

Japanese Journal of Fertility and Sterility

April 1974

日本不妊学会雑誌

第 19 卷

第 2 号

昭和 49 年 4 月 1 日

目 次

原 著

精子不動化抗体に關与するヒト精漿抗原の檢索

1. 精漿抗原分析ならびに精子付着抗原について.....香山 浩 二.. 1

Eliasson 法による豚精子の生死鑑別染色法の検討.....平尾 和 義..11

尿中 estrogen の螢光測定法 (Brown 法) に関する研究.....前田 宣 紘..17

家兎胎胚の Embryonic disc における Autoradiography.....田 宮 親..24

中規模病院における不妊外来——大学不妊クリニックとの比較.....百瀬 和 夫..33

STUDIES ON STORAGE OF HUMAN SEMEN

BY USING "PROGRAM FREEZER".....Bai-Kwann TU..40

農村都市における不妊症の実態.....高 田 久..47

着床前家兎 uterine fluid 中の albumin および blastokinin

の消長について.....白井 英 一 郎..52

Dehydroepiandrosterone Sulfate ならびに Enanthate

の雌ラット性腺に及ぼす特異な効果

1) HCG を投与された未熟雌ラットにおける効果.....小 川 誠 一..55

Dehydroepiandrosterone Sulfate ならびに Enanthate

の雌ラット性腺に及ぼす特異な効果

2) HCG を投与された 5-Androstenediol の不妊ラット  
における効果.....小 川 誠 一..64

昭和48年度第18回(社)日本不妊学会學術總會抄録.....71

日本不妊学会東北支部總會.....136

第66回日本不妊学会関西支部集談會.....140

## 総会および学術講演会予告 (第2回)

第19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多数御参加下さい。

- 開催期日** 昭和49年10月11日(金)・12日(土)
- 会場** 金沢市観光会館 金沢市下本多町 6-27 TEL (0762)21-5191(代)
- 学術講演会**
- I. 招請講演  
細胞膜の特異抗原と無精子症  
金沢大がん研 倉田 自 章教授
- II. シンポジウム
- 1) 精子の性器内移送 司会 東北大泌尿 穴戸 仙太郎教授  
東邦大産婦 林 基之教授
- 2) Aging と性機能 司会 札幌医大泌尿 熊本 悦明教授  
金沢大産婦 西田 悦郎教授
- III. 一般演題
- 演題申込資格** 本会会員に限ります。会員以外の方(共同発表者を含む)は、演題申込と同時に昭和49年度会費納入の上、会員となつて下さい。
- 演題申込方法** 本誌に挿入されてある所定の用紙を必ず使用し、800字以内の講演内容要旨を添付して書留郵便で送つて下さい。講演内容要旨原稿はそのまま写真製版の上、抄録集とする予定です。なお演題の採択は会長に一任させていただきます。
- 演題申込締切** 昭和49年6月30日(当日消印有効)
- 演題申込先** 〒920 金沢市宝町 13-1  
金沢大学医学部泌尿器科学教室内  
第19回日本不妊学会総会事務局 黒田 恭一宛  
TEL (0762) 62-8151(代)
- 理事会・評議員会** 昭和49年10月10日(体育の日)午後  
センチュリープラザ 金沢市清川町 2-10 TEL(0762)42-1133(代)
- 総懇親会** 昭和49年10月11日(金)  
同上
- 総会・学術講演会  
参加申込方法** 1) 本誌に挿入の振替用紙裏面が申込書になっておりますので、各事項御記入の上参加費を払つて登録して下さい。  
2) 大学教室などに所属の方も必ず個人別にお申込み下さい。  
3) 締切 昭和49年6月30日(当日消印有効)
- 宿泊・観光** 日本交通公社に依頼してありますので、詳細は次号に案内の予定です。  
第19回日本不妊学会総会会長  
金沢大学医学部泌尿器科学教室  
黒田 恭一

## CONTENTS

Studies on antigenicity of human seminal plasma in relation to sperm immobilizing antibodies 1. Immunoelectrophoretic analysis and characterization of human seminal plasma as sperm coating antigens.....	<i>K. Koyama S. Isojima &amp; K. Tshuchiya</i> ..... 1
Evaluation of Eliasson's Method as a Live-Dead Differential Staining of Boar Spermatozoa.....	<i>K. Hirao, T. Azami &amp; N. Fujita</i> .....11
Clinical investigations on the measuring Urinary total estrogens by fluorometry of Brown et al.....	<i>N. Maeda</i> .....17
Autoradiography on the embryonic disc of rabbit blastocysts.....	<i>C. Tamiya</i> .....24
Statistical Study on the Sterility at a Middle-Sized Hospital—Comparison with Sterility Clinic of University.....	<i>K. Momose, Y. Hirashiki, G. Ohmura &amp; L. Tanaka</i> .....33
Studies on Storage of Human Semen by Using "Program freezer".....	<i>B-K Tu, Y. Nakamura, T. Kobayashi &amp; R. Iizuka</i> .....40
Clinical Observation on the Sterility in our Clinic at the Rural City.....	<i>H. Takada</i> .....47
Observation of Albumin and Blastokinin in The Rabbit Uterine Fluid before Implantation.....	<i>E. Shirai &amp; R. Iizuka</i> .....52
An Specific Effect of Dehydroepiandrosterone Sulfate and Enanthate on the Reproductive Organs of Female Rat. 1) Observation on the immature female rat treated with HCG previously.....	<i>S. Ogawa &amp; Y. Karasawa</i> .....55
An Specific Effect of Dehydroepiandrosterone Sulfate and Enanthate on the Reproductive Organs of Femalet Rat. 2) Observation on the sterilized rat by 5-Androstenediol treated with HCG previously.....	<i>S. Ogawa &amp; Y. Karasawa</i> .....64

# 精子不動化抗体に関与するヒト精漿抗原の検索

## 1. 精漿抗原分析ならびに精子付着抗原について

Studies on antigenicity of human seminal plasma in relation to sperm immobilizing antibodies.

### 1. Immuno-electrophoretic analysis and characterization of human seminal plasma as sperm coating antigens.

兵庫医科大学産科婦人科学教室

香 山 浩 二      磯 島 晋 三  
Koji KOYAMA      Shinzo ISOJIMA

徳島大学医学部産科婦人科学教室

土 屋 邦 男  
Kunio TSHUCHIYA

Department of Obstetrics and Gynecology, Hyogo Medical College.

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,

Tokushima University.

精漿抗原分析の結果、精漿中には人血清成分とか肝臓腎臓などの可溶性抗原以外に少なくとも6種の抗原成分を含有しており、この内の2つは人乳との共通抗原であり、4つは精漿特異抗原であると考えられた。精子不動化作用を有しているのは精漿人乳共通抗原および精漿特異抗原成分に対応する抗体であり、人血清成分などに対する抗体には不動化作用は認められなかった。また精漿抗原群の中で精子附着抗原となり得るのは精漿人乳共通抗原と精漿特異抗原であった。精漿特異抗原分離抽出の試みとして硫酸塩析法、Sephadex G-100, DEAE-cellulose および disc-electrophoresis 法を用いて精漿蛋白分画を行ない、免疫電気泳動的にほぼ純粋な精漿特異抗原および人乳共通抗原成分を分画し得た。

#### 1. 精漿抗原分析ならびに精子附着抗原について

特に原因不明不妊症患者の中に血中抗精子抗体保有婦人の存在することが明らかにされるに至つて<sup>1-8)</sup>、抗精子抗体による不妊発生機序の究明およびこの不妊機序をいかに birth control に応用出来るかが大きな課題となつて来た。文献的には実際に精液を婦人に注射して一定期間不妊症を惹起せしめたという報告<sup>9-12)</sup>もあるが、今まだ精子特異抗原が分離精製されていない段階においては、他の重要臓器との共通抗原の存在も否定出来ず、非常に危険であると言わざるを得ない。従つてまず第一段階として精子特異抗原を分離抽出精製することが急務であるが、Weil<sup>13-15)</sup>らによりヒト精子細胞自身には抗原性はなく精子細胞の表現している抗原性は全て精子細胞表面に吸着している精漿抗原によるものであると報告さ

れて以来、多数の研究者により精漿抗原の分析が行なわれて来た<sup>16-30)</sup>。分析結果は研究者によりまちまちであるが、血清成分と抗原性を cross しない精漿抗原が何種類か存在することには間違いなく、これらの精漿抗原が実際に精子細胞に吸着して、すなわち精子附着抗原となつて対応する抗精漿抗体によつて精子細胞が障害される結果不妊症が惹起されると想定されている。われわれの不妊婦人抗精子抗体(精子不動化抗体)の分析結果<sup>8, 31, 32)</sup>によつても、ほとんどの血中精子不動化抗体は精漿抗原によつて完全に吸収され、精漿抗原が抗精子抗体による不妊症発生に強く関与している事が明らかである。従つて精漿中より血清成分とか他臓器と抗原性を交叉しない完全な精漿特異抗原を分離精製し、これを婦人に注射する事によつて不妊症を惹起せしめ、birth control に応

用する事を最終目的としてヒト精漿抗原の分析および精漿抗原群の中でいかなる成分が精子附着抗原となつてゐるかを検討したので報告する。

### 実験方法

#### 1. ヒト精漿蛋白の抽出

精漿蛋白抗原として pool した無精子症患者精液 (HAS) を用いた。すなわち pooled HAS を遠沈 (3,000 rpm, 10分間) し、その上清 42.5ml に等量の生食水を加えて混合し、これに硫酸 ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) を加えて飽和とし、4°C で一夜放置し 10,000rpm で 30分間遠沈し沈澱蛋白をさらに飽和硫酸で 3 回洗浄した後 0.01 M, pH 8.6) にて溶解し、溶液中の硫酸は BBS を外液として透析除去し不溶性成分を遠沈除去した後、その上澄みを凍結乾燥して以下の実験に用いた。

#### 2. 抗精漿血清 (anti HAS) の作成

HAS (8.9mg/ml) 3.5 ml に等量の完全 Freund's adjuvant を混合し、その 2 ml を三頭の各雌家兔 (3 ~ 3.5kg) の足蹠および背皮内に 0.1ml ずつ注射し 3 週間後同様の注射を行ない、さらに 2 週間後より隔日に計 5 回抗原溶液のみを 1 ml 各家兔腹腔内に注射し、最後の注射より 1 週間目に心臓穿刺により全採血を行ない、血清を分離し、-20°C にて分注保存した。

#### 3. 抗血清の吸収

吸収抗原としては正常ヒト血清 (NHS), ヒト肝および腎組織 (HuL および HuK), 人乳蛋白 (HM) の凍結乾燥せるものを用いた。すなわち anti-HAS 1 ml に対して凍結乾燥せる NHS 60mg を加え 37°C, 60 分間 incubate し、さらに 4°C で一夜放置し 10,000rpm で 30分間遠沈してその上澄みを正常ヒト血清吸収精漿血清 (anti HAS abs-c NHS) として実験に用いた。吸収の完全性についてはゲル内沈降反応により確認した。NHS で吸収後、さらに順次 step-wise に HuL, HuK および HM で吸収してゆき HAS との共通抗原性について検討した。なお、HuL および HuK は交通事故死者の肝、腎組織の一部の提供を受けこれを細切、ホモゲナイズし超音波処置した後その上澄みを凍結乾燥して用いた。人乳蛋白抗原 (HM) は HAS と同様の方法で抽出した。

#### 4. ゲル内沈降反応および免疫電気泳動

0.85% Agar Noble (Difco) BBS 溶液を用いて slide glass 上に厚さ 1 mm の寒天板を作成してゲル内沈降反応に用いた。免疫電気泳動には Veronal-HCl buffer (0.02 M, pH 8.6,  $\mu=0.05$ ) を用いて厚さ 1 mm の 0.85% 寒天板を作成し、抗原孔および抗体溝の直径は 2 mm とし距離は 4 mm とした。泳動は 6 V/cm で通常 45 分間行ない、抗原抗体反応時間は 24 ~ 48 時間と

し反応終了後水洗乾燥し、0.5% Amido black 10 B 溶液で染色した。

#### 5. Sephadex G-100 および DEAE-cellulose 分画

HAS (67.1mg/ml) 10ml をまず Sephadex G-100 column (2.5×112cm) で BBS を用いて分画 (10ml/tube/45分) し、さらに Sephadex G-100 分画で得た fraction A (55.6mg/ml) 1.7ml をトリス-リン酸緩衝液 (0.04 M, pH 8.6) を用いて DEAE-cellulose column (3×30cm) で分画して各分画の抗原性を検討した。なお DEAE-cellulose 分画においてはトリス-リン酸緩衝液中の NaCl 濃度を連続的に上昇させていく gradient elution 法を用いた。

#### 6. Polyacrylamide gel を用いた disc-electrophoresis による分離

DEAE-cellulose 分画で得た分画をさらに Ornstein<sup>83)</sup> および Davis<sup>84)</sup> が考案した方法で永井<sup>85)</sup> の変法による Polyacrylamide disc-electrophoresis 法で抗原の分離を試みた。分離用ゲルとしては pore size 7.5% pH 8.9, 濃縮用ゲルは 2.5% pH 6.9 とし、電極槽用緩衝液には pH 8.3 の tris-glycine buffer を用いた。分離用ゲルの column size は 1.7×7.0cm とし、濃縮用 column (1.7×0.8cm) の上に 40% 蔗糖濃度になるように調製した試料 0.5ml を静置し電気泳動を行なつた。泳動終了後分離用ゲルを取り出し、その一部を縦に切断採取し 1% amido black 10B で染色して蛋白 band を確認した後、この蛋白 band に照合して残りの分離用ゲルの蛋白 band と考えられる箇所を横に切断採取し、これを Potter-Elvehjem homogenizer でホモゲナイズし、含まれる蛋白成分を分離抽出してその抗原性を検討した。

