

Japanese Journal of Fertility and Sterility

July 1973

日本不妊学会雑誌

第 18 卷

第 3 号

昭和 48 年 7 月 1 日

—— 目 次 ——

原 著

切迫流産の予後判定について——HCG 半定量および Vaginal Cytogram

の併用法による比較検討——……………西 川 義 雄・他… 1

不妊患者の結婚年齢、既往妊娠に関する統計学的考察……………植 村 次 雄・他… 4

OVULATORY RESPONSE OF HUMAN CHORIONIC

GONADOTROPHIN AND PREGNANT MARE'S

SERUM GONADOTROPHIN IN JAPANESE WHITE

RABBITS……………Y. Ishijima, 他…14

家兎胞胚の 2, 3 の所見、主として Moog 法を利用した成績について…岩 城 章・他…19

Wistar-Imamichi rat の性周期における時間経過と HCG

および PMSG による排卵誘起の関係……………信 永 利 馬・他…25

高齢未経産マウスの繁殖能力……………北 徳・他…32

男子不妊症における精路 Dyskinesia ……………一 条 貞 敏・他…41

不育症患者夫の精子 D.N.A の検討……………山 田 昌 夫・他…47

地方部会抄録(関西、北海道)

総会および学術講演会 予告 (最終回)

第 18 回日本不妊学会、総会および学術講演会は下記の要領にて開催されますので御参加下さい。

開催期日 昭和48年10月26日(金) 27日(土)

開催会場 愛知県勤労会館 名古屋市昭和区鶴舞町 43 の 1

役員会 昭和48年10月25日(木)午後
名古屋観光ホテル 名古屋市中区錦 1 の19の30

総懇親会 昭和48年10月26日(金)午後の講演終了後
ホテル ナゴヤキャッスル 名古屋市中区樋ノ口町 1 の15

学術講演会 I. 特別講演

「生殖生理研究のための実験モデルとしての霊長類」

日本モンキーセンター 田 中 利 男

II. シンポジウム

1. 「性腺の機能とその検査」

A. 産婦人科領域

座長 大阪大産婦 倉 智 敬 一

1) 下垂体卵巣系の機能とその検査 東京大産婦 水 口 弘 司

2) 多嚢胞卵巣のステロイド代謝と診断 大阪大産婦 宮 崎 正 敏

〃 青 野 敏 博

3) 卵胞成熟、排卵の病態とその検査 群馬大産婦 五 十 嵐 正 雄

〃 根 岸 正 勝

〃 中 村 淳

B. 泌尿器科領域

座長 山口大泌尿 酒 徳 治 三 郎

1) 下垂体睾丸系 札幌大泌尿 熊 本 悦 明

2) 睾丸のステロイド生成 横浜市大泌尿 穂 坂 正 彦

3) 精子形成能 東京医歯大泌尿 根 岸 壮 治

2. 「流産の成因と治療の限界」

A. 産婦人科領域

座長 名古屋市大産婦 八 神 喜 昭

1) 卵の異常 (仮題) 慶応大産婦 鈴 木 秋 悦

2) 着床の異常 (仮題) 神戸大産婦 林 要

3) 免疫学的に (仮題) 新潟大産婦 高 橋 威

追加発言 愛知医大産婦 伊 藤 祐 正

B. 家畜領域

座長 農林省家畜衛生試験場 山 内 亮

1) 細菌感染による流早死産

三重県中勢家畜保健衛生所 喜 多 英 治

2) ウイルス感染による流早死産

農林省家畜衛生試験場 藤 崎 優 治

3) 昭和47年秋、西日本に多発した牛の異常産

宮崎大農学部 野 坂 大

Ⅲ. 一般演題

演題申込

締切：昭和48年7月31日.

資格：本学会会員に限る.

方法：本学会誌4月号に挿入の所定用紙を使用し，書留郵便で郵送して下さい.

その他：本学会誌4月号の第2回予告をご覧ください.

参加申込

本学会誌4月号に挿入の振替用紙に諸事項御記入の上，お近くの郵便局にお申し込み下さい．尚，総懇親会参加申込みも，同一用紙になっています．いずれも締切は昭和48年7月31日です.

宿泊・観光

本誌に挿入されている用紙で早目に交通公社にお申し込み下さい.

学会事務局

〒463 名古屋市守山区大字森孝新田字元補11番地

愛知医科大学付属病院産婦人科内

第18回日本不妊学会総会会長

TEL 052 (772) 2311 代表

渡辺金三郎

第18回 日本不妊学会 総会

宿泊及び観光のご案内

昭和48年10月名古屋市中で首記大会が盛大に開催されますことを心からお祝い申し上げます。
つきましては、学会参加の市内宿泊および学会終了後、観光のお取扱いを早目にお申込みくださるようご案内申し上げます。

1. 宿泊のご案内

◎宿泊料金・種別

ホテル(部屋料のみ、税金・サービス料別・食事別)

A級(シングル・ルーム)	2,800~3,600円
B級(ツイン・ルーム)	5,000~7,000円
C級(シングル・ルーム)	2,400円(ビジネスホテル・風呂付)
D級(ツイン・ルーム)	3,200円(ビジネスホテル・風呂なし)

旅館(1泊2食付、税金・サービス料含む)

E級(1室あたり3人~4人) 3,500円(個室希望の方は30%程度料金割増)

◎宿泊予約金その他

宿泊お申し込みの方は予約金としてお一人一泊につき **1,000円** を現金書留にて申込書と同時に送付下さい。宿泊予約金は精算の際に差し引かせていただきます。なお宿泊予約金のうちより、お一人につき100円を通信事務費として充当させていただきますので予めご了承下さい。

◎お申し込み締切日 昭和48年10月5日

お申し込みいただきました方には10月10日頃に、宿泊予約金領収書とホテル、旅館名を兼ねた「宿泊予約券」をお送り致します。

◎その他お願いについて

ご都合で取消し変更をなさる場合は至急ご連絡下さい。取消しの場合10月10日までに申し出のあった場合に限り、予約金をお返しいたします。(但し、返金に伴う通信実費は差し引かせていただきます。)

2. 観光のご案内

◎予約金

観光参加ご希望の方は、申込書と同時に、お一人につき予約金 **2,000円** を現金書留にてお送り下さい。

◎申込締切日 昭和48年10月5日

各コース共、満員になり次第締切らせていただきますのでお早目にお申込み下さい。

また、各コース共30名以下の場合は催行を中止させていただきます。その際お申込みいただきました方の予約金は全額お返しいたします。

◎お取消しの場合10月10日までに申し出のあった場合に限り予約金をお返しいたします。

◎観光コース(全行程貸切バス)

Aコース(1泊2日、会費、11,000円 募集人員 100名)

10/27(土) 名古屋 TV 塔下(17:00)~岐阜長良川河畔(泊)

10/28(日) 岐阜(9:00)~“国盗り物語”コース~明治村~名古屋駅(17:00)

Bコース(1泊2日, 会費, 12,500円 募集人員 50名)

10/28(日) 名古屋 TV 塔下(9:30)~松阪~伊勢神宮~鳥羽(泊)

10/29(月) 鳥羽~真珠島~鳥羽~~~~伊良湖~国鉄豊橋駅(15:40)

Cコース(日帰り・会費, 3,000円・募集人員 100名)

10/28(日) 名古屋 TV 塔下(9:30)~田県神社(男の神様)~姫の宮神社(女の神様)~
~明治村~名古屋駅(16:30)

3. お申込み先と取消し, 変更の連絡先

〒450 名古屋市中村区広井町2-54 交通ビル7階

日本交通公社団体旅行名古屋支店大会係

TEL (052) 581-1525

第18回日本不妊学会総会宿泊及び観光申込書

申込代表者		氏 名				所 属			
		連絡先					電 話		
宿 泊	氏 名	性 別	宿 泊 日			宿泊種別(A～E)		予 約 金	備 考
			10/25	10/26	10/27	第1希望	第2希望		

	コ ー ス 別	氏 名	性 別	年 齢	連 絡 先	電 話	予約金
観 光	A・B・C						
	A・B・C						
	A・B・C						
	A・B・C						
	A・B・C						
	A・B・C						
	A・B・C						

日本不妊学会会員殿

日本不妊学会

第8回 世界不妊学会議のご案内

開催期日 1974年11月3日(日)～9日(土)
開催地 ブエノスアイレス, アルゼンチン
公式語 スペイン語, 英語, フランス語, ドイツ語

CONGRESS AUTHORITIES

ORGANIZING COMMITTEE

President :

Dr. Héctor J. Peña

Vice-President

Dr. Enrique P. Bagnati

Secretary General :

Dr. Roberto Nicholson

Treasurer :

Dr. Roberto Inza

SCIENTIFIC COMMITTEE :

Scientific Programme

Coordinator :

Dr. Armando Mendizábal

Dear colleagues :

It is indeed a great honour for me to invite you to participate in the VIII World Congress on Fertility and Sterility to be held in Buenos Aires from November 3 through 9, 1974.

The Organizing Committee is making every effort to ensure the success of this Congress which will make known to the world the progress attained in our specialty during the last few years, and will offer all participants a most comprehensive view of our activities in the field as regards research, clinical practice and treatment.

Besides its outstanding scientific programme, our Congress will also include a wide social and tourism programme which will help the participants and associates to enjoy what Buenos Aires has to offer in the way

of interest and entertainment, as well as to see many places of beauty of the interior.

It is my wish that we may realize a Congress which may give us the final positive balance of many scientific and spiritual achievements.

After this, our first contact, I shall be pleased to keep you further informed about any developments in the organization of this important international Congress.

TRAVEL INFORMATION

CONINTER S. A., with offices at Reconquista 533, Buenos Aires, Argentina, has been appointed Official Agent for the VIIIth World Congress on Fertility and Sterility, which will take place in Buenos Aires from 3rd to 9th November, 1974. Coninter has been entrusted with all tourism services, hotel reservations, reception and transfer of delegates and all social events planned for the week of the Congress.

The delegates attending this Congress will have the opportunity to take advantage of pre-and post-Congress tours, such as the famous Iguazú Falls, the beautiful chain of Southern Lakes, Mar del Plata, the most attractive beach on the Atlantic Coast, the lovely scenery of the Northern Provinces, and Peninsula Valdés, with the exciting excursions to the penguin and sea-lion colonies and to the only continental sea-elephant settlement in the world.

The City of Buenos Aires, where the Congress will take place, is the largest

Spanish speaking city and one of the ten largest in the world. To all this we can add the traditional Argentine hospitality.

Due to the large attendance to the VIIIth International Congress on Fertility and Sterility and taking into consideration the importance of the subjects to be presented and discussed in Buenos Aires, and in order to avoid any difficulty with regard to hotel accommodations, CONINTER S.A. has booked over 2000 rooms in selected hotels of the City of Buenos Aires.

For a better planning of the Congress, a Package Tour has been drawn up on the basis of four categories of hotels, including accommodation during seven nights and transfers to and from hotels.

BASIC PROGRAM

- Meeting at Ezeiza International Airport, Port, Aeroparque (local airport), Railway Station, Bus Terminus, etc., and transfer to hotels.
- Hotel accommodation for seven nights in rooms with private bath-rooms.
- Transfer from hotels to Ezeiza International Airport, Port, Aeroparque (local airport), Railway Station, Bus Terminal, etc.

General Conditions

Transfers will be provided in private cars with bilingual guides; tips are included for portorage at airports, etc. on arrival and departure.

Hotel accommodation for seven nights in rooms with private bathrooms, including service charge and tax, no meals.

PACKGE-7 NIGHTS

Price per person	Double Room U\$S	Single Room U\$S
Hotel		
Category "A"		
Sheraton, Claridge, Plaza and Presidente	127,00	217,00
Category "B"		
Lancaster, Buenos Aires and Washington	91,00	145,00
Category "C"		
Columbia Palace and City	70,00	106,00
Category "D"		
Savoy and Orly	61,00	89,00

During the week of this Congress a social program for the delegates and their parties has been prepared, which includes a city sightseeing tour, excursion to Tigre and Delta del Paraná, as well as a visit to a typical Argentine "estancia" and Tango and Folklore shows.

For the ladies accompanists a varied program has been specially prepared, which includes a fashion show, visit to museums, ateliers of some of our famous painters, visits to leather manufacturers, etc.

NOTE

The prices indicated above are subject to variations and will be confirmed in November 1973, a year before the Congress takes place. No important fluctuations are expected and if the world monetary situation does not vary, the increase will probably not exceed 10 %.

OGFICIAL CARRIERS

- Aerolineas Argentinas
- Lufthansa
- Olympic Airways

OFFICIAL TOPICS OF THE SCIENTIFIC PROGRAM

1. Immunology aspects of reproduction.
2. New developments in the neuroendocrinology of reproduction.
3. Fertilization and early embryonic development in vivo and in vitro including genetic and exogenetic factor to the early embryonic development.
4. New developments in fertility control.
5. Male fertility.
6. Recent progress.
7. Mechanism of action of hormones.
8. Psychology and social approaches to human reproduction including acceptability of fertility regulation methods.
9. New technical developments in therapeutic and diagnostic procedures.

演題提出, 発表ご希望の先生方は, その旨を事務局へ申し出ると用紙が送られてまいります。(ICIC が連絡を代行しています).

登録費

1974 年 3 月 31 日迄, 1974 年 4 月 1 日以降

会 員 US\$ 100 US\$ 120

同伴者 US\$ 50 US\$ 60

※ 登録に関しては, Form A にて, 開催事務局へ送ります.

この件は, 国際会議情報センター (ICIC) が全て代行しています.

取 消 1974 年 6 月 1 日以降の取消しについては返金ありません.

ホテルの予約 Form A にて予約するのですが, シェラントホテル又は, プレジデ

ントホテルをまとめて, ICIC が予約中です.

会議出席旅行 国際会議情報センター (ICIC) で 3 案企画していますので, ご希望の先生方は, ご利用下さい.

申込, 資料請求は

会議取扱い代理店

—国際会議出席のコンサルタント—

国際会議情報センター

〒 101 東京都千代田区内神田 3-20-7

神田駅前アツミビル 4 階

Tel. 03-256-9061

CONTENTS

Comparative study on prognosis of threatend abortion with the use of deep cell rate in vaginal cytogram and urinary gonadotropin titer	
.....Y. Nishikawa, M. Saito, K. Ueha & Y. Himeno	1
Statistical studies of infertile women on marriage-age and history of pregnancy.....	
.....T. Uemura, T. Koozaki, Y. Shiojima, N. Suzuki & K. Yoshikawa	4
Ovulatory response of human chorionic gonadotrophin and pregnant mare's serum gonadotrophin in Japanese white rabbits.....	
.....Y. Ishijima & M. Kubomichi	14
Some observations on the rabbit blastocysts—especially using of Moog's flat-mount technique.....	
.....A. Iwaki, S. Hirakawa, C. Tamiya, N. Shimizu, T. Kurosawa, T. Jo, S. Yonemoto & A. Nozawa	19
Changes in the response to HCG and PMSG induced ovulation during various phases of a 4-day estrous cycle in Wistar-Imamichi rats.....	
.....T. Nobunaga, M. Okamoto & K. Takahashi	25
Reproductive performance of aged female mice.....	
.....M. Kita & T. Ino	32
Male infertility due to dyskinesia of the conduction system of the semen.....	
.....S. Ichijo, I. Imamura, J. Yokoyama & K. Kuroda	41
The study of the DNA content in human spermatozoa.....	
.....M. Yamada & M. Noguchi	47

切迫流産の予後判定について

—HCG 半定量および Vaginal Cytogram の
併用法による比較検討—

Comparative Study on Prognosis of Threatend Abortion with the Use of Deep Cell Rate in Vaginal Cytogram and Urinary Gonadotropin Titer

奈良県立医科大学産婦人科学教室（主任：山口龍二教授）

西川 義雄 斉藤 守重 上羽 捷之
Yoshio NISHIKAWA Morishige SAITO Katsuyoki UEHA

（附属奈良病院中央検査科）

姫野 好男

Yoshio HIMENO

Dep. Obst. Gynec., Nara Medical Univ.
(Dir: Prof. R. Yamaguchi)

73例の切迫流産患者について、vaginal cytogram のうちの deep cell の出現率と、尿中 HCG の半定量法によつてその予後を追求した。

尿中 HCG の半定量では10倍以上尿を稀釈し陽性を示した場合予後がよく、86.8%も妊娠が継続（妊娠32週以上）した。

Deep cell の出現率が10%以下の場合69.6%が妊娠継続した。

両者を併用して予後を追求した場合、すなわち尿中 HCG が10倍以上陽性、deep cell 出現率が10%以下の場合88.4%妊娠が継続した。

すなわち、切迫流産の予後判定法として、尿中 HCG の半定量法と vaginal cytogram をくみあわせれば、臨床的に迅速かつ簡便な方法としてかなり有用であることを認めた。

緒 言

日常診療において、妊娠初期切迫流産の予後を確実に推定することは、その成因が極めて多元的であるため困難である。今日、内分泌学の進歩にともない、正常妊娠あるいは流産時の hormone の動態が比較的明らかになるに至つた。しかし、妊娠初期における病態分析および予後判定を確実にしうる簡易迅速な臨床検査方法はまだ確立されていない。

今回、われわれは、切迫流産患者について、immunoassay による尿中 HCG の半定量と vaginal cytogram（とくに maturation index）の併用により予後を追求し

一応の成果を得たので報告する。

研究対象および方法

昭和46年6月より約1年6カ月の間に奈良県立医科大学附属奈良病院産婦人科において妊娠第16週までの切迫流産徴候（性器出血、下腹部痛および子宮収縮）を認めた外来、ならびに入院患者、計73例について検討した。

尿中 HCG の半定量は、外来患者、入院患者とも早朝尿を採取し、試薬として Pregnosticon test (Organon—三共、HCG 濃度1～2 iu/ml 測定；PST test) を用いて行なつた。

Vaginal smear は、vaginal fluor を綿球で軽く除去

後、腔の上部 $\frac{1}{3}$ の側壁を小綿棒により軽く擦過し、slide glass に重複することなく塗布、Papanicolaou 染色 (EA-50) を行ない、検鏡に供した。本法による切迫流産の予後判定には、basophilic karyopyknotic index (BKI), navicular index (NI), smear index, McLennan ら¹⁾の提唱する naviculars wrinkling and clumping (NWC) score, さらには maturation index (MI)^{2,3)} など種々の基準が提示されているが、本研究では、特に正常妊娠ではその出現が認められない³⁾といわれる MI の deep cell の出現度をもつて切迫流産の予後判定基準として採用検討した。

尿中 HCG 半定量および vaginal smear の採取は外来、入院患者とも安静療法を第 1 とし、ほぼ週一回行なつた (gestagen などの hormonal therapy および cervical cerclage を行なつた症例については別報にゆずる)。なお切迫流産の原因が頸管無力症などの器質的疾患を含めて、内分泌因子以外に起因すると推定されるものは除外したが、先天性因子 (例えば染色体もしくは妊卵の異常など) はあらかじめ除外し得なかつた。

妊娠継続例は全症例とも妊娠 32 週以上継続したものである。

研究成績

Vaginal cytogram のうちの deep cell の出現率および尿中 HCG 量と切迫流産の予後との関係は表 1, 2 に示すごとくである。deep cell の出現が 9 % 以内の 56 例

Table 1. Correlation between cytologic findings and outcome of pregnancy

Deep cell %	Case No.	Term preg. (%)		Spontaneous abort. (%)	
0-4	32	24 (75)	39 (69.6)	8 (25)	17 (30.3)
5-9	24	15 (63)		9 (37)	
10-14	7	4		3	
15-19	4	2	8 (47.1)	2	9 (52.9)
20-	6	2		4	
Total	73	47 (64.3)		26 (36.7)	

についてみると 39 例 (70%) が妊娠継続し、17 例 (30%) が流産した。また、10% 以上を示した 17 例中 8 例 (47%) は妊娠継続し、9 例 (53%) は流産した。一方尿中 HCG の稀釈による半定量と切迫流産の予後の関係をみると、10 倍稀釈以内の 20 例では 1 例 (5%) が妊娠継続し、19

Table 2. Correlation between HCG dilution and outcome of pregnancy

HCG (PST)*		Case No.	Term preg.(%)		Spontaneous abort. (%)	
1×	(-)	6	0	1 (5)	6	19(95)
	(+)	5	0		5	
5-10×		9	1		8	
10-20×	37	30	46(86.8)	7	7(13.2)	
20- ×	16	16				
Total		73	47(64.3)		26(36.7)	

*PST: Pregnosticon test

Table 3. Correlation between urinary HCG dilution, deep cell per cent and outcome of pregnancy

		Deep cell per cent					Total
		0-4	5-	10-	15-	20-	
Urinary HCG dilution times	1×	(-)	$\frac{0}{1}$	$\frac{0}{3}$			$\frac{0}{6}$
		(+)	$\frac{0}{3}$	$\frac{0}{2}$			$\frac{0}{5}$
	5-10×	$\frac{1}{4}$		$\frac{0}{2}$		$\frac{0}{3}$	$\frac{1}{9}$
	10-20×	$\frac{13}{14}$ $\frac{23}{23}$	$\frac{13}{17}$ $\frac{15}{15}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{30}{37}$ $\frac{46}{46}$
	20- ×	$\frac{10}{10}$ $\frac{24}{24}$	$\frac{2}{2}$ $\frac{19}{19}$	$\frac{3}{3}$	$\frac{1}{1}$		$\frac{16}{16}$ $\frac{53}{53}$
Total		$\frac{24}{32}$	$\frac{15}{24}$	$\frac{4}{7}$	$\frac{2}{4}$	$\frac{2}{6}$	$\frac{47}{73}$
		$\frac{39}{56}$					
		Term pregnancies					
		Cases (total)					

Table 4. Results in urinary HCG dilution test and deep cell per cent

	Deep cell per cent less than 10 %		HCG dilution test more than 10-20×		Combination of two methods	
Total	56		53		43	
Outcome of pregnancy	Term preg.	Spontaneous abort.	Term preg.	Spontaneous abort.	Term preg.	Spontaneous abort.
Case No.	39	17	46	7	38	5
%	69.6	30.3	86.8	13.2	88.4	11.6

例 (95%) が流産した。10倍以上の PST test 陽性は53例でこのうち46例 (87%) が妊娠継続し、7例 (13%) が流産した。この両検査を組みあわせてみると表3のような結果が得られた。

Deep cell の出現率が4%以下で、かつ HCG 稀釈が10倍以上を示した24例のうち23例が、また deep cell の出現率が9%以下で HCG 稀釈が10倍以上を示した19例中15例が妊娠を継続した。これをまとめると表4のごとくで、両者を併用しかつ deep cell の出現率を10%以下、尿中 HCG 半定量陽性稀釈倍数10倍以上と限定すれば、切迫流産の予後判定の正診率は88.4%となった。

考 按

従来、vaginal cytogram の MI における deep cell の出現率についての予後判定基準に対し Youssef ら⁴⁾、青木⁵⁾によれば、その出現率4~5%以下を good, 5~10%を borderline, 10%以上を bad smear と分類しているが、われわれの成績でも同様の傾向を認めた。妊婦に trichomonas, candida などの感染が多く、これが deep cell の出現に強く影響する⁶⁾ことを考えると、deep cell 出現率10%を限界とした予後判定基準をもうける方が妥当と思われる。事実、deep cell 出現率10%以上、尿中 HCG 20倍稀釈以上陽性で妊娠継続した3例は trichomonas または candida の感染症で治療に強い抵抗性を示した症例である。他方、尿中 HCG 値を稀釈尿による半定量によって検討したが、Youssef ら⁴⁾によれば HCG test は negative の時のみ prognosis を定める価値があるが、その titration の意味はないとしている。しかし稀釈10倍未満陽性を示し妊娠継続した例は1例であり、稀釈10倍以上を示し流産に至った例は53例中7例 (14%) で、正診率87%であったことから一応予後判定に用いうると考えられる。

妊娠初期の HCG の動態は、9~13週ごろ最高値に達し、一方この減少は妊娠初期における胎盤機能低下を示唆することは周知のことである。また deep cell の出現は、妊娠維持ホルモン分泌の悪化を2次的に示し⁷⁾、多くは不全または進行性流産に至る可能性が強く、多数の deep cell の出現は予後不良を示唆するといえる。

切迫流産の現症と治療効果を十分把握し、さらにその予後判定を確実にするためには、cytogram や、HCG 量を測定することは比較的簡便かつ迅速な臨床検査法として有意義である。しかし個体差を考慮し、いずれの検査も連続的に行なうことが必要であるといえる。

結 論

切迫流産の予後判定法として、尿 HCG の半定量、

vaginal cytogram をくみあわせれば、臨床的に迅速かつ簡便な方法としてかなり有用であることを認めた。

本論文要旨は第62回日本不妊学会関西支部集談会において発表した。

山口龍二教授の御校閲に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) McLennan, M. T., and McLennan, C. E.: Amer. J. Obstet. Gynec., 103(3): 228 (1969).
- 2) Frost, J. K.: Maturation Index, 583, Novak's Gynec. & Obstet. Pathology, W. B. Saunders Co, Philadelphia (1967).
- 3) Nesbitt, R. E. L., Aubry, R. H., Goldberg, E. M. and Jacobs, R. D.: Amer. J. Obstet. Gynec., 93(5): 702(1965).
- 4) Youssef, A. F., Alinagrib, Y., Fayad, M. M. and Hussein, M.: Amer. J. Obstet. Gynec., 109: 8(1971).
- 5) 青木淳一: 日産婦誌, 24: 257(1972).
- 6) Lin, T. J. and Lin, S. C.: J. A. M. A., 185(11): 844(1963).
- 7) Hughes, H. E., Loraine, J. A., Bell, E. T. and Layton, R.: Amer. J. Obstet. Gynec., 90: 1297(1964).

Comparative study on prognosis of threatened abortion with the use of deep cell rate in vaginal cytogram and urinary gonadotropin titer

Yoshio Nishikawa, Morishige Saito
and Katsuyuki Ueha

Department of Obstetrics and Gynecology,
Nara Medical University
(Director: Prof. Ryuji Yamaguchi)

Yoshio Himeno

(Central Clinical Research Laboratory of
Nara Medical University)

Seventy-three cases of threatened abortion were studied on the comparative viewpoint of the value of the deep cell appearance rate in vaginal cytogram and human chorionic gonadotropin (HCG) dilution test in assessing the prognosis with regard to the outcome of pregnancy.

The good prognosis was obtained in 86.8 per cent when the HCG dilution test was more than 10 times of dilution, and was obtained in 69.3 per cent when the deep cell rate was less than 10 per cent.

The two methods should be used in combination because of its diagnostic accuracy evaluating the prognosis of pregnancy.

不妊患者の結婚年齢, 既往妊娠に関する 統計学的考察

Statistical Studies of Infertile Women on Marriage-Age
and History of Pregnancy

横浜市立大学医学部産婦人科学教室

植村 次雄 鴻崎 次夫 塩島 令儀
Tsuguo UEMURA Tsuguo KOOZAKI Yoshinori SHIOJIMA

横浜市立市民病院産婦人科

鈴木 直行
Naoyuki SUZUKI

横浜市立市民病院看護科

吉川 絹子
Kinuko YOSHIKAWA

Dep. Obst. Gynec. Yokohama City Univ., School of Med.

