、これらは γ -Globulin の低下を除けば血清とほぼ同じであると報告している。しかし著者の家兎に関する成績では Albumin, α_1 , α_2 , β , γ の5画分分離は同じであるが、血清のそれと比較すると Albumin 画分の易動度が少なく、 α_1 と α_2 画分の分離がやや悪いことから両者が異なつたタンパク組成を有するものと考えられる。

Cellulose acetate sheet 電気泳動 Ponceau 3R 染色で A/G 比は卵卵群、去勢群、妊娠群、排卵群の順に低下し、排卵群における A/G 比の低下は著明であり、卵管分泌液のタンパク分画は内分泌環境の変化に伴つて変動すると考えられ、特に排卵群において α_1 , γ 画分の増加が著明であることから考えて、受精、受精卵の初期発生へ重要な役割をもつものとする。

さらに Polyacrylamide gel ディスク電気泳動, Amido-Black 10B 染色では11画分を分離し、Hp 画分が排卵群、妊娠群で増加することからこの画分が受精、受精卵の初期発生に重要な役割をもつものではないかと考えられる。また PAS 染色では I~VII 画分を検出し、Hp 画分に相当すると思われる PAS 陽性画分 VI を著明に検出することができた。しかもこれらの PAS 陽性画分は内分泌環境の変化に伴つて変動することが観察されたのでこれらが生殖機転に何らかの役割を有するものと思われる、さらに検討の必要があろう。

家兎卵管分泌液の遊離アミノ酸は Gregoire ら³⁷⁾ (1961) が Ala, Glu, Gly, Ser, Thr を検出し、Pro-

Table 8 Molar Composition of Free Amino Acids in Oviduct Fluid, Ascites and Serum ($\mu\text{mole}/100\mu\text{moles}$)

	Oviduct Fluid				Ascites			Serum
	estrous	ovulate	pregnant	castrate	estrous	ovulate	pregnant	
Try	—	(+)	(+)	—	—	—	—	(+)
Lys	—	(+)	6.4	—	—	4.3	10.3	0.7
His	—	—	3.3	—	2.9	2.1	4.5	7.7
Arg	—	—	1.9	—	1.8	5.2	7.7	9.7
Taurin	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—	(+)	(+)
Hypro	(+)	—	(+)	(+)	—	—	(+)	—
Asp	3.8	2.8	1.7	4.6	0.1	0.3	0.2	2.2
Thr	7.6	12.0	6.0	11.0	9.6	20.9	20.3	10.8
Ser	11.3	10.9	5.6	12.8	50.7	8.3	10.1	8.2
Glu	18.1	17.2	10.6	12.1	0.8	1.5	4.5	6.4
Pro	2.9	4.3	2.6	(+)	3.6	9.3	7.4	5.7
Gly	39.2	33.5	29.4	41.8	17.8	18.4	7.4	14.8
Ala	9.7	10.1	9.7	9.7	4.5	11.2	4.5	9.3
Cys	—	—	1.8	—	(+)	2.8	1.9	—
Val	2.8	4.9	7.1	3.1	3.2	5.4	10.3	5.4
Met	1.6	1.0	2.1	1.2	1.2	1.7	1.6	1.0
Ileu	0.5	0.8	1.8	0.8	1.0	1.5	1.9	2.3
Leu	1.2	1.5	3.6	1.6	1.8	3.0	4.8	9.6
Tyr	0.7	0.8	3.8	0.8	0.8	2.0	1.6	2.7
Phe	0.4	0.4	2.6	0.3	0.9	1.6	1.4	3.6

(+) : trace

gesterone の投与で Gly, Ser が2倍に増加したと報告, 秋山ら³⁸⁾ (1962) はろ紙クロマトグラフィーおよび高压濾紙電気泳動法により Ser, Asp, Pro, His, Thr, Ala, Val, Phe, Arg, Lys を検出し, Hamner & Williams²⁶⁾ (1965) も, Lys, Asp, Ser, Gly, Glu, Ala, Val, Leu, Met を検出している. Perkins & Goode³⁹⁾ (1967) は雌羊卵管分泌液について Lys, His, Arg, Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Half Cys, Val, Met, Ileu, Leu, Tyr, Phe を検出しているが著者は従来の報告に加え Try, Hypro, Taurine を検出することが出来, しかもこれらが内分泌環境の変化に伴なつて変動するのを観察した. すなわち卵管分泌液の総アミノ酸は血清の総アミノ酸のほぼ1/10程度であり, 卵胞群に比し排卵群では10~20%の増加, 妊娠群では約2倍, 去勢群では30%の減少をしめしていた. とくに排卵群における著明な変化は Thr, Glu, Pro, Val の増加および Try, Lys の出現であり, 妊娠群では Try, Lys, His, Arg が増加するのが観察され, いかなる内分泌環境においても存在していた遊離アミノ酸は Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Val, Met, Ileu, Leu, Tyr, Phe である. 次に卵管分泌液の各遊離アミノ酸構成について検討すると, 卵

胞群では Gly (39.2%), Glu (18.1%), Ser (11.3%), Ala (9.7%), Thr (7.6%) の占める割合が大きく, 排卵群では Gly (33.5%), Glu (17.2%), Thr (12.0%), Ser (10.9%), Ala (10.1%), 妊娠群では Gly (29.4%), Glu (10.6%), Ala (9.7%), Val (7.1%), Lys (6.4%), 去勢群では Gly (41.8%), Ser (12.8%), Glu (12.1%), Thr (11.0%), Ala (9.7%) の順序であつた. 特徴的なことは Gly が30~40%前後をいかなる内分泌環境においても占めることである. これらは腹水, 血清のアミノ酸構成と異なつており, このことから卵管分泌液は腹水, 血清と異なつた組成の分泌液で内分泌環境の影響を受けていると考えられる.

さて異なつた内分泌環境における卵管分泌液の遊離アミノ酸について述べたが卵管分泌液が重要な役割を果たすのは排卵期においてと考えられ, この変化はまず全体量の増加および Try, Lys の出現と Thr, Val の増加であつた, Gly も全体に占める割合は減少しているが絶対量は増加しており, 受精, 受精卵の初期発生には Try, Lys, Thr, Gly, Val が重要なのではないかと考えられる.

Perkins & Goode³⁹⁾ (1967) は羊の卵管分泌液で5個

の未同定 Ninhydrin 陽性物質を検出している。

著者も家兎において遊離アミノ酸、尿素、アンモニアと同時に1個ないし4個の未同定 Ninhydrin 陽性物質を検出し、しかもこれらが内分泌環境の変化に伴なつて増減することを確認し、これらの物質は生殖生理上意義をもつものと考えられる。

VI. 総 括

1) 成熟家兎を卵胞群、排卵群、妊娠群、去勢群の異なる内分泌環境に分けて卵管分泌液を採取し、化学的分析を加えた。

2) 卵管分泌液の pH は 7.5~8.9 の範囲で内分泌環境の変化に伴ない変動するのが観察された。

3) 卵管分泌液の還元糖は Somogyi-Nelson 法で痕跡から 150.5mg/dl, Glucose oxidase 法で痕跡から 120 mg/dl と個体差が大きく、血糖値より低値をしめすが血糖との相関は認められなかった。還元糖の大部分は Glucose であり Glucose 以外の少量の還元性物質の存在が推定された。

4) 総タンパク量は 0.18~1.82g/dl と個体差が大きい。

5) タンパク分画は Cellulose acetate sheet 電気泳動で5画分、ディスク電気泳動 Amido Black 10B 染色で11画分、PAS 染色で7画分を分離し、いずれも内分泌環境の変化に伴なつた変動を観察した。

6) 遊離アミノ酸は Try, Lys, His, Arg, Hypro, Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Cys, Val, Met, Ileu, Leu, Tyr, Phe, Taurine が検出され、これらの内分泌環境の変化に伴なつた変動が観察された。

7) 遊離アミノ酸の検出と同時に尿素、アンモニア、および未同定の Ninhydrin 陽性物質を4個検出した。

本論文の要旨は第16回日本不妊学会総会で発表し、第7回国際不妊学会総会シンポジウムに参加している。

稿をおわるに臨み、御指導、御校閲を頂きました福島務教授、山崎一男講師並びに始終暖かな御指導、御援助を頂きました本学学生化学教室 鶴見膠一教授、教室員各位、本学公害研究室 長井靖教授、研究員各位に対し深甚なる感謝の意を表します。

文 献

- 1) Woskressensky, M. A.: Zentralbl. Gynäk., 15: 849, (1891).
- 2) Bishop, D. W.: Am. J. Physiol., 187: 347, (1956).
- 3) Bishop, D. W.: Intern. J. Fertil., 2: 11, (1957).
- 4) Clewe, T. H. & Mastroianni, L.: J. Reprod.

- Fertil., 1: 146, (1960).
- 5) Novak, E. & Everett, H. S.: Am. J. Obst. & Gynec., 16: 499, (1928).
- 6) Fredricsson, B.: Acta Obst. & Gynec. Scand., 38: 109, (1959).
- 7) Hadek, R.: Anat. Rec., 121: 187, (1955).
- 8) Mastroianni, L. & Wallach, R. C.: Am. J. Physiol., 200: 815, (1961).
- 9) Zamboni, L., Hongsanand, C. & Mastroianni, L.: Fertil. & Steril., 16: 177, (1965).
- 10) Mastroianni, L. & Ehteshamzadeh, J.: J. Reprod. Fertil., 8: 145, (1964).
- 11) Somogyi, M.: J. Biol. Chem., 195: 19, (1952), Nelson, N.: J. Biol. Chem., 153: 375, (1944).
- 12) Papadopoulos, N. M. & Hess, W. C.: Arch. Biochem. Biophys., 88: 167, (1960).
- 13) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J.: J. Biol. Chem., 193: 265, (1951).
- 14) 小川 恕人: 臨床病理, 11: 46, (1966).
- 15) 中村 正二郎: 臨床病理, 11: 72, (1966).
- 16) Zacharius, R. M., Zell, T. E., Morrison, J. H. & Woodlock, J. J.: Anal. Biochem., 30: 148, (1969).
- 17) McGuckin, W. F. & McKenzie, B. F.: Clin. Chem., 4: 476, (1958).
- 18) 波多野博行: アミノ酸自動分析法, 31, 化学同人, (1964).
- 19) Hadek, R.: Nature, 171: 976, (1953).
- 20) Olds, D. & Van Demark, N. L.: Am. J. Vet. Res., 18: 587, (1957).
- 21) Olds, D. & Van Demark, N. L.: J. Am. Vet. Med. Ass., 131: 555, (1957).
- 22) Blandau, R., Jensen, L. & Rumery, R.: Fertil. & Steril., 9: 207, (1958).
- 23) 秋山精治, 宗像昭雄, 滝田忠雄, 山崎一男: 臨産婦, 15: 195, (1961).
- 24) Bedford, J. M. & Chang, M. C.: Nature, 193: 898, (1962).
- 25) Vishwakarma, P.: Fertil. & Steril., 13, 481, (1962).
- 26) Hamner, C. E. & Williams, W. L.: Fertil. & Steril., 16: 170, (1965).
- 27) Suzuki, S. & Mastroianni, L.: Am. J. Obst. & Gynec., 93: 465, (1965).
- 28) 野嶽幸雄, 飯塚理八, 鈴木秋悦: 臨産婦, 22: 865, (1968).
- 29) Lutwak-Mann, C.: Biochim. Biophys. Acta., 58: 637, (1962).
- 30) Hamner, C. E. & Williams, W. L.: Fed. Proc., 23: 430, (1964).
- 31) Hamner, C. E. & Williams, W. L.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 117: 240, (1964).
- 32) Holmdahl, T. H. & Mastroianni, L.: Fertil. & Steril., 16: 587, (1965).
- 33) 山崎一男: 日産婦誌, 15: 172, (1963).

- 34) Perkins, J. L. & Goode, L.: J. Animal Sci., 25: 465, (1966).
- 35) Albers, H. J. & Castro, M. N. e.: Fertil. & Steril., 12: 142, (1961).
- 36) Marcus, S. L. & Saravis, C. A.: Fertil. & Steril., 16: 785, (1965).
- 37) Gregoire, A. T., Gongsakdi, D. & Rakoff, A. E.: Fertil. & Steril., 12: 322, (1961).
- 38) 秋山精治, 島根正美, 宗像昭雄, 滝田忠雄, 山崎一男, 新野香逸: 日不妊会誌, 7: 21, (1962).
- 39) Perkins, J. L. & Goode, L.: J. Reprod. Fert. 14: 309, (1967).

Chemical Investigation of the Oviduct Fluid: with Special Reference to the pH Value, Reducing Sugar, Protein Fraction, and Free Amino Acids in the Rabbit Oviduct Fluid

Takeshi Honda

Department of Obstetrics and Gynecology
Fukushima Medical College, Fukushima, Japan

The chemical properties of the oviduct fluids obtained from the estrous, the ovulate, the pregnant and the castrated rabbits were examined, comparing with those of the ascites or the serum.

The pH value of the fluids ranged from 7.5 to 8.9. These values were slightly more basic than the ascites and serum. The result showed that the pH of the oviduct fluid underwent a cyclical change which seemed to correspond to the sexual stage.

The reducing substances in the fluids were estimated by the Somogyi-Nelson method. Marked difference was observed in the value among individuals and between the fluids obtained from the right and left oviducts, the values ranging from trace to 150.5 mg/dl as glucose (average 50 mg/dl). When measured by the glucose oxidase method, the mean glucose content of the fluids was 45 mg/dl. The glucose values also showed a marked difference among the animals. The average reducing value of the fluids, however, was lower than that of the sera i.e. 105 mg/dl. The

results showed that there was no correlation between the levels of the fluid and the serum.

The protein content of the individual normal fluid showed some variations, ranging from 0.18 g/dl to 1.82 g/dl, giving the mean of 1g/dl.

Protein fractions of the fluid were examined by electrophoresis on the cellulose acetate sheet (pH 8.6 in veronal buffer) after the fluid was concentrated to about 1/8 of the original volume. The result revealed that the fluid contained albumin, α_1 -, α_2 -, β -, and γ - globulins, the distribution of protein fractions being approximately the same as that in the ascites and the blood serum. On examination by disc electrophoresis, Amido Black 10B used for staining, 11 types of proteins were detected. In the fluid of the pregnant group the haptoglobin fraction was increased comparing with the fluids of other conditions. When stained with PAS staining, seven PAS-positive fractions were detected.

Free amino acids in the fluid were estimated by an automatic amino acid analyzer. The amino acids detected were as follows: tryptophane, lysine, histidine, arginine, hydroxyproline, aspartic acid, threonine, serine, glutamic acid, proline, glycine, alanine, cystine, valine, methionine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, and taurine. In addition, five unidentified ninhydrin positive compounds, urea and NH_3 were present. Among the amino acids detected the content of glycine was the highest in all samples, accounting for about forty per cent of the total amino acid content in the fluid. The total amino acid content was higher in the fluid of the pregnant rabbits than in other fluids from rabbits with different conditions: the content in pregnancy was two and three times as high as the contents in the estrous and castrated conditions, respectively. What was noteworthy was the fact that lysine, histidine and arginine were always detected in the fluid in the pregnant condition. The lowest content of the total amino acid was observed in the castrated animals.

These results suggest that the metabolism of amino acids in the oviduct is considerably influenced by sex hormones.

不妊に関する免疫学的研究

Immunological Studies on Infertility

千葉大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 御園生雄三教授)

満 野 博 章

Hiroyuki MITSUNO

Dep. Obst. Gynec., Chiba Univ., School of Medicine

(Director: Prof. Y. Misonou)

不妊症の一部には免疫学的機序によるものがあるのではないかと考えられるので、精液による同種免疫の可能性を検討するため、ヒト精液の抗原系について分析し、免疫発現の条件を吟味し、さらにその他の血清学的因子の関与をも含めて免疫学の上から不妊の問題を究明した。

すなわち、腔内に射精された精液は、その滞留時間から考えて抗原性発現の機会が十分にあり得、またヒト精漿の抗原分析では種属特異性抗原ほか多数の抗原よりなることを知り得たが、そのうち同種間の免疫現象に関与し得る抗原は ABO 式血液型抗原と、精漿特異抗原と考えられた。また血清学的因子として子宮頸管粘液中の同種血球凝集素の存在は、不妊に関しては特別の影響はないものであつた。婦人血清中の抗精漿抗体は99例中63例にみられたが、精漿に特異的に反応する抗体は不妊群の3例にのみ認められ、その他は白血球抗原に対応するものであり、精漿と白血球との共通抗原の存在を明らかにした。

緒 言

精液の抗原性に関する研究は Landsteiner¹⁾ Metchnikoff²⁾以来かなり早くから検討が進められて来たが、近年の免疫学の進歩に伴つて、原因不明といわれている不妊症の一部には、免疫学的機序によるものがあるのではないかと考えられるようになり、精液による同種免疫の可能性が論ぜられている。

動物実験においては磯島³⁾, Katsh⁴⁾らが雌モルモットに、McLaren⁵⁾は雌マウスに、Menge⁶⁾⁷⁾は雌家兎および雌牛にそれぞれ同種の精液、精子、および睾丸で免疫した場合、妊娠率が著しく低下することを報告している。

一方ヒトにおいては古くは Rosenfeld⁸⁾, Baskin⁹⁾は精液を注射した婦人は約1年間不妊となり、その血中に Spermatotoxin を認めている。最近大谷¹⁰⁾は精液蛋白で免疫した婦人の血中に抗体の産生を認め、同種免疫による不妊の存在を示唆している。

ところで精液による同種免疫を検討する場合、まず抗原の分析がなされねばならない。精液の抗原は単一の抗原からなるものではないからである。したがって抗原の種類や抗原性の強弱、抗原性の特異性などを検討し得て

こそ不妊に関与する抗原を決定し得るわけである。この観点から、ヒト精液の抗原系について検討し、さらに免疫発現の条件を吟味し、加えてその他の血清学的因子の関与をも含めて、免疫学の上から不妊の問題を究明したわけである。

I. 実験方法と実験材料

1. 免疫発現条件の吟味

腔粘膜を通じて精液中の抗原が吸収されて同種免疫が成立するには、抗原の反復注入と長時間にわたる抗原の腔内滞留がなければならない。抗原の反復注入に関しては実際の不妊患者との問診にみられるように、その全てにおいて問題はないと考えられるので、腔内滞留時間を検討するために酸性フォスファターゼ法、および精子鏡検により腔内容より精液の有無を検査し、予め問診によつて確め得た性交日時よりの経過時間を計算して検討を加えた。

i. 酸性フォスファターゼ法による精液の証明

千葉大学医学部産科婦人科外来を訪れた一般外来および不妊外来患者計96名を対象とし、脱脂綿にて腔内を十分に拭い、室温で乾燥のち生食水で浸出して遠心沈澱

し、その上清について木村の法¹¹⁾にしたがつてパラニトロフェニール磷酸ソーダを使用して検査した。

ii. 精子鏡検

腔内容の附着せる脱脂綿を生食水で十分に浸出し、これをコリンストックス法により染色して鏡検した。酸性フォスファターゼ陽性にもかかわらずはじめの鏡検で精子が証明されないものについては、他の附着部についても検査を行なった。

2. ヒト精漿の抗原分析

ヒト精液の液性部分である精漿が多数の抗原からなるであろうことは容易に想像されるので、免疫学的方法によつて精漿の抗原系を分析した。すなわち精漿を免疫抗原としてウサギを免疫し、産生されたヒト精漿抗原に対応する抗体の特異性を Ouchterlony 法および赤血球凝集反応、Latex 凝集反応、沈降反応によつて検討し、既知抗原との関連を究明した。

i. 抗ヒト精漿血清の作製

免疫動物は体重約 3 kg 以上の成熟ウサギを選び、血清学的体質を検査した上で抗体産生に適したものを使用した。免疫抗原には健康男子より採取した正常精液を液化後直ちに遠心沈澱して、その上清をとり、ABO 式血液型を考慮して使用した。各精漿のそれぞれ 1 ml に同量の Freund's Complete Adjuvant を加え、1 週間隔で 7 回ウサギの腰筋に注射し、最終注射後 7 日目に採血して抗体の産生を確かめてから全採血した。血清分離後 56°C 30 分間非働化して窒化ソーダを 0.1% の割合に加えて -20°C に保存し、使用に臨んで室温で溶解した。

ii. 赤血球凝集反応 (ホールグラス法)

ヒト各型赤血球を洗滌の上 1% 赤血球浮遊液を作り、抗血清の倍数稀釈列にマントー針で一滴滴下して、37°C 1 時間保温のち凝集の有無を検査した。全く凝集のないものを - とし、凝集せるものは凝集塊の大きさによつて 卅, 卅, + の 3 段階に区別して記載した。

iii. Latex 凝集反応 (ホールグラス法)

Polystyrene Latex (Bacto-Latex 0.8 μ) 1 容に 10 倍稀釈精漿 2 容を加えて攪拌し、室温にて 1 時間放置して Latex 粒子に抗原を吸着せしめた。しかる後遠心沈澱して洗滌し、1% Latex 浮遊液を作製して抗血清との反応を検査した。凝集反応の術式は血球凝集反応と同様であるが、反応 Medium 洗滌液および浮遊液作製には pH 8.2 Borate-Saline Buffer を使用した。

iv. 沈降反応

重層法により抗原価、抗体価を測定した。

v. Ouchterlony 法

Ouchterlony による寒天ゲル内沈降反応を行ない、37°C 湿室に保存、72 時間後に沈降線を観察した。

vi. 抗体の吸収

抗体の特異性を検討するため既知抗原を使用して抗体の吸収を行つたが、血液型抗体、種属特異性抗体の吸収にはヒト ABO 各型血球を使用し、吸収抗原が精漿、血清等液性の場合には Latex 粒子あるいはカオリン粒子に吸着せしめて使用した。

3. その他の血清学的因子の究明

精液による同種免疫の有無とこれによる不妊を検討する場合、受胎を阻害する他の因子の影響を除外しなければならない。ところで子宮頸管粘液中には型的凝集素があると報告¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾されているが、これと不妊との関係を究明するため、血球凝集反応により凝集素の有無を検査し、併せて V 式血液型¹⁵⁾との関係を検討した。

対象は一般外来および不妊外来患者計 82 名で各々ツベルクリン用注射筒にて頸管粘液を吸引し、同時に唾液を採取した。子宮頸管粘液はきわめて粘稠であるため、生食水を加えて 2 倍以上に稀釈して液状としてから検査に使用した。術式は V 式血液型の検査法に準じた。

4. ヒト血清中の抗精漿抗体の検索

婦人の血清中に精液に対応する抗体が実際に産生されているか否かを検討するために、妊婦 51 名、不妊患者 40 名、未婚女性 8 名計 99 名を対象として、各々の血清と O 型ヒト精漿および O 型ヒト白血球浸出液を使用して Latex 凝集反応を行なった。また抗体の特異性を調べるため吸収試験を行なった。なお白血球浸出液の作製は三好の法¹⁶⁾によつた。

II. 実験成績

1. 精液の腔内滞留時間について

i. 酸性フォスファターゼ試験による精液の検出

パラニトロフェニール磷酸ソーダを基質として 96 例の腔内容を検査したところ、陽性の成績を示したものは 61 例であつた。さらに陽性例について性交後 24 時間以内に採取したものは全例陽性 (100%) であつたが、採取迄の時間が長くなるにつれて陽性率は次第に低下し、73 時間以上 96 時間以内に採取したものではその半数が陽性 (50%)、さらに 97 時間以上を経過するとその陽性率は激減した。そこで表 1 の時間の区分を 0 時間～96 時間と 97 時間～140 時間の 2 区分として検討したところ、前者では約 78.4% が陽性、後者では約 13.6% が陽性となり、性交後 96 時間以内は大多数の腔内容中に精液が混在していることを知り得た。

ii. 精子の検出

酸性フォスファターゼ試験による精液の検査は、精液の中の前立腺分泌液に含まれている酸性フォスファターゼの存否を目標として、精液の有無を検査する方法であ

表 1 精液，精子腔内滞留時間の検索

a) 酸性フوسفァターゼ試験
パラニトロフェニール燐酸
ソーダによる直接呈色反応

b) 精子鏡検
コリンストックス染色

性交後時間	例数	酸 フ 陽 性		精 子 陽 性	
0 ~ 24	8	8	} 78.4%	8	} 89.4%
25 ~ 48	30	28		26	
49 ~ 72	24	16		1	} 5.6%
73 ~ 96	12	6		1	
97 ~ 120	10	1	} 13.6%	0	} 0 %
121 ~ 140	12	2		0	
計	96	61		36	

るが、精液中の有形成分である精子を目標とした場合はどうか。前述の96例についてコリンストックス染色を行ない、精子の有無を検討したところ、表1に示したように0時間～24時間までは全例陽性（100%）、25時間～48時間までは30例中26例陽性（86.7%）で、97時間以上を経過したものでは精子を認めることは出来な

かった。ところで性交後採取迄の時間の区分を0時間～48時間と49時間～96時間、97時間～140時間に区分して検討したところ、前者は精子の発現率が89.4%、中者は5.6%、後者は0%であり、性交後48時間以内のものはほとんど大部分の腔内容中に精子の混在していることを知り得た。したがって以上 i. ii. 両者の成績から考えて、腔内に射精された精液は歩行、体位の変換、入浴等にもかかわらず、精漿中の一成分である酸性フォスファターゼを目標として検査した場合には大多数の腔内容中には96時間（4日間）も滞留しており、精子を目標として検査した場合でも48時間（2日間）は大多数の腔内に滞留していることになり、腔粘膜を經由して抗原性発現の機会が十分にあり得ることを知り得た。

2. ヒト精漿の抗原分析

ヒト精漿を抗原としてウサギを免疫して得た抗血清の性状を検討し、精漿に含まれている抗原系を究明した。抗原として使用したヒト精漿の中には、ヒト唾液と同様に ABO 式血液型抗原が含まれていることは先人の業績^{17),18)}によつて明らかにされているので、まず OS 型、AS 型、BS 型のヒトに由来した精漿をそれぞれのウサ

表 2 ヒト精漿免疫血清と各種抗原との反応 (凝集反応)

免 疫 血 清		OS 型精漿免疫 (o')								AS 型精漿免疫 (α')								BS 型精漿免疫 (α')							
血清稀釈		2 ⁿ n=								2 ⁿ n=								2 ⁿ n=							
		1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
未 吸 収	A型ヒト血球	卅	卅	卅	+	+	-	-	-	卅	卅	卅	卅	+	+	-	-	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
	B型ヒト血球	卅	卅	卅	+	+	-	-	-	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅	+	+	-	-
	O型ヒト血球	卅	卅	卅	+	+	+	-	-	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
	O型ヒト血清	卅	卅	卅	+	+	-	-	-	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	卅	卅	卅	+	+	-	-	-
	O型ヒト精漿	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-	卅	卅	卅	卅	+	+	-	-
O血球で 吸収	A型ヒト血球	-	-	-	-	-	-	-	-	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	B型ヒト血球	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	O型ヒト血球	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	O型ヒト血清	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	O型ヒト精漿	卅	卅	+	+	-	-	-	-	卅	卅	+	-	-	-	-	-	卅	卅	+	-	-	-	-	-
A血球で 吸収	A型ヒト血球	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B型ヒト血球	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	O型ヒト血球	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	O型ヒト血清	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	O型ヒト精漿	卅	卅	+	+	-	-	-	-	卅	卅	+	-	-	-	-	-	卅	卅	+	-	-	-	-	-
B血球で 吸収	A型ヒト血球	-	-	-	-	-	-	-	-	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B型ヒト血球	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	O型ヒト血球	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	O型ヒト血清	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	O型ヒト精漿	卅	卅	+	+	-	-	-	-	卅	卅	+	-	-	-	-	-	卅	卅	+	-	-	-	-	-

表 3 ヒト精漿免疫血清と各型ヒト精漿との反応 (沈降反応: 抗体価)

免疫血清		O S 型 精 漿 免 疫								A S 型 精 漿 免 疫								B S 型 精 漿 免 疫							
血清稀釈 反応抗原		2 ⁿ n=								2 ⁿ n=								2 ⁿ n=							
		1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
未 吸 収	AS 型 ヒト精漿	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	BS 型 //	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	OS 型 //	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	s 型 //	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
O 精 S 漿 型で ヒト 吸収	AS 型 //	—	—	—	—	—	—	—	—	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—	—	—	—	—	—	—	—
	BS 型 //	—	—	—	—	—	—	—	—	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—	—	—	—	—	—	—	—
	OS 型 //	—	—	—	—	—	—	—	—	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—	—	—	—	—	—	—	—
	s 型 //	—	—	—	—	—	—	—	—	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—	—	—	—	—	—	—	—

(沈降反応: 抗原価)

免 疫 血 清		O S 型 精 漿 免 疫										A S 型 精 漿 免 疫										B S 型 精 漿 免 疫									
抗原稀釈 反応抗原		2 ⁿ n=										2 ⁿ n=										2 ⁿ n=									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	2	3	4	5	6	7	8	9	10	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
未 吸 収	AS型ヒト精漿	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	BS型 ”	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊				
	OS型 ”	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊				
	s 型 ”	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊				
O精 S漿 型で ヒト 吸収	AS型 ”	—	—	—	—	—	—	—	—	—	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊				
	BS型 ”	—	—	—	—	—	—	—	—	—	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊				
	OS型 ”	—	—	—	—	—	—	—	—	—	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊				
	s 型 ”	—	—	—	—	—	—	—	—	—	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊				

ぎに免疫して得た抗血清について、ヒト血球との反応を検査したところ表2のような成績を得た。

すなわち3者とも明らかに A. B. O 各型ヒト血球と強く反応する凝集素が産生されており、同時に作用せしめたO型ヒト血清、OS 型ヒト精漿とも強く Latex 凝集反応陽性を示した。ところがO型ヒト血球で吸収すると、ヒト血球との反応は AS 型精漿免疫血清ではA型ヒト血球とのみ、BS 型精漿免疫血清では僅かにA型、B型ヒト血球と反応し、その他は完全に消失した。しかしながらヒト血清との反応は僅かに陽性であり、ヒト精漿とは明らかに強い反応を示した。またA型血球、B型血球で同様の吸収を行なうと、血球との反応は消失し、ヒト血清ならびにヒト精漿との反応のみが陽性であった。したがってこの免疫血清中には、ヒト血球に広く作用するいわゆる種属特異性抗体と血液型抗体（少なくとも抗A凝集素）、ヒト血清と反応する抗体、ヒト精漿と反応する抗体が産生されていたわけである。

ついで ABO 式血液型の異なる各型ヒト精漿を使用し

て沈降反応を行なつたところ表3の成績を得た。未吸収の場合には血液型に関係なく使用した全てのヒト精漿と同じように強く反応したが、OS 型ヒト精漿で吸収した場合は OS 型 BS 型ヒト精漿で免疫した抗血清では全ての反応が陰性となり、AS 型精漿で免疫した抗血清では OS 型、s 型精漿との反応は消失したが、AS 型精漿、BS 型精漿とは反応し、前者では強く、後者では弱い反応であった。したがってこれら抗血清中には、各型ヒト精漿に共通して強く作用する抗体が産生されており、かつ AS 型精漿免疫血清中には AS 型および BS 型精漿と反応する血液型抗体も産生されていたわけである。ところで、この血液型抗体については、AS 型精漿で免疫した場合に AS 型精漿とは強く、BS 型精漿とは弱く反応する抗体であったので、これは抗A抗体と A. B に共通した抗体である抗C抗体が産生されていたものと解される。

ついで精漿に特異的に反応する抗体の性状を検べるために Ouchterlony 法により検討したところ、図1、2

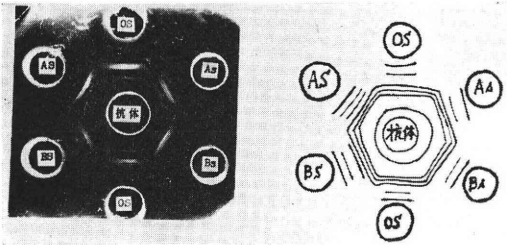


図 1 Ouchterlony 法
(未吸収)

抗体：抗ヒト精漿家兎血清
AS, BS, OS：各型分泌型精漿
As, Bs：各型非分泌型精漿

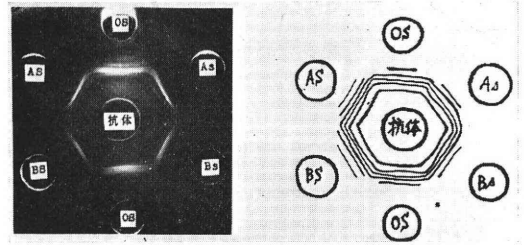


図 2 Ouchterlony 法
(O型ヒト血球にて吸収)

抗体：抗ヒト精漿家兎血清
AS, BS, OS：各型分泌型精漿
As, Bs：各型非分泌型精漿

2の成績を得た。未吸収の抗血清と各型精漿との間には7～8本の沈降線が出現したが、O型ヒト血球で吸収した抗血清ではいずれの精漿との間にも明らかに最外側に出現した沈降線が消失してしまった。前述の凝集反応の成績によつて、O型ヒト血球で吸収される抗体は種属特異性であるから、未吸収抗血清と精漿との間に出現した最外側の沈降線は種属特異性の抗原抗体反応に由来したものと考えられる。AS型、BS型精漿との間にはそれぞれ消失した沈降線の内側に1本の沈降線が出現しており、これはいずれもABO式血液型の抗原抗体反応に由来したものと考えられる。ところで各精漿に共通して吸収前も吸収後も出現した沈降線は、中間に位する最も明瞭なる3本の沈降線と、最内側に出現した1本の沈降線であり、この4本の沈降線の出現によつてヒト精漿に特有な抗原系は少なくとも4種以上あるものと考えられる。

さて以上の凝集反応、沈降反応、Ouchterlony法の成績によつてヒト精漿には種属特異性抗原をはじめ、ABO式血液型抗原、ヒト血清との共通抗原、ヒト精漿に特有な抗原4種以上が含まれていることを明らかにし得たわけであるが、この抗原の存在は異種免疫によつて確認し得たものであり、本論文の主題である不妊との関係においては当然同種間の免疫現象が問題であるから、以上の抗原系のうち、種属特異性抗原とヒト血清との共通抗原は免疫抗原になり得ない。したがつて陰粘膜を經由しての免疫現象に関与し得る抗原は、ABO式血液型抗原と精漿に特有な抗原4種以上であると考えられる。

3. その他の血清学的因子について

ヒトの子宮頸管粘液中には、血清中に含まれているABO式血液型抗体と同種の自然抗体が分泌されていると報告されており¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾、これと不妊との関係が議論されている¹⁴⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾。したがつて不妊と精液による同種免疫との関係を究明する場合は、これらの事実を検討し、それと不妊との関連の如何を明らかにせねばならない。ところでヒト唾液中にも血清中の凝集素と平行して

表 4 頸管粘液ならびに唾液中の凝集素(I)

血 型	例 数	頸管粘液中凝集素		唾液中凝集素	
		陽 性	陰 性	陽 性	陰 性
A	34	22	12	30	4
B	16	8	8	10	6
AB	6	0	6	0	6
O	26	20	6	26	0
計	82	50	32	66	16

ABO式血液型抗体が存在しており、これは特に分泌されているものと、されないものに区分され、V式血液型と呼ばれている¹⁵⁾ので、このV式血液型との関連をも考慮して同一人の唾液と子宮頸管粘液について同種血球凝集素の有無を検査した。

その成績は表4に示したように、82例中子宮頸管粘液で凝集素を認めたものは50例、認めなかったものは32例、唾液で凝集素の認められたものは66例、認められなかったものは16例であり、一見子宮頸管粘液中の凝集素の有無はV式血液型とは必ずしも一致しないものようであつたが、これは子宮頸管粘液がきわめて粘稠であるため、生食水で2倍以上に稀釈して検査せざるを得なかつたため、低力価の凝集素を検出し得なかつたためとも考えられ、唾液中に凝集素の認められないものはすべて子宮頸管粘液中にも認められなかつたので、これは両者とも平行して存否しているものと判断される。

さて子宮頸管粘液中に凝集素が存在している場合は精液、特に精子に存在する血液型抗原との間に抗原抗体反応が起り得ることは当然予想されるところであり、かかる現象は少なからず受胎に対して影響を及ぼすであろうと考えられる。そこで頸管粘液中の凝集素の有無について不妊群と経妊産婦との異同を求めたところ表5の成績を得た。不妊群は37例中26例(70.3%)が陽性、対照群は45例中24例(53.3%)が陽性であり、さらに前述の低

表 5 頸管粘液ならびに唾液中の凝集素(II)

	例数	頸管粘液中凝集素		唾液凝集素	
		陽 性	陰 性	陽 性	陰 性
不 妊	37	26	11	32	5
対 照 (経妊産婦)	45	24	21	34	11
計	82	50	32	66	16

表 6 ヒト血清と各型ヒト精漿との反応
(Latex 凝集反応)

区 分	血液型	陽 性	陰 性	計
妊 婦	A	15	8	23
	B	8	2	10
	AB	2	2	4
	O	12	2	14
	小計	(37)	(14)	(51)
不 妊	A	10	8	18
	B	1	3	4
	AB	5	3	8
	O	8	2	10
	小計	(24)	(16)	(40)
未 婚	A	0	0	0
	B	1	1	2
	AB	1	2	3
	O	0	3	3
	小計	(2)	(6)	(8)
男 子 (対 照)	A	1	12	13
	B	0	4	4
	AB	0	2	2
	O	1	2	3
	小計	(2)	(20)	(22)
総 計		65	56	121

力価のものの検出漏れを補正する意味で唾液について同様の検討を行なつたところ、不妊群では37例中32例(86.5%)、対照群では45例中34例(75.6%)であつた。したがつて対照群との間に判然とした区別はみられなかつた。

4. 婦人血清中の抗精漿抗体について

前述の1, 2の成績により、ヒト精液中には同種免疫において抗原性を発現し得る多数の抗原があり、しかも腔内における精液の滞留時間は免疫現象が十分に起り得る長時間であることを明らかにして来た。したがつて実際にかかる精液による同種免疫が発現しているならば、既婚婦人の血清中にはヒト精液と反応する抗体が産生されている可能性があるわけである。

表 7 ヒト血清とヒト白血球との反応
(Latex凝集反応)および吸収試験

検体区分	白血球との反応陽性	吸 収 後	白血球との反応陽性	精漿との反応陽性
妊 婦 (37)	37	白血球吸収 精漿吸収	0 37	0 0
不 妊 (24)	21*	白血球吸収 精漿吸収	0 21	3* 0
未 婚 (2)	2	白血球吸収 精漿吸収	0 2	0 0

() 精漿との反応陽性

そこでこの観点からヒト精漿を吸着せしめた Latex 粒子を使用してヒト血清との凝集反応を試みたところ、表6の成績を得た。すなわち検査した99例の婦人血清のうち陽性を示したものは63例(63.6%)であり、明らかに婦人血清の中にはヒト精漿と反応する抗体が産生されていたわけである。さらにこの抗体の発現率について婦人を妊婦、不妊、未婚に区分して検討したところ、表6に示したように妊婦群では51例中37例(72.5%)が陽性、不妊群では40例中24例(60%)が陽性、未婚群では8例中2例(25.0%)が陽性であつた。ところで既婚者において陽性率の高いのは当然であるが、未婚者や、対照の男子にもわずかではあるが陽性者があつたことは如何なる理由によるものであろうか。まず考えられることはヒト精漿と反応した抗体は他の抗原とも反応する抗体であつて、精漿特有の抗原に対応した抗体ではないのではなからうかということ。第2は未婚者であつてもこの種の免疫の機会はある得であらう、ということである。

さて第1の点については妊産婦血清中には白血球抗体が産生されているので、これとの異同を検べるために、10名のO型のヒトから採取した白血球浸出液を使用して Latex 凝集反応を行なつたところ、表7に示したように前述の99例のうち60例(60.6%)に陽性であつた。この陽性者は全て精漿との反応も陽性であり、白血球とは反応しないが精漿とのみ反応したものは僅かに3例であつた。したがつて前述の精漿と反応した抗体はヒト白血球とも反応する抗体と、精漿とのみ反応する抗体から成つていたわけである。