#### 7. <sup>125</sup>I-標識抗 $\gamma$ -グロブリンを用いての精子附着抗原の検討 (第 1 図)

各吸収段階における anti HAS (1:100) 0.3ml と

#### Procedure to detect Antibodies against Sperm Coating Antigens

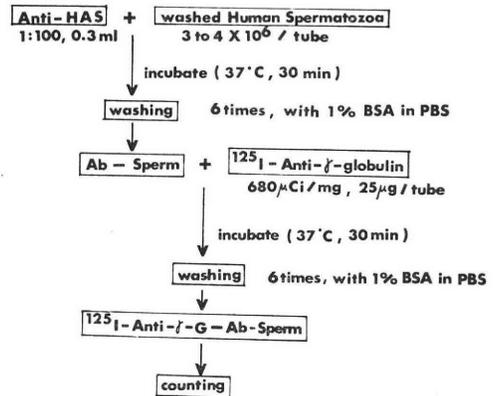


図 1

磷酸緩衝液 (PBS  $1/15$  M, pH 7.2) で洗浄した精子細胞 ( $3 \sim 4 \times 10^6$ ) を反応させ、反応後遠沈洗浄を十分に行なつた後、さらに  $^{125}$ I-標識抗家兎  $\gamma$ -グロブリンと反応させ、これを示標として精子細胞と反応した各吸収段階における抗血清中の抗体量を測定し、この精子へ吸着した抗体の種類から、反対に精子細胞表面の抗原群を想定した。対照血清として正常家兎血清 (NRS) および抗ヒト血清蛋白血清 (anti NHS) を用いた。抗家兎  $\gamma$ -グロブリン血清は NRS より硫酸塩析法で抽出した  $\gamma$ -グロブリン分画をヤギに免疫して作成し、このヤギ抗家兎  $\gamma$ -グロブリン血清より  $\gamma$ -グロブリン分画を分離精製して  $\gamma$ -グロブリン 2 mg に対して  $^{125}$ I-Na 2 mCi を chloramine T 法によつて標識し実験に用いた。

8. 精子不動化試験

Anti HAS を NHS, HM で順次吸収していき、各吸収段階における抗血清中の精子不動化作用をすでにわれわれの報告した精子不動化試験法<sup>4,8,81,82</sup>) を用いて検討した。対照試験としては必ず前もつてヒト精子細胞に対して殺精子作用のない事を確認した NRS をもつて行ない、また補体 (guinea pig serum: これも前もつて殺精子作用のない事を確認したものをを用いる) を加えない対照試験も実験毎に行なつた。なお本実験における抗血清の吸収は、予備実験によつて人乳蛋白がヒト精子に対して殺精子作用を有していることが判明したので、吸収用抗原としては全て ethyl chloroformate で不溶性蛋白 (Polymer) とし<sup>82</sup>, これを immunoabsorbent として用いた。

実験結果

1. 精漿蛋白抗原の分析

3頭の家兎より採取した anti HAS 血清 (No. D, No. E, No. F) は共に強い抗体力価を有しており、ゲル内沈降反応で HAS (20mg/ml) に対して共に64倍まで稀釈しても多数の沈降線を形成した。免疫電気泳動において、No. D, No. E, No. F anti-HAS 血清は HAS (20mg/ml) に対してそれぞれ12本, 13本, 10本の沈降線を形成し、また NHS (100mg/ml) に対してもそれぞれ6本, 5本, 7本の band を形成した。この結果は同じ抗原でもつて同じように免疫しても各家兎によつて精漿抗原群の中の各抗原成分に対する反応態度がそれぞれ異なつて示してあり、用いた家兎が雑種である以上当然の事である。次に anti HAS No. D, No. E, No. F を等量ずつ混合して6人の無精子症患者より採取した HAS (20mg/ml) の各々と反応させたところ、6人の患者からの HAS はそれぞれ13本, 13本, 10本, 11本, 12本, 11本の沈降線を形成し、各患者

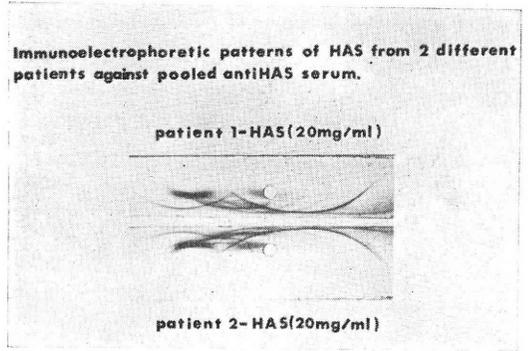


写真 1

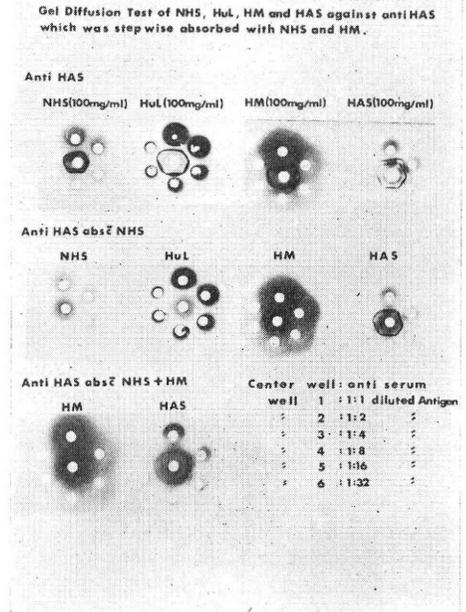


写真 2

によつて精漿中に含まれる抗原の数に多少の相違があることを知つた。写真①は二人の患者からの HAS の免疫電気泳動像を示しており、上段・下段共に13本の沈降線を形成しているが、その泳動パターンは完全には一致しておらず、これは各患者の HAS 中に含まれる抗原群の量的、質的な相違を示しているものと考えられる。従つて以下の実験においては精漿抗原分析に関して最大公約数的な知見を得るべく、抗血清も精漿抗原も共に pool したものをを用いる事にした。写真②の上段は未吸収 anti HAS に対して NHS, HuL, HM, HAS の100 mg/ml 濃度溶液の倍数稀釈したものを反応させた結果であるが、各抗原とも共に多数の沈降線を形成しており

精漿抗原群の中に血清成分, 肝, 人乳蛋白成分と共通する抗原が多数含まれていることを示している. 写真②の中段はヒト血清成分で吸収した anti HAS すなわち anti HAS abs c NHS に対して同様の反応を行なつたものであるが, NHS と HuL とは各抗原濃度において全く沈降線の形成は見られず, 血清成分以外の肝抗原に対しする抗体は用いた抗血清中には含まれていない事を示している. 腎抗原 (HuK) に対しても同様の結果を得た. しかしながら HM に対してはなお2本の, HAS に対しては6本の沈降線が認められた. anti HAS abs c NHS をさらに HM で吸収すると写真②下段に示す如く HM とは全く反応せず, HAS とのみ4本の沈降線の形成を見た. 以上の結果は精漿中には血清成分, 肝, 腎などに含まれる可溶性抗原以外に少なくとも6種

の抗原成分が含まれており, この内の2種は人乳蛋白との共通抗原である事を示している. Hekman & Rümke<sup>22)</sup> からもすでに精漿人乳共通抗原として lactoferrin の存在を報告しており, これが精子附着抗原となつている事を証明している. 写真③上段は HAS と HM の血清および肝抗原吸収 anti HAS に対する免疫電気泳動像を, 下段はさらに人乳蛋白で吸収した anti HAS に対する HAS の泳動像を示したものである. 図②は写真①の模式図を示している. 理解をよくする為に各沈降線に陽極側より陰極側に向かって番号をつけて呼ぶことにすると, 図②に示す如く anti HAS は NHS および HuL で吸収後も HM に対して2本の, HAS に対して6本の band を形成し, さらに HM で吸収した後は No. 3 と No. 7 に相当する沈降線は消失し, HAS との間に4本の No. 4, No. 6, No. 9, No. 10 の沈降線が残つた. なお各沈降線の同定には, 融合性の有無, 電気泳動 pattern, diffusion distance 抗体吸収法および Osserman の方法<sup>30)</sup>などを用いて行なつた.

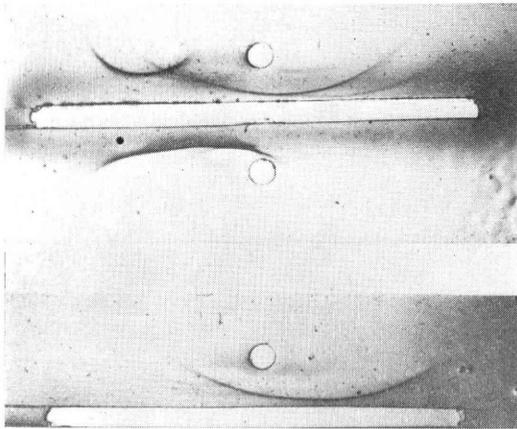
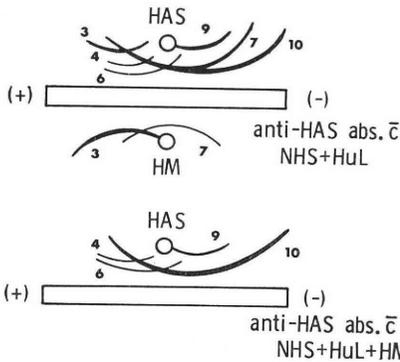


写真 3

Immunoelectrophoresis by absorbed anti-human azoospermic semen (anti-HAS).



HAS (20mg/ml) : Human Azoospermic Semen  
 HM (20mg/ml) : Human Milk  
 NHS : Normal Human Serum  
 HuL : Human Liver

図 2

2. 精漿特異抗原の抽出分離の試み

HAS (67.1mg/ml) 10ml を Sephadex G-100 column で分画すると図③に示す如く Fr A と Fr B の二つの分画にわかれて来た. 写真④と図④に示す如く Fr A は anti HAS abs c NHS+HuL に対して6本の沈降線を形成し, Fr A の中に血清成分および肝などの somatic antigen 以外に6種の抗原成分が含まれている事がわかつたので, さらに Fr A を DEAE-cellulose column で分画を行なつた. Fr A は図⑤に示す如く大きく5つの分画に分れ, 各分画の抗原性を免疫電気泳動法で検討すると, Fr 1 は血清成分のみを含有しており, 他の4つの分画にはそれぞれ精漿特異抗原および精漿人乳共通抗原が含まれていた. 写真⑥と図⑥に示す如く,

Fractionation of HAS on Sephadex G 100 column.

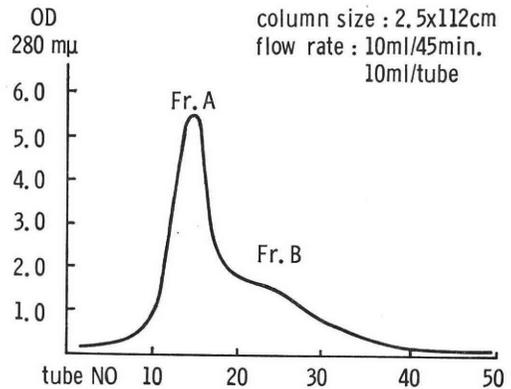
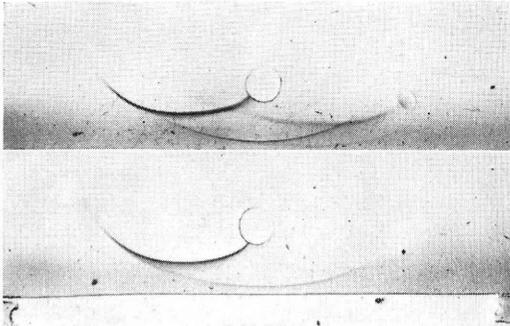
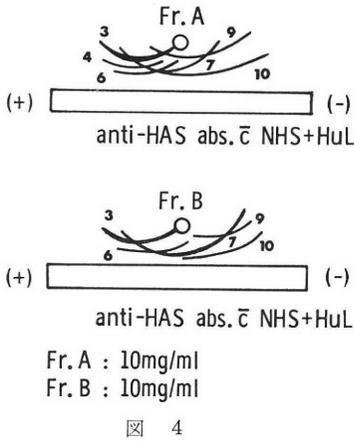
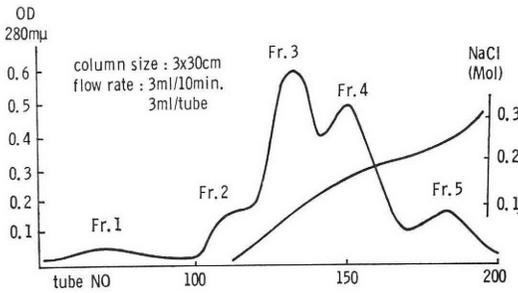


図 3

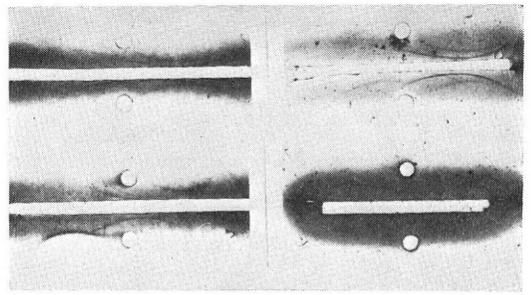
### Immuno-electrophoresis of Fr. A and Fr. B from HAS



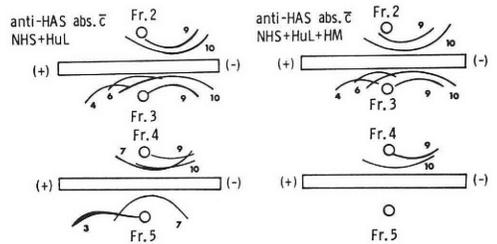
Fractionation of Fr. A-HAS on DEAE cellulose column.



Fr 2, Fr 3, Fr 4, Fr 5は NHS+HuL で吸収した anti HAS に対してそれぞれ 2本, 4本, 3本, 2本の沈降線を形成したがさらに HM で吸収した後は NHS+HuL+HM で吸収した anti HAS に対しては Fr 2は 2本, Fr 3は 4本, Fr 4は 2本の band を形成し, Fr 4の 1本と Fr 5の 2本の band は完全に消失した. 以上の結果は Fr 2, Fr 3, Fr 4に精漿特異抗原成分が含まれており, 中でも Fr 3に4つ共含ま



Immuno-electrophoresis of various fractions from HAS on DEAE cellulose column.