結婚年齢と原発不妊との関係, 及び既往妊娠の続発不妊に及ぼす影響を検討するため, 当外来の不妊症患者 612名の結婚年齢, 既往妊娠について統計学的考察をおこなった。なお, 当外来の妊婦 4,760名を対照とした。

結婚年齢では原発不妊群の方が対照群に比して有意に高齢であつた。このことは原発不妊への結婚年齢の関与を示唆するものである。既往妊娠に関しては, 0 回経産群では不妊群と対照群との間では有意差は認められなかつたが, 1 回経産群で最終妊娠が人工流産であつたものが不妊群に有意に少なく, 人工流産経験率も不妊群で有意に低く, 全既往妊娠が正常産だけのものは不妊群に有意に多かつた。従来, 人工流産, 自然流産が続発不妊の原因になるといわれてきたが, 続発不妊の予防の面から, 正常産にもより注意すべきであることが示唆された。

はじめに

就業婦人の増加, 教育の向上, その他社会情勢の変化に伴い結婚年齢は高齢化してきているが, 女子及び配偶者の結婚年齢が不妊に関係あるかどうか, 興味ある問題である。そこで, 原発不妊と結婚年齢との関係に統計学的検討を加えてみた。一方, 不妊患者のうちでも, 続

発不妊の場合には, 既往妊娠の影響が大きく関与していると考えられる。著者らの過去のデータ¹⁾によると, 原発不妊より続発不妊に卵管因子, 炎症による不妊の比重が大きく, この事実を暗示している。そこで, いかなる妊娠経過がより続発不妊に関与しているかを retrospective に考察し, 対照群と統計学的に比較検討した。

表 1 不妊期間

	原発不妊 (%)	続発不妊 (%)	計 (%)
1 年以上	124(30.5)	77(37.4)	201(32.8)
2 年 "	114(28.1)	45(21.8)	159(26.0)
3 年 "	73(18.0)	25(12.1)	98(16.0)
4 年 "	38(9.4)	22(10.7)	60(9.8)
5 年 "	19(4.7)	18(8.7)	37(6.0)
6 年 "	9(2.2)	5(2.4)	14(2.3)
7 年 "	11(2.7)	4(1.9)	15(2.4)
8 年 "	5(1.2)	6(2.9)	11(1.7)
9 年 "	6(1.5)	2(1.0)	8(1.3)
10 年 "	7(1.7)	2(1.0)	9(1.5)
	406(100.0)	206(100.0)	612(100.0)

表 2 対 象

不妊群	612名	対照群	4,760名
原発不妊	406名 (66.3%)	未妊婦	1,578名
続発不妊	206名 (33.7%)	経妊婦	3,182名
0 回経産	109名	0 回経産	489名
1 回経産	92名	1 回経産	2,133名
2 回経産	4名	2 回経産	501名
3 回経産	1名	3 回経産	54名
		4 回経産	4名
		5 回経産	1名

研究 方法

昭和44年1月より昭和47年6月までに、横浜市立大学病院産婦人科及び横浜市立市民病院産婦人科を受診した不妊期間1年以上の不妊症患者 612名を対象とした。その不妊期間の内訳は表1に示す如くであり、経産回数別の内訳は表2に示す通りである。原発不妊は406名(66.3%)、続発不妊は 206名(33.7%)である。

対照は昭和43年1月より昭和47年6月までの間に横浜市立市民病院産婦人科を受診した妊婦 4,760名で、その経産回数別の内訳は表2に示す如くである。

これら不妊群及び対照群の結婚年齢並びに既往妊娠を調査し、特に結婚年齢については原発不妊群と対照群、既往妊娠については続発不妊群と対照群経妊者とを比較検討した。既往妊娠の分類は正常産、人工流産、自然流産、子宮外妊娠とした。なお、正常産には妊娠8カ月以上の死産、早産、帝王切開を含め、胎状奇胎は除外した。有意差の検定は2つの標本平均の比較及び χ^2 分布による方法によった。

表 3 結婚年齢

	原発不妊群	対 照 群
女 性	25.0±2.8歳	24.2±2.8歳
続発不妊	24.6±3.3歳	
不妊全体	24.8±3.0歳	
男 性	28.2±3.4歳	27.3±3.6歳
続発不妊	27.7±4.1歳	
不妊全体	28.0±3.7歳	
女性、男性：原発不妊群>対照群 ($\alpha=0.01$)		

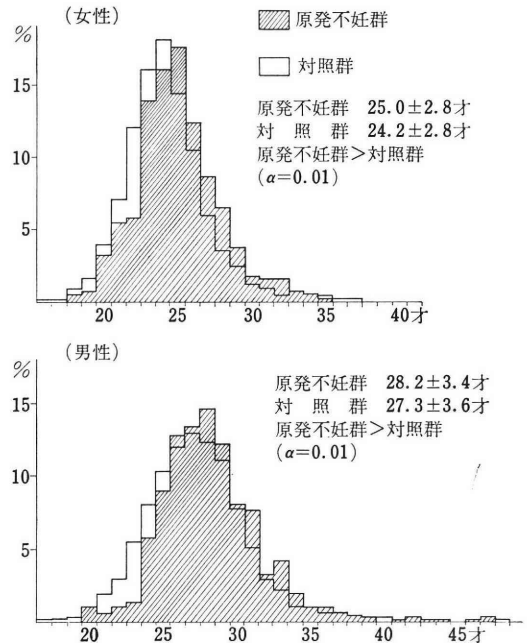


図 1 結 婚 年 齢

研究 結果

I) 結婚年齢

原発不妊群、続発不妊群、不妊群全体及び対照群の結婚年齢は表3に示す如くである。原発不妊群と対照群とでは女性で 0.8歳、男性で 0.9歳と原発不妊群の方がやや高く、有意水準0.01で有意差が認められた。この年齢別分布を図1に示した。

原発不妊群と続発不妊群とでは原発不妊群の方が女性で 0.4歳、男性で 0.5歳、続発不妊群と対照群とでは続発不妊群の方が女性で 0.4歳、男性で 0.4歳結婚年齢が高いが、これらの間に有意差は認められなかった。

II) 既往妊娠

次に続発不妊群と対照群経妊者の既往妊娠に関して、まず、最終妊娠について検討してみた。

i) 最終妊娠

最終妊娠では図2に示す如く、不妊群では 206名中正常産79名(38.4%)、自然流産66名(32.0%)、人工流産

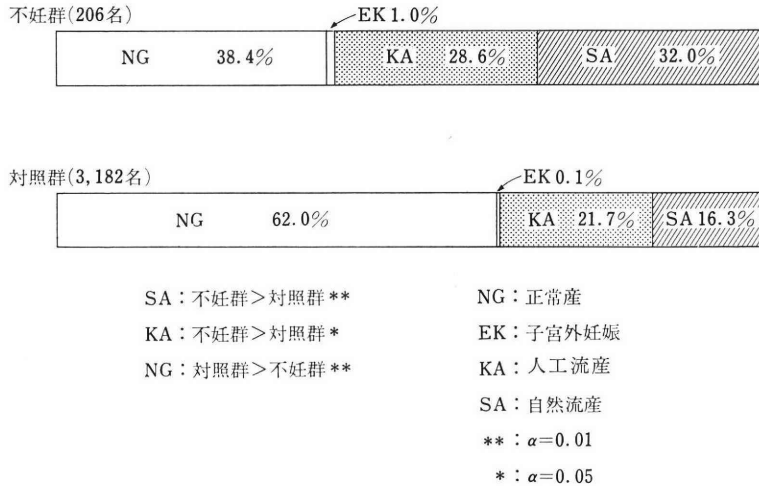


図 2 最終妊娠経過

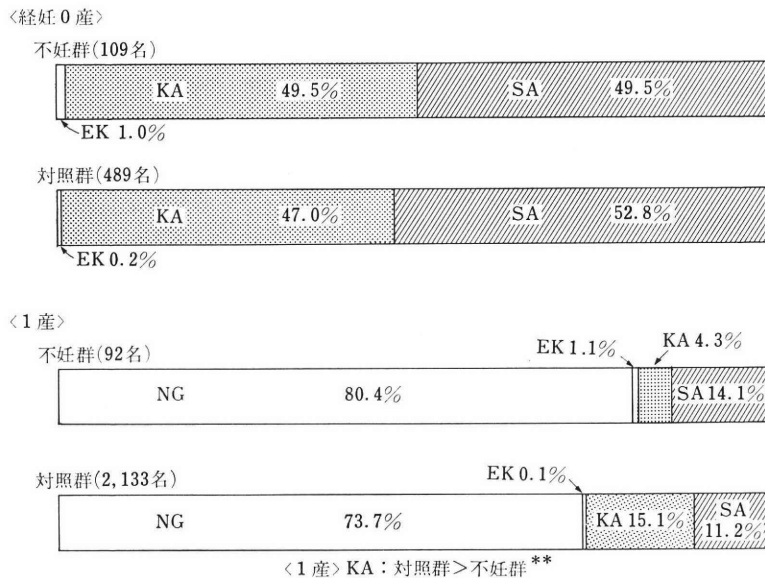


図 3 最終妊娠経過(経産別)

59名(28.6%)、子宮外妊娠2名(1.0%)の順であり、これに対して、対照群では3,182名中正常産1,974名(62.0%)、人工流産689名(21.7%)、自然流産517名(16.3%)、子宮外妊娠2名(0.1%)の順であった。不妊群では自然流産が対照群より約2倍多く、有意水準0.01で有意に高率である。また、人工流産は不妊群で対照群より約1.3倍多く、有意水準0.05で有意に高率である。逆に、正常産は不妊群で対照群より有意に少なかった。しかし、不妊群と対照群との未産者の割合をみると、表2に見られる如く、不妊群では206名中109名(52.9%)であるのに対し、対照群では3,182名中489名(15.4%)であり、不妊群に圧倒的に未産者が多い。した

がつて、経産回数別に最終妊娠を比較する必要があると考えられた。

経産回数別に最終妊娠を比較してみると、図3の如くである。0回経産群では極めて少数の子宮外妊娠を除きすべてが流産であり、自然流産は不妊群で109名中54名(49.5%)、対照群で489名中258名(52.8%)であり、人工流産は不妊群で109名中54名(49.5%)、対照群で489名中230名(47.0%)となり、自然流産、人工流産共に不妊群と対照群との間に有意差は認められなかった。1回経産群では大多数が正常産である。自然流産は不妊群で92名中13名(14.1%)、対照群で2,133名中239名(11.2%)で両者に有意差はなく、人工流産は不妊群

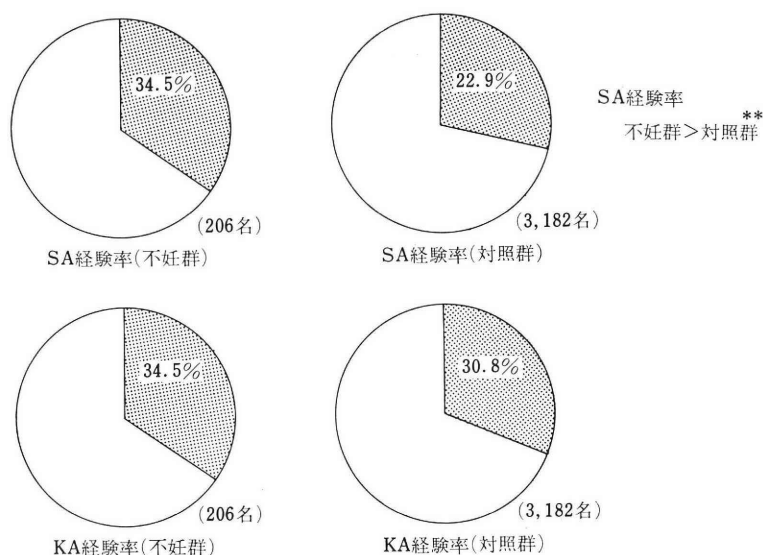


図 4 SA, KA 経験率

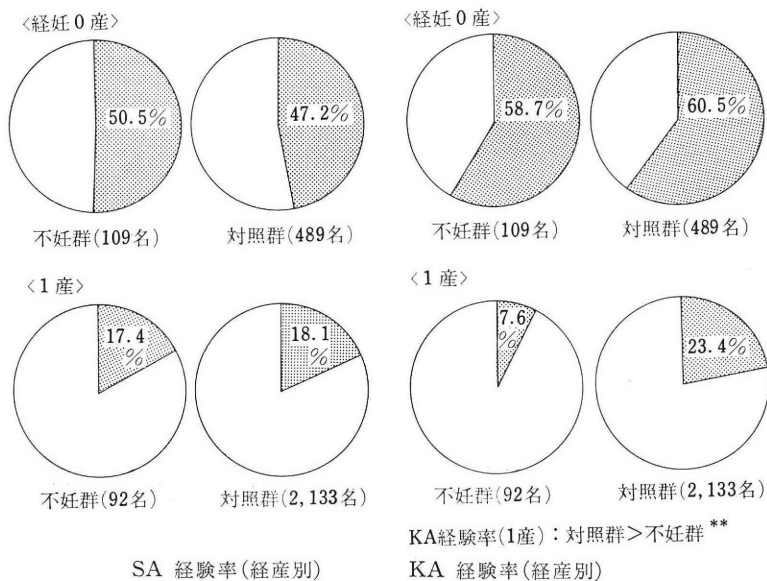


図 5 SA, KA 経験率

で 92 名中 4 名 (4.3%), 対照群で 2,133 名中 321 名 (15.1%)。と対照群の方が約 3.5 倍多く、有意に高率であった。

なお、2 回以上の経産者については例数が少ないので省略した。

これらの経産回数別に検討した結果は前述の不妊群全体と比較した結果とかなり違ったものであり、むしろ逆の結果となっている。即ち、最終妊娠の人工流産が不妊に関係するとは考えられない。

ii) 自然流産、人工流産経験率

つぎに、既往に自然流産、人工流産を経験した頻度をみると図 4 の如くであった。自然流産経験率は不妊群で 206 名中 71 名 (34.5%)、対照群で 3,182 名中 727 名 (22.9%) であり、不妊群の方が有意に高率であった。また、人工流産経験率は不妊群で 206 名中 71 名 (34.5%)、対照群で 3,182 名中 981 名 (30.8%) となり、両者の間に有意差は認められなかった。

これを先程と同じく経産回数別に比較してみると、図 5 の如く、0 回経産群では自然流産経験率は不妊群 109 名中 55 名 (50.5%)、対照群 489 名中 231 名 (47.2%)

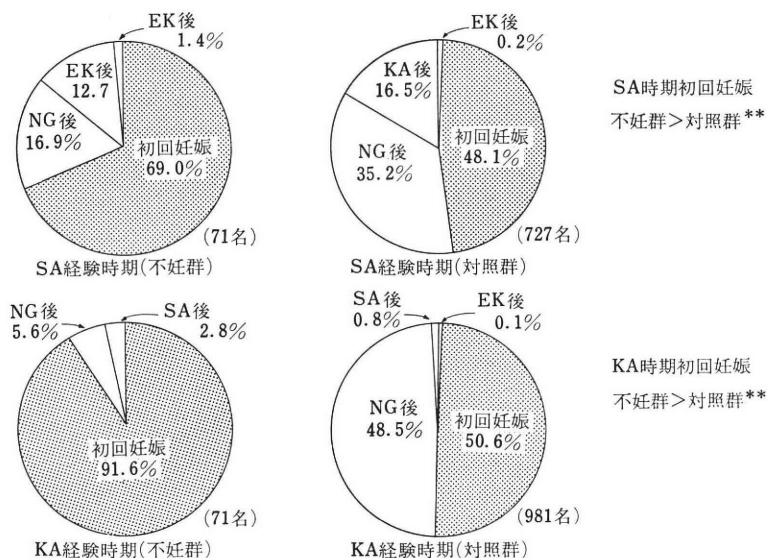


図 6 SA, KA 経験時期

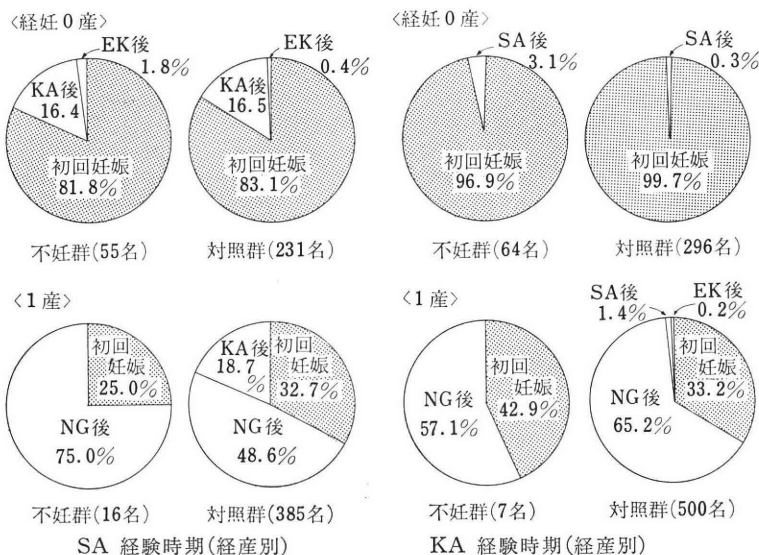


図 7 SA, KA 経験時期

であり、人工流産経験率は不妊群 109 名中 64 名 (58.7%)、対照群 489 名中 296 名 (60.5%) でいずれも不妊群と対照群との間に有意差は認められなかった。

1 回経産群では自然流産経験率は不妊群 92 名中 16 名 (17.4%)、対照群で 2,133 名中 385 名 (18.1%) であり、この間に有意差はなく、人工流産経験率では不妊群 92 名中 7 名 (7.6%)、対照群 2,133 名中 500 名 (23.4%) と対照群の方が有意に人工流産経験率が高い。

iii) 自然流産、人工流産経験時期

前項の結果は、人工流産が不妊の有力な原因とする考え方からすると、はなはだ奇異な感を与えるが、一方、1

児を得た後の妊娠がしばしば人工的に中絶されることもあるので、この自然、人工流産をその先行妊娠の面から分類してみた。その結果は図 6 に示す如くであつた。即ち、自然流産を初回妊娠時に経験したものが不妊群で 71 名中 49 名 (69.0%)、対照群では 727 名中 350 名 (48.1%) で不妊群に有意に高率であつた。また、人工流産を初回妊娠におこったものが不妊群で 71 名中 65 名 (91.6%)、対照群で 981 名中 496 名 (50.6%) であり、自然流産と同様に不妊群で有意に高率であつた。

しかし、これを経産回数別にみると、図 7 の如くであり、0 回経産群では自然流産が初回妊娠であつたものは

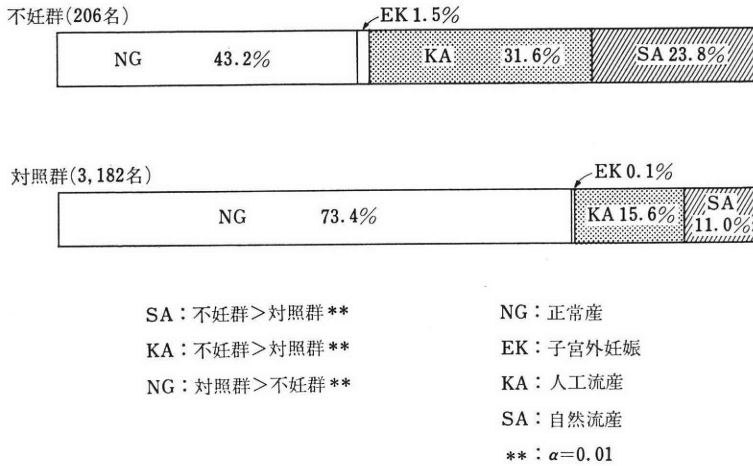


図 8 初 回 妊 娠 経 過

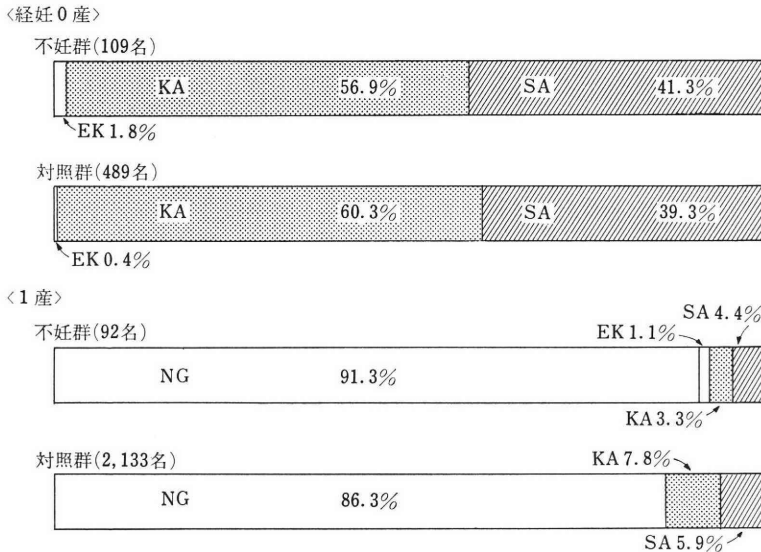


図 9 初 回 妊 娠 経 過 (経 産 別)

不妊群81.8%，対照群も83.1%とほぼ同率であり，人工流産が初回妊娠のものは不妊群で96.9%と極めて高率であるが，対照群でも99.7%と同程度の高率を示し，有意差は認められなかった。

1 回経産群では初回妊娠が自然流産のものは不妊群で25.0%と少なく，対照群でも32.7%で，両群の間に有意差はなく，また，人工流産を初回妊娠時におこなったものは不妊群で42.9%，対照群で33.2%であり，これも両群の間に有意差は認められなかった。

iv) 初回妊娠

更に初回妊娠と不妊の関係を検討したのが図8であり，初回妊娠が自然流産であったものは不妊群23.8%，対照群11.0%で不妊群の方が約 2.2倍高率であり，有意

差が認められた。初回妊娠が人工流産であったものも不妊群31.6%，対照群15.6%で不妊群の方が 2.1倍と有意に高率であった。

しかし，これを経産回数別にみると，図9の如くであり，0 回経産群では自然流産は不妊群で41.3%，対照群で39.3%，人工流産は不妊群56.9%，対照群60.3%とほぼ同率であり，両群の間に有意差は認められなかった。1 回経産群でも自然流産は不妊群 4.4%，対照群 5.9%，人工流産は不妊群 3.3%，対照群 7.8%で両群の間には有意差は認められなかった。

v) 全既往妊娠

最後に，全既往妊娠について，経産回数別に比較してみると表4の如くであった。0 回経産群では既往妊娠が

表 4 全既往妊娠 (経産別)

< 経妊 0 産 >

	対 照 489名	不妊 (1 年以上) 109名	不妊 (3 年以上) 47名
KA	210 (42.9%)	43 (39.4%)	19 (40.4%)
SA	153 (31.3%)	36 (33.0%)	15 (31.9%)
KA, KA	35 (7.2%)	7 (6.4%)	1 (2.1%)
SA, SA	26 (5.3%)	5 (4.6%)	2 (4.3%)
KA, SA	17 (3.5%)	4 (3.7%)	2 (4.3%)
そ の 他	48 (9.8%)	14 (12.9%)	8 (17.0%)

< 1 産 >

	対 照 2,133名	不妊 (1 年以上) 92名	不妊 (3 年以上) 35名
NG	1,351 (63.3%)	69 (75.0%)	33 (94.3%)
NG, KA	228 (10.7%)	4 (4.3%)	0 (0%)
NG, SA	136 (6.4%)	8 (8.7%)	1 (2.9%)
そ の 他	418 (19.6%)	11 (12.0%)	1 (2.9%)

NG : 不妊 (1 年以上) , 不妊 (3 年以上) > 対照

人工流産だけのものが1番多く、対照群で489名中210名(42.9%)、不妊群で109名中43名(39.4%)、次いで自然流産だけのもので、対照群で489名中153名(31.3%)、不妊群109名中36名(33.0%)、人工流産後再び人工流産のものが対照群で7.2%、不妊群6.4%であり、不妊群と対照群との間に有意差は認められなかった。1回経産群では既往妊娠が正常産だけのものが1番多く、対照群で2,133名中1,351名(63.3%)、不妊群92名中69名(75.0%)であり、不妊群の方が有意に高率であった。しかし、その他では有意差は認められなかった。

考 按

昭和18年の東北地方の女性の平均結婚年齢は20.16歳²⁾、東京市では22.6歳³⁾と報告されており、婚姻届をおこなった夫妻の全国平均初婚年齢についてみると⁴⁾妻、昭和30年23.8歳、昭和44年24.3歳、夫、昭和30年26.6歳、昭和44年27.1歳である。このように結婚年齢が年と共に高齢化してきているが、結婚年齢が不妊に何んらか関与していないかどうか興味ある問題である。

一般的に女性の結婚年齢を不妊原因と考えることは不合理のようである。しかし、柚木⁵⁾は結婚年齢が晩婚、即ち高齢に行なわれるときは妊孕力が低いと述べ、岩田⁶⁾は結婚年齢の上昇と共に不妊率が増加すると報告している。

不妊患者の中でも続発不妊の場合には結婚年齢より既往妊娠の影響が不妊に大きく関与していると考えられるので、原発不妊の結婚年齢について対照群と比較してみ

た。その結果、女性で0.8歳、男性で0.9歳原発不妊群の方が対照群より高齢であり、有意差が認められた。しかし、原発不妊群と続発不妊群、続発不妊群と対照群との間には結婚年齢の有意差は認められなかった。

以上のことは、原発不妊への結婚年齢の関与を示唆するものである。

続発不妊の発生には既往妊娠が関与していると考えられるが、その中でも一番関係が深いと思われる最終妊娠に関する報告は多い。それをまとめたのが表5である。しかし、これらの報告はいずれも対照者と比較検討されたものではない。そこで、われわれは経妊婦3,182名を対照として、続発不妊患者206名の既往妊娠を検討してみた。

最終妊娠では自然流産及び人工流産が対照群に比して不妊群で有意に高率であった。これらの結果は表5の諸家の報告を裏づけるものであったが、対照群では未産者が15.4%と少なく、不妊群では未産者が52.9%と多いので、経産回数別に別けて検討する必要があると考えられた。経産回数別検討では先に見られた不妊群と対照群との有意差はなくなり、逆に、1回経産群で、最終妊娠が人工流産のものは不妊群より対照群に有意に多く見られた。すなわち、続発不妊群の最終妊娠に自然流産、人工流産の割合が多いのは不妊群に経産者が少ないためにみられたものであり、経産回数別に分けてみると、対照群との間に有意差は殆んどみられず、むしろ逆の結果が認められた。過去の人工流産経験率について、徳田¹⁴⁾は続発不妊患者359名中155名(43.2%)、赤須¹⁷⁾は78名中

表 5 続発不妊患者の最終妊娠

報告者	年	人工流産	自然流産	正常産	子宮外妊	他	計	報告者の意見
林 ⁶⁾	1961	59 (41.5)	38 (26.8)	18 (12.7)	24 (16.9)	3* (2.1)	142 (100)	98(69%)が子宮内容除去術後不妊
五十嵐 ⁷⁾	1961	22 (39.2)	16 (28.5)	17** (30.4)	1 (1.8)			流産後不妊多く、人工流産後不妊一番多し。
田中 ⁸⁾	1964	15 (20.3)	24 (32.4)	26 (35.1)	5 (6.7)	4 (5.5)	74	人工流産後の治療は十分に。
森山 ⁹⁾	1964	(50.3)	(21.1)	異常分娩 (25.9) (2.7)			185	人工流産後の不妊が約半数をしめる。
明石 ¹⁰⁾	1965	75	43	34	4	15	171	人工流産が43.8%と極めて高率
岡村 ¹¹⁾	1965	31 (26.7)	61 (52.6)	23 帝切1 (26.7) (0.9)			116 (100)	
西村 ¹²⁾	1967	78	123	49 早産6	17			流産が 201 名73.2%
関本 ¹³⁾	1967	30	19	4 帝切1	4	1	59	人工流産が最も多い。
徳田 ¹⁴⁾	1968	131 (36.5)	3 カ月以上, 3 カ月以内 20 110 (5.6) (30.6)	51 早産23 (14.2) (6.4)	24 (6.7)		359 (100)	人工流産後不妊になるものが相当数。
安達 ¹⁵⁾	1968	10	18	22				
三浦 ¹⁶⁾	1971	18 (31)	27 含 (46.6) 早産	11 (19)		2 (3.4)		人工流産, 自然流産が続発不妊の原因になる事が多いと考えられる
著者ら	1973	59 (28.6)	66 (32.0)	79 (38.4)	2 (1.0)		206 (100)	
対照	1973	689 (21.7)	517 (16.3)	1,974 (62.0)	2 (0.1)		3,182 (100)	

() 内の数字は%。 * 卵管結紮 2(1.4), 胎状奇胎 1 (0.7)。

** 正産 10 (17.8), 鉗子 2 (3.6), 早産 3 (5.4), 死産 1 (1.8), 帝切 1 (1.8)。

37名(47.4%)と報告しているが、今回の調査では 206 名中71名(34.5%)であり、対照群(30.8%)との間に有意差は認められなかった。なお、昭和44年の毎日新聞社の調査¹⁸⁾によると、一般婦人 3,197名のうち中絶手術経験者は37.4%である。これを最終妊娠の場合と同様に経産回数別に比較すると、人工流産経験率は0回経産群に高率で、1回経産群で低率であるが、0回経産群では不妊群60.5%、対照群58.9%、1回経産群では不妊群7.6%、対照群23.4%であった。すなわち、1回経産群で不妊群の方が対照群より人工流産経験者が有意に少ないことを示している。一方、自然流産経験率は経産回数別にみて、不妊群と対照群との間に差は認められなかった。