そこでさらに抗体の特異性を明らかにするために、これら抗体を精漿およびヒト白血球で吸収して検討したところ表7の成績を得た。ヒト白血球ならびにヒト精漿の両者と反応した抗体は、ヒト白血球で吸収した場合はヒト精漿との反応は全て陰性となつたが、ヒト精漿で吸収した場合はヒト白血球とはなお陽性の反応を示した。また精漿とのみ反応した抗体はヒト白血球によつては吸収

されず、ヒト精漿によつて完全に吸収された。したがつて白血球ならびにヒト精漿の両者と反応した抗体は本来白血球抗原に対応する抗体であつて、ヒト白血球とヒト精漿との共通部分によつてヒト精漿とも反応したものと考えられる。前述の未婚者および男子陽性者はいずれもこの種の抗体であつた。

ところで、白血球抗体とは別に、精漿とのみ反応する抗体が3名にみられたことは、精液による同種免疫が起り得ることを実際に示したものと考えられ、しかもその3名が不妊群に属していたことは、精液による同種免疫が不妊の原因となり得る可能性を示唆するものと考えられる。なお、ここに検討した白血球抗体、抗精漿抗体の出現率は夫婦間の血液型の組合せの上からは特に偏りはみられなかつた。

III. 考按と総括

性交後、精子や精液蛋白が婦人の体内に吸収されて、これに対応する抗体が産生されるならば、かかる抗体は当然 Spermatotoxin として作用するであろうから、これが不妊の原因になるのではなからうかという疑問に関して、かつては Mayer²⁴⁾、Vogt²⁵⁾らの不妊例の観察の上から、また Dittler²⁶⁾、Henle²⁷⁾らの動物実験の上から肯定、否定の意見が述べられていた。ところが最近になつてこの問題は再び注目され、なかでも磯島³⁾、Katsh⁴⁾らは動物実験の上から、大谷¹⁰⁾らは実際例の調査ならびに動物実験の上からいずれも精液免疫による不妊の存在を肯定しているようである。筆者もまたこの問題に興味をいだき、不妊との関連を解明すべく前述のような精液による同種免疫の可能性を中心に検討を重ねてきたわけである。

まず第1に免疫現象発現の条件について検討を加えたところ、抗原である精漿、あるいは精子は性交後長時間腔内に滞留していることが明らかになつた。

ヒト精液の抗原性に関しては、Weil²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾がヒト精子には抗原性はみられず、精液の抗原性は精漿に由来するものであるとの発表以来、ヒト精漿の抗原については多くの研究³¹⁾³²⁾³³⁾³⁴⁾がなされているが、精漿は多数の成分よりなり、また免疫方法、あるいは免疫動物の抗体産生能力の相違などから精漿抗原の数については報告者によつてかなり違いがある。他の臓器等の共通抗原に関しては、最近 Hekman & Rümke³⁵⁾は人乳中の lactoferrin が精漿中にも存在していると報告し、磯島³⁶⁾も人乳成分との共通抗原を認めている。また血清との共通部分の存在は一般に認められている。

そこで第2に精漿の抗原系について異種免疫抗体を使用して検索を進めたところ、ゲル内沈降反応によつて

7～8本の沈降線を認め、さらに凝集反応、沈降反応の結果より、種属特異性抗原、血清との共通抗原、ABO 式血液型抗原および精漿特異抗原が認められたが、このうち同種免疫に関与して抗原性を発現し得るものは ABO 式血液型抗原をはじめ、少なくとも4種以上の精漿に特有な抗原が存在することを知り得た。

ところが以上のように精液による同種免疫発現の可能性があるとすると、これがただちに不妊の原因となり得るか否かは疑問である。この現象以外にも不妊の原因となり得る強力な要素が存在すれば、それとの競合、あるいは相乗の結果も不妊の原因となり得るからである。

この意味から第3に女性性器内に精漿、あるいは精子の生物化学的活性を阻害する要素があるか否かを検討しなければならぬ。ところがこの点に関しては子宮頸管粘液中に含まれている同種血球凝集素の問題があり、Behrman¹⁴⁾らは不妊の一因としてその存在に注目していたので、その存否と不妊と関係を検討したところ、V 式血液型(唾液における同種血球凝集素の分泌、非分泌)と平行して子宮頸管粘液中にも明らかに同種血球凝集素が分泌されており、分泌されているものでは当然対応する血液型の精子はその活性を阻害されるであろうと予想されたが、血球凝集素が分泌されている例は不妊群と対照群(経妊産婦)では特別の偏りがなく、不妊に関しては特別の影響はないものようであつた。したがつて血清学的な要因からは、精液による同種免疫が不妊の原因となり得るものと考えられたわけである。ABO 式血液型不適合と不妊の問題に関しては、現在は否定的な意見¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾が多いようであるが、Ackerman²²⁾²³⁾は抗血型抗体によつて同型の精子の anaerobic glycolysis が低下し、電気泳動速度が変る点を主張しており、未だ結論は得られていないようである。

そこで実際にかかる免疫現象が発現しているならば、婦人の血清からは精液に対する抗体を検出し得る可能性があるわけであり、Franklin & Dukes³⁷⁾³⁸⁾は精子凝集素について報告しており、また磯島³⁹⁾は精子不動化抗体に関する研究を行なつている。この意味から第4に精漿を吸着せしめた Latex 凝集反応によつて抗精漿抗体の検索を行なつたところ、婦人血清では明らかに63.6%もの陽性者がみられた。ところが未婚女性の中にも2名の陽性者があり、対照として検査した男子血清中にも少数例陽性者があつたので、精漿以外の抗原に対応する抗体による反応とも考えられたので、かなりの頻度で妊娠婦血清中に産生されている白血球抗体との異同を検討するため、白血球との反応ならびに白血球、精漿を用いて吸収試験を行なつたところ、そのほとんどが白血球によつて完全に吸収される抗体であり、わずかに3例のみが白

血球による吸収後もなお精漿と反応する抗体であつた。またこの抗体を精漿で吸収した場合は精漿のみならず、白血球との反応も消失したので、この抗体こそ精漿に対応する抗体であると考えられた。しかもこの抗体が不妊群の3例にみられたことは精液による同種免疫が不妊の原因となり得ることを実際に示唆したものと考えられる。

結 論

1. 腔内に射精された精液の多くは、精漿を目標とした場合は96時間(4日間)、有形成分である精子を目標とした場合でも48時間(2日間)腔内に滞留していた。

2. ヒト精漿の抗原分析の結果、ヒト精漿は種属特異性抗原、ABO 式血液型抗原、ヒト血清との共通抗原、ヒト精漿特異抗原からなり、同種間の免疫現象に関与し得る抗原は ABO 式血液型抗原と、精漿に特有な抗原4種以上と考えられた。

3. 子宮頸管粘液中には唾液中と平行して同種血球凝集素が存否していたが、凝集素の有無と不妊との関連は特に認められなかつた。

4. 婦人血清中の抗精漿抗体は99例中63例に認められたが、精漿に特異的に反応する抗体は不妊群の3例にのみ認められた。その他の抗体は白血球抗原に対応するものであつた。

本論文の一部は第13回不妊学会総会において発表した。

稿を終るに臨み御指導、御校閲をいただいた恩師御園生雄三教授に謹謝致します。また、本研究について終始直接御指導をいただいた本学法医学教室木村康教授に深謝致します。

文 献

- 1) Landsteiner, K.: Zbl. Bakt., 25 : 546-549, (1899).
- 2) Metchnikoff, E.: Ann. Inst. Pasteur., 13 : 737-769, (1899).
- 3) Isojima, S., Graham, R. G. & Graham, J. B. Science, 129 : 44, (1959).
- 4) Katsh, S.: Am. J. Obst. & Gyn., 78 : 276-278, (1959).
- 5) McLaren, A.: Nature, 201 : 582-585, (1964).
- 6) Menge, A. C.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 127 : 1271-1275, (1968).
- 7) Menge, A. C.: J. Reprod. Fert., 13 : 445-456, (1967).
- 8) Rosenfeld, S. S.: Am. J. Obst. & Gyn., 12 : 385-388, (1926).
- 9) Baskin, M. J.: Am. J. Obst. & Gyn., 24 : 892-897, (1932).

- 10) 大谷善彦: 第18回日産婦総会招請特別講演要旨, 35-37, (1966).
- 11) 木村康: 日本法医学雑誌, 13 : 542-551, (1959).
- 12) Gershowitz, H., Behrman, S. J. & Neel, J. V.: Science, 128 : 719-720, (1958).
- 13) Solish, G. I., Gershowitz, H. & Behrman, S. J.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 108 : 645-649, (1961).
- 14) Behrman, S. J., Buettner-Janusch, J., Hegla, R., Gershowitz, H. & Tew, W. L.: Am. J. Obst. & Gyn., 79 : 847-855, (1960).
- 15) 鈴木利一: 日本法医学雑誌, 12 : 331-341, (1958).
- 16) 三好武美: 千葉医会誌, 47 : 45-51, (1971).
- 17) Edwards, R. G., Ferguson, L. C., Coombs, R. R. A.: J. Reprod. Fertil., 7 : 153-161, (1964).
- 18) Boettcher, B.: J. Reprod. Fertil., 9 : 267-268, (1965).
- 19) Isojima, S., Tsuzuki, O.: Am. J. Obst. & Gynec., 102 : 304-306, (1968).
- 20) Boettcher, B., Hay, J.: Am. J. Obst. & Gyn., 100 : 437-441, (1968).
- 21) Solish, G. I.: J. Reprod. Fertil., 18 : 459-474, (1969).
- 22) Ackerman, D. R.: Nature, 213 : 253-256, (1967).
- 23) Ackerman, D. R.: Fertil. & Steril., 20 : 324-333, (1969).
- 24) Mayer, E.: Klin. Wchnschr., 1 : 1142-1144, (1922).
- 25) Vogt, E.: Klin. Wchnschr., 1 : 1144, (1922).
- 26) Dittler, R.: München med. Wchnschr., 77 : 1495-1497, (1920).
- 27) Henle, W. & Henle, G.: J. Immunol., 38 : 105-115, (1940).
- 28) Weil, A. J., Kosteral, O. & Wilson, L.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 92 : 606-610, (1956).
- 29) Weil, A. J. & Rodenburg, J. M.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 105 : 43-45, (1960).
- 30) Weil, A. J. & Rodenburg, J. M.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 109 : 567-570, (1962).
- 31) Searcy, R. L., Craig, R. G. & Bergquist, L. M.: Fertil & Steril., 15 : 1-8, (1964).
- 32) Behrman, S. J. & Amano, Y.: Int. J. Fertil., 12 : 291-298, (1967).
- 33) Shulman, S. & Bronson, P.: Fertil & Steril., 19 : 549-561, (1968).
- 34) Quinlivan, W. L. G.: Fertil. & Steril., 20 : 58-66, (1969).
- 35) Hekman, A. & Rümke, P.: Fertil. & Steril., 20 : 312-323, (1969).
- 36) 磯島晋三: 第23回日産婦宿題報告要旨, 89-109, (1971).
- 37) Franklin, R. R. & Dukes, C. D.: Am. J. Obst. & Gyn., 89 : 6-9, (1964).

- 38) Franklin, R. R. & Dukes, C. D.: J.A.M.A., 16: 230-231, (1964).
39) 磯島晋三: 第23回日産婦産科報告要旨, 65-80, (1971).

Immunological Studies on Infertility

Hiroyuki Mitsuno

Department of Obstetrics and Gynecology,
Chiba University School of Medicine.
(Director: Prof. Yuzo Misonou)

It has been postulated that certain cases of human female infertility might be due to immunological mechanism. In order to investigate the possibility of immunization of human female with homologous semen, analysis of the antigens of human semen was performed and requirement of occurrence of immunological response as well as the other serological factors were examined.

1. Ejaculated semen in the vaginal secretions from 96 women were examined. Seminal plasma was found positive in 78.4% in the vaginal secretions within 96 hrs. after coitus and sperm in 89.4% within 48 hrs. after coitus. These results show that semen stays long enough in the vagina to exhibit its antigenicity.

2. Analysis of the antigens of human seminal plasma with antiserum rabbit sera by haemagglutination, precipitation, latex fixation and double gel diffusion tests indicated that human seminal plasma contained species-specific antigen,

ABO blood group antigen, seminal plasma-specific antigens and common antigen with human serum. Among these antigens, ABO blood group antigen and seminal plasma-specific antigens seemed to be involved with iso-immunization of human female.

3. Isohaemagglutinins were present in cervical mucus in fifty five of 96 women. Haemagglutinins were found in cervical mucus when they were in the saliva and vice versa. However, the presence of cervical iso-haemagglutinins had no particular relationship with female infertility.

4. Anti-seminal plasma antibody was detected in sera from 96 women (51 pregnant, 40 infertile and 8 unmarried) with latex fixation test. Sixty three of 96 sera showed positive reaction with seminal plasma. Sixty of 96 sera also showed positive reaction with human white cells as well as seminal plasma and these 60 sera were absorbed with white cells, but not completely with seminal plasma. This result indicates the presence of common antigen with seminal plasma in human white cells. On the other hand, three of 63 sera reacted with only seminal plasma and they were not absorbed completely with white cells, but absorbed with seminal plasma. Thus, antibody specific for seminal plasma was contained in these sera.

Furthermore, the fact that these 3 sera were found only in infertile group suggests the presence of human female infertility due to iso-immunization with semen.

男子副性器分泌物と酵素

V. 不妊患者精液酵素活性に及ぼす Deposteron の影響

Male Adnexal Organ Secretion and Enzymes.

広島大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 仁平寛巳教授)

石 部 知 行 松 木 暁

T. ISHIBE, S. MATSUKI

Dep. Urol., Hiroshima Univ. School of Med. (Dir. Prof. H. Nihira)

男性不妊症患者の20例に対し Deposteron を1カ月に1回宛90mg の割合で3カ月間筋注し、精液中の2, 3の酵素活性に対する影響を検討し次のごとき成績を得た。

1. LDH 活性は Deposteron 投与によつて2カ月後には増大するが、3カ月後には逆に低下し、投薬中止後2カ月間は高い活性を維持するものが多くみられた。
2. LDH isoenzymes の第II分画は Deposteron の投与によつてその割合を減少するものが多くみられた。これ以外の分画では一定した傾向を示さなかつた。
3. LAP GOT は Deposteron 投与によつて活性を増大するものが多く、投薬中止後も高い活性を示した。
4. ALP, TAP, PAP および GPT は Deposteron の投与により一定した傾向を示さなかつた。

男性不妊症は泌尿器科領域においてはきわめて大きい位置を占めるが、その原因の明らかなものは別として、多くは原因不明で、これらに対して各種の治療法が試みられ、その結果において効果が評価されてきた。

今回著者らは不妊症患者精漿中酵素活性に対する薬剤の影響を検討する一端として、testosterone undecenoate を主成分とする混合男性ホルモンである Deposteron 投与に伴う酵素活性の変動を経時的に追及したので、この結果を報告する。

実験対象ならびに方法

研究対象は広島大学医学部附属病院泌尿器科に3年以上の不妊を主訴として来院した乏精子症(精子数 $20 \sim 1 \times 10^6/\text{ml}$)ならびに無精子症(精子数 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 以下)患者36例である。この際性腺機能不全患者、睪丸萎縮、性器奇形や内分泌異常を認めるもの、さらに精子通過障害のあるものは除いた。これらの不妊症患者のうち20例に対し1カ月に1回の割合で Deposteron 90mg を3カ月間筋注し、残る16例は placebo を投与して対照とした。

測定した酵素は lactic dehydrogenase (Cabaud) lactic dehydrogenase isoenzymes (Wieme's agar gel electrophoresis), alkaline and acid phosphatase (King-Kind), leucine aminopeptidase (Goldberg-Rutenburg), glutamic oxalacetic and pyruvic transaminase (Reitman-Frankel) であり、lactic dehydrogenase isoenzymes zymogram は Lumicon P-2 autorecording densitometer (萱垣) を用い、波長 $530\text{m}\mu$ でもつて作製した。比色には QV-50 spectrophotometer (島津) を用いた。

精液は4日以上禁慾した後手動的にこれを求め、直ちに精子数、精液量などを検し、30分後完全に液化するのをまつて毎分2000回転、20分間これを遠沈、その上清を試料とした。この際遠沈にもとづく精子崩壊の可能性については考慮を払っていない。遠沈後得られた試料を直ちに酵素活性の測定に供したが、直ちに行ない得ない場合は -10°C の冷凍室に保存し、24時間以内に測定のすべてが終わるようにした。

これらの成績の判定には検査時点での症例数の違い、ならびに当科における測定上の誤差を考慮した上で、治療前値に対し30%以上の変動をもつて有意とし、増加

したもの、減少したものおよび不変の3群に分け、chi square (2×2) および Fisher の確率計算 (2×2 の項目についてのみ) を求め、変動の検定を行なったが、その増減の有意性についての検定は行なっていない。

実験成績

1. Lactic dehydrogenase (LDH)

Deposteron 投与1カ月および2カ月後には6例中4例に30%以上の増加がみられ、減少したものはみられなかった。しかし投与3カ月目には8例中2例に減少がみられただけで、30%以上増加したものはみられず、この変動は有意ではなかった。投薬を中止した後の LDH 活性は増加ないし不変を示し、中止後2カ月目でみると12例中6例に増加がみられ、この変動は $\chi^2 = 5.07$ は $PR = 0.009$ でもつて有意であつた。Deposteron に対する反応上の差を精子濃度との関係で比較検討することは以下の項目でも同様であるが、症例が少なく困難であつた。

2. LDH isoenzymes

第1分画についてみると Deposteron 投与によりその初期には減少するものが多く、逆に3カ月目にはその割合を増加するものが多いが、その変動は有意ではなかった。しかし投薬中止後2カ月目には30%以上減少するものが多くみられ、この変動は $\chi^2 = 19.00$ と有意であつた。

投薬によつて第II分画の減少するものが多く、3カ月目には8例中4例に30%以上の減少がみられ、この変動は $\chi^2 = 3.86$, $PR = 0.023$ と有意であつた。一方投薬中止に伴う変動は $\chi^2 = 12.06$ と有意であるが、その増減には一定した傾向を認めなかった。

第III分画における投薬3カ月目の変動は $\chi^2 = 6.43$ を示し、また投薬中止後2カ月目の第V分画の変動も $\chi^2 = 12.06$ を示し、いずれも対照に対しその変動は有意で、第V分画では減少するものが多くみられた。また第IV分画では投薬中止後の変動は $\chi^2 = 4.28$ と有意であり、増加するものが多くみられたが、投薬3カ月目の変動は $\chi^2 = 0.85$ と対照に対し有意ではなかった。

3. Alkaline phosphatase (ALP)

Deposteron 投与に伴う ALP 活性の変動は $\chi^2 = 6.43$ と有意であるが、増減相半ばし、その多くは30%以内の変動を示した。精子濃度に伴う反応上の差はなく、中止後2カ月目の変動は対照に対し $\chi^2 = 11.24$ と有意ではあるが、一定の傾向はなく、またはね返り現象と目される変化もみられなかった。

4. Leucine aminopeptidase (LAP)

Deposteron 投与に伴う変動ははつきりしないが、3カ月間投与後でみると8例中4例に増加、2例に減少がみられ、その変動は $\chi^2 = 11.25$ と有意であり、活性の増加するものが多くみられた。また投薬中止後2カ月でみても、その変動は $\chi^2 = 11.24$ と有意であり、活性を増大するものが多く、12例中6例に高い活性がみられた。

5. Total acid phosphatase (TAP)

Deposteron 投与による TAP 活性の変動は $\chi^2 = 18.00$ と有意ではあるが、一定した傾向を示さず、3カ月間の投薬によつて30%以上増加したものと減少したものが8例中それぞれ4例であり、また投薬中止後2カ月目の変動も $\chi^2 = 16.22$ と有意ではあつたが、はつきりした傾向を示さず、12例中増加したものの4例、減少したものの6例であつた。

6. Prostatic acid phosphatase (PAP)

3カ月間投薬後の変動は $\chi^2 = 11.25$ と有意であつたが、8例中増加したものの2例、減少したものの4例であり、また投薬中止後2カ月目でみるとその変動は $\chi^2 = 23.00$ とやはり有意であるが、12例中増加したものの6例、減少したものが6例であり、TAP の場合と同様 Deposteron 投与に伴う一定の傾向を認めなかった。

7. Glutamic pyruvic transaminase (GPT)

Deposteron 投与3カ月目ならびに投薬中止後2カ月目の変動はそれぞれ $\chi^2 = 6.43$ および 7.44 を示し有意ではあるが、一定した傾向を示さず、投薬中止後2カ月目にやや活性の増加するものが多いといえる成績にすぎなかった。

8. Glutamic oxalacetic transaminase (GOT)

GPT と異なり Deposteron 投与によつて3カ月目には $\chi^2 = 3.86$ と対照に対し有意の変動を示し、増加したものが8例中4例にみられ、この変動は $PR = 0.023$ でもつて有意であつた。投薬中止後も同様に高い活性を維持するものが多く、その変動は $\chi^2 = 11.24$ でもつて有意であつた。

以上の成績について Deposteron 3カ月間投与後および投薬中止後2カ月目について χ^2 (2×2)、ならびに Fisher の確率計算 (2×2 の項目についてのみ) を行ない、その変動の有意性を検討したものを表2に示した。

考 按

Deposteron を臨床的に男子不妊症に対し使用したものととして我国では石神ら^{13,14,16,20)}などの報告がみられ、いずれも速効性であることとともに、2次性徴の治療に

表 1 精液所見に対する Deposteron の影響

		Total (n=20)						Azoospermia (n=8)						Oligospermia (n=12)					
		中止後		中止後		中止後		中止後		中止後		中止後		中止後		中止後		中止後	
		使用後 1M	2M	3M	1M	2M	3M	使用後 1M	2M	3M	1M	2M	3M	使用後 1M	2M	3M	1M	2M	3M
LDH	Control	cases	9	10	7	11	6	4	5	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
		over 30% increased	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		within 30%	9	8	10	7	11	6	4	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
	Treated	over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		cases	6	6	8	6	12	0	4	4	2	6	0	6	2	4	4	6	6
		over 30% increased	4	4	0	4	6	2	0	2	0	2	0	4	2	0	2	4	2
LDH I	Control	within 30%	2	2	6	2	6	2	0	2	4	0	4	0	2	2	2	2	2
		over 30% decreased	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
		cases	9	9	10	7	11	6	5	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
	Treated	over 30% increased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		within 30%	9	9	10	7	11	6	5	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
		over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LDH II	Control	cases	6	6	8	6	8	0	4	4	2	2	0	6	2	4	4	6	6
		over 30% increased	0	2	4	2	2	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2
		within 30%	4	2	4	2	0	2	0	2	0	0	0	4	2	2	2	0	2
	Treated	over 30% decreased	2	2	0	2	6	2	0	2	0	2	0	2	0	0	0	4	2
		cases	9	9	10	7	11	6	5	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
		over 30% increased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LDH III	Control	within 30%	6	6	8	6	8	0	4	4	2	2	0	6	2	4	4	6	6
		over 30% increased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
		within 30%	6	4	4	4	2	6	0	4	0	0	0	6	0	4	4	2	6
	Treated	over 30% decreased	0	2	4	0	4	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0
		cases	9	9	10	7	11	6	5	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
		over 30% increased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LDH III	Control	within 30%	6	6	8	6	8	0	4	4	2	2	0	6	2	4	4	6	6
		over 30% increased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
		within 30%	9	9	10	7	11	6	5	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
	Treated	over 30% decreased	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		cases	6	6	8	6	8	0	4	4	2	2	0	6	2	4	4	6	6
		over 30% increased	2	2	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	2	0

2

		Total (n=20)						Azoospermia (n=8)						Oligospermia (n=12)						
		使用後 1M	2M	3M	中止後 1M	2M	3M	使用後 1M	2M	3M	中止後 1M	2M	3M	使用後 1M	2M	3M	中止後 1M	2M	3M	
LDH IV	Control	cases	9	9	10	7	11	6	4	5	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
		over 30% increased within 30%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		over 30% decreased	9	9	10	7	11	6	4	5	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
	Treated	cases	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
over 30% increased within 30%		6	6	8	6	8	6	6	0	4	4	2	2	0	6	2	4	4	6	
over 30% decreased		4	2	2	2	4	4	4	0	0	2	0	2	0	4	2	0	2	4	
LDH V	Control	cases	0	4	6	4	4	2	0	4	2	2	0	0	0	0	4	2	4	2
		over 30% increased within 30%	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
		over 30% decreased	9	9	10	7	11	6	4	5	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
	Treated	cases	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
over 30% increased within 30%		6	6	8	6	8	6	6	0	4	4	2	2	0	6	2	4	4	6	
over 30% decreased		4	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	0	4	0	2	2	2	
ALP	Control	cases	0	2	6	4	2	2	0	0	4	2	2	0	0	2	2	2	0	2
		over 30% increased within 30%	2	2	2	0	4	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	4	2
		over 30% decreased	9	9	10	7	11	6	4	5	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
	Treated	cases	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
over 30% increased within 30%		6	6	8	6	12	6	6	0	4	4	2	6	0	6	2	4	4	6	
over 30% decreased		0	4	2	2	4	0	0	0	2	2	0	2	0	0	2	0	2	0	
LAP	Control	cases	6	2	4	2	4	6	0	2	0	2	2	0	0	0	4	0	2	6
		over 30% increased within 30%	0	0	2	2	4	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0
		over 30% decreased	9	9	10	7	11	6	4	5	5	4	6	3	5	4	5	3	5	3
	Treated	cases	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
over 30% increased within 30%		6	6	8	6	12	6	6	0	4	4	2	6	0	6	2	4	4	6	
over 30% decreased		2	0	4	2	6	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	2	2	0	

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

表 2 変動に対する chi square test

検定方法 項目	chi square test 1 (A)	chi square test 2 (B)	chi square test 1	chi square test 2
	Deposteron 投与 3 カ月目		Deposteron 投薬 中止後 2 カ月目	
LDH	—	—	※	※※
LDH-I	※	—	※※	／
LDH-II	※	※	※※	／
LDH-III	※	／	—	／
LDH-IV	—	—	※	※
LDH-V	—	—	※※	／
ALP	※	／	※※	／
LAP	※※	／	※※	／
TAP	※※	／	※※	／
PAP	※※	／	※※	／
GPT	※	／	※	／
GOT	※	※	※※	／

註：(A) chi square test (2×2)

(B) Fisher の確率計算による検定

※ 危険率 5% 以下

※※ 危険率 1% 以下

対しても有効で、同時に精液量の改善も期待できるとされてきた。

ヒトおよび動物の組織はいずれも LDH を含み, Roussel and Stallcup²⁷⁾が動物の、また MacLeod and Wroblewski²⁸⁾がヒトの精液中 LDH 活性を測定した。加齢に伴って LDH は酸性フォスファターゼとともにその活性が低下し、男性ホルモンレベルとその活性が関係することが知られている¹¹⁾。精子濃度と LDH 活性との関係について Eliasson ら⁷⁾は関係なしとしたが、著者¹⁵⁾は無精子症患者では乏精子症、正精子症患者に比して明らかにその活性の低いことを知った。以上の点から男性ホルモン製剤である Deposteron 投与に伴う精漿中 LDH 活性の変動をみると、投薬 2 カ月目までは Grayhack and Kropp¹¹⁾ののべるように活性の増大するものが多いが、3 カ月目には逆に低下するものかなりみられた。しかし投薬中止後には跳ね返り現象と目される活性の増大を示すものが 12 例中 6 例 (PR=0.09) にみられており、この面から不妊症患者に対する Deposteron の効果が期待でき、乏精子症症例に対し跳ね返り現象を期待することには問題もあるが、投薬期間は 1 カ月 90mg の量で治療する場合 3 カ月より 2 カ月をもつて 1 クールとし、2 カ月以上の休薬期間を置いてから再投与するのが好ましいと考える。しかし著者らの検討によると LDH 活性と男性ホルモン指標の 1 つと目される尿中 17-KS, 17-OHCS 排泄量との間には治療前には何らの相関関係もみとめられなかったこと、また本剤の

投与によってこれらホルモンの尿中排泄量の減少するものの多かつたことなどからして、この LDH 活性の増加が Grayhack and Kropp¹¹⁾のいうように男性ホルモン作用のみに由来するか否かは疑問である。

ヒト性腺における LDH isoenzymes については Blanco and Zinkham²⁹⁾によつて初めて報告され、精漿中でのそれについても Clausen and Øvli^{5,7)}の報告がみられる。精漿中の LDH isoenzymes について著者¹⁵⁾は精子濃度との関係を検討し、無精子症群では M 分画が高く、H 分画の低いことを明らかにし、M 分画の減少、H 分画の増加は機能がよい副性腺からの精漿であるとしてきた。もしこれが単に Grayhack and Kropp¹¹⁾のいうように男性ホルモン作用だけにもとづく変化であるとすれば Deposteron の投与によつても同様の変化が期待できるわけである。この点から今回の成績をみるとパラツキは大きい Deposteron によつて 2 カ月をすぎると H 分画である I, II 分画はやや減少するものの如くで、長期間の投与を行なつたためか、この面からの効果も期待に反した。

ヒト精漿中の ALP 活性は Gutman and Gutman³⁰⁾など^{1,12)}によると酸性フォスファターゼに比し活性が低く、Mann²²⁾は fructose の産生に関係するものと考えている。精子濃度に伴う活性の変動について著者¹⁵⁾は正精子症群は、無精子症群に比し高い活性を有することを明らかにし、Roussel and Stallcup²⁶⁾は運動率との間に相関ありとした。一方 Moon and Bunge²³⁾は性ホルモン投与による変動はないとし、今回の成績でも同様男性ホルモン製剤である Deposteron 投与に伴う一定の傾向はみられなかった。

LAP 活性をヒト精漿中について検討したものはすくなく、またその意義も明らかではないが、蛋白融解酵素であることを考えれば卵との結合に関係することも推定でき、また精子濃度によつて、その活性に差のあることも明らかにしてきた¹⁵⁾。Deposteron の投与によつて LAP 活性が増大するものが多く、投薬中止後も高い活性を維持した。このことは LAP も LDH と同様の態度をとるといへ、この面からの改善が期待できる。しかしその変化が男性ホルモンレベルにもつともよく一致して変動するといわれる TAP 活性と同様の変化をとらなかつたことからみて、この変化が前にのべたように必ずしも男性ホルモンだけにみとづくものでないといえる。

酸性フォスファターゼは精液示標として古くより検討され、ヒト精漿中では高い活性を有し、性ホルモンレベルによつてよく変動することも Kirk など^{11,19)}によつて知られてきた。しかし不妊症との関係についてはなお問

題のあるところで、金子などの^{15,18,30)}の意見は一致していない。著者は¹⁵⁾正精子症群に比し乏精子症、無精子症群は明らかに低い活性を示し、乏精子症群と無精子症群の間にも有意の差をみとめてきた。TAP 活性の高い場合良質の精漿であるとの考えに立てば、LDH の場合に反して Deposteron 投与による TAP 活性の増大がみられず、このことは過去の成績に反するものである。この理由として Deposteron 投与によつて今回の投与量では尿中 17-KS, 17-OHCS の減少するものの多かつたこと、稲田らなど^{13,14)}ののべるように下垂体機能の抑制の可能性といったことと併せて休薬期間、至適投与量についての検討も必要と考えられる。

精漿中の transaminase について Pavoira など^{6,22,24,29)}が報告しているが、なお少なく、Joel and Herzberg¹⁷⁾は精子濃度と関係ありとし、著者も¹⁵⁾GOT では同様な事実のあることを明らかにしてきた。Deposteron 投与によつて GOT 活性が増大するものが多く、これは男性ホルモンレベルと関係するといわれる精子濃度との関係でみれば、精子濃度と関係をもたない GPT が Deposteron に反応しなかつたこととともに理解できる成績である。

結 語

男性不妊症患者の20例に対し Deposteron を1カ月に1回宛90mg の割合で3カ月間筋注し、精液中の2, 3の酵素活性に対する影響を検討し次のごとき成績を得た。

1. LDH 活性は Deposteron 投与によつて2カ月後には増大するが、3カ月後には逆に低下し、投与中止後2カ月間は高い活性を維持するものが多くみられた。

2. LDH isoenzymes の第Ⅱ分画は Deposteron の投与によつてその割合を減少するものが多くみられた。これ以外の分画では一定した傾向を示さなかつた。

3. LAP, GOT は Deposteron 投与によつて活性を増大するものが多く、投薬中止後も高い活性を示した。

4. ALP, TAP, PAP および GPT は Deposteron の投与により一定した傾向を示さなかつた。

(終るにあたり 恩師仁平寛已教授の御指導、御校閲を感謝するとともに、種々御協力をいただいた塩野義製薬株式会社に感謝致します。なお本稿の要旨は第14回日本不妊学会総会において発表した。)

文 献

1) Bell, D. J. and Lake, P. E.: A comparison of phosphomonoesterase activities in the seminal plasmas of the domestic cock, turkey tom, boar, bull, buck rabbit and of man. J.

Reprod. Fert., 3 : 363-368, 1962.

- 2) Blanco, A. and Zinkham, W. H.: Lactate dehydrogenase in human testes. Science (Lond.), 139 : 601-602, 1963.
- 3) Cabaud, P. C.: Colorimetric measurement of lactic dehydrogenase activity of body fluids. Amer. J. Clin. Path., 30 : 234-236, 1958.
- 4) Caiola, G.: Attività Latticodeidrogenasica di Liquidi seminali umani in Diverse condizioni Presunta capacità fecondante. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 43 : 383-385, 1967.
- 5) Clausen, J. and Øvliisen, B.: Lactate dehydrogenase isoenzymes of human semen. Biochem. J., 97 : 513-517, 1965.
- 6) Eliasson, R.: Transaminase in human semen. J. Reprod. Fert., 14 : 387-392, 1967.
- 7) Eliasson, R., Häggman, K. and Wiklund, B.: Lactate dehydrogenase in human seminal plasma. Scand. J. Clin. Invest., 20 : 353-359, 1967.
- 8) Fishman, W. H. and Lerner, F.: Method for estimating serum acid phosphatase of prostatic origin. J. Biol. Chem., 200 : 89-97, 1953.
- 9) Goldberg, E.: Lactate dehydrogenases and malate dehydrogenases in sperm: Studied by polyacrylamide gel electrophoresis. Ann. N. Y. Acad. Sci., 121 : 560-570, 1964.
- 10) Goldberg, J. A. and Rutenburg, A. M.: The colorimetric determination of leucine aminopeptidase in urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other diseases. Cancer, 11 : 283-291, 1958.
- 11) Grayhack, J. T. and Kropp, K.: Changes with aging in prostatic fluid: Citric acid, acid phosphatase and lactic dehydrogenase concentration in man. Trans. Amer. Ass. Genito-Urin. Surg. 56 : 6-11, 1964.
- 12) Gutman, A. B. and Gutman, E. B.: Quantitative relations of a prostatic component (acid phosphatase) of human seminal fluid. Endocrinology, 28 : 115-118 : 1941.
- 13) 井林 博, 本橋賢二, 藤田拓男, 大沢伸昭, 村川章一郎, 横田竜彦, 森井浩世, 内川澄: 混合男性ホルモン Deposteron の臨床経験. 最新医学, 16 : 2984-2989, 1961.
- 14) 稲田務, 酒徳治三郎, 片村永樹, 北山太一: 泌尿器科領域における Durotest の使用経験. 泌尿紀要, 6 : 506-509, 1960.
- 15) 石部知行: 男子副性器分泌物と酵素. 泌尿紀要, 13 : 276-282, 1967.
- 16) 石神襄次, 山本治, 水口宗男, 吉田秀政: 男性性腺機能失調症に対する Durotest の応用. 泌尿紀要, 6 : 501-505, 1960.
- 17) Joel, C. A. and Herzberg, M.: Glutamic-oxalacetic transaminase in human semen and reproductive organs. J. Reprod. Fert., 10 :

- 185-188, 1965.
- 18) Kaneko, Y.: Cited by Sakakura, K. et al., Clin. Endocrinol. (Tokyo), 11 : 149-160, 1963.
 - 19) Kirk, J. E.: Acid phosphatase concentration of prostatic fluid in young middle-aged, and old individuals. J. Gerontol., 3 : 98-104, 1948.
 - 20) 楠隆光, 糸井壮三, 松永武三: 泌尿器科領域におけるデポステロンの使用経験について. 泌尿紀要, 7 : 547-554, 1961.
 - 21) MacLeod J. and Wroblewski, F.: Lactic dehydrogenase activity in human semen. Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med. (N.Y.), 99 : 265-267, 1958.
 - 22) Mann, T.: The biochemistry of semen and of male reproductive tract. Methuen, London, 1964.
 - 23) Moon, K. H. and Bunge, R. G.: Observation on the biochemistry of human semen. II. Alkaline phosphatase. Fertil. Steril., 19 : 766-770, 1968.
 - 24) Pava, H. Jr. and Villela, G. G.: Transaminase in seminal plasma of man. Experientia, 16 : 199, 1960.
 - 25) Reitman, S. and Frankel, S.: Colorimetric method for the determination of serum transaminase activity. Amer. J. Clin. Path., 28 : 56-63, 1957.
 - 26) Roussel, J. D. and Stallcup, O. T.: Acid and alkaline phosphatase activity in bovine semen as related to fertility. J. Dairy Sci., 48 : 752-754, 1965.
 - 27) Roussel, J. D. and Stallcup, O. T.: Activity of lactic dehydrogenase and its isozymes in bovine semen. J. Dairy Sci., 48 : 1506-1510, 1965.
 - 28) Schirren, C.: Die konservative Therapie von Fertilitätsstörungen des Mannes. Urologe, 7 : 179-184, 1968.
 - 29) Searcy, R. L., Craig, R. G. and Berquist, L. M.: Levels of transaminases in human seminal plasma. Lancet, 1 : 1413, 1962.
 - 30) Watanabe: Cited by Sakakura, K. et al., Clin. Endocrinol. (Tokyo), 11 : 149-160, 1963.
 - 31) Wieme, R. J.: Agar gel electrophoresis. Elsevier, Amsterdam-London-New York, 1965.

Male Adnexal Organ Secretion and Enzymes

V. Effects of Deposteron on the enzyme level of seminal fluid in infertile patients

Tomoyuki Ishibe and Satoru Matsuki

Dep. Urol. Hiroshima Univ. School of Med.
(Dir. Prof. H. Nihira)

With 36 infertile males but for 16 served as control, a study was carried out for the purpose to evaluate the effects of Deposteron treatment by means of three months duration with total dosage of 270 mg on the changes of enzyme level in seminal plasma. The results thus obtained can be summarized as follows.

1. Increased LDH level was observed after two months treatment, but the level was again decreased after three months treatment. High LDH level was continued within two months after interruption of the treatment.

2. With exception of II fraction that was tend to decrease, there were observed no definite changes in LDH isoenzyme fractions.

3. Elevation of LAP and GOT level was caused by the treatment and this high level continued after interruption of the treatment.