れており, また精漿人乳共通抗原成分は Fr 4と Fr 5に含まれており, Fr 5には2つの共通抗原成分が含まれている事を示している. Fr 3および Fr 5をさらに acryl-amide gel を用いた disc-electrophoresis で分画を試みると, 写真⑦と⑩に示す如く Fr 3は少なくとも5つの蛋白 band を示し, 各 band を分離抽出して抗原性を検討すると他の4つの band の抗原性は同定し得なかつたが, 最も大きい1本の band に No. 6, No. 10に相当する精漿特異抗原が含まれていた(⑩上段). 同様に Fr 3はさらに5つの band に分離され, その内の1本の band は No. 7に相当する精漿人乳共通抗原成分である事がわかつた. 以上のような一連の操作によつて, 精漿蛋白抗原群の中から免疫電気泳動的にほぼ純粋な精漿特異抗原成分ならびに精漿人乳共通抗原成分を分離抽出することが出来るとわかつたので, さらに大量の精漿蛋白より出発して最終的に得られる精漿特異抗原成分の量を増やす事によつて本抗原の生物化学的性質を検討する必要がある.

### 3. 抗精漿血清による精子不動化試験

精漿抗原群の中である抗原成分が精子附着抗原になっているとすれば, その抗原成分に対応する抗体によつて精子細胞は何らかの影響を受けると考えられる. われわれの臨床実験<sup>4,8,31,32)</sup>によつて抗精子抗体の中でも精子不動化抗体が最も不妊症発生に関与していることが明らかとなつたので, 精子不動化作用を示標として anti HAS を各種抗原で吸収し, その吸収前後における精子

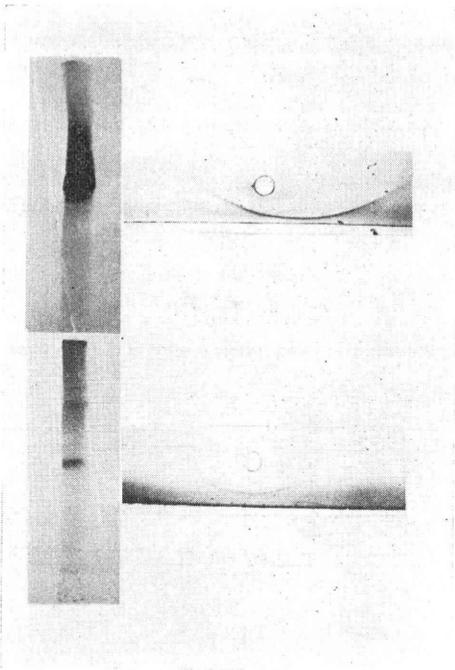


写真 7

Disc-electrophoresis and immunoelectrophoresis of Fr.3 and Fr.5 from HAS.

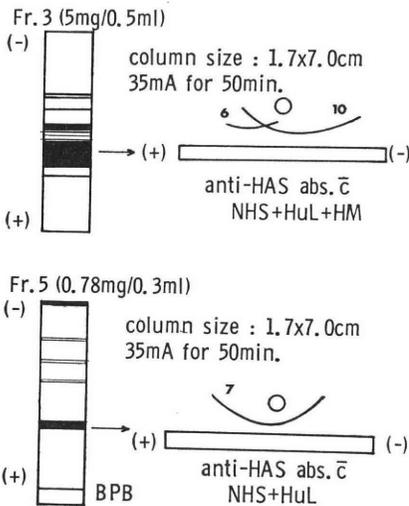


図 7

不動化作用を比較検討することによって精漿抗原群の中でいかなる抗原成分が精子不動化作用に関与しているかを検討した。第1表に示す如く対照としてのNRS(正常家兎血清)は全く精子不動化作用を示さなかつたが、未吸収 anti HAS は確かに強い精子不動化作用を有しており、100倍稀釈まで完全に15分以内に精子運動を阻

表 1 Sperm immobilization by anti-human azoospermic semen (anti-HAS) before and after absorption with normal human serum (NHS) and human milk (HM)

Test materials dilution	Sperm motility after incubation		Test materials dilution	Sperm motility after incubation	
	15min	40min		15min	40min
anti-HAS			anti-HAS abs. c̄ NHS & HM		
1 : 1	-	-	1 : 1	-	-
1 : 10	-	-	1 : 10	+	-
1 : 100	-	-	1 : 100	+	+
1 : 1,000	+	+	1 : 1,000	+	+
anti-HAS abs. c̄ NHS			NRS		
1 : 1	-	-	1 : 1	+	+
1 : 10	-	-	1 : 10	+	+
1 : 100	-	-	1 : 100	+	+
1 : 1,000	+	+	1 : 1,000	+	+

止した。ヒト血清 polymer で吸収してもその精子不動化作用の低下は認められなかつたが、さらに人乳蛋白 polymer で吸収後は著しい不動化作用の低下を示した。以上の結果は、人血清成分に対応する抗体によつては精子運動は全く障害されない事を示しており、これは家兎抗 NHS(正常人血清)血清に全く精子不動化作用のないことから明らかとなつた。HM 吸収後に著しい不動化作用の低下が認められたことは、血清成分以外の精漿人乳共通抗原成分に対する抗体が強い精子不動化作用を有していたことを示しており、また HM 吸収後もなお anti HAS に精子不動化作用が認められたということは精漿特異抗原成分に対する抗体もまた精子不動化作用を有していることを示している。不動化作用の強弱は、用いた抗血清中に含まれる各抗原に対する抗体量によつて異なるものであるから精漿人乳共通抗原と精漿特異抗原のどちらがより強く精子不動化に関与しているとは言えないが、両者とも精子不動化に関与していることに間違いはない。

4. isotopic anti globulin technique<sup>37,38)</sup> による精子附着抗原の検索

anti HAS を NHS および HM で順次吸収してゆき、実験方法の第1図で示した方法によつて各吸収段階における抗血清の洗浄精子への吸着率を検討した結果が第2表である。NRS の吸着率を1.00とすると anti HAS は4.5倍、NHS 吸収後もほとんど変わらず4.42、さらに HM 吸収後は2.20となり著しい低下を示した。対照抗血清の anti NHS は1.28でNRSとほとんど大差

表 2 Binding of Anti-HAS to Human Spermatozoa before and after Absorption

Antiserum added to Spermatozoa	CPM		Ratio of Binding of Anti-HAS to NRS	Binding		
	net count	mean		%	net %	Ratio
<sup>125</sup> I-Anti- $\gamma$ -G added	5,062×10 <sup>3</sup> 5,156×10 <sup>3</sup>	5,109×10 <sup>3</sup>	—	—		
Anti-HAS	258,231 241,911	250,071	4.50	4.90	3.81	100.0
Anti-HAS abs c NHS	243,125 248,123	245,624	4.42	4.81	3.72	97.6
Anti-HAS abs c NHS+HM	115,112 129,515	122,314	2.20	2.40	1.13	34.4
Anti-NHS	75,123 66,883	71,003	1.28	1.37	0.28	7.4
NRS	51,238 60,012	55,625	1.00	1.09	0.00	0.0

なかつた。NRS の精子への吸着を差し引いた後、未吸収 anti HAS の吸着率を 100% とすると NHS 吸収により 97.6% となり、さらに HM 吸収後は 34.4% となった。本実験結果より人血清成分は精子附着抗原とはなり得ず、人血清成分以外の精漿人乳共通抗原および精漿特異抗原成分が精子附着抗原となつてゐることを知つた。

### 考 察

動物によつては精子細胞自身に精子特異抗原物質の存在する事が証明されており<sup>39,40)</sup>、その特異抗原物質の分離精製も行なわれ物理化学的性質まで明らかにされているが<sup>41-43)</sup>、Weil<sup>13-15,44)</sup>らによるとヒトおよび家兎精子の抗原性は精漿抗原、特に精囊腺よりの分泌物が精子表面に附着している為に表現されているのであつて、副辜丸内精子には抗原性は認められないと報告されている。Hekman and Rümke<sup>22)</sup>は家兎抗ヒト精漿血清から人血清成分に対するものを除いてもなお 9 本の沈降線を認め、その内 2 本は精囊腺に、3 本は前立腺に由来するものであり精囊腺由来の 2 つの抗原物質の内の 1 つは鉄含有蛋白で人乳中に含まれる lactoferrin と同じ物質であると報告している。われわれの精漿抗原分析結果によると人血清、肝・腎可溶性抗原以外の抗原物質で、少なくとも 6 種の蛋白抗原物質が精漿中に含まれており、この中、少なくとも 2 種の抗原物質は人乳蛋白と交叉反応を示す事を知つた。Blanc<sup>45)</sup>らの方法によつて人乳中より実際に lactoferrin を分離抽出して抗原性を検討してみると、われわれの見出した 2 つの精漿人乳共通抗原の中の 1 つは lactoferrin と完全に同じ抗原性を示した(精漿人乳共通抗原についての詳細は次回に報告する予定)。Shulman<sup>26)</sup>らは澱粉ブロック電気泳動で精漿を 6 つの分画に分け、最も高濃度蛋白ピークを示す Fr 3 より Sedimentation coefficient 1.0 S を示す成分を分離したと報告し、Herman<sup>24)</sup>らは Sephadex G-200 で 6 つの

分画に分け Fr 1 より 3.72 S を示す精漿特異蛋白抗原物質を分離し、分子量は約 50,000 であつたと報告している。また Li<sup>30)</sup>らも DEAE-cellulose, Bio-Gel A および Sephadex G-100 を用いて分子量約 31,000 の精漿特異抗原を分離しているが、いずれの報告者も今まだ分離抽出した精漿特異抗原物質を用いて臨床実験に踏み切る段階には至つていない。今回の精漿抗原分析実験により少なくとも 2 種の精漿人乳共通抗原 (No. 3, No. 7) および 4 種の精漿特異抗原物質 (No. 4, No. 6, No. 9, No. 10) が確認され、その内の No. 7 および No. 6, No. 9 は免疫化学的にはほぼ純粋な形で分離され得たが、これら精漿特異抗原物質の生物・物理化学的性質を検討するにはあまりにも微量すぎて、さらに大量操作による分離抽出法の検討が今後の課題となつて来た。

精漿抗原群の中で人血清成分に由来しているものは精子附着抗原となり得ず、人乳共通抗原および精漿特異抗原のみが精子附着抗原となつており、実験的にも前者に対する抗体は精子不動化作用を有しないが、後 2 者に対する抗体は精子不動化作用を有している事が明らかにされた。現時点においては 2 つの精漿人乳共通抗原および 4 つの精漿特異抗原成分の内の全てが精子附着抗原となつて精子不動化に関与しているのか、その内の特定のものが関与しているのかは不明であるが、同じ精漿抗原群の中においても人血清由来の抗原は附着抗原となり得ず、他の抗原群は附着抗原となつてゐる事実は非常に興味ある点であり、精子細胞自身にそのような選択性があるのか、附着抗原の方に精子細胞膜に対して何か特別に親和性を示すような構造が要求されているのかを今後検討する必要がある。

### 結 語

家兎抗無精子症患者精液血清を用いて精漿抗原分析および精漿特異抗原の分離抽出を試み、精漿抗原群の中で

いかなる抗原成分が精子附着抗原を形成し、精子不動化作用に関与しているかを検討した。

1. 精漿蛋白抗原は各患者によって多少の質的・量的な相違はあるが、人血清成分および肝・腎などの somatic antigen 以外に少なくとも6種の抗原成分を含んでおり、その内の2種は人乳蛋白抗原と交叉性を示し、他の4種は精漿特異抗原であつた。

2. 飽和硫酸塩析法で採取した精漿蛋白を Sephadex G-100, DEAE-cellulose および polyacrylamide gel を用いた disc-electrophoresis で分画し、免疫電気泳動的に homogeneous な精漿人乳共通抗原および精漿特異抗原成分を分離し得た。

3. 家兔抗精漿血清は強い精子不動化作用を有しており、その作用は精漿抗原群の中の人血清成分に対する抗体によるものではなく、精漿人乳共通抗原および精漿特異抗原成分に対応する抗体によるものである事が判明した。

4. 精漿抗原の中で、精漿人乳共通抗原および精漿特異抗原成分のみが精子附着抗原群を形成している事を知つた。

#### 文 献

- 1) Franklin, R. R. and Dukes, C. D.: "Antispermatozoal antibody and unexplained infertility" *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 89 : 6, (1964).
- 2) Franklin, R. R. and Dukes, C. D.: "Further studies on sperm agglutinating antibody and unexplained infertility" *J. A. M. A.*, 190 : 682, (1964).
- 3) Schwimmer, W. B., Ustay, K. A. and Behrman, S. J.: "Sperm-agglutinating antibodies and decreased fertility in prostitutes" *Obst. Gynec.*, 30 : 192, (1967).
- 4) Isojima, S., Li, T. S. and Ashitaka, Y.: "Immunologic analysis of sperm-immobilizing factor found in sera of women with unexplained sterility" *Am. J. Obstet. Gynec.*, 101 : 677, (1968).
- 5) Vaidya, R. A. and Glass, R. H.: "Sperm-immobilizing and agglutinating antibodies in the serum of infertile women" *Obstet. Gynec.*, 37 : 546, (1971).
- 6) Ansbacher, R., Manarang-Pangan, S. and Sruvannaboon, S.: "Sperm antibodies in infertile couples" *Fertil. Steril.*, 22 : 298, (1971).
- 7) Kolondny, R. C., Koehler, B. C., Toro, G. and Master, W. H.: "Sperm agglutinating antibodies and infertility" *Obst. Gynec.*, 38 : 576, (1971).
- 8) Isojima, S., Tsuchiya, K., Koyama, K., Tanaka, C., Naka, O. and Adachi, H.: "Further studies on sperm-immobilizing antibody, found in sera of unexplained cases of sterility in women" *Am. J. Obstet. Gynec.*, 112 : 199, (1972).
- 9) Rosenfeld, S. S.: "Semen injection with serologic studies: A preliminary report" *Am. J. Obst. Gynec.*, 12 : 385, (1926).
- 10) Baskin, M. J.: "Temporary sterilization by the injection of human spermatozoa: A preliminary report" *Am. J. Obst. Gynec.*, 24 : 892, (1932).
- 11) Baskin, M. J.: "Spermatotoxins" *J. Contracept.*, 1 : 15, (1935).
- 12) Brunner, E. K.: "An experiment in temporary immunization against pregnancy" *Human Fertil.*, 6 : 10, (1941).
- 13) Weil, A. J., Kotschalov, O. and Wilson, L.: "Antigens of human seminal plasma" *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 92 : 606, (1956).
- 14) Weil, A. J. and Rodenburg, J. M.: "Immunological differentiation of human testicular (spermatocele) and seminal spermatozoa" *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 105 : 43, (1960).
- 15) Weil, A. J. and Rodenburg, J. M.: "The seminal vesicle as the source of the spermatozoa-coating antigen of seminal plasma" *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 109 : 567, (1962).
- 16) Rozin, S., Graff, E. and Shafir, E.: "Electrophoretic resolution and characterization of human seminal plasma proteins" *Int. J. Fert.*, 8 : 523, (1963).
- 17) Searcy, R. L., Craig, R. G. and Bergquist, L. M.: "Immunochemical properties of normal and pathologic seminal plasma" *Fertil. Steril.*, 15 : 1, (1964).
- 18) Leslie, W. and Quinlivan, G.: "Antigen-antibody reaction with human semen" *Fertil. Steril.*, 17 : 722, (1966).
- 19) Mischler, T. W. and Reineke, E. P.: "Some electrophoretic and immunological properties of human semen" *J. Reprod. Fert.*, 12 : 125, (1966).
- 20) Behrman, S. J. and Aono, Y.: "Immunochemical studies on human seminal plasma. 1. Antigenicity of seminal protein" *Int. J. Fert.*, 12 : 291, (1967).
- 21) Shulman, S. and Bronson, P.: "Immunological studies on human seminal plasma. 1. Changes in composition during storage, as demonstrated by electrophoresis" *Fertil. Steril.*, 19 : 549, (1968).
- 22) Hekman, A. and Rümke, P.: "The antigens of human seminal plasma; with special reference to lactoferrin as a spermatozoa coating antigens" *Fertil. Steril.*, 20 : 312,