人工流産経験時期に関して、田中⁸⁾は最終妊娠が人工流産であるもののうち、それが初回妊娠であったものは15例中14例であり、初回妊娠の人工中絶を続発不妊予防上できる限り避けるべきであると強調している。一方、人工流産経験者のうち、初回妊娠の人工流産であったものは155名中82.8%であったと徳田¹⁴⁾は報告しているが、今回のデータはそれ以上に高率で、実に91.5%であり、対照群の50.6%に比較して有意に高率であった。しかし、これを経産回数別にみると、不妊群では0回経産群で96.9%、1回経産群で42.9%と0回経産群に高率で

あり、対照群でも0回経産群で99.7%、1回経産群で33.2%と0回経産群では高率で、不妊群と対照群との間に差はみられない。自然流産時期についても同様に、経産回数別に検討してみたが、対照群との間に有意差は認められなかった。

初回妊娠でも続発不妊群全体と対照群とを比較すると、不妊群に人工流産、自然流産の率が高率であったが、経産回数別の比較では有意差は認められなかった。

更に、全既往妊娠について比較すると、0回経産群では不妊群と対照群とで全既往妊娠の各々が驚くほど同程度の比率を示しており、いずれも両群の間に有意差を認めなかった。1回経産群では、既往妊娠が正常産のみであったものが対照群より不妊群に有意に高率であり、正常産後の十分なる管理が続発不妊予防の上に重要であることを示唆している。

以上述べてきたデータは不妊期間1年以上の不妊患者についてであるので、不妊期間3年以上のものに限って同様の検討を試みたが、表4に示す如く、結果は殆んど同じであった。

以上まとめると、表6の如くなる。この表であきらかな如く、続発不妊全体と対照群との比較でみられた著明な差異は経産回数別の比較で殆んどなくなり、むしろ

表 6 不妊群と対照群の比較

		不妊期間 1 年以上 (206名)			不妊期間 3 年以上 (84名)	
		続発不妊	経妊 0 産	1 産	経妊 0 産	1 産
最終妊娠	SA	不>対**	—	—	—	—
〃	KA	不>対*	—	対>不**	—	対>不**
〃	NG	対>不**	—	—	—	—
初回妊娠	SA	不>対**	—	—	—	—
〃	KA	不>対**	—	—	—	—
〃	NG	対>不**	—	—	—	—
SA経験率		不>対**	—	—	—	—
KA経験率		—	—	対>不**	—	対>不**
SA経験時期初回		不>対**	—	—	—	—
KA経験時期初回		不>対**	—	—	不>対*	—

不>対**：不妊群>対照群 ($\alpha=0.01$)不>対*：不妊群>対照群 ($\alpha=0.05$)

—：有意差なし

逆の結果となった。

今日まで、人工流産や自然流産が不妊へ関与していると考えられがちであり、それに関する報告は既述した如く多い。これに対して、有馬ら¹⁹⁾は外来患者25,867例の初回妊娠経過とその後3年以上の不妊発生率と、1年以内の妊娠率を調べ、人工妊娠中絶に伴う続発不妊はそれほど多くないと報告している。また、林ら²⁰⁾は満期分娩した妊婦を対照として、人工中絶と続発不妊との関係をしらべ、人工中絶が不妊を惹起する率はさほど高いものではないと結論している。これらの報告は今回のデータと相通ずるものである。

以上の成績から、人工流産、自然流産の続発不妊への関与は否定的であり、むしろ、続発不妊の予防の面から正常産後の十分なる管理の必要が感じられた。

まとめ

結婚年齢と原発不妊との関係及び既往妊娠の続発不妊に及ぼす影響を調べる目的で、当外来不妊症患者 612名と妊婦 4,760名の結婚年齢、既往妊娠について統計的考察をおこなった。

その結果、結婚年齢では原発不妊群の方が対照群に比して有意に高齢であった。

また、続発不妊の既往妊娠に関しては、0回経産群では不妊群と対照群との間に有意差は認められなかったが、1回経産群で、最終妊娠が人工流産であったものは不妊群に有意に少なく、また、人工流産経験率も不妊群で有意に低い。更に、全既往妊娠が正常産だけのものは不妊群に有意に多かった。

以上より、従来、人工流産、自然流産が続発不妊の原因になるといわれてきたが、続発不妊の予防の面から、

正常産により注意すべきであることが示唆された。

当研究に当り、御助言をいただいた横浜市立大学公衆衛生学教室、矢戸昌夫教授に感謝致します。

本論文の要旨は第17回日本不妊学会総会(高知市)で発表した。

文 献

- 鈴木直行、植村次雄、市川 宝、菅田吉郎、柴田光夫、長田久文：昭和45年度不妊症クリニック統計、日産婦神奈川会誌、8(2)：17, 1971.
- 九嶋勝男、米沢 堡、斉藤一夫、和田裕宏：東北地方婦人の妊孕力調査、日婦会誌、37：1, 1942.
- 岩田正道、河崎雪子：東京市模範衛生地区に居住する全既婚婦の生殖状態に就て(第一報)、日婦会誌、38：587, 1943.
- 厚生統計協会：厚生指標、18(12)：54, 1971.
- 柏木祥三郎：日本産婦人科全書、15/1：1, 金原出版、1956.
- 林 基之、江口貞雄、大木康志：不妊症外来患者432例(1960年)の検討—不妊症新分類案を中心として—、日不妊会誌、6：142, 1961.
- 五十嵐正雄、保坂 久、佐藤昭吾、小沢陸男、藤間幸道：群馬大学産婦人科不妊外来の検査成績(第1報)、日不妊会誌、6：92, 1961.
- 田中哲郎、園田重則、池田裕人、野田晋平：不妊症の外来臨床統計、日不妊会誌、9：254, 1964.
- 森山 豊：婦人科学下巻、669, 医学書院、1964.
- 明石勝英、道免聚二、佐々木誠、中村俊男、足立 昇、水元修治、野田 明、小前由雄、川瀬哲彦、八木橋三郎：札幌医科大学産婦人科教室不妊症センターにおける妊娠成功例の臨床的観察、産と婦、32：1052, 1965.
- 岡村 泰、滝波祐子、提 志津、小田島栄一、吉田 豊、杉田茂仁、会田雄一、阿部 進：当

科不妊外来患者の統計的観察(1962年6月~1964年2月), 日不妊会誌, 10: 196, 1965.

- 12) 西村敏雄, 杉本 修, 矢野弘之, 林 俊郎, 鈴木瞭, 広崎彰良, 池谷東彦, 道本知子, 横山重喜: 不妊に関する統計(第1報) 不妊原因についての統計的観察, 日不妊会誌, 12: 26, 1967.
- 13) 関本昭治: 不妊患者の妊娠成功例の検討, 特に卵管不妊例について, 日不妊会誌, 12: 150, 1967.
- 14) 徳田源市, 村上 旭, 小畑 義, 藤田博丕: わが教誌における昭和36年~昭和40年の外来不妊統計, 日不妊会誌, 13: 106, 1968.
- 15) 安達国雄, 清水孝一: 最近11年間における不妊症の統計的観察, 産婦の世界, 20: 1209, 1968.
- 16) 三浦清樹, 松本 勝, 田川博之, 石丸忠之, 加瀬泰昭, 自見昭司: 最近の我が教室における不妊外来の臨床統計, 日不妊会誌, 16: 357, 1971.
- 17) 赤須文男, 西田悦郎, 村田孝一, 金城国弘, 小出春樹, 炭谷治郎, 久江清一: 統計的観察に基づく女子不妊症の検討, 日不妊会誌, 12: 35, 1967.
- 18) 毎日新聞社人口問題調査会: 日本の人口革命, 134, 毎日新聞社, 1970.
- 19) 有馬政雄, 山田主税: 初回妊娠人工中絶後の妊娠状況について, 日不妊会誌, 7: 67, 1962.
- 20) 林 基之, 百瀬和夫: 人工妊娠中絶の障害, 27, 日本家族計画連盟, 1967.

Statistical studies of infertile women on marriage-age and history of pregnancy

**Tsuguo Uemura, Tsuguo Koozaki
and Yoshinori Shiojima**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Yokonama Univetrity School of Medicine

Naoyuki Suzuki

Department of Obstetrics and Gynecology,
Yokohama Municipal Hospital

Kinuko Yoshikawa

Department of Nursing, Yokohama
Municipal Hospital

In order to know influences of marriage-age on primary sterility and history of pregnancy on secondary sterility, an investigation was performed on 612 cases of sterility and 4, 670 cases of pregnant women.

The marriage-age of primary sterility patient was higher than that of pregnant women significantly. This fact suggests that the marriage-age is probable concerned with primary sterility.

About the history of pregnancy no difference was noted between childless sterility women and nullipara of pregnant women. But in one child sterility women, induced abortion of the last pregnancy was less than that in primipara of pregnant women. Percentage of experience of induced abortion in one child sterility was less significantly than one in primipara of pregnant women. Moreover, in one child sterility, the number of patients who had experienced no abortion was more than that in primipara of pregnant women.

By this time, it has been said that the secondary sterility is caused by induced abortion or spontaneous abortion, but these results which were obtained by this investigation emphasize that full term delivery should be taken care of, in order to prevent secondary sterility.

OVULATORY RESPONSE OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPHIN AND PREGNANT MARE'S SERUM GONADOTROPHIN IN JAPANESE WHITE RABBITS

Yoshiro ISHIJIMA

Department of Zootechnical Science, Tokyo University of Agriculture,
Setagaya-ku, Tokyo
and

Morio KUBOMICHI

National Veterinary Assay Laboratory, Kokubunji, Tokyo

Abstracts: Effect of ovulatory response in HCG and PMSG were compared by a single injection to rabbits. The ovulation occurred over the doses of 5 IU for HCG and 25 IU for PMSG. These gonadotrophins caused consistently the ovulation in rabbits at the dose of 200 IU. The mean number of ovulation points at 200 and 500 IU levels of PMSG was larger than same doses of HCG, although up to the dose of 100 IU of two gonadotrophins was similar.

By means of probit analysis, it appeared that the doses of 50 % ovulating was 9.65 IU for HCG and 57.24 for PMSG. This result indicates that the relative ovulation-inducing abilities of HCG : PMSG are approximately 6 : 1.

On the mean number of blood follicles and follicles between HCG and PMSG groups were no differences up to 100 IU level, although PMSG was observed to induce rather high in number than HCG at the same dose as 200 and 500 IU.

Introduction

In rabbits, ovulation can be induced by a single injection of pituitary luteinizing hormone (LH), human chorionic gonadotrophin (HCG), pregnant mare's serum gonadotrophin (PMSG) or human urinary postmenopausal gonadotrophin (HMG) (Harper 1961, 1963, Edgren and Carter 1962, Fox and Krinsky 1968, Suzuki 1969, Ishijima, Hirabayashi and Sakuma 1969). These gonadotrophins were very considerably in the ability to stimulate ovulation in potency. This suggest every one of them to have somewhat different effect for the ovulation in rabbits. However, extensive studies have not been made to compare the effect of gonadotrophins in rabbits for the ovulatory response (Fox and Krinsky 1968, Suzuki 1969).

In the present study, a comparison was made of the effect of HCG and PMSG in regard to their ovulatory response in rabbits attributing to various doses.

Materials and Methods

One hundred and twenty female Japanese White rabbits (1.5–2.0 kg body weight) were used. These rabbits were estimated to be about 4 month of age seen from their body weight.

The hormones used were HCG (a standard preparation of National Veterinary Laboratory, Japan) and PMSG (a standard preparation of National Institute of Health, Japan). These gonadotrophins were intravenously injected to rabbits at the dosages of 5, 10, 25, 50, 100, 200 and 500 IU, which were adjusted to contain in a volume of 0.2 ml of physiological saline. A control group of

rabbits was given 0.2ml of physiological saline only.

All does were killed 24 hours after injection of gonadotrophins. The ovaries were examined with the aid of a dissecting microscope at 10× or the naked eye and a number of ovulation point, blood follicle and follicle (1 mm or more in diameter) was counted.

Results

1. Ovulatory response to HCG

The results of ovulatory response to graded doses of HCG are summarized in Table 1. The does with ovulation observed from the 5 IU of HCG, and percentage of does with ovulation increased up to 200 IU level. The percentage of does with ovulation for 5, 10, 25, 50, 100, 200 and 500 IU levels was 40, 42.9, 77.8, 83.3, 85.7, 100 and 100%, respectively. The number of ovulation points per doe ovulated for 5 to 500 IU of HCG was 3.0, 3.7, 4.1, 1.4, 4.7, 3.0 and 6.0, respectively. No statistical significance was observed in the number of ovulation points in all groups. The mean number of blood follicles increased up to 25 IU level, but no significant difference was observed between the doses of 5 IU and those of 500 IU. The mean number of follicles in all HCG groups ranged 4.2 to 7.4. These number was similar to that in control. Ovaries weight increased significantly according to grade with HCG doses.

2. Ovulatory response to PMSG

The results of ovulatory response to graded doses of PMSG are shown in Table 2. The does with ovulation observed from 25 IU of PMSG, and percentage of does with ovulation increased up to 200 IU level. The percentage of does with ovulation for 25, 50, 100, 200 and 500 IU levels was 14.3, 42.9, 71.4, 100 and 100%, respectively. The number of ovulation points in highest level were larger than lowest level of PMSG.

The mean number of blood follicles for the doses of 10 to 500 IU was 0.1, 1.7, 2.6, 1.5, 5.6 and 7.3, respectively. These number of blood follicles in high level of PMSG was larger. The mean number of follicles in all PMSG groups ranged 5.8 to 11.4, whereas in control was 6.5. Ovaries weight increased significantly by a graded increase with PMSG doses.

3. Comparison of ovulatory response to HCG and PMSG

The percentage of does ovulating as probit for the different levels of HCG and PMSG are given in Fig. 1. By probit analysis, dose for 50 % ovulation-inducing effect was 9.65 IU for HCG and 57.24 IU for PMSG. This result shows that the HCG has about six times the ovulation-inducing ability of PMSG based on the international unit (IU).

The mean number of ovulation points and blood follicles at 200 and 500 IU levels of PMSG was larger than same dose of HCG, although up to 100 IU level two gonadotro-

Table 1 Effect of administration of HCG at different levels on ovarian response in rabbits

HCG dose (IU)	No. of rabbits	% ovulating	No. of					Ovaries wt. (mg)
			Ovulation points		Blood follicles	Follicles	Follicles developed	
			Per all does	Per doe ovulated				
0	4	0	0	0	0	7.0±0.91	7.0±0.91	130.5±16.82
5	5	40.0	1.2±0.80	3.0±1.00	0.2±0.20	4.2±0.58	5.6±0.87	184.0±30.31
10	7	42.9	1.6±0.81	3.7±0.88	0.6±0.43	7.4±0.92	9.6±1.13	189.7±24.04
25	9	77.8	3.2±0.91	4.1±0.88	3.2±0.78	5.6±1.23	12.0±0.87	246.9±19.77
50	6	83.3	1.2±0.31	1.4±0.24	1.8±0.54	6.5±0.34	9.5±0.56	255.0±23.01
100	21	85.7	4.0±0.67	4.7±0.66	2.0±0.61	6.1±0.61	12.1±0.87	342.6±29.83
200	10	100.0	3.0±0.67	3.0±0.67	2.9±0.45	5.1±0.75	11.0±1.11	288.8±22.84
500	5	100.0	6.0±2.07	6.0±2.07	1.2±0.37	6.6±1.36	13.8±2.89	385.0±59.37

(Mean±S.E.)

Table 2 Effect of administration of PMSG at different levels on ovarian response in rabbits

PMSG dose (IU)	No. of rabbits	% ovulating	No. of					Ovaries wt. (mg)
			Ovulation points		Blood follicles	Follicles	Follicles developed	
			Per all does	Per doe ovulated				
0	4	0	0	0	0	6.5±0.29	6.5±0.29	140.0± 8.66
5	7	0	0	0	0	5.8±0.64	5.8±0.64	161.7±24.87
10	7	0	0	0	0.1±0.14	5.7±1.46	5.8±1.42	177.4±32.52
25	7	14.3	0.1±0.14	1.0±1.00	1.7±0.78	6.6±1.43	8.4±1.78	183.4±32.49
50	7	42.9	2.0±0.30	4.7±3.18	2.6±0.97	9.4±1.85	14.0±2.34	291.4±41.65
100	7	71.4	3.3±1.34	4.6±1.50	1.5±0.72	5.7±1.27	10.4±2.18	275.1±58.80
200	10	100.0	6.7±1.27	6.7±1.27	5.6±0.95	11.4±2.52	23.7±2.67	420.9±35.57
500	4	100.0	9.8±1.65	9.8±1.65	7.3±2.02	7.0±2.14	24.0±2.86	418.5±39.66

(Mean±S.E.)

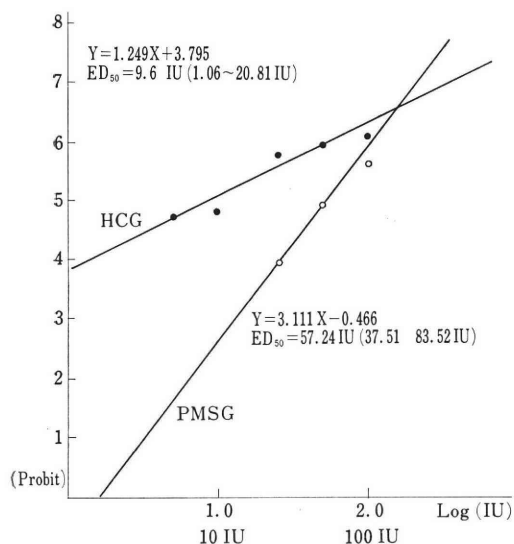


Fig. 1 Probit regression line of HCG and PMSG to ovulatory response in rabbits
(95% confidence limit in parentheses)

phins was similar response (Fig. 2 and 3). The mean number of follicles between HCG and PMSG was similar in all doses (Fig. 4).

The mean number of follicles developed (ovulation point plus blood follicle plus follicle), up to 100 IU was similar between HCG and PMSG. However, this number at 200 IU or more of PMSG was more than same dose of HCG (Fig. 5).

The comparison of ovaries weight for the graded doses of HCG and PMSG are shown in Fig. 6. In both group the ovaries weight were similarly increased according to dose

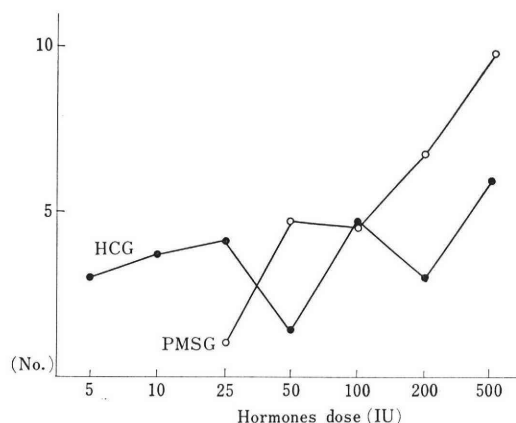


Fig. 2 Comparison of number of ovulation points per doe ovulated at various dose of HCG and PMSG

levels, and between both group was not significant.

Discussion

In the present experiment, it has shown that the ovulation could be induced in rabbits aging about 4 month, by a single intravenous injection of HCG and PMSG. The optimal dose to induce ovulation by both gonadotrophins were 200 IU.

These amounts were considerably more than doses of HCG and PMSG required for adult female rabbits (Edgred and Carter 1962, Fox and Krinsky 1968, Suzuki 1969). These results suggested that there may be a age and breed difference in the level of gonadotrophins required to induce ovulation.

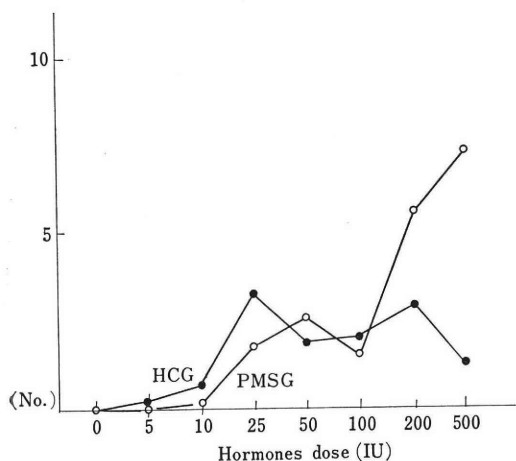


Fig. 3 Comparison of mean number of blood follicles at various dose of HCG and PMSG

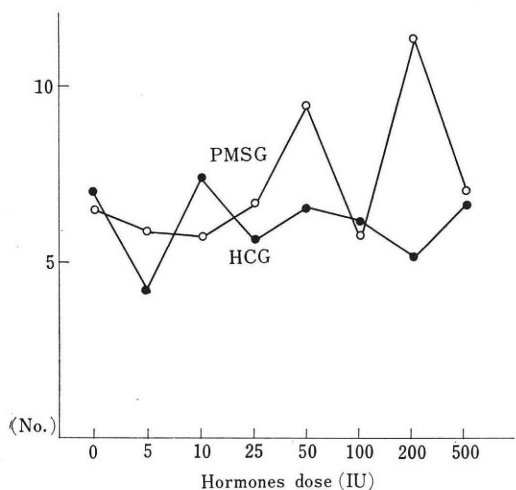


Fig. 4 Comparison of mean number of follicles at various dose of HCG and PMSG

The minimal dose for ovulation was 5 IU for HCG and 25 IU for PMSG. The dose to induce 50% ovulation conducted by probit analysis was 9.65 IU for HCG and 57.24 IU for PMSG. This result shows that the HCG has about six times the ovulation-inducing ability of PMSG. This fact may be due to difference of LH content in both gonadotrophins. It is known that the PMSG contains both FSH and LH while HCG contains LH dominant. According to Fox and Krinsky (1968), the dose to induce ovulation by HCG was larger than those by PMSG in rabbits.

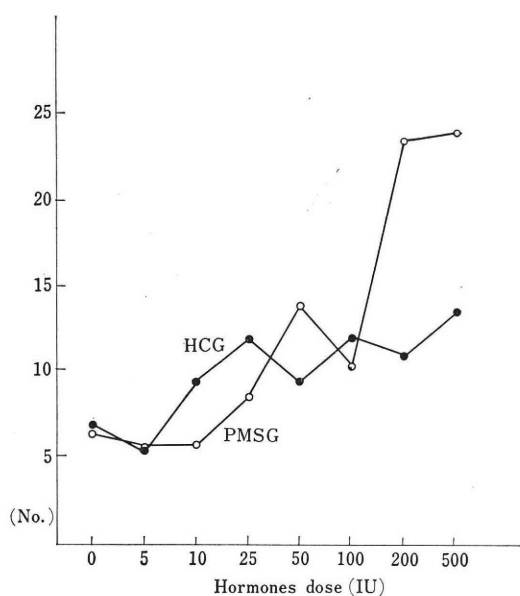


Fig. 5 Comparison of mean number of follicles developed (ovulation point plus blood follicle plus follicle) at various dose of HCG and PMSG

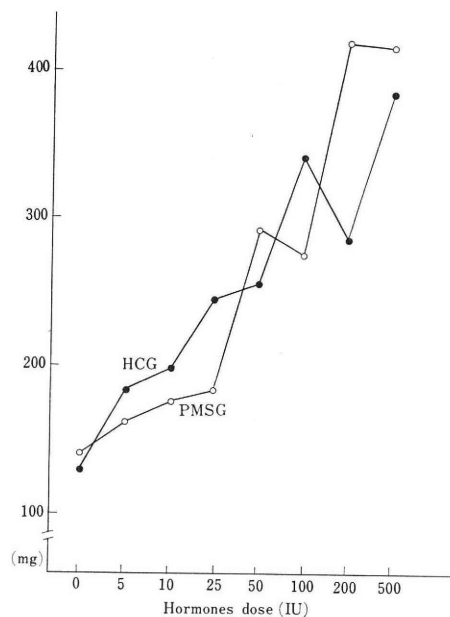


Fig. 6 Comparison of mean weight of ovaries at various dose of HCG and PMSG

The effect of PMSG to induce ovulation in rabbits may be due to act like the LH. It is already known that the PMSG as same as LH and HCG was induced ovulation in

rabbits (Fox and Krinsky 1968, Suzuki 1969) and mice (Stern and Schuetz 1970, Kaufman and Whittingham 1972).

At 200 IU or more of PMSG, the mean number of ovulation points and total follicles developed were more than same dose of HCG. This fact suggested that the follicle stimulating effect of PMSG was more than HCG.

References

- 1) Edgren, R. A. and Carter, D. L.: J. Endocrin., 24, 525-526 (1962).
- 2) Fox, R. R. and Krinsky, W. L.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 127, 1222-1227 (1968).
- 3) Harper, M. J. K.: J. Endocrin., 22, 147-152 (1961).
- 4) Harper, M. J. K.: J. Endocrin., 26, 307-316 (1963).
- 5) Ishijima, Y., Hirabayashi, T. and Sakuma, Y.: Jour. Agr. Sci., Tokyo Nogyo Daigaku, 14, 85-88 (1969).
- 6) Kaufman, M. H. and Whittingham, D. G.: J. Reprod. Fert., 28, 465-468 (1972).
- 7) Stern, S. and Schuetz, A. W.: J. Reprod. Fert., 23, 257-261 (1970).
- 8) Suzuki, M.: The Ovulation, 132-134, Igakuno Sekai Co., Tokyo (1969).

絨毛性性腺刺激ホルモンおよび妊馬血清 性腺刺激ホルモンによる家兎の 誘起排卵反応の比較

石 島 芳 郎

(東京農業大学畜産学科)

窪 道 護 夫

(農林省動物医薬品検査所)

性腺刺激ホルモンによる家兎の誘起排卵機構を解明

する研究の一環として、妊婦絨毛性性腺刺激ホルモン(HCG)と妊馬血清性性腺刺激ホルモン(PMSG)を用いて、各用量に対する卵巢ならびに排卵反応について比較検討した。

体重1.5~2.0 kg (推定4カ月齢)の日本白色種雌家兎120頭を用い、HCGおよびPMSGを、それぞれ、0, 5, 10, 25, 50, 100, 200および500 IUを静脈注射し、注射後24時間に卵巢の検査を行なった。

その結果、排卵陽性率は、HCGでは5 IUで40%、以後投与量が増加するにつれて高くなり、200 IUで100%に達した。それに対し、PMSGでは10 IUまで全く排卵せず、25 IUで14%、その後投与量にしたがつて増加し、200 IUで100%に達した。この用量に対する排卵陽性率をプロビットに変換し、回帰直線を求めたところ、HCG 5~200 IUに対する回帰式は $Y=1.249X+3.795$ 、PMSG 10~200 IUに対する回帰式は $Y=3.111X-0.466$ が得られ、この直線性は両者とも有意とみとめられた。また、両者間の排卵誘起力を比較するため50%排卵有効量(ED₅₀)を算出したところ、HCGは9.65 IU、PMSGは57.24 IUであり、HCGの誘起力はPMSGのおよそ6倍であることが推定された。

排卵した個体当りの平均排卵数は、HCGでは1.4~6.0コ、一方、PMSGでは4.6~9.8コで、いくぶんPMSGの方が多い傾向にあつたが有意差はみられなかつた。血胞数は、HCGでは25 IU以降1.2~3.2コの範囲で、投与量による差はみられなかつた。それに対し、PMSGでは25~100 IUまでは1.5~2.6コとHCGと大差なかつたが、200 IU以降5.6~7.3コとやや多くなつていた。卵胞数は、HCGでは4.2~7.4コ、PMSGでは5.7~11.4コで、後者がいくぶん多い傾向にあつたが有意差はみとめられなかつた。

総発育卵胞数(排卵点+血胞+卵胞)は、両ホルモンとも無投与にくらべ多くなつており、その数は投与量が高くなるにつれ増加の傾向にあつたが、投与量による差ならびに両ホルモン間の差は有意なものではなかつた。卵巢重量は、HCG、PMSGともに、投与量が増加するにつれ有意に重くなる傾向がみとめられたが、両ホルモン間には有意差がみとめられなかつた。

家兎胞胚の2, 3の所見, 主として Moog 法を 利用した成績について

Some Observations on the Rabbit Blastocysts—especially
using Moog's Flat-mount Technique

東邦大学産婦人科学教室(主任: 林 基之教授)

岩 城 章 平 川 舜 田 宮 親
Akira IWAKI Shun HIRAKAWA Chikashi TAMIYA

清 水 工 経 黒 沢 忠 彦 徐 常 艶
Noritsune SHIMIZU Tadahiko KUROSAWA Tsuneyoshi JO

米 本 繁 之 野 沢 あ き 子
Shigeyuki YONEMOTO Akiko NOZAWA

Dep. Obst. Gynec. Toho Univ. School of Med.
(Dir.: Prof. M. Hayashi)

^3H -Thymidine の濃度を $0.1\mu\text{C}/\text{ml}$ にした培地中で交尾後6.25日の家兎胞胚を培養し, Autoradiography により次のごとく所見を得た.