4. No definite changes in ALP, TAP, PAP and GPT level were observed.

人工妊娠中絶後の性機能と経口避妊

Clinical Studies on the Administration of Oral Contraceptive to Women following Artificial Termination of Pregnancy

京都府立医科大学産婦人科学教室（主任：岡田弘二教授）

東 山 秀 聲
Syusei HIGASHIYAMA

Dep. Obst. Gynec., Kyoto Prefectural Univ. School of Med.
(Director: Prof. H. Okada)

人工妊娠中絶後の避妊の一方法として経口避妊剤の投与を試みた。人工妊娠中絶後の第1周期の月経周期日数は妊娠前のそれと比較して延長し、また術後の排卵は第1周期には調査した22例中16例に認められ、妊娠初期群、中期群ともほぼ同じ排卵率であった。そこで経口避妊剤として norethindrone 1 mg と mestranol 0.05mg の合剤を20例の婦人に、術後第5日から1日1錠、21日間 combination 法で投与した。延周期数は253周期、最長投与周期数は28周期である。本剤の避妊効果は100%であった。投与中の周期日数の平均は27.2日となり、流産手術後の第1周期や妊娠前の周期日数と比較して短縮し、また規則性を示すようになった。このことは出血発来までの日数、出血持続日数、経血量の変化と同様、本剤を正常周期婦人に投与した時とよく似ている。破たん出血、無月経、胃腸障害の発現率は正常周期婦人に投与した時よりも低い。さらに、臨床諸検査成績はどの症例も正常範囲内の変動であった。

はじめに

現在、人口問題は世界的な問題となり、人々の関心を集めつつある。わが国における家族計画、受胎調節は子宮内装具 (IUD) に関する研究が最近行なわれるようになってきたが、今なお人工妊娠中絶が主流をなしている。

人工妊娠中絶については従来から中絶手術時やその後の障害がいろいろ論議されてはいるが、その届出数だけをみても1955年の117万件をピークとして、その後は減少しつつあるものの、今なお70万件を超えている¹⁾。しかも最近では、社会状況ともあいまって若年層や農村婦人に人工妊娠中絶が増加する傾向がある。人工妊娠中絶後に不妊を訴える患者が多い事実からも、さらにこれ以上の中絶術を避ける意味で中絶直後に何らかの避妊法が行なわれなければならない。

近年、Pincus らによつて steroid contraception の方法が確立され、正常月経周期婦人に対する field trial がわが国で数多く行なわれている。しかし、これまで人工妊娠中絶術は法的にわが国だけで行なわれているた

め、中絶直後の経口避妊に関する諸外国の報告は全くみられず、またわが国におけるこの種の研究もほとんどなく、わずかに sequential method による成績が報告されているにすぎない²⁾。

したがって、この研究は人工妊娠中絶後の避妊法の一方法として経口避妊剤を使用する場合、その方法と投薬開始時期について検討を加えたものである。

I. 流産後の月経周期

人工妊娠中絶後のどの時期から経口避妊剤の投与を開始しなければならないかを決定する意味で、流産後の初回月経発来までの日数と排卵の時期について調査した。

研究対象は本学産婦人科外来で過去1年間に自然流産あるいは人工流産の手術を受けた症例のうち、流産後の月経発来が明らかな40例を選び、月経発来までの日数を調べた。

対象のうちわけは、妊娠4カ月以内で自然あるいは人工流産したもの31例、妊娠5～7カ月で流産したものは9例である。

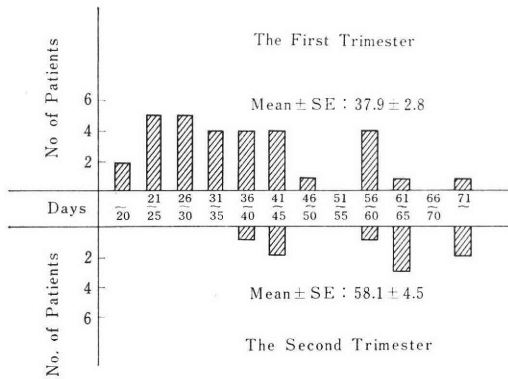


Fig. 1 Length of the first menstrual cycles after abortion

1) 流産後の月経発来までの日数

流産の日から初回月経発来までの日数は Fig. 1 に示すようである。その日数は18日から74日にわたっているが、これを妊娠4カ月以内の妊娠初期群と妊娠5カ月以上の妊娠中期群に分けると、初期群では月経発来までの日数は18日から61日であり、平均 37.9 ± 2.8 日、その77.4%は45日以内で月経の発来が認められ、60日以内には93.5%が月経の発来をみている。

一方、妊娠中期での流産日から月経発来までの日数は40日から74日であり、平均 58.1 ± 4.5 日、どの症例も40日以上経過して初めて月経をみている。しかも、60日以上を経過して出血がおこるものは9例中5例に認められた。

このように妊娠初期と中期とでは、流産後の月経発来までの期間に明らかな相違が認められ、妊娠中期における再潮までの期間は分娩後のそれに似てくる。

2) 基礎体温 (BBT) 曲線からみた流産後の排卵

流産後に BBT 曲線を記録させた22例について、初めての周期の排卵を BBT 曲線の変動から推定した (Table 1)。すなわち、22例中16例が第1周期に、月経前に排卵がおこるのが推測された。そのうち妊娠初期群は16例、妊娠中期群では6例中5例にみられ、どの例も高温期の日数が10日以上で正常排卵周期であった。最も早い BBT の上昇日は妊娠初期群では流産後14日、中期群では23日であった。

Table 1 Resumption time of ovulation after abortion

	Before the first menstruation	After the first menstruation
The first trimester	11	5
The second trimester	5	1

なお、流産後の第1周期が無排卵であった5例は、第2周期にはどの症例も正常排卵周期となった。

流産後の月経周期や排卵時期の調査に選んだ症例は、どれも妊娠前の月経周期は正常排卵周期であった。

II. 人工妊娠中絶後の経口避妊

I の「流産後の月経周期」の項で調査研究したように、人工妊娠中絶後は妊娠の時期を問わず、中絶手術後の第1周期に排卵がおこることが多い。したがって、妊娠中絶後の経口避妊剤は中絶後の第1周期から投与を開始する必要がある。

1) 方法

この研究に使用した経口避妊剤は19-norsteroid 系の progestin である17 α -ethynyl-19-nortestosterone (norethindrone) 1mg と17 α -ethynylestradiol-3-methyl ether (mestranol) 0.05mg からなる合剤である (Fig. 2)。

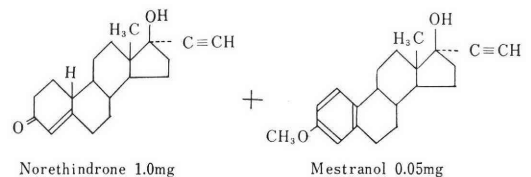


Fig. 2

投与対象は妊娠早期 (8~12週) で人工妊娠中絶術を受け、避妊を希望した20例である。投与方法はほかの combination pill と同様に、投与第1周期は月経周期第5日より norethindrone-mestranol 合剤1mg錠を1日1錠、連続21日間投薬し、第2周期以後では休薬期間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薬を開始する combination 法によるのを原則とした。このような投薬方法を行なうと、服用者は服用第1周期の第1日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。

2) 成績

i) 投与症例の分布

投与症例は Table 2 に示すように20例、最長投与周期数は28周期、延周期数は253周期である。そのうち12周期以上の投与症例数は10例、24周期以上のそれは2例である。

ii) 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、したがって本剤を人工妊娠中絶直後から使用した場合の避妊効果は100%である。

iii) 投与中の周期日数

投薬中の周期日数は Fig. 3 に示したように、流産後

Table 2

Cycle Number	No. of Patients	No. of Cycles	Number Closed out
1	3	20	3
2	1	17	1
3		16	
4	2	16	2
5		14	
6		14	
7		14	
8	2	14	2
9		12	
10	2	12	2
11		10	
12		10	
13		10	
14	2	10	2
15		8	
16		8	
17		8	
18	1	8	1
19		7	
20	2	7	2
21	2	5	2
22	1	3	1
23		2	
24		2	
25		2	
26	1	2	1
27		1	
28	1	1	
29			
30			
Total	20	253	19

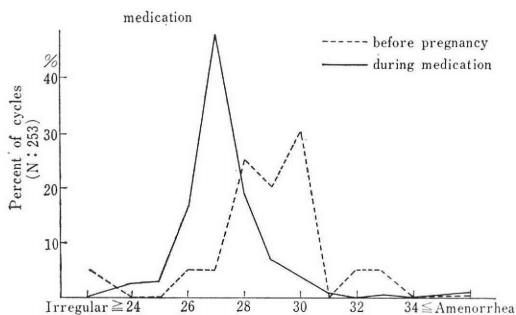


Fig. 3 Oral contraception following artificial termination of pregnancy. Length of menstrual cycles during medication

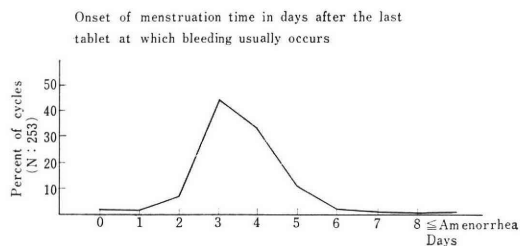


Fig. 4 Oral contraception following artificial termination of pregnancy

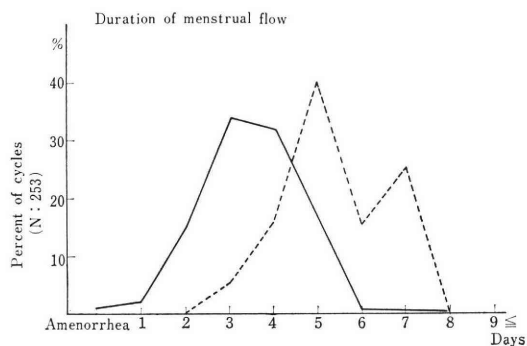


Fig. 5 Oral contraception following artificial termination of pregnancy

の月経発来までの日数ばかりでなく、妊娠前の周期日数と比較しても短縮し、またより規則性を示すようになる。すなわち、妊娠初期での流産手術後の第1周期と妊娠前の周期日数の平均はそれぞれ37.6日、29.3日であるが、投薬中の平均周期日数は27.2日であり、周期日数の peak は27日に認められ、89.3%は26～29日であつた。これは通常の月経周期を示す婦人に本剤を投薬したときの周期日数と同じ傾向である³⁾。

iv) 出血発来までの日数

出血がおこるまでの日数は Fig. 4 のようで、本剤を通常月経周期に投薬したときと同様、投与終了後3日に出血が始まるものが最も多く、次いで4日であり、平均3.5日であつた。またその93.8%は2～5日で出血がおこつた。

v) 出血持続日数

投薬期間中の出血持続日数は Fig. 5 に示すように、妊娠前や流産後の月経持続日数とくらべて明らかに短縮する。すなわち、妊娠前と流産後の平均出血日数はおのおの5.3日、5.2日であるが、投薬中のそれは3.5日となり、peak は3日であり、次いで4日持続するものが多い。その97.2%は2～5日間出血が続いた。これは既報³⁾の健康な通常月経周期の婦人に投薬した場合と同じ傾向である。

Table 3 Incidence of breakthrough bleeding & effect on volume of menstrual flow

	Cycles	Percent
Spotting Breakthrough Bleeding}	5	2.0
Amenorrhea	2	0.8
Increase in flow	1	0.4
No Change in flow	49	19.4
Decrease in flow	191	75.5
Unknown	10	4.0

vi) 経血量

投薬中の出血持続期間が短縮するのと一致して、経血量も一般に妊娠前のそれよりも減少する症例が多い (Table 3). また、消退出血がみられない、いわゆる“silent menstruation”は2例、延2周期 (0.8%) に認められた。これらの点も通常月経周期に投薬した場合と同一の傾向である。

vii) 流産手術後の止血状態

流産手術後の出血の有無を腔鏡診によつて観察すると、対照群では手術後第7日にほぼ半数が止血するが、残りの半数になお腔内に少量の出血が認められる。しかし本剤を手術後5日目から投与すると手術後第7日には70%以上に止血するのが認められた。これは norethindrone-mestranol 剤の estrogenicity により、止血効果が現われたためと考えられる。

viii) 破たん出血

progestin-estrogen 剤投与時にみられる破たん出血はその薬剤の 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。通常月経周期の婦人では本剤による破たん出血の発生率は4.3%であつたが³⁰⁾、流産手術後の使用では2.0%である。これは前者では投与開始後の比較的初期の周期に破たん出血の発生率が高い傾向にあるが、後者ではこの時期の発生率が非常に低いことによると考えられ、流産後の第1周期にはまだ妊娠による影響が残ると推測される。

ix) 基礎体温曲線

投薬中の基礎体温曲線は通常の月経周期に投薬したときと同様、Table 4 に示すように高温1相型が最も多く84.1%をしめ、次いで不規則な曲線を示す不定型が13.9%にみられた。しかし、時には投薬中にも体温が上昇しない低温1相型が1.4%に認められた。また、排卵が推定される2相型の体温曲線を示す症例が1周期にみられた。

x) 自覚的副作用

本剤の自覚的副作用は既報³⁰⁾のように、ほかの経口

Table 4 BBT

	Cycles	Percent
Biphasic	1	0.5
Monophasic { high	175	84.1
{ low	3	1.4
Irregular	29	13.9
Unknown	45	

避妊剤と比べて少ない。破たん出血を除くと、人工妊娠中絶直後から投薬したときの副作用はさらに少なく、通常月経周期の婦人に投薬したときほど現われない。経口避妊剤使用中に多くみられる胃腸症状も本剤投与中に、わずかに1例に1周期、下腹痛の訴えがみられたのみである。おそらくこれは妊娠中のつわりの時期を経過してきたことが、本剤の胃腸症状の訴えを少なくしたと考えられる。また、体重の変化もその増加例と減少例が、おのおの1例にみられたのみである。

xi) 臨床検査成績

各症例について諸検査は血液、心、肝、腎、ならびに副腎皮質の機能に関して定期的に行ない、さらに子宮内膜生検、視力・視野の検査も適時行なつた。

投薬中の諸検査値はどれも正常範囲内の変動であり、とくに異常を示した症例は認められなかつた。また最近、経口避妊剤投与中に血圧が異常に上昇する症例の報告が散見されるが、この研究ではそのような症例はみられなかつた。さらに、経口避妊剤による血栓症の発症が諸外国で社会的問題となつている。しかしここでは血栓症の発症例は1例もない。なお、黄疸発症の例も認められなかつた。

考 按

人工妊娠中絶直後の周期や妊孕性に関する報告は従来から、おもにわが国において行なわれている。妊娠初期、中期のどの時期に自然に、あるいは人工的に流産をみても、その直後の周期日数が妊娠前のそれと比較して一般に延長する傾向がある。

前述のように、妊娠4カ月までの流産ではその直後の周期日数の平均は37.9±2.8日であり、31例中24例 (77.4%) が流産後45日以内に月経の再潮をみている。妊娠中期の5～7カ月での流産直後の周期日数の平均は58.1±4.5日とさらに長くなる。流産後45日以内に再潮をみたのは9例中3例にすぎず、ほかの症例はすべて56日以上を経過して初めて月経が発来している。一般に流産後の周期日数には個体差が著しいようである。松本⁴⁰⁾も妊娠中絶後の周期日数が通常の月経周期よりも延長すること

を報告している。

このように中絶直後の周期日数が延びるのは通常の月経後に比べて、卵胞の発育に日時を要するためと考えられ、妊娠中期、さらに分娩と妊娠持続期間が長くなるほどこの傾向が強くなる。

流産後の無月経に引き続いて妊娠が成立することは日常の臨床で時々経験する。これは先に示した流産後の基礎体温曲線の変動から、月経再潮前に排卵することが多いことから十分予想される。また、月経発来前の排卵は妊娠の初期、中期のどの時期に流産手術を行なっても認められる。

したがって、人工流産後あるいは自然流産後の避妊の開始は流産直後から行なうのが適当と考えられる。すなわち、流産後の婦人に対しても正常周期婦人への経口避妊剤の投薬方法と同じように、手術後第5～8日から投薬を開始するのが適当であり、流産後の症例においても正常周期婦人に対するのと変らない臨床結果がえられ、また避妊の目的が十分達せられる。

流産後に経口避妊剤を投与するとき、正常月経周期の婦人に使用するときとは違った副作用が現われないかと懸念される。

流産手術後の内膜再生について飯塚ら⁹⁾は術後第10～15日までの症例には一部遺残像や再生内膜の欠落した例があるが、内膜日付診が排卵遅延例で数日のずれが認められる以外は大部分はほぼ正常内膜の日付診と同様の内膜像であったと報告している。norethindrone-mestranol 1 mg 剤投与時の術後第1周期の周期日数や出血持続日数、あるいは経血量は本剤を正常周期婦人に投与した場合と変わらず、また消退出血のない症例がみられなかつたことから本剤によつて流産手術後の子宮内膜再生が、正常周期婦人への投薬の場合とくらべて、大きく障害されるとは考えられない。

流産手術後の子宮出血に関しては、本剤投与例は対照群に比べて止血効果が高く、術後7日すなわち、投与開始後3日には70%以上に止血し、子宮出血例は30%以下に減少している。これは norethindrone-mestranol 剤の止血効果が現われたためであり、その強い estrogenicity によるものである。すなわち、流産手術後に子宮内容の一部遺残による出血を除いて、経口避妊剤は術後の子宮出血の減少にはよい効果をあげると考えられる。

次に、妊娠中期の流産後には乳房の腫張、乳汁分泌の抑制の目的に種々の性 steroid が使用されることが多い。

分娩後に steroid contraception を行なうと乳汁分泌の抑制がおこなうことがある、授乳婦人に分娩後4～5週

から本剤を投与すると、乳汁分泌の抑制がおこなうことがあるのを認め、すでに報告した。Kaern⁷⁾も本剤を分娩直後から投与して乳汁分泌量が著しく減少し、哺乳量の追加が必要であったとのべている。Gambrell ら⁸⁾も授乳婦人に経口避妊剤を投薬すると、対照の授乳婦人と比較して投薬6週後の授乳継続率は減少していることから、経口避妊剤が乳汁分泌を抑制することがあると報告している。しかしこれとは反対に、産褥早期から投薬した norethindrone-mestranol 2 mg 剤が乳房腫張には影響を与えず、また progesterone や testosterone は prolactin 分泌には何の効果もおよぼさないという報告がみられる⁹⁾。Kamal ら¹⁰⁾はさらに、estrogen, progestin あるいは両者の合剤を投与すると乳汁分泌量が対照と比較して増加し、児の体重もより増加するとのべている。

このように、性 steroid 剤の乳汁分泌に対する効果は報告者により相違する。このことから、性 steroid はその種類と投与量、また progestin 対 estrogen の配合比率により乳汁分泌への影響が異なると考えられる。estrogen 活性を示す steroid の少量では分泌促進的に、大量では抑制的に作用すると推測される。したがって、妊娠中期の中絶後に progestin と estrogen からなる経口避妊剤を投与することは乳房腫張や乳汁分泌に対し抑制的な効果を示す場合も多いと思われる。

経口避妊剤の投薬時には悪心、嘔吐、食思不振などの胃腸障害の発生がみられることがある。性 steroid 投与時の胃腸障害は estrogenicity の高い薬剤、あるいは添加 estrogen の量が多くなるほど発生頻度が増してくる⁹⁾。ここで用いた薬剤は norethindrone が1 mg、添加 estrogen 量は0.05 mg の少用量剤であるため、正常周期婦人に投与しても胃腸障害の発現率は同じ steroid から構成される製剤や、比較的安全性 steroid 量が多いほかの薬剤とくらべても低い¹¹⁻¹⁶⁾。さらに、人工流産後から本剤を投与すると、その発現率は一層低くなる。おそらく流産後の場合には、妊娠中の「つわり」の時期を経過してきたことが、胃腸障害の訴えを少なくしたと考えられる。

なお、そのほかの副作用、さらに臨床検査値でとくに異常を示した症例は1例も認められなかつた。

この実験では流産後5日から投薬を開始したが、投薬開始がどの程度まで遅れても排卵の抑制、あるいは確実な避妊効果がえられるかを今後検討する予定である。

むすび

人工流産後の避妊法の一つとして経口的に steroid contraception を行なう場合、その開始時期を決定するため、人工流産後あるいは自然流産後の最初の月経発来

時期と排卵時期を調査した。

その結果、流産直後の月経の発来、すなわち第1周期の周期日数は妊娠4カ月までの初期群では妊娠5~7カ月の中期群にくらべて短い。しかし非妊婦人の周期日数と比較すると妊娠初期群でも流産後第1周期の周期日数は延長する。また妊娠初期群、中期群のどれも流産後の最初の月経発来前に多くの症例に排卵がおこるのが認められた。

したがって人工妊娠中絶後に経口避妊剤の投薬を開始する場合は、術後5日頃から行なうのが適当と考えられ、このような投薬方法で避妊効果は確実にあげられる。

この方法で人工妊娠中絶後の20例の婦人に norethindrone 1 mg と mestranol 0.05 mg の薬剤を combination 方式で投与し、正常月経周期婦人に投与したときとほぼ同じ成績がえられた。

岡田弘二教授の御校閲に感謝する。

文 献

- 1) 厚生統計協会編：厚生指標（昭45）50，厚生統計協会。
- 2) 飯塚理八ほか：日不妊会誌，13：116，（1968）。
- 3) 東山秀声ほか：日不妊会誌，15：320，（1970）。
- 4) 松本清一：第14回日本産科婦人学会学術報告要旨，（1962）。
- 5) 徳田源市：第16回日本産科婦人学会学術特別講演要旨，（1964）。
- 6) 東山秀声ほか：産婦治療，24：208（1972）。
- 7) Kaern, T.: Brit. Med. J., 3：644，（1967）。
- 8) Gambrell, R. D. & M. U. Facog: Obstet. Gynec., 36：101，（1970）。
- 9) Bowman, J. A.: Fertil. & Steril., 21：39，（1970）。
- 10) Kamal, M. et al.: Amer. J. Obstet. Gynec. 108：655，（1970）。
- 11) 徳田源市ほか：最新医学，24：644（1969）。
- 12) 徳田源市ほか：日不妊会誌，13：87，（1968）。
- 13) 徳田源市ほか：日不妊会誌，13：120，（1968）。
- 14) 徳田源市ほか：日不妊会誌，13：352，（1968）。
- 15) 徳田源市ほか：産婦進歩，20：391，（1968）。
- 16) 徳田源市ほか：日不妊会誌，14：179，（1969）。

Clinical studies on the administration of oral contraceptive to women following artificial termination of pregnancy

Syusei Higashiyama

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

The purpose of this report is to evaluate the efficiency and safety of a low dose oral contraceptive, in women immediately after the artificial termination of pregnancy.

Twenty women, who had undergone the artificial termination of pregnancy, were administered 1 mg norethindrone and 0.05 mg mestranol combination. In the first treated cycle, the pill was administered 1 tablet daily for 21 days, beginning from the 5th day after curettage. After waiting 7 days, the 21-day course was started again on the same day of 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 253 cycles.

Length of menstrual cycles in the first cycle following the artificial termination of pregnancy become longer in general as compared with that in previous normal cycles. The administration of the pill, however, showed tendency to shorten and narrow the range of cycle length. The mean cycle length was 27.3 days in the treated group, and 89.3% of all treated cycles were 26 to 29 days long.

The onset of withdrawal bleeding was observed on the 2nd to the 5th day in 93.8% of the treated cycles. The menstrual duration and quantity were markedly decreased as compared with those of previous normal cycles. In 97.2% of all cycles, withdrawal bleeding was of 2 to 4 days duration.

All of these episodes were same as those observed in women who were administered the same pill in the normal menstrual cycle.

Spotting and breakthrough bleeding occurred in 2.0% of all cycles, and amenorrhea was observed in 0.8% of 253 treated cycles.

Gastrointestinal disturbances, such as nausea and vomiting, encountered usually with drugs of this type within the first 3 cycles of medication, were less frequent than in normal women taking this pill. This would probably be attributable to the emesis experienced in the first trimester. Other side effects were infrequent.

In all of individuals, liver, adrenal and kidney function tests were within normal limits. There were no noticeable evidences of thrombophlebitis and jaundice in any individuals.

In conclusion, this combination regime may be considered convenient and useful for the purpose of contraception on the first cycle immediately after the artificial termination of pregnancy.

Kupperman 試験と無月経婦人の各種尿中 hormone 排泄量の検討

Kupperman's Test and the Urinary Output of Steroid Hormone and FSH in Amenorrhea

東北大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 鈴木雅洲教授)

平野 睦男 青葉 久夫 吉田 威
M. HIRANO H. AOBA T. YOSHIDA

Dep. Obst. Gynec. Tohoku Univ. School of Med. (Dir. Prof. M. Suzuki)

無月経の診療に際し、出血試験として用いる gestagen の適正量を検討する目的で、gestagen 10mg 筋注で消退出血のなかつた症例20例に、さらに20mg 次いで125mg を投与し、消退出血の有無を観察した。その結果、全例が20mg でも消退出血がなかつたが、125mg 筋注により1例だけ出血があり、2例は血性分泌物をみたにすぎず、17例は全く出血をみなかつた。また同時に第1度無月経と第2度無月経の尿中 steroid hormone 排泄量を比較すると、第1度無月経では estrogen, pregnanediol および17-KS の正常値を示す症例が多いのに対し、第2度無月経ではこれらの低値を示す症例が多く、17-OHCS については特にこのような差は認められなかつた。また第2度無月経を中枢性無月経と卵巣性無月経に分けて、尿中 estrogen と FSH 排泄量を比較すると、中枢性無月経の50%以上が正常 estrogen 値であり、FSH は低値または正常値であつたが、卵巣性無月経では全例が低 estrogen 値であり、FSH は1例をのぞき異常高値を示した。

はじめに

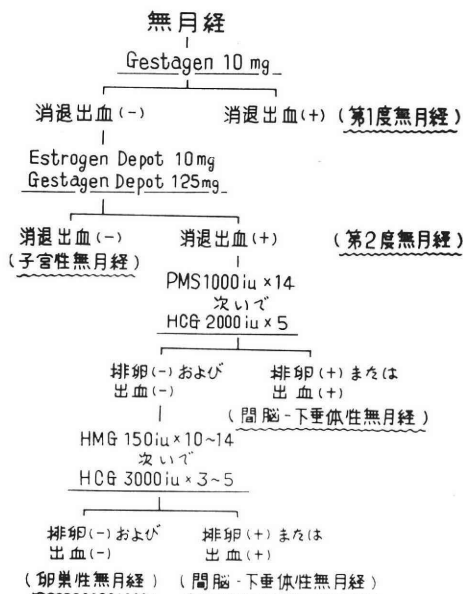
本邦においては無排卵症を通常無排卵周期症と無月経に分類し、さらに前者は散発および持続無排卵周期症に、後者は第1度および第2度無月経に分けている。したがつて無排卵症を軽症から列記すると、1) 散発無排卵周期症、2) 持続無排卵周期症、3) 第1度無月経、4) 第2度無月経の順になり、これらのうち散発無排卵周期症は排卵誘発の対象にならないが、他はいずれも排卵誘発が必要である。また排卵誘発の成功率もこれらの順にわるくなる。無月経はまず gestagen 試験により第1度無月経と第2度無月経にわけが、この際投与する gestagen の量は本邦の各医療機関によりまちまちで、gestagen 10mg 1回、20mg 1回、50mg 1回あるいは gestagen depot 125mg 1回など、その使用量は一定していない¹⁾。そこでわれわれは、現在採用している gestagen 10mg 1回筋注法と、他の方法との間に消退出血の発来にどれだけ差が出て来るかを知る目的で、

gestagen 10mg、20mg および125mg の段階的投与をおこない、消退出血の有無を観察すると共に、第1度無月経と第2度無月経、および中枢性無月経と卵巣性無月経の間の尿中 hormone 排泄値を比較検討し、さらに月経異常と初潮年齢の相関関係についても調査したので、ここにこれらの成績について報告する。

実験対象および実験方法

当科ホルモン不妊クリニックを受診した患者のうち無月経83例を対象とし、第1表に示す方式にしたがつて gestagen 試験、estrogen 試験および gonadotropin 試験をおこない、第1度無月経と第2度無月経および中枢性無月経と卵巣性無月経の分類をおこなつた²⁾。また gestagen 投与量を検討するため別に次の実験をおこなつた。すなわち gestagen 10mg 筋注で1週間経過しても消退出血がなく、BBT も低温相にもどつている症例20例に対して、gestagen 20mg ついで gestagen depot 125mg を筋注し、各々1週間および2週間消退出血の

第1表 無月経の負荷試験による診断



第2表 各種尿中 Hormone 測定法と正常値

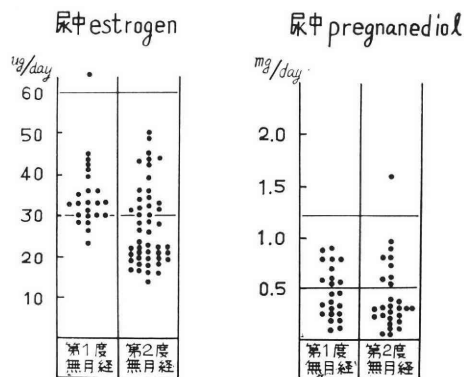
Esrogen	東北大法	30~ 60 μ g/day
Pregnanediol	Klopper-神戸川変法	0.5~1.2mg/day
17-KS	Drechter-神戸川変法	3.0~5.0mg/day
17-OHCS	Glenn-Nelson 神戸川変法	0.5~2.5mg/day
FSH	Steelman-Pohley 法	10~180 μ g/day

有無を観察し、消退出血がない症例に対して estrogen depot 10mg および gestagen depot 125mg を投与し子宮性無月経を除外した。これらの症例の尿中 FSH³⁾および各種 steroid hormone^{4,9)}は第2表に示す方法にしたがつて抽出測定した。またこれらの正常値は同様第2表に示す通りである。

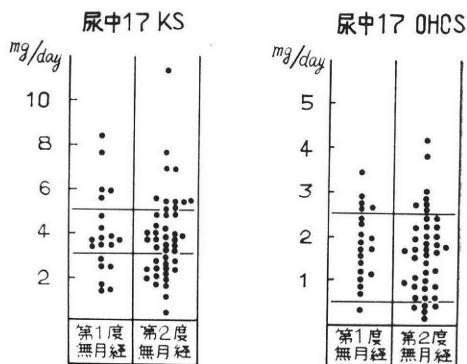
実験成績

1) 第1度無月経と第2度無月経の尿中 steroid hormone 排泄量の比較

gestagen 10mg 投与後の消退出血の有無により分類した第1度無月経20例および第2度無月経45例、計65例の尿中 estrogen 排泄量をみると、第1図に示すように第1度無月経では65%の症例が正常 estrogen 値で、のこり35%が低 estrogen 値であるのに対し、第2度無月経では70%の症例が低 estrogen 値であり、平均排泄量は第1度無月経 35 γ /day, 第2度無月経 28 γ /day であった。尿中 pregnanediol 値も、低値を示す症例が第1度無月経56%に対し、第2度無月経65%で、平均値では各々0.47mg, 0.43mg で殆んど差は認められなかった。尿



第1図 第1度無月経と第2度無月経の尿中 Steroid Hormone 排泄値 (1)

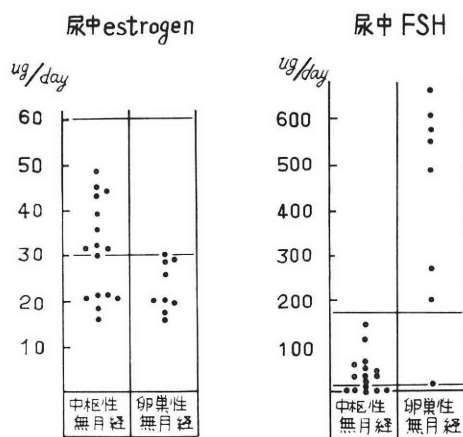


第2図 第1度無月経と第2度無月経の尿中 Steroid Hormone 排泄値 (2)

中17-KS および尿中17-OHCS の排泄値は第2図に示した。17-KS 値をみると低値を示す症例が第1度無月経では30%, 第2度無月経では38%であり, estrogen や pregnanediol と同じように第2度無月経に低値を示す症例が多かったが、高値を示す症例が各々25%であった。尿中17-OHCS については第1度無月経および第2度無月経ともに正常排泄量を示す症例が、各々70%および73%で、低値を示す症例は1例および5例にすぎなかった。

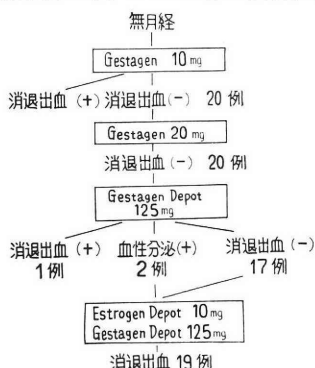
2) 中枢性無月経と卵巣性無月経の尿中 estrogen および尿中 FSH 排泄量の比較

第2度無月経50例のうち、PMS-HCG 療法または HMG-HCG 療法により排卵し、中枢性無月経と診断された16例、および PMS-HCG 療法はもとより HMG-HCG 療法にも反応せず、さらに卵巣の組織検査をおこなつて卵巣性無月経と診断された症例、ならびに染色体検索や卵巣組織検査から卵巣性無月経と診断された症例計9例について尿中 estrogen と尿中 FSH を比較検討した。この結果、中枢性無月経の50%以上の症例が正常の estrogen 値を示すのに対し、卵巣性無月経では全例が低



第3図 中枢性無月経と卵巣性無月経の尿中 Estrogen および尿中 FSH 値

第3表 無月経に対する Gestagen 負荷試験の成績



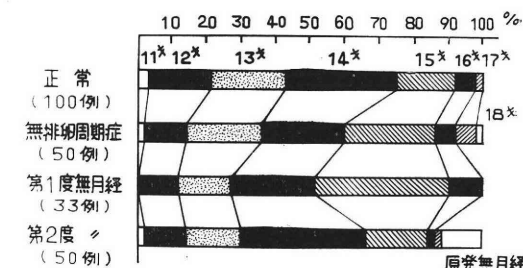
estrogen 値を示した。また中枢性無月経の尿中 FSH は正常値から低値までバラツキを示すが、卵巣性無月経では1例をのぞき殆んどが異常高値を示した(第3図)。

3) Gestagen 負荷試験の投与量の検討

無月経のうち、gestagen 10mg 投与で消退出血のなかった20例に、さらに gestagen 20mg を投与し、1週間ひきつづき消退出血がなければ gestagen depot 125mg を投与して、約2週間消退出血の有無を観察した。この結果は第3表に示すように、gestagen 20mg を投与しても全例が消退出血をみなかったが、gestagen depot 125mg 投与により、1例のみが消退出血を来し、2例は微量の血性分泌がみとめられたにすぎず、17例85%は全く出血がなかった。血性分泌をみた2例と出血が全くなかった17例、計19例は estrogen depot 10mg および gestagen depot 125mg 投与により消退出血を認めた。

4) 初潮年齢と月経異常との関係

われわれの対象とした無月経83例と、同時期にホルモ



第4図 月経異常と初潮年齢

齢を、月経がほぼ規則正しく自然排卵により妊娠した当科外来受診中の妊婦100例の初潮年齢と共に調査した。この結果、第4図の如く対照とした正常妊婦(妊婦100例)の75%が14歳までに初潮をみており、15歳で17%、16歳で60%、および17歳で2%が初潮が発来している。これに対し無排卵周期症や第1度無月経で、少々初潮年齢のおくれている傾向があり、14歳までに初潮をみているものが、60%および51%であつたが、15歳までをみると対照の正常婦人が92%初潮をみているのに対し、無排卵周期症86%、第1度無月経90%で殆んど差は認め難かつた。一方、第2度無月経では14歳までに初潮の発来したもの66%、15歳までに発来したもの84%であり、逆に12歳までの初潮発来が対照で21%、第2度無月経で14%であり、第2度無月経でのいわゆる早期初潮の傾向¹⁰⁾はみとめられなかつた。なお、第2度無月経中、原発無月経は50例中6例(12%)であつた。

考 按

Clomid¹¹⁾, Sexovid¹²⁾, PMS-HCG¹³⁾および HMG-HCG 療法¹⁴⁾など排卵誘発の方法が進歩して来たため、内分泌性不妊婦人の多くは排卵が可能となり、妊娠率もこれに伴ってかなり高率になって来た。しかしこれらの排卵誘発方法には各々の適応があり¹⁵⁾¹⁶⁾、たとえば Clomid や Sexovid 療法は無排卵周期症および第1度無月経の排卵誘発に適した方法であり、一方 PMS-HCG および HMG-HCG 療法は第2度無月経に用いられる方法である。したがって無排卵症の治療にあつては排卵障害の程度およびその部位をまず診断しなければならず、Kupperman 負荷試験¹⁷⁾はその意味で臨床的価値が高かつた。このため各医療機関とも無月経の診断に、gestagen 試験、estrogen 試験そして gonadotropin 試験を順次施行しているが、これらのテストに用いる hormone 投与量は各医療機関によつて一定していないのが現状である。これらの出血試験のうち、estrogen 試験は estrogen depot 10mg および gestagen depot 125mg を同時に投与する方法が一般的である。しかしこの

第4表 第1度無月経と第2度無月経との区別

研究機関名	使用薬剤 (方法)
北海道大学	19-nor, 1日 5~10mg 5日間
東北大学	2カ月以上の無月経患者を対象, gestagen 10mg 筋注10日以内の出血
群馬大学	Gestagen 10mg 筋注
千葉大学	Progesterone 50mg 筋注
慶応大学	Progesterone 50~65mg 筋注
日本大学	Progesterone 10mg 3日間
東京大学	Progesterone capronate 65~125mg 筋注 (Smear Index, CM を参考)
金沢大学	1) Progesterone 20mg (30~40mg) 筋注 2) Kaufman 療法
名古屋大学	Progesterone 50mg 筋注
京都大学	Progesterone 20mg+17 α -OH progesterone capronate 125mg 1回筋注または nonestrogenic progestin (retroprogesterone, chlormadinone acetate 10mg/日 7~10間内服
大阪大学	Lutal 4mg $\times$ 5日間 Duphastone 10mg $\times$ 5日間 >内服または Progesterone 10mg 1回筋注
神戸大学	Prolutone 20mg 1回筋注
岡山大学	無月経期間6カ月を境とする
九州大学	Progesterone 25~30mg 1回筋注 Duphastone 10mg $\times$ 5日間
新潟大学	Progesterone 20mg 1回筋注

1回投与法をとらずに Kaufmann 療法にしたがつてまず estrogen depot 10mg を投与し, 10日後に estrogen depot 5mg および gestagen 125mg を投与する方法を用いるところもあるが, この estrogen 試験については余り問題はない. また gonadotropin 試験としては HMG 製剤が市販されようになってからは, PMS-HCG 負荷のみによつて判定する機関はなくなり, HMG 製剤 150iu を14日間投与しても頸管粘液の増量や尿中 estrogen の増量がなければ, 卵巣性無月経と判定する方法がとられるようになっていく. したがつて Kupperman 試験のなかで, 一番問題となるのが gestagen 試験であり, われわれのように gestagen 10mg 1回の筋注ののちに消退出血を観察する方法をとらず, 第4表¹⁾のように gestagen 20mg, 50mg または125mg を投与している機関もあり, gestagen の投与量は一定していない. そこでわれわれは gestagen 10mg を1回だけ筋注する方法と, さらに大量の gestagen を用いる方法とで, 消退出血の発生のし方に差が出るかどうかを見る目的で, 今回の実験を行なつたところ, gestagen 10mg で消退出血の来ない症例は gestagen 20mg で全例が消退出血がなく, さらに gestagen depot 125mg を投与した結果, 1例だけが消退出血をみ, 2例はわずかに血性分泌物にとどまり, 17例は全く出血がなかつた. したがつて gestagen 10mg 投与で消退出血のない症例であつても, gestagen depot 125mg 投与で消退出血を来す症例のあることが明らかになつたが, このような症例は20例中1例にすぎなかつたところから, gestagen 10mg 投与法

で第1度無月経か第2度無月経かを判定しても, 臨床的には余り問題がないことになる. 実際, われわれのように gestagen 10mg 投与法を用いれば, ほぼ5日以内に判定が可能であり, 一方 gestagen 125mg 投与法では2週間またなければ診断がつかず, 臨床的には前者の gestagen 10mg 投与法が簡便である. しかし gestagen による消退出血は無月経の期間などとも関係し, 必ずしも体液中の estrogen 濃度を正しく反映しているものではないことは, 今回のわれわれの尿中 estrogen 測定成績の比較からも推定されるところであり, 尿中 estrogen 測定値がほぼ正常値を示しながら, gestagen 10mg 筋注で消退出血のない症例もみとめられた. いずれにせよ, gestagen 試験では大量を用いても10mg 投与法の成績と大差がないところから, われわれのように gestagen 10mg 1回投与法で十分臨床的役割を果しうるものと考えられる.