- (1969).
- 23) Defazio, S., Lewins, B. K. and Ketchel, M. M.: "Antigenic variations in the seminal plasma of different men" *J. Reprod. Fertil.*, 20 : 29, (1969).
  - 24) Hermann, W. P. and Hermann, G.: "Purification of the specific seminal fluid 3.72S protein" *Fertil. Steril.*, 20 : 521, (1969).
  - 25) Leslie, W. and Quilivan, G.: "The specific antigens of human seminal plasma" *Fertil. Steril.*, 20 : 58, (1969).
  - 26) Shulman, S. and Bronson, P.: "Immunochemical studies of human seminal plasma II. The major antigens and their fractionation" *J. Reprod. Fertil.*, 19 : 481, (1969).
  - 27) Roberts, T. K. and Boettcher, B.: "Identification of human sperm-coating antigen" *J. Reprod. Fertil.*, 18 : 347, (1969).
  - 28) Li, T. S. and Behrman, S. J.: "The sperm and seminal plasma-specific antigens of human semen" *Fertil. Steril.*, 21 : 565, (1970).
  - 29) Li, T. S. and Shulman, S.: "Immunoelectrophoretic analysis of human seminal plasma fractions after fractionation by various methods" *Int. J. Fert.*, 16 : 87, (1971).
  - 30) Li, T. S. and Beling, C. G.: "Isolation and characterization of two specific antigens of human seminal plasma" *Fertil. Steril.*, 24 : 134, (1973).
  - 31) Isojima, S.: "Relationship between antibodies to spermatozoa and sterility in females" *Immunology and Reproduction* (Proceedings of the symposium of the international coordination committee for the immunology of reproduction held in Geneva), 267, (1968).
  - 32) 磯島晋三: 妊孕現象に関する免疫学的研究 (第23回日本産科婦人科学会総会宿題報告) 71, (1971).
  - 33) Ornstein, L.: "Disc electrophoresis I. Background and theory" *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121 : (Art 2), 321, (1964).
  - 34) Davis, B. J.: "Disc electrophoresis II. Method and application to human serum protein" *Ann N. Y. Acad. Sci.*, 121 : (Art 2) : 404, (1964).
  - 35) 永井裕: "デイスク電気泳動法" 蛋白, 核酸, 酵素, 11 : 744, (1966), 11 : 818, (1966).
  - 36) Osserman, E. F.: "A modified technique of immunoelectrophoresis facilitating the identification of specific of precipitin arcs" *J. Immun.*, 84 : 93, (1960).
  - 37) Sparks, F. C., Ting, C. C., Hammond, W. G. and Herberman, R. B.: "An isotopic antiglobulin technique for measuring antibodies to cell-surface antigens" *J. Immun.*, 102 : 842, (1969).
  - 38) Erickson, R. P.: "An antiglobulin test for the detection of surface antigens of mouse spermatozoa" *J. Reprod. Fert.*, 28 : 109, (1972).
  - 39) Isojima, S.: "Antigenicity of guinea pig testes and ovary" *Int. Arch. Allergy.*, 15 : 350, (1959).
  - 40) Isojima, S. and Li, T. S.: "Stepwise appearance of sperm-specific antigens in rats and their disappearance after fertilization" *Fertil. Steril.*, 19 : 999, (1968).
  - 41) Voisin, G. A. and Toullet, F.: "Purified spermatozoal antigens involved in autoimmune spermatogenic orchitis" *Immunology and Reproduction* (Proceedings of the symposium of the international coordination committee for the immunology of reproduction held in Geneva), 93, (1968).
  - 42) Toullet, F., Voisin, G. A. and Nemirovsky, M.: "Histoimmunochemical localization of three guinea pig spermatozoal autoantigens" *Immunology*, 24 : 635, (1973).
  - 43) Katsh, S., Aguirre, A. R., Leaver, F. W. and Katsh, G. F.: "Purification and partial characterization of aspermatogenic antigen" *Fertil. Steril.*, 23 : 644, (1972).
  - 44) Weil, A. J. and Finkler, A. E.: "Antigens of rabbit semen" *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 98 : 794, (1958).
  - 45) Blanc, B. and Isliker, H.: "Isolement et caractérisation de la protéine rouge séro-phile du lait maternel: la lactotransferrine" *Bull. Soc. Clin. Biol. (Paris)*, 43 : 929, (1961).

### Studies on antigenic of human seminal plasma in relation to sperm immobilizing antibodies.

Immunoelectrophoretic analysis and characterization of human seminal plasma as sperm coating antigens.

**Koji Koyama, Kunio Tshuchiya\* and Shinzo Isojima**

Department of Obstetrics and Gynecology  
Hyogo Medical College.

\*Department of Obstetrics and Gynecology,  
School of Medicine, Tokushima  
University.

The pooled human azoospermic semen (HAS) fractionated by saturation with ammonium sulfate, was used as the human seminal plasma in this experiment. Sephadex G-100, DEAE cellulose and polyacrylamide gels were used to fractionate HAS stepwisely, in order to separate the seminal plasma specific antigens. The ob-

tained each fraction was analysed immunoelectrophoretically using rabbit anti-HAS serum which was absorbed or non absorbed with antigens of various human tissues. For the determination of sperm coating antigens (SCA) among human seminal plasma, the sperm immobilization test and isotopic antiglobulin test were performed using washed human spermatozoa and anti-HAS sera absorbed with normal human serum (NHS), human liver (HL), human kidney (HK) and euman milk (HM). From a series of experiment, the following results were obtained.

1. The antigenic components of HAS in each person were different in amount and number, but at least six components were usually found in pooled HAS. These antigens were not cross-reacted with NHS, HL and HK but two among them cross reacted with HM. Thus the remain-

ed four components seemed to be human seminal plasma specific antigens.

2. By various fractionation procedures, one of major human seminal plasma specific antigens and one among two antigens common with HM could be separated. These two fractions were proved to be homogeneous immunoelectrophoretically.

3. Anti-HAS possessed a strong sperm immobilizing activity with complement. This activity was not changed after absorption with NHS, HL and HK but was strikingly decreased by further absorption with HM.

4. The binding of radioactive anti-HAS on washed human spermatozoa was not decreased by absorption of the antiserum with NHS, HL and HK but strikingly decreased by further absorption with HM.

# Eliasson 法による豚精子の生死鑑別染色法の検討

## Evaluation of Eliasson's Method as a Live-Dead Differential Staining of Boar Spermatozoa

酪農学園大学家畜繁殖学研究室

平尾 和義 浅見 隆男 藤田 憲美  
Kazuyoshi HIRAO Takao AZAMI Norimi FUJITA

Lab. of Animal Reproduction, College of Dairy Agriculture, Nopporo, Hokkaido

概要：Blom の eosin-nigrosin 染色は、時に不染精子と染色精子の判別に苦慮する場合があります、観察者により結果は必ずしも一致しない欠点もある。Eliasson & Treichl (1971) はヒト精子の eosin Y 染色標本を暗視野顕微鏡で観察すると生死の判定が正確に行ない得ると報告しているので、筆者らはこれを豚精子について試み、従来 Blom の術式と比較検討した。

その結果染色法の不染精子率は、従来用いられている懸滴標本ならびに計算盤による精子生存率と比較し、Blom 法では概ね一致したが、Eliasson 法では観察者により有意差がみられ、不染精子率は精液採取後の経過時間とともに高くなり、運動性のない生存精子の多くなることが観察され、染色精子率は Eliasson 法がやや高かった。また Eliasson 法の染色液の pH を変えた場合には有意差がみられなかつた。結論として Eliasson 法の豚精子への応用はなお検討の余地があると考えられる。

### I. はじめに

家畜人工授精において日常行なう精液性状の検査項目としては、精液量、pH、精子数、精子活力などがあるが、受胎性を左右する要因として特に重要視されるものは生存精子数であることから、正確な生死鑑別法は極めて大きな意義を有する。従来精子の活力、生存率の判定は顕微鏡的観察によつて行なわれているため、観察者の主観に左右され勝ちで客観性のある判定方法の開発が切望されてきた。その一つの方法として染色による精子の生死鑑別法があり、精子の染色液として主に eosin 色素が用いられているが、さらに精子の eosin に対する染色性の判定を容易にするため、背景染色として種々の色素が用いられている。特に Blom<sup>1)</sup> の eosin-nigrosin 染色（以下 EN 法）は家畜精子の生死鑑別染色法として広く実施されてきた。しかしこの染色法も精子が染色されたか否かの判定が時に難かしく、背景染色の濃淡によつて精子の輪郭が不鮮明となることもあり、また特に湿度の高い条件下では数時間でほとんどの精子が染まってしまうこともあり、結果の判定は観察者によつて必ずしも一致しないという欠点がある。

Eliasson & Treichl (1971) はヒト精子の eosin Y 染色標本を暗視野顕微鏡で観察すると染色の有無の識別が容易に行ない得ると報告しており、術式に熟練を要せず観察者による誤差も少ないという。筆者らはこれを豚精子について試み、従来 EN 法と Eliasson 法（以下 E 法）とを比較検討したので、その成績の概要について報告する。

### II. 供試材料ならびに方法

#### 1. 供試材料

供試精液は本学園農場繋養中の年齢 1.5 歳の健康なランドレース種豚豚から、週 1~2 回定期的に擬牝台を用い指圧式採精法で採取したもので、その一般性状は表 1 に示す如くである。すなわち精液量は 90~330 ml 平均 220ml、色調は乳白色、無臭、精子濃度は  $19.7\sim 38.7\times 10^7/\text{ml}$  平均  $28.0\times 10^7/\text{ml}$ 、pH 6.8~7.2 を示し、精子活力も良好でありいずれの精液も正常なものである。なお、本種豚による受胎成績は 85.6%（受胎頭数 214 頭/授精頭数 250 頭）である。

#### 2. 染色液の調製

ヒトおよび豚精液の pH 値は両者とも弱アルカリ性

表 1 供試精液性状一覧

回数	量 ml	色 調	臭 気	濃 度 10%ml	pH	活 力		
						卅	卅	卅
1	90	乳 白 色	無臭	24.4	7.2	80	5	5
2	220	"	"	34.9	7.0	80	15	4
3	310	"	"	38.7	6.8	70	10	5
4	330	"	"	32.4	6.8	80	5	5
5	180	希薄乳白色	"	20.9	7.0	40	20	10
6	220	乳 白 色	"	26.2	6.8	65	15	10
7	220	"	"	29.9	6.8	80	10	5
8	160	"	"	26.2	6.8	75	10	5
9	220	"	"	29.1	7.0	80	5	5
10	210	"	"	19.7	6.8	75	10	10

であるが、豚精液はヒト精液に較べやや pH 値が低い  
ため、E法の染色液は原法における pH 7.4 の Sørensen  
リン 酸緩衝液のほか pH 7.2 のものを用い 0.5%  
eosin Y 溶液、EN 法の染色液は蒸留水を用い 5%  
-eosin B 溶液、10% nigrosin 溶液を調製した。

3. 染色要領

E法では精液サンプルと染色液を同量、EN 法では精  
液、eosin B 液、nigrosin 液をそれぞれ 1 : 2 : 4 の  
割合でスライドガラス上に滴下混合し、1~2分間放置  
後伸展、すみやかに風乾して塗抹標本を作製した。

4. 検鏡・判定

青色フィルターを使用して、EN 法では明視野検鏡、  
E法では位相差装置により、いずれも 1,000倍油浸対物  
レンズを用い精子 200個を数え、頭部の染色していない  
精子（生存精子と考えられる）の割合を百分率で算出  
した。写真に示す如くE法の背景は淡褐色、死滅精子は頭  
部が黄色に染色され、生存精子の頭部は青色フィルタ  
ーの色をそのまま青味を帯びている。なお、多少とも  
頭部の染色したものはすべて死滅精子と判定した。

5. 不染精子率の比較

両染色法に対し以下に述べる 2つの方法により精子生  
存率を求め、不染精子率（生存精子の百分率を示すと考  
えられる）と比較した。すなわち Williams & Pollak<sup>6)</sup>  
の方法を参考とし、血球計算法に準じ先ず加温計算盤上  
で静止している精子を数え、ついで 3% NaCl 溶液を  
用い死滅固定した後全精子数を数え、後者から前者を差  
引き精子生存率を算出した（以下計算盤法と略記）。ま  
た加温精子活力検査板を用い、常法に従って顕微鏡に  
よる精子生存率の判定を行なった。（以下直視法と略記）