- (1) 正常胞胚の一時標識では Graph 上に明瞭な取り込みを示すには最低12分の培養時間を要した.
- (2) 一時標識後, TCM 199+仔牛血清10%中で培養すると, 2分間の一時標識でも明瞭な銀粒子像を得た.
- (3) 一時標識後, 胞胚液を除去したものの再培養例では ^3H -TdR の取り込みは全く認められなかった.
- (4) 最初から胞胚液を除去したものの一時標識では, 実験例の約半数が取り込みを示した. また1~3時間の培養後の一時標識では大部分に取り込みを認めた. これ等の際, 取り込みを示した例においても, 全然取り込みを示さない部位があり, 取り込み部位の局在性が特徴的な所見であった.
- (5) 軽度の Collapse をおこした胞胚の一部にも, (4)と同様な所見が得られた.

家兎胞胚は他の実験動物とは異なり, 子宮腔において急速に増大する. 従つて肉眼的に識別することができ, 培養器への移し変え等の操作が容易である. また容積の大部分を占めるのは, 胞胚液であつて, マウス, ラット等のそれより著しく多量であるため, 哺乳動物の胞胚液の分析は主として家兎が用いられている¹⁾⁻⁵⁾. しかし以上のごとく処理, 分析における利点が他面においては, 胞胚全体を固定, 包埋し, 組織切片を作る際, パラフィン等の流入が悪く, 球形構造の細胞壁がくずれ易く, 意を満す組織標本を作り難い⁶⁾.

1958年 Moog は Lutwak-Mann と共に Flat-mount technique を発表し⁷⁾, Trophoblast (以下 Tr. と略す) 細胞及び Embryonic disc (以下 Em-d と略す) の形態

を観察した. われわれも本法を, ^3H -Thymidine Autoradiography^{8, 9)}および Em-d の分離培養時¹⁰⁾に応用し, その簡便性を確認し, 現在も家兎胞胚の性状検討時に利用しているが, そのうちの Autoradiograph の成績の若干について述べる.

実験方法と成績

実験手技の概要は既発表のものと同じである. 異なつた点および今回の Labeling の条件についてのみ記載する.

子宮壁を切開し, 発見した胞胚を TCM199+10%C. S.(仔牛血清)につけ採卵した. 直ちに $0.1\mu\text{C}/\text{ml}$ の ^3H -Thymidine (Specific activity $5.0\text{C}/\text{mM}$)を含む TCM

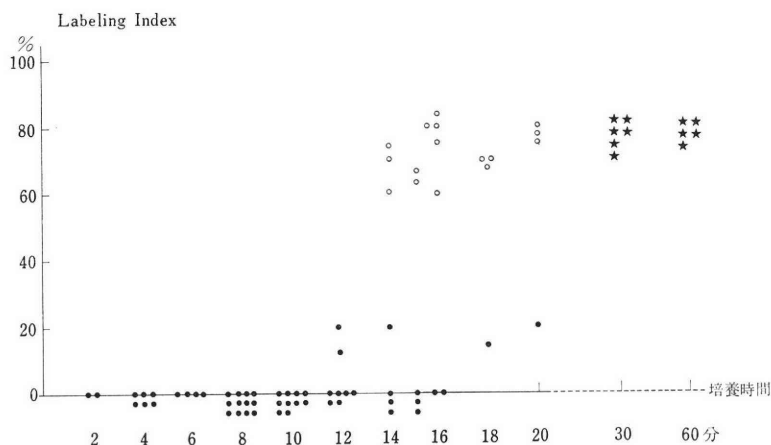


図 1. 一時標識の成績

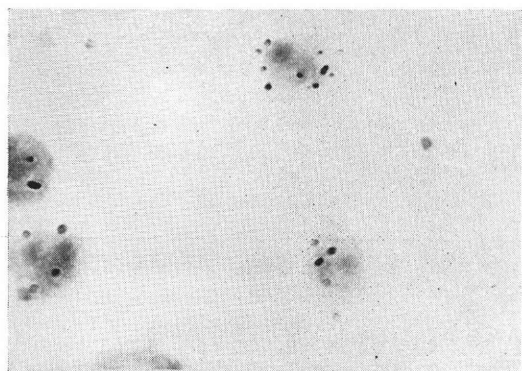


図 2. 12分間の一時標識

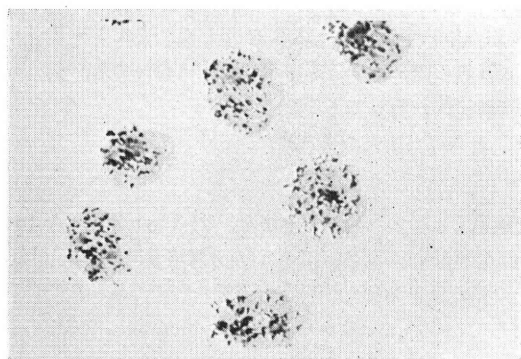


図 3. 60分間の一時標識 (対照)

199+10%CS 中に2回通した後, 同液にて培養した. 使用胞胚の胚齢はすべて, 交尾後6.25日のものである. また染色はスライド作製時のコントラストの関係上, pH 2.9の Carmine 後染色を行なった. また60分の一時標識例を対照とし, 毎実験の際に行ない, 成績を比較した.

1. 正常胞胚の一時標識 (図1)

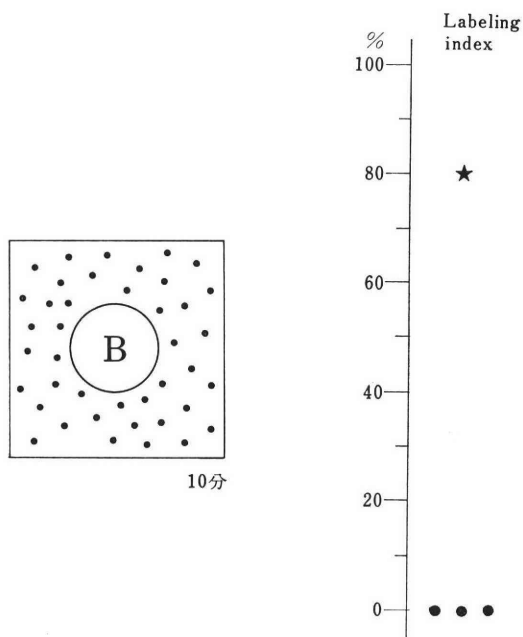


図 4. 透明帯を除去した胞胚の一時標識

Labeling の時間を2~60分 (1~2分おき) とした. 10分以内の34例の全胞胚に uptake はみられなかった. 12分になって始めて, 一部の胞胚の Tr. 細胞に明らかな取り込みが認められた (図2). それより長時間の培養例では取り込みを示す胞胚, L.I. 及び銀粒子数が増し, 18分培養例では全例が (+) であった. しかしこの中, L.I. 及び銀粒子数が対照の60分例 (図3) に比し極端に少ないものもある. 30分培養例では対照にほぼ近い所見であった.

図1中の●印は, uptake が全然みられないか, またはごく少数の銀粒子数の際の胞胚を示し, ★印は対照と

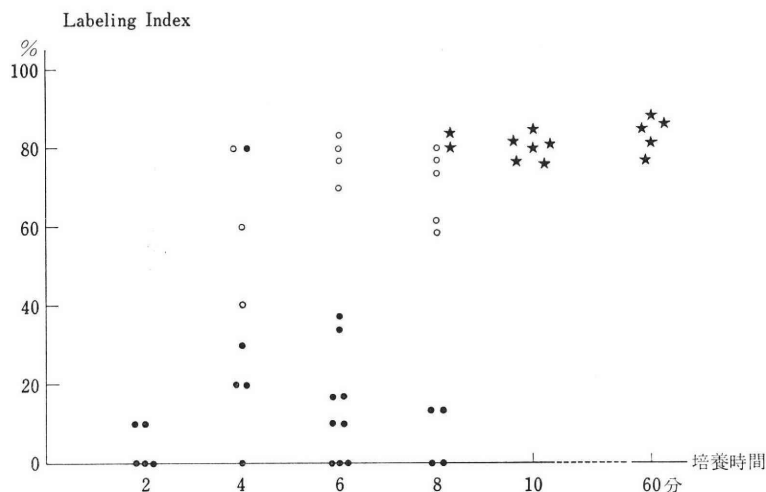


図 5. 一時標識後の追跡例の成績

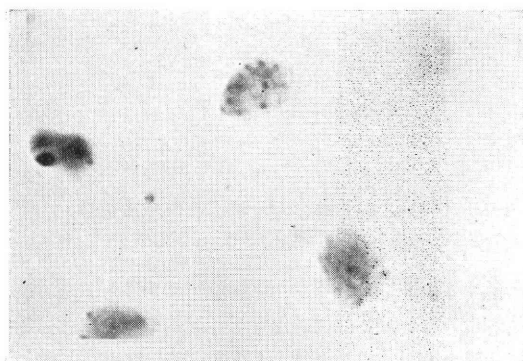


図 6. 2 分間の一時標識後の追跡

ほぼ同数, ○印は, 両者の中間の場合を意味している。

2. 透明帯を除去した胞胚の一時標識 (図 4)

採卵後, 直ちに実体顕微鏡下で皮下針にて透明帯をはずした胞胚を 10 分間一時標識した。

全く取り込みの認められないもの 3 例, 認められたものの 1 例であった。その L.I. は, 約 80% で対照と同じであるが, 銀粒子数はやや少なかった。

3. 正常胞胚の一時標識後の追跡 (図 5)

t 分間 (2~10 分までの 2 分毎) の Pulse labeling 後, TCM 199+10% CS で 3 回洗滌し, 同液にて (60-t) 分間培養し, 全体の時間を 60 分とした。なお再培養時, 培地の一部を液体シンチレーションにて c.p.m. を測定し, natural back ground と同数であることを確かめた。

この際は実験 1 とは異なり, 2 分間の Labeling のもののうち, 明瞭な Graph を示したものがある (図 6)。以後 Labeling の時間を増すと, 実験 1 と類似するパターンの結果を得た。8 分例では (-) のものもあるが,

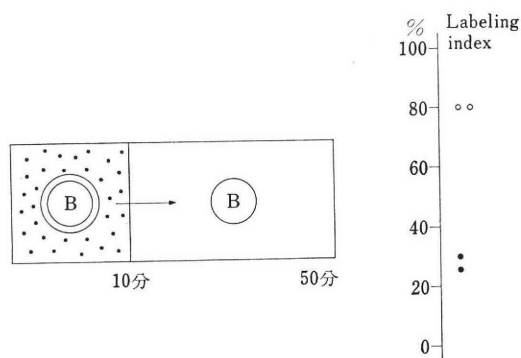


図 7. 一時標識後, 透明帯を除去した胞胚の追跡

10 分例では全例に取り込みがみられ, その L.I. 及び銀粒子数とも対照にほぼ近かった。

4. 正常胞胚の一時標識後, 透明帯をはずしたものの追跡 (図 7)

10 分間の一時標識後, 実験 2 と同様な操作を行なった後, TCM 199+10% C.S. 中で 50 分間培養した。

4 例全部に取り込まれていたが, 2 例の銀粒子数及び L.I. はきわめて少なく, 他の 2 例でも L.I. は約 80% であるが, 銀粒子数は対照の約半分程度である。図 7 の圖は $^3\text{H-TdR}$ を含んだ培地中の培養, □ は含まない場合の培養を意味している。⊙ は正常胞胚, ⊖ は透明帯を除去した胞胚を示している。

5. 10 分間の標識後, 胞胚液を除去したものの追跡 (図 8)

実験 3, 4 と同様に正常胞胚を 10 分間 Pulse labeling した後, 実体顕微鏡下で胞胚液を除去し, 細胞成分のみにしたものを TCM 199+10% C.S. 中で洗滌した後,

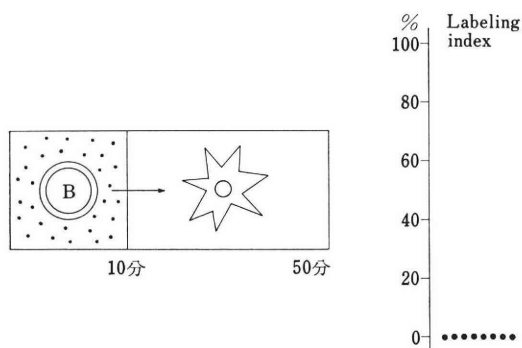


図 8. 一時標識後, 胞胚液を除去したものの追跡

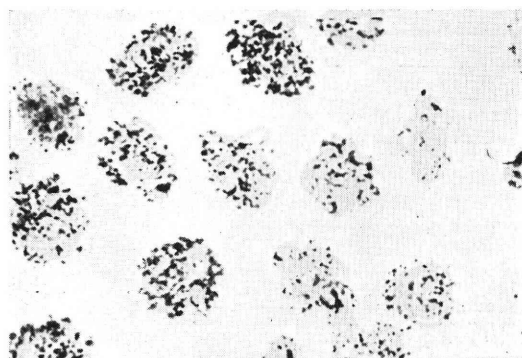


図 10. 細胞部分のみの一時標識で, 取り込みの強い部位

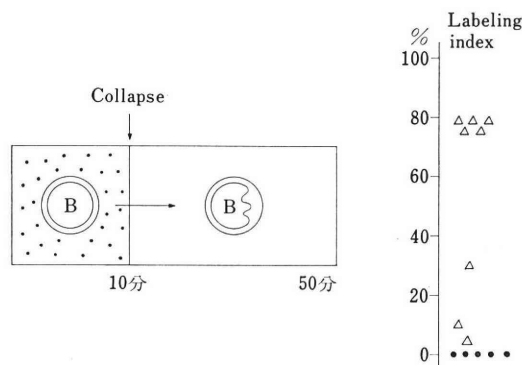


図 12. 一時標識中軽度の Collapse を起した胞胚の追跡

同液にて50分間培養した際の成績は図8の如くであった。

8例全部に取り込みがみられなかった。

6. 最初から胞胚液を除去したものの一時標識(図9)

胞胚回収後, 直ちに胞胚液を除去したものに60分間の Pulse labeling を行なうと, 実験胞胚の約半数に全く取り込みが認められなかった。残りの取り込みのあったものでも L.I. 値, 銀粒子数にはかなりの変動がみられた。細胞部分のみの培養例の特徴的所見としては, 対照群に

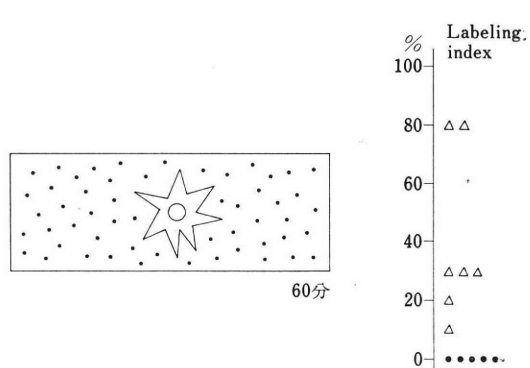


図 9. 細胞部分のみの一時標識

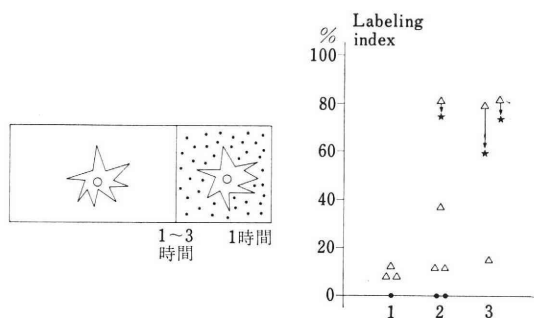


図 11. 細胞部分のみの短時間培養後の一時標識

匹敵する取り込み状態を示す部位(図10)と, 全く取り込みのみられない部位が混在していることである。従つて胞胚全体の正確な L.I. は計算し難いので, 一応取り込み部位周辺のみを計算し, みせかけの L.I. という意味で図9では△印で記載してある。

7. 細胞部分の短時間の培養後の一時標識(図11)

図11の如く胞胚液を除去したものを TCM 199+10% C.S. 中で, 1~3時間培養した後, 1時間の Pulse labeling を行なつてみると, 全然取り込みのみられない例は減少し, 大部分において程度の差はあるが, uptake がみられた。これらも全て正常胞胚の如く均等な取り込みを示さないが, 散在している(一)部位は実験6に比し縮小していた。従つて△印の, みせかけの L.I. も大体真の L.I. に近いので, それを △→★ の記号で示してある。

8. 一時標識中, 軽度の Collapse をおこしたものの追跡(図12)

10分間の Pulse labeling 中, 軽度の Collapse をおこした胞胚を, 続いて TCM 199+10% C.S. 中にて, 50分間培養した後追跡すると, 図12の如くであり, uptake を示した約半数の取り込み状態は, 実験6, 7と同じく局在性を示した。

考 案

HeLa 細胞では ^3H -TdR の 1~2 分の Pulse labeling で Autoradiograph 上に明らかな銀粒子を観察できるという。われわれが用いた家兎胞胚では、1 時間培養では Tr. 細胞の 70~80% に取り込みがみられ、また処々に mitosis が存在しており、旺盛な細胞増殖が行なわれていることが観察され、世代時間は Tr. 細胞で 7.5 時間⁹⁾、Em-d で 13.2 時間¹⁰⁾であることを既に報告し、HeLa 細胞のそれよりかなり短いことが分った。従って培養時間が短くても uptake を示すものと予想したが、実際には $0.1\mu\text{C}/\text{ml}$ の濃度では 12 分以上の培養時間が必要であつた。

家兎胞胚の培養時には他の組織の場合とは異なつた条件が必ず附随する。その 1 は、細胞外壁に透明帯が存在し、直接培地とは接触しないことである。他の 1 つは内側に多量の胞胚液を含んでいることである。胞胚期の透明帯は透過性を増し、子宮分泌液または培地中の成分が容易に胞胚にとりこまれるというが、 ^3H -TdR の透明帯の透過度を知るために実験 2 を行なつた。この際正常な胞胚では透明帯部分のみの除去は非常に難しく、本実験では他の目的で操作中偶然にうまく除去できたものを転用したので、少数例しか行なえなかつた。その成績は相反する 2 種の結果となり、これだけでは明瞭な結論を得られないので、今後ごく軽度の Collapse をおこしかけた処理し易い胞胚を比較検討する予定である。

しかし実験 3 における 2 分間の Labeling 後、58 分培養した例においては明瞭な取り込みを示したものがあり、4 分以上の例では大多数が (+) であつたことは、 ^3H -TdR が 2~3 分以内に透明帯を通過していることを示している。また 10 分間 Labeling 後 TCM 199+10% C.S. 中で培養した場合、すべて対照に近い Graph を得たが、実験 4 のごとく透明帯をはずした場合は、L.I.、銀粒子の減少が認められることは、培地より透明帯を通り内側に入つた ^3H -TdR が ^3H -TdR free の培地で培養中、逆に培養液中に流出するのを、透明帯が防止しているのではないと思われる。但し細胞壁を無傷にして透明帯のみを除去したと思つても、ごく小さな細胞または細胞間隙の損傷部を通しての流出も想定しなければならないので、この点についてもなお検討する必要がある。

実験 1、3 および胞胚液の c.p.m. の経時的測定により ^3H -TdR が胞胚液中に流入した後 Tr. 及び Embryoblast の DNA 合成に利用されると推定された。この際第 2 回目の培養時 ^3H -TdR の貯溜源である胞胚腔の内容を除去すれば取り込みを示さないものと予想し、実験 5 を行ない、予期の如く全く uptake を示さなかつた。

しかし、この場合は細胞成分のみにするという胞胚としての形態を全く無視した培養条件にしたために、環境の変化による細胞増殖の一時停止を考えなければならないので、対照として実験 6 を行なつた。これでは半数に uptake が認められなかつたが、残りの uptake を示したものでは正常胞胚の 60 分培養例に匹敵する銀粒子数を示していた。10 分間の一時標識後胞胚液を除去したもので、このように強い取り込みを示す部位が全然ないので、一時標識後の追跡における銀粒子は胞胚液中の ^3H -TdR によるものとする推測を裏付けた。

また実験 6 で、uptake を示さないものにおける環境変化の影響を考慮して、実験 7 の如く適当な時間の培養後に Pulse labeling を行なつたが、uptake を示さない例が減少し、程度の差はあるけれども大部分が uptake を示した。これ等の Graph の特徴的所見は強い取り込みを示す部位と全然 uptake を示さない部位が混在することであり、正常胞胚ではこのような所見はなく、全般的に均等に取り込まれている。この取り込みの部位の局在性については現在いまだ結論をえていないが、胞胚を in vitro で培養した場合、in vivo より環境変化があり、胞胚液を除去した際には in vivo より in vitro への移動以上に環境変化が生じ、部分的な細胞増殖停止をおこしたとも考えられる。しかし軽度の Collapse を起こした胞胚にも同様な取り込み状態の局在性を示しており、両者に共通する条件は正常な胞胚におけるように、内に多量の胞胚液を含み緊張した球形の細胞構造の欠如である。従つて、着床前の胞胚の細胞は、この構造の下にのみ旺盛な規則的な増殖を続けているのかもしれない。

結 論

交尾後 6.25 日の家兎胞胚の ^3H -Thymidine Autoradiograph により、 ^3H -TdR の濃度が $0.1\mu\text{C}/\text{ml}$ の際は Graph 上に明瞭な銀粒子を生ずるには 12 分以上の Labeling が必要であつた。しかし Pulse labeling 後の培養実験では 2 分間の Labeling で取り込みを示し、10 分間では対照に匹敵する所見を得た。この際胞胚液を除去したものの培養例では、全く uptake を示さなかつたことから、培地中から胞胚液に混入した ^3H -TdR が細胞の DNA 合成に利用されたと考えられる。また細胞成分のみのもの及び軽度の Collapse を起こした胞胚には、取り込み部位の局在性が認められ、胞胚の細胞は正常構造を保つとき旺盛な細胞増殖が均等に行なわれていると推定された。

本論文は第 17 回日本不妊学会のシンポジウム「胞胚の形態と機能」で発表したものの一部である。林教授の御

校閲を感謝します。

文 献

- 1) Lutwak-Mann, C.: J. Embry. Exp. Morph., 2, 1 (1954).
- 2) Lutwak-Mann, C.: Nature 193, 653(1962).
- 3) Lesinski, J. et al.: Am. J. Obst. Gynec., 98, 48(1967).
- 4) Sugawara, S. et al.: Anat. Rec., 158, 281 (1967).
- 5) 田口修三郎: 日不妊会誌, 16, 174(1971).
- 6) 間壁さよ子: 日不妊会誌, 14, 373(1969).
- 7) Moog, F. et al.: J. Embry. Exp. Morph., 6, 57(1958).
- 8) 林 基之等: 医学のあゆみ, 63, 583(1968).
- 9) 林 基之等: 臨産, 22, 841(1968).
- 10) 平川 舜: 日不妊会誌, 15, 287(1970).
- 11) 田宮親等: 第12回先天異常学会 総会 講演要旨 (1972).

Some observations on the rabbit blastocysts—especially using Moog's flat-mount technique

Akira Iwaki, Shun Hirakawa, Chikashi Tamiya,
Noritsune Shimizu, Tadahiko Kurosawa,
Shigeyuki Yonemoto, Tsuneyoshi Jo
and Akiko Nozawa

Dept. of Obst. & Gynec. Toho Univ. School
of Med. Tokyo, Japan
(Director: Prof. M. Hayashi)

The rabbit blastocysts (6.25 days old, p.c.) were cultured in semisynthetic media (TCM 199+10% calf serum) containing ^3H -thymidine ($0.1 \mu\text{C}/\text{ml}$). The following data were obtained from the autoradiographs made by flat-mount technique after the continuous or pulse labeling under the various conditions, i.g., intact, flattend, and slightly- collapsed blastocysts.

(1) The intact blastocysts must be exposed to ^3H -thymidine (^3H -TdR) for at least 12 minutes before grains appeared in nuclei.

(2) The blastocysts could utilize the pooled precursor to synthesize DNA, when they were re-incubated for 58 minutes in thymidinefree media after 2 minutes incubation in the hot media.

(3) The incorporation was not detected in the flattend blastocysts which were cultured in ^3H -TdR-free media after washing out the blastocoelic fluid exposed to hot thymidine for ten minutes before rupture.

(4) But more than half of samples in flattend blastocysts were labeled when cultured for 1 hour in hot media. Activity in DNA synthesis varied from each region in ruptured blastocyst, even though the localization was not clearly demonstrated.

(5) Slightly-collapsed blastocysts showed the same phenomenon in DNA synthesis as in (4).

Wistar-Imamichi rat の性周期における時間経過と HCG および PMSG による排卵誘起の関係

Changes in the Response to HCG and PMSG Induced Ovulation during
Various Phases of a 4-day Estrous Cycle in Wistar-Imamichi Rats

中外製薬株式会社総合研究所

信 永 利 馬 岡 本 道 生 高 橋 和 明

Toshima NOBUNAGA, Michio T. OKAMOTO Kazuaki W. TAKAHASHI

Research Laboratories, Chugai Pharmaceutical Co., LTD.