一方, 第2度無月経の尿中 estrogen と FSH 排泄量を測定すると, PMS-HCG ならびに HMG-HCG 療法で排卵しえた, いわゆる中枢性無月経では尿中 estrogen 値の正常範囲のものが多く, また尿中 FSH も低値を示すものから, 正常範囲のものまで多様であつた. これに対して HMG-HCG 療法でも排卵しえず, 卵巣組織所見で原始卵胞が全くまたは殆んど認められず, 卵巣皮質の膠原線維の増生が強度であつたもの, または染色体分析で Turner 症候群と診断された, いわゆる卵巣性無月経では尿中 estrogen が全例低値を示し, また殆んど症例が尿中 FSH が異常高値を示した. このような

hypergonadotropic hypogonadism は 卵巣原発無月経として排卵誘発の対象から除外しなければならないが、hypogonadotropic hypogonadism の中にも HMG-HCG 療法で排卵できない症例のあることは、われわれの経験して来たところである。われわれはこのような症例の卵巣を楔状切除して組織学的に検討したところ、原始卵胞の数がきわめてすくなく、加えて卵巣皮質の膠原線維の増生が強く、このような症例も卵巣性無月経と判定すべきであると考えており、すでに昭和46年度日本不妊学会総会のシンポジウムで発表している¹⁸⁾。

なお上記の臨床実験と平行して、月経異常と初潮年齢との関係を検討したところ、月経の正常な婦人では14歳までに75%、15歳までに92%が初潮をみていることを知った。これに対し無排卵周期症や第1度無月経ではやや初潮年齢がおくれている傾向がみとめられ、また第2度無月経では早期初潮の症例はなく、14歳までの初潮が66%、15歳までが84%で、対照例に比して明らかな差をみとめることはできなかった。しかし、これらの症例が初潮後どのような原因で、またどのような経過を辿つて第2度無月経となるのか、さらにどのようにすればそれを防止できるのかについては今後検討されなければならない問題である。

ま と め

Kupperman 試験における適正な gestagen 投与量を知る目的で、gestagen 10mg で消退出血の来なかつた無月経20例に、gestagen をさらに20mg および125mg を投与し、消退出血の有無について観察した。その結果、gestagen 20mg 投与によつても全例が全く出血をみず、さらに gestagen depot 125mg 投与により1例が消退出血を来し、2例が少量の血性分泌物をみたのみで、17例は全く出血が認められなかつた。同時に第1度無月経と第2度無月経の尿中各種 steroid hormone および尿中 FSH の排泄量を比較し、また中枢性無月経と卵巣性無月経の尿中 estrogen および尿中 FSH 排泄量を比較検討した。

文 献

- 1) 鈴木雅洲：第21回日産婦会総会特別講演要旨，1969年。
- 2) 平野睦男，高橋克幸，洞口竜夫，鈴木敬吾，本間成夫，国井兵太郎：日不妊会誌，15：105，1970。
- 3) Steelman, S. L. & Pohley, F. M.：Endocri-

nology, 53：604, 1953.

- 4) 鈴木雅洲，高橋克幸：日新医学，47：92，1960。
- 5) 鈴木雅洲，高橋克幸，赤石徹：臨婦産，13：947，1959。
- 6) 鈴木雅洲，高橋克幸，平野睦男：最新医学，15：409，1960。
- 7) 神戸川明：ホと臨床，8：964，1960。
- 8) 神戸川明：昭和医学誌，20：1，1960。
- 9) 神戸川明：ホと臨床，11：191，1963。
- 10) 松本清一：第14回日産婦総会宿題報告要旨，1962。
- 11) 平野睦男，永井宏，畠山義徳，会田邦夫：臨婦産，24：263，1970。
- 12) 平野睦男，高橋克幸，青葉久夫，吉田威，畠山義徳：臨婦産，24：1139，1970。
- 13) 九嶋勝司，平野睦男：産婦の実際，20：46，1971。
- 14) 平野睦男，高橋克幸，吉田威：日不妊会誌，13：98，1968。
- 15) 平野睦男：産婦治療，21：618，1970。
- 16) 鈴木雅洲，平野睦男，高橋克幸：産婦治療，23：402，1971。
- 17) Kupperman, H. S. & Lefkors, S. C.：Fertil. & Steril., 8：131，1957。
- 18) 平野睦男：昭和46年度日本不妊学会講演要旨，1971。

Kupperman's test and the urinary output of steroid hormone and FSH in amenorrhea

Mutsuo Hirano, Hisao Aoba and Takeshi Yoshida

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tohoku University, School of Medicine
(Director: Prof. Masakuni Suzuki)

To establish the proper dosage of the gestagens in Kupperman's loading test, the gestagens ranging from 10 mg to 125 mg was administered to the twenty cases of amenorrhea with no withdrawal bleeding resulting from the injection of 10 mg of gestagen. Seventeen cases had no bleeding even after the increase of gestagens up to 125 mg, but only one case had withdrawal bleeding. Other two cases showed only bloody vaginal discharge. Simultaneously the urinary output of steroid hormone and FSH were compared in the 1st grade amenorrhea and in the 2nd grade amenorrhea. Also the excretion of urinary estrogens and urinary FSH was discussed in the cases of pituitary amenorrhea and ovarian amenorrhea.

Haemagglutination Inhibition 法 (Luteonosticon) を 応用したヒト性周期における LH の動態

Urinary LH Levels during the Menstrual Cycle Determined by Haemagglutination Inhibition Test (Luteonosticon)

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室

堀 口 文 仁 科 進 弘
F. HORIGUCHI, N. NISHINA,

小 林 俊 文 飯 塚 理 八
T. KOBAYASHI R. IIZUKA

Dep. Obst. Gynec. Keio Univ. School of Med.

Immunochemical LH-test (Luteonosticon) を用いて正常性周期婦人、排卵誘発例及び妊娠成功例について連日採取した早朝第一尿の LH 値を測定し bio-assay や RIA における値と同様な成績を得た。即ち

1. 正常性周期婦人 2 例 5 周期の平均は増殖期 28 ± 6 iu/l, 排卵期 59 ± 27 iu/l, 分泌期 29 ± 12 iu/l で 4 周期に定形的な midcycle peak を認めその最高値は 100 iu/l であった。
2. クロミフェンによる排卵成功例 4 例 4 周期の平均は増殖期 41 ± 48 iu/l, 排卵期 75 ± 39 iu/l, 分泌期 25 ± 22 iu/l で正常性周期と類似した pattern を示したが排卵不成功例では midcycle peak を認めなかった。
3. クロミフェンによる排卵成功妊娠の 5 例に免疫学的妊娠反応陽性出現より 数日早く本テスト測定域の最高値 160 iu/l HCG (=400 iu/l LH) を示した。

ま え が き

LH 測定上最も困難なことはその微量定量が radioimmunoassay (RIA) のように特殊な施設と技術を要することで一般に臨床に利用しにくい。Haemagglutination Inhibition 法は Wide & Gemzell (1960) により尿中 HCG の測定に利用されて以来免疫学的妊娠反応として日常の診療に不可欠のものとなつてゐる。Luteonosticon (Organon) は同じく Haemagglutination Inhibition を用いたテストで HCG と LH の交叉反応を利用して尿中 LH を半定量することができる。1967年 Schnurs により発表されて以来、ヨーロッパの各研究機関で検討されてきたが、LH の各方面における尿中定量に関し充分に臨床応用され得ることが立証された。(International conference on an Immunochemical LH-Test. Amsterdam 1969 Acta endocrinologica Supplement 141巻)。

私共も本テストを用いて慶応大学病院産婦人科外来を訪れた患者のうち、正常性周期、排卵誘発例及び同妊娠例につき性周期における尿中 LH を定量し、その性周期における変動を検討したので報告する。

実験材料および実験方法

当科産婦人科外来を訪れた正常性周期婦人及び無排卵患者(第 I 度無月経)について連日早朝尿を採取し、実験に供した。テスト用試薬は写真 1 に示すように濃縮クエン酸緩衝液、乾燥家兔抗 HCG 血清及び乾燥 HCG 感作赤血球でそれに判定用小試験管がある。実験方法は、尿を 4000 回転 10 分間遠沈し、その上澄について pH の適否更に蛋白、糖及び沈渣について異常の有無を検し、テストに供した。しかし今回の実験では異常所見を呈する尿は見られなかった。6 本の試験管を用意し、第 1 図に示す順序で試薬及び検体を加え室温で incubate する。即ち緩衝液で調整された抗血清を 0.5 ml ずつ 1 ~

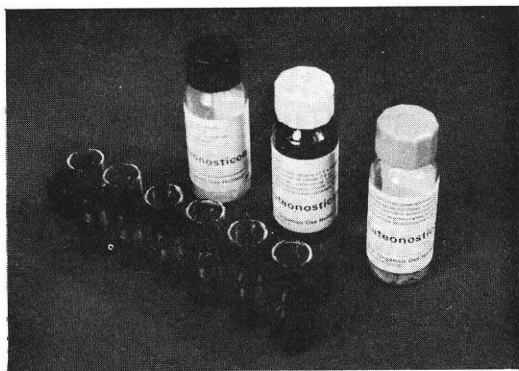


写真 1

Luteonosticon 操作法

材 料 24時間尿又は早朝第一尿

前処置 遠沈 3000~4000rpm 10分間

pH 比重 蛋白 沈渣

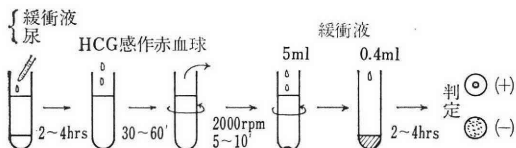


図 1

5本の試験管に入れ6本目は対照の為加えない。次いでそれぞれに各量の尿検体を入れ、緩衝液を加えて尿が各濃度に稀釈されるようにする。これを室温(15~25°C)に2~4時間放置(或は12~18時間4°Cに保存 pre-incubation)して尿中 LH と抗血清を反応させ、次いで各試験管に緩衝液で調製された赤血球浮遊液を0.5ml ずつ加えて更に30~60分室温で incubate し、尿中 LH を結合しない残存抗血清と赤血球を反応させる。次いで5~10分間2000回転遠沈して沈渣に5mlの緩衝液を加えて静かに攪拌、同様に遠沈して赤血球を洗浄し、沈渣に0.4mlの緩衝液を加えて備え付けの小試験管に移し、2~4時間室温に静置して免疫学的妊娠反応と同様に赤

血球のリング形成をもつて判定する。即ち尿中に LH の存在する場合は抗血清はこれと反応し、後で加えられる赤血球と反応しないから赤血球は凝集が阻止されそのままの状態で沈澱してリングを形成する。対照には抗血清が加えられていないから反応系は抗原のみとなり血球凝集反応は阻止され常にリングが形成される。それ故対照にリングが形成されない場合は本テストが正しく行なわれなかったことを示す。この様な場合或は尿の混濁が遠沈或は濾過により取除かれない場合は尿を80°Cの水浴上或は火気を除いた100°Cの水浴上で数分間加温して攪乱因子を取除きテストに供する。全操作は室温15~25°Cの間で行われこれを越えることは許されない。

本テストにより測定される尿中 LH の単位は25iu/l, 50iu/l, 100iu/l, 200iu/l. 及び 400iu/l LH (2nd. IRP HMG) に相当し, HCG では20, 40, 80, 160iu/l HCG に相当する。

成 績

I. 正常性周期について

正常性周期婦人2名5周期についてみると第1表に示すように月経周期は26~35日(平均31日)で排卵日は13~22日(平均17日)であつた。5周期中の平均 LH 分泌量は第1表に示すように増殖期 28 ± 6 iu/l, 排卵期 59 ± 27 iu/l 及び分泌期 29 ± 12 iu/l で、排卵期に著しい LH の分泌増加を認めた。そして5周期中4周期において著明な LH 分泌の midcycle peak を示したが1周期においては排卵期に short lasting LH peak を認めた。

症例1 (29歳0経) 正常性周期, 性周期33日, 増殖期には50iu/l 以下の極めて微量の LH が分泌されていたに過ぎなかったが16日に至り急激に200iu/l と midcycle peak を示し、引続き17日に100iu/l, 18日に50iu/l と漸減した。この LH 分泌の midcycle peak は基礎体温上昇の直前にあり頸管粘液も0.3mlに増量, 結晶化は著明で FLP 3度であつた(図2)。

症例2 (33歳0経), LH 分泌の pattern は症例1 とほぼ同様であるが測定値は一般に少々低い。即

第1表 正常性周期の尿中 LH の変動

No.	性周期 日 数	低温期 日 数	検体数	増殖期	排卵期	分泌期
1	35	22	18	38 ± 43	70 ± 41	28 ± 36
2	34	19	19	25 ± 0	100 ± 71	14 ± 21
3	27	13	12	25 ± 0	50 ± 31	35 ± 14
4	27	15	12	—	33 ± 14	22 ± 32
5	32	15	20	25 ± 0	42 ± 14	45 ± 30
平 均	31	17		28 ± 6	59 ± 27	29 ± 12

(±SDiu/l LH)

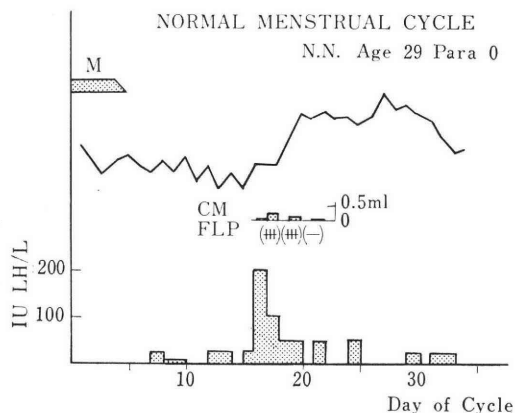


図 2

Urinary LH Levels measured by Haemagglutination Inhibition Test (Luteonosticon test) during a Normal Menstrual Cycle

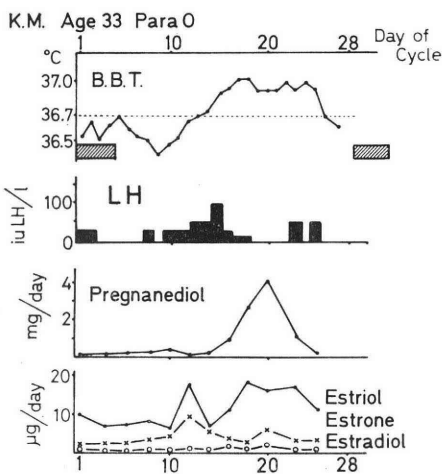


図 3

ち性周期は29日で、14日に100iu/lのmidcycle peakが認められたがその前後は漸減し、その後殆んど検出し得ず分泌期後期に再び50iu/lの低いpeakを示した

(図3).

II. 無排卵症例における人工排卵誘発例について

無排卵周期における排卵誘発例、無月経1度で増殖期に50mg/day 5日間計250mgのクロミフェンを投与した患者のうち4名6周期について検索した処1周期は排卵の所見は見られなかったが5周期に排卵を誘発し、うち1例は妊娠した(第2表参照)。排卵成功非妊娠4例の月経周期は34~43日(平均38.3日)で排卵は18~33日(平均25日)、LH分泌の平均値は増殖期 41 ± 48 iu/l、排卵期 75 ± 39 iu/l及び分泌期 25 ± 22 iu/l LHで排卵期には著しい分泌のpeakを示した。排卵成功例は無排卵が全くpeakを示していないのに反して正常性周期と類似したLH分泌像を示している。しかし正常性周期に比し、増殖期が長く、排卵までに約18日間の延長をみている。

症例3(28歳, 0経)排卵成功非妊娠例, 月経周期は43日で増殖期にクロミッド250mgを投与, 19日に頸管粘液の増量(0.3ml)及び高度結晶化(FLP 3度)を認めたが, この状態が10日以上続き, この間LHの分泌は余り認められなかった。しかし基礎体温は徐々に上昇しつつあり, 34日以後にようやくLH分泌が100iu/l~200iu/lとpeakを認めた。しかしこの時期は既に基礎体温も上昇したあとで頸管粘液も消失しつつあった(図4)。

III. 排卵成功妊娠例について

無月経1度で増殖期にクロミフェン250mgを投与したものの5例中1例は妊娠前から全周期に亘りLH値測定, 4例は妊娠5週で本テスト施行, 更にこのうち1例は妊娠10週で自然流産した。何れの症例も妊娠5週で本反応測定域の上限400iu/l LH即ち160iu/l HCGを越える値に達し, HCGが多量に分泌されていることが推定された。尚このHCG分泌の急上昇は1~2日間のうちに行われ, その約1週間後に通常の免疫学的妊娠反応が陽性を示した。又流産例は流産の直前までに測定したものは常に測定域の上界を起える値, 160iu/l HCGを

第2表 排卵誘発例の尿中LH排泄値(±SDiu/l LH)

No.	性周期 日数	低温期 日数	検体数	増殖期	排卵期	分泌期	5 週	6 週
1	32	不明	8	50 ± 0	33 ± 14	19 ± 24		
2	43	33	13	7 ± 19	81 ± 90	—		
3	38	24	4	—	75 ± 35	25 ± 0		
4	36	22	17	—	25 ± 25	4 ± 10		
5	34	18	20	75 ± 67	120 ± 76	47 ± 23		
平均(No. 2, 3, 4, 5)				41 ± 48	75 ± 39	25 ± 22		
6 Y. S.	妊娠	14	26	33 ± 14	100 ± 61	108 ± 74	68 ± 64	160iu/l HCG (400iu/l LHに相当)

Urinary LH Levels measured by Haemagglutination Inhibition Test. In a patient following Clomiphene citrate Administration

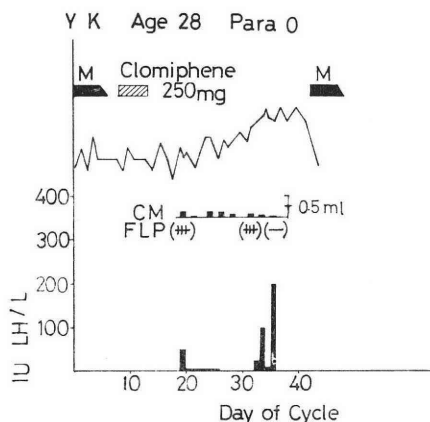


図 4

示した。

症例 4 (30歳, 0 経) 排卵誘発妊娠例。妊娠の前周期は34日, クロミフェン250mg 投与による排卵は18日で全周期を通じて LH 分泌の状態はよい(増殖期 75 ± 67 iu/l, 排卵期 120 ± 76 iu/l 分泌期 47 ± 23 iu/l LH)。妊娠した周期も同様にクロミット250mg を投与, 14日に排卵, 妊娠したもので, LH 分泌の pattern は増殖期 33 ± 14 iu/l, 排卵期 100 ± 61 iu/l 分泌期 108 ± 74 iu/l LH で全周期を通じ, 他の総ての症例と比べ, 著しく高い。そして無月経6週の第1日目から400 iu/l LH 即ち160 iu/l HCG 以上を示した。排卵の殆んど直前と思われる時期に200iu/l の midcycle peak を有し, 次いで少々低下するのが正常周期の場合と同様に全く消失することなく持続し, 数日後再び第2の peak を示した。次いで分泌期末期に再び第3の peak が起こり, これは2日間 400 iu/l LH= 160 iu/l HCG 以上となった。この第3の peak は妊娠によるもので, この1週後, 即ち妊娠6週の終りに免疫学的妊娠反応は陽性となった。第3の LH peak は RIA による HCG 測定曲線と比較すると殆んど平行している。又 pregnandiol も estrogen も分泌期中期からその尿中排泄値は上昇を続け, この HCG 分泌の上昇曲線と平行して急上昇を示した (図5)。

考 察

無排卵患者の治療上, 正常性周期及び排卵誘発時の LH 分泌動態を知ることは重要で現在までに数多くの詳細な研究がなされている。RIA の利用によっても略一致した所見が得られているが正常性周期においては LH は排卵期に著明な midcycle peak を示し, その他, 多

Urinary LH Levels measured by Haemagglutination Inhibition Test (Luteonosticon test) in a Pregnant Patient

Y. S. Age 30 Para 0

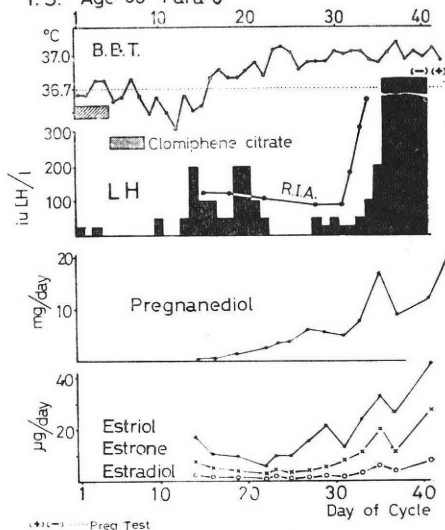


図 5

少の変動を見せる場合もある。Luteonosticon による尿中 LH の測定は正常性周期において同様に何れも mid-cycle peak を有し, その測定値は RIA による方法と略一致している (Thomas, 1970)。当教室の斉藤 (1970) は正常性周期婦人27例を RIA により尿中 LH レベルを測定した処, 17例に midcycle peak を認め, 6例は多峰性, その他4例であつたと述べている。正常性周期における LH 分泌の多峰性については余り議論されていないが私共の成績では5周期中4周期に排卵期に一致した midcycle peak を, 1周期に排卵期に short lasting peak を示した。

Taubert ら (1970) は Luteonosticon を用いた正常性周期婦人4周期中, 2例に排卵期及び分泌期に double peak を認め, これは Mishell (1966) や Wide et al (1961) もすでに報告していると述べている。Stamm and Zarro (1970) は5周期中全部に排卵期に一致した mid-cycle peak を示し, 更に分泌期に第2の peak を有するものがあり, 又排卵を伴った黄体機能不全では比較的小さい peak が遅れて起きていると述べている。Saxena (1968) は Progesteron の増加が LH 分泌に関与していると述べているが, 正常性周期における LH 分泌も排卵期における midcycle peak という pattern 以外に分泌期には屢々小さい peak を認めるようである。

無排卵周期にクロミフェンを投与した5例のうち排卵の起きたもの4例は著明な midcycle peak を示したのに反し, 排卵がはつきりと認められなかつたものはやは

り midcycle peak を欠如し、これは Taubert ら (1970) や Stamm and Zarro (1970) の成績と一致している。

次いで妊娠例はクロミフェンにより排卵が誘発されたにも拘らず LH 分泌状態は増殖期から良好で midcycle peak の他に黄体期にも第2の peak を有することから Saxena のように排卵期の progesteron 分泌が LH 分泌を促し、黄体機能の維持に好影響を与えているのかもしれない。本例では pregnandiol が特に排卵期に増加している所見は得られなかったが当教室の仁科ら (1971) の成績にも見られるように分泌の後期即ち妊娠5週の始めに estrogen の分泌が HCG と共に増加している。斉藤 (1970) は RIA を用いて妊娠した周期の HCG を測定したが推定排卵日から14日で既に正常性周期との差を見出している。Luteonostion は MED が25iu/l LH 20 iu/l HCG なのでこれ以下の極めて僅かな変動を見ることは困難である。その他更に5例に妊娠5~6週で本反応をみた処、全例に160iu/l HCG 以上を示したが免疫学的妊娠反応よりも早期に、特に症例4では数日間早く本テスト最高値を示したので本法は妊娠の早期診断にも役立つものと考えられる。

結 論

Haemagglutination Inhibition 法を応用した Immunochemical LH-Test (Luteonosticon, Organon) を用いて正常性周期及び排卵誘発例の尿中 LH を逐日的に測定し bio-assay や RIA における測定値と同様な成績を得た。

1. 正常性周期婦人2例5周期では平均増殖期 28 ± 6 iu/l LH 排卵期 59 ± 27 iu/l LH 分泌期 29 ± 12 iu/l LH で4周期に定形的な midcycle peak を認めた。

2. クロミフェンによる人工排卵成功例の4例4周期に midcycle peak を認め、LH 分泌 pattern は増殖期平均は 41 ± 48 iu/l 排卵期平均値は 75 ± 39 iu/l 分泌期平均値は 25 ± 22 iu/l LH で正常性周期と類似の pattern を示した。なお排卵不確認の1例では B.B.T. 上昇直前の LH peak は認められなかった。

3. クロミフェン投与により排卵に成功、妊娠したものの5例のうち、1例は増殖期 33 ± 14 iu/l LH. 排卵期 100 ± 61 iu/l. 分泌期 108 ± 74 iu/l LH で高温14~20日 (無月経5週)、 68 ± 64 iu/l、高温15日頃より増量し、高温19日目に160iu/l HCG に相当する400iu/l LH 以上に急上昇した。他の妊娠4例も何れも妊娠5週~6週初期で本テスト最高値を示し、免疫学的妊娠反応陽性出現の数日前に妊娠時に見られる HCG 分泌増加を認めた。

流産例では妊娠10週で流産する迄160iu/l HCG 以上を証明した。

(本研究は昭和46年度日本不妊学会総会に於て発表した。)

文 献

- 1) 仁科進弘, 小林俊文, 斉藤薫: The VIIth World Congress on Fertility and Sterility (1971).
- 2) 斉藤薫: 慶応医学, 47: 281, (1970).
- 3) Saxena, B. B. H., Demura, H. H. Gandy and R. Peterson: J. Clin. Endocr. and Metab. 28: 519, (1968).
- 4) Schuurs, A. H. W.: Acta endocr. (Kbh.) Suppl. 119: 129, (1967).
- 5) Stamm, O., E. D. Zarro: Acta endocr. Suppl. 141: 145, (1970).
- 6) Taubert, H. D., R. Abraham., W. Prinz and I. Fritz: Acta endocr. Suppl. 141, (1970).
- 7) Thomas, K., E. J. Ferin: Acta. endocr. Suppl. 141: 75, (1970).
- 8) Mishell, D. R.: Amer J. Obst. Gynec. 95, (1966).
- 9) Wide, L. and C. A. Gemzell: Acta endocr. (Kbh.) 35: 261, (1960).
- 10) Wide, L. Roos, P. E., Gemzel, C. A.: Acta endocr. (Kbh) 37: 445, (1961).

Urinary LH levels during the menstrual cycle determined by Haemagglutination Inhibition Test (Luteonosticon)

Fumi Horiguchi, Nobuhiro Nishina,
Toshifumi Kobayashi and
Rihachi Iizuka

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

The daily LH levels in morning urine of normal menstrual cycle, anovulatory cycle and early stage of pregnancy were determined by Haemagglutination Inhibition Test (Luteonosticon).

Mean LH levels in 5 cycles of normal women were 28 ± 6 iu/l in the proliferative phase, 59 ± 27 iu/l in the ovulatory phase and 29 ± 12 iu/l in the secretory phase. These values showed typical mid-cycle peak of LH excretion.

In 4 patients whose ovulation was successfully induced by the treatment with clomiphene, mean urinary LH concentration were 41 ± 48 iu/l in the proliferative phase, 75 ± 39 iu/l in the ovulatory phase and 25 ± 22 iu/l in the secretory phase. The pattern of LH levels were comparable to those obtained in the women with normal menstrual cycle. However no significant peak in the

LH excretion was demonstrated in the case which showed no ovulatory response to clomiphene.

Five cases of pregnant women obtained highest

values 160 iu/l HCG (=400 iu/l LH) a few days earlier than the day which was detected positive reaction by immunological pregnancy test.

新生児にみられたX/XY/XX の染色体構成をもつ 仮性男性半陰陽の一例

Male Pseudohermaphroditism in Newborn with Chromosome
Mosaicism of Type X/XY/XX

公立能登総合病院産婦人科, 金沢大学癌研ウイルス部

矢 吹 朗 彦

Y. YABUKI

Dep. Obst. Gynec. Noto Public General Hosp.

富山県立中央病院

館 野 政 也 浮 田 俊 彦 中 村 武 夫

M. TATENO

T. UKITA

T. NAKAMURA

Toyama Prefectural Central Hospital

1970年2月に娩出された半陰陽児の染色体検索と2年間の発育を観察した。両親は近親結婚ではなく、母親の妊娠中には性ホルモン投与やX線照射はなかった。児は妊娠35週で自然に娩出された1749gの未熟児であつた。外陰部は尿道下裂を伴う男性性器とも、肥大した陰核をもつ女性性器ともとれた。排尿はphallus下の1つの開口部よりなされ、男性型の尿道を有していた。染色体構成はX/XY/XXのmosaicで、染色体数45=72%, 46=17%, 44=5%の分布を示した。またXX群のA, B groupに常染色体の異常が観察された。性染色質は陰性であつた。開腹により、性腺は両側とも精巣で、右側に卵管と左側に精管が確認された。現在、児は身長、体重とも標準以下で、性格、嗜好は男性的である。本症は配偶子、受精卵時期の分離と消失で生じた異常性染色体構成が原因となり、性腺および内外性器の発育過程に異常をきたした半陰陽で発生的には真性半陰陽に類するものと推論される。

1) 緒 言

Tjio & Levan¹⁾の組織培養の染色体研究への導入、Moorhead²⁾の白血球培養法をはじめとし、低調液処理法、colchicine, phytohemagglutininの添加法などの技術的発達と共に、先天性奇形や性異常の遺伝細胞学的研究は多大な進歩をなした。なかでもsex-chromatin検査などより、はやくから性染色体の異常であろうと予想されたTurner症候群や真性半陰陽などの疾患は、こうした技術の発展とあいまって新たな解析のもとに脚光を浴びるに至つたのは当然であろう。

半陰陽についてはKlebsの分類³⁾にはじまり、Wilkins⁴⁾, Jost⁵⁾やJones & Scott⁶⁾はsex-chromatinを性

の判定基準に加え、Turner症候群やKlinefelter症候群もその範疇に加えた。さらに落合ら⁷⁾は性染色体を取り入れた分類の試案を提出し注目された。しかし、1960年代にはX/XY⁸⁾, XX/XY⁹⁾, XX/XXY¹⁰⁾, XX/XY/XXY¹¹⁾などのmosaicismを始めとする数々の新しい半陰陽が報告され、従来のgonadal, somatic-sexを基準とし、それに染色体の概念(chromosomal sex)を附加したような分類では、充分説明することが出来なくなつた。特に、臨床的異常の複合体である従来の症候群と云う分類では、あまりに多くの新事実の出現により、もはや用をなさなくなつた感が強く、新しい考えの上に分類の細分化と再編成がなされる必要があると思われる。

われわれも、当院で娩出された未熟児に、45,X/46,

XY/46?XX の染色体構成をもち、stem cell が45,X であるにもかかわらず、かなり分化した精巣と卵管をもつ男性仮性半陰陽を経験し、誕生より2年経過した現在にいたるまで、その発育過程を観察して来たので、新生児期の染色体検索から手術に至るまでの経過と体型的発育の変遷について報告するとともに、この染色体の構成の形成過程、本症と真性半陰陽、Turner 症候群及び Klinefelter 症候群との関連性について考察したい。

2) 染色体検査法

染色体標本の作成には、全血培養法によるリンパ球を使用した。培地は20% calf serum Eagle (PH 7.2) 10 ml + P.H.A.-P 0.2ml で、血液 1ml を加え3日間静置培養した。colchicine 0.4 μ g/ml 附加3時間後、Moorhead 法²⁾を応用し標本を作成し、染色は pH 6.4 の10%ギムザ液を用いた。核型の分析は Denver 方式に基き、表示法は Chicago Conference によるものを用いた。

3) 症 例

i) 分娩時、新生児期の所見：本症は

■、妊娠35週で娩出された1749g の早産児である。両親は血族結婚ではなく、父は28歳、新聞社に勤務するカメラマンで、母は未産、職業は夫と同じ会社の記者であり、両者の家族歴、既往歴には特記すべきことはない。母は昭和■■■■を最終月経として妊娠し、自然に陣痛が発来した妊娠35週まで、その経過はいたって順調であり、その間X線照射や性ホルモン剤の投与は行なわれなかった。■■■■夕に産徴を認め、午後11時に入院し、翌朝4時自然に分娩を終了した。児は未熟児で頸部に2回臍帯巻絡があつたため、仮死1度で娩出された。1分後の Apgar's score は5点で蘇生後にただちに保育器内に移された。児の外陰部は男女いずれとも判定出来る形態を示し、一見極度の尿道下裂を伴う男性性器とも思えるが、肥大した包茎状を呈する陰核とその基底部に尿生殖洞が開口している女性器とも考えられるものであつた(写真1)。しかし、医師、看護婦の第一印象は女性であつたと云う。仮死で娩出され、蘇生後すぐに保育器に移されたため身長と体重のみ測定され、夫々42cm 及び1749g (妊娠9ヶ月末45cm, 2000g が標準値) で標準以下であつたが、身長体重比4.17と比較的バランスもとれ、特に短軀と云う印象もなく、翼状贅片や外反肘の奇形も認められなかった。新生児期の経過は、12時間後の末梢血 pH 7.32, retraction score (Silverman-Anderson) 1点で合併症もなく、生後36時間目よりプレミルクによる哺乳を開始した。体重増加は7日目で Danis 未熟児体重増加曲線の「下」に該当す

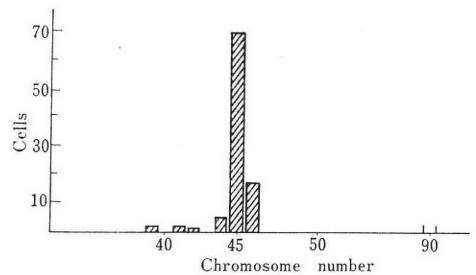


図 1

るものであつたが、13日目には生下時体重に復帰し、その後退院まで標準曲線を上まわる発育をしめした。生理的黄疸も中等度に終わった。

ii) 染色体検索：染色体分析は生後7日目に肢静脈より採血した血液を用い開始した。作成標本中96細胞について染色体数を数えた histogram は図1で、染色体数45が69 (72%)、46が16 (17%)、44が5 (5%)、90が2 (2%) 及びその他が5 (5%) の分布を示した。そのうち18細胞につき核型の分析を行ない45, X (写真2) が7, 46, XY (写真3) が4, 46, XX (写真4) が2, 45, XX, 4- (写真5), 44, XX, 1-, 3- (写真6), 44, XX, C-, 44, XX, 2-, 5-, 及び90, XXXX, A- が各々1個ずつ検出された。これより児の染色体は X/XY/XX の mosaic と一部に常染色体の異常を伴う複雑な構成を有するものであると云える。なお常染色体の異常は性染色体 XX 群にのみ観察され、統一性を欠き、偶然的とも取れる印象を受けるため、標本作成上のミスも考慮しなくてはならないが、XX 群にのみにこうした異常が認められたことは注目に値する。この問題に関しては、より多くの核形分析が必要であろう。

buccal smear による sex-chromatin は陰性であつた(写真7)。

iii) 性腺および内外性器の検索：排尿は phallus の基底部に開口せる尿・生殖口よりなされる。生後65日目に同所より造影剤に注入して行つたX線写真では、男性型を示す尿道につづいて膀胱が造影されたのみで、子宮の陰影はみあたらなかった(写真8)。

内外性器に於ける変化では、生後7日目ごろより右鼠径部皮下に小豆大の腫瘤に触れるようになり、日をおつて生殖丘内に下降し、併発したヘルニア内容として、はつきりと触れるようになった。生後69日目には腫瘍の同定とヘルニアの閉鎖のため切開を行つたが、内容は精巣とも卵巣ともつかぬ薄い被膜におおわれた黒褐色で小豆大の腫瘤と、それに続く未発育な卵管らしきものが存在していた。病理的には、腫瘤は明らかな精細管間質細胞を備えた精巣組織(写真9)で、後者は卵管采に



写真 1 (生後 7 日)

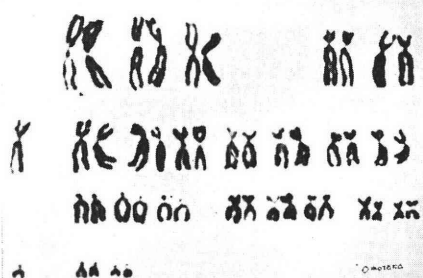


写真 3 46, XY

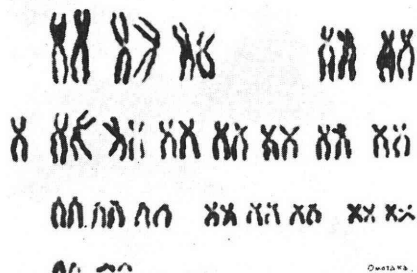
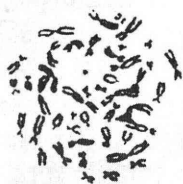


写真 2 45, X

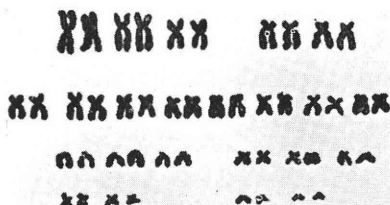


写真 4 46, XX

あたる部分で(写真10)で、卵巢組織はないと診断された。

以上の所見より、児は染色体異常を伴う半陰陽と診断し、法的性を男性とし最終診断は本格的な開腹術にたえるまで待つことにして生後90日目に退院した。

1歳4ヶ月、左側の性腺決定と左側に出現したヘルニアの根治手術のため入院させ、昭和46年6月15日外科、泌尿器科医の助力を得て全身麻酔下で開腹した。骨盤内には、前回右ヘルニア切開時に認めた精巣と卵管が存在するのみで子宮はいかなる形状としても発見出来ず、左側にも性腺にあたるものは認められなかった。しかし鼠径部の皮下に性腺らしい小豆大の腫瘍をふれ、切開後ただちに凍結標本を作成し鏡検した結果、密に精細管がみられる精巣組織と診断された(写真11)。両親の希望で

もあり最終的に男として育てることにして、両側の睾丸固定とヘルニアのうを切除し手術を終えた。なお左精巣上体様器管は組織学的には筋層に包まれ、ひだをなした粘膜をもつ精管と卵管様部分(精巣上体?)が移行するが如き構造を有すると診断された(写真12)。なお開腹時の性腺は写真13, 14に示すごとくであつた。

以上より本症は45,X/46,XY/46?XXの染色体構成をもつ仮性男性半陰陽 pseudohermaphroditismus masculinus internus (Klebs³⁾)であると診断し、法的にも男として届出て以後の発育をみまもることにした。

児の2年間の発育概要は表1に示す。手術前には下痢発熱がありたびたび気管支炎などに罹患しやすかつたが、術後はいたつて健康で風邪もひくことなく、近ごろはますます男性的風貌と行動性を持つて来た。嗜好では