6. 実験回数

実験は 10回行ない、1回の実験では採精直後、3、  
8、24時間後の 4回観察を実施した。採精直後から 24時

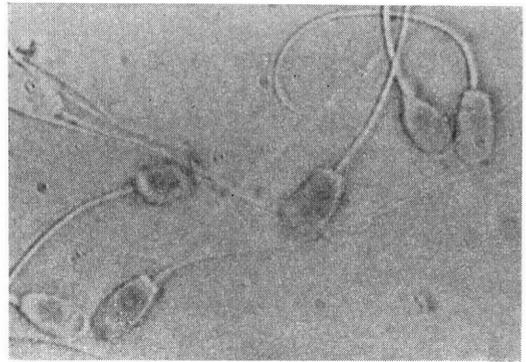


写真 1 E法 染色（死滅）精子 6  
不染（生存）精子 1

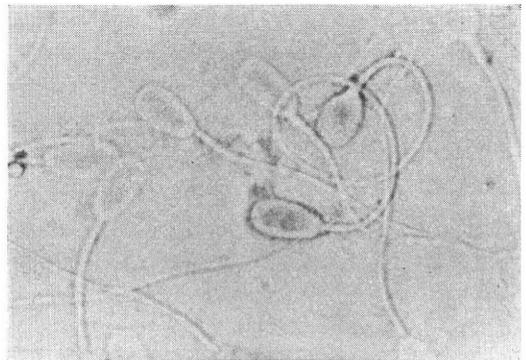


写真 2 E法 染色（死滅）精子 2  
不染（生存）精子 9

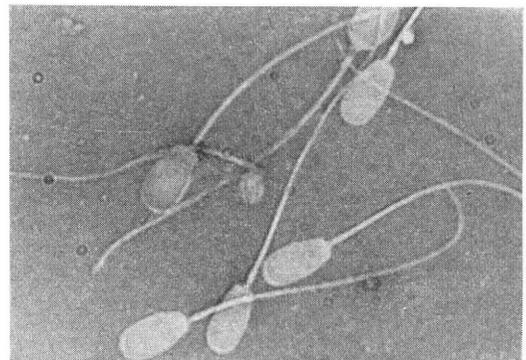


写真 3 EN法 染色（死滅）精子 3  
不染（生存）精子 4

間後観察までの間供試精液は室温（18~24°C）に保存  
し、両染色法、計算盤法、直視法の検査順位は各回無作  
為にきめた。

III. 実験成績

1. 不染精子率の経時的变化

図 1 は E法における 2人の観察者 B<sub>1</sub> および B<sub>2</sub> の採

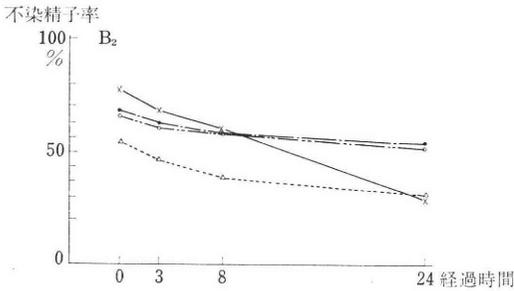
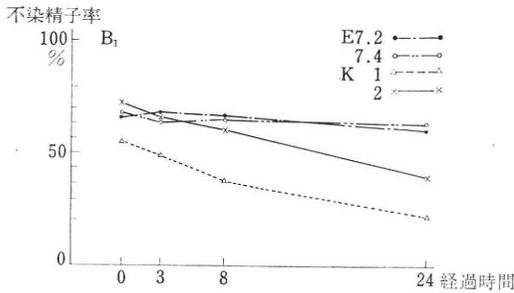


図 1 不染精子率の経時的変化 (Eliasson 法)

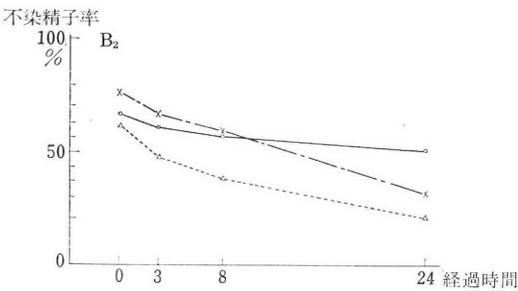
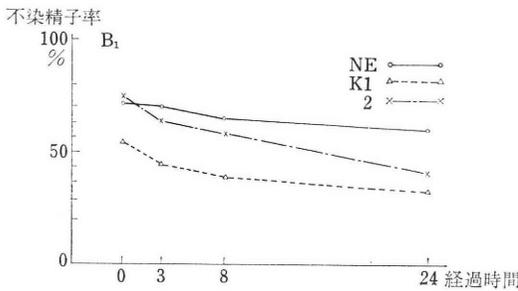


図 2 不染精子率の経時的変化 (Blom 法)

精直後、3、8、24時間後の不染精子率の経時的変化を示したものである。なお縦軸は角変換した数値である。

E法では染色液 pH 7.2および 7.4とも時間の経過とともに、不染精子率は漸減する傾向がみられたが、直視法 (K<sub>2</sub>) に比較すると観察者により変動があり、計算盤法 (K<sub>1</sub>) に較べて不染精子率はいずれも高い値を示しており、時間の経過につれその差は大きくなる傾向がみられた。また EN 法の各経過時間における 不染精子率の

推移は図 2 に示す通りであるが、その推移はE法とほぼ同様に、時間の経過とともに漸減する傾向を示し、直視法 (K<sub>2</sub>) に対する成績は観察者により異なっており、計算盤法 (K<sub>1</sub>) に対しては常に高い値を示した。

### 2. 精子生存率と不染精子率の関連

普通染色法における不染精子率の成績は、最初に検査に供された原精液の性状と質がその後の精子の不染率に影響を与えるものと考えられる。供試精液の精子生存率 (直視法) と不染精子率の相関係数は、E法では0.33と低い値であるが正の相関関係があり有意と認められた。(P<0.05) すなわち採精から24時間保存までの不染精子率の推移は、従来の顕微鏡的観察と比較し概ね平行した成績が認められた。

### 3. 精子生存率と染色精子率の和

図 3 は、両染色法における採精直後から24時間までの染色精子率 (死滅精子の百分率を示すと考えられる) と計算盤法による精子生存率との和を示したものである。通常運動性のない精子には、死滅精子と観察中に偶然運動しない精子とが含まれると考えられるが、運動性を失った精子と染色精子の増加は比例し、精子生存率と染色精子率との和は理想的には 100%となる筈である。精子生存率は計算盤法をとつたが観察者により成績は異なり、精子生存と染色精子率の和は時間の経過につれ漸減しており、染色精子率は両法とも増加していくのが認められた。しかしながら精子生存率の遞減のしかたは染色

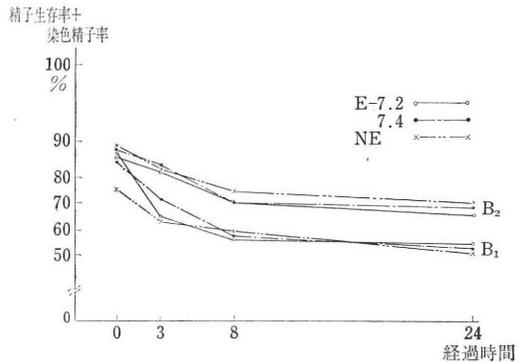


図 3 精子生存率と染色精子率の和

精子の増加に較べて時間とともに著しくなるのがみられ、時間経過により運動性のない生存精子が漸増していくことが推察され、このことは当然のことながら精子が死滅する前に先ず運動性を失うことを意味するものと考えられる。

また採精から24時間後までの両染色法における染色精子率は15~45%であつたが、精子生存、染色精子率の和はE法では45~85%、EN法では75~100%であり、両染色法とも染色精子率の増加につれその値は大きくなつ

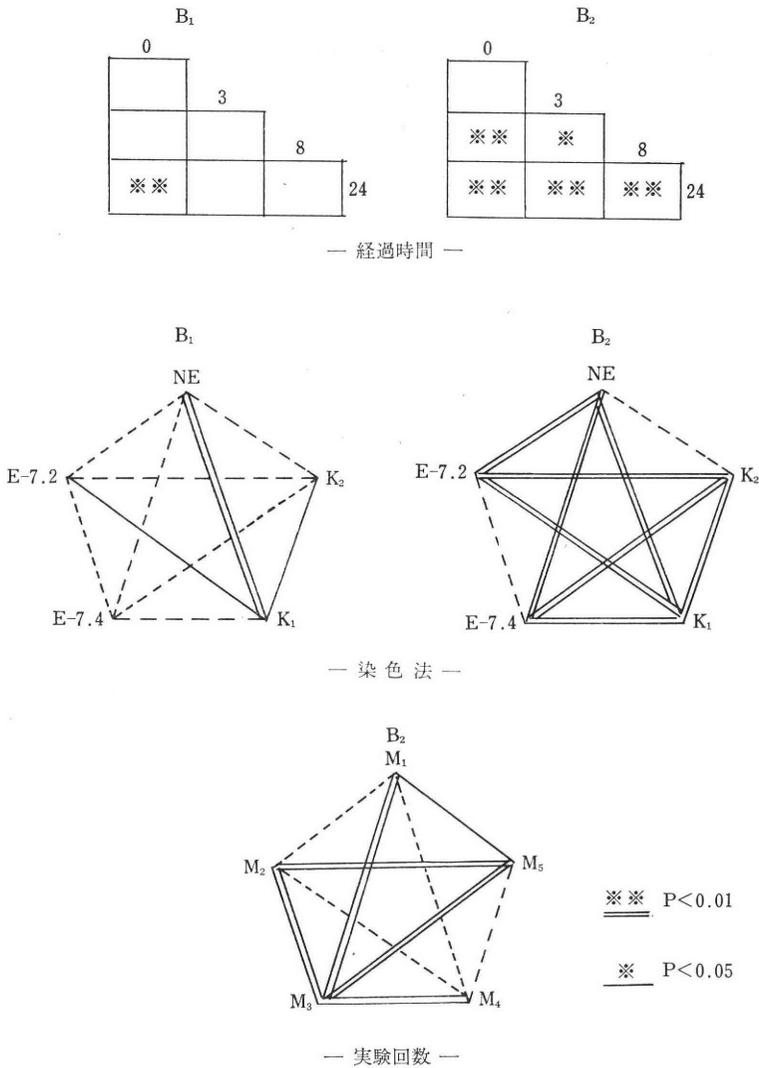


図 4 経過時間・染色法・実験回数の有意性検定

たが、精子生存率と染色精子率の比較では EN 法が誤差が少ないようである。染色精子率が低い場合に精子生存率と染色精子率の和が低い値を示したことは、採精直後の新鮮材料においては運動性はないが、生存する精子の存在が多いことが推察され、顕微鏡的観察における不動精子が即染色精子とはならないことを示すものである。

4. 不染精子率の推計学的分析

以上の各回の成績について、染色法、経過時間、実験回数間で不染精子率が異なるかどうかを検討するため、観察者 B<sub>1</sub> および B<sub>2</sub> のそれぞれの成績を三元配置法により検定した。不染精子率は角変換した数値であるが、その結果は染色法、経過時間に観察者 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> とも有意差 (P<0.01) が認められ、観察者 B<sub>2</sub> においてはさらに実験回数および交互作用にも有意差 (P<0.01) がみ

られた。

また不染精子率にそれぞれ有意差がみられた染色法、経過時間、実験回数について WSD 検定を行なった結果は図 4 に示す通りである。すなわち経過時間では観察者 B<sub>1</sub> では直後と 24 時間、B<sub>2</sub> では直後と 3 時間後を除く各経過時間に有意差 (P<0.01, 0.05) があり、染色法においては両者とも E 法の pH<sub>i</sub>, EN 法と直視法 (K<sub>2</sub>) との間に有意差はなく、計算盤法 (K<sub>1</sub>) に対する EN 法の成績は両観察者ともに有意差 (P<0.01) が認められたが、E 法と EN 法は観察者によりその成績は異なり一致するのはみられなかつた。また実験回数では観察者 B<sub>2</sub> の実施した 10 回のうち、有意差の認められなかつたのは 1 回目と 2, 4 回目, 2 回目と 4 回目, 4 回目と 5 回目の 4 回であり、残りの 6 回には有意差 (P<0.01,

0.05) があり、実験回数によりその成績は変動した。

#### IV. 考 察

従来精子の活力検査で実施される顕微鏡的直視法は、検査される場所、経験、熟練の程度等観察者の個人差、主観的要素が介入することは避け得られず、客観的な検査方法が求められてきた。

精子細胞膜が色素に対し選択透過性のあることを利用して、生存ならびに死滅精子を識別しようとしたのは最初 Lasley ら (1942)<sup>4)</sup> によつてなされ、使用された色素は eosin B であつた。その後精子の生体染色には種々の改良が加えられ、様々な色素が用いられてきている。その中で染色精子 (死滅精子) と不染精子 (生存精子) を区別する有効な色素<sup>5)</sup> として、酸性 fuchsin, brom phenol blue, brom cresol green 等があげられ、これらの色素よりやや性能の劣るものとして safranin, acridin orange, tripan blue, tripan red 等がある。しかしこれらの色素も濃度によつて染色精子率に差を生じたり、塗抹処理、風乾処理等によつても染色精子率を左右するのがみられ、さらに様々な他の要因も加わつてその結果は必ずしも一様でない。一方 Blom (1950)<sup>1)</sup> の EN 法は、哺乳動物精子の生死鑑別染色法として広く応用されてきた。この方法の特徴は、死滅精子が eosin 色素に染色されるのに対し染色時の生存精子は暗い背景に輝白色に浮び上つて観察され、精子の eosin に対する染色の有無をより正確に識別しようとして背景色に nigrosin を使用したものである。しかしこの方法も背景色である nigrosin の濃度により不染の生存精子の判別が時に難かしく、背景色の濃淡によつて不染、染色両精子の識別に迷うことすら時にみられる。

最近 Dott & Foster (1972)<sup>2)</sup> は nigrosin でも精子染色が行なわれると報告しており、本実験においてもそれがみられ、EN 法では E 法に比べ染色が不鮮明となる精子がやや多いのが認められ、採精直後の新鮮材料から 24 時間保存観察例について、精子頭部に nigrosin 色素をとり黒く着色し、eosin 不染の不鮮明精子が存在した。

精子生存率と染色精子率の関係をみると、運動性がなく染色される精子すなわち死滅精子、運動性はないが不染の精子、運動性があり不染の精子の 3 つのグループが考えられる。Eliasson & Treichl (1971)<sup>3)</sup> は、運動性を失つた精子材料について生体染色を実施し、その精子生存率は 60% であつたことをみており、さらにこれの酸素消費量を測定したところ、正常のものに比べ約 2 倍であつたことを報告している。普通家畜における正常精液は採精直後は大部分の精子が活発に運動しているが、時