成熟 Wistar-Imamichi rat を用いて HCG および PMSG の direct な排卵誘起反応を指標にして一性周期を通じての卵巢の反応性について検討した。成績は第1図の通りで陰垢的発情期の日には排卵を誘発できず、発情後期の日の0 am., 9 am., 4 pm., 発情中期の日の0 am, 9 am., 4 pm., 発情前期の日の0 am, 9 am, における50%の動物に排卵を誘発させるために必要なホルモン量はそれぞれ PMSG では192IU., 21.3IU., 17.6IU., 11.2IU., 5.4IU., 5.6IU., 5.0IU., 3.3IU. であり, HCG では64IU., 7.2IU., 3.5IU., 1.6IU., 1.5IU., 1.5IU., 0.9IU., 0.7IU. であつた。このように卵巢の反応性と時間経過は直線的な関係ではなく, HCG はV期の日のみに反応曲線の横這を示す時間帯があり, PMSG ではIV期およびV期の日に鋭敏度の横這を示す時間帯が認められた。その横這を示す時間帯は主として昼であり, PMSG は HCG よりも約 $\frac{1}{3}$ 日遅れた pattern を示した。

最近微量定量技術の著しい進歩にとともない Releasing factor や Gonadotrophin, 卵巢からのホルモンなどの測定が容易になり, 性周期に関する研究も急速に多様化とともに Pico gramme の approach に変わりつつあることは周知の通りである。こうした中にあつて著者らは実験動物の側の条件を厳格にして実験精度を上げることに努力をしており, 性周期を正しく反復する動物の開発¹⁾²⁾, 性周期の基礎的諸現象の観察³⁾⁴⁾⁵⁾, 下垂体からのホルモン放出⁶⁾⁷⁾, 一性周期中の種々の時期に排卵を誘起させ, その後に来る排卵時期⁸⁾⁹⁾などについて報告した。こうした基礎研究から性周期中の卵巢側の反応性について検討をしておく必要を感じ, 排卵反応を指標として性周期の各時期に HCG を投与し, 卵巢の反応性を検討してきた⁵⁾。今回は PMSG を投与して HCG の場合⁵⁾と同様の検討を行なつたので報告する。

材料および方法

動物は当研究所で生産された Csk: Wistar-Imamichi rat³⁾⁴⁾¹⁰⁾(120~150日齢, 230~350g) で正しく2回以上

4日周期を反復した後に用いた。

飼育条件は HCG の場合⁵⁾と同様で5 am. 点燈, 7 pm. 消燈(14時間照明)の照明時間調節を行ない, 金網ケージに10匹飼育した。

PMSG は東芝製薬製のセラルモン(製造番号09227, 1アンプル1000IU.)を用い, 6アンプル(6000IU.)を同時に滅菌生理食塩液で0.4ml中にPMSGの32IU.が含まれるように溶解し, 全液を小試験管に2mlずつ分けて入れ, パラフィルムで密封し, フリーザー中に保存した。なお高単位用は3アンプル(3000IU.)を0.4ml中に512IU.が含まれるように生理食塩液で溶解してフリーザー中に保存した。

使用に当つては約30分前にフリーザーから取り出し, 室温で溶解し, 生理食塩液にて必要単位に希釈して用いた。

使用した PMSG は既に報告した投与経路による排卵誘起力の差異についての検討に用いた PMSG (セラルモン, 製造番号 00940, 09203)¹¹⁾と50%の動物に排卵

誘起するホルモン量で比較した場合、効力はほぼ同様で既報のセラルモンでは 5.7IU. であり、今回の使用したセラルモンでは 5.6IU. であった。

投与はⅢ期（膣垢の発情期）の日の 4 pm., IV期（発情後期）の日の 0 am., 9 am., 4 pm., V期（発情間期）の日の 0 am., 9 am., 4 pm., I期（発情前期）の日の 0 am., 9 am., 4 pm. から各々 1 時間以内に終了するように背中足静脈から確実にこなつた¹²⁾。なお I 期の日の 4 pm. 投与の場合は誘起排卵時刻と自然排卵時刻とが完全に重なるために I 期の日の 1 pm. に Nembutal 40mg/kg を腹腔内投与して下垂体からの Gonadotrophin 放出を抑制¹³⁾¹⁴⁾しておいて PMSG を投与した。また I 期の日の 9 am. に投与し、20 時間後に解剖する場合は自然排卵した卵と排卵を誘起させた卵を混同して判定する可能性もある。そこで投与した I 期の日の 1 pm. に Nembutal 40mg/kg を腹腔内投与し、I 期の日の排卵ホルモン放出を抑制した条件も加えて検討した。

解剖検査は投与後 20 時間で行なつた。なお V 期の日の 9 am. 投与および I 期の日の 9 am. 投与群は投与後 15 時間および 20 時間で行なつた。

卵の検索は既報⁵⁾の如く切り出した卵管を 2 枚のスライドグラスに挿んで行なつた。卵の新旧は排卵後の時間経過にともなう卵の形態の変化⁴⁾により判定した。

成 績

第 1 表はⅢ期の日の 4 pm. から I 期の日の 4 pm. までの間の種々な時間に PMSG の静脈内投与を行ない、誘起排卵の有無について検討した成績である。Ⅲ期の日の 4 pm. では 512IU. を投与しても排卵は認められず、IV期の日の 0 am. 投与では例数は少ないが 128IU. 投与で 3 匹中 1 匹に排卵が認められ、256IU. では 3 匹中 2 匹に排卵が認められた。

I 期の日の 9 am. 投与後 15 時間で解剖した成績は 2 IU. 投与では 0% であり、4 IU. 投与では 0% であつて 75% の動物に排卵が認められた。なお I 期の日の 9 am. に PMSG 4IU. を投与し、その日の 1 pm. に Nembutal を投与し、PMSG 投与後 20 時間で解剖した成績では 4% であり 67% の排卵率であつた。この成績は 15 時間で解剖した成績と著しい差異がないことから麻酔されていない 15 時間のみの成績を表には記述した。

I 期の日の 4 pm. 投与では自然排卵と誘起排卵の時間が重なるために、I 期の日の 1 pm. に Nembutal 40 mg/kg の腹腔内投与を行ない、下垂体からの排卵ホルモン放出を抑制しておいて 4 pm. に PMSG を投与した。その結果は 2 IU. では 0% であり、4 IU. では 0% で 9 am. 投与よりもやや排卵した動物の割合は高くなつた。

第 2 表は第 1 表に示した実験に用いた動物の無排卵個体を含む平均検出卵数および最低、最高排卵数の成績である。（ ）内には卵管内に留まつていた Gonadotrophin 投与前の自然排卵による卵が平均値で現わされている。

次に投与時間ごとの成績を比較しやすくするために第 1 表の成績から 50% の動物の排卵誘起に必要なと思われる PMSG 量を IU. で算出し、投与時刻別に示したのが第 1 図の点線である。実線は既に報告した HCG の投与における 50% の排卵誘起量を投与時刻別に示した成績である⁵⁾。PMSG も HCG もともにⅢ期の日の午後の投与では排卵を誘発せず、IV期の日の 0 am. から排卵が見られ、PMSG では 50% の動物に排卵を誘起する量は 192IU. であり、HCG では 64IU. であつた。9 am. では PMSG で 21.3IU. であり、HCG では 7.2IU. であつて、0 am. の成績と 9 am. の成績を結び両者はほぼ平行線を示し、投与ホルモンに対して卵巣は急速に鋭敏な反応を示すようになった。IV期の日の 4 pm. 投与における 50% の動物に排卵を誘発するホルモン量は PMSG で 17.6IU. であるのに対して HCG では 3.5IU. であつて PMSG の反応曲線は 9 am. から横這に近い状態になるのに対して HCG は 9 am. 以前の反応曲線に比較して PMSG のように横這に近い状態にならなかつた。V期の日の 0 am. では PMSG で 11.2IU. に対し HCG では 1.6IU. であつて、PMSG では再び急速に鋭敏度を増し、HCG では IV期の 9 am. から引続き急速な鋭敏度の増加を示した。V期の日の 9 am. では PMSG で 5.4IU. であるのに対して HCG では 1.5IU. であつて PMSG では V期の日の 0 am. に引続き同様の鋭敏度の増進があるのに対して HCG では V期の日の 0 am. から横這になつている。V期の日の 4 pm. では PMSG は 5.6IU. であり、HCG は 1.5IU. であつて両者とも 9 am. とほぼ同様の値で反応曲線は横這を示している。I 期の日の 0 am. 投与では PMSG で 5.0IU., HCG では 0.9IU. であつて、PMSG は V期の日の 4 pm. とほぼ同様の値で横這状態を示しているのに対して HCG は再び急速な鋭敏度の増進を示した。I 期の日の 9 am. 投与における 50% の動物に排卵を誘起するに必要なホルモン量は PMSG で 3.3IU. であり、HCG では 0.7IU. であつて PMSG では三度び卵巣の反応性が急速に鋭敏になるのに対して HCG ではすでに横這に近い反応曲線を示している。

考 察

本実験では Gonadotrophin 投与による direct な排卵誘起力の比較をしているので結果の検討するに当り考え

Table 1 Induced ovulation by i.v. injection of PMSG during the normal 4-day estrous cycle in the rats.

dosd	1 IU	2 IU	4 IU	8 IU	16 IU	32 IU	64 IU	128 IU	256 IU	512 IU
Stage III	0 AM	() : rate of animals with proexisting ova due to spont. ovulation								
	9 AM	/ : rate of animals induced ovulation by PMSG								
	4 PM				0/1	(1/1) 0/2	0% (2/2)	0/1 (1/1)	0/5 0% (5/5)	0/4 0% (4/4)
Stage IV	0 AM							0/2 (1/1)	0/1 (1/1)	1/1 (0/1)
	9 AM									Ovulation in 50% : 21.3IU
	4 PM	0/1 (1/1)	0/5 0% (5/5)	0/7 0% (5/7)	4/9 44% (9/9)	8/8 100% (7/8)				Ovulation in 50% : 17.6IU
Stage V	0 AM		0/2 0% (2/2)	1/6 17% (6/6)	5/5 100% (4/5)					Ovulation in 50% : 11.2IU
	9 AM	0/3 0% (0/3)	2/9 22% (0/9)	8/8 100% (1/8)						Ovulation in 50% : 5.4IU
	4 PM	0/2 0% (0/2)	2/8 25% (0/6)	8/9 89% (0/7)	4/4 100% (0/4)					Ovulation in 50% : 5.6IU
Stage I	0 AM	0/3 0% (0/3)	2/6 33% (0/6)	5/5 100% (0/5)						Ovulation in 50% : 5.0IU
	9 AM	0/9 0% (0/9)	6/8 75% (0/8)							Ovulation in 50% : 3.3IU
	4 PM	0/3 0% (0/3)	6/6 100% (0/6)		2/2 100% (0/2)	2/2 100% (0/2)				Ovulation in 50% : 3.0IU

Nembutal anesthesia at 1 PM of day of proestrous stage

Table 2 Average number of ova induced ovulation by PMSG during the normal 4-day estrous cycle.

dose	1 IU	/: IU	4 IU	8 IU	16 IU	32 IU	64 IU	128 IU	256 IU	512 IU
Stage III	0 AM									
	9 AM									
	4 PM									
Stage IV	0 AM					0	(12.0)	0	(13.5)	0 (7.0)
	9 AM							0	(13.0)	0 (12.0) 0 (15.0)
	4 PM					0.3 0~1	(8.4)	4.3 2~10	(5.7)	3.0 (11.0) ~3
Stage V	0 AM					0	(9.0)	0	(6.4)	1.7 0~8
	9 AM					0.3 0~1	(8.4)	4.3 2~10	(5.7)	
	4 PM					0	(9.0)	0	(6.4)	1.7 0~8
Stage I	0 AM					0	(12.5)	0.3 0~2	(8.5)	6.0 5~8
	9 AM					0	(0)	0.2 0~1	(0)	7.4 2~14
	4 PM					0	(0)	0.8 0~5	(0)	8.7 0~14
Stage I	0 AM					0	(0)	1.2 0~6	(0)	12 9~15
	9 AM					0	(0)	5.4 0~12	(0)	
	4 PM	0 (0)	0 (0)	8.0 3~12	(0)	0	(0)	12.0 ~12	(0)	10.5 10~11 (0)

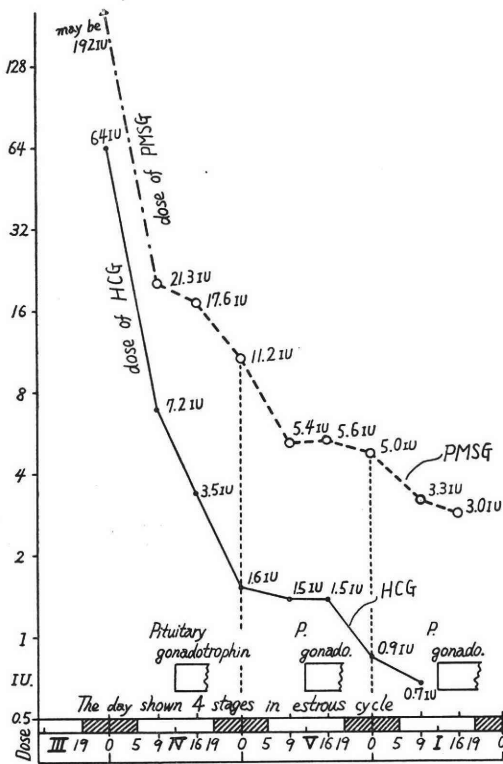


Fig. 1 Doses of HCG and PMSG injected to induce ovulation in 50% of animals during various phases in the estrous cycle.

てる必要のある問題がある。すなわち、梅津¹⁵⁾の幼若
 ラットに PMSG を投与し、52 時間で Nembutal を投
 与し排卵を抑制した成績から類推すると成熟ラットの V
 期の日の午前 9 時に投与した PMSG に、もし急速な卵
 胞発育作用があり、I 期の日の状態まで卵胞発育が進む
 とすれば I 期の日と同様の下垂体排卵ホルモンの大量放
 出が V 期の日の午後にあり、それにより排卵がある可能
 性も考えられる。そこで第 1 図の V 期の 9 pm. 投与 20 時
 間後の解剖成績に加えて投与後 15 時間 (Gonadotrophin
 投与から排卵までは約 12 時間であることから) 11 pm. 解剖
 では 2 pm. 以後に排卵ホルモンの大量放出があつても成
 績に影響しない) について検討した。PMSG 4 IU. 投与
 では $\frac{1}{7}$ であつて 14% の動物に排卵しており、8 IU. では
 6 匹全例に排卵が認められ、20 時間後に解剖した成績と
 著しい差異はなかつた。笹本¹⁶⁾は幼若雌ラットに PMSG
 3 IU. を投与した場合、卵胞が排卵しうる状態にまで発
 育するのに 30 時間以上 PMSG の関与が必要であることを
 認めている。また後述する Okamoto et al.⁷⁾ の成績
 から約 4 pm. に Gonadotrophin の放出があるとすると
 本成績における PMSG の排卵反応が鋭敏になるまでに

要する時間は約17時間であつた。したがつて幼若ラットの場合とは多少異なる可能性はあるがおそらく上述の成績の如く PMSG 投与後20時間までに卵胞を发育させ、それにとりなう下垂体の排卵ホルモンの放出、そして排卵の起る可能性はないものと思われた。

次に HCG および PMSG の両ホルモンに対する排卵を指標とした卵巣の反応曲線は共に V 期の日では横這を示す時間帯があり、PMSG では特に IV 期の日にも反応曲線の横這に近い状態を示す時間帯が認められた。ことに 9 am. 投与と 4 pm. 投与の成績はほとんど差異がなかった。しかし Okamoto et al.⁷⁾ は 4 日性周期ラットにおける IV 期の日の午後および V 期の日の午後、Nembutal の投与をすることにより性周期日数の 1 日延長する時間帯が I 期の日の午後と同様にあることを認めた。したがって IV 期の日の午後、V 期の日の午後および I 期の日の午後には下垂体からの Gonadotrophin の放出があることは明らかである。一方において今道、江藤¹⁵⁾ および Imamichi¹⁶⁾ は成熟 4 日周期ラットの V 期の日に Gonadotrophin を投与し、20 時間後に解剖する方法により検討した結果 FSH も LH もともに排卵誘起力があり、Prostate unit を基準にすると FSH の方が LH よりもむしろ排卵誘起力が強いことを報告している。

そこで例えば V 期の日の 4 pm. に PMSG あるいは HCG を単独で投与した場合には下垂体から放出されたホルモン量に、投与されたホルモン量が協力した状態で排卵が誘起されることになる¹⁹⁾。もしこのような考え方が正しいならば V 期の日の 4 pm. に投与したホルモンは少量で排卵を誘発するはずである。しかし本成績では PMSG も HCG もともに 50% の排卵誘起を示すホルモン量は 9 am. 投与も 4 pm. 投与もほぼ同様に反応曲線は横這を示した。このことから V 期の日の午後には放出される Gonadotrophin が量的に微量であるかあるいは質的に排卵誘起にほとんど直接影響を示さないかまたはこの時間帯は卵巣自身あるいは卵巣の置かれている環境条件に排卵をさせにくくする要因のある可能性などが考えられ興味深い。

PMSG と HCG における反応曲線の横這になる pattern の相異は PMSG で V 期の 9 am. から翌朝の 0 am. までの投与であるのに対して HCG では V 期の日の 0 am. から 4 pm. までの投与であつて、PMSG の反応曲線の方が HCG のそれよりも約 $\frac{1}{3}$ 日遅れて横這になり、また PMSG の方が HCG よりも約 $\frac{1}{3}$ 日遅れて鋭敏度の急増を示す。

今道ら²⁰⁾は発情間期の午後に下垂体を摘出し、同時に PMSG あるいは HCG を投与して排卵誘起反応の検討を行ない、下垂体摘出しない場合に比較して下垂体摘出

群は多くのホルモンの投与量を必要とするが、その割合は HCG よりも PMSG の方が遙かに大きいことを認め Gonadotrophin 注射後排卵誘起に至るまでの時間には下垂体から分泌される Gonadotrophin がこの誘起排卵にわずかながら関与していることを明らかにし、PMSG では HCG よりも下垂体 Gonadotrophin の協力を必要とする割合が大きいことを報告した。したがって今道ら²⁰⁾の成績から HCG よりも PMSG の方が下垂体からの Gonadotrophin の影響を多く受けて卵胞の発育した状態に置かれていなければならないとすると、下垂体の Gonadotrophin 放出から PMSG あるいは HCG による排卵が誘発されやすい段階の卵胞にまで発育するのに時間が必要になる。そして PMSG の方が HCG の場合よりも長時間を必要とすることになる。しかしこの考え方にも 2, 3 の問題点があり現在の段階では PMSG と HCG の反応の横這になる時間帯が約 $\frac{1}{3}$ 日異なる点に関する十分な説明ができない。

下垂体から Gonadotrophin 放出により、卵胞が PMSG や HCG 投与に対して排卵しやすい状態に変化する時間は本実験のみからは明白ではないが Okamoto et al. の Nembutal 投与による性周期日数の 1 日延長する時間帯 (4pm.) から換算すると HCG では約 8 時間であり、PMSG では約 17 時間であつたが更に詳細な検討が必要である。

本報告の概要は日本畜産学会第 59 回大会 (1971) において報告した。

文 献

- 1) 信永利馬, 中村勝美, 吉田幸雄: マウスの性周期 (膣垢像) に及ぼす育種及び環境の影響. 家畜繁殖誌, 11, 7-15, 1965.
- 2) 信永利馬: 正しく 4 日性周期 (膣垢像) を画く 4 CS 系マウスについて. 1. 育成. 実験動物, 16, 142, 1967.
- 3) 信永利馬, 中村勝美: Wistar-Imamichi rat の性周期 (4 日) ならびにこれに伴う生理学的諸現象に関する基礎的検討. 1. 膣垢像の連続的観察. 家畜繁殖誌, 14, 1-7, 1968.
- 4) 信永利馬, 中村勝美, 小島 操, 新谷参郎: 同上. 2. 臓器重量の変化および卵の下降の時間経過に伴う変化. 家畜繁殖誌, 14, 8-16, 1968.
- 5) 中村勝美, 小島 操, 信永利馬: 同上. 3. 性周期の時間経過と HCG の排卵誘起に対する鋭敏度の関係. 家畜繁殖誌, 14, 47-52, 1968.
- 6) 岡本道生, 信永利馬: ラットにおける性周期日数に対する Nembutal 投与の影響. 日本獣医学雑誌 31 (学会号), 220-221, 1969.
- 7) Okamoto, M. T., T. Nobunaga and Y. Suzuki: Delay in ovulation with pentobarbital anesthesia applied at various stages of the 4-day

cyclic rat. Endocrinol. Japon. 19, 11-17, 1972.

- 8) 信永利馬, 中村勝美, 新谷参郎: HCG 投与による誘起排卵に続く次回自然排卵日時を検討. 1. 発情周期の午後 4-5 時投与の成績. 家畜繁殖誌, 13, 90-96, 1967.
- 9) 中村勝美, 小島 操, 新谷参郎, 信永利馬: 同上. II. 発情後期, 発情休止期および発情前期の午前 0 時, 午前 9 時, 午後 4 時投与の成績. 家畜繁殖誌, 14, 129-138, 1968.
- 10) 今道友則: 繁殖生理学および内分泌学研究に適する生理的特徴を目標とした Wistar-Imamichi rat の育成について. 日本臨床, 19, 99-109, 1961.
- 11) 信永利馬, 高橋和明: Gonadotrophin による排卵誘起反応における皮下腹腔内および静脈内注射間の鋭敏度の比較. V. 4CS マウスと Wistar-Imamichi ラットにおける PMSG の投与成績. 家畜繁殖誌, 13, 85-89, 1967.
- 12) Nobunaga, T., K. Nakamura and T. Imamichi: A method for intravenous injection and collection of blood from rats and mice without restraint and anesthesia. Laboratory Animal Care 16, 40-49, 1966.
- 13) Everett, J. W. and C. H. Sawyer: A 24-hour periodicity in the "LH-release apparatus" of female rats disclosed by barbiturate sedation. Endocrinol. 47, 198-218, 1950.
- 14) 江藤禎一, 豊田 裕, 星冬四郎: ラットの排卵ホルモン放出に対する卵巣ホルモンの影響. 1. Wistar strain rat における排卵誘起の為の視床下部興奮の時期について. 家畜繁殖誌, 3, 118-126, 1958.
- 15) 梅津元昭: 雌ラットの性成熟到来に関する研究——PMSG 注射の下垂体排卵ホルモン含量に及ぼす影響. 家畜繁殖誌, 15, 120-125, 1970.
- 16) 笹本修司, A. L. Kennan: PMSG 処置幼若ラットの卵胞発育に際して演じられる内因性性腺刺激ホルモンの役割. 日本獣医学雑誌 34 (学会号), 144, 1972.
- 17) 今道友則, 江藤禎一: FSH が排卵誘起作用を有する可能性について. 家畜繁殖誌, 7, 159-168, 1962.
- 18) Imamichi, T.: Demonstration of biological differences of pituitary and placental gonadotrophins by comparing ovulation inducing activity and prostate stimulating activity. Proceedings of the third Asia and Oceania congress of endocrinology 660-667, 1967.
- 19) 今道友則, 信永利馬, 三浦豊彦, 佐藤 栄: 排卵誘起反応に及ぼす HCG と PMSG との協力作用について. 日本獣医学雑誌 20 (学会号), 369, 1958.
- 20) 今道友則, 信永利馬, 三浦豊彦, 塩田 尚三: HCG ならびに PMSG 単一皮下注射による成熟ラットの排卵誘起反応に及ぼす麻酔および下

垂体剥出の影響. 日本獣医畜産大学紀要, 10, 31-36, 1961.

Changes in the response to HCG and PMSG induced ovulation during various phases of a 4-day estrous cycle in Wistar-Imamichi rats

Toshima Nobunaga, Michio T. Okamoto
and *Kazuaki W. Takahashi

Research Laboratories, Chugai Pharmaceutical
Co., LTD, 3-chome, Takada,
Toshima-ku Tokyo 171

*Present address: The Institute of Environmental
Toxicology, Suzuki-cho 2-772,
Kodaira-shi, Tokyo 187

This study was carried out for the purpose seeing the difference of sensitivity of the ovary to PMSG and HCG injection during one estrous cycle. The direct ovulation inducing effect as an indicator of the sensitivity, was tested in the adult 4-day cyclic rats, 120-150 days of age, 230-350 g, reared under the constant lighting from 5 am. to 7 pm. They received single intravenous injection¹²⁾ of PMSG or HCG during various phases of a 4-day estrous cycle and were autopsi-

ed 20 hours after each injection. But, in the case of injection at 9 am. of the day of proestrus, animals was autopsied 15 hours after injection. Ova ovulated in oviduct are inspected under a phase microscope at magnification of 100 times.

1. In the injection of PMSG or HCG during the day of estrous stage, ovulation was not induced.

2. The amounts (IU.) of PMSG (Table I) or HCG⁵⁾ to induce ovulation in 50% of treated animals are shown in Fig. 1.

In the injections of metestrus: 0 am., 9 am. and 4 pm., diestrus: 0 am., 9 am and 4 pm., and proestrus: 0 am. and 9 am., they were respectively 192 IU., 21.3 IU., 17.6 IU., 11.2 IU., 5.4 IU., 5.6 IU., 5.0 IU. and 3.3 IU. in PMSG injection and 64 IU., 7.2 IU., 3.5 IU., 1.6 IU., 1.5 IU., 1.5 IU., 0.9 IU and 0.7 IU. in HCG injection.

3. The amounts (IU.) of hormones responded to 50% of animals were not linearly connected with response curve of ovary by PMSG or HCG. The plateaus were shown at metestrus and diestrus in the curve with PMSG injection but only at diestrus in the curve with HCG injection.

4. The plateau in the PMSG injection curve at diestrus was about one third day later than in the HCG injection curve.

高齢未経産マウスの繁殖能力

Reproductive Performance of Aged Female Mice

農林省家畜衛生試験場研究第I部, 東京, 小平

北 徳 猪 貴 義
Megumu KITA Takayoshi INO

First Research Division, National Institute of Animal Health, Kodaira, Tokyo.

高齢未経産マウスと成熟未経産マウスの生殖周期を通じての繁殖能力を比較するために, 250~280日齢と90~120日齢の CFW 系マウスを用いて検討し, 次の結果を得た.

- 1) 性周期においては, 両日齢間に大きな差は認められなかった.
- 2) 交尾率, 妊娠率, 分娩率は, 両日齢間に有意差はなかったが, 妊娠率では, 高齢未経産マウスに低下の傾向が認められた. また, 高齢初産マウスでは, 55%のものに異常分娩が認められた.
- 3) 排卵数, 着床数, 産子数においては, 高齢未経産マウスが成熟マウスに比較して有意な減少を示しており, 産子数は, 成熟マウスの約半分であつた. さらに, 高齢未経産マウスの着床後胚死亡率が有意に高かつた.
- 4) 胎子成長, 乳子成長では, 高齢マウスの胎子, および, 乳子の成長が, 成熟マウスの胎子, および乳子の成長に比べて有意に遅れた.

結 言

近年, 老化に伴う生体の生理的, 病理的な変化が注目され, その検討が極めて重要な問題となつてきた.

老齢期の繁殖能力については, 一般に, 老化に伴つて繁殖能力の低下が起るとする報告が多数あげられている (Grünberg 1952, Ortiz 1955, Ingram, et al. 1958, Soderwall, et al. 1960, Finn 1962, Blaha 1964, Franks & Payne 1970, 一戸ら 1972 (a) (b), その他).

これまでに, マウス, ラットなどの多胎動物では, 老化に伴う繁殖能力の低下としては, 排卵数の減少 (Blaha 1964, Talbert & Krohn), 着床率の低下 (Harman & Talbert 1970), 胚死亡率の増加 (Grünberg 1952, Soderwall, et al. 1960, Finn 1962), さらに, これらの結果として一腹産子数の減少 (Grünberg 1952, Ingram, et al. 1958, Soderwall, et al. 1960, Finn 1962, Franks & Payne 1970, 一戸ら 1972 (a)) などがあげられている.

また老化に伴う生殖系機能の低下としては, 卵巣機能の低下 (Harman & Talbert 1970, Talbert

1971), 卵巣の性腺刺激ホルモンに対する感受性の低下 (Ortiz 1955, Green 1957, Labshetwar 1967, 一戸ら 1972 (a) (b)), 下垂体からの性腺刺激ホルモン放出量減少 (Labshetwar 1967, 1969), 妊娠卵巣の progesterone 分泌減退 (Haurer & Foote 1972), 子宮機能の低下 (Blaha 1964 (a) (b), Talbert & Krohn 1966, Finn 1966, Finn & Martin 1969), さらに, 卵子の viability 低下 (Blaha 1964, Talbert & Krohn 1966, Maurer & Foote 1971) などの諸点があげられている.

以上のように, これまでに, 老化に伴う繁殖能力の低下について多くの報告がみられるが, 老齢動物を用い, 発情, 交尾, 妊娠, 分娩, さらに乳子の哺育など, 一連の繁殖形質について, 生殖周期 (reproductive cycle) を通じての連続的な観察と検討を行なつた報告例はみられない. 老齢動物の繁殖能力における問題点を明確にするためには, このような生殖周期を通じての連続的な観察が必要と思われる.

本報告は, 若い成熟未経産マウスと, 高齢未経産マウスを用いて, 発情から乳子哺育能力に至るまでの繁殖能力を, 連続的に比較, 検討したものである.