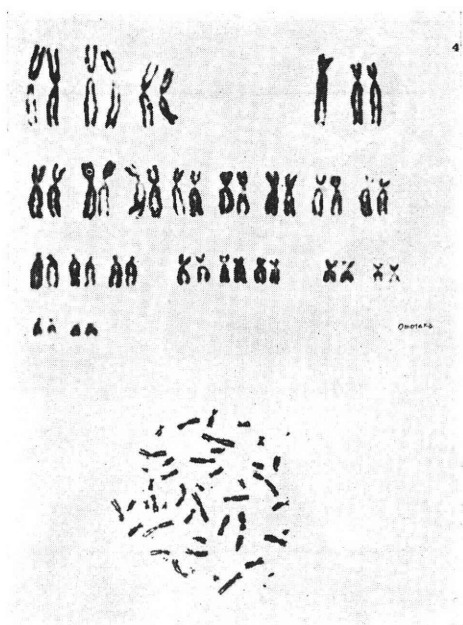


写真 5 45,XX,4-

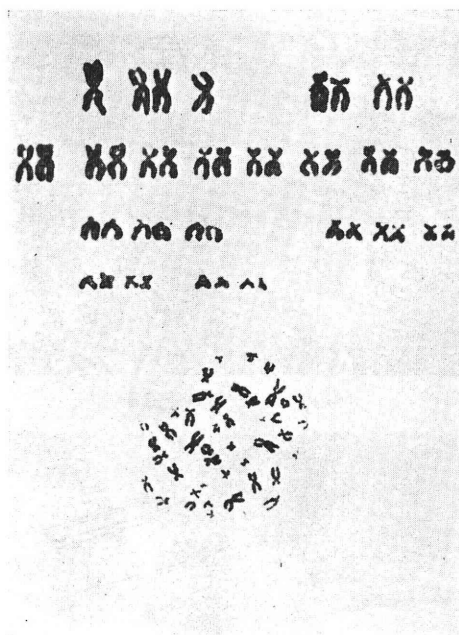


写真 6 44,XX,1-,3-

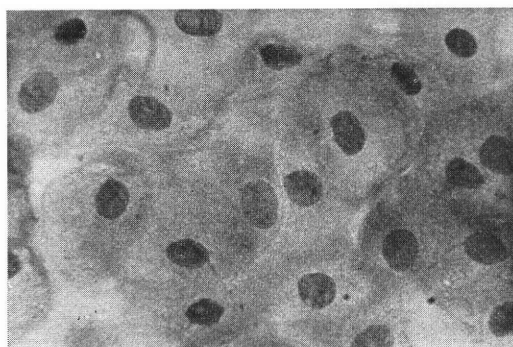


写真 7 sex-chromatin



写真 8 男性型を示す尿道

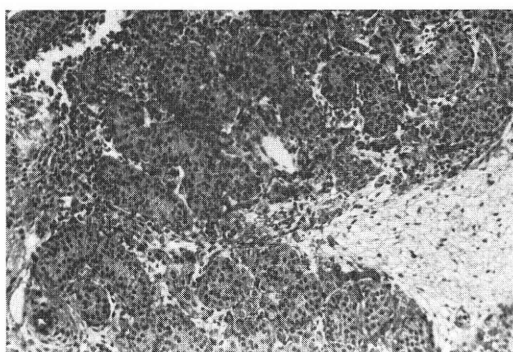


写真 9 右精巣組織像

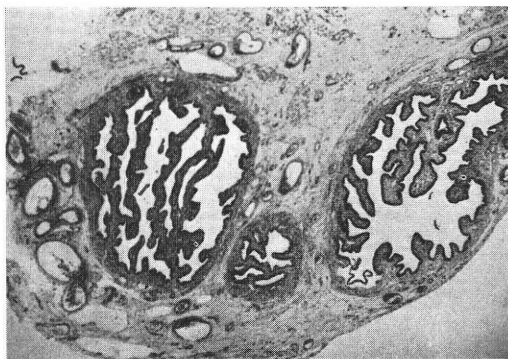


写真 10 右卵管組織像

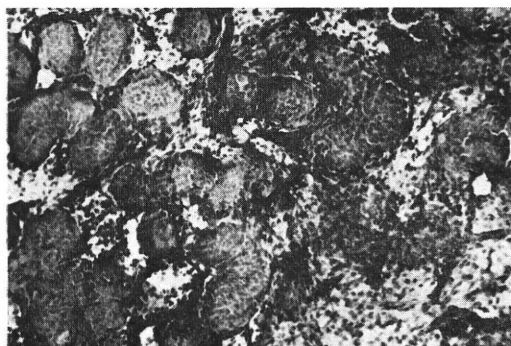


写真 11 左精巣組織像

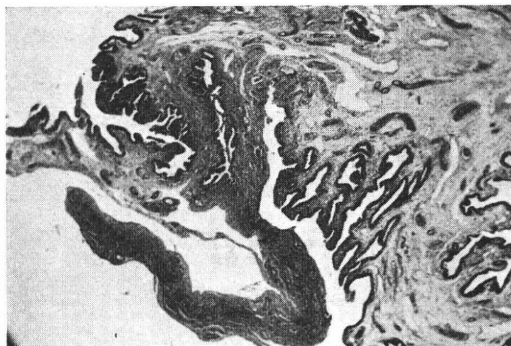


写真 12 左精巣上部組織像

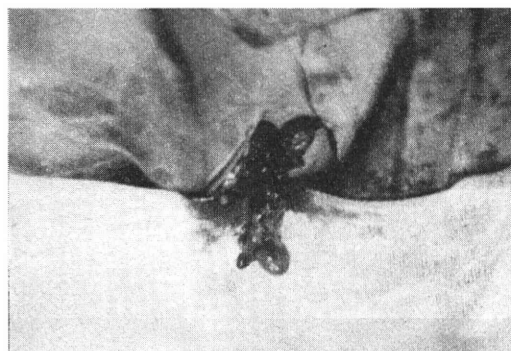


写真 13 左性腺

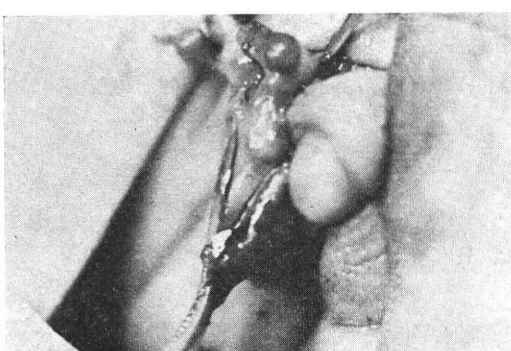


写真 14 右性腺

表 1 発育経過

首のすわり	2カ月末
ねがえり	5カ月中
おすわり	6カ月
はいはい	7カ月
歯のはえはじめ	7カ月初
片言	9カ月
つかまり立ち	10カ月
つたい歩き	11カ月
ひとり歩き	1年2カ月
4カ月初 体重kg 5.2 身長cm 55.0	
8カ月中 6.4 64.5	
1年3カ月 7.6 69.0	
1年10カ月 9.0 74.5	

ピストルや自動車を好み、人形などは眼もくれぬと云う。1歳10ヶ月で体格は標準より小さく、下肢長が身長に比して短い傾向にある他は顕著な異常は認められていない。

4) 考 案

本症を性腺及び内外性器よりみれば、男性仮性半陰陽と診断されるが、一般に仮性半陰陽は真性半陰陽と異り、性の分化の過程で母体のホルモン分泌異常や性ホルモン剤の投与などの外的因子が関係して誘発される。しか

し、本症には明らかに染色体構成上の異常があることや母体のホルモン分泌異常の有無は不明としても、性ホルモン剤やその他の催奇形作用のある薬剤の投与、X線照射がなかったことなどから、この仮性半陰陽と云う表現型は性染色体の異常が原因で、性の決定される時点で生じた可能性が考えられるのではなからうか。また一方半陰陽には、牧野らが提唱する X/XY 症候群¹²⁾をはじめとし多数の Turner 症候群の標徴をもつ症候が報告されている。しかし、Turner 症候群や Klinefelter 症候群は、Wilkins⁴⁾らにより、一時は gonadal sex と sex-chromatin との間にくいちがいがあると云う理由で半陰陽の範疇に編入されたこともあつたが、chromosomal sex が性の判定基準となつている現在では、一応別のものであると考えなくてはならない。このように現在でもなお半陰陽、Turner 症候群、Klinefelter 症候群などの性染色体異常を伴う疾患の間の関係はまだ詳細に把握されていないと思われる。

以下こうした観点より、本症と半陰陽、Turner 症候群、Klinefelter 症候群などと比較検討しつつ考察を加えてみた。

まず本症が明らかな精細管をもつ精巣を有し、卵巣、子宮などを欠き、所々に男性形質を強く表わす所見は

Turner 症候群の範疇に入れるには矛盾が多く、また Klinefelter 症候群を考えるにも染色体的に困難である。しかし、文献的には mosaicism を伴う Turner 症候群は典型的な Turner 症候群の標徴を示さなくなつてくると云う報告が多い(例えば Fraccaro et al.¹³⁾, Blank et al.¹⁴⁾ の報告にみられる X 染色体の長腕部の isochromosome や Jacobs et al. の X 染色体の短腕の欠失を伴う Turner 症候群らにみられるように、Turner 症候群の症状を発現するには Y 染色体がなく X 染色体の短腕が 1 ケしかないことが必要であると云われ、又 Hamerton の成書¹⁶⁾でも卵巣の正常な発育を control する遺伝子は、一方の X 染色体の短腕上にあり、この遺伝子の欠損により Turner 症候群が現われて来ると述べている。実例として X/XX¹⁷⁾, X/XXX¹⁸⁾, X/XY¹⁹⁾, X/XXY¹⁵⁾などの症例があげられる)。これらの文献的事実と本症の標準より小さい体格、stem cell が 45,X にあることなどから、本症も甚だユニークな性染色体構成をもつために生じた標準の標徴を備えぬ Turner 症候群と考える。また一方、X/XY⁸⁾や XX/XXY¹⁰⁾らの mosaicism をもつた真半陰陽は Klinefelter 症候群を合併した云う報告もあり、本症と Klinefelter との関係も考慮すべき問題であろう。

人の性染色体異常の発生原因は、卵子、精子の減数分裂や受精卵初期の卵分割の際の不分離 non-disjunction や消失 loss にあると云われる。例えば、Turner 症候群や Klinefelter 症候群は精子、卵子の形成過程に於ける不分離²⁰⁾により、また X/XY mosaic⁹⁾は受精卵分割の後期で Y 染色体が遅滞した結果生じたと云われる。本症の染色体構成もこうした異常な現象がもつと複雑に組みあわさつて出来たものと考えられる。たとえば、図 2 に一例とした示したごとくまず卵子の成熟分裂に生じた不

分離により形成された XX 配偶子と父親由来の Y 配偶子と結合し XXY の受精卵が出来、ついでその第 1、第 2 の卵分割の際に生じた anaphase lagging によつて X, XY, XX の性染色体が出来たという推論も成り立つ。そしてこうして成立した異常染色体構成には Y 染色体が存在するため X 染色体より medullary stimulating substance の産出をうながし、髄質を発育させ精巣としたため、強く男性的形成を発現させ、XX 染色体の存在は Y 染色体により性の決定に関する作用を抑制されつつも Müller 氏管の部分的発育を誘起し卵管を発生させたと考えることもできよう。

以上より本症を結論すれば、本症は Klinefelter 症候群に類似する染色体構成をもつた受精卵より発し、その分裂過程で mosaicism を生じ、これが性腺及び内外性器の発育に影響を与え前記したような表現型を造りあげたものであり、発生的には真性半陰陽に類する症例であると推論される。こう考えれば児の gonadal-phenotypic sex はより都合よく説明出来る。ともかくこの推論が正しいか否かは、児の将来に発現して来る somatic な変化によつて一部答えられるのではなからうか。

次に常染色体にみられる異常について、まず考えられることは、この変化は isochromosome に基づくものではなからうかと云うことである。しかしこれは形態的にも数的にも trisomy より monosomy と見られる所見や、sex-chromatin が陰性であることから一応否定出来ると思われる。だが細胞分布上いかに絶対的少数といえ、かような常染色体異常が全く生命や体構造(生殖器官は別として)に関与しないことは考えられない。またこの異常そのものにも統一性を欠き、偶発的傾向が見られる所見などは、標本作成上の miss も考えられるが、リンパ球にのみある異常であり他の体細胞にはなく、そのため生命には重要な影響を与えなかつたのではなからうか。

そろそろ児も 2 歳の誕生日を迎えようとしている。近ごろは特に男性的性格が発現が強く、行動、嗜好などの面でも近所の男の子と全くかわるところがないと云う。しかし、将来 Klinefelter 症候群の例からも正常な睾丸の発育と機能は期待出来ず、男性としての欠陥が生じてくるのはほぼ必然であろう。こうした点では女性のほうが社会的因襲をより都合よく回避出来るであろうが、これに関しては手術の時によく両親とも相談してあるので、われわれの今後の務めは児が社会に適応しすこやかに成長するようにみまもり、最良の人生を送り得るよう助力することであると思われる。近日中に、両親とともに 2 歳になつた時点での染色体分析を行なう予定にしている。hystogram や核型の上からも新しい事実が発見

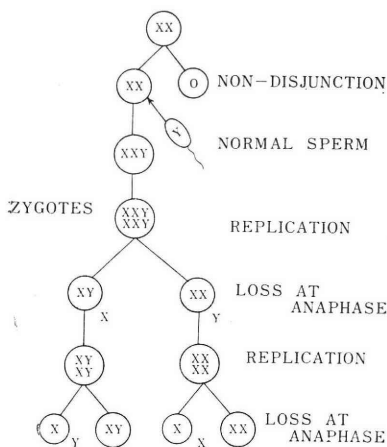


図 2

されるのではなかろうかと期待される。

5) 結 語

昭和45年2月、男性仮性半陰陽児の出産を経験し、染色体の検索と生後より2年間にわたる発育経過を報告するとともに、本症と真性半陰陽、Turner 症候群及び Klinefelter 症候群との関連性を、異常性染色体構成の成因と云う観点より考察を加えた。

本稿を終るに当り種々助言いただいた金沢大学癌研ウィルス波多野教授、手術に御協力いただいた富山県立中央病院外科広野博士および病理診断をお願いした金沢大学医学部第一病理学教室北川博士に深謝いたします。なお本症例は、筆者が富山県立中央病院に在院中に経験したものです。

文 献

- 1) Tjio, J. H. and Levan, A.: *Hereditas*, 42, 1, 1956.
- 2) Mootheard, P. S., Nowell, R. C., Mellman, W. J., Battips, D. M. and Hungerford, D. A.: *Exper. Cell Res.* 20, 613, 1960.
- 3) Klebs, E.: *Handbuch der Pathologischen Anatomie* 4 Lfg. Berlin, 1873.
- 4) Wilkins, L.: *Pediatrics*, 16, 287, 1955.
- 5) Jost, A.: *Schweiz. med. Wschr.*, 87, 275, 1957.
- 6) Jones, H. W. and Scott, W. W.: *Hermaphroditism, Genital Anomalies and Related Endocrine Disorders*, Williams & Wilkins, Baltimore, 1958.
- 7) 落合京一郎: 日本泌尿器科全書, 8 II, 431, 金原出版, 東京, 昭36.
- 8) Hirschhorn, K., Decker, W. H. and Cooper, H. L.: *New Eng. J. Med.*, 263, 1044, 1960.
- 9) Waxman, S. H., Kelley, V. C., Gartler, S. M. and Burt, B.: *Lancet*, i, 161, 1962.
- 10) Turpin, R., Lejeune, J. and Breton, A.: *C. R. Acad. Sci., Paris*, 255, 3088, 1962.
- 11) Fraccaro, M., Taylor, A. I., Bodian, M. and Newns, G. H.: *Cytogenetics*, 1, 104, 1962.
- 12) 牧野佐二郎: 人類の染色体(臨床医学への応用), 127, 紀伊国屋新書, 1967.
- 13) Fraccaro, M., Ikkos, D., Lindstem, J., Luft, R., Kaijser, K.: *Lancet*, ii, 1144, 1960.
- 14) Blank, C. E., Gorden, R. R., Bishop, A.: *Lancet*, i, 947, 1961.
- 15) Jacobs, P. A., Harnden, D. G., Buckton, K. E., Court Brown, W. M., King, M. J., MacBride, J. A., MacGregor, T. N., Maclean, N.: *Lancet*, i, 1183, 1961.
- 16) Hamerton, J. L.: *Handbook of Molecular Cytology*, 765, North-Holland, P. C., Amst., London, 1969.
- 17) Grouchy, J., de Lamy, M., Frézal, J. and Ribier, J.: *Lancet*, i, 1369, 1961.
- 18) Ferguson-Smith, M. A., Alexander, D. S., Bowen, P., Goodman, R. M., Kaufmann, B. N., Jones, H. W. Jr. and Heller, R. H.: *Cytogenetics*, 3, 355, 1964.
- 19) Judge, D. L. C., Thompson, T. S., Wilson, D. R. and Thompson: *Lancet*, ii, 407, 1962.
- 20) Polani, P. E.: *Clinical Aspects of Genetics*, The Proceedings of a Conference held in London at the Royal College of Physicians of London, 63, Pitman Med. Pub. C. L., 1961.

Male Pseudohermaphroditism in Newborn with Chromosome Mosaicism of Type X/XY/XX

Yoshihiko Yabuki

Department of Obstetrics and Gynecology,
Noto Public General Hospital, Nanao, Japan

Masaya Tateno and Toshihiko Ukita

Department of Obstetrics and Gynecology,
Toyama Prefectural Central Hospital,
Toyama, Japan

Takeo Nakamura

Department of Urology, Toyama Prefectural
Central Hospital, Toyama, Japan

On Feb., 1970 the newborn, K.O. was delivered at 35 weeks' gestation after an unevenful pregnancy. The mother (26 years old, not intermarried) had been given neither hormonal therapy nor radiation exposure immediately before pregnancy. At delivery, the weight of the newborn was 1749 g. The external genitalia was looked like the male one having a hypospadias or the female one having an enlarged clitoris. The urine was passed from a single meatus at the base of the phallus. Sex-chromatin investigated in buccal smear was negative. In leucocytes cultured from peripheral blood the chromosomal analysis was performed. The distribution of chromosome numbers counted was as follows:

chromosome No.	44	45	46	90	others	
cells counted	5	69	16	2	5	96 (total)
%	(4.5)	(72)	(17)	(2)	(4.5)	(100)

The karyotype in 18 cells selected at random were analysed in detail. It's sex-chromosome was shown to have a mosaicism of type X/XY/XX which are reported as an extremely rare case. For example, X or XX was observed in 8 cells with 45 chromosomes and XY or XX in 6 cells with 46 chromosomes, etc. In addition to auto-

somal abnormalities belonged to A or B group were seen on cells showing XX constitution, while those significances remain to make clear. At laparotomy (16 months old), two testicles, oviduct on the right and deferent duct on the left was found. According to the parent's desire, the newborn was treated surgically as male for a future life. K.O., 2 years old at present, is now showing an external features as male. However, physical constitutions are not yet coming near

the standard's one.

Chromosome mosaicism observed in this case might be derived from the non-disjunction and loss of the sex-chromosome in not only gamatogenesis but also zygote, which resulted in the normal constitution of sex chromosome. Therefore, the baby which appeared to be male pseudohermaphroditism may be one of the true hermaphroditism originated ontogenically from abnormal sex-chromosome constitution.

STUDIES ON THE BIOCHEMICAL PROPERTIES OF THE RABBIT BLASTOCYST BEFORE AND DURING IMPLANTATION

II. EFFECT OF OVARIECTOMY ON INCORPORATION OF GLYCINE- $C^{14}(U)$ INTO THE BLASTOCYST IN VIVO

S. Sugawara, H. Tsujii and S. Takeuchi

Laboratory of Animal Reproduction, Department of Animal Husbandry,
Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai, Japan.

Abstracts: The present experiments were performed in order to obtain information on the effect of ovariectomy on the transport and incorporation of labelled glycine into rabbit blastocysts before and during implantation following parenteral administration.

Ovariectomy performed 24 hr. before autopsy did not affect the weight of entire blastocysts and trophoblast (including the embryonic disk) or the volume of blastocoelic fluids. However, bilateral ovariectomy 6-6½ days p.c. resulted in embryonic loss and inhibition of implantation.

After ovariectomy, a marked decrease in the transport and incorporation of glycine- ^{14}C occurred in 7 and 7½ days blastocysts as compared with control values. It was also observed that protein synthesis in trophoblastic cells, and the conversion of glycine- ^{14}C to other amino acids decreased markedly in 7 and 7½ day blastocysts following ovariectomy.

The results suggest that the transport and incorporation of amino acids into blastocysts before and during implantation are influenced by ovarian hormone function.

Introduction

It has been observed many times that the normal development of mammalian blastocysts is closely inter-related with ovarian function since ovariectomy results in arrested development (Corner 1928, Westman 1930, Westman, Jorps & Widstrom 1931, Adams 1958, and Hafez 1964). Various aspects of relationship between the physiological characteristics of the blastocyst before and during implantation and ovarian function have been investigated in the rabbit.

Lutwak-Mann, Hay and Adams (1962) have demonstrated a fall in the lactic acid content of 7 day-old unimplanted blastocysts from ovariectomized animals. Protein and non-protein nitrogen compounds present in blastocoelic fluid were greatly reduced in amount by ovariectomy performed 24 hr. before autopsy, being partly alleviated by

daily injection of progesterone, alone or in combination with oestradiol (Sugawara and Hafez, 1967). However, in vivo, the relationship between ovarian function and the transport rate of organic materials into the blastocyst development before and during implantation is little known.

The purpose of the present experiment was to study the rate of glycine transport and the its incorporation into protein in the blastocyst before and during implantation in ovariectomized rabbits.

Methods and Materials

Eleven Japanese white rabbits, obtained from our own colony, and weighing from 2.5 to 3.0 kg, were used. They were mated twice to two bucks and used at specific times, namely 7 and 7½ days post coitum (p.c.).

Experimental procedures:

At either 6 or 6 $\frac{1}{2}$ days post coitum the rabbits were checked for ovulation and pregnancy under Nembutal anesthesia, those found to be pregnant were ovariectomized bilaterally after recording the number of corpora lutea on each ovary.

Twentyfour hr. after ovariectomy, 1.0 ml glycine- ^{14}C (10.2 mc/mM) prepared to 50 μC per ml, was given under Nembutal anaesthesia.

Forty five minutes after administration of the isotope, the does were killed and the blastocysts were collected. Then the weight of the entire blastocysts and trophoblast, and volume of the blastocoelic fluid was recorded.

In order to measure the uptake and incorporation of the glycine- ^{14}C into the blastocysts and protein fraction, the preparation of the embryonic matter and blastocoelic fluid was carried out by the same methods as those described in the previous paper (Sugawara and Takeuchi 1972).

The measurement of the amount of radioisotope incorporated and the identification of the radioisotope taken up into TCA-soluble fraction of blastocoelic fluid was also performed by the methods already reported by us (1972).

Results

Blastocyst survival in ovariectomized does.

The position of the blastocyst in the uterine horn at 7 days p.c. was not affected by ovariectomy performed 24 hr. earlier. At 7 $\frac{1}{2}$ days p.c., however, most of the blastocysts recovered from the ovariectomized does were positioned in the cervical third of the horn. It was also observed that the blastocysts recovered at 7 and 7 $\frac{1}{2}$ days p.c. had not implanted.

The mean number of viable blastocysts per doe was 6.3 and 5.0 at 7 and 7 $\frac{1}{2}$ days p.c., respectively (Table 1).

At seven days p.c. the proportions of viable blastocysts recovered (no. of viable blastocysts/no. of corpora lutea) were 83.9 and 65.1 in control and ovariectomized does, respectively. At 7 $\frac{1}{2}$ days p.c., the proportion of blastocysts surviving was significantly lower in the ovariectomized does than in the intact does normal ones.

Ovariectomy and size of blastocysts

The weights of blastocyst and trophoblast and volume of blastocoelic fluid at 7 and 7 $\frac{1}{2}$ days p.c. were not affected by ovariectomy performed 24 hr. earlier. The mean size of the blastocysts was slightly lower in

Table 1. Effect of ovariectomy on blastocyst survival in the rabbit

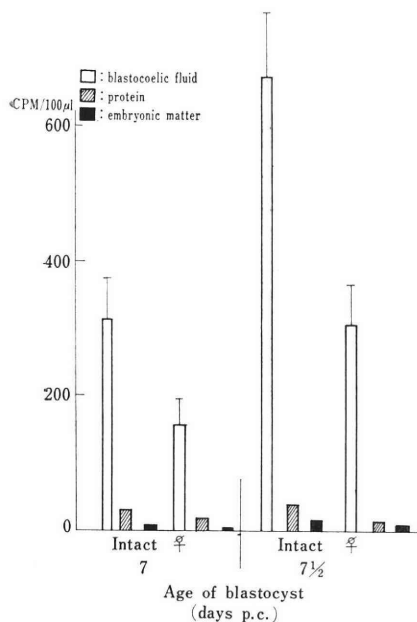
No. of does used	Time of ovariectomy (day p.c.)	Time of blastocyst recovery (day p.c.)	No. of corpora lutea	No. of blastocysts recovered	Survival percent
3	—	7	31	26	83.9
3	3	7	29	19	65.1
2	—	7 $\frac{1}{2}$	20	18	90.0
3	7 $\frac{1}{2}$	7 $\frac{1}{2}$	27	15	55.5

Table 2. Effect of ovariectomy on the weight of blastocyst and trophoblast and volume of blastocoelic fluid in the rabbit (means $\pm$ S.D.)

Age of blastocyst days p.c.	Time of ovariectomy (day p.c.)	No. of blastocysts	Weight of blastocysts (mg)	Weight of trophoblast (wet mg)	Volume of fluid (μl)
7	—	26	84.9 $\pm$ 8.9	4.1 $\pm$ 1.8	68.7 $\pm$ 13.2
7	6	14	78.1 $\pm$ 9.3	3.9 $\pm$ 1.6	63.4 $\pm$ 19.1
7 $\frac{1}{2}$	—	18	164.8 $\pm$ 17.4	5.8 $\pm$ 1.2	144.2 $\pm$ 20.8
7 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	7	159.2 $\pm$ 26.3	5.0 $\pm$ 1.7	138.0 $\pm$ 25.9

Table 3. Effect of ovariectomy on the incorporation of glycine- ^{14}C into the embryonic matter and blastocoelic fluid in the rabbit (means $\pm$ S.D.)

Time of blastocysts recovery (Days P.C.)	Time of ovariectomy (Days P.C.)	Number of blastocysts used for analysis	Embryonic matter (CPM/embryo)	Blastocoelic fluid (CPM/199 μl)	
				Soluble fraction in TCA	Insoluble fraction in TCA
7	—	29	7.8 $\pm$ 1.8	308.4 $\pm$ 60.5	28.0 $\pm$ 6.4
7	6	14	3.3 $\pm$ 1.4	159.2 $\pm$ 44.5	12.6 $\pm$ 5.1
7 $\frac{1}{2}$	—	18	13.7 $\pm$ 3.1	669.6 $\pm$ 132.4	34.0 $\pm$ 10.4
7 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	7	9.2 $\pm$ 2.8	300.0 $\pm$ 59.6	16.0 $\pm$ 5.2

Fig. 1 Effect of ovariectomy on incorporation of glycine- ^{14}C into the rabbit blastocyst

the ovariectomized does that in the normal does (Table 2). However, there was no statistically significant difference in the average weight of blastocyst and trophoblast and volume of blastocoelic fluid.

Ovariectomy and incorporation of glycine- ^{14}C

A) Incorporation of glycine- $^{14}\text{C}(\text{U})$ into blastocoelic fluid. At 7 and 7 $\frac{1}{2}$ days p.c., the transport of the radioisotope into blastocoelic fluid was markedly affected by ovariectomy performed 24 hr. earlier. Most of the radioisotope taken up by the blastocyst was found in the TCA-soluble fraction.

In ovariectomized does, the radioactivity of the TCA-soluble and -insoluble fractions (Protein) of blastocoelic fluid was significantly lower ($P < 0.01$) than the values recorded for the blastocysts recovered from the normal does (Table 3).

B) Incorporation of the isotope into the embryonic matter. The incorporation of the glycine- ^{14}C into the protein fraction of embryonic matter decreased markedly as a result of ovariectomy. At 7 days p.c., the mean values for the radioactivity were 7.8 CPM and 3.3 CPM in the blastocysts of normal and ovariectomized does. At 7 $\frac{1}{2}$ days p.c., there was also a decrease in the mean value of the isotope incorporated into the protein fraction of embryonic matter (Table 3, Fig. 1).

Ovariectomy and conversion of glycine-C

Table 4. Effect of ovariectomy on conversion of glycine- ^{14}C into other amino acids (means $\pm$ S.D.)

Age of blastocyst (days p.c.)	Time of ovariectomy (days p.c.)	No. of analysis	Amino acid (ninhydrin positive substance) CPM/100 μl (M. $\pm$ S.D.)					
			Alanine	Asparagine	Glutamic acid	Glycine	Leucine	Serine
7	—	6	—	—	—	56.3 $\pm$ 16.5	—	26.2 $\pm$ 12.1
7	6	4	—	—	—	29.4 $\pm$ 13.2	—	5.1 $\pm$ 2.3
7 $\frac{1}{2}$	—	6	—	—	—	223.0 $\pm$ 30.0	—	47.4 $\pm$ 17.8
7 $\frac{1}{2}$	6 $\frac{1}{2}$	7	—	—	—	80.2 $\pm$ 24.1	—	19.2 $\pm$ 9.1

The conversion rate of glycine- ^{14}C to serine was affected by ovariectomy performed 24 hr. before autopsy (Table 4). In ovariectomized does, the uptake of glycine- ^{14}C into the TCA-soluble fraction of blastocoelic fluid was about half the value recorded in normal does. In 7 days blastocysts from ovariectomized and normal does, the average conversion rates of glycine- ^{14}C to serine were 26.2 and 5.1 CPM per 100 μl fluid, respectively.

A marked decrease in the conversion rate of glycine- ^{14}C to serine was observed in 7 $\frac{1}{2}$ days blastocysts from the ovariectomized does as compared with those of normal blastocysts.

Discussion

In the present experiments, it was confirmed that ovariectomy performed on day 6 or 6 $\frac{1}{2}$ caused involutinal effects when the uterus were examined 24 hr. later e.g. the uterus showed a marked decrease in tonus and in the pattern of vascularization (Lutwak-Mann et al, 1962).

In studies of certain morphological and biochemical characteristics of the rabbit blastocyst, Lutwak-Mann et al (1962) demonstrated that ovariectomy, bilateral and unilateral alike, at 6-6 $\frac{1}{2}$ days p.c. resulted in embryonic loss and that bilateral ovariectomy performed within about 20 hr. of impending implantation, prevented blastocyst attachment. In our experiments, ovariectomy at 6 and 6 $\frac{1}{2}$ days p.c., resulted in excessive embryonic loss. At 7 $\frac{1}{2}$ days p.c. most of the blastocysts recovered from the does spayed 24 hr. earlier were positioned in the cervical third of the uterine horn, indicating expulsion of the blastocysts from the uterus.

It is noteworthy that overall size of the blastocysts recovered from spayed animals was not affected by ovariectomy performed 24 hours earlier.

In blastocysts recovered after spaying, the incorporation rate of glycine- ^{14}C decreased to half of the control values, suggesting that the transport of substances to the blastocyst is controlled by ovarian hormones. A decrease in the rate of radioactivity incor-

porated into blastocysts may result in part through the prevention of glycine secretion into the uterine luminal fluids following ovariectomy, having a pronounced effect on its secretory activity and biochemical composition. Blastocysts recovered from ovariectomized does cultured under suitable conditions *in vitro*, have the capacity to continue to grow and differentiate (Lutwak-Mann et al 1962). However, in the present experiment the blastocysts recovered from ovariectomized does showed degenerative morphological changes, although their size did not differ from that of normal rabbits.

It is interesting that protein synthesis in the trophoblasts (include embryonic disk) was markedly inhibited by ovariectomy.

It has been demonstrated that an ovarian hormone (oestradiol) accelerates protein synthesis from labelled precursors in the rat uterus *in vivo* (Ui & Mueller 1963). This fact may indicate that metabolism of the endometrium and transport of substances from blood stream through the endometrium or uterine gland should be regulated by oestrogen.

Administration of progesterone causes an 8-fold increase in the glycine and serine contents of the uterine fluid (Gregoire et al 1961). Furthermore, it results in major endometrial growth and striking changes in several enzymes of the female genital tract (Hafez & White 1967).

However, the specific role of ovarian hormones in regulating the biochemical characteristics of the blastocyst before and during implantation is unknown.

Further studies are required to ascertain the role of the ovarian hormones on the biochemical and physiological relationships that exist between blastocyst and endometrium during the implantation process and early prenatal development.

Acknowledgments

The authors wish to thank Dr. C. E. Adams, A.R.C., Unit of Reproductive Physiology and Biochemistry, Animal Research Station, Cambridge, England, for helpful criticisms during the preparation of the manuscript.

References

- Adams, C. E.: J. Endocrin. 16, 283 (1958).
 Corner, G. W.: Am. J. Physiol. 86, 74 (1928).
 Gregoire, A. T.: Fert. & Steril. 2, 322 (1961).
 Hafez, E. S. E.: J. Reprod. Fert. 7, 214 (1964).
 Hafez, E. S. E. and White, I. G.: Anat. Rec. 159, 273 (1967).
 Lutwak-Mann, C., Hay, M. F. and Adams, C. E.: J. Endocrinol. 24, 185 (1962).
 Sugawara, S. and Hafez, E. S. E.: Anat. Rec. 158, 281 (1967).
 Sugawara, S. and Takeuchi, S.: Jap. J. Fert. & Steril. 17, 46 (1972).
 Ui, H. and Mueller, G. C.: Proc. Nat. Acad. Sci. 50, 256 (1972).
 Westman, A.: Acta obst. gynec. scand. 10, 288 (1930).
 Westman, A., Jorpes, E., and Widstrom, G.: Acta obst. gynec. scand. 11, 279 (1931).

着床前後における兎胚盤胞の生化学的研究 II. In vivo における ^{14}C -glycine の取込みに対する卵巣摘出の影響について

菅原七郎, 辻井弘忠, 竹内三郎
 (東北大学農学部, 家畜繁殖学教室)

前報において, 妊娠の各日令 (6, 7, 7 $\frac{1}{2}$ 8 days P.C.)

における ^{14}C -glycine の取込みを調べ, 胚盤胞腔液中に取込まれた ^{14}C -glycine の約95%は遊離型であるが embryonic matter の蛋白質分画にも取込まれることが認められた. この ^{14}C -glycine の取込みの速度やその代謝型 (取込まれた ^{14}C -分画のうち約1/10が serine に転化していた) と蛋白質合成の速度が示唆された. 一方, 胚盤胞腔液中の物質は卵巣摘出によって著しく減少することが知られているが, はたして, 卵巣ホルモンがアミノ酸の吸収にも直接的に関与しているかどうかは明かでない. 本実験では, 7 $\frac{1}{2}$ 日令の胚における ^{14}C -glycine 取込みに対する卵巣摘出の影響を調べた. 各日令の胚を sampling する24時間前に卵巣摘出を行った. その他の方法は前報と全く同様である.

その結果, 卵巣摘出によって, 胚の死滅が著るしく多くなるし, 着床の阻害が認められた (第1表). また, ^{14}C -glycine の取込みも対照区の胚と比較して著しく減少する. その減少割合は 7 $\frac{1}{2}$ 日令の胚で特に大きい (第2表). 一方, Embryonic matter の蛋白分画への取込みも減少した.

取込まれた ^{14}C -分画の他のアミノ酸への転化も対照値と比較して少ないことを認めた.

以上の結果から, 初期胚におけるアミノ酸の吸収や代謝は卵巣ホルモンによって支配されているものと考えられる. なお, その機構については不明であり今後の解析が必要である.

人工卵管装着後の下垂体、卵巢および副腎の 組織学的変化について

The Function of Pituitary Body, Ovary & Adrenal Gland after Application of Artificial Oviduct

東邦大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 林基之教授)

桐 村 正 憲

Masanori KIRIMURA

Department of Obst. & Gyn. Toho Univ. School of Med.

(Director: Prof. Motoyuki Hayashi)

1. 林, 小野により試作された無硫黄天然ゴム製人工卵管を用いて, 成熟家兎 120羽に依る下垂体, 副腎, 及び卵巢の変化を組織学的に検討した。その内で, 4週間, 6週間, 8週間天然ゴム製人工卵管装着例には, 性腺刺激ホルモンを投与し, それにより起る変化の差についても検討した。

2. 従来の人工卵管の材質に依る卵巢の萎縮を防ぐ為に, 新しく, Dimethyl poly siloxane 通常 (Medical grade silicon rubber) と呼ばれる柔軟で, 非刺激性且つ通気性を有するシリコンゴム製チューブを採用し, 下垂体, 副腎, 卵巢について同様の検討を加えた。

3. 人工卵管を装着した家兎に於いて子宮卵管造影を行い, その通過性の保たれている事, 並びに一方弁が順調に働いている事を確認した。

4. 下垂体に於ける組織学的変化として, 装着4週頃より細胞の腫大を来し, 6週頃より軽度の萎縮像を示した。

5. 副腎においては, 装着2週間より皮質部に軽度の肥厚を来とし, 4~6週には, 細胞の増加, 腫大を示した。8週では分泌亢進の像を示した。

6. 卵巢においては, 装着4週以後も排卵し, 受精と卵分割を起こし, 排卵率は2週前後が高率ではあるが, 4週後では卵巢萎縮が目立ち, 表面は白い結合組織によつておおわれ, ゴナドトロピン処理でグラーフ氏卵胞と黄体は認められる。6週後では血管は拡張して, 周囲に結合組織が増し, 出血部も認められる。8週後には萎縮のほか, 壊死を見, 卵胞は消失する。

緒 言

卵管不妊の治療には, 観血的, 非観血的療法があるが, 急性及び慢性炎症後に見られる卵管閉塞に対しては, 殆んど効果が無いと云つても過言ではない。そこで此の場合には下記の如き方法が考えられる。即ち,

I. 卵巢を子宮角部に移植する方法

II. 他人の健全な卵管を子宮角部に移植する方法

III. 隣接臓器を使用して卵管を作る方法

IV. 受精卵を人工的に子宮腔へ着床さす方法

V. 人工卵管を装着する方法

上記の如き方法の中の一つとして, 以前より人工卵管の使用について各方面で検討が加えられてきた。然し, 此の方法の最大の難点は, 材料即ち異物が生体に与える影響であり, 卵巢自体は勿論の事, 卵巢が非生理的な条件の下に置かれる為に, これに関連した, 下垂体, 副腎系にも何んらかの変化が起るのではないかと想像される事である。これらの異物が直接装着された臓器である卵巢並びに, 下垂体, 副腎に与える影響の重要性について, 組織学的な面から, それらの変化を観察し且つ検討

を加えた。

〔I〕実験材料及び方法

成熟雌家兎で、体重2.0～2.5kgのものをを用いた。人工卵管は、林、小野らにより考案されたものを使用すると同時に一部新しい材質であるシリコンゴム製のものを使用した。表1にも示す如く、装着期間は、2週間、4週間、6週間、及び8週間とし、天然ゴム性卵管装着40例、天然ゴム性卵管使用の他 H.C.G. 処理40例、シリコンゴム性管40例の計 120例について実験を行った。

表 1 実験方法の概略

装着期間 材質処理	2 週後	4 週後	6 週後	8 週後	計
天 然 ゴ ム	10	10	10	10	40
天 然 ゴ ム + H. C. G.	／	15	15	10	40
シリコンゴム	10	10	10	10	40
計	20	35	35	30	120

た。各装着期間毎の実験例数は、表1を参照されたい。手術手技としては、滅菌を厳重に行い、感染とそれに依る癒着防止の為に閉腹後に、コンドロン液20mlを注入し、術後3日間テラマイシン20mgを筋注した。先ず卵巢をカプセル内に挿入し、人工卵管のカプセル部分の下部にある台と卵巢提索とを2号絹糸にて両側2ヶ所ずつ固定した。

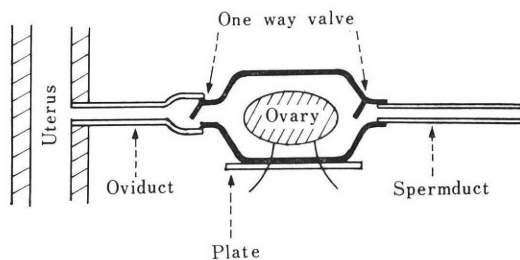


図 1

実験用人工卵管の構造は、卵巢を包むカプセルの両側に輸卵管と輸精管とがありカプセルとの境界に一方弁があつて、液の逆流を防いでいる。

（写真2）

上段：従来の天然ゴム製人工卵管であるが、隣接臓器への圧迫を考慮し、台の部分を除去了。

中段：シリコンゴムチューブを4cmの長さに切断し、両端をしばり、カプセル部分のみを作った。

下段：材料であるシリコンゴム製チューブ

（写真3）

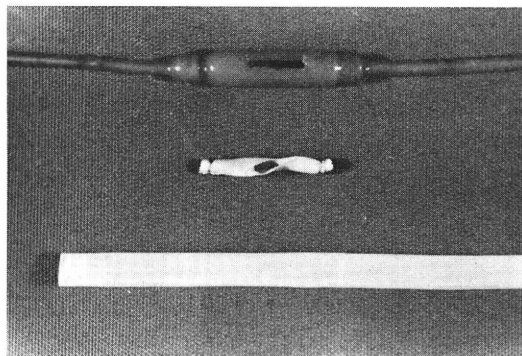


写真 2

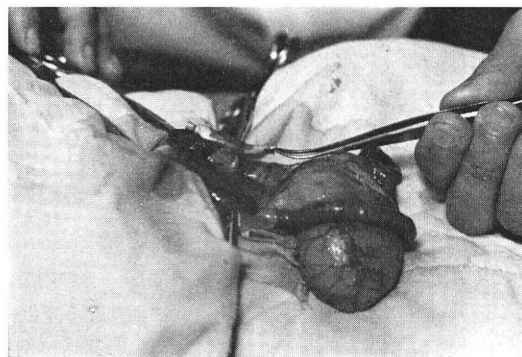


写真 3

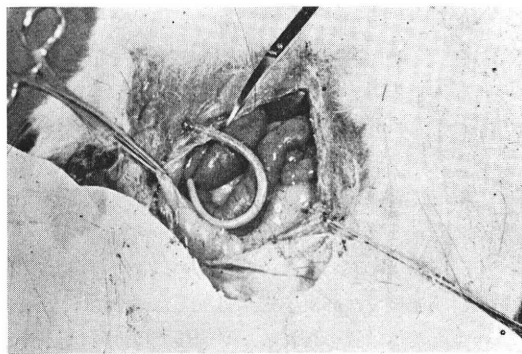


写真 4

シリコンゴム製カプセルを卵巢に装着した状態を示す。

（写真4）

天然ゴム製人工卵管の装着を終り、輸精管を腹壁下に固定した状態を示す。

写真でも示す如く、カプセルの固定部分である台を除去了理由は、此の手技で最も重要と考えられる循環障害を防ぐ為と、此の部分を経合しなくても、術後数日にして結合組織の増殖を来し空隙が充たされる事実に依るものである。更に此の手技では、血管が傷害されないように細心の注意を払つた事は云うまでもない。人工卵管

表 2 下垂体並びに副腎の組織像の変化

	2 週 後	4 週 後	6 週 後	8 週 後
下 垂 体	正常に近い	正常乃至少々細胞腫大の徴候あり	全体として少々萎縮性塩基好性細胞が限局性に増加	酸好並びに塩基好性細胞の腫大, 増生あり
副 腎	皮質は少々腫大	皮質は厚く構成細胞の増加, 腫大あり	皮質は厚く構成細胞の増加, 腫大あり	皮質は厚く Clear Cell の出現, 分泌亢進の像?