間の経過につれて活力も弱まり、生存精子数も減少していくが、精子運動性と生存率は一致しないものが多く、運動停止が即精子の死を意味するものでないことは日常経験するところである。室温に保存した場合の豚精子の運動性は時間とともに逐次減退していくが、原精液の場合は平均 120 時間前後で運動を停止し、精子生存率 50% 以上認められる時間は平均 70 時間、全部が死滅する時間すなわち最長生存時間は平均 120 時間前後である。これらは雄豚の個体、同一個体でも射精液の個々の例によつていちじるしく長短があり、また精子の生存率と運動性は必ずしも平行して減退するものではないが、大凡生存率が低下する時間には運動性も減退するものと考えられる。両染色法の不染精子率は実験区分、観察者により変動があつたが、本実験においても不染精子率は直視法および計算盤法による精子生存率に比べ高く、運動性のない生存精子は時間の経過により増加していくことが示唆されるが、これを正確に知るためにはさらに観察時間を延長して、精子が完全に死滅するまでの精子生存率と染色率を検討する必要がある。

E ならびに EN 法の不染精子率を直視法および計算盤法の精子生存率と比較すると、3~8 時間後にかけては EN 法では観察者により異なり、E 法では概ね一致する傾向があり、採精直後の新鮮精液では直視法に対し両染色法とも不染精子率は低く、染色精子率は E 法が若干高いようである。また今回の観察例では E 法の計算盤法による精子生存率と染色精子率の和は、EN 法では 75~100% であつたのに対し 15~30% 低い値を示したことは、eosin Y 色素が精子の生存性に影響を与えたことも推察され、今後の追究が必要と考えられる。

#### V. ま と め

精子の生死鑑別染色法としての E 法を豚精子について試み、異なる観察者により従来の EN 法と比較検討したが、その結果を要約すると次の通りである。

(1) 直視法および計算盤法の精子生存率に対する不染精子率は EN 法では概ね一致したが、E 法では観察者により有意差がみられた。

(2) 採精後時間の経過につれ両染色法とも不染精子率が高くなり、直視法および計算盤法に比べ運動性のない生存精子が増加したが、染色精子率は E 法がやや高い。

(3) E 法における染色液の pH 間には有意差がみられなかつた。

(4) E 法の豚精子への応用は、なお検討の余地があると考えられる。

#### 謝 辞

終りに、E 法の染色術式は札幌医大泌尿器科教室加藤

修爾先生に御指導を受けたものであることをつけ加え、心から感謝の意を表するとともに、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜わった北大獣医学部石川恒教授、河田啓一郎助教授に深甚なる謝意を表わします。

### 文 献

- 1) Blom, E.: A one minute live-dead sperm stain by means of Eosin-Nigrosin, *Fert. & Ster.*, 1: 176, (1950).
- 2) Dott, H. M. & Foster, G. C.: A technique for studying the morphology of mammalian spermatozoa which are eosinophilic in a differential live/dead stain, *J. Reprod. Fert.*, 29: 433, (1972).
- 3) Eliasson, R. & Treichl, L.: Supravital staining of human spermatozoa, *Fert. & Ster.*, 22: 134, (1971).
- 4) Lasley, J. F., Eosley, G. T. & Mckenzie, F. F.: Staining method for the differentiation of live and dead spermatozoa, *Anat. Rec.*, 82: 167, (1942).
- 5) 永瀬弘: 牛精子の生死判定に有効な色素, *農畜試年報*, 10: 43, (1970).
- 6) Williams, W. W. & Pollak, O. J.: Study of vitality with the aid of eosin-nigrosin stain, *Fert. & Ster.*, 1: 178, (1950).

### Evaluation of Eliasson's method as a live-dead differential staining of boar spermatozoa.

**Kazuyoshi Hirao, Takao Azami and Norimi Fujita**

Lab. of Animal Reproduction, College of Dairy Agriculture, Napporo, Hokkaido

Eosin-nigrosin staining devised by Blom is oc-

asionally undistinguishable between stained and unstained boar spermatozoa, and so it does not always give coincident results by different observers. Recently Eliasson & Treichl reported an easy and quick supravital staining method for human spermatozoa using eosin Y buffer solution under observation with a negative phase contrast microscope, obtaining more accurate and precise differentiation between live and dead spermatozoa.

In the present experiment a comparison was made between Blom's and Eliasson's methods to evaluate as a live-dead differential staining of boar spermatozoa. A total of 10 semen samples were collected once or twice a week from a one and half year fertile boar.

The results obtained are as follows;

The sperm viability measured by Blom's method was similar each other between two observers, while the values by Eliasson's method slightly fluctuated by different observers. But in either methods the sperm viability value more gradually decreased as time elapsed after collection than in other two routine methods under microscopy with the blood cell counting plate or the sperm counting plate, where the decrease tendency of sperm viability was prompt. Because the pH value of boar semen is lower than human semen, two pH values, 7.4 (Original) and 7.2 (Modified) in eosin buffer solution in Eliasson's method were used. No significant difference on sperm viability was observed between either pH values.

In conclusion, it should be said that Eliasson's method is not superior than Blom's method as a live-dead differential staining for boar spermatozoa, although further experiments will be necessary before a definite conclusion will be drawn.

# 尿中 estrogen の螢光測定法 (Brown 法) に関する研究

Clinical investigations on the measuring Urinary total estrogens  
by fluorometry of Brown et al.

慶応大学医学部産婦人科教室 (指導: 飯塚理八教授)

前 田 宣 紘

Nobuhiro MAEDA

Dept. of Obstet. & Gynec. School of Medicine Keio University

(Inst.: Prof. R. Iizuka)

尿中 Estrogen 値 (以下尿中 e 値と略) は、近年に到り、妊娠後期の簡易測定法として XAD-amberlite の使用等により、ルーチンに臨床応用が始められているが、非妊娠例、あるいは妊娠初期の如く、尿中 e 値の低い時期での定量する事は、仲々容易ではなかつたが、著者はこれらの尿中 e 値の低い時期での測定法に検討を加え、Brown らによる螢光測定法を使用し、ルーチンの臨床応用にも可能なることを認めた。正常性周期婦人の follicular phase, 15.8  $\gamma$ /day, estrogen peak, 65.9  $\gamma$ /day, luteal phase 29.7  $\gamma$ /day, 妊娠初期 (無月経 4 週, 99.9  $\gamma$ /day, 5 週 128.4  $\gamma$ /day, 6 週, 194.0  $\gamma$ /day), および無月経 8 週, 328.9  $\gamma$ /day, 12 週, 240.4  $\gamma$ /day, 16 週, 2133.9  $\gamma$ /day, 等の成績を得た。

## 緒 言

尿中 e 値の測定法には加水分解、抽出精製にもペーパークロマト、カラムクロマト、ガスクロマト、薄層クロマト、イオン交換樹脂等の方法があり、定量法では Kober 法, Ittrich 法, David 法, Bachman 法等と生物学的定量法として子宮重量、腔内 tetrazolium 法等が報告されているが、化学的測定法として J. B. Brown により 1955 年発表された Koberchromogen を利用する方法が本邦において志田、神戸川によつて検討され、信頼性のある標準の定量法として普及されているが、しかしながらこの方法は抽出過程がかなり繁雑であり、時間も要し、検体量を多く必要とし、しかも回収率が低い等の欠点があり、臨床的にルーチンに測定する事が困難とされていた。近年 J. B. Brown によつて新しく考案された estrogen の迅速微量測定法は、従来の定量法にくらべ簡便であり、manual に行なつても慣れると 6 時間で定量を終了でき、しかも微量定量が可能であり、精度、特異性も優れており著者らはこれらの方法を採用して臨床応用について検討した。

## I. 研究の対象および方法

### 1. 研究対象

昭和 45 年 7 月より昭和 46 年 8 月まで、当院産婦人科不妊外来を訪れた無月経無排卵症など、人工授精希望の症例と当科入院患者を対象とした。

### 2. 研究方法

測定法は J. B. Brown の尿中 total estrogens の螢光測定法を使用した。図 1 は測定法の flow chart である。検体量は、非妊婦尿 (男性尿、小児尿も含め) および初期妊娠の尿は 24 時間尿の 1.0ml、妊婦尿は無月経 8 週以降、分娩後数日間、0.01ml の尿を使用した。上記の尿に 5.0ml の蒸留水を加えて稀釈する。それに濃塩酸 0.9ml を加え、auto-clave を用い 120°C で 15 分間加熱し、加水分解する。加水分解のすんだ尿を冷却して、共栓スピッツに移し、食塩 1.0gr を加え、溶解するまで十分に振盪する。2000 $\gamma$ /pm, 2 分間遠沈をし、下層を syringe で捨てる。次に ph 10.5 の炭酸バッファー 2.0ml を加え、3 分間振盪し、2000 $\gamma$ /pm, 2 分間遠沈し、下層を捨てる。次いで石油エーテル 6.0ml を加え、3 分間振盪後、さらに 1 規定のカセイソーダ 6.0ml を加え、1 分間振盪、2000 $\gamma$ /pm 2 分間遠沈し、上層を除去する。下層のアルカリ分画に sodium bicarbonate powder 0.8gr. を加えよく溶けるまで振盪する。phenolic 分画をエーテル 6.0ml で 3 分間振盪し、2000 $\gamma$ /pm,

Fluorometry of Urinary Estrogens  
(Brown et al 1968)

1. Hot Acid Hydrolysis  
Urine 1 ml, Aq. dist. 5 ml, Conc. HCl 0.9 ml, 120°C, 15 min.
2. Extraction 1.  
NaCl 1 g added. Extracted with 6 ml of Ether.
3. Washed with 2 ml of Carbonate Buffer.
4. Extraction 2.  
Petroleum ether 6 ml added. Extracted with 6 ml of 1 N NaOH.
5. Extraction 3.  
NaHCO 0.8 g added. Extracted with 6 ml of Ether.
6. 4 ml of Ether phase evaporated to dryness.
7. Fluorometry  
Ether extract subjected to Ittrich Reaction  
Fluorescence Reading (uncorrected)  
535 m $\mu$       555 m $\mu$

図 1

Fluorescence Characteristics of Urinary Estrogens

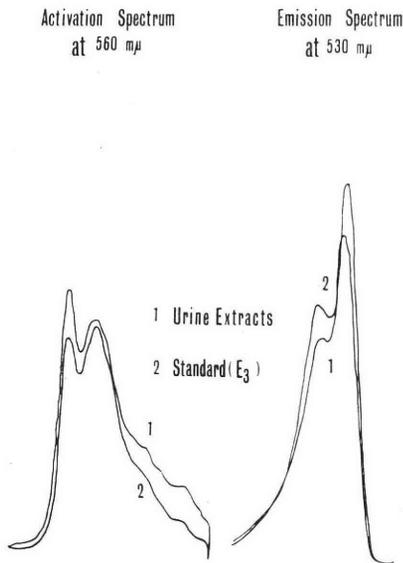


図 2

Dose-Fluorescence Curve for Estriol

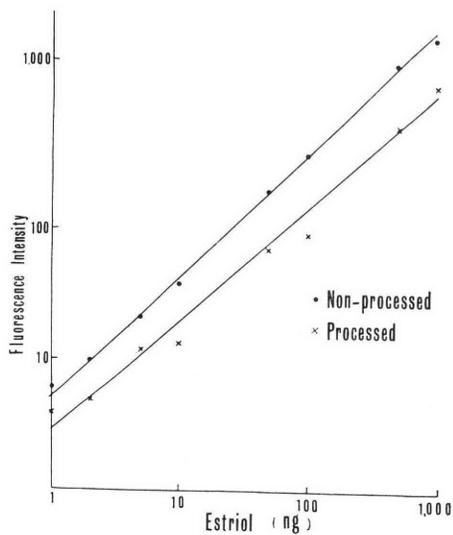


図 3

2分間遠沈し、1回1回エーテルで洗い、このエーテル層を4.0ml (慣れると5.0ml) を取り、微温水中で窒素ガスにて蒸発させる。著者は蛍光比色法にて測定した。上記の方法で抽出した検体にキノール1 mg を入れ、当日作製した Kober 試薬1.0ml を加えた後、thermomixerにて十分に攪拌させ、試験管に栓をして、autoclave 120°C で10分間加熱する。次に水槽の中にサンプルを入れ、サンプルに0°C に冷却した水を入れ、時間を正確に記入し、thermomixer で攪拌し、Xenon-lamp を点灯、安定させてから、当日作製した Ittrich 試薬 3.0ml を出来るだけ早く加えて攪拌する。次に4°C の氷室にて2000 $\gamma$ /pm, 3分間遠沈する。上層を syringe にて捨て、残りを cylinder に入れ、490~520 m $\mu$ , 535~555 m $\mu$ , 545~565 m $\mu$  を読んで測定時間、目盛を記入し、この時は正確に30秒毎にチェックする。抽出の際、全操作は原法と異り、manual で行なつた。estrogen の蛍光の測定は島津 GSF-16型蛍光分光光度計を用い、励起波長535m $\mu$ 、蛍光波長555m $\mu$ 、で行につた。

図2は estriol の標準品と尿抽出物の蛍光特性を比較した成績であり、励起スペクトルと蛍光スペクトル共にほぼ一致した pattern が認められ、励起波長535m $\mu$ 、蛍光波長555m $\mu$ 、にある。これらの波長は何れも未補正である。実際の蛍光測定にあつては535~555m $\mu$  の蛍光の他に490~520m $\mu$  の蛍光を測定し、その読みの 1/2 の値を減算して補正を行なつた。

図3は estriol を用い、そのまま、あるいは全測定操作を行なつた時の standard curve を示しており、横軸

に estriol の用量1~1000ng、縦軸に蛍光強度をとつており、両軸とも対数値で示している。図の如く estriol の1~1000ng の範囲では直線関係が得られ、濃度 quenching は認められない。全操作を行なつた際の盲蛍光強度すなわち blank 値は1.5程度で、この測定法における estriol の最少検出量は0.5ng である。

図4、estriol 0.1 $\mu$ g を加水分解前に加えて回収実験を行なつた結果、図4の如きの成績を得た。また水から

Subjects	Estrogens ng/ml		
	Sample	Sample+E <sub>3</sub> 100mg	% Recovery
A	5.37	146.9	93.1
B	18.3	121.5	103.2
C	9.3	107.8	98.5
D	39.8	138.9	99.0

図 4 Accuracy of Assay. '71. 10. 26.