材料および方法

使用したマウスは、当研究室で系統維持を行なっている closed colony の CFW 系で、90~120日齢成熟未経産マウスと 250~280日齢高齢未経産マウスである。

飼育室内環境は、室温 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度50~60%に調節した。飼料は、オリエンタル特殊繁殖用飼料 (CMF) を用い、飼料と水は常時給与した。また、飼育ケージは、 $20 \times 30 \times 10\text{cm}$ のアルミケージを使用し、1ケージ当り6匹を収容した。離乳 (21日齢) 以後はマウスとの接触はなく、90~120日齢と250~280日齢において初めて同居させ実験を行なった。

交配に際しては、90~120日齢および250~280日齢のいずれの未経産マウスとも90~120日齢の若い成熟マウスを♀4 : ♂1の比率で同居させた。

性周期を、vaginal smear によつて、交配前の14日間観察し250~280日齢高齢未経産マウスで性周期に大きな乱れがあるか否か検討した。

交尾の確認は、膣栓 (copulatory plug)、および、vaginal smear 内の精子によつて確認し、これらの確認された日を妊娠の0日とした。また、いずれも確認されず妊娠したものについては、性周期の最終発情日を妊娠0日とした。

交尾率は、交配後14日以内に交尾した♀マウスの割合 (%) とし、妊娠率は交配後14日以内に交尾した♀マウスのうち、妊娠の確認された♀マウスの割合 (%) として表わした。

分娩率は、妊娠の認められた♀マウスのうち、胎子等の娩出が確認された♀マウスの割合 (%) として示した。

分娩が確認されたにもかかわらず、分娩後急速に健康状態の悪化したもの、あるいは、胎子が産道に停滞するなどの障害によつて、分娩が完全には終了しなかったもの等については、分娩開始数日後に解剖し、子宮その他の臓器の肉眼観察を行なった。

異常分娩は、上記の剖検によつて、子宮内に死亡胎子、胎盤などの残存が認められたものとしたが、その割合を異常分娩率 (%) として示した。

さらに、妊娠日数は、正常に分娩した♀マウスについて、交尾の確認された日、および、交尾の確認されなかったものでは、性周期の最終発情日を妊娠0日とし、分娩確認までの日数として表わした。

排卵数は、交尾の確認された日 (10 : 00 AM~1 : 00 PM) に解剖し、左右卵管内に認められた卵子数として示し、着床数、生存胎子数は、妊娠17日目に解剖し確認したものである。

着床後胚死亡率 (post-implantational mortality) は、妊娠17日目に確認したもので、着床後、妊娠17日目までに死亡した胚の割合 (%) として表わした。

産子数は、生時産子数 (確認時に死亡していたものも含む) として示した。

卵巣と下垂体の重量を、妊娠の0日と17日に測定し、90~120日齢と250~280日齢の未経産マウス間で比較した。

また、胎盤と胎子の重量 (いずれも生存していたもののみ) を、妊娠17日目に測定し、これによつて、胎子成長についての検討を行なった。

次に、90~120日齢と250~280日齢の初産マウスで、正常に分娩したものについて、その哺育能力を、離乳率、および、乳子の哺乳期成長によつて検討した。

一腹当りの乳子数は、産子数が7匹以上の場合のみ6匹に制限した。離乳率は、 $[\text{離乳子数} / \text{生時哺乳子数} \times 100\%]$ として示し、乳子成長は、生時体重 (哺乳子のみ)、12日齢体重、および、21日齢 (離乳時) 体重によつて表わした。

結 果

性周期：交配にさきだつて、14日間 vaginal smear により性周期の観察を行なったが、250~280日齢高齢未経産マウスにおいても性周期には大きな乱れはなく、90~120日齢の成熟未経産マウスとの間に大きな差は認められなかった。

交尾率、妊娠率：Table 1 に交尾率、妊娠率を示したが、交尾率、および、妊娠率は、90~120日齢成熟未経産マウスよりも、250~280日齢高齢未経産マウスの値が低い傾向にあるが、これらの差は統計的に有意なものではなかった。しかしながら、妊娠率には両日齢間の差に有意の傾向が認められた ($p=0.1 \sim 0.05$)。

Table 1 Comparison on the rate of copulation and pregnancy between nonparous females aged 90~120 days and 250~280 days of CFW strain

Age in Days	Rate of Copulation		Rate of Pregnancy	
90~120	76/81	93.8%*	47/48	97.6%*
250~280	86/96	89.5%	53/61	86.8%

* N. S.

分娩率、異常分娩率：Table 2 に分娩率、異常分娩率を示したが、分娩率は成熟未経産マウス、高齢未経産マウスいずれの場合とも100%であつた。しかし、250~280日齢高齢未経産マウスの場合に、分娩後急速に健康状態の悪化してくるもの、また、産道に胎子が停滞する

Table 2 Comparison on the rate of parturition, abnormal parturition and the gestation period between nonparous females aged 90~120 days and 250~280 days of CFW strain

Age in Days	Rate of Partur.	Rate of Abnorm. Partur.	Gestation Period (N) Days
90~120	17/17 100%*	0/17 0%**	(17) 19.0±0.00***
250~280	20/20 100%	11/20 55%	(9) 20.3±0.16

* N. S. ** 0.001<p<0.01 *** p<0.001

Table 3 Number of ova, implantations, living fetuses on 17 days of pregnancy and size of litter in nonparous females aged 90~120 days and 250~280 days of CFW strain

Maternal Age Days	No. of Ova (N)	No. of Implantations (N)	No. of Living Fetuses (N)	Litter Size (N)
90~120	(22) 13.7±0.27*	(25) 13.9±0.45**	(25) 13.3±0.44**	(17) 13.4±0.42**
250~280	(20) 10.9±0.78	(23) 10.1±0.62	(23) 7.2±0.59	(9) 7.2±1.05

Mean±S. E. * 0.001<p<0.01 ** p<0.001

Table 4 Comparison on the post-implantational mortality

Age in Day	Post-Implantational Mortality
90~120	16/348 4.5%*
250~280	60/234 25.6%

* p<0.001

などの障害によつて、分娩が完全には終了しない個体が多く、分娩開始数日後の剖検によつて、このような個体では、子宮内に死亡胎子、胎盤等が残存していること、また、脾臓の肥大が特徴的に認められた。

このような現象の認められた個体の割合を異常分娩率としたが、90~120日齢成熟初産マウスでは0%，250~280日齢初産マウスでは55%のものに異常分娩が認められ、250~280日齢高齢初産マウスで有意に高い異常率となつている。

妊娠日数：Table 2に妊娠日数を示したが、妊娠日数は、成熟初産マウスで19.0日、高齢初産マウスで20.3日となり、高齢初産マウスに有意な妊娠日数の延長が認められた。

排卵数、着床数、生存胎子数、胚死亡率、産子数：Table 3、4に90~120日齢と250~280日齢の未経産（もしくは初産）マウスの排卵数、着床数、妊娠17日生存胎子数、着床後胚死亡率、および、生時産子数を示した。

Fig. 1は、それらをグラフによつて示したものである。

まず、排卵数は、90~120日齢成熟未経産マウスの排卵数よりも、250~280日齢高齢未経産マウスの排卵数が有意に少なくなつている。さらに、着床数、生存胎子

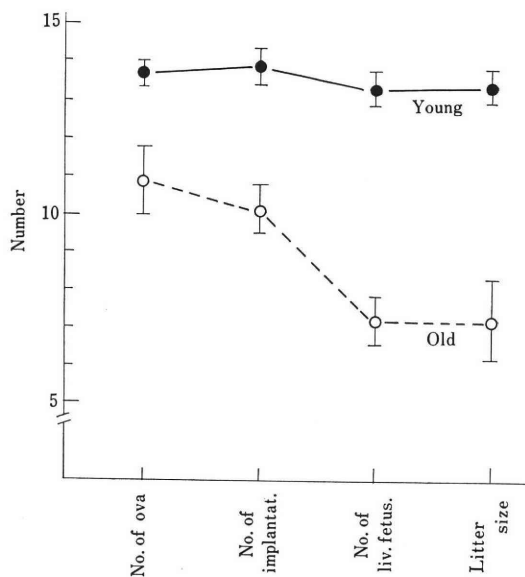


Fig. 1 Comparison on the number of ova, implantations, living fetuses and the size of litter between nonparous females aged 90~120 days and 250~280 days of CFW strain.

数、生時産子数においても、成熟未経産（もしくは初産）マウスの値よりも、高齢未経産（もしくは初産）マウスの値が有意に低くなつている。

Table 3から、高齢未経産（もしくは初産）マウスの産子能力は、すでに排卵数の段階で成熟未経産（もしくは初産）マウスの能力よりも劣つていることが明らかである。

いずれの日齢の未経産マウスにおいても、排卵数と着床数との間に有意差はなく、いずれの日齢の場合とも、

排卵された卵子はそのほとんどが着床していることを示している。

しかし、着床後、妊娠17日目までに死亡する胚の割合、すなわち、着床後胚死亡率は、90~120日齢成熟未経産マウスで4.5%、250~280日齢高齢未経産マウスで25.6%と、高齢未経産マウスでの着床後胚死亡率が、成熟未経産マウスでの着床後胚死亡率よりも有意に高くなっている。

Fig. 1 に示されているように、90~120日齢成熟未経産マウスでは、排卵数から産子数に至るまで有意な減少は認められておらず、排卵された卵子は、そのほとんどが着床し分娩時まで生存していることが明らかである。

これに対して、250~280日齢高齢未経産マウスでは、排卵数が成熟未経産マウスにくらべて減少しており、排卵された卵子は、そのほとんどが着床しているが、着床後、妊娠17日目までに死亡する胚が多く、最終的に産子数は成熟未経産マウスの約半分に減少してしまうという特徴が認められた。

卵巣重量、下垂体重量：Table 5 に妊娠0日と17日目の卵巣重量と下垂体重量を示し、Fig. 2 は、それらを図によつて表わしたものである。

Table 5 Weights of ovary and pituitary on 0 day and 17 days of pregnancy in nonparous females aged 90~120 days, 250~280 days of CFW strain

Age in Days	Days of Pregnancy (N)	Ovary mg	Pituitary mg
90~120	0 (22)	23.1±0.65	3.6±0.10
	17 (25)	22.6±0.48	4.5±0.10
250~280	0 (20)	20.1±1.12	4.1±0.15
	17 (23)	18.4±0.69	4.9±0.14

卵巣重量では、90~120日齢の成熟未経産マウス、250~280日齢の高齢未経産マウスいずれの場合も、妊娠0日の卵巣重量よりも、妊娠7日目の卵巣重量が減少する傾向にあるが、これは、統計的に有意な傾向ではなかつ

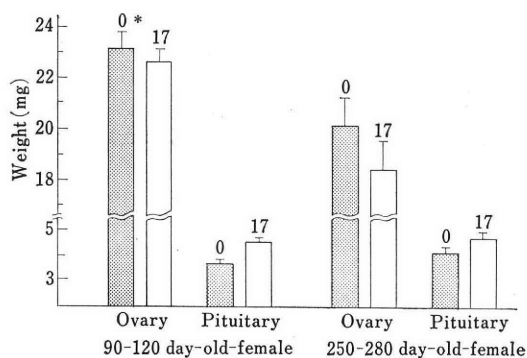


Fig. 2 Comparison on the ovarian weight and pituitary weight on 0 day and 17 days of pregnancy between nonparous females aged 90-120 days and 250-280 days of CFW strain.

* : Days of pregnancy.

た。これに対して、下垂体重量は、妊娠0日の下垂体重量よりも、妊娠17日目の下垂体重量が有意に増加している。

これらを、90~120日齢成熟未経産マウスと、250~280日齢高齢未経産マウスの間で比較すると、卵巣重量では、妊娠のいずれの時期においても、成熟未経産マウスの卵巣重量が高齢未経産マウスのものよりも有意に大きく、下垂体重量では、妊娠のいずれの時期においても、成熟未経産マウスの下垂体重量が高齢未経産マウスのものよりも有意に小さい結果であった。

胎盤重量、胎子重量、生時体重：Table 6 に妊娠17日目の胎盤重量と生存胎子重量、および、新生子の出生時体重を示した。

胎盤重量は、90~120日齢成熟未経産マウスで0.12g、250~280日齢高齢未経産マウスで0.14g と高齢未経産マウスの胎盤重量が成熟未経産マウスの胎盤重量よりも有意に大きかったが、これに反して、生存胎子重量では、90~120日齢成熟未経産マウスのものが1.06g、250~280日齢高齢未経産マウスのものが0.86g であり、高齢未経産マウスの胎子重量が有意に小さい結果であった。

さらに、新生子生時体重では、胎子重量とは逆に、90

Table 6 Weights of placenta and fetus on 17 days of pregnancy and weight of new born young at birth in nonparous females aged 90~120 days and 250~280 days of CFW strain

Maternal Age Days	Av. wt. of Placenta (N)	Av. wt. of Placenta Grams	Av. wt. of Fetus (N)	Av. wt. of Fetus Grams	Av. wt. of Young (N)	Av. wt. of Young Grams
90~120	(208)	0.12±0.001**	(208)	1.06±0.005**	(218)	1.6±0.01**
250~280	(168)	0.14±0.002	(168)	0.89±0.010	(58)	1.7±0.02

Mean±S.E. ** p<0.001

Table 7 Weaning rate and neonatal growth of youngs nursed by young adult and aged primiparous mothers of CFW strain

Maternal Age Days	Weaning Rate	Birth Weight (N) Grams	12th Day Weight (N) Grams	Weaning Weight (N) Grams
90~120	99.0%*	(102) 1.7±0.01**	(102) 9.0±0.06***	(101) 15.8±0.13***
250~280	94.7%	(38) 1.8±0.01	(36) 8.4±0.12	(36) 14.4±0.18

Mean±S.E. * N.S. ** 0.001<p<0.01 *** p<0.001

～120日齢成熟初産マウスの新生子が、250～280日齢高齢初産マウスの新生子よりも有意に小さかった。

Table 6より、成熟未経産マウスでは、胎盤が小さいのに反し胎子が大きいのに対して、高齢未経産マウスでは、胎盤が大きいのに反して胎子が小さいという、胎盤重量と胎子重量の間に特徴的な関係が認められた。

離乳率、乳子の哺乳期成長：Table 7に90～120日齢成熟初産マウスと250～280日齢高齢初産マウスのうち正常に分娩したものについて、乳子の離乳率と哺乳期成長を示し、Fig. 3は乳子の哺乳期成長をグラフに示したものである。

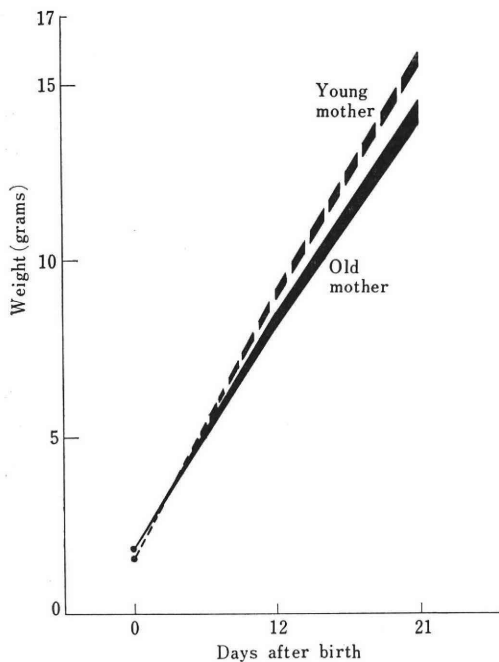


Fig. 3 Comparison on the postnatal growth between suckling youngs nursed by young and old primiparous mothers of mice.

いずれの日齢の初産マウスの場合とも、産子数が7匹以上の場合は、生後、哺乳子数を一腹当たり6匹に制限したが、哺乳子数は、90～120日齢成熟初産マウスで6.0匹、250～280日齢高齢初産マウスで4.9匹となっており、

一腹当りの哺乳子数は、高齢初産マウスのものが有意に少ない条件となった。

離乳率は、成熟初産マウスで99.0%、高齢初産マウスで95.4%となっており、離乳率には、両日齢初産マウス間に差は認められなかった。

しかし、生後の哺乳子の成長では、生時体重（哺乳子のみ）は、90～120日齢成熟初産マウスの哺乳子よりも、250～280日齢高齢初産マウスの哺乳子が有意に大きかったが、生後12日齢体重では、90～120日齢成熟初産マウスに哺育された乳子の体重が、250～280日齢高齢初産マウスに哺育された乳子の体重より有意に大きくなり、離乳時（生後21日齢）乳子体重では、その差がさらに大きくなり、250～280日齢高齢初産マウスに哺育された乳子の哺育期成長が有意に遅れる結果が得られた。

考 察

マウスの性周期について、一戸ら（1972 (a)）は、C57BL/6J系では、400日齢を越えると規則的な性周期を示す個体が急減することを報告しているが、今回用いたCFW系の250～280日齢高齢未経産マウスの性周期には、90～120日齢成熟未経産マウスの性周期と比較して大きな変化は認められず、交尾率、妊娠率においても、高齢未経産マウスで、妊娠率にやや減少の傾向が認められたが、成熟未経産マウスの成績との間に大差はなかった。

これに対して、Blaha（1964）は、10カ月齢の経産ゴールデンハムスターでは、性周期は規則的であるけれども、妊娠率は低下しており、また、妊娠の中断するものが多いことを示し、Talbert（1971）もC57BL/6J系マウスで同様の現象を認めている。

このようなことから、CFW系の250～280日齢高齢未経産マウスでは、発情、交尾から妊娠に至るまでの性的能力を維持するに十分な生殖系機能を維持し得ているものと考えられるが、妊娠率の低下がやや有意な傾向を示しており、その生殖系機能は、若い成熟未経産マウスに比べて、妊娠の成立に不利な状態になりつつあると推察される。

分娩率は、いずれの日齢の未経産マウスとも100%で

あり、妊娠の成立したものでは、妊娠が分娩まで持続していたことが示されており、高齢未経産マウスで妊娠が中断する結果は得られなかった。しかし、高齢初産マウスでは、分娩したマウスのうち、55%のものに異常分娩が認められており、高齢初産マウスでは、妊娠を持続し得ても多くの場合分娩が正常に完了しないことが明らかとなった。

このことから、母体の老化によつて異常分娩の頻度が高くなるものと考えられるが、その原因としては、母体の老化による内分泌の不均衡、子宮収縮不全などが考えられる。

また、高齢初産マウスで妊娠期間が有意に延長しており、妊娠期間の延長の原因として、家畜では遺伝的要因のあることが一般に知られているが、Soderwall, et al. (1960)は、老齢ゴールデンハムスターでやはり妊娠期間の延長を認めている。このことから、妊娠期間延長の原因の一つに母体の老化のあることが推察される。

Table 3, Fig. 1 に示されているように、高齢未経産マウスでは、成熟未経産マウスに比べて排卵数が有意に減少しているが、これまでの、老齢動物の繁殖能力低下に関する報告では、老齢動物であつてもその排卵数は減少していないとするものが多いが (Grünberg 1952, Soderwall, et al. 1960, Finn 1962, Harman & Talbert 1970), Blaha (1964) は、老齢ゴールデンハムスターで排卵数が減少していることを確認しており、マウスでは、Talbert & Krohn (1966) も老齢マウスで排卵数の減少を認めている。

生殖器系の老化のうち、老化に伴う卵巣の変化について、Jones & Krohn (1961) は、卵巣中の全卵胞数は加齢とともに減少するとし、Green (1957) は、老齢マウスの卵巣は、性腺刺激ホルモンに対する反応性の低下を起していることを報告している。また、ゴールデンハムスターにおいても、Ortiz (1955) が同様の現象を認めており、最近では、一戸ら (1972(a) (b)) は、卵巣の交換移植実験によつて老齢マウスの卵巣は、性腺刺激ホルモンに対する反応性の減退を起していることを証明している。

一方、下垂体の性腺刺激ホルモンについては、Lab-shetwar (1967, 1969) は、ラットにおいて、老齢ラットで繁殖能力が低下しているのは、下垂体の性腺刺激ホルモンの産生能が低下しているためではなく、下垂体からの性腺刺激ホルモンの放出量が減少していることが原因の一つであると報告している。

以上のことから、老齢動物においては、下垂体からの性腺刺激ホルモン放出量減少、および、卵巣の性腺刺激ホルモンに対する反応性の低下などによつて、排卵数は

減少するものと考えられ、老化に伴う産子数減少の一因として老化による排卵減少のあることが明らかと思われる。

次に、着床数では、やはり高齢未経産マウスの着床数が、成熟未経産マウスの着床数よりも有意に少なかったが、いずれの日齢の未経産マウスの場合とも排卵された卵子はそのほとんどが着床したのと考えられ、高齢未経産マウスの場合にも着床率の低下は観察されなかった。

しかし、これに対して、Harman & Talbert (1970) は、老齢マウスで着床率の低下を観察しており、Blaha (1964), Talbert & Krohn (1966) は、それぞれ、ゴールデンハムスターとマウスで、老齢動物の卵巣から放出された卵子は、異常発生する頻度が高いことを示し、これに加えて、老齢動物の子宮環境は、胚の生存にとつて不利な状態にあると考えている。また、Maurer & Foote (1971) も家兎で、その子宮環境は老化に伴つて悪化することを示している。さらに、Finn (1966), Finn & Martin (1969) は、老齢マウスの子宮は、脱落膜形成能の低下を起していることから、この脱落膜形成能低下も老化に伴う産子数減少の一因となり得る点を指摘している。

これらのことから、老齢マウスでは、着床率の低下の起ることが考えられるが、今回用いた CFW 系の 250 ~ 280 日齢高齢未経産マウスでは着床率には低下は認められなかったことから、老化による繁殖能力低下には、老化の各時期において様々な原因のあることが考えられる。

CFW 系の 250 ~ 280 日齢高齢未経産マウスでは、排卵数は減少しているが、排卵された卵子は、そのほとんどが着床し得ることが明らかとなった。しかし、高齢未経産マウスでは、着床した胚のうち 25.6% が妊娠 17 日目までに死亡し、成熟未経産マウスの場合の 4.5% に比べてはるかに高い着床後胚死亡率となつている。

このことは、老齢動物での産子数減少の原因のうち、着床後胚死亡率の増加が非常に重要な原因であることを示しており、これは、これまでの報告と一致する結果である。

老齢動物で胚死亡率が異常に高くなることの原因については、一致した見解は得られていないが、Ortiz (1955) は、生殖器官ばかりでなく、その他多くの内分泌器官をも含めたホルモンの不均衡を原因の一つとしてあげている。また、Blaha (1964), Talbert & Krohn (1966) は、老齢動物の子宮は、微妙であり、流動的である内分泌的变化に対する適応性が低下しているのではないかと考えている。これに対して、Harman & Talbert (1970),

Talbert (1971) は、老齡マウスで着床後の胚死亡率が高いのは、卵巣の黄体機能が低下しているためであるとしており、Maurer & Foote (1972) は、老齡妊娠家兎の卵巣静脈血中 progesterone 濃度は、若い成熟妊娠家兎の場合よりも低いことを示している。

以上のように、老齡動物における着床後胚死亡率の増加の原因について、多くの異なった報告があるが、その原因には多くのものがあると考えられる、やはり、Ortiz の示すような、全体的なホルモンの不均衡も大きな要因と考えられるが、この点については、今後さらに検討が加えられなければならないと思われる。

Table 3 に示されているように、いずれの日齢の未経産マウスにおいても、妊娠の17日目に生存していた胎子は分娩時まで生存していたと推測されるが、産子数を構成する各要素についてみると、Fig. 1 に示されているように、成熟未経産マウスでは、排卵された卵はそのほとんどが着床し、分娩にまで至ることが明らかであるのに対して、高齢未経産マウスでは、排卵数が少なく、着床後胚死亡率が高いために産子数が、成熟初産マウスの約半分に減少するという特徴が認められる。

しかし、老化に伴う産子数減少の原因について、これまでの多くの報告でその結果が必ずしも一致していないことから、産子数の各構成要素のこのような関係は、老化過程の各段階によつて変化するものであると考えられる。

次に、卵巣重量では、成熟未経産マウスのものが大きく、高齢未経産マウスのものが小さいのに対して、下垂体重量では、成熟未経産マウスのものが小さく、高齢未経産マウスのものが大きいという結果が得られたが、この結果は、恐らく、老齡動物の下垂体機能と卵巣機能を比較すると主に卵巣機能が低下しているとする一戸ら (1972(a) (b))、その他の報告に示されていると同様の結果を示していると思われるが、この点については明らかでない。

さらに、妊娠17日目の胎盤、胎子重量を両日齢の未経産マウス間で比較すると、胎盤重量では高齢未経産マウスのものが大きく、胎子重量では若い未経産マウスのものが大きくなっており、両日齢未経産マウスの間で、胎盤と胎子重量との関係が逆になっている。

ここで、マウスの胎盤と胎子の間には正の相関関係があることが明らかにされているが (McLaren 1965)、妊娠17日目の胎盤重量と胎子重量との関係を、両日齢の妊娠マウスの胎子80例について検討したところ、成熟未経産マウスの場合 $+0.36$ (significantly differ from zero, $p = 0.001 \sim 0.01$)、高齢未経産マウスの場合 $+0.30$ (significantly differ from zero, $p = 0.01 \sim 0.05$) の相関係数が得られ、やはり、胎盤重量と胎子重量は、いずれの日齢の未経産マウスにおいても正の関係にあることが確認された。

高齢未経産マウスで胎盤重量が大きいことは、着床数、生存胎子数が少ないことによると考えられるが、胎盤重量が成熟未経産マウスのものよりも大きいことから、胎盤重量と胎子重量の関係より、胎子重量も高齢未経産マウスの胎子が、成熟未経産マウスの胎子よりも大きくなると予測される。しかし、Table 6 に示されるように、両日齢未経産マウス間の胎盤重量の大小関係とは逆に、胎子重量は、高齢未経産マウスのものが小さいという結果が得られており、その原因の詳細については明らかでないが、高齢未経産マウスの胎盤機能、子宮機能、さらには、母体の栄養代謝機能などの低下が考えられる。

新生子の生時体重では、高齢初産マウスの新生子が大きかったが、Maurer & Foote (1971) は、老齡家兎で同様の現象を認めており、老齡家兎の新生子は、若い家兎の新生子よりも体重が大きかったと報告している。

新生子体重は、母体の日齢によつても影響うけると考えられるが、胎子の成長では高齢未経産マウスの胎子が成熟未経産マウスの胎子よりも遅かったのに反して、生時体重が高齢初産マウスの新生子で重かったのは、高齢初産マウスで妊娠日数が延長した結果によるものであると考えられる。

離乳率は、いずれの日齢の初産母マウスの場合とも、ほぼ 100% に近く、成熟初産母マウスと高齢初産母マウスの間に差はない。しかし、乳子の哺乳期成長では、成熟初産マウスに哺育された乳子の成長が高齢初産マウスに哺育された乳子の成長よりもきわめて速くなっている。

両日齢の母マウス間で一腹当りの哺乳子数に差があり、このような場合に、乳子の成長から、母マウスの哺育能力を推定することには問題があるが、一般に、哺乳子数が少なければ、乳子の成長は速くなることが知られており、高齢初産母マウスでは、成熟初産母マウスに比べて、一腹当りの哺乳子数が少ないにもかかわらず、乳子の成長が遅くなっていることから、哺育能力も老化の影響によつて低下すると推測される。

以上、若い成熟未経産マウスと高齢未経産マウスの繁殖能力を各項目別に比較検討したが、高齢未経産マウスの生殖周期における問題点をさらに明確にするために、生殖周期を通じての連続的な検討を加えると、発情の回帰から、交尾、妊娠の成立に至るまでの過程には大きな

変化は認められていないが、この過程においての問題点として、排卵数の減少が確認されている。さらに、妊娠の中期から後期にかけての大きな問題点として、高齢未経産マウスの場合には、着床後の胚死亡率が極めて高いことと、胎子成長の遅れが認められている。次に、分娩に際して、高齢初産マウスでは、胎子、胎盤等が子宮内に残存するという重大な障害が多くのものに起つていることが明らかとなり、分娩にひき続く乳子哺育能力においても高齢初産マウスの能力は低下していることが推測された。

このように、高齢マウスの生殖周期の個々の繁殖形質は、それぞれ、老化による低下の度合を異にしており、老化によつて一様に低下するのではなく、生体の老化過程において比較的早い時期に老化現象の現われる部分と、比較的遅い時期に老化現象の現われる部分のあることが推察され、繁殖能力の老化現象の解明には、これら個々の繁殖形質についてその老化の経過と、それらの相互関係を的確に把握しておくことが極めて重要であると思われる。

稿を終るに当り、実験動物の飼育に助力された鈴木伍助、橋本三郎両氏にお礼申し上げる。

文 献

- 1) Blaha, G. C. : Anat. Rec., 150 : 405-412, 1964, a.
- 2) Blaha, G. C. : Ibid., 150 : 413-416, 1964, b.
- 3) Finn, C. A. : Nature, 194 : 499-500, 1962.
- 4) Finn, C. A. : J. Reprod. Fert., 11 : 423-428, 1966.
- 5) Finn, C. A. & Martin, L. : Ibid., 20 : 545-547, 1969.
- 6) Franks, L. M. & Joan Payne : Ibid., 21 : 563-565, 1970.
- 7) Green, J. A. : Anat. Rec., 129 : 333-347, 1957.
- 8) Grünberg H. : The Genetics of the Mouse, ed 2 : pp 650, The Hague, Martinus Nijhoff, 1952.
- 9) Harman, S. M. & Talbert, G. B. : J. Reprod. Fert., 23 : 33-39, 1970.
- 10) 一戸, 横田, 出口, 小倉, 岡, 中山 : 日不妊会誌, 17(学会講演集) : 195-196, 1972, a.
- 11) 一戸, 横田, 出口, 小倉 : 日不妊会誌, 17(学会講演集) : 209-210, 1972, b.
- 12) Ingram, D. L. Mandl, A. M. & Zuckerman, S. : J. Endocrinol., 17 : 280-285, 1958.
- 13) Jones, E. C. & Krohn, P. L. : Ibid., 21 : 469-493, 1961.
- 14) Labshetwar, A. P. : Ibid., 39 : 387-393, 1967.
- 15) Labshetwar, A. P. : J. Reprod. Fert., 20 : 21-28, 1969.
- 16) Maurer, R. R. & Foote, R. H. : Ibid., 25 : 329-341, 1971.
- 17) Maurer, R. R. & Foote, R. H. : Ibid., 31 : 15-22, 1972.
- 18) Ortiz, E. : Anat. Rec., 122 : 517-537, 1955.
- 19) Soderwall, A. L., Kent, H. A., Turbyfill, C. L. & Britenbaker, A. L. : J. Gerontol., 15 : 246-248, 1960.
- 20) Talbert, G. B. & Krohn, P. L. : J. Reprod. Fert., 11 : 399-406, 1966.
- 21) Talbert, G. B. : Ibid., 24 : 449-452, 1971.