表 3 卵巣の病理組織学的変化 (皮質の部)

装着期間 材質処理	2 週 後	4 週 後	6 週 後	8 週 後
天 然 ゴ ム	白膜の線維様肥厚 肉芽増殖	皮質の結合織性変化	壊 死	壊 死
天 然 ゴ ム + H.C.G. 処理	/	変 化 (一)	卵巣周囲に癒着を認む	変 化 (±)
シリコンゴム	白膜の変化殆んどなし	白膜の変化を軽度認む (浮腫状を呈す)	白膜の変化を認む	白膜の結合織性 変 化 (+)

HCG: ギナトロピン 100 単位/週

表 4 卵巣の病理組織学的変化 (髄質の部)

装着期間 材質処理	2 週 後	4 週 後	6 週 後	8 週 後
天 然 ゴ ム	リンパ球浸潤 血管腔の拡張	浮腫状の 4 層を認む 結合織様変化(+)	壊 死	壊 死
天 然 ゴ ム + H. C. G.	/	変 化 (一)	血管拡張 (+)	血管拡張 (+)
シリコンゴム	リンパ球浸潤軽度に認む	炎症性細胞を多数認む 血管周囲に出血(+)	炎症性細胞を多数認む 血管周囲に結合織性変化(+)	炎症性細胞を多数認む 結合織性変化(+)

表 5 卵巣の病理組織学的変化 (卵胞発育の部)

装着期間 材質処理	2 週 後	4 週 後	6 週 後	8 週 後
天 然 ゴ ム	グラーフ卵胞を認む 黄体, 白体を認む	グラーフ卵胞を認む 黄体を認む	壊 死	壊 死
天 然 ゴ ム + H. C. G.	/	卵胞発育著明 黄体, 白体を認む	グラーフ卵胞を認む 黄体, 白体を認む	グラーフ卵胞を認む 黄体, 白体を認む
シリコンゴム	グラーフ卵胞を認む 黄体, 白体を認む	グラーフ卵胞を認む 黄体, 白体を認む	グラーフ卵胞を認む 黄体, 白体を認む	グラーフ卵胞を認む 黄体, 白体を認む

の輸卵管は家兎の子宮へ、輸精管は腹壁下に固定した。一応人工卵管の原理に基づく装着方法は上記の如くであるが、本論文のテーマである諸臓器の変化についての考察では、卵管及び精管は関係が無いので、各時期に於いて、5例ずつを本来の方法で装着し、他の例については、唯カプセル部分だけを装着する事にした。本実験中、偶然妊娠家兎を使用していた事が開腹後に判明し、此場合の卵巣の萎縮程度が否妊娠家兎の場合よりも少ない事実が判明したので、天然ゴム製人工卵管装着例の一部に、ゴナトロピン 100単位/週の割合で開腹まで筋注射した。

〔II〕 実験成績

1) 下垂体に及ぼす影響：表2，写真5，6，7，8 内分泌腺の組織像は個体差並びに機能状態に依る変動が著しく、光顕像から機能状態を推察する事は可成り困難である。下垂体では表2にも示す如く、酸好性、塩基好性並びに色素嫌性細胞の配列、密度、細胞の腫大等に目標を置き検討した。装着2週後では、殆んど正常像を示すが、4週後では少々細胞腫大の徴候を示した。6週後では、全体として、やや萎縮性を示し、塩基好性細胞が限局性に増加している。8週後では、塩基好性、並びに酸好性細胞共に増加、腫大を示した。

2) 副腎に及ぼす影響：表2，写真5'，6'，7'，8' 副腎に於いては、皮質の厚さ、細胞配列、原形質の状態について検討した。2週後より皮質の軽度肥厚を認め、4週後では、皮質の肥厚と構成細胞の増加、腫大を認めた。6週後では、4週後と殆んど変化なく経過するも、8週後では、分泌亢進像が認められた。

3) 卵巣の組織学的変化：表3，4，5，写真9，10，11，12，13，14

i) 天然ゴム製人工卵管2週間装着例(写真9)。肉眼的に卵巣の萎縮が軽度起こり、表面を結合織性の膜が被い、硬度も幾分増加している。組織学的には、白膜が線維状に厚くなり、リンパ球の浸潤、肉芽の増殖が見られる。又血管腔の拡張があり、グラフ氏卵胞は健全である。原始卵胞、黄体、白体等を認め、血管の炎症性肥厚を認める。

ii) 天然ゴム製人工卵管4週間装着例(写真10)。肉眼的に卵巣は $\frac{1}{2}$ ～ $\frac{2}{3}$ 位に萎縮し、表面は白く、結合織で被われ、厚い感じとなる。組織学的には、グラフ氏卵胞、黄体を正常に認める。装着時に使用した絹糸の周囲に結合織の増殖があり、水腫状になった卵管を認める。

iii) 天然ゴム製人工卵管4週間装着時ゴナトロピン100単位/週で処理した例(写真11)。肉眼的には、殆んど萎縮を認めず、卵胞の過剰発育を示す。組織学的には、卵胞発育著明で、黄体、白体を認め、軽度の出血を

認める。各細胞の成熟段階を認める。

iv) シリコンゴム製カプセル4週間装着例(写真12)。

此の写真でも示す如く、表面の白膜様変化、及び硬度の増強は、軽度に認められるが、萎縮の程度は著明に減少している(写真13)。組織学的には、卵巣周囲の結合織が浮腫状で急性炎症性細胞が多く見られる。卵巣実質内には拡張血管があり、血管の周囲に出血部を認める。グラフ卵胞が多く、癒痕化は左程強くない。血管の周囲に結合織が多い。

v) 天然ゴム製人工卵管6週間装着時ゴナトロピン100単位/週の割合で処理した例(写真14)。組織学的には、グラフ卵胞が多く、白体及び黄体細胞並びに血管拡張を認める。尚ゴナトロピン無処置群では完全な壊死となり、組織標本として採取する事は不可能であつた。

vi) 天然ゴム製人工卵管8週間装着例、外見上全く壊死状となり、チョコレート状を呈し、標本として採取出来なかつた。

4) 人工卵管装着例に於ける子宮卵管造影の試み、写真15

装着2週間後に、腹壁下に固定してある精管を取り出し、日常臨床で使用しているエンドグラフィンを注入した。途中異常抵抗の無い事を確かめ注入を継続し、腔より造影剤の流出を確かめた所で撮影した。此の写真が示すように、卵巣は完全にカプセル内に位置し、その空隙からは造影剤の漏出は全く認められない。更に卵巣の萎縮は、2週間で約20～30%位である事も判明した。

考 察

人工卵管を装着した場合、林、小野に依れば、装着4週後に於ける排卵を確認して居り、排卵率は2週前後に高いが、何れにしても卵巣の萎縮を来す事実は避け難い。尚本実験が示すように、卵巣の萎縮は、人工卵管装着後2週目頃より始まり、6週目頃になると殆んど壊死状になってしまうが、この異物の影響に対して拮抗する因子として、性腺刺激ホルモンの応用は意義あるものと思われた。又従来使用された天然ゴム製卵管の硬度も問題となり、シリコンの如き多少天然ゴムと異つた材質を使用する事により、萎縮を幾分防ぐ事ができた事実も興味深い。何れにしても、卵巣を異物で包む操作を行う場合、卵巣本来の解剖学的意味を考える必要があるように思われる。われわれが本実験を通じて、卵巣の萎縮について考える時、どの要素が卵巣の生理的状态を崩しているかと云う事が問題になる。

即ち、卵巣が細い靱帯に依り支えられ、且卵巣の表面が自由に周囲の臓器に接する事が出来、その表層細胞群の代謝に対し物理化学的な影響を与える物が存在していな

いことが重要といえる。この事実に対し、われわれが行っている実験は、卵巣の動きを抑え、通気性のない硬い物質を卵巣表面に密着させている。このような悪条件下で繊細な卵巣を萎縮させずに保つ事は至難の技である。これらの問題に対して次の様な項目について研究する必要があると考えている。即ち

①カプセルの大きさの問題、即ちカプセルと卵巣表面との間にどれ程の間隙があれば最も生理的に近い条件を作り得るか。

②カプセルの材質に通気性を持たせる事。

③周囲の臓器並びに卵巣自体にも刺激とならない程度の硬度である事。

④自由に細工が出来、卵管作成に当つて、加工が容易である事。

⑤装着後体内で長期間変性を起こさない事等である。

これらの意味を考慮した上で、本実験で、シリコンを使用した例に卵巣の萎縮を幾分でも防止する事が出来た事は意味深い。コンドロン併用は全例を通じて腹腔内癒着防止に役立ったと思われる。人工卵管装着例に於ける子宮卵管造影の試みは今迄に行われていないが、本実験ではその通過性が完全に保たれ、縫合部の間隙も完全に消失している事等より、われわれが現在行っている手術手技が正しい事を確認した。一方弁も注入圧にて十分作動し、臨床的に使用可能であるように思われた。最初の試みである下垂体及び副腎の機能については、表 2 にも示す如く、装着期間と平行した変化が証明された事は今後の人工卵管使用上考慮されねばならない大きな問題と云えよう。然し最も興味ある事実は、装着 6 週目の組織像が、下垂体—副腎—卵巣間の相関関係の移行点の如き印象を与える事である。われわれは今後、下垂体性ホルモン、副腎皮質ホルモン等の経時的変化を測定する事が、より一層これらの臓器の受ける影響を調べる上に重要なポイントであると解釈している。

結 論

全卵管閉塞に対する治療法の一つとして人工卵管を応用する新法は、数年前、林、小野が基礎実験を重ね、排卵、受精、卵分割に成功したが、本法を追試して、下垂体、副腎及び卵巣に及ぼす組織学的変化を分析し、人工卵管材質のついて次のような成績を得た。

1) 下垂体においては装着 4 週頃より細胞腫大を招来し、6 週頃より軽度萎縮像を示した。

2) 副腎においては、装着 2 週頃より皮質部に軽度の肥厚を来し 4 ~ 6 週には、細胞の増加、腫大を示した。8 週では分泌亢進像を示した。

3) 卵巣においては装着 4 週以後も排卵し、受精と卵

分割を起こすが、排卵率は 2 週前後が高率ではある。4 週後では卵萎縮が目立ち、表面は白い結合織によつておおわれるが、ゴナドトロピン処理によりグラーフ氏卵胞と黄体が認められる。6 週後では、血管は拡張し、周囲に結合織が増し、出血部も認められる。

8 週後には萎縮のほかに壊死を見、卵胞も消失した。

4) 人工卵管を装着した家兎における子宮卵管造影を行ない、その通過性の保たれていることを確認した。

ついで新しいシリコンゴムを採用し、卵巣の萎縮については、従来の成績をはるかに向上させたが、シリコンゴムを使用する際に考えられる欠点として一方弁の加工、部分的接着が難かしく、今後の方針として、カプセル部分へのシリコンの応用、輸精管、輸卵管部分への天然ゴムの使用等の組合せにより、一層の効果を期待できるのではないと思われる。

今回の実験により得られた、下垂体—副腎—卵巣の一連の臓器に対する異物の影響を常に念頭に置くべきだと考えるに至つた。

(稿を終えるに当たり、御指導を頂いた恩師林基之教授に感謝すると共に、天然ゴム研究所沖倉文治氏、富士高分子工業蛭田武夫氏、東邦大学病理学福永昇教授、三浦先生、産婦人科教室小野講師の御協力に謝意を表する。尚本研究の一部は 45 年 4 月ストックホルムにて行なわれた国際受精学会で発表した。)

文 献

- 1) 林：比較解剖学的に見た卵巣—卵管機能。日不妊誌，4-382，1959。5-89，1960。
- 2) 林：妊娠成立機序に関する臨床的並びに基礎的研究。日産婦誌，13-605，1961。
- 3) M. Hayashi: Surgical 1 procedures for establishing tubal patency. Am. J. Obst. & Gyn., 89-79, 1962.
- 4) 林：全卵管閉塞症の診断と治療。産婦の実際，10-665，1963。
- 5) 林：卵移植，体外受精，人工卵管，日本医事新報，第 2072 号，44，1964。
- 6) 小野：人工卵管に関する基礎的研究。日本不妊誌，12，318-325，1967。
- 7) 特集臓器移植，診療と保険，総合医学雑誌，10，31-75，1968。
- 8) 林：産婦人科領域に於ける臓器移植，産婦の世界，21，11，70-73，1970。
- 9) 林，小野，桐村：ME 入門講座 4，人工卵管，263-270，1970。
- 10) M. Kirimura: The experimental artificial Oviduct. Current Problems in Fertility 229-230，1970。

THE FUNCTION OF PITUITARY BODY, ADRENAL GLAND & OVARY IN APPLICATION OF ARTIFICIAL OVIDUCT

Masanori Kirimura

Dept. of Obst. & Gyn. Toho Univ.

School of Med. Tokyo Japan

Histological examination of pituitary body, adrenal gland & ovary in 120 rabbits was done after application of artificial oviduct made from rubber not including sulfur.

It was divided in three groups as follows, 1; using natural rubber, 2; using natural rubber with administration of gonadotropic hormone and 3; using silicon rubber and examined after 2, 4, 6, 8 weeks on each groups.

- 1) Histological findings of pituitary body
 - 2 weeks; almost normal
 - 4 weeks; a little enlargement of cells
 - 6 weeks; generally atrophic, local increasing of basophilic cells
 - 8 weeks; enlargement and increasing of eosinophilic and basophilic cells
- 2) Histological findings of adrenal gland
 - 2 weeks; a little increasing of thickness of cortex
 - 4 weeks; increasing and enlargement of constructive cells
 - 6 weeks; same to 4 weeks
 - 8 weeks; a figure of hypersecretion
- 3) Histological findings of ovary

The ovary had become atrophied during 2 to 4 weeks after application of capsule, but it was improved a little by using some gonadotropic hormone or substitution of material. Ovulation was noted in 8 weeks in cases of using silicon rubber and administration of gonadotropic hormone.

A hysterosalpingram was made on two weeks after application, and showed no adhesion in the tubal and capsular cavities and the passage of contrast medium into the peritoneal cavity.

Supposing that the ovary might have some reacting character against to be closely covered by the capsule, we considered different ways of prevention. On the other hand, we were able to find a new material which was less irritable, softer and permeable.

Its chief component is di-methyl polysiloxane and is generally called medical silicon rubber.

Histological findings after using a new material revealed only slightly fibrous proliferation of connective tissue of the cortex and a lot of normal follicle still exist.

It is a most important fact that the histological change of pituitary body and adrenal gland was noted in cases of application of artificial capsule to ovary.

We have to consider of it, if it will be happen frequently and heavily. Because, it is very important problem in the field of artificial organ implantation.

It, anyway, is our opinion that an artificial oviduct made out silicon rubber might offer a possibility to treat sterility caused by complete tubal occlusion.

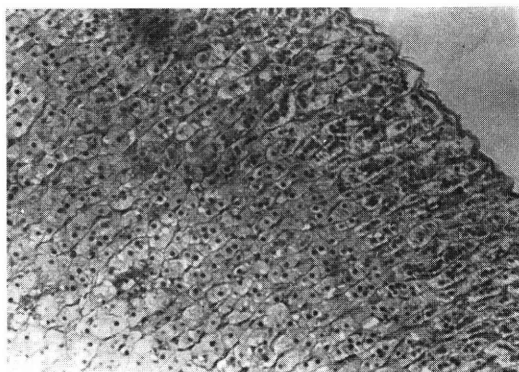


写真 5 2 週後の下垂体

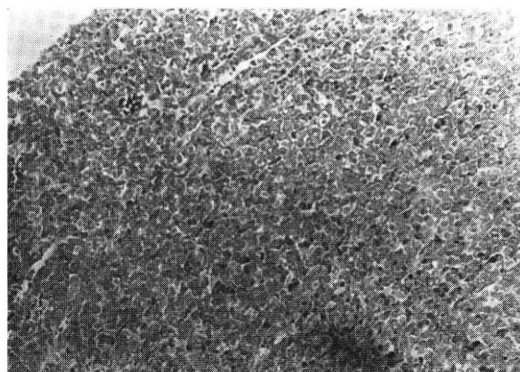


写真 5' 2 週後の副腎

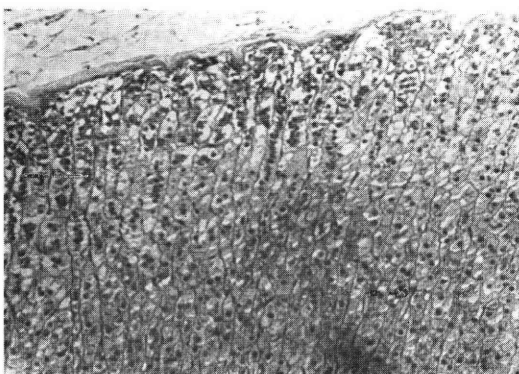


写真 6 4 週後の下垂体

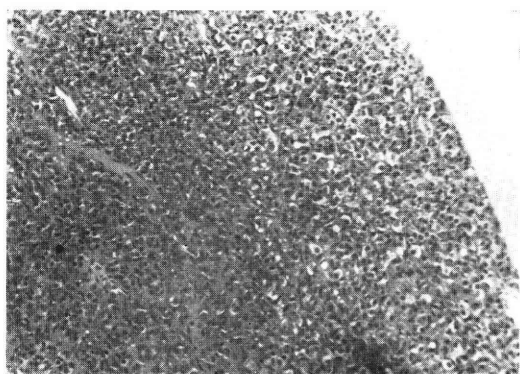


写真 6' 4 週後の副腎

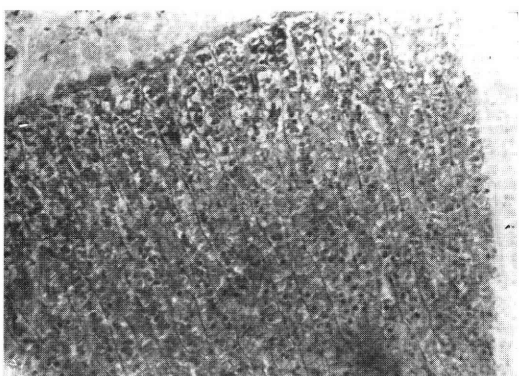


写真 7 6 週後の下垂体

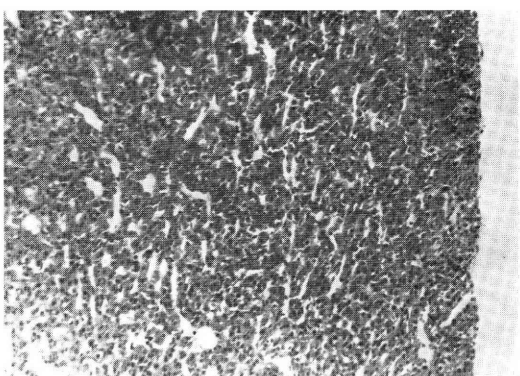


写真 7' 6 週後の副腎



写真8 8週後の下垂体

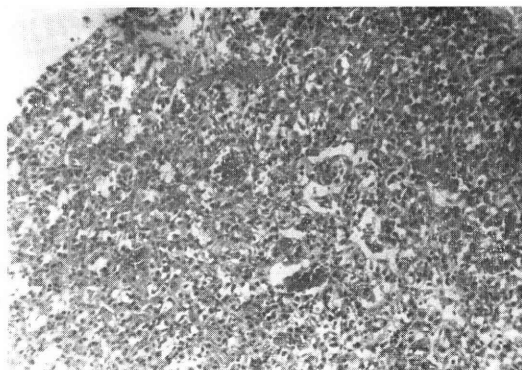


写真8' 8週後の副腎



写真9 天然ゴム製人工卵管装着2週後の卵巢組織像



写真10 天然ゴム製人工卵管装着4週後の卵巢組織像

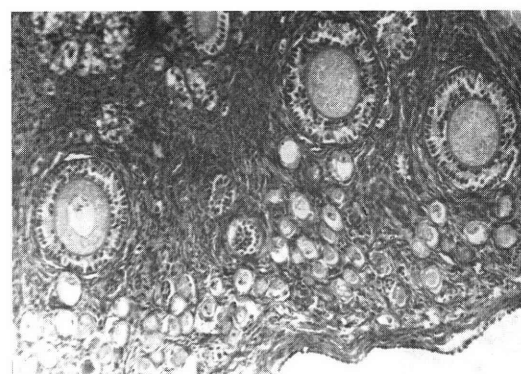


写真11 天然ゴム製人工卵管装着4週後の卵巢組織像 H.C.G. 使用

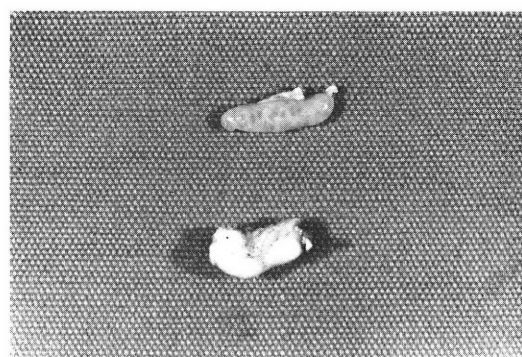


写真12 シリコンゴム製カプセル装着4週後の肉眼的卵巢を示す。
表面の変化は幾分認められるも、萎縮は著明ではない。

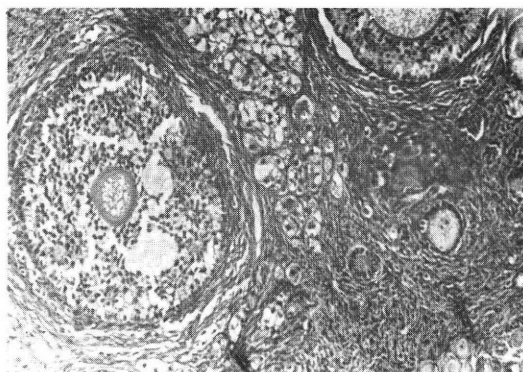


写真13 シリコンゴム製カプセル装着
4 週後の卵巣組織像

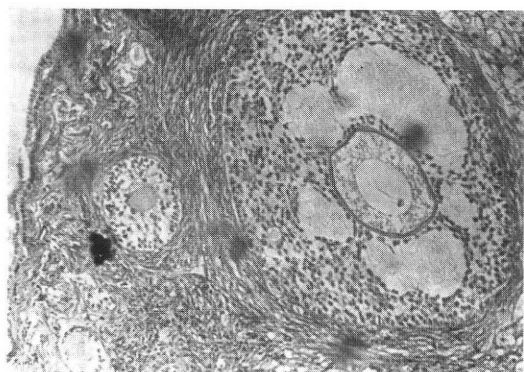


写真14 天然ゴム製人工卵管装着 6 週
後の卵巣組織



写真 15

第16回 日本不妊学会九州支部総会

昭和46年11月21日(鹿児島)

1. 難治性子宮出血の1例

三浦清巒・松本 勝・田川博之
石丸忠之・山辺 徹(長大産婦)

本症例は長期の子宮出血の他に強い腹痛を訴えたので、入院させ試験開腹を行い卵巣部分切除による組織診断で黄体と白体形成を示し過去に排卵があつたものと思われるがBBTは常時低温一相性を示しプロゲステロン投与によつても高温相にならなかつた。

Estrogen, Progesterone, FSH, LH, Testosterone, 17-KS, 17-OHCS, ACTH テスト, Dexamethasone 抑制テスト, Smear Index, 甲状腺機能検査, 染色体検査等いずれも異常を認めず、子宮内膜は dysfunctional endometrium であつた。

内科的にヒステリー性呼吸促進発作を認め特異的である。

その他にも種々の検査を追加検討した結果、本症例は心因性自律神経失調に基づく不正子宮出血例と思われ興味深いので報告する。

質問 加 藤 俊(久留米大)

器質的な変化は全く考えられないか、例えば小さな Polypös の Myom, Polyp 等が案外, Auskratzung 等では発見し難い場合を経験する。

回答

Probe aus は行なつたが、開腹時に子宮腔は開いていない。

質問 森 憲 正(熊本大)

- 1) 投与された黄体ホルモンの種類と量について
- 2) その投与後の子宮内膜の所見について
- 3) 排卵誘発を試みられたことがあるか

回答

Proluton Depot 125mg, anovular 等でも高温にならなかつた。

Gestagen 投与後の子宮内膜はしらべていない。

質問 楠 田 雅 彦(九大産婦)

BBT の観察期間と黄体の状態との関連はいかがか、proluton Depot 125mg では体温が上らないのが普通である。

回答

スライドに出した様に止血剤、各種ホルモン剤、排卵誘発剤、精神療法等を行なつている。

2. 最近5年間の当教室における不妊外来の状況

宮原通義・加藤 俊・松尾雅治
岡本 元(九大産婦)

昭和41年1月より45年12月末迄の5年間に当教室外来を訪れた不妊主訴患者1183名について統計的観察を試みた。不妊症の頻度は6.8%で、原発不妊は861名(72.8%)、続発不妊は334名(27.2%)である。初診時年齢は原発不妊で25~29歳、続発不妊で30~34歳に最も多い。既往手術では虫垂切除術が最も多く、近年では人工妊娠中絶後(就中初回中絶後)の続発不妊例が急増している。現症診断では、続発不妊で炎症性疾患が過半数を占め原発不妊では内分泌異常あるいは機能的変化が重要な原因となつている。

ついで当教室における不妊外来の検査と治療方針の概略について検討を加える。この結果、不妊主訴患者1183名中当教室不妊外来で治療を受けた者は、1017名であり、この中妊娠成功例は129名、妊娠成功率は12.8%であつた。

質問 楠 田 雅 彦(九大産婦)

- 1) 虫垂切除例について妊娠した群と不妊群の間に不妊率に差があつたか？
- 2) 子宮發育不全の判定基準はいかがか？
- 3) 妊娠成功例に関して主な直接有効療法は何か？

回答

1) 虫垂切除術後の不妊例は相当数にのぼるが、年齢的には検討を加えてなく只原発不妊に多いという結果をみた。

2) 子宮發育不全の判定基準は別に決めていない。

① 内診上で子宮体部が小さい。

② Sondierung で子宮腔の長さが短い。

③ HSG で頸部と体部の比、などで決定している。

3) 最近良く使用されている clomid が有効であると考えられるが、各種治療を施行中妊娠に成功して、何が有効であつたか判然としない例もかなり認める。

質問 橋 本 義 夫(熊本市)

子宮後傾症の整復手術後に続発性不妊症が多いのは一

寸奇異に感ずる。本統計は対照として正常婦人の虫垂切除、後傾症手術の頻度は調べてない。

回答

たまたま統計上に出た数字で、正常婦人と比較しておらず不妊と虫垂切除との因果関係ははつきりしない。

3. 子宮筋腫と不妊 (第1報)

丸田博美・本田義弘・久山萬須子

(九州厚生年金病院産婦)

尾崎博臣・斉藤厚生(熊本産婦)

昭和36年から45年までの10年間に子宮筋腫の診断で九州厚生年金病院産婦人科に入院し、手術をうけた670例について、臨床的観察を行ない不妊との関連につき統計学的処理に基くいささかの知見をえたので報告する。

1. 筋腫患者の年齢分布は40~45歳が最も多く239例、35.67%、次いで46歳以上、35~39歳、30~34歳の順で29歳以下が最も少く36例5.37%であつた。2. 45歳以下の487例について、不妊群と生児をえた妊娠可能群例に分けると、不妊群は195例で頻度は40.04%であつた。又続発不妊が原発不妊の約2倍で、43例32.58%に一児不妊、23例、17.42%に流産のみがみられた。3. 不妊頻度は、30歳以上が29歳以下のそれに比して有意に高かつた。(P<0.01) 一方筋腫に合併した妊娠60例の年齢別頻度は有意に若年者に高く、高年になるに従つて特に35歳以上になると著明に減少した。4. 筋腫の性状では、「大きさ」並びに「発生部位」と不妊との相関はなく、結節の数で多発例が有意に不妊群に多かつた。5. 筋腫に合併した骨盤内病変では卵管腫大、閉鎖、卵巣肥大、子宮内膜症等が、統計学上有意に不妊群に多く、子宮内膜・頸管病変については差が認められなかつた。

質問 田代仁男(熊本)

妊娠に myom を合併した時どういう症例が手術の適応になるか。

質問 森一郎(熊本)

- 1) 筋腫の手術は何か月でされるか。
- 2) プローベラパの場合はどのようなものであつたか
- 3) 妊娠と筋腫合併に対する治療方針の原則、例えば

回答

筋腫を合併した妊娠症例に筋腫核出術を行うべきかの点について、現在明確な判断基準を持合せないが、腹腔鏡所見による判定など一つの方法ではないかと考えている。

質問 安部宏(久留米大)

子宮筋腫と死産との関係について周産期に相当する胎児死亡(分娩前死亡)の症例があつたら御教示願いたい。

回答

図表中に示した流死産例12例であつて、死産例が3例あり、之が周産期死亡例に相当する。この3症例の詳細については今資料はない。

4. 不妊症患者の子宮腔温

立志芳弘・武田信豊・田中信忠

(鹿大産婦)

われわれは、性ホルモンが血管ならびに血流動態に影響をおよぼしやすい点に注目し、高感度温度計を用い、基礎体温曲線が1相性あるいは2相性(黄体機能不全、散発性排卵)を示す不妊症婦人の子宮腔温を測定したところ、健康婦人にくらべ一般に低い温度を示すことを知つた。そこでさらにこれらに不妊症婦人の性ホルモン治療時、子宮がどのようにこれに反応するか子宮腔温で観察したところ、投与後は投与前にくらべ温度の上昇は、卵胞ホルモン投与群(1相性)ではそれほど著明でなかつたが(0.03~0.11°C)、黄体ホルモン投与群(1相性と2相性)ではやや著明であつた(0.12~0.39°C)。またクロミッド投与群(1相性)ではほとんど差が認められなかつた。したがつて、わずかな例ではあるが、性ホルモンの子宮に対する作用については、やはり各性ホルモンの全身作用のほか局所作用も考えなくてはならないのではなからうかと思う。

質問 田川博之(長崎大)

血中 Progesterone と子宮腔温が平行すると考えるか、それとも他に子宮腔温に関与する因子があると考えるか。

回答

性ホルモン中 progesterone は、中枢性にも作用すると云われており、progesterone 投与による子宮腔温上昇は、全身性のものと局所性のものの合計したものと考える。

質問 楠田雅彦(九大産婦)

黄体機能不全の clinical entity もはつきりしておらず、われわれも種々の面からアプローチを試みているが、いかなる parameter で本症と診断しているか。

回答

基礎体温曲線が高温相が12日以下(第1型)を黄体機能不全とした。

5. 排卵性不妊婦人の黄体機能に関する研究

立山浩道・楠田雅彦・熊本熙史

倉野彰比古(九大産婦)

黄体機能不全症の概念はかなり古くより存在し、不妊領域においては着床障害、早期流産、習慣性流産などの

原因になると考えられている。しかし人黄体機能の調節機構は未だ明らかでなく、黄体機能不全症の病態生理やその臨床的意義を解明することは不妊領域における興味ある課題である。われわれは、数年前よりいわゆる黄体機能不全症を、主に基礎体温曲線、子宮内膜組織像、血中 Progesterone 値などからとらえ、この分野における問題を追求し、発表してきた。さきの第23回日産婦総会においても九大産婦人科不妊外来を訪れた排卵性不妊婦人分泌期内膜約300検体の生検を行ない、主に内膜を中心とした見地から報告した。今回は内膜生検と同時に肝静脈より採血し得た約90例について C.P.B.A. により血中 Progesterone 値を測定したのでその値を中心に黄体における Progesterone 分泌動態およびわれわれの行なっている Gestagen 補充療法、HCG 刺激療法との関係について述べる。

6. Polycystic ovary に対する楔状切除術の治療成績

熊本照史・楠田雅彦(九大産婦)

いわゆる Polycystic ovary syndrome の定義については現在なお一定の見解が得られていないが、われわれは17-KS 値や virilism にとられることなく本症を比較的広義に解決している。

現在までに本症と診断され、両側卵巣の楔状切除術を施行した患者は約40例で、その80%以上が少なくとも1回は術後に自然排卵周期を示したが、規則的かつ持続的自然排卵周期を獲得したものは数多くはない。

このような場合の補助療法として Corticoid 投与については Premarin, Clomid 療法などを施行しているので、これらの補助的排卵誘発の成績を含めた術後経過や妊娠率などについて一括報告する。

質問 肥田木 孜(大分県立)

polycystic ovary についてどういう診断根拠で開腹手術をするか。

質問 山 辺 徹(長崎大産婦)

1) 無排卵性周期の場合の polycystic ovary で hyperthecosis は必発か。

2) ホルモン検査の成績と、組織的に種々のホルモン活性細胞との間に関連性が見とめられるか。

回答

術前に polycystic ovary と診断する事は大変困難である。内診上腫大した卵巣を触れ得るような場合は BBT の観察と考え合せて、当然 polycystic ovary を疑うが、このような例は数少い。そこで、Estrogen の positive feed back を応用した LH の動きを免疫学的に測定し、hypergonadotropic や hypogonadotropic の程度を把握し、これによりある決まったパターンを示した moderate

hypergonadotropic な症例に比較的多数の polycystic ovary を認めている。

7. 血精液症に関する研究

重松 俊・薬師寺道則(九大泌尿器)

血精液症の原因については、種々の説があり、確定的な原因は見出されてはいない。私達は、本症の原因を究明するため、本症とウィルスとの関係について、検索を行つていたところ、精液中よりアデノウイルス10型及びアデノウイルス11型を検出し得たので、その成績について報告する。

8. 男性不妊症と尿中ゴナドトロピン

中山 健・斎藤宗吾(鹿大泌尿器)

男性不妊症患者に対する検査として、教室では精液検査、尿中17-KS、精囊、精管造影、睾丸生検などを施行している。これらの検査は適切な治療法の選択のため施行されるのであるが、本症の治療成績は必ずしもよくない。尿中G値を routine に測定しはじめたのは最近で、まだ例数は少いが、不妊症患者のG値は hyper, hypo, normogonadotropic と症例により一定しない。

本症の治療法として一般に Gonadotropin 製剤が使用されるが、教室でも比較的大量投与で妊娠成功例を経験している。しかし本剤の適応は尿中G値と睾丸組織像を資料として決定さるべきで、適応外の本症に対する薬剤の開発が期待される。

質問 加藤 俊(久留米大)

Gonadotropin の治療後に Leydig cell が増加したか。卵巣では Hillus cell (Leydig cell と同義に一般に解釈されている) は gonadotropin に増加が平行する様に思われる。

回答

組織像 (Hypergonadotrophic) で Leydig cell の増加をみるとのことであるが、G剤の投与後では否である。

9. 慢性腎不全患者の男性性腺機能について

牧野邦司郎・進藤和彦・徳永 毅

天体 太平・近藤 厚

(長大泌尿器)

目的：慢性腎不全にて慢性血液透析を施行している男子患者の性機能について報告する。

方法：慢性透析を行つている男子患者24名に性機能に関するアンケートを行つた。又、内10名に睾丸生検、3名に精液検査、8名に Gonadotropin test、1名に Pitui-

tary Gonadotropin 測定, 6 名に血漿及び尿中 Testosterone 測定 17-KS の測定を行った。

結果: (1) アンケートでは, 透折療法により腎不全が改善しても, 性機能は悪化の傾向にある。(2) 睾丸生検精液検査では著しい Spermatogenesis の減退がある。(3) 血漿 Testosterone 尿中 17-KS は明らかな低値を示した。(4) 尿中 Gonadotropin は低値を示した。

質問

齊藤(鹿大)

透折患者の心因性影響も 1 つの因子として考えられる。性機能低下に対するホルモン治療の結果はどうか。

回答

1) 精神的な因子については検索していないが少くとも透折を行なった症例については睾丸組織に変化が見られた。

2) 現在この不妊について積極的な治療は行っていない。ただ貧血改善の為テストステロンを使用している。

10. 無排卵症に対する Clomiphene の効果について

須藤幾三・森 憲正・宮川男生
前山昌男(熊本産婦)

clomiphene 投与の対象は昭和43年以降, 無月経, 無排卵性周期を主訴とする16歳から40歳までの婦人71名で各々に BBT を測定せしめ投与前, 投与周期中に尿中エストロゲン, 17-KS, 17-OHCS, 頸管粘液, Smear Index, および一部に尿中プレグナンジオールを測定した。投与方法は Progesterone による消褪出血, 又は月経様出血発来後 5 日目から 5 日間連続投与し, 投与量は 1 回 50mg とし排卵しない場合の一部には 1 回 100mg の増量投与を行い, 又一部には再度初回量の反復投与を行い以下の成績を得た。