回収は広い範囲にわたりほぼ一定で45%程度であり、しかしながら尿に estriol を加えた際の回収実験では55%と水からの回収よりも常に高い値が得られた。著者は標準として estriol を pool した尿を加えたものを用いた。

この方法での精度 (precision) は変動係数 5~15% で、ほぼ使用にたええと考えられる。この際検体処理能力に 8 検体で 6~7 時間を要する。

## II. 研究成績

### 1. 正常性周期と妊娠初期

(i) 図 5 は正常性周期婦人の尿中 e 値と B. B. T. とを連続測定した成績であり、Brown の成績と同様に尿中 e 値は中間期において peak を示すと共に黄体期に大きな変動を示した後は、次回月経時には 10 $\gamma$ /day 前後の値を示し、また estrogen peak は B. B. T. の上昇開始数日前に認められ、peak 日は 58.0 $\gamma$ /day であつた。

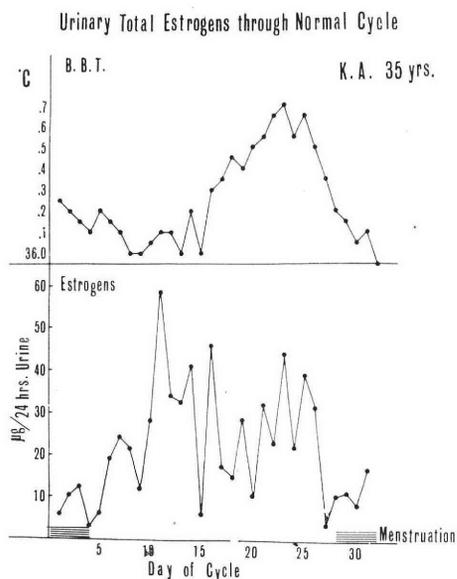


図 5

(ii) 図 6 は正常性周期30日型の排卵周期を有する婦人で妊娠に移行した症例で前例と同様に B. B. T. の上昇開始数日前に estrogen の peak が認められ、peak 日の 3 日後に Insemination を行なわせたところ、妊娠

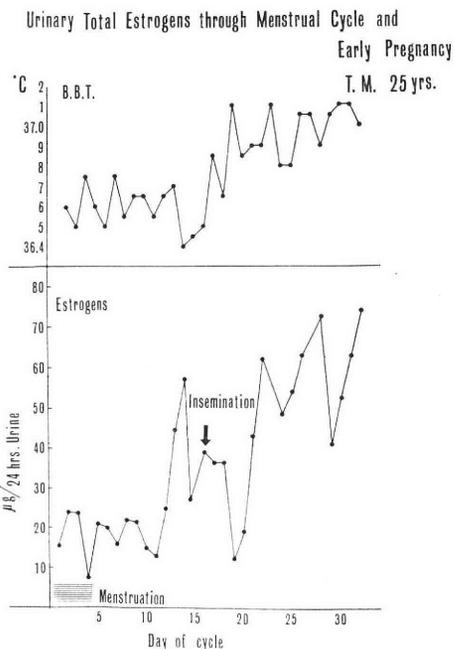


図 6

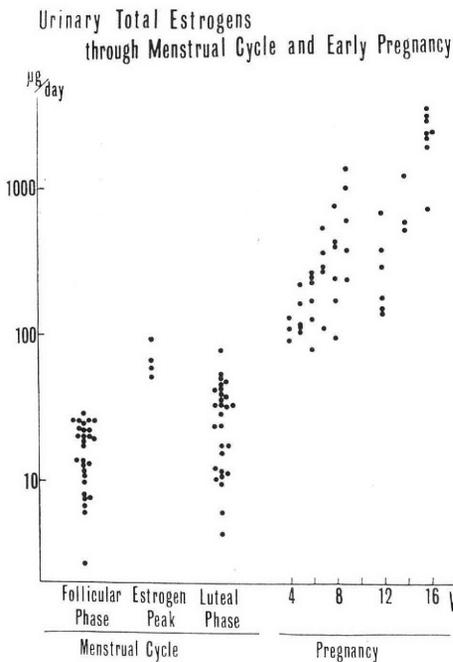


図 7

に移行した症例である。この例では B. B. T. の高温が持続すると共に、尿中 e 値は次回予定月経日にも低下を認めず高値を示した症例である。

(iii) 図 7 は非妊娠例、および妊娠初期の尿中 e 値をまとめた成績である。縦軸の estrogen 値は対数目盛で

Weeks No.	4	5	6	7	8	9	12
1	123.7	202.0	228.4	108	392.0	358.0	132.0
2	87.6	151.3	249.6	340.0	387.5	217.0	141.7
3	102.5	107.6	120.8	299.1	160.0	478.3	260.5
4	86.1	107.0	210.0	254.4	230.0	950.7	629.7
5		102.4	161.3	503.7	90.9	1337.7	350.0
6		100.0			712.9		168.6
7			(75.6)				
8					× (24.4)		
9							
10							
$\bar{x}$	99.9	128.4	194.0	295.0	328.9	668.3	240.4
S D	±17.46	±40.78	±52.3	±143.9	±223.5	±464.7	±203.5
C V	17.5	31.8	27.0	48.8	68.0	69.5	84.6

Weeks No.	14	16	20	24	28	32	36~40
1	463.0	2660.0					
2	1112.7	1965.6					
3	549.6	642.3					
4		2148.6					
5		2062.5					
6		1771.0					
7		2758.8					
8		3062.5					
9							
10							
$\bar{x}$	708.4	2133.9					
S D	±352.8	±748.3					
C V	49.8	35%					

図 8 Estrogen (Pregnancy)

ある。尿中 e 値は follicular-phase で, mean 15.8 $\gamma$ /day, estrogen-peak で, 65.9 $\gamma$ /day, luteal-phase で, 29.7 $\gamma$ /day で, これらの値は Brown らの報告した値とほぼ一致する。妊娠初期, すなわち 4 週で即ち高値を示し, 16 週にかけて急速に増加する。

(iv) 図 8 は妊娠初期より妊娠 4 カ月について尿中 e 値を測定したものであり, 妊娠 4 週で mean 99.9 $\gamma$ /day, 5 週で 128.4 $\gamma$ /day, 6 週で 194.0 $\gamma$ /day, 7 週で 295.0 $\gamma$ /day, 8 週で 328.9 $\gamma$ /day, 9 週で 668.3 $\gamma$ /day, 12 週で 240.4 $\gamma$ /day, 14 週で 708.4 $\gamma$ /day, 16 週で 2133.9 $\gamma$ /day と なった。

2. 正常性周期より妊娠全経過および産褥に到つた N.I.H. と A.I.D. の症例

(i) 図 9 は尿中 e 値と B.B.T. を正常性周期より, 妊娠, 分娩, 産褥に到るまで連続測定したものであり,

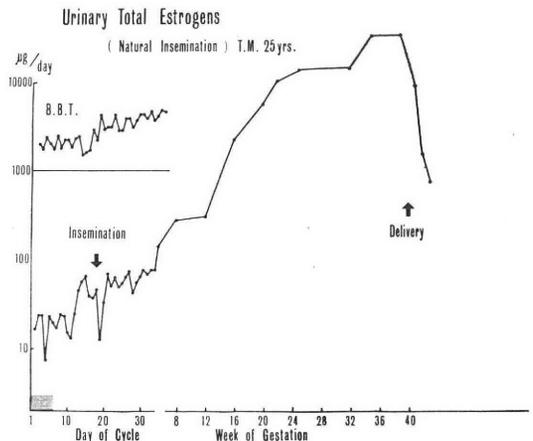


図 9

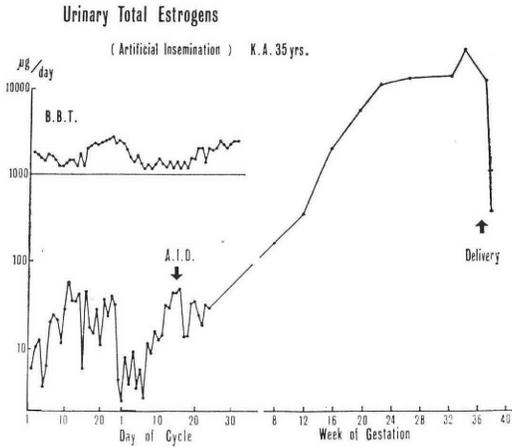


図 10

N.I.H. を estrogen-peak 日の 3 日後に行なわれたところ、妊娠に到り、尿中 e 値は対数目盛で増加 (32 週よりプラトーになり分娩後数日で急激に減少した。

(ii) 図10は正常性周期の婦人であるが、主人が無精子症の為、artificial-insemination を頸管粘液, B.B.T. 尿中 e 値より single. A.I.D. を行なつたところ、妊娠、分娩に到つた症例である。

3. 異常妊娠例

(i) 切迫流産例 表 1

切迫流産に際して尿中 e 値がかなり低値を示す場合がみられたが、これらはいずれも予後が悪く早晩流産に移行した。しかし正常範囲内にあつたものは切迫流産でも予後が良好であつた。

表 1

	氏 名	妊娠週数	エストロゲン値	予 後
1		14	124.8 $\gamma$ /day	進行流産
2		8	90.9 $\gamma$ /day	進行流産
3		12	141.7 $\gamma$ /day	進行流産
4		15	53.4 $\gamma$ /day	胎児死亡

(ii) 胞状奇胎、絨毛上皮腫

胞状奇胎例では尿中 e 値は 218.59  $\gamma$ /day, 絨毛上皮腫では 195.3 $\gamma$ /day, 46.7 $\gamma$ /day, 化学療法後では 2.73 $\gamma$ /day と著明に減少している。

4. 他科における疾患の尿中 e 値について、特異な疾患な為、症例数は少ないが、それらの成績を示している。

(i) Sheehan syndrome; 12.2 $\gamma$ /day, undetectable, 2.9 $\gamma$ /day.

(ii) gynecomastia; 14.9, 13.9, 2.4, 8.6 $\gamma$ /day.

(iii) anorexia nervosa; 20.2, 6.6, 2.0, 3.8, 4.2,

11.7, 1.8, 4.6, undetectable,  $\gamma$ /day

(iv) Pheochromocytoma; 6.6 $\gamma$ /day,

(v) Turner's syndrome; 18.2, 26.6, 5.3, 3.1, 11.8, 0.6 $\gamma$ /day.

(vi) Klein-Felter's syndrome; 6.22 $\gamma$ /day.

(vii) 慢性肝炎; 全て男性であるが, 3.34, 12.4, 15.7, 13.5,  $\gamma$ /day.

(viii) 老人; 少数例だが, 50歳, 3.4, 52歳, 5.5, 60歳, 6.0, 61歳 undetectable, 67歳, 1.6, 77歳, 1.9 $\gamma$ /day.

(ix) 糖尿病, ④男性; 6.2, 29.1, 11.8, 7.9, 12.3, 7.6, 9.7 $\gamma$ /day.

⑤女性; 6.4, 17.6, 7.5, 3.6, 28.2, 2.4 $\gamma$ /day. 以上他科の疾患について尿中 e 値の成績を示した。

考 案

尿中 e 値の測定法は種々報告されており、近年に到り、妊娠後期、中期の胎児胎盤管理面での臨床応用として XAD-amberlite 等使用する事により、routine 化されているが、妊娠初期・非妊婦尿の尿中 e 値の測定法については五十嵐らにより紹介されているのみであるが、著者らは J. B. Bown らの fluorometry を採用し、信頼性、実用性を検討した結果、信頼性の accuracy (正確度), precision (精密度), specificity (特異性), sensitivity (感度), の 4 点に検討してみると (1) accuracy は水からの回収で 45%, 尿に standard estriol を加えた際のそれは 55% で、Brown らの報告より劣るが、臨床的に十分使用にたえると思われる。今後熟達するにつれて、さらに回収率は向上する事が可能である。(2) precision は変動係数で 5~15% で Brown らのそれより劣るが向上の余地があり、(3) また sensitivity は、Brown の原法での感度は 0.03ng と報告されているが、著者らの最少検出量は 0.5ng となつたのは、手技の未熟性の為ではないかと考えられる。Brown が 1955 年に発表された方法に比較して測定感度が 100 倍位良好で、特に尿中 e 値の低い時の測定に向いており、測定時間も慣れてくると短縮させることが可能であると思われる。(4) 本法での specificity は、Kober reaction, Ittrich reaction との estrogen に対してのそれは既に報告されているので検討の必要はないと考える。また本法での短所は estrogen の分画定量が困難なことであるが、臨床的には特に研究以外には total estrogen の定量で充分使用できるので問題はなく、また螢光の減衰が急速な為、螢光比色を行なう際、できるだけ迅速に行なうことが必要なことである。著者らは Brown の fluorometry を臨床的応用として検討を加えた結果、非妊婦尿、ある

いは妊娠初期の尿中 e 値の測定において臨床応用が可能と考えられたので正常性周期婦人、妊娠初期、異常妊娠、その他の疾患について尿中 e 値の測定を試みてみた。正常性周期の婦人体温計を使用しているもので、follicular phase で mean で 15.8  $\gamma$ /day, ovulatory phase で 65.9  $\gamma$ /day, luteal phase で 29.7  $\gamma$ /day, Brown らの報告では、13.1  $\gamma$ /day, 63.3  $\gamma$ /day, 46.2  $\gamma$ /day となり、luteal phase を除いて Brown らの報告に一致している。妊娠初期、中期についての尿中 e 値は、妊娠 4 週で mean, 99.7  $\gamma$ /day より妊娠 16 週で 2133.9  $\gamma$ /day と対数目盛で増加しているのは Brown らの報告とほぼ一致している。著者は尿中 e 値を連続測定さ、頸管粘液、B.B.T. より排卵日を推定しにくい症例に対して、尿中 e 値より mid-cycle peak をみつけ、その日に insemination を行なわせる事により、さらに妊孕性を高めることができ、また妊娠初期の妊娠管理についても応用が可能と考えられる。妊娠初期でも尿中 e 値の低い症例は予後が悪く、尿中 e 値の高い症例は妊娠継続が良好な事が少数例ではあるが判明した。絨毛上皮腫でも、少数例であるが化学療法を行なつたところ尿中 e 値は著明な減少をみた。尿中 e 値の測定により正常妊娠、異常妊娠の妊娠初期の管理での応用があることが示唆された。

### 結 論

尿中 e 値の測定法については種々報告されているが、著者は J.B. Brown の fluorometry を採用、検討を加えた結果、臨床応用が可能となることが示唆された。