Reproductive performance of aged female mice

Megumu Kita and Takayoshi Ino

First Research Division, National Institute of Animal Health, Kodaira, Tokyo

This experiment was made to clarify the differences of reproductive performance between young adult and aged female mice. The reproductive performance through the reproductive cycle were successively compared between young adult and aged female mice.

The mice used were 90-120 days and 250-280 days old nonparous females of CFW strain. To both aged female groups, 90-120 days old young adult males were mated in the ratio of male to female; 1:4. Estrous cycle was observed by vaginal smear for 2 weeks before mating. Confirmation of copulation was made by visualization of the copulatory plug and checking the presence of sperm in vaginal smear. The number of ova per ovulation was calculated from the ova in the ampulla of oviduct on the day copulation was confirmed. Pregnant females were killed on the 17th day of pregnancy, number of implantation sites and live fetuses were counted, placentae and live fetuses were weighed. Postpartum maternal ability was estimated by the neonatal growth of suckling young.

The results obtained were as follows.

In the estrous cycle there was little difference between young adult and aged nonparous females. And copulation rate (young: aged) 93.8: 89.5%, rate of pregnancy 97.5: 86.8%, rate of parturition 100: 100%, respectively. In these results there were no significant difference between young adult and aged females. While, rate of abnormal parturition 0: 55%, number of ova per ovulation 13.7: 10.9, number of implantation sites 13.9: 10.1, number of live fetuses 13.3: 7.2, post-implantational mortality 4.5: 25.6%, litter size 13.4: 7.2, placental weight 0.12: 0.14 g fetal weight 1.6: 1.7 g, gestation period 19.0: 20.3 days,

respectively. In these results, there were significant difference between young adult and aged females. And aged pregnant females had significantly smaller ovaries and significantly heavier pituitary glands than young adult pregnant females on both 0 day and 17th day of pregnancy. The neonatal growth of suckling youngs nursed by aged primiparous females were significantly delayed when compared with those nursed by young adult primiparous females.

These results are suggested that the reproductive ability of aged nonparous female mice is efficient enough to control the estrous cycle, to

induce the copulatory behaviour and the conception in the same manner as young adult females. But the reduction of number of ova per ovulation shows the decrease of the ovarian fecundity in the aged females. The ovarian and the uterine functions of aged females are not efficient enough to maintain conceptuses and to induce the normal parturition. Fetal weight, placental weight and neonatal growth of youngs are suggested that the prepartum and postpartum maternal abilities of aged females are inferior to the abilities of young adult females.

男子不妊症における精路 Dyskinesia

Male Infertility due to Dyskinesia of the Conduction System of the Semen

福島医科大学泌尿器科学教室

一条 貞 敏	今 村 巖
S. ICHIJO	I. IMAMURA
横 山 純	黒 田 一 秀
J. YOKOYAMA	K. KURODA

Dep. Urology, Fukushima Medical College

29例の男子不妊症に対し、精液、精巣生検及び精囊腺撮影所見の対比を行なった。

精液所見上、無精子症15例、乏精子症12例あり、このうち精巣生検上異常をみないものそれぞれ1例ずつみられ、無精子症でも4例に造精能がみとめられた。これ等の症例では、いずれも通過障害の存在を示す精細管内鬱滞像がみられたが、精囊腺撮影等で閉塞ないし狭窄を確認し得たのは1例のみで、他の症例では精囊腺の全体ないし部分的拡張が認められた。

これらの精囊腺拡張像は脊髓損傷例、動物における交感神経節切除例などの精囊腺と類似しており、精子輸送障害は機械的閉塞によるものではなく運動障害による機能的な通過障害によると考えられた。生検上造精能の良好な無精子症ないし乏精子症の大部分はこの種の疾患と想像され、今後、この面からの検索の必要性が痛感された。

結 言

無精子症ないし乏精子症の原因には、精巣における造精能自体の異常と精子輸送路の異常が考えられ、精巣生検上、造精能が十分みとめられる場合には、当然、輸送路に原因が求められる。しかし、実際上は、既往歴及び諸検査で泌尿生殖器に異常がなく、また、精囊腺撮影上、輸送路に閉塞もしくは狭窄を確認できないにもかかわらず、精巣生検上、良好な造精能をみる無精子症あるいは乏精子症にしばしば遭遇する。

これ等、精液所見、精巣生検所見および精囊腺撮影所見の合致しない理由を解明する目的で、最近当科を訪れた男子不妊症例について、これ等所見の再検討を行なった。

研究対象および方法

昭和42年4月より47年3月迄の5年間に、福島医科大学泌尿器科を訪れた男子不妊症患者のうち、触診にて精巣、精巣上体、精管等に異常をみず、精液所見、精囊腺

造影所見および精巣生検所見の完備している29例においてこれ等の所見を対比検討した。

精液は用手的に採取し、精子数に重点をおき観察し、 $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以上を正常、これ未満を乏精子症および無精子症とした。

精囊腺撮影は背位にて陰囊皮膚切開により露出した精管より精囊腺側に向い造影剤を尿道部に異和感を生ずる迄、およそ2~4 ml 注入した。造影剤にはウログラフィンを使用し、注入速度は10秒前後とした。ネラトン氏カテーテルにて膀胱内に溢流した造影剤を除去し恥骨上縁を中心に垂直方向にレントゲン撮影を行なった。

精巣生検は同様陰囊切開法により通常精囊腺撮影時同時に行なった。精巣前面部を一部露出、白膜部切開により米粒大の組織片を摘出した。この際、できるだけ組織片に圧力を加えないように注意し、摂子などでこれをつままず、ハサミないしメスで切除し、これ等に組織片を付着せしめ、直接固定液中に落下せしめた。固定液には Bouin 液を、染色には H-E, PAS, 場合によっては Masson 三重染色を用いた。組織所見上、造精機能の程

度により全く造精能のないものを(0)とし、多少ともみられるものを(+), 十分造精能のあるものを(卅), この中間を(++)と4段階に分けて観察し、一方精細管内細胞鬱滯像にも注目した。

成 績

精液所見をみると、29例中精子数に異常をみないもの2例、乏精子症12例、無精子症15例であった。一方、生検上の造精能をみると(0)12例、(+)7例、(++)7例、(卅)が3例みられ、造精能のない(0)が最も多かった。

表 1 精液所見と造精能

精液所見	例数	造 精 能			
		0	+	++	+~卅
無精子症	15	11	3	0	1 (4)
乏精子症	12	1	4	6	1 (11)
正 常	2	0	0	1	1 (2)
計	29	12	7	7	3 (17)

表 2 精細管内鬱滯像

鬱 滯	無精子症	乏精子症	正 常	計
(+)	4	8	2	14
(-)	11	4	0	15
計	15	12	2	29

表 3 造精能良好な無及び乏精子症

鬱 滯	無精子症	乏精子症
(+)	4	7
(-)	0	0
計	4	7

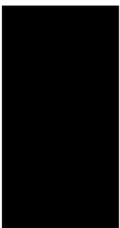
次に精液所見と組織所見上の造精能との対比を行なうと、表1のごとくなる。無精子症15例中11例に造精能が認められなかったが、造精能の良好な(卅)のものが1例あり、乏精子症にもこれが1例みられた。

一方、通過障害の存在を予想させる精細管内細胞鬱滯像に注目してみると、無精子症15例中4例、乏精子症12例中8例、正常2例中2例と約半数にこの鬱滯像が認められた(表2)。無精子症の中でも造精能の認められた4例および、乏精子症中、造精能の比較的良く保たれていた(++)(卅)のもの7例についてのみ注目してみると、これ等では全症例に鬱滯像が認められた(表3)。すなわち、これ等の症例は通過障害による無精子症もし

表 4 造精能を有す無精子症

症 例	年 齢	造精能	鬱滯	SVG	拡張像
	32歳	卅	卅	II	+
	30歳	+	++	II	±
	31歳	+	++	I	+
	23歳	+	卅	II	右側閉塞 左側(+)

表 5 造精能良好な乏精子症

症 例	年 齢	精子数	造精能	鬱滯	SVG	拡張像
	37	38×10 ⁶	卅	+	II	(+)
	31	29 "	++	++	III	(+)
	34	23 "	++	+	III	(-)
	33	22 "	++	+	I	(+)
	33	18 "	++	+	I	(+)
	33	15 "	++	++	III	(-)
	32	2 "	++	++	II	(+)

くは乏精子症であると考えられた。しかし、1例の結核症を除いて、いずれも精囊腺撮影等で、精路の閉塞ないし狭窄を確認できなかった。然るに無精子症4例中上記結核1例を除く2例に、乏精子症7例中では5例と、高頻度で精囊腺の全体ないし部分的拡張像が認められた(表4, 5)。

すなわち、生検上鬱滯像を伴う無精子症ないし乏精子症は、精子輸送路の通過障害の存在を示すが、これ等の症例では、機械的な通過障害ではなく、運動障害など機能的なものであり、このための精囊腺形態異常であると示唆された。

以下、代表的症例を供覧する。第1例はコントロールのつもりである。

症例1  32歳

主訴 不妊

結婚来、3年になるも不妊、性生活に異常なし、妻は婦人科的に正常である。

既往歴：異常なし。

理学的に異常をみず。

精液所見：量、4 ml、精子数75×10⁶

運動率 0、死精子症

精巢生検所見：精細管上皮は良く保たれ、造精能も良好である。基底膜の肥厚をみず、間細胞に異常なし。精細管内鬱滯所見なし(写真1)。

精囊腺撮影所見、精囊腺は中央部に対称的に位置し、発達良好である(写真2)。

症例2,  30歳

主訴 不妊

結婚生活4年になるも不妊。性生活異常なし。妻は婦

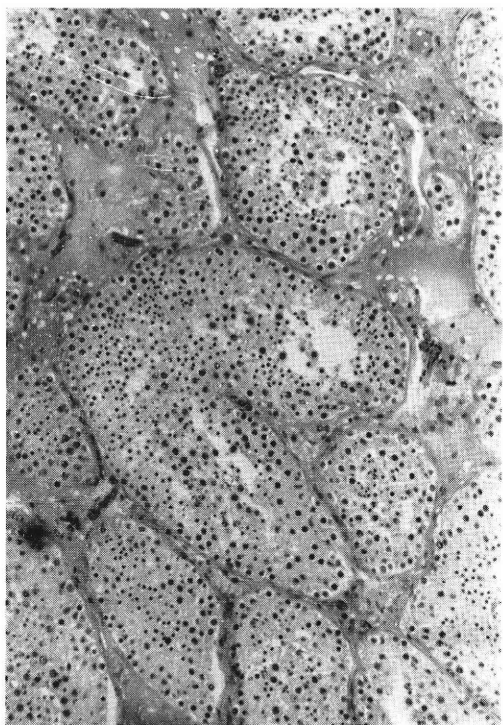


写真 1 正常例，症例 1



写真 2 正常例，症例 1

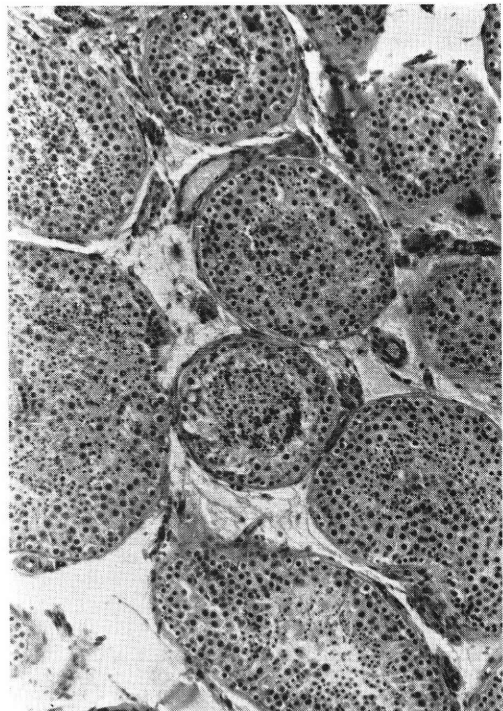


写真 3 精細管内鬱滞例，症例 2

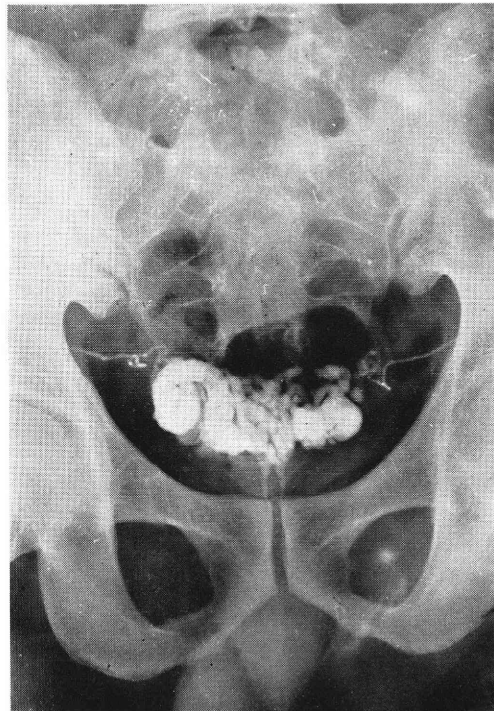


写真 4 部分的拡張例，症例 2

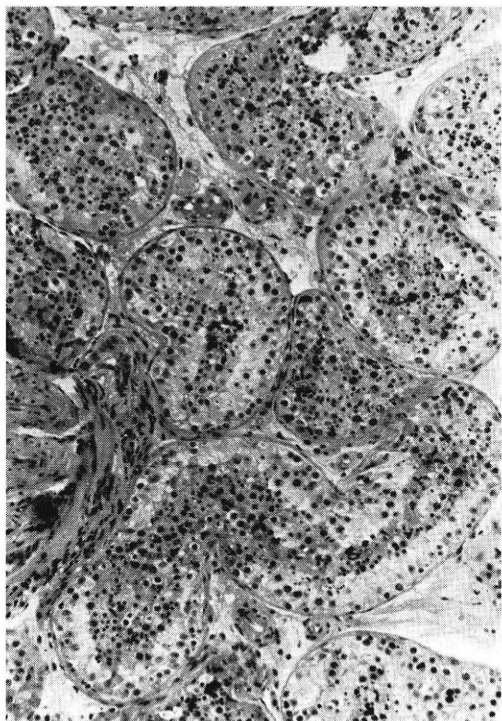


写真 5 精細管内鬱滞例, 症例 3

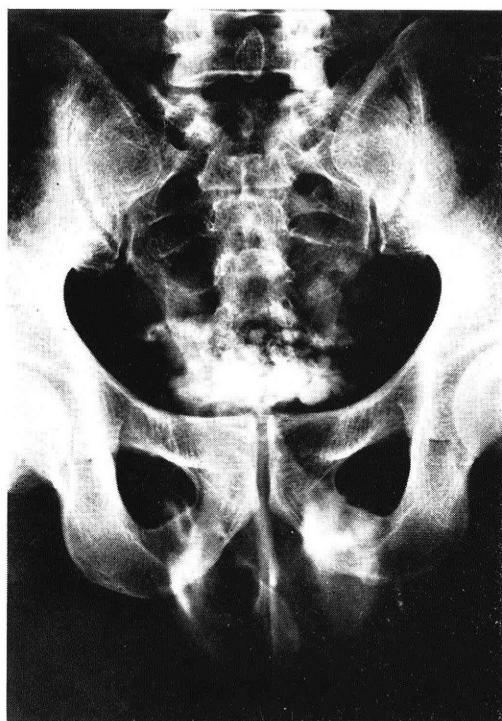


写真 6 無緊張例, 症例 3

人科的に正常.

既往歴: 特になし. 理学所見 正常.

精液所見: 量 3.8ml, 無精子症

精巣生検所見: 基底膜が肥厚し, 精細管上皮には Sertoli 細胞が目だつも, 精粗細胞から精子迄, 各段階の細胞がみられる. 間細胞に異常をみない. 第 1 例とは異なり管腔内には, 精子を含め脱落した各種細胞が充満しており通過障害の存在を示す (写真 3).

精嚢腺撮影所見: 良く発達した精嚢腺ではあるが, 第 1 例とは異なり左右両葉共に部分的拡張部を認める. 閉塞像はみられない (写真 4).

症例 3 32歳

主訴 不妊

結婚以来 1 年, 性生活に異常なし. 妻は婦人科的に異常をみず.

既往歴: 特になし. 理学所見 正常.

精液所見: 量 2.8ml 無精子症

精巣生検所見: 精細管基底膜が軽度肥厚し, 上皮はほとんど Sertoli 細胞により占められているが, 一部に造精能も認められる. 精細管管腔には各種脱落細胞が充満しており, 通過障害の存在を予想させる. 第 2 例より更に高度の変化を呈す (写真 5).

精嚢腺撮影所見: 一見, 精嚢腺は左右対称的であるが, 注入した造影剤は希薄化し, 全体として拡大してお

り輪郭は不鮮明である. 精管は左右共に拡張きみだが, 閉塞像はみられない (写真 6).

考 按

同一精巣内でも組織所見が部位によりかなり異なり, 生検上通常採取される精巣前方部は血管支配上最も変化しがたい部分である. 従つて生検所見が必ずしも精巣全体像を示さず¹²⁾, この中でも最も良好な部分を観察していることになり, 精液所見から想像されるより良好な組織像を呈するのは当然である. しかし不妊を訴えてくる年齢層は 30 歳前後が最も多く³⁾, この年齢では未だ精巣内の部位による組織差がそれ程著明には現われず, 生検所見が, かなり全体像を代表しているとみなされる.

にもかかわらず, 無精子症ないし高度の乏精子症の中には, かなりの頻度で生検上正常所見のものがみられ, Nelson⁴⁾ は, 無精子症の 25% にも正常所見を得ている. この正常生検像が単なる部分的な像でないとすれば, これ等の無精子症の原因は当然輸送路の障害に求められる. しかし, 精嚢腺撮影等で通過障害が確認される症例は決して多くない. 特に最近の化学療法の発達および消炎剤の効果などにより, 結核, 淋病などによる閉塞は激減している³⁾.

われわれの症例では無精子症 15 例中 4 例に生検上正常とは云えないまでも, かなりの造精能をみとめ, 精細管

内には通過障害の存在を予想させる鬱滞像がみとめられた。乏精子症においても同様に造精能の比較的良好な症例では、いずれも組織上精細管内鬱滞像がみられた。精巣上部は既往歴および触診でのみ異常を否定するしかなくかつたが、これ等の精液所見と生検所見の合致しない症例では、1 例を除き、いずれも精囊腺撮影上造影剤は抵抗なく尿道迄達し、精路の通過障害は確認できなかった。

山本⁵⁾はこのような無精子症ないし乏精子症は精囊腺自体の病的変化に由来すると考えており、精囊腺および精管末端部の異常拡張、血精液症、精囊腺結核などであるとしている。われわれの症例においても精囊腺の全体ないし部分的拡張が高頻度に出現していた。しかし造影剤が希薄化し、無緊張性の拡張を想わせる変化が多くみられ、精液には炎症所見がみられなかった。

著者の 1 人一条が剖検で観察した 100 余例の成人精囊腺内には、1 例といえども精子の存在がみられず、精囊腺疾患が直接無精子症につながることは考えがたい。精囊腺拡張像と正常生検所見をみる無精子症ないし乏精子症は、閉塞ないし狭窄所見がないかぎり精囊腺疾患によるより、むしろ精囊腺を含めた輸送路の機能的な通過障害のためと想像され、精囊腺の拡張像は収縮障害によるものとみなしてもよいとはいえない。

事実、柳原⁶⁾は、脊髄損傷例の約 30% に精囊腺の拡張をみとめており、また Comarr⁷⁾は、拡張もしくは萎縮をきたすとしている。勿論これらの変化は炎症による二次的变化とも考えられるが、白石⁸⁾等の経験した精囊腺拡張症では組織学的に炎症性変化が軽度であつたとされ、われわれの症例でも精液に炎症所見を得ていない。Smeone⁹⁾はモルモットにおいて交感神経節の切除により精管蠕動の低下と精囊腺の拡大、更には輸送遅延による精子の変性も観察している。また、武田等¹⁰⁾¹¹⁾は、Noradrenalin による律動運動の亢進と、guanethidin による低下を観た。このような実験からも、精子輸送運動は交感神経等によりかなり支配されている筈であり、これ等の状態によつては当然、輸送路の運動障害、ひいては無精子症もしくは乏精子症の原因となり得るわけである。男子不妊症、ことに精巣生検上造精能の良好な乏精子症ないし無精子症の中には、このような機序による機能的通過障害によるものの存在が推定される。

従つて、精巣生検上鬱滞像をみる乏ないし無精子症のうち、輸送路の閉塞ないし狭窄をみとめないにもかかわらず、精囊腺造影上拡張を主体とした異常所見がみられるものに対しては、神経症状の有無にかかわらず、機能的通過障害の存在を考え、今後、精子輸送路の Dyskinesia による不妊症として扱いたい。

結 語

29 例の男子不妊症に対し、精液所見、精囊腺撮影所見および精巣生検所見の対比検討を行なつた。

精子数に異常をみないもの 2 例、乏精子症 12 例、無精子症 15 例あり、乏精子症および無精子症で精巣生検上造精能に異常をみないものがそれぞれ 1 例ずつみられ、無精子症といえども造精能がみられたのは 4 例であつた。

乏精子症、無精子症いずれの症例においても、造精能の良く保たれていた症例では全て、精子輸送路の通過障害を示唆する精細管内鬱滞像がみられた。

これ等の症例では、精囊腺撮影等で閉塞というよりは機能的に精囊腺の全体ないし部分的拡張を生じたと推定する所見が頻発していた。

輸送路の閉塞を伴わない精囊腺拡張所見は脊髄損傷例における精囊腺撮影所見およびモルモットの交感神経節切除例に類似し、精路運動異常、すなわち機能的通過障害による無精子症ないし乏精子症と考えられた。

文 献

- 1) 一条貞敏：日本泌尿会誌，60：304(1969)。
- 2) Sasano, N. & Ichijo, S.: Tohoku. J. exp. Med. 99, 269 (1969)。
- 3) 白井将文：臨泌，26：281 (1972)。
- 4) Nelson, W. O.: JAMA. 151: 449 (1953)。
- 5) 山本治：泌尿紀要，7：699 (1961)。
- 6) 柳原正志：泌尿紀要，6：427 (1960)。
- 7) Comarr, A. E. & Bors, E.: J. Urol. 73: 172 (1955)。
- 8) 白石祐逸，山際義秀：日本泌尿会誌，60：82 (1969)。
- 9) Rose, S. S.: Brit. Med. J. 1: 247(1953) より引用。
- 10) 武田寛，中西弘則：日平滑誌，1：42(1965)。
- 11) 武田寛，中西弘則：日平滑誌，2：143(1966)。

Male infertility due to dyskinesia of the conduction system of the semen

S. Ichijo, I. Imamura, J. Yokoyama and K. Kuroda

Department of Urology, Fukushima Medical College

Semen analyses, pathological studies by the testicular biopsy and seminal vesiculographies were done in twenty-nine cases of male infertility. Of these cases, fifteen were oligospermic and twelve were azospermic. Four of the twelve azospermics showed regular spermiogenesis histo-

logically and lumina of the seminiferous tubules were congested with the debris suggesting an obstruction of the conductive system, but no mechanical obstruction was found by seminal vesiculography. In these cases except one, however, partial or total dilatation of the seminal vesicle was demonstrated instead. And it is the same in cases of oligospermia in which enough spermatogenesis was found histologically.

The dilated seminal vesicles mimic those of patients of spinal injury and those of experimentally sympathectomized animals. Therefore this kind of oligospermia or azospermia was thought to be an effect of functional obstruction of the conduction system but not of mechanical one.

The precise mechanism of the disease is remained to be studied yet.

不育症患者夫の精子 D.N.A. の検討

The Study of the DNA Content in Human Spermatozoa

名古屋市立大学産科婦人科学教室(主任：八神喜昭)

山 田 昌 夫 野 口 昌 良

Masao YAMADA Masayoshi NOGUCHI

Dep. Obst. Gynec. Nagoya City Univ. School of Med. (Dir.: Prof. Y. Yagami)

不妊症の原因について多くの研究がなされているがなお不明な点が多い。今回われわれはその原因解明の一助とすべく不育症患者夫の精子 DNA 量を Feulgen 染色を用い、島津 マルチパーパス 自記分光光度計を使い二波長法により測定した。対照群の DNA 量の平均値は 0.401, 不妊症群の平均値は 0.329 で、習流群の平均値は 0.410 であった。しかし精子数、運動率との DNA 量の検討の結果はいずれもさしたる傾向を認めず、更に不育群、対照群間における DNA 平均量の有意差は認められず、不育群の多くが対照群と同じような DNA 量の平均値を示したにもかかわらず、約半数においては全く異なつた広い分散を示した。

序 論

かつて女性のみ注目されていた不妊の原因が今日では男性側にもかなりの率で見いだされ重要視されるにいたり、男性側不妊の手掛かりとしてまず精子の数が取り上げられ更に精子の運動性、運動率の検討から形態の追求がなされるようになった。その結果これらの諸点についてかなり詳細な研究が行なわれ、この方面の基準化はほぼ確立され、更に精液内の電解質の種類と個々の量、あるいは精液内の酵素量などについてまで極めて詳細な検討が行なわれてきた。一方これらの理学的所見がそれぞれ一定の基準に達しない精液ですら妊娠することも多くあり、その基準なるもの自体流動的であり本質的なものとはいいがたく、すべての因子がこれらの一定の基準に達しているものにもまた不妊を訴える者もある。そこでわれわれはその原因不明とも云えるべき不妊因子が精子の核酸に存在するのではないかということに着目し、顕微分光測光法により、精子核酸の測定を行ない、男性側不妊の一つの要因として核酸の役割を解明せんと試みた。この方面の分野の報告は Leuchtenberger ら¹⁾の他、国内では坂倉²⁾、吉田³⁾、泉⁴⁾、等による報告があるに過ぎず一定の基準を見ていない。そこでわれわれは精子の DNA 量を不妊症患者を中心として測定し、一部初期習慣性流産患者の夫について検討し、若干の知見を得たの

で報告する。

対象ならびに方法

対象は名古屋市立大学医学部産婦人科外来を訪れた不妊症患者 10 例と初期習慣性流産患者 3 例であり諸検査において原因らしきものを認めなかつた者の夫の精液を用いた。これらの精液は 7 日以上禁欲させたもので用手法により採取させたものである。採取した精液は採取後 2 時間以内に精液量、精子数、奇形率、運動率を測定し、その後遠沈し、その沈渣を塗抹標本として固定液に投じ Feulgen 染色をほどこし検索に供した。染色方法は以下の如くである。

- ① クロロホルム 3 : 純エチルアルコール 3 : 氷酢酸 1 の Carnoy 液にて固定。
- ② 95% アルコール I, II, III の後 80%, 70%, 50% アルコール、蒸留水に通す。
- ③ N-HCl cold, N-HCl 60° (5 分間), N-HCl cold, の順に通す。
- ④ Schiff 試薬に通す (1 時間)
- ⑤ H₂O 100ml : K₂S₂O₈ (10%) 5 ml : N-HCl 5 ml 液 I, II, III の後蒸留水に通す。
- ⑥ 70%, 80%, 90%, 98%, 100% アルコールの順に通す。
- ⑦ キシレン I II III に通す。

⑨ バルサンにて封入.