71 例中, 56 例 (78.8%), 投与周期 146 周期中 97 周期 (66.4%) に各々排卵誘発に成功した。Initial Response は第 1 度無月経, 周期性無排卵症とも 80%, 70.3% と高値であるが, 第 2 度無月経は 2.5% と低く, Carry over effect は無排卵周期症, 第 1 度無月経とも 35% 以上であるが, 第 2 度無月経には認められなかった。

投与終了後排卵までの日数は 8 日から 37 日, 平均 17.7 日で, 高温相持続日数は 6 日から 22 日, 平均 12.7 日であり, 非投与時のそれと比べると明かに延長していた。一方高温相 8 日から 14 日までを示す症例では高温相持続日数と黄体期尿中プレグナンジオール値はよく相関しており, このことは Clomiphene が黄体機能不全患者にも有効であることが推測された。

未婚婦人を除いた 55 例中 18 例が妊娠し, 投与周期における妊娠率は 33.3% で, その他は投与終了後の自然排卵

によるものであつた。また, この他間歇的に周期投与を行なった場合, 連続的に周期投与を行なった場合についても検討する。

11. Clomid, Sexovid, Epimestrol による排卵誘発成績について

中村正彦・楠田雅彦・立山浩道
(九大産婦)

女性不妊症の内, 排卵障害に対する排卵誘発法については, 近年いくつかの新しい方法が登場して, 排卵率の向上がみられている。

当教室においても, 種々の排卵誘発法を試みその臨床効果を報告してきた。非ステロイド系排卵誘発剤については, 既に Clomiphene citrate (Clomid) の成績を第 19 回九州沖縄連合地方部会で, Cyclofenil (Sexovid) の成績を第 15 回本支部総会で, それぞれ発表した。今回は, これらの症例数を増し報告するとともに, 新たに試用する機会を得た排卵誘発剤 Epimestrol (Estriol の同属体) について, 少数ではあるが, 投与対象, 投与方法, 排卵誘発効果, 副作用等につき検討を加えたので, 合わせて報告する。

12. 無排卵性不妊婦人に対する Human Menopausal Gonadotropin (HMG) の応用成績の検討

楠田雅彦・熊本熙史・片桐英彦
立山浩道(九大産婦)

排卵誘発法の進歩, 改善は近年めざましいものがある。その中でも gonadotropin による卵巢直接刺激療法は用量を任意に調節しうる点からもきわめて重要な位置を占めている。従来 FSH 作用を期待して使用されていた PMS はコストの面からも日常応用が容易であり貴重な存在ではあるが, 過去数回にわたつてわれわれが報告して来たごとく, 抗体産生という異種蛋白体としての避け難い欠点を有している。

Donini らによつて閉経婦人尿より抽出精製され Lunenfeld らによつて治験が報告された HMG は同種性蛋白ホルモンであるだけに抗原性も少いので反復応用にたえ, FSH 活性も強く, これまで内外においてすぐれた治験が多く報告されている。

演者らは主に難治性の重症無排卵性不妊婦人を対象として HMG 製剤である Pergonal または Humegon を応用し, 本年 8 月末現在で 20 症例, 28 周期についての成績をまとめ得た。今回は HMG 療法ならびに同一症例に施行した他療法の成績, さらに試験開腹例の卵巢所見や内分泌所見との相関から検討した結果について報告する。

第 11 回 日本不妊学会中国四国支部総会

会 期 昭和 46 年 11 月 28 日 (岡山)

特別講演

精神因性、男性性不能症について

横 山 茂 生(岡山大精神神経)

1. 停留睾丸の X 線的検討

佐 長 俊 昭(山口大泌尿器)

停留睾丸に対する術前診断法は、従来は単純な視触診法に限られていた。しかし症例によつてはこれのみでは術前に睾丸の正確な位置を知ることは困難であつて、補助的診断法の開発がまたれていた。われわれ睾丸停留症 31 症例、44 睾丸に inguinal herniography を施行し、次のように分類した。そ径管が開存していない A 群、開存しているもの B 群とし、更に A 群については、A₁, A₂ に分類し、B 群については B₁, B₂, B₃ に分類した。次にそれぞれの分類と術中の生検像との比較検討を加えたところ、睾丸組織の退行性変化の強いものは鞘伏突起の未発育な B₁ においてみられ、停留度の強い A₁ にはみられなかつた。従つて、膜鞘状突起の未発育な B₁ 型を X-ray で証明したら、停留睾丸の造精機能の予後判定に大いに役立つと考え報告した。

2. ラット抗精子抗体の受精卵に対する影響

香山浩二・田中千春・土屋邦男
奈賀 脩・折目純子・磯島晋三
足立春雄(徳島大産婦)

雌動物を睾丸又は精子で強力に免疫すると不妊症が惹起され、その不妊機序としては、循環血中の抗精子抗体が生殖器管内へ移行して来て精子に障害を及ぼし受精が阻害されるためと考えられるが、もし受精卵中に精子抗原が保有されているとすれば、例え受精が成立したとしても、その後の着床及び胎仔の発育に障害が起こってくる事が推察される。今回、受精卵中の精子抗原の存在と、抗精子抗体の受精卵への影響をラットにおいて検討した。

受精卵中の精子抗原の検索は蛍光抗体法(間接法)によつた。L₀ から L₄ (blastocyst) に至る受精卵表面に zona pellucida を通して明らかな蛍光を証明し、受精卵中の精子抗原の存在を示唆した。抗精子抗体と in vitro

で incubate した受精卵を前もつて精管結紮雄ラットと mating させて偽妊娠状態にした雌ラットの一方の子宮角に移植し、他側子宮角に移植せる対照群受精卵の着床発育率と比較検討したが、対照群の着床発育率も悪く、結論を得るに至らなかつた。

3. 精漿中酵素レベルに対する各種薬剤の影響

石部知行・仁平寛己(広大)

過去 6 年間に、3 年以上の不妊を訴え当科に来院した患者の一部に対し Metharmone M, Vita. E. Mestrolone 及び Deposterone を 4 カ月間投与し、投与終了時、ならびに投薬中止後 2 カ月目における精漿中の LDH, ALP, LAP, ACP, GOT, GPT, LDH isozymes などを検討し、治療前値に対し 30% 以上の変動を示標とし、得られた成績について、chisquare test でもつてその有意性を検討した。

質問

田 中 良 憲(岡大産婦)

精漿を改良すれば、精子の活動性はよくなるか。

解答

石 部 知 行(広大泌)

精漿中の酵素については、経験的に精子媒質としての意義について検討されている段階であるが、健常者のそれに近付けることには臨床上有意義であると考ええる。

4. 腔膀胱月経痙を伴う下部腔欠損症の一例及び、腔欠損症の分類について

田中良憲・人見悦子(岡大産婦)

患者は初潮以来、月経血の自然流出をみず排尿時に血塊として経血排出を認める。腹腔鏡、膀胱鏡、腔膀胱造影などより、正常子宮を有する下部腔欠損及び腔膀胱造影と診断され、人工造腔術(皮膚移植法)と腹膜外腔膀胱瘻切除術を行なう。術後経過順調で経腔的に月経血排出を認め血尿も消失した。

さて腔欠損症では機能性の子宮及び腔を有するものは稀れであるとされており、詳細な分類等の報告も少ない。そこで岡大婦人科の 10 年間手術例のうち、外陰腔の先天性異常につき(但し半陰陽は除く)統計的考察をするに、機能性子宮を明らかに有するもの、あるいは症状より有すると思われるものは腔欠損 38 例中 9 例と意外に多いことがわかつた。故に腔欠損症では、機能性子宮の有

無をまず確認することが重要であると思う。

5. 卵管形成術の症例

金田健一・相原 裕・小酒洋一
(鳥取大)

われわれの教室で、昭和43年から2年間に行なつた卵管形成例は5例で、その内2例は卵管結紮術後、3例は両側卵管閉鎖の症例である。これらは子宮卵管造影術によつて卵管閉鎖を確認し、基礎体温は2相性変動を呈し、また精液検査では、いずれも何ら異常を認められなかつた症例である。卵管形成術施行した5例の内、4例が妊娠した。即ち、両側卵管閉鎖に2例、卵管結紮後2例、前者2例共に満期出産したが、後者は1例が満期出産、1例が左卵管流産に至り緊急手術を行なつた。卵管形成術の方法には種々報告されているが、われわれの行なつた方法、術後の処置、妊娠成立までの経過について詳細に報告した。

質問 田中良憲(岡大産婦)
非常に良い成績であるが、症例をどの様に選択されたか

解答 金田健一(鳥取大産婦)

- 1) BBT で排卵のある事を確認
 - 2) 精液正常の事を確認
 - 3) 性器結核のない事を確認
 - 4) HSG で両側卵管閉鎖の認められたもの、
- 以上4つの条件を満たしたものの全例に行なつている。

6. 岡山大学不妊外来における妊娠例の検討、特に予後に対する追跡調査

田中良憲(岡大産婦)

当科不妊外来で診療中妊娠した301例につき、郵送法による予後の追跡を行つた。妊娠経過の判明した189例中早産は7.8%、流産は12.2%であり、特に高いとは言えないが人工排卵による妊娠ではその16%が流産に終つた。分娩経過の判明した166例中帝切は6%、吸引分娩は4.2%、せん延分娩は4.8%、弛緩性出血は1例であり、異常傾向は認められなかつた。児の生下時体重分布も特記すべき点なく、未熟児は10.8%であつた。出生児180例中周産期及びその後の児死亡は2.2%にすぎなかつた。双胎はクロミッド投与17例中2例、HMG 投与3例中2例とそれぞれ高頻度であつて、出生児180例中明らかな先天異常として消化管奇型(剖検)1例と多指症1例(HMG 投与、双胎例)であつた。以上から人為的妊娠成立介助はその後の妊娠経過や分娩、出生児に大きな影響を与えるものではないが、人工排卵例で流産や多胎の

頻度の高い点が問題として残されている。

質問 香山浩二(徳大)
Huhner test のみが異常を示した患者は何%程度か。
その治療法は

解答 田中良憲(岡大)
10%ぐらいである。AIH や頸管粘液改良を主な方法としているが、成績は必ずしもよくない。

質問 金田健一(鳥大)
1) AIH をどの位しているか
2) その妊娠率はどの位か

解答 田中良憲(岡大)
10%以下と記憶している。

質問 高田守男
腹腔鏡を使用して卵管の筋電図がとれぬか。之を卵管性不妊症の selection に使用出来ぬか

解答 田中良憲(岡大)
それは可能と思うが、現在、内外国とも報告はない。

質問 相原 裕(鳥大)
1) クロミッドの使用法について
2) 長期使用した場合の肝機能への影響は?
3) 第Ⅱ度無月経に対するクロミッドの効果は?

解答 田中良憲(岡大)
クロミッドは50mg 5日間を2周期使用し、無効なら100mg 5日間2周期を原則としている。肝機能は特に検査していないが、臨床上異常を感じた事はない、第Ⅱ度無月経にも有効例はあるので、一度みるべきである。

7. 性染色体モザイク X/XY を示した1例の臨床的内分泌学的分析

小川重男(川崎医大産婦)
細田 肇(慈恵会医大産婦)

患者は16歳9カ月。届出の性は女性。主訴：1年前より多毛、音声の低下に気づき慈恵医大受診。既往歴：生後6カ月に phallus 増大に気づき他医により phallus 切断術を受けた。妊娠中母体の薬剤の服用なく、父母は血族結婚でない。同胞は兄1人、姉1人で特別な異常はない。現症：身長136cm、体型男性様、全身の多毛傾向を認め腋毛も発生。外陰は女性型であるが陰核は肥大し陰茎様、外尿道口、膣口の分化良好、膣長7cm、直腸診により内性器の存在する部位に横走索状抵抗に触れ、その中央部は小指頭大。両側ソケイ部に腫瘍を触知しない。50コの核について染色体分析を行うと10コ(20%) XO、40コ(80%) XY のモザイクであつた。腹腔内に睪丸の存在することが予想されたので開腹術を施行した。開腹すると子宮は小指頭大で中央に位置し、左側卵

管、卵管采の分化良好、左広間膜後葉、通常の卵巣の位置に幅 1~2 mm の痕跡状索状組織を認め、右側は卵管発生は見ると卵管采不明、通常の卵巣の位置に性腺なくソケイ管内、大陰唇皮下まで性腺を求めたが認められなかった。左側性腺の一部を切除し組織学的に検索したが、ビマン性に配列する紡錘形線維細胞よりなる線維性組織で略中央に 3 コの腺管を認める外、卵巣或は睪丸を思わせる組織成分は見られなかった。又同組織 50mg を、 ^{14}C -progesterone 5 μCi を基質として 30 分、37°C 空气中で incubate したが progesterone より他の steroid への conversion は見られなかった。術前の gonadotropin は 6 単位以下、術後尿中 steroid の分析では 17-KS は、dexamethasone で抑制されず、dexamethasone 抑制、HCG 負荷で 2.2 倍に増量し、これは dexamethasone, diethylstilbestrol で抑制されなかった。これらの所見は本症例の体型男性様、多毛、陰核肥大の phenotype の発現に未分化性腺の androgen 分泌が関与している可能性を示唆した。

質問 田 中 良 憲(岡大)

17-KS から Gonad が Androgen を分泌しているものの如くであるが、組織学的所見は、それを如何に説明されるか。

回答 小 川 重 男(川崎大)

1) 尿中 17-KS が dexamethasone で抑制され、dexamethasone HCG 投与で 2.2 倍に増量しているが、この事は本症の phenotype に性腺性 Androgen が関与しうる可能性は示唆はされる、これだけで、結論付けることは、田中先生の御意見の通り危険であると考ええる。現在、この点について更に検索をすすめているので機会を改めて報告したい。

2) Gonadotropin 6 単位以下であったのは一回の測定のみなのでその厳密な意義付けは避けたい。

8. GH 片障害と思われた短軀婦人の妊娠ならびに帝王切開分娩

北尾 学・佐野正治・井庭信幸
(鳥取大産婦)

症例、35 歳、主婦、最終月経 20/IX、70~2 日、周期 30 日型、身長 116.5cm、両親および義兄弟ともに身長は普通、予定日 27/VI、71、妊娠経過中の 37 週で下肢浮腫を認め、治療を行なったのみでその他異常なし、生化学

検査、EKG、トルコ鞍および骨形成には異常はなかった。6 月 23 日 2800g の女児を帝王切開にて分娩、卵巣その他に特に異常はなかった。10 月 23 日、患者、児の体重はそれぞれ 28kg、7.52kg で、授乳は母乳のみであった。また児の発育には異常は認められなかった。結語、患者は短軀であるのみで、その他に異常なし、すなわち GH 分泌障害があると推定、しかし妊娠、分娩をみ、また充分授乳が行なわれた点から推定して、Gonadotropin 分泌の障害はないと考える。今後 Growth hormone, Gonadotropin ならびに ACTH の測定を施行して結論をくだす予定である。

質問 田 中 良 憲(岡大)

同様の症例を追加する。幼少時までは正常の発育をつづけた、即ち成長ホルモンは異常なかったと推察されるが、その後の成長に異常を来たしたのは如何に説明されるか。

解答 井 庭 信 幸(鳥大)

- 1) 幼少時の生長は普通
- 2) 陰毛は中等度に認められた
- 3) 幼少時まで分泌されていたと思われる
- 4) Growth Hormone がその後悪くなった原因については検索中である。

9. 排卵日より起算したヒトの在胎日数と新生児生下時体重

田 中 良 憲(岡大産婦)

妊娠成立周期の BBT から排卵日を推定し、分娩までの日数を 107 例につき計算した。中毒症や双胎は除外し、自然に分娩が開始したもののみを対象とした。5 日毎の区分で、最大度数は 266 日から 284 日、95% の信頼限界による平均値存在範囲は 265 日 $\pm$ 2 日、同じ信頼限界での棄却限界は 265 日 $\pm$ 19 日であった。また 265 日を中心としてその前後各々 2 週間の範囲とあるものは 88.4% であり、又その内 2 週間をこえる例はわずか 2.9% に過ぎなかった。生下時体重は同一在胎期間でも著差があるが、全体の傾向として 270 日頃までは漸増するが、以後は産科的に問題となる程の増加は示していない。また 250 日以後では未熟児は極めて例外的であった。以上からヒトの真の在胎期間は分散が少なく、平均より 2 週間を越える例は極めて例外的であることを知った。

第 58 回日本不妊学会関東地方部会

昭和46年 5 月27日

1. 哺乳動物卵子の in vitro 発達について

— 家兎卵 1 細胞期から胞胚期までの培養 —

尾川昭三・佐藤嘉兵・浜田光磨
橋本 肇(日大農獣医)

家兎受精卵を blastocyst までに高率に培養せしめた。その発達状態を 16mm 映画フィルムに撮影した。用いた培養液は Ham F 12, Eegle, RPM 1 medium に Nacasein を加えたもので仔牛血清を添加した。CO₂ incubator において開放系の培養よりも閉鎖系の培養で高率 (43個中, blastocyst 24個, morula 5個) に blastocyst まで発達した。従来より哺乳動物卵子の in vitro 培養で blastocyst まで発達したとの報告があるが、その率は低いと言わざるをえない。しかし、われわれが本実験に用いた培養方法は高率に発達せしめうる勝れたものと考えられる。この方法は単に家兎受精卵だけでなく、in vitro の受精および他の動物卵子の発達研究にも応用しうるものではないかと考えられる。

追加 林 基 之(東邦大)

in vitro culture により、卵分割をさせ、blastocyst に達するためには培養条件の標準化が必要となってくる。もしこの標準化に成功すれば、卵子に精子が入り得ないようにすることもでき、ヒトでは blastocyst を子宮内に移植する際、正常標準化 blastocyst を入れて奇形発生も防げるようになる。

解答

従来抱いていた点を指摘され、全く同感である。種々の基礎実験を哺乳動物卵で行う実験の際にも何が正常であるかが問題となり、しかも in vitro 条件で正常な発育を殆んどの卵において遂行させる方法がない限り真の意味での比較対照実験ができないと思う。従つて私達もこれらの点を考え、むしろどうして正常に発育させることができるかの方法を確立することを目標にしている。なお、私個人の考えであるが、実験をやっているうち、従来の説にとらわれると説明のつかない事実が数多くでてくる。固定観念にとらわれない、自由なしかも、客観的な意見とか idea が場合によっては必要である。このためにも総合的な協同研究が必要と思う。

2. 家兎胚 (Blastocyst) の in vitro 培養について

尾川昭三・佐藤嘉兵・橋本 肇
浜田光磨(日大農獣医)

家兎 blastocyst の in vitro 培養を行った。培養液は主として 199 液に Bacto tryptose phosphate を 5~4%, 仔牛血清 20% を添加した。他に Ham F₁₂ に RPMI を混じたものを利用した。若干の例では、O₂ の担荷体として改質赤血球、コバルト錯塩を medium 添加した。6 日目胚と 6 日+18 時間目の胚を用いて発達を比較した。培養は大型 Carrel flask と Earl flask を用いて medium を静止した条件のものと、他に New の circulating system の方法を参考にして培養ビンを試作したものを使用した。Carrel flask では medium 50ml, Earl flask では 8ml の medium を入れ、各 3 個および 1 個の胚を入れ培養した。各れも CO₂, 5%, incubator で 37°C で培養した。

以上の条件下で培養した例の半数以上において Primitive streak 以上まで発達せしめた。しかも 6 日目胚よりも 6 日+18 時間胚を Carrel flask に浮遊させたものが発達良好で高率に Somite stage 25/32 例, Heart beat 9/32 例, Optic vesicle stage 7/32 例まで発達した。このうち、8~20 somite まで発達したものが約半数に認められた。尚、改質赤血球、コバルト錯塩の添加は必ずしも胚の発達に良好な結果を示さなかつた。Circulating system では殆んど Primitive streak stage まで発達するが、培養 2 日以内に発育停止し、崩壊した。これは胚面が器内上面に浮遊しようとし、必然的に上面から圧迫される結果と考えられる。一方 Carrel flask では、胚が浮遊し、静止している関係上、胚面が器内面と接触することなく、しかもガス交換の点で良好な影響を受けているものと考えられている。従つて、この結果から家兎胚の培養では大型の培養ビンを用い、胚が接触させないこと、さらにガス交換その他の為、medium 上面に十分な空間をとることが重要と考えられる。

質問 鈴木 秋 悦(慶大)

従来、Blastocysts に対する培養の問題点としては、培養液についての検討が主であつたが、Circulation

method を応用してガス交換, osmolarity についても配慮されたことは胞胚の培養成績をよくした原因と思われる。ここでは closed system を用いられており, 1-cell から Blastocyst までの culture に成功されているが, Blastocyst の expansion の問題もあり, System の相異についてはいかが考えるか。

回答

blastocyst の発育に伴ってその体積が増加し, 物質の取り込みも盛んになってくる。これらの関係から物理的ファクターが blastocyst の培養にはかなり重要なものと考えられる。これは液面の空間が広く, 十分な培養液があることが, その発育に好適であることからうかがわれる。

3. 卵管開口術における Mulligan's hood の使用経験

小 武 海 成 一(立川病院産婦)

卵管形成術は以前より施行されているが, 術後の再閉鎖例が多く, 良好な成績をおさめていない。しかし Mulligan は1966年シリコン樹脂製の卵管采部の再癒着防止装具・Mulligan's hood を考案し, 卵管開口術に Mulligan's hood を使用し良好な成績をおさめている。

私達は卵管溜水腫に開口術を施行, この Hood を使用し, Hood 除去後妊娠した症例を経験したので, その概略を報告する。

患者: 28歳・主婦で家族歴, 月経歴に特記事項なし, 38年2月(23歳)結婚, 39年8月左卵管流産で左附属摘除術施行, TB(-), BBT は2相性, 43年10月挙児を希望して当科受診, 不妊症の常用診は卵管以外異常なし,

43, 10 Hystero. 右卵管溜水腫

Kymo.: spasm or spasm+adhesion

その後薬物通水12回施行

45.1 Hystero.: 右卵管溜水腫で前回の Hystero. の所見と同様。

45.3 手術施行, 開腹時所見: TB の所見なし, 左卵管及び卵巣(-), 右卵管は拇指頭大で卵管壁の肥厚なし。卵管の腹腔端を切除開口し, 断端を Chromic catgut で数カ所縫合し, ついで直針(モメン針)を用いてナイロン糸で3カ所固定し, Mulligan's hood を開口部に装着す。

45.5 (術後56日目)再開腹して Hood を除去す。その際右卵管は子宮の右後方に位置し, ダグラス窩に軽度の腹水あり, Hood を除去すると, 右卵管の腹腔端は著明に肥厚し, 明らかに異物によると思われる所見あり。Hood 除去3日目より薬物通水6回施行す。Hood 除去

後半年で妊娠した。なお Mulligan 等は Hood 装着後12週で除去しているが, 前述の様に Hood の刺激によると思われる所見が著明であるので, 卵管開口術後 Hood 除去迄の期間は再検討する必要があると思う。

質問

林 基 之(東邦大)

一昨年春, アメリカ不妊学会では, 本法は最良の方法として世界に異常な反響を呼んだが本年春のアメリカ不妊学会ではかなりの批判がでていた。

私も小児用膀胱ドレーン・カテーテルを使用して見たが, 不成功であつた。所が本法をアメリカ・バッファローの Lippes が応用し, 卵管液を採取している。

卵管水腫に対する手術には Grades をきめる必要があり, 手術にたえるのは周囲癒着なき Grade I, II 位であろうかと思う。

解答

1) Mulligan's hood は組織非刺激法の物質ということになっているが術後の所見では明らかに異物による反応があるので hood 除去迄の期間を再検討する必要がある。また更に組織刺激性の少ない material の利用を考えるべきである。

2) 更にこの hood の欠点は再開腹を要する事である。

4. 不妊症例の脳波所見について

室岡 一・奥平陸男(日本医大)

ステロイドホルモン, こくに黄体ホルモンが脳波に変化を示すといわれ, 月経異常例にも脳波異常が多いことが報告されている。不妊症には種々な性周期異常が含まれ, また精神的にも抑制された症例が多いから脳波異常の頻度が高いと考えられる。今回私共は不妊症患者の脳波所見を脳波学的に分類し, あわせて臨床像との関連を検討した。

検査方法は不妊症患者について安静時の脳波を記録した。使用した脳波装置は三栄測器製 EG 130型12誘導のものである。誘導法は左右の前頭, 頭頂, 後頭, 側頭の単極ならびに双極誘導によつた。記録は安静時のほか過呼吸, 音, 光などの刺激, 症例によつてはメジマイドによる賦活を加え, これに伴う変化を観察した。

脳波所見は正常群, 境界群と思われる群, 異常脳波群の3つに分けた。

112例中, 正常群57例(50.9%), 境界線群40例(35.8%), 異常群15例(13.3%)で対照正常婦人47例の正常群42例(88.1%), 境界線群5例(11.9%), 異常群0に比較すると, 推計的に $\chi^2=19.2$ となつて, 不妊症例には境界線群, 異常群が有意に多くなつてゐる。基礎体温曲

線と脳波所見との関係を求めると、2相性の39例では正常群30例(76.9%)で、1相性の38例では正常群12例(36.6%)であり、基礎体温2相性群の方が正常脳波所見を示すものが有意に多い($\chi^2=15.96$)。黄体機能不全と考えられる35例では、正常群15例で2相性群と比較すると、2相性群が正常脳波所見を示すものが多い。

又精神的因子と脳波所見との関連を求めるためにY-G検査法を実施した。不安定、不適応のB系、E系に境界線、脳波異常がやや多い。性格的に精神不安定なものに若干脳波所見を見出す傾向はあるが顕著でなく、むしろ脳波に異常所見を示してくるのは内分泌環境の方が大きいものと考えられる。

質問 尾川 昭三(日大農獣医)

正常な不妊症でない婦人と不妊症婦人の脳波をとる場合正常婦人の性周期の時期によって脳波波形が変つてくると思う。一方、不妊症婦人においても種々の原因があり、内分泌状態も種々違っているの、どの時点でこの不妊症の脳波をとり比較されたか?。特に基礎体温1相性の場合等においても必ずしも内分泌状態は一定であるとは限らないと思う。

解答

脳波所見、正常、境界線、異常とわけたが、これは卵胞期、黄体期を通じてどの時期に脳波検査をしても正常は正常、異常は異常で変りない。ステロイドホルモンの脳波に及ぼす変化は黄体ホルモンが徐化傾向になるとはいえ、正常範囲内のものであつて、これがδ波とかSpike & Waveのように異常脳波まで変化せしめることはない。

5. Epimestrol による排卵誘発成績

伊吹 令 人(群馬大産婦)

われわれはオランダ、オルガノン社により開発されたEpimestrolを28例の無排卵患者に投与して次のような成績を得たので報告する。投与方法は原則として月経乃至消退性出血の第5日より1日2.5mg乃至5.0mg宛10日間連続服用させ、約1カ月の経過を観察しこれを3Kur繰返したのち2.5mg投与者は5.0mgに、5.0mg投与者は2.5mgの投与にきりかえて又3Kurを行う方法をとつた。現在のところ最低2周期、最高9周期の投与を行つている。

稀発月経では10例57周期中、8例22周期、例数別で80%、周期別で38.6%、無排卵周期症では7例36周期中、4例10周期、例数別で57.1%、周期別で27.8%、第1度無月経症では9例43周期中、4例7周期、例数別で44.4%、周期別で16.3%、第2度無月経症では2例6周期で

排卵は零であつた。妊娠は4例5回で、そのうち1例は次周期の自然排卵による妊娠であつた。

前述の成績で判るようにEpimestrolは再現性が悪いとも云う結果が得られた。Clomid, Sexovid, Epimestrolの三者を比較すると、排卵率、再現性ともClomid, Sexovid, Epimestrolの順であつた。

Epimestrolの投与開始より低温最終日迄の日数は投与例、投与周期によりかなりまちまちで2日より30日迄分布しており、大きなpeakは認められなかつた。高温持続日数は正常人、clomidによる排卵例と差は認められなかつた。

clomidとの交叉テストでは、Epimestrol, clomid両者で排卵した例が6例、Epimestrolで排卵し、clomidでは排卵しなかつた例が3例、clomidで排卵し、Epimestrolで排卵しなかつた例は5例、両者とも無効であつた例は4例であつた。

質問 石橋 功(千葉大園芸)

1) 排卵の確認の方法

2) 排卵数は無関係か

3) 再投与の場合の投与間隔はどれ位か、再現率に影響すると思うが……

解答

1) 排卵の確認は、頸管粘液、Vaginal smear、Endometrial Biopsy、妊娠、基礎体温表などによつた。

2) 月経乃至 Gestagen の消退性出血の第5日より、2.5mg乃至5.0mgの錠剤を1錠づつ10日間投与し、約1カ月経過をみて Reaktion のないものはそのまま同一Kurをくり返し Ovulation 或いは無排卵性月経のあつたものは月経第5日より再び投与する方法をとつた。

6. 人精液に存在するリブローズ含む物質について

長岡貞雄・清水工経(東邦大産婦)

われわれは、これまでに解置40~50時間までのニトリ卵卵黄中に ^{32}P を指標として、酸可溶性のリン酸化合物を求め、この時期における唯一のリン酸化合物として、D型リブローズを含む物質をカラムクロマトグラフィーによつて得ることが出来た。又比較生化学的な意味において人卵胞液、魚類卵、人精液等について検索を進めたところ、これらの材料中にリブローズの存在する証拠を見出した。第54回の本学会において、当教室の林が人卵胞液について報告した。今回は人精液について検索を試みた。採取した人精液は、ニトリ卵、人卵胞液と同一分画をとり、カラムクロマトグラフィーの条件は人卵胞液と同一条件で行つた。36~56mlの附近に糖反応陽性部分が出現(人卵胞液と同一位置)した。この部分

を集めて15倍量のアセトンを加え24時間冷暗所に放置すると白色絮状沈澱が得られ、この沈澱を集め少量の水に溶解し再びアセトンを加え再沈澱させたものについての超遠沈分析の結果は単一ピークを示し沈降定数は0.80と計算され、元素分析値はC=44.64%, H=6.96%, N=15.67%であった。この物質中に含まれる糖成分の分析はペーパクロマト、発色色調、吸収スペクトル等により検索し、酸水解物のアミノ酸は13種類であった。この物質の若干の性質などについて検討したので報告する。

7. ラットの精子形成に及ぼす妊馬血清性腺刺激ホルモンの影響

小笠 晃・横木勇逸
(農林省家畜衛生試験場)

雄動物ではFSHは精細管に作用しICSHはLeydig細胞を刺激し、androgenを介して造精機能に関与するとされていたが、研究の進展にともない、FSHの役割に疑問がもたれるようになってきた。雄畜の造精機能障害の治療に用いられるPMSGは、生物学的にFSHとLHのいずれの性質をも有し、とくにFSH作用の強いホルモンとされ、造精機能を促進することが知られている。しかし精子形成に対するPMSGの作用機序については、いまだ不明の点が残されているので、若干の検討を試みた。

下垂体摘出雄ラット(60日齢)にPMSGおよびCyproterone acetate(CA)を15日間併用投与した。解剖後、生殖器は秤量し、一側の精巣はBouin液に、他側のものはZenker-formol液に固定した。標本はヘマトキシリン・エオジンおよびPASヘマトキシリン染色を施し、精上皮周期のⅦ期における細胞集団を定量的に解析した。

PMSGの投与により増加した精巣重量は、CAを併用投与することによつて、その重量増加が明らかに抑制された。精細管直径の発達もPMSG単独投与群に比べると、PMSGの低単位と多量のCAの併用投与群では、抑制されていた。下垂体摘出ラットの精巣は、精細胞の著しい減少を示したが、Step 7の精子細胞は、なお若干存在した。この下垂体摘出ラットにPMSGを投与すると、精細胞は著しく増数し、精子生産が維持された。PMSGとCAの併用投与群では、細胞が明らかに減数し、精子形成が抑制されていた。またPMSGによる前立腺、精囊腺などの副生殖器の重量増加作用が、CAの併用により阻止されたので、PMSGにより分泌されたandrogenの作用が、CAによつて著しく抑制され

ることが示唆された。これらの成績から、PMSGの精子形成促進作用は、主としてandrogenを介して表わされるものであらうと考えられる。

質問 尾川 昭三(日大農獣医学部)

垂摘およびPMSG, CA処理されたのに60日齢をえられた理由は?

精子の形成の相当段階迄FSHでの作用をうけなくて発達すると云うことになって来つたが、従つてその時期から前述の処理をされたか。

解答 小笠 晃(農林省家畜衛生試験場)

1) 私どもも使用したラットは40日齢に達すれば精子が出現するが、運動性は未だ不十分であるので、精巣上体内に多数の精子が出現し、いずれのラットも活発な精子活力を示す様になつた日齢のものを使用することが、結果の判定の際に都合がよいと云うこと、またあまり高齢になると下垂体摘出の際骨が硬くなり骨穿孔に時間がかかるので60日令位が適当と考え使用している。

2) 今回の実験は成熟したラットについて精子形成の維持におけるPMSGの作用機序を検討したものであるが、ご承知の通り精子形成はComplex phenomenonであり、spermatogoniaの増殖と再生のsystem、減数分裂の機序、精子細胞のmetamorphosisなどのホルモンの対する多面的な反応は系統的に究明していかなければならないので、胎生期精巣、新生仔精巣あるいは適当な幼若動物の精巣などを用いて研究を進めている。

第59回日本不妊学会関東地方部会

昭和47年1月29日

1. 性器感染症と不妊

岩崎寛和・土橋招一・鴻崎次夫

(横浜市大産婦)

○鈴木直行・市川 宝・植村次雄

根岸達郎(横浜市立市民病院)

質問 石 原 力(中央鉄道病院産婦)

子宮旁結合織炎、子宮内膜症等の診断はかなり問題が多く、困難と思うが、その診断基準をお聞かせ願いたい。

解答 岩 崎 寛 和(横浜市大産婦)

内膜症の臨床的診断は容易ではないので、これを炎症群に入れて統計をとるのは御指摘のように多少問題があるが、化学療法で効果があつた点は診断の誤りか又は感染の合併があつた症例と考えられる。

Parametritisの病因についても種々議論があるが、われわれは女性性器の慢性感染症の特徴的症狀と考えてお

り、化学療法が有効という点でもわれわれの考え方の妥当性を示していると考ええる。

2. 不妊症診療における腹腔鏡検査について

井上好雄・土橋招一・鴻崎次夫

(横浜市大産婦)

○植村次雄・鈴木直行・市川 宝

根岸達郎(横浜市立市民病院)

最近 glass fiber の開発により、腹腔鏡はより実用的なものとなってきた。われわれは腹腔鏡を不妊症検査に使用し、若干の知見を得たので報告する。

腹腔鏡施行例は現在まで35例のうち不妊症症例は14例である。内訳は排卵障害8例、卵管閉塞4例、原因不明の長期不妊2例である。排卵障害例について副腎及び甲状腺機能検査、一般不妊症検査、内分泌検査施行後、プレマリン、F 6066, clomiphene を投与し、これに反応しない症例又は反応しにくい症例に施行した。その結果、腹腔鏡で正常と診断した症例でも組織で polycystic の例(1例)があつた。腹腔鏡で polycystic 或は sclerocystic と診断した例(5例)は楔状切除術でよく排卵(3例)した。楔状切除術で排卵しなかつた例(2例)でもその後の clomiphene 投与により、術前よりよく反応した。腹腔鏡で atrophic と診断したもの(2例)は組織も atrophic 又は hypoplastic であつた。

卵管閉塞例については子宮卵管造影で卵管閉鎖が認められ、卵管通水で改善しなかつた例に腹腔鏡を施行した。卵管通過性が腹腔鏡による卵管通色素で認められない例のうち、癒着の状態、卵管の形態より、手術の成功が期待しうる症例を選んで手術した。卵管形成術後、卵管の状態を腹腔鏡で確認した。腹腔鏡検査を用いることにより、卵管形成術の対象の選択が出来、予後の正確の観察が出来た。原因不明の6年以上不妊の症例についてみると、1例は卵管癒着、1例には Schokoladenzyste が認められた。

副作用は皮下気腫が1番多くて3例にみられた。やはり気腹は空気より CO₂ の方がよいと考えている。試験開腹に比して最大の利点は侵襲の少ないことである。

以上、腹腔鏡検査は不妊症の正確な診断と適確な治療方針の決定に極めて有力な手段となりうる事が確認された。

3. 腹腔鏡所見から見た HSG 像読影の検討

山本 浩・岩田嘉行・井上 彬

(川崎市立病院産婦)

われわれは、不妊症患者にルーチンに子宮卵管造影(以下 HSG)を行い、必要と思われる症例に腹腔鏡を施行しているが、最近約3年間に腹腔鏡を施行した57例の HSG 所見に検討を加えたので報告する。

腹腔鏡では、發育不全、腫瘍、炎症、卵管閉鎖、子宮内膜症等の所見がみられた。

卵巣のう腫の1例においては、HSG の残像において辺縁明瞭な円形の陰影欠損が腫瘍と一致するのが認められ、辺縁のぼやけた直腸像と区別することが出来た。しかし、小さなう腫や漿膜下筋腫では、腫瘍を明確な陰影として把えることが出来なかつた。

卵管の疎通性についてみると、腹腔鏡では通過性のあるもの49例、無いもの8例であつたが、HSG でも個々の卵管に関しては問題が残るが、通過性の有無という時点での診断では2例を除き全て一致していた。

癒着についてみると、癒着のないもの22例で、他の35例には種々の程度の癒着を認めた。これら癒着例の HSG 所見は、残像において癒着部位に一致した造影剤の貯溜や網目様残像、或は陰像欠損がしばしばみられ、また卵管内の残像や卵管閉鎖像の見られるものもあつた。しかし、軽度の癒着で何ら所見のみられないものや、かなりの癒着にかかわらず過量の造影剤のためか、さしたる所見を認め得ないものもあつた。

子宮内膜症は、子宮、卵巣、卵管周囲、ダグラス窩、直腸などにみられ、HSG の像では、辺縁の明瞭な斑紋状の残像がやや特徴的といえた。所見のみられないこともあり、また、卵管閉鎖像や卵管内残像、脈管像もみられた。

以上のように、腫瘍、癒着、内膜症などである程度夫々に共通の所見を認め得たが、所見のないものもあり、類似の HSG 所見を誤つて過大に診断する可能性もあるので、確定診断には内視鏡の利用が必要であると考えられる。

4. 性交不能夫婦における心的背景

長田 宏・岩淵庄之助・林 茂

(川崎市立病院産婦)

性交不能に悩む夫婦は、数こそ少ないにしても、当面する夫婦にとつては極めて深刻なものであろう。日常婦人科で治療している不妊症の殆んど全部は、妊娠の前提となる性交が、たとえ不満足でも行われている場合で

ある。一方男性側のインポテンツに基因する性交不能は、従来よくとりあげられ、充分に考察も加えられている。そしてインポテンツに悩む男性の情動不安と同じ様に、妻側にも情緒不安定、未熟さが伴っている場合には、治療は極めて困難なものとなってくる。すなわち、所謂、精神的発達が夫婦間に於て、一方のみが未熟である場合には、それほど問題にならぬのに、両者に、精神的発達未熟が認められる場合、治療として、とりあげねばならぬ様になる。今回われわれは、身体的に特に欠陥も見出せないのに、性交不能に悩む一夫婦に接し、精神身体医学的に治療するに当り、両者に複雑な心的背景があることが判明したので、考察を加え、ここに報告する。患者は夫(34歳)、妻(31歳)で見合い結婚、ハネムーン・インポテンツであつた。両者共に CMI, 矢田部・ギルフォード性格検査では、特異な点は見出せなかつたが、SCT(文章完成テスト)では、夫妻両者に自己中心的、未熟性、依存性がうかがわれた。又婚前の自慰に罪悪感をいだいている。夫は所謂真面目人間で、社会不適応の性格、更に真性包茎で手術を受けているが、現在は充分に性交可能の状態である。妻は生育歴から、未だ精神分析学でいう、エディプス期から脱し切れず、精神的に男性としての、父との結びつきが強い。両者共に結婚に対する両面感情が著しかった。客観的に両者共、充分に性交可能の状態であるのに、性交不能であり、遂にあせりを来し、夫のすすめで、妻はいやいやながら当婦人科を訪れ、以上のことが判明した。精神身体医学的治療を開始し、面接、腹式呼吸、自律訓練、行動療法、向精神薬等を行なっているが、治療経過等については、後日にゆずりたい。以上の如く、夫のインポテンツのみならず、妻側にも重大な情緒不安があり、性交不能に悩んでいる一夫婦の治療機会を得たので、今回は特に両者の、その心的背景について報告した。

追加 岩 淵 庄 之 助(川崎市立病院)

私共はかかる症例を10数例治療したが、この様な両者ともどもの性觀念の幼児期にとどまつている所謂精神的未発達の場合には治療が困難な場合が多い。よく治療した場合にはむしろ女性側に成熟したものをもっている場合である。

今後この症例の如く家族数の少い家族においては男性は母と、女性は父との精神的結びつきの固さからかかる症例に発展するものの多くなるのではないかと推測される。

5. Klinefelter 症候群における 2, 3 の問題点

藤井 浩・佐々木紘一・穂坂正彦

西村隆一・高井 修道

(横浜市大泌尿器)

Klinefelter 病候群 5 例につき臨床所見及び内分泌学的検討を行つた。症例は 21 歳から 38 歳の 5 例で体型的には肥満型 2 例、やせ型 2 例、普通型 1 例で、肥満型はいずれも外観的には Eunuchoidism の形を示した。辜丸の大きさは 1 例を除き、その最大長径において 2 cm 以上のものはなかつた。又 Gynecomastia は 1 例にのみ認められた。

Sex Chromatine は全例陽性、Sex Chromosome は未検索の 1 例を除き XXY 型であつた。辜丸組織はいずれも Seminiferous tubule の Hyalinization と Leidig Cell の Hyperplasia を示したが、その程度は様々であつた。しかし共通の所見として、Diffuse な Hyperplasia を示す Leidig Cell の周囲には高度の Hyalinization を示す Seminiferous tubule が存在するという特徴がみられた。

Competitive Protein Binding Assay による血中 Testosterone の測定の結果は、 $46\text{m}\mu\text{g}/\text{dl}$ から $55\text{m}\mu\text{g}/\text{dl}$ と 5 例共に正常男子に比してはるかに低値を示した。HCG の連続負加に対しては 1 例が $46\text{m}\mu\text{g}/\text{dl}$ から $490\text{m}\mu\text{g}/\text{dl}$ と明らかな反応を示したが、他の 4 例では全く反応がみられなかつた。

In Vitro における辜丸組織の Androgen 分泌能を検索すると、Klinefelter 症候群においては、 17α OH progesterone が 31.3% (per cent of initial progesterone) と高率に認められたが、Testosterone は平均 7.01% にすぎなかつた。これと老人辜丸における Androgen 生合成能と比較すると老人辜丸では Testosterone の生成率は 18.7% であり、本症候群では明らかな低値を示し血中 Testosterone 値と良く一致していた。

追加 高 井 修 道(横浜市大泌尿器)

Klinefelter's syndrome の治療のことに關して議論があるが、現在のところ本症の根本的治療法はなく、唯單に初老期が早く来る、osteoporosis が早く起きることから testosterone 投与を行う、又精神面での指導を行うぐらいで積極的療法はない。

本症の本態は sex chromosome constitution の異常による、しかもこれは精子、卵の分裂の際の non-disjunction によつておこることは分つている。又最も定型的な形は XXY であるが其他種々の亜形、mosaic 型もあり、その判定は特定の研究者によらねばならないしわ

れわれ臨床家はこれら genotype に応じた phenotype が何かを詳細に検討する必要がある。従来本症では精細管の萎縮、Leydig 細胞の集塊を最も基本的形といわれていたが、内分泌学的検討、特に睾丸内における biosynthesis の検討の如き立体的研究がなされていなかった。本報告ではその第一歩をふみ出したところに意味があると考え

質問 片 山 喬(千葉大泌尿器)

- 1) これら症例の尿中 total Gonadotropin 値は如何か、特に HCG 反応例では如何か。
- 2) 心理的な面で問題点がないか。
- 3) 治療については Testosterone Depo. の投与を行う程度であるが、何か特別のことをなさつておられるか。

解答

- 1) 尿中ゴナドトロピンは5例中2例で測定したが、HCG 負荷に反応した症例では高値を示した。
- 2) 1例においては明らかな IQ の低下が見られ矢多部ギルフォード法によつて検査した症例ではいずれも内気で非社会的な傾向を示した。
- 3) テストステロン投与と生活管理が本体であり、現在の確な治療法は確立されていない。従つて更にクラインフェルター症候群について研究する必要がある。

6. 男子不妊症の血中 testosterone に関する研究

西村隆一・今野 稔・穂坂正彦
高井修道(横浜市大泌尿器)

血中 testosterone は Competitive Protein Binding Assay を用いて測定した。われわれが調べ得た正常男子 53 例(20~49 歳)の血中 testosterone 値は平均 518 $\mu\text{g}/\text{dl}$ である。

症例は 27 歳から 49 歳の男子不妊症 18 例及び、これと略年齢層を同じくする妊孕男子 25 歳より 43 歳の 24 例の血中 testosterone 値を比較検討した。

妊孕男子 24 例では、330~1120 $\mu\text{g}/\text{dl}$ の範囲で、その平均値は 584 $\mu\text{g}/\text{dl}$ であった。

不妊症症例の 18 例中 2 例は精路の通過障害が認められたが、他の 16 例については精子数より 3 群に分け検討した。その結果は、精子数 $4500 \times 10^4/\text{ml}$ 以下で $1000 \times 10^4/\text{ml}$ 以上の軽度乏精子症 6 例で血中 testosterone 値は平均 373 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、精子数 $1000 \times 10^4/\text{ml}$ 以下の高度乏精子症 2 例は平均 243 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、無精子症 8 例の平均は 285 $\mu\text{g}/\text{dl}$ で、このうち 5 例は明らかに正常値域下限以下であった。

これらの成績で明らかなことは、男子不妊症において

は clinical には第二次性徴を含めて男らしさ (virility) が全く正常でも、高度の乏精子症及び無精子症での血中 testosterone 値は低く、chemical には subvirility である。この事実は男子不妊症の治療方針の決定、及び治療への応用に重要な啓示となり得ると考える。

質問

玉 田 太 朗(群大産婦)

男子におけるゴナドトロピン—アンドロジエン—精子産生機序についてのお話は非常に興味深く女性にあてはめて有益な示唆を得た。アンドロジエンことにテストステロンがゴナドトロピンにフィードバックする場合、FSH と LH のどちらに対してより支配的か、すなわち低テストステロン状態でふえているゴナドトロピンは FSH と LH のどちらが優位か。

解答

われわれは、FSH、ICSH の測定を行っていないが、Heller 一派 (1970) の報告で、正常男子に testosterone を投与した場合 FSH は変動しないか、又、軽度減少するのみであるが、ICSH は明らかに減少すると述べている。

7. 脱落膜形成機序に関する研究 第一報

蜂屋 祥一・塩塚幸彦・村上 昇
小林伸比古・中島敏夫

(慈恵医大産婦)

子宮内膜の脱落膜化がいつ開始されるか、また、いかなる機序にて、その変化が惹起されるかに関して、Rat 等の動物に於ては相当に解明されつつあるが、ヒトに於ては未だ不明な点が多い様である。さらに分泌期末期に出現する、いわゆる predecidual-cell と decidua-cell との区別も明らかではない。今回、われわれは、脱落膜形成機序解明の第一段階として、脱落膜、及び、脱落膜細胞の意義を明確にし、predecidual-cell と decidua-cell との細胞レベルに於ける差異を明らかにし、さらに、脱落膜の機能を解明する為に、経時的に妊娠内膜を採取し、組織化学的検討、電顕的にその微細構造の検討を行ない、さらに分泌期末期内膜との比較検討を行なった。

研究方法。可及的 28 日周期を有する婦人の妊娠 5~12 週の脱落膜と分泌期後期内膜を採取し、光顕にては、Formalin 液又は、Helly 液固定にて、HE 染色、PAM 染色(矢島)、Gitter 染色、Masson 染色、Carnoy 液、又は、純アルコール固定にて、PAS 染色、Calloider Iron 染色を行なった。電顕的には、Glutaraldehyde、 OsO_4 による二重固定にて、微細構造を観察すると共に、Ruthenium-Red 染色 (Luft)、Colloider-Iron 染色、PAM 染色(矢島)等を行ない、電顕的組織化学的検討を行なった。

検索結果. 腺上皮では, 分泌期末期では, Mitochondria の膨化等の退行像を示すに反し, 脱落膜では, Mitochondria, Golgi 装置, ER 等の細胞内小器管の増加, 核内封入体の出現等, 機能亢進の所見が認められ, 細胞質内 Glycogen の発現, 腺腔内に PAS 陽性物質, AMPS の多量の分泌を認め, 妊卵の栄養供給という機能の一端が推定された. 間質では, 光顕的には比較的類似の形態と考えられた predecidual-cell と decidua-cell の微細構造に大きな差異を認め, decidua-cell では, 細胞内小器管の増加, 核内封入体, cell-coat の出現, 基質の Collagen 線維, AMPS の消長より, その経時的変化と機能亢進の所見が認められた.

質問 室 岡 一(日本医大第2産婦人科)

習慣性流産ことに妊娠3カ月前の例は診療に困難を感じるが多いが, このような症例の黄体期の内膜像あるいは流産時の脱落膜所見が正常と異なる所があるか.

解答

1) 現在切迫流産の脱落膜を組織化学的及び電顕的に検討した例が一例あるが流産時の脱落膜の変化は, その変化が流産の原因となつたのか, すなわち primary にその変化が起つていたのか, それとも流産という現象により secondary に起こつたのか判定がむずかしい.

2) 習慣性流産患者の黄体期内膜はまだ検討していない.

8. 卵胞の発育動態よりみた卵巣周期について

渡辺行正・竜宮敏郎・平野靖雄
(慈恵医大)

卵巣周期の内分泌システムについては既に確立された感があるが形態面においてはなお未分明の点が少なくない. たとえば卵胞のライフ・サイクル, 排卵のメカニズム, 黄体の起源論等その何れも今日未だ決論づけられていない.

この点の解明には是非とも原始卵胞より排卵卵胞に至る卵胞の発育成熟過程に対し生態学的把握を行うことが肝要と思われ, いわゆる卵胞の発育・閉鎖動態の形態的把握を中心として一個の卵巣内における多数の卵胞群の生物個体群としての動きを分析することが重要と考えられる.

かかる観点から私共は卵胞の動態に対し形態面よりの把握を試み, その一部については既に報告済みであるが, 今回は既報成績より得られた卵胞形態面よりの卵巣周期につき些か私見を述べ批判を得たいと思う.

卵巣内卵胞に対する生態学的観察の重点は 1. 対象となる卵胞の実態調査, 2. 卵胞個体群のおかれている環境調査即ち卵巣間質, 3. 卵巣の外部環境調査, この場合は

各種ホルモンの影響等であつて, これら観察所見を総合して始めて卵巣の実態を知ることができるわけである.

まず観察目標の第1である卵巣内卵胞の実態調査の上で興味のある点を略記すれば,

1) 卵胞の発育と閉鎖は相互関連下に行われる如く, 卵胞各型(パターン)に夫々対応する閉鎖型がみとめられる.

2) 閉鎖卵胞の発現には2つのピークがみられ, 第Ⅲ, 第Ⅵ型がそのピークに当る. このことは卵胞の発育過程には安定期と不安定期のあることが想定され2つのピークに当るパターンは不安定期に相応すると推定される.

3) この事実から卵胞の発育過程には発育段階説が考えられ, 卵胞各パターンにはそれに対応する要因がありこれが満たされて始めて次のパターンへと成長すると考えられる.

4) 従つて正常卵巣周期というものは単に間脳, 下垂体, 卵巣系の内分泌システムのみで成り立つものでなく各卵胞パターンに対応する内・外要因が整つた上で行われるように思われる.

5) 排卵は原始卵胞より排卵待期状態に至る過程の成立した上でのみ行われるものである.

9. 螢光法によるハムスター受精, 分割卵子の核酸の動態に関する観察

石 田 一 夫(新潟大農学部畜産)

哺乳動物の卵子における核酸の研究は, Feulgen 反応や塩基性色素の metachromasie 反応による観察と相まつて, 紫外線吸収や螢光による生体観察も行なわれている. これらの研究は, いずれも, 家兎, ラットおよびマウスを用いて行なわれて来た. この実験は, ハムスター(*Mesocricetus auratus*) の卵管卵子について, 排卵から受精, 分割, 分化にいたる発生初期の核酸の分布とその動態を螢光顕微鏡を用いて観察したものである.

卵子は卵管または子宮から適宜採取し, Tyrode 液(Difco)中に集め, 顆粒層細胞の除去には0.1%, hyaluronidase 液を使用した. 螢光色素は acridine orange (Merck) で, 液の調製は Austin と Bishop (1959) の方法に従つた. すなわち, 生理的食塩水で20,000倍の希釈液を作り, 観察に際して, 卵子とともにスライドグラスの上に盛られた Tyrode 液に等量添加し(最終濃度, 約40,000倍)よく混合した後カバーグラスをかけて螢光顕微鏡によつて観察した.

排卵直後の未受精卵子の核は, 分裂像を呈して極体の近くにみられ, 極体にもクロマチン顆粒が認められた. これらは, いずれも強い緑黄色の螢光(DNA)を発し

た。一方、細胞質は強い橙赤色の蛍光 (RNA と mononucleotides) を示した。受精卵子において、侵入精子の核には比較的強い緑黄色蛍光がみられた。前核期において、核の蛍光は弱くなったが、細胞質にはなお橙赤色蛍光が観察された。2 分割卵子において、核と細胞質の蛍光はともに弱まった。4 分割卵子から blastocyst に発達するに従って、核は次第に小型化し、蛍光は強まるのが観察された。細胞質の橙赤色蛍光は 4 および 8 分割卵子において核の周辺に局在することが認められた。分化 8 細胞卵子および初期の blastocyst において、inner cell と trophoblast にはいずれも強い橙赤色蛍光が細胞質全域にわたって観察された。なお、卵子の核小体には蛍光はみられなかった。

特別講演

Androgen 処置動物の辺縁・視床下部刺激に対する gonadotropin 分泌について

川上正澄・寺沢 肇(横浜市大第二生理)

雌動物には女性の月経発現をも含めて発情周期が存在している。これは雄性との著しい相違点である。この発現は環境条件によつて若干の影響を受ける。しかし、その発現の鍵を握るものは卵巣と脳であり、とくに脳自体にそのリズム発現の機序が存在するものと思われる。そこで、この周期性を人工的に消失せしめたもの、即ち幼若時の androgen 処置により連続発情ラットを作り、正常周期のそれと比較した。臨床上の不妊症の治療指針となれば幸である。そこで、今回は性周期消失状態の下垂体一生殖腺系の活動を解明することを試みた。

幼若時 (5 日齢) に $50\mu\text{g}$ の testosterone propionate で処置した Wister 系雌ラット (TP ラット) が成熟後連続発情を示すことを腔スミアで確かめた後、脳内諸部位に同芯電極を慢性的に留置し手術侵襲から回復するのを待つてラットを固定器に固定することなく、無拘束の状態で電気刺激を施した。刺激は 0.1msec , 100Hz , $100\mu\text{A}$ の矩形波電流を 30 秒通電 30 秒休止の条件下で 30 分繰返し、直後採血、下垂体を摘出して、血中及び下垂体中の gonadotropin 量を radioimmuno assay 法 (Nis-mender, et al, 1968) にて測定した。その結果を次に要約する。

1) TP ラットの下垂体 FSH 量は 4 日周期を示す正

常動物のそれとほぼ同程度であるが、下垂体 LH 量は少なく、正常動物の $\frac{2}{3}\sim\frac{1}{2}$ であった。TP ラットの血中 LH, FSH 量は正常動物の基礎分泌とほぼ同程度の値を示すが、proestrus 午後の critical period 後にみられるごとき高値は認められなかった。

2) TP ラットの内側視索前野刺激は、血中 LH の増加をもたらし、血中 FSH もやや増加させる。この刺激は下垂体 LH, FSH 含量に殆んど変化を起さないが prolactin 含量は減少させた。4 日周期の動物で、この部位の刺激は全周期を通じ、血中及び下垂体中 LH を増加させ、proestrus には血中及び下垂体中 FSH も増加、更に下垂体 prolactin 量を減少させるから、TP ラットと正常動物の差を内側視索前野の刺激に対する効果の差に求めることは困難である。

3) 一方、TP ラットの扁桃核刺激は下垂体 LH 及び FSH を減少させるのみならず、血中 FSH も減少させた。また、血中 LH に対しては何ら変化を起さず、正常動物におけるこの部位の刺激が血中 LH, FSH の増加をもたらす成績と極めて対照的であった。

4) TP ラットの高馬刺激は血中 FSH を軽度増加させ、これは正常動物の estrus の日の反応に対応していた。従つて、高馬の FSH 分泌促進作用は TP ラットにおいても認められる訳である。ところが、TP ラットの高馬刺激は血中及び下垂体中の LH 増加をもたらす傾向を示し、正常動物での高馬が LH 放出に対して無変化か抑制的に働くのと対照的であった。

以上、TP ラットでは視床下部よりむしろ大脳辺縁系に正常動物との差が認められ、これは前回報告した諸実験の結果にも一致する。即ち、正常 4 日周期をもつラットでは、非発情第 2 日目、発情前期ネンブタール処置後、視床下部弓状核、内側視索上核、内側視索前野、対坐対核などは勿論のこと扁桃核の内側群の電気刺激や電気化学刺激によつて排卵が容易に誘起し得たが、TP ラットでは電気刺激よりも作用時間が長い電気化学刺激によつても、扁桃核では排卵誘起は困難であつた事実と一致する。従つて、TP ラットの連続発情動物発現には大脳辺縁系が重要な鍵を握っていると共に、正常性周期発現に対し視床下部より更に上位中枢である大脳辺縁系の役割が重要であることが言える。

第 60 回 日本不妊学会関西支部集談会

昭和 47 年 3 月 11 日

1. Ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA)

および Cysteine の排卵抑制効果

成 川 守 彦(和歌山医大産婦)

哺乳動物の排卵機序はとくに卵巢局所で未だ不明の点が多いが、近時 Espey の一連の研究は細菌性 collagenase の卵胞内添加により、家兎で自然に近い排卵状態の惹起をみている。この現象に関連して本研究は逆に該酵素の抑制物質といわれる Ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA) 及び cysteine を gonadotrophin 投与による過剰排卵鼠に投与し、排卵に如何なる影響を与えるか観察し、興味ある結果を得た。すなわち幼若鼠に PMS で前処置し HCG を与えると過剰排卵がおこり、約 20 時間後に排卵は止む。この HCG 投与後 12 時間以内に EDTA 及び cysteine を投与すると排卵数の実測から著明な排卵数の減少をみた。また組織学的にも対照群に比し、これら処置卵巢には明瞭に閉鎖黄体が多くみられた。尚本実験の検討のため、EDTA, cysteine と同じ PH の塩酸液や、他のアミノ酸として alanine 及び glutamic acid を用いたが、対照の gonadotrophin 投与群に比べ有意差は認められていない。

2. 精囊腺の組織化学的研究：第 1 報

楠見博紀・阿部富弥・稲垣 侑

金沢 稔(和医大泌尿器)

生後 6 週の young adult rat を用いて対照群、除率群、除率+estrogen 投与 (20g/週 3 回) 群、Estrogen (20g) 群、17-Hydroxy progesterone (17-OHPC) (20 mg) 群、Prolactin (4 u) 群、Testosterone (1 mg) 群 (いずれも週 3 回投与) の 7 群について負荷第 1, 2, 3, 4, 6, 8 週における精囊腺の重量変化ならびに組織化学的变化を検索した。組織化学的方法はいずれも Nachlas 法により TCA cycle の SDH, Embden-Meyerhot 系の LDH, Warburg-Dickens 系の G-6-PDH について染色した。

重量変化は無処置群では週齢 10 週までは 500mg 前後で漸次増加し、週齢 14 週で 1000mg を越えるが、Testosterone 群では負荷 1 週で約 1000mg となり、週齢 12 週で最高の約 1900mg となつた。Prolactin 群でも Tes-

tosterone 群と同様の傾向を示すが、最高は約 1300mg であつた。除率群、除率+Estrogen 群、Estrogen 群では負荷 1 週後より著明な重量減少をみた。

17-OHPC 群では負荷 1~4 週では無処置群をやや上廻る重量変化を示したが、6~8 週後には女性ホルモン群と同様の下降傾向を示した。脳下垂体摘除の影響をみたところ Testosterone 群のみがその重量増加をみ、他群では負荷 1 週後で著明な減少をみた。精囊腺と同じくホルモンの影響を受ける前立腺における各群の変化も全く同様の結果を得た。

組織化学的には除率群、除率+Estrogen 群、Estrogen 群で負荷 1 週後より SDH, G-6-PDH の低下をみる。17-OHPC 群は 3 週後より活性低下をみる。LDH は腺細胞よりも間質に強く、酵素活性の変動を観察するには G-6-PDH が最適のものと思われる。17-OHPC の負荷 3 週後より始まる女性ホルモン様効果は視床下部~下垂体系を介しての間接作用と副性器自体への直接作用とが考えられるが、われわれの得た脳下垂体摘除群を含めての重量変化および酵素活性変化よりみて 17-OHPC は精囊腺に対しても、前立腺におけると同様の直接作用と考えられる。今後は Fructose 代謝系も含めた検索を行う予定である。

質問

友 吉 唯 夫(京大泌尿器)

- 1) 精囊腺の重量は乾燥重量か、湿重量か。
- 2) 精囊腺そのものに glucose から fructose を生成する能力があると考えるか。
- 3) その場合、生化学的経路による他、リン酸系の介入を必要としない nonphosphorylative に経路もあると思うが。

答

- 1) 精囊腺重量は切除時そのままで分泌液も含んでいる。
- 2) 精囊腺と glucose を incubate することにより fructose が生成されたとする報告もあり、今後 fructose 代謝に関する酵素について検索する予定である。
- 3) 両面よりの検索が必要と思う。

3. Testicular feminization Syndrome の 1 例

日下尚機・江原 収・江藤勝磨
榎木 勇・水野潤二

(関西医大産婦)

男性仮性半陰陽の一つである testicular feminization syndrome 睾丸性女性化症候群 (Morris, 1953) は外見的には完全な女性であるが、睾丸を有するという特異な病像を示す XY-female の稀な一種であり、最近われわれはその一例を経験したので報告する。

患者は43歳の主婦で上腹部痛と下腹部の膨満感にて内科を受診、下腹部に腫瘤を指摘され本科に紹介された。生来無月経で23歳にて結婚後挙児を希望しながら今まで放置していた。両親がいとこ結婚という事である。

体型は身長153cm、体重79.5kg と強度の肥満型で、ひげ、腋毛は認められない。下腹部右に新生児頭大の腫瘤が認められた。

外陰部はやや發育不全ながら完全な女性型で陰核はむしろ小で恥毛を欠如していた。膣は盲端に終り子宮は触知されず、上記の腫瘤を膣端の右上方に触れた。

昭和46年11月11日本院入院。血液検査では特に異常は認められなかったが、尿中17-KS が高く17-OHCS は低く、Estrogen は不定ながら低値を示し、LH は1400iu 以上の高値であり、脂質係数はすべて低値を示した。

頰部スメアの Sex-Chromatin は陰性で、かつ末梢血培養により染色体は46XY と判明し、Quinacrine 法により Y-body も明らかに検出された。

12月6日に開腹したが、子宮は認められず、索状物が横走し、その右側は新生児頭大の Seminoma に、左側は精巣と輸精管に連なっていた。術後経過は順調で、念のため抗癌剤を投与し現在経過観察中である。

本症患者の多くは無月経や不妊を訴え、ときには鼠径ヘルニアや腫瘍の発生により医師を訪れてそれと診断されるが、自験例の如く停留睾丸より悪性腫瘍の発生することがよく知られており、単に半陰陽とか不妊症などの診断を下すのみでなく、去勢手術の必要性を看過してはならない。

質問 久保 健 太 郎

開腹時腫瘍の良性、悪性の判断はむずかしいと思うが、この点何かご教示願いたい。

答

一般に睾丸性女性化症候群の患者に於ては性腺から悪性腫瘍の発生する頻度が非常に高いので第二次性徴完成後には両側性腺の剔出を行なうことを原則にしている。本例はすでに43歳で片側が充実性の腫瘍で悪性化を強く疑わしめていた例であり対側と共に剔出した。

質問 石 神 襄 次(神戸大泌尿器)

腹腔内にある睾丸は悪性化を考えて剔出している。また、この場合 Seminoma であったようだが、腹水の所見はどうか。また Seminoma は放射線に感受性が高いので治療には放射線が良いように思う。

答 榎 木 勇(関西医大産婦)

開腹時に認められた腹水については単に充実性腫瘍の腹膜刺激によるものだけではないと思われるが、腹水スメア所見では悪性細胞を見出せなかった。

質問 一 戸 喜 兵 衛(和歌山医大産婦)

この tumor について染色体のカリオタイプについて検索されたか。というのは悪性かどうかと云うことの何か Indicator となるものがあつたかどうか。Disgerminoma は悪性度が分類から云うと中間群と云うことになっているが染色体上では私の知っている限り全て malignant なものである。染色体学的な検索がその Indicator となるならばやってみる必要があると思う。

答 榎 木 勇(関西医大産婦)

今回は腫瘍細胞の染色体検索の機会を失したが、Disgerminoma は一応中間型に分類されているが実際にはかなり悪性経過をとる。

4. 性染色体構成 XXY の hypogonadotropic hypogonadism

小松洋輔・友吉唯夫・岡田謙一郎
(京大泌尿器)

46歳、表現型男子で47XXY という Klinefelter 型の核型を示し、gonadotrophin 単一欠乏症がある hypogonadism の一例を報告した。身長171cm、やや肥満型の類宦官体型で陰茎は小さく小児様で、二次性徴の発現はみられない。女性乳房(一)、知能障害はなく眼科的、耳鼻科的に異常はない。両側睾丸は小指頭大以下で組織学的には精細管、間質の發育は未熟で精細管壁の硝子化変性はなく、管腔内には精祖細胞系の精細胞を認めず、幼若な Sertoli 細胞系の細胞から成つていた。内分泌学的には serum FSH 2.5miu/ml, serum LH 4 miu/ml 尿中総 gonadotrophin 3単位以下/日、尿中総17-KS 5.4~7.0mg, plasma testosterone 低値で測定不能。HGH, ACTH の欠乏はない。甲状腺機能正常。

指掌紋分析で指紋の総隆線数119、掌紋の a-b 総隆線数65と低値を示した。腕交叉線の高さ総 atd 角度には異常はなかった。

5. 卵管線毛運動の生理的意義

山 田 文 夫(大阪市大産婦)

自動性を もたない 卵細胞の 卵管内移動について筋肉

説、線毛説、折中説などがいわれ卵下降にはある程度線毛運動が関与することがつとに指摘されていた。しかし一部動物で上行性線毛流が発見され、これら上行流は精子上行に役立つと考えられたが、山田の Rana における上行流の発見から比較生理学的にみて上行流は卵廻転に役立つと考えられるに至った。更に山田の Bufo での研究から線毛は egg-jelly coating に役立つと考えるが妥当との結論に達した。

6. ラット受精卵の家兎生殖器官内における生存性特に着床直前までの形態的变化について

角田幸生・入谷 明・西川義正
(京大農)

目的：演者らは第59回集談会でラット卵の家兎生殖器官内における生存性は卵の日令および培養部位により異なることを報告した。今回は更に培養時間を延長してこれを確認するとともに zona free blastocyst (z.f.b.) までへの各 stage ごとの発育過程を検討し、またその際、得られた胚盤胞および z.f.b. の直径および面積を測定することによって着床の可能性を検討した。

方法：ラットの生殖器官を交尾後所定の時刻に灌流して各日齢の卵を採取し、これを排卵期を同期化した偽妊娠家兎の生殖器官に移植し、1～4日後回収して卵の分割状態を調べ、YASUKAWA 等の法に従って胚盤胞および z.f.b. の長径、短径、比および面積を測定した。

結果：(1) z.f.b. までへの発育：1細胞卵は卵管および子宮とも2細胞以上には発育しなかつた。2細胞卵は卵管で96時間後ごく一部が z.f.b. に発育したが、子宮では4細胞以上にはならなかつた。4細胞卵は卵管および子宮とも発育は全くみられなかつた。8細胞卵は卵管では48時間後の回収卵30個のうち3個が、72時間後の回収卵10個のうち3個が z.f.b. であつた。子宮では48時間後の回収卵24個のうち5個が、72時間後の回収卵11個のうち10個が z.f.b. であつた。桑実胚は卵管では48時間後の回収卵18個のうち5個が、72時間後の回収卵10個のうち3個が z.f.b. であつた。子宮では48時間後の回収卵13個のうち8個が、72時間後の回収卵20個のうち17個が z.f.b. であつた。

(2) ラット卵の形態的变化：8細胞および桑実胚より得られた胚盤胞および z.f.b. の直径および面積は培養時間とともに漸次増大したが長径と短径の比はほとんど変化しなかつた。

考案：以上の結果よりラット卵の家兎生殖器官内における着床の可能性は充分考えられる。この点を明らかにするため、現在更に培養時間を延長して、ラット卵の回収を行なうとともに pontamine blue および透明化処理

方法により着床部位を組織学的に検索中である。

質問 一戸 喜兵衛(和歌山医大産婦)

子宮の内膜でラット卵がどれくらい生存出来るか。

答 角田 幸生(京大農学部)

本実験の結果を正常なラットの妊娠にてらして見ると着床前約6時間前の状態であろうと推察される。

7. 人子宮内膜における Athrocytosis, Mast cell に関する研究 I

ト 部 宏(日本パプテスト病院産婦)

ある細胞が陰性コロイド様物質をその細胞質内に顆粒の形で吸収固定する現象を Athrocytosis と言う。Athrocytosis (Ath) に関して以前ラットについて妊娠初期、偽妊娠および Deciduoma 形成期などにおける Ath, mast cell の動向に関する研究報告をした。

今回は人における着床期子宮内膜に関する Ath, mast cell を研究する目的で子宮内膜に異物(墨汁、コバルトグリーンボールなど)を注入する器具を考案した。これを用いて手術予定の子宮内膜を利用して注入物質の動向を検索した。術前3日に10%の墨汁を0.01cc 子宮内膜内に注入した2例について報告した。月経第25日と月経第8日の子宮筋腫の為に子宮摘出を行なつたものを用いた。墨汁注入部位の肉眼的所見は2例とも差異はなく想像していた部位に墨汁が入っていた。子宮内膜は1部はカルノア固定に、1部は圧搾標本による内膜細胞診として利用した。

両方の標本によつて Ath. は確認出来たけれど月経周期における Ath. の変化は現在の所不明である。

mast cell については子宮内膜中の肥満細胞は圧搾標本においては認められたけれど、カルノア固定標本では確認出来なかつた。またカルノア固定標本では筋腫に mast cell を認めたけれど圧搾標本による mast cell と形態的に差を認めた。

8. Clomiphene Citrate による男性不妊症の治療

守殿貞夫・田中邦彦・石神襄次
(神戸大泌尿器)

1964年 Jungck, E. C. 他, 1966年 Mellinger, R. C. 他および Raymond C. Mellinger 他, 1967年 Karla, S. P. 他および Mrousch A. 他等は男性不妊に対して Clomiphene Citrate を投与し、その臨床効果を検討し報告している。しかしながら Clomiphene Citrate の男性不妊に対する効果は一定した結論に達していない。私達も乏精子症13例、無精子症1例に Clomiphene Citrate を使用し、その後精子数に関して臨床効果を検討した。Improved 4例、No change 8例および Worse 2例で

あつた。有効率は約30%であつた。われわれのデータは1970年 Z-Palti が報告した有効率47%に比し治療成績は不良であつた。Y. Palti は Clomiphene Citrate の臨床効果と投与量、投与日数の関係を追求し、50mg/day、60日間の投与群が精子数に関し好結果を得たと報告している。私達の臨床結果をふり返つてみると、症例数が少ないので結論を出しえないが50mg/day を比較的長期にわたつて投与した症例に改善を認めている点、Z. Palti の所見と一致し興味深い。今後更に長期投与を行ない症例を加え結果を検討したい。本剤と Pituitary gonadal axis との関連性については既に多くの報告がみられる。C. Wayne Bardin 他、Z. Palti, Carl 他、G. C. M. Guragille および Raymond C. 他等は男性に本剤を投与し、尿中、血中の Total Gonadotrophin, L. H. あるいは F. S. H. を測定し、Total G., L. H あるいは F. S. H. の上昇を認めている事より彼等は本剤投与により Gonadotrophin Releasing Factor が増強され、その結果、内因性 Gonadotrophin 値が上昇すると考えている。われわれは尿中 Total G. を測定したが、症例が少ない為本剤投与の Gonadotrophin に対する影響については結論的な事はいえない。今後症例数を増し検討する。

質問

山口 竜 二(奈良医大)

Clomiphene 投与によって改善された例と悪化した例が少なく no change が多いのは測定又は他の理由による誤差のための正規分布的変動ではないか。Clomiphene を用いない control でそのような変化はなかつたか。

答

守 殿 貞 夫(神戸大泌尿器)

われわれの採用した乏精子症例は $15 \times 10^6/cc$ 以下であるので 10×10^6 以上の増加は意味あるものと考え。

質問

山口 竜 二(奈良医大)

Clomiphene によつて悪化した例をどう考えるか。又、精子数を ml 当りで表現するよりも1回射精液中の絶対数で表現するのが妥当ではないか。

答

守 殿 貞 夫(神戸大泌尿器)

Clomiphene により prostate と seminal vesicle fluid は増加するようである。又精子は現在 per cc で表現するのが一般的である。

質問

友 吉 唯 夫(京大泌尿器)

1) Clomiphene 投与で尿中 gonadotrophin 値が上昇しているが、投与を中止しても持続するものか、つまり trigger 的効果が期待出来るか。

2) Clomiphene の睪丸に対する直接作用は全く考えなくてもよい。

答

守 殿 貞 夫(神戸大泌尿器)

Clomiphene 投与中止により plasma LH, plasma

FSH は下降する。又 Clomiphene の睪丸への直接作用は現在の所検討していない。

9. LH-Releasing Hormone および類似 Peptide の生物作用について

谷 沢 修・深田信之・小林彌仁

南川淳之祐・青野敏博・倉智敬一

(阪大産婦)

LH-Releasing Hormone (LH-RH) の化学構造が Schally 一派により決定された昨年来われわれも synthetic LH-RH および類似 Peptide の LH, FSH 放出作用を検討してきた。今回 LH-RH, [Phe³]-LH-RH, [Phe⁵]-LH-RH, [Lys⁶]-LH-RH, Des-Gly¹⁰-LH-RH, Des-(7-10)-LH-RH および LH-RH-Zn Complex を去勢雌ラットに投与し LH, FSH の血中レベルを NIAMD より提供された Rat, LH, FSH Radioimmunoassay 系を用いて測定した。投与法は静注、皮下注に関係なく、分後に血中 LH, FSH 濃度が最高値を示し急速に低下した。投与量は1~5 μg で有効、1 μg で24.3倍となつた。FSH の増加は不明確であつた。Des-(7-10)-LH-RH は活性がなかつたが、類似 Peptide はすべて40~80%程度の LH-RH 活性を示し、Decapeptide の全構造が必ずしも必要でないことを知つた。Zn Complex も作用は強く持続した。

質問

久 保 健 太 郎

L. H. Releasing factor hormone の概念についてご教示願いたい。

答

谷 沢 修(阪大産婦)

Releasing Factor と云う呼び方が従来行なわれてきたが、Schally 一派が Hormone の概念にあてはまるものとして Releasing Hormone を提唱した。将来は Releasing Hormone の方が用いられるものと考え。

質問

久 保 健 太 郎

LH Releasing hormon には色々なものがあるらしいがこれが自然にどう云うふうに関与して局在しているか。

答

谷 沢 修(阪大産婦)

視床下部の homogenate LH Releasing 活性はかなり以前から確認されている。

質問

久 保 健 太 郎

以前、倉智らが視床下部から活性アミン(カテコールアミン etc.)を抽出され、それが Releasing factor 様の作用をもつていると云われた。又群馬大学では polypeptide 又はポリサッカライド様物質を抽出していると聞いているが……

答 倉 知 敬 一(阪大)

カテコールアミンは下垂体単独と incubate した場合には gonadotrophin 分泌促進作用はない. hypothalamus と一緒に incubate した場合に限つて, これが認められる. このことから私はカテコールアミンが Releasing factor そのものであるとは考えておらず neurotransmitting factor としての意義をもつものと考えている.

10. 卵巣の aging に関する 2, 3 の知見

横田栄夫・出口信幸・小倉 和子

馬淵義也・池田武司・一戸喜兵衛

(和歌山医大産婦)

西 村 正 彦(和歌山医大生理)

老化によるヒト卵巣の機能停止は gonadotrophin 分泌機構の老化にともなう破綻以前におこるらしいことを裏付ける多くの報告があるが, この卵巣の老化による上位中枢への刺激で gonadotrophin の異常な分泌昂進がおこるに拘らず, なぜ target である卵巣が全く非感受性に退化するのかという imbalance な現象に関連して, われわれはいくつかの問題を追求している.

(1) マウス (C57BL/6J 系) による脾内卵巣移植実験

a) メス成熟マウス (100~200日齢) の去勢によつておこる豊富な gonadotrophin のもとで脾内に老齡マウス (450日~500日齢) および上記成熟マウスの卵巣を並列に同系移植し, 同じ gonadotrophin 条件下での変化を比較した.

移植 3~5 週の成熟マウスの卵巣は卵胞の著明な肥大と旺盛な内荳膜細胞の動きにともなう黄体化を認めた.

しかし老齡卵巣では移植前からの変性も著しいが, 中等度卵胞があつても黄体欠如は勿論, 卵胞發育に関して感受性はきわめて弱い.

b) 次にメス去勢老齡マウスの脾内に成熟マウスの卵巣を移植し, 老齡マウスの gonadotrophin 分泌状態について検討した. この去勢老齡マウスはすでに妊孕性を喪失する400日齢を遙かにこえた500日齢以上のものであるが, 移植3週を経た卵巣には成熟卵胞の肥大や内荳膜細胞の肥大をみとめた. しかし黄体化は明瞭ではなかつた.

以上, メス動物ではきわめて老齡でも上位中枢は negative feedback に応じうるしくみが維持されているが, その卵巣は gonadotrophin に対して反応性を全く失つている.

(2) 老齡マウスの卵巣剔除と, これに対する成熟卵巣の orthotopic graft が及ぼす影響: C57BL/6J マウスの lifespan はわれわれの飼育条件下では平均550日齢程度であるが, 妊孕期がすでに終つた老齡マウスに移植して成功した群では, 移植してまもなく腔周期は恢復し, 交尾し腔栓をつくる. 更に約150日以上も経過して, 580日~630日齢の甚しい高齢に達してなお交尾による腔栓がみられるばかりでなく実に601日齢という高齢で妊娠, 分娩 (4仔) を行なつた例もみられた.

以上は lifespan をはるかに越える老齡でも上位中枢はステロイド情報に反応しうる内分泌機構を保持していることを示すばかりではなく, 卵巣さえ若くなれば生殖器は完全に復旧して生殖機能も復活することが証明された.

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、特に号数を必要とする場合は巻数と頁数との間に括弧で囲む。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 17巻3号

昭和47年6月25日印刷

昭和47年7月1日発行

編集兼者 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