島津マルチパーパス自記分光光度計を用い Ornstein, Mendelson らの二波長法による顕微分光測光法により測定した. 測光面積は 5μ , 光源はタングステンランプを使用し, 試料の拡大は500倍で, また波長の選択はヒトリンパ球に同一染色法を施し, それを測定した吸光度曲線の平均から最高吸光度を示す波長を決めその $1/2$ の吸光度を示す波長とをもつて決定し測定値は任意単位とした. 基線を得る部位については種々異論もあるがわれわれは標本中, 精子部分またはリンパ球外の部位を選択して吸光度曲線の基線とした. なお各症例につき約50個の精子を測定し精子の形態の正常像を呈するものを選択し奇形と認めたものは測定から除外した.

実験成績

測定によつて得られた DNA 量(任意単位)を精子数, 奇形率, 運動率, 精液量とともに一括表示したものが表 1 である. 対照群には結婚1年以内に妊娠し, しかも検査前1年以内に成熟児を得た女性の夫の精子を用いた.

対照群の DNA 量の最大値は0.698, 最小値は0.192, 平均値は0.401であつた. 一方不妊群の DNA 量の最大値は0.630, 最小値は0.168, 平均値は0.329で, 妊娠初期習流群の最大値は0.669, 最小値は0.189, 平均値は0.410であつた. 表 2, 3, は精子数, 運動率との DNA 量の検討の結果であり, いずれも一定の相関は認め

表 1 各例の精子性状と DNA

例 No.	区分	年齢 (令)	精子数 $\times 10^6$	運動率 (%)	奇形率 (%)	精液量 ml	既往妊娠歴	DNA 平均量 (任意単位)
1	不妊群	31	96	90	20	5	1	0.384
2		28	35	60	10	4.5	0	0.255
3		28	66	60	20	3	0	0.305
4		28	34	50	15	5	0	0.319
5		34	40	60	20	5	2	0.357
6		30	68	55	20	4	0	0.323
7		30	83	30	20	4.5	0	0.359
8		54	60	80	20	2	1	0.315
9		31	97	65	20	4.5	0	0.321
10		28	60	80	20	3.5	0	0.344
1	習流群	36	80	50	20	3.5	3	0.455
2		30	88	80	10	3.5	3	0.398
3		28	118	55	15	3.5	4	0.397
1	対照群	30	93	85	10	4	1	0.374
2		31	107	90	10	4.5	1	0.396
3		31	82	80	10	3.5	2	0.431
4		25	102	85	15	4	1	0.392

表 2 精子数と DNA

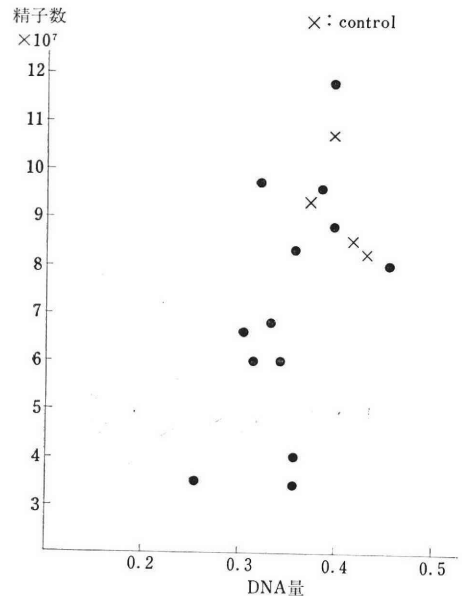


表 3 運動率と DNA

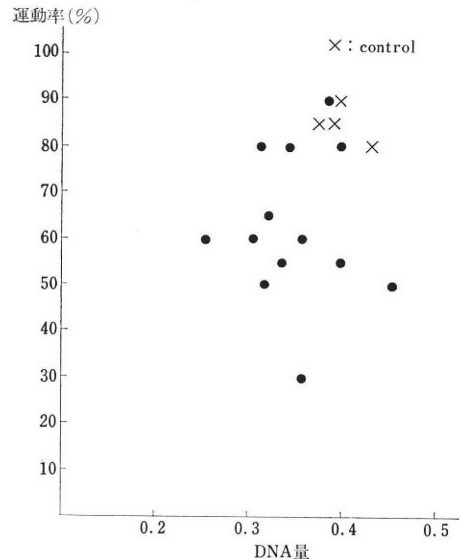


表 4a 不妊例の DNA 量(症例 No. 4)

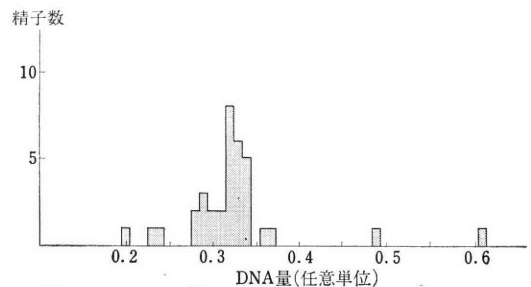


表 4b 不妊例の DNA 量 (症例 No. 7)

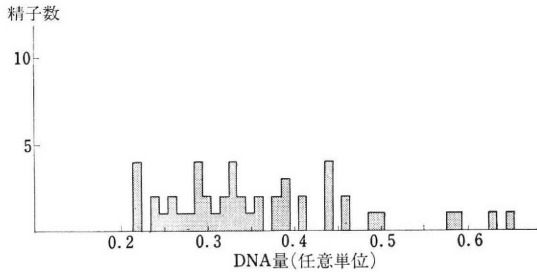


表 5 翌流例の DNA 量 (症例 No. 2)

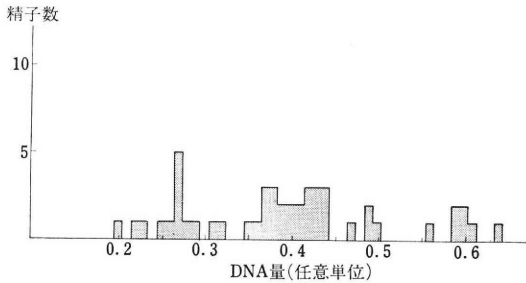
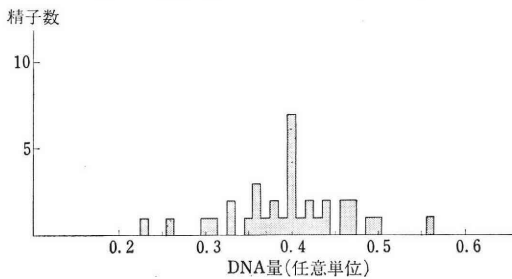


表 6 対照例の DNA 量 (No. 2)



られなかった。表 4a, b, 表 5, 表 6 は不妊例の精子 DNA 量, 翌流例の精子 DNA 量, 対照群の精子 DNA 量の個々についてのパターンを表にしたもので対照群の精子 DNA 量は表 6 の如きパターンを有するのが普通であるが DNA 量の平均が正常に近いと思われる不妊症例にあつても対照群と同じようなパターンを示すものと (表 4a), 表 4b, 表 5 の如くかなり広い分散を示すものが認められた。

総括および考案

妊娠性と精子 DNA 量との間に何等かの相関があるのではないかと考えはかり以前よりあり, Leuchtenberger 等は妊娠性のある精子の DNA 量は妊娠性のないものより高い値を示すと報告し, 更に妊孕群の DNA 量分布は不妊群のそれに比べ集中的であると述べている。その後, 吉田はやはり不妊症患者の夫精子の DNA 量を顕微分光測定法のスポット法で測定し精子 DNA

量の平均値は不妊群の方が妊孕群よりやや大きいと報告し, 加えて精子 DNA 量の各症例別の平均値の各群内での分散は明らかに不妊群の方が大きく, 不妊群の精子 DNA 量は妊孕群のそれと比較して分散の大きいことを示唆した。また測定中に妊娠した例を挙げ, その初期の精子 DNA 量平均値が次第にコントロールの精子 DNA 量平均値に近づき, しかも標準偏差が小さくなつたときに妊娠したことを認め, このような精子 DNA 量の変動が妊娠の成立に関係するのであろうと述べている。一方, 坂倉等は 23 例の不妊症患者の夫精子 DNA 量について検討し, コントロールの精子 DNA 量平均値よりやや多い程度で有意の差は認められないと述べている。しかし, 精子数 $35 \times 10^6/\text{ml}$ 以下のものと以上のものとを比べると精子 DNA 量, DNA 分布均等値に対して著明な差がみられたと報告している。その後, 泉は初めて精子 DNA 量の検討に二波長法による顕微分光測定法を用い精子 DNA 量を測定し報告した。その結果では運動率 50% 以上を有する精子群では 50% 以下の精子群に比べてその個々の精子 DNA 含量の分散度は小さいがそれぞれの平均値の間には有意の差はなくまた個々の精子 DNA 含有量は妊孕群では個体差が少なくと述べている。われわれの検討例においてもやはり不育群, 対照群間における DNA 平均量の有意差は認められなかったが, 注目に値するのは不育群の多くが対照群と同じような個々の精子 DNA 量の平均値を示したにもかかわらず一部においては全く異なつた広い分布を示すものが認められたことである。本来精子 DNA 量はそのすべてが染色体に含有されていることから考えれば体細胞 DNA 量の $1/2$ 量を示すはずであり, しかも一定量を示さなければならない。それが平均値としては同じように表わされても個体の精子毎に精子 DNA 量が異なり, 個々に広い分散を示すことは一個体の精子間で差があることを示すわけである。精子として完成されたものについてはその精子 DNA 量の含有量は一定であるべきと考えられ, 従つて精子 DNA 量測定値がある一定値をとるべきであり, 分散の多いパターンを示すのはそれだけ個々の精子間において精子 DNA 量に差があるということになり, これは DNA が染色体上に位置することと併せて考えれば染色体構成に何等かの異常が示唆される。体細胞の染色体構成の確認はかなり適格に行ない得るようになったはずにもかかわらず性細胞の染色体分析は困難で, 精子 DNA 量に差がありすぎても精子の染色体の分析ができずこの点の詳細は検討しえない。また今回われわれが測定に用いた精子はいずれも奇形を示さないものばかりであり奇形を呈する精子の DNA 量についての検討も必要であり今後の問題点であろうか。いずれにしてもわれわれの検

素成績より見てこれら精子の DNA 量の変動と妊孕性には大きな相関があることを示唆するものとする。

稿を終るに臨み八神喜昭教授の御懇切なる指導、校閲に対して深く感謝致します。又当研究につき貴重な御助言を賜わった K.K 島津製作所分析センター前田富之氏に謝意を表します。

文 献

- 1) Leuchtenberger, C., Schrader, F., Weir, D. R. & Gentile, D. P.: Chromosoma, 6: 61-78 (1953).
- 2) 坂倉啓夫: 日不妊会誌, 5, 3(1961).
- 3) 吉田俊彦: 日産婦誌, 12, 10(1961).
- 4) 泉勝視: 日不妊会誌10, 2 (1965)

The study of the desoxyribosenucleic acid (DNA) content in human spermatozoa

Masao Yamada and Masayoshi Noguchi

Department of Obstetrics and Gynecology,
Nagoya City University School of
Medicine
(Director: Prof. Yoshiaki Yagami)

For the estimation of DNA, microspectrophotometry of the Feulgen stain was used. Measurement of the DNA content in spermatozoa of seventeen human males with two wave-length method was studied. The results were as follows:

- 1) There was no significant difference in the mean amount of DNA per spermatozoon between spermas of husband of infertility and those of habitual abortion woman.
- 2) Mean amount of DNA of spermatozoon ranged from 0.329 to 0.410 in arbitrary unit.
- 3) Though mean amount of DNA per spermatozoon is expressed almost same of them have wide variation of DNA amount and others have small variation.

第 64 回日本不妊学会関西支部集談会

日 時 1973 年 2 月 24 日 (土) 午後 2 時

場 所 京都市左京区聖護院川原町
京大病院 産婦人科講堂

1. Reifenstein 症候群(男性半陰陽)の 1 例

小松洋輔, 友吉唯夫, 加藤篤二
(京大泌尿器科)

尿道下裂, 女性化乳房, 思春期後の睾丸萎縮, 男性二次性徴の発現不良など, 1965 年 Bowen らが記載した Reifenstein 症候群を呈する 18 歳の男性半陰陽の 1 例を報告した. 前立腺小室の拡張を認めるほかには, 内性器に Müller 氏管系の発育がないことが, 試験開腹によって確認された. 細胞遺伝学的, 内分泌学的検査の結果は, これまでの本症候群に関する記載に一致し, 核型 46, XY, 尿中 17KS, 尿中 estrogen, 尿中 gonadotropins は正常値であった. 両側睾丸は造精機能停止型の組織学的所見を呈した.

2. 右精囊腺の交叉性変位を伴った左精管欠損症の 1 例

大西真尚, 高崎 登, 宮崎 重
(大阪医大泌尿器科)

症例 25 歳, 男性, 独身の会社員. 1962 年 8 月 1 日, 排尿終末時痛, 残尿感, 血精液を主訴として来院した. 膀胱炎および精囊腺炎の診断のもとに治療を行なった. 膀胱炎症状は消失したが, 血精液が続いたので, 精囊腺造影を試みたところ, 左精管の欠損を発見した. 右精管および精囊腺は骨盤腔内で左側に変位し, 射精管は左側より尿道に達していた. 睾丸組織所見は右側は硝子化著明で造精機能は全く認めない. 左側はほぼ正常の造精機能を有していた. 以上, 対側睾丸の造精機能障害と精管の交叉性変化を伴った偏側性精管欠損症であったが, これに対して, 交叉性の精管副睾丸吻合術(右精管左副睾丸吻合術)を行なった.

3. 精子運動と亜鉛に関する研究

斉藤宗吾, 田中邦彦, 彦坂幸治, 石神襄次
(神戸大泌尿器科)

各種動物の精液, 精漿亜鉛に関してはかなり多くの報

告があるが, 精子そのものに含有される亜鉛の報告は比較的少ない. ヒトで常精液より分離した精子について亜鉛含量を atomic spectrophotometry で測定した. 検体は 20 例で精子亜鉛は $420 \mu\text{g/g}$ から $3063 \mu\text{g/g}$, 平均 $1242 \mu\text{g/g dry weight}$ でかなり高濃度の亜鉛が含まれている. この亜鉛の生理的意義はまだ明らかでないが, 2 Na-EDTA および Mg-EDTA で精子運動が抑制され, Ca-EDTA, Co-EDTA, Zn-EDTA では運動への影響はみられなかった. このことは Na-EDTA, Mg-EDTA Zn EDTA は亜鉛をキレートして, 精子運動を抑制する可能性を示唆している.

質問 加藤篤二(京大泌)

前立腺の Zn に対するキレート試薬としてはジチゾン, オキシソ, アロキサン, EDTA の順に障害が強いが精子に対しては如何.

回答 斉藤宗吾(神戸大泌)

1) 精子運動に対する EDTA の抑制作用機構は前立腺に対する dithizone の組織障害機構とは異なると思われる.

2) Zn イオンの対精子作用は濃度によるが, 少なくとも毒性は Cd, Cu などに比しかなり高濃度でもないが, あつても軽度である.

4. ラット子宮液の生化学的症狀について

入谷 明, 佐藤英明, 葛西孫三郎, 西川義正
(京大畜産)

雌生殖器官内の精子に対する環境要因としてのラット子宮液の意義を究明することを最終目的として, 発情期の分泌量, 採集可能量をしらべ, 同時に 2, 3 の生化学的性状を明らかにするために本実験を行なった. 正常な性周期を示す体重 200~220g の Wistar 系ラットを用い, 貯留液は発情前期の午後 10 時以降にツベルクリン注射筒で採取された. 貯留液量は 1 例子宮当り平均 0.5 ml であった. 乾物量, 蛋白, 非蛋白窒素はそれぞれ 1.6 g/dl , 0.16 g/dl , 3.1 mg/dl であった. GPC-diesterase 活性は $3.3 \pm 0.4 \text{ mg cholin/ml fluid}$ であつてかなり高

濃度に含まれ、めん羊や山羊のそれらにも匹敵する強い活性を示した。無機塩類を他種動物にくらべるとKがかなり高くCaが低い以外は、Na, Cl, Mgなどの濃度はほぼ近似していた。

質問 石神裏次(神戸大泌)

ポリサッカライド、とくにムコポリサッカライドはどうか。肉眼的性状から考えて、きわめて少ないように考えられ、かつそれで受精可能の状態とすると、ラットにおいて受精におけるポリサッカライドの意義を考えるうえにきわめて興味ある事実と考えられる。

回答 入谷 明(京大畜産)

rat 子宮液でムコポリサッカライドはこの実験では測定していない。ただ外観的に他種動物の子宮液では明らかに粘性をともなっており、事実ムコポリサッカライドも検出されているが、rat の発情期の貯留液はきわめて単純な生理液に近い感じで、おそらく含まれているとしても粘液多糖類は非常に少ないのではないかと思う。

質問 加藤篤二(京大泌)

他の enzyme は何か測定していないか。

回答 入谷 明(京大畜産)

今回は GPC diesterase のみを測定した。

5. ラット受精卵の家兎生殖器官内における着床の可能性、とくに2, 3の着床要因

角田幸生, 入谷 明, 西川義正

(京大畜産)

目的：演者らは第62回集談会で、移植するラット卵と recipient ラットの排卵時期の同期化について発表した。本実験では卵子側および子宮側より2, 3の着床促進要因を検討したので報告する。また回収したラット卵の生存性についても検討した。方法：ラットの桑実胚一胚盤胞をエストロゲン添加培養液ならびに Day 5 および Day 6 の生殖器官灌流液で予備培養後偽妊娠家兎卵管に移植し、48時間後回収してその形態を測定した。また一部は偽妊娠ラットへ再移植した。ついで偽妊娠家兎の片側卵管に家兎卵を移植し、残り片側卵管にラット卵を移植して10日後に着床検査を行なった。結果：①エストロゲンの影響：着床促進効果はほとんど認められなかった。②生殖器官灌流液の影響：着床促進効果が認められた。③再移植後の生存性：移植卵の約50%で着床がみられたが生存胎児は得られなかった。④子宮側よりの検討：家兎卵の着床はみられたが、ラット卵の着床はみられなかった。

6. 精巣上体精子によるラット卵子の体外受精

三宅正史, 宮本元, 入谷明, 西川義正

(京大畜産)

目的：ラット卵子の体外受精に関する報告は、宮本ら(1973)の例を除けばみられない。本実験は特定の capacitation 操作を行なわない精巣上体精子による、ラット卵子の体外受精の可能性を検討するために行なわれた。方法：生後25~35日齢の Wistar 系ラットに、PMS, HCG をおのおの30i.u. 投与し過排卵を誘起した。HCG 投与後15~16時間に殺し、卵管膨大部より採卵した。精子は同系の雄ラットの精巣上体部から採取し、ウシ血清アルブミン等を含む修正 KRB 液に懸濁し、卵子浮遊液に添加した。8~10時間培養後、位相差顕微鏡下で受精の有無を検査した。結果：供試卵 558個中、受精率の変動は大きいが31.2%の精子侵入卵を、28.7%の受精卵を得た。また受精率と培養中に精子の維持した活力との間に関係が深いことが推察された。本実験により安定した受精率は得られていないが特定の capacitation の操作を加えなくても、in vitro で精巣上体精子により、受精の可能なことが示された。

質問 都竹 理(阪大産)

精子を採取してから体外受精するまでの時間はどれぐらいか。

回答 三宅正史(京大畜産)

精子の操作は、回収後、ただちに加温した medium 中に入れるので、精子が空気中にさらされる時間は数秒程度で、卵子とともにするまでは、10~15分である。

質問 富永敏朗(京大産)

卵をひたした溶液は何か。流動パラフィンを滅菌する場合の方法はどうか。また、観察に用いた容器は何か。

回答 三宅正史(京大畜産)

使用 medium はウシ血清アルブミン、ピルビン酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、グルコース等を加えた KRB を基本とするものである。パラフィンオイルの滅菌は、紫外線で行なっている。卵の観察は時計皿で行ない、その後、スライドグラスにのせ位相差顕微鏡下で検査した。

7. ヒステロスコップ直視下卵管焼灼による永久不妊術

杉本 修, 大島正尚, 西村敏雄

(京大産婦人科)

高周波電流によって卵管を焼灼し、女性永久不妊の目的を達しようとする試みは、Mikulicz-Radecki (1928)

に端を発する。しかしながらヒステロスコープ自体の性能はもちろん、これによる卵管口の探知、焼灼子の挿入、焼灼条件などに対する検討が十分でなかったため、確実な効果を挙げる事ができなかった。近年開発された SL 型ヒステロスコープでもなかなか見えにくかった卵管口は、ズファジラン前処置によって、月経中およびその直後で94%の割合で見えるようになった。卵管口の形態には個体差があるが、これに 1.2mm ϕ の焼灼子を挿入し、卵管口より 10mm, 5 mm, 0 mm の3カ所で焼灼を行なう。高周波発生装置は出力 0~100W. 中心周波数 1 MC のスーパーギャップ方式であり、現在までの成績では出力30~40W. 通電時間 2 ~ 5 秒くらいが最適と考えられるが、摘出標本の組織学的所見および、卵管造影法によって効果を検討中である。

質問 加藤篤二(京大泌)

穿孔例はなかったか。

回答 杉本 修(京大産)

穿孔の危険が全くないとはいえない。すなわち、通電時 electrode が移動する場合であり、electrode が過度に組織を圧迫していると、その方向に向かつてelectrode が穿孔していくことがある。したがって通電時electrode を動かないよう気をつければ全く危険がない。

8. ラット血中 LH, FSH の合成 LH-RH 負荷による変動について

本橋 享, 青地秀樹, 余語郁夫

(京大産婦人科)

近年合成に成功した LH releasing hormone (以下 LH-RH) を用いて成熟ラット下垂体の LH-RH に対する反応性を検討した。Wistar-イマミチ系成熟ラットを用い、14時間照明、10時間暗黒の環境下に4日型性周期を示すものを選び10a.m. に diestrus, proestrus, estrus, metaestrus 各期 6 ~ 8 頭を一群とし、一頭当り 100 μ g の合成 LH-RH を生食に溶解し頸静脈より投与し、10分, 30分, 60分, 120分後に採血して血漿中 LH および FSH を radioimmunoassay により測定した。結果として LH は diestrus を除く3期にて対照群に比し有意の増加を示したが、その変動の pattern は若干の違いがみられた。diestrus には有意の増加はみられなかった。FSH はこの投与量にては4期とも対照群に比し差を示さなかった。以上の結果より、ラット下垂体は視床下部、下垂体、卵巢系に組み込まれて単に上位の支配により gonadotropin の release を行なっているのではなく、自体にも反応性の周期的変化を有していることが示唆される。

9. 老齡婦人の下垂体 LH, FSH 分泌能 feedback 機構について

吉田 裕, 金丸英彦, 一戸喜兵衛

(和医大産婦人科)

われわれは老齡マウス卵巢に成熟卵巢を交換移植すると妊孕齢はおろか平均寿命をも越えた老齡動物にさえ妊娠、分娩に至る生殖能が回復されることを実証しすに発表した。今回はヒトにおける加齢と下垂体 gonadotropin 分泌能, LH-RH への反応性, および卵巢 steroids に対する feedback 機構の存否について検討を試みた。閉経後の婦人65名の血清 LH, FSH 値の radioimmunoassay の結果、閉経後 LH は成熟期の約4倍、FSH は13.5倍に急上昇し、以後90歳以上までほぼ一定の高値を維持していることがわかった。16名の老齡婦人に LH-RH 100 μ g を皮下注射すると全例著明に反応し、成熟婦人と同様の反応様式を示した。ゆえに閉経後約10年を経過しても下垂体は視床下部の情報に正しく反応する能力を保持しているらしいことが判明した。また estradiol, premarin の数日間の経口投与にもよく反応し LH, FSH とともに約50%に低下し、老齡婦人の視床下部-下垂体の性 steroids に対する feedback 機構は生涯ほぼ完全に保持されるものと推測された。

質問 杉本 修(京大産)

premarin 1.25mg $\times$ 7日間程度の投与であれば性成熟婦人では大部分の例で排卵を抑制しない。演者は同剤を老年婦人に投与し、gonadotropin の著明な減少を示されたが、老年婦人では estrogen の上位に対する negative feedback 作用が、性成熟期に比べてとくに強くなっていると考えるか。

回答 吉田 裕(和医大産)

私たちの保有している研究結果の範囲内からは、プレマリン等の estrogen 製剤の gonadotropin 抑制作用が、とくに老齡婦人に著しいということは考えられない。

質問 本橋 享(京大産)

末梢に対する活性の高い steroid の場合の gonadotropin の変化を示されたが、末梢作用の低い他の steroid たとえば 6-medroxy progesterone のようなものを投与した場合を検討されていたら教示をこう。

回答 吉田 裕(和医大産)

今回の研究では estrogen として premarin と ethinylestradiol を用いたが、それらに対する反応はほぼ同様であつた。premarin 投与により生じた gonadotropin 抑制はこの中に含有される estradiol の作用によるもの

とも考えられる。gestagen および他の steroids に対する feedback 機構についても目下検討中である。

10. 妊娠ラットに投与された paternal antigen に対する抗体の胎児への移行ならびに胎盤付着について

蛭名勝忠(県西宮腎移植センター)
小川 誠, 佐治文隆, 都竹 理倉
智敬一(阪大産婦人科)

近交系ラットバッフアローの雄と交配して妊娠した他の近交系ラット MP に、バッフアローの組織適合性抗原に対する精製抗体を投与し、約20~24時間後に胎盤摘出し、胎盤への付着状態、ならびに、胎児への移行の状態を観察したところ、投与された精製抗体は、胎盤通過の途中、胎盤に存在する父系抗原、すなわち、バッフアローの組織適合性抗原と免疫反応により結合し、また、一部は、正常ラットグロブリンとほぼ同じ割合で胎児に移行することを認めた。なお、精製抗体の45分後注射の例では、胎盤へはほとんど付着しておらず、父系組織適合性抗原は絨毛間腔よりかなり遠い部分に存在しているのではないと思われる。

11. 胎盤に付着した paternal antigen に対する抗体の免疫学的性質

根来孝夫, 黄 清熙, 若尾豊一
都竹 理, 倉智敬一(阪大産婦人科)

放射性ヨード ^{125}I で標識された近交系ラット Buffalo の histocompatibility antigen に対する抗体 (これは感度の非常に弱いものであつたが)、これを Buffalo メスと mating した妊娠 MP ラットに投与し、24時間着に開腹して胎盤に付着した抗体を、pH 2.2, 0.1M HCl glycine buffer で溶出した。溶出液を対応抗原である Buffalo の spleen cell と反応させたところ、反応に用いた抗体の17.1%が付着し、注射前に比し、かなり高い感度を示した。この事実より、胎盤通過の途中、抗体活性を有する immunoglobulin が胎盤中の paternal histocompatibility antigen に免疫反応によつて付着することを知つた。また、上と全く同じ実験操作であるが、こんどは注射後1時間で開腹して、胎盤を摘出し、同様の操作を行ない、溶出液の抗体活性を調べたところ、投与前とほとんど同じ値を示した。このことより、投与後1時間では、抗体は胎盤内の paternal histocompatibility antigen にまだ十分に到達していないことを知つた。

日本不妊学会雑誌 18巻3号

昭和48年6月25日印刷

昭和48年7月1日発行

編集兼 発行者	芦原慶子
印刷者	向光枝 東京都品川区上大崎3-12-15
印刷所	一ツ橋印刷株式会社 東京都品川区上大崎3-12-15
発行所	日本不妊学会 東京都大田区

大森西7丁目5番22号
Tel(762)4151 内線258

振替口座番号 東京 93207