1) fluorometry での accuracy は水からの回収で 45%、尿に standard estriol を加えた際の回収は 55% であり、precision は変動係数で 5~15%、sensitivity は最少出量 0.5ng、specificity は、Kober reaction, Itrich-reaction との estrogen に対して報告されており、本法での臨床応用が可能となつた。

2) 正常性周期の尿中 e 値は follicular-phase で mean 15.8  $\gamma$ /day, estrogen-peak で 65.9  $\gamma$ /day, luteal-phase で 29.7  $\gamma$ /day となつた。

3) 妊娠初期の尿中 e 値について妊娠 4 週で mean 99.9  $\gamma$ /day, 5 週で 128.4  $\gamma$ /day, 6 週で 194.0  $\gamma$ /day, 7 週で 290.5  $\gamma$ /day, 8 週で 328.9  $\gamma$ /day, 9 週で 668.3  $\gamma$ /day, 12 週で 240.4  $\gamma$ /day, 14 週で 708.4  $\gamma$ /day, 16 週で 2133.9  $\gamma$ /day であつた。

4) 尿中 e 値の連続測定により、正常性周期、妊娠初期、中期、後期、分娩、産褥にわたつて、NIH と AID の症例について全経過を追究した。

5) 特殊な疾患についての尿中 e 値を試みた。

以上それぞれの関連事項をみいだした。

### 謝 辞

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜つた飯塚理八教授に深謝し、終始御協力、御助言を戴いた東京大学第三内科大沢伸昭講師、実験動物中央研究所生殖生理各位、川崎市立病院産婦人科、山本浩博士、林茂博士、岩田嘉行博士ほか諸兄の御指導、御援助を感謝する。

本論文の要旨は第 43 回日産婦関東連合地方部会、第 7 回国際不妊学会、ならびに第 12 回神奈川地方部会において発表した。

### 文 献

- 1) J. B. Brown: J. Endocr. 40: 175-188, 1968.
- 2) 志田・他: ホと臨, 8: 267, 1960.
- 3) J. B. Brown: Biochem. J. 60: 185, 1955.
- 4) Dale, E & Greene, J. W.: Am. J. Med. Sci. 250: 700, 1965.
- 5) 大沢・井林: 日本臨床, 29: 174, 昭和 46 年 5 月号.
- 6) J. B. Brown: J. Endocr. 42: 5, 1968.
- 7) 神戸川: ホと臨, 17: 76, 1969.
- 8) Itrich, G.: Acta endocr. 35: 34, 1960.
- 9) 中山: 第 17 回日産婦総会宿題報告, 1965 年 3 月 31 日.
- 10) 五十嵐: 医学の歩み, 66: 215, 1968.
- 11) 山本, 前田: 日産婦神奈川会誌, 8(2): 38-40, 1971.
- 12) 山本, 前田: 第 42 回日産婦関東連合地方部会講演.
- 13) 山本, 前田: VII. World Congress of onfertility & sterility 1971, 東京講演.
- 14) 飯塚: 着床の内分泌環境, 第 24 回日産婦総会, 1972.
- 15) Franden, V. A. & G. Stakeman: Acta endocrinol. 44: 183, 1963.
- 16) Scholler, R. et al.: Acta endocr. 52(suppl): 107, 1966.
- 17) Eechaute, W. & Demeester, G.: J. clin. Endocr. 25: 480, 1965.
- 18) Støa, K. F. & Thorsen, T.: Acta endocr. 41: 481, 1962.
- 19) 神戸川, 他: 内分泌と代謝, 3: 213, 1962.
- 20) 五十嵐, 他: 日内分泌誌, 43 (特別号), 142, 1968.
- 21) Lunaas, T.: Acta Chem. Scand. 18, 321, (1964).
- 22) Roy, E. J.: J. endocr. 25, 361, (1962).
- 23) Preedy, J. R. K., Aitken, E. H.: J. Biol. Chem. 236, 1297, (1961).

Clinical investigations on the measuring  
Urinary total estrogens by fluorometry  
of Brown et al.

**Nobuhiro Maeda**

Dept. of Obstet. & Gynec. School of Medicine  
Keio University  
(Inst.: Prof. R. Iizuka)

Recently, it has been reported that the urinary estrogens during late pregnancy by the calorimetry of X. A. D. have prevalent in Japan. But urinary estrogens during normal cycle and early pregnancy have not become so popular. I adopted Brown's fluorometry instead of using semiautomatic procedure. Fluorescence of estrogens is measured with Shimazu-GSF-16 spectrofluorophotometer.

Fluorescence characteristics of estriol are: activating wavelength  $535\text{ m}\mu$ , emission wavelength  $555\text{ m}\mu$ , uncorrected. The minimal detectable dose is  $0.5\text{ ng}$ . The recovery of estriol is approximately 45%. The coefficient of variation of

this method is 5~15%. This procedure takes within 7 hours for 8 samples.

The results are summarized as follows;

1) The average of the urinary estrogens is  $15.8\text{ }\mu\text{g/day}$  in follicular phase,  $65.9\text{ }\mu\text{g/day}$  at the midcycle surge and  $29.7\text{ }\mu\text{g/day}$  in luteal phase.

The average of the urinary estrogens is  $99.9\text{ }\mu\text{g/day}$  at amenorrhea 4 weeks,  $128.4\text{ }\mu\text{g/day}$  at 5 weeks,  $194.0\text{ }\mu\text{g/day}$  at 6 weeks,  $290.5\text{ }\mu\text{g/day}$  at 7 weeks,  $328.9\text{ }\mu\text{g/day}$  at 8 weeks,  $668.3\text{ }\mu\text{g/day}$  at 9 weeks,  $240.4\text{ }\mu\text{g/day}$  at 12 weeks,  $708.4\text{ }\mu\text{g/day}$  at 14 weeks,  $2133.9\text{ }\mu\text{g-days}$  at 16 weeks.

3) The results is obtained from normal woman over a period of time in which she became pregnant by natural insemination and artificial insemination.

4) I measured the urinary estrogens in normal cycle, early pregnancy, delivery and puerperium.

5) The special disease such as Sheehan's Syndrome, anorexia nervosa, and so on in urinary estrogens were measured.

# 家兎胞胚の Embryonic disc における Autoradiography

Autoradiography on the embryonic disc of rabbit blastocysts.

東邦大学医学部産婦人科学教室 (主任: 林基之教授)

田 宮 親

Chikashi TAMIYA

Dept. of Obst. & Gynec., School of Med., Toho University, Tokyo.

(Director: Prof. Motoyuki Hayashi)

家兎の6.5日胞胚を<sup>3</sup>H-Thymidine で標識後 Moog 法を応用して展開, Embryonic disc を分離し, Carmine 染色を施した材料に電顕法に準じた操作を加え, Autoradiograph を作製した. これより Labeling index を計算し, さらに世代時間の算出を試みた.

本実験法の特徴は取扱う材料が小片であるために Autoradiography におけるいわゆる前染色法を包埋過程前に試みた後, 切片作製にはエポキシ樹脂を用いた電顕法を準用したことである. この結果, Carmine 染色法が包埋過程中に脱色せず, 前染色法にもかかわらずカブリを生じないことがわかり, 核が赤く染まることと相まって Graph 上の銀粒子の観察をきわめて容易とした. また染色材料を操作するために, 大部分の過程を肉眼的に行なうことを可能とした. Embryonic disc における Labeling index は50~60%, DNA 合成時間は7時間, 世代時間は13時間と計測された. また Electron microscope autoradiography に際し, 乳剤膜作製およびその後の操作に一法を試み, 一時に多くの試料を処理し得る簡単な方法を考案した.

## 1. はじめに

不妊症を重要な課題として臨床的または基礎的な面から多くの研究がなされている. 研究対象も卵巣, 卵管, 子宮など生殖器のみならず, 個体発生の原点ともいべき胚細胞がとりあげられ, 今世紀中頃より哺乳動物卵に関する報告が続出し, 最近ではヒト卵に関する研究も少なくない. しかし受精より着床までの過程をヒトにおいて総括的に解明することは現時点では難しく, 相似点の多い小実験動物もしくは家畜を用いざるを得ない. 他方, 方法論的には胚の組織, 組織化学的または電顕の所見を観察する形態学的追求や生理, 生化学的実験手技を用いた機能面を検討する方法がある. また組織培養時に両面の研究をすることもできる.

放射性物質は初期胚の物質代謝の研究時にしばしば用いられている. すなわち<sup>14</sup>C-Methionine, <sup>14</sup>C-Leucine, <sup>3</sup>H-Thymidine, <sup>3</sup>H-Uridine などを用いた蛋白一,

DNA-, RNA合成などの研究がなされ, さらに Actinomycin などの代謝阻害物質による影響が検討されている. これらの実験ではマウスが用いられることが多く, 家兎の使用は少ない. 特に他の検査法では検出不能な微量の放射性物質を検出し, 小設備でも実験可能である利点を有する Autoradiography (以下ARG と略す) が家兎胞胚に応用された実験はきわめて少ない. その理由は ARG に適する標本を作り難いためと考えられる. したがって家兎胞胚では胞胚液中の radioactivity の変動を追求した研究が主である.

当教室では卵胞卵および卵管卵の体外受精, 受精卵の移植, 胞胚液の分析, 胞胚の電顕の研究, Embryonic disc (以下 Em-d と略す) の分離培養実験などに一貫して家兎を使用してきた. そこで胞胚の DNA 代謝を研究する際も家兎を用い, ARG における実験方法の改良を試み, 通常の組織切片を用いなくて, 簡単に鮮明な Graph を得ることに成功した<sup>1)2)</sup>. しかしこの方法は

Trophoblast (以下 Tr と略す) の観察には優れているが、将来胎児組織に分化する Em-d の検討には適していない。本研究は Em-d の ARG における実験方法に 2~3 の新法を行ない、特に染色法を検討し、Carmine 染色による包埋前染色が優れていることを認めた。また Carmine 染色法は Em-d のみならず、Tr 細胞領域においても以前に勝る鮮明な Graph を得、Em-d における世代時間を明らかにすることができた。さらに Electron microscope autoradiography において乳剤膜作製法およびその後の操作法について簡便な一法を考案したので報告する。

## II 実験材料および方法

### 1. 材料

個々のケージに 2 週間以上隔離し、水と固形飼料で飼育した未産の日本産白色雌家兔 (生後 5~8 カ月、体重 2.6~3.2kg) から回収した 6.5 日胞胚を使用した。交配用雄には 10 日前より gonasteron 3mg/日筋注 3 回の前処置をし、最低 5 日以上の間隔をおいて交配させた。

### 2. 実験方法

#### (1) 胞胚の採取法

雌家兔に PMS 100I.U. 筋注後 72 時間目に 2 回の自然交配を確認し、ただちに、HCG 250I.U. を静注する。交配後 6.5 日目にラボナル静麻下で開腹し、空気栓塞により屠殺し、内性器を摘出する。199 液 (30% 仔牛血清 + Pc 100 単位/ml 含有、以下同じ) により摘出性器外側に付着する血液を洗浄し、卵管と子宮腔部を切断除去後、199 液中で子宮の間膜側に切開を加え、ピペットにより回収する。

#### (2) Autoradiography の方法および条件 (図 1)

##### ① 一時標識とその後の培養法

回収胚を  $^3\text{H-TdR}$  (Specific activity 5.0C/mM 第一化薬)、含有の 199 液中でブラック瓶 (30ml) を用い、閉鎖系にて 30 分培養後、各胞胚をとり出す。 $^3\text{H-TdR}$  の濃度はそれぞれ 0.1, 0.25, および 0.5  $\mu\text{C}/\text{ml}$  である。また 1 瓶当たり、10~20 個の胞胚を使用した。

一時標識の Graph を作る際はただちに次の②の固定の操作に移る。世代時間を測定する場合には、取り出した胞胚を Cold-Thymidine を含んだ培養液で数回洗った後、Thymidine を加えない 199 液を入れた角チューブに 2~3 個ずつ入れ、閉鎖系で培養する。培養時間は 30 分からはじめ、30 分間隔で 17 時間まで行なつた。培養後、1 つの角チューブ内の胞胚全部を直ちに固定する。

##### ② 固定

2% グルタルアルデヒド 2 時間または 10% 中性ホルマリンで数時間以上固定する。

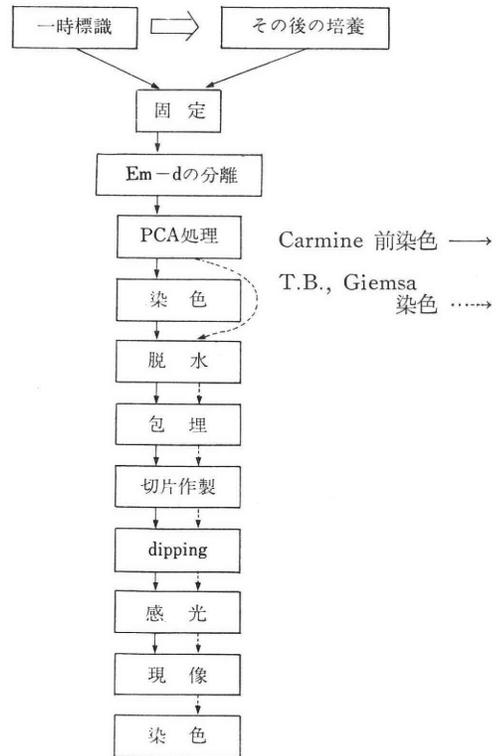


図 1 実験方法

##### ③ Em-d の分離

実体顕微鏡下で固定胞胚を Moog 法により花弁状に展開後、Em-d をテルモ 26G  $\times$   $1/2$  の注射針と眼科用鞏膜ピンセットで切り出す。

##### ④ PCA 処理

DNA 合成に使われなかつた余分の低分子の  $^3\text{H}$  を除去する目的のため秤量瓶内で  $4^{\circ}\text{C}$ 、30 分で 2% PCA 処理を行ない、PCA 液除去後、蒸留水で数回洗浄する。

##### ⑤ 染色法

包埋前染色法と現像後染色法を比較検討した。包埋前染色法は④の操作の終つた秤量瓶中に Carmine, Giemsa, Toluidine blue 液約 1 ml を入れ、24 時間染色する。Carmine 染色法は incubator ( $37^{\circ}\text{C}$ ) 内で、他は室温で行なう。後染色は後述のごとき方法で作つて現像終了後の標本に型のごとく同様 3 種の染色法を施した。

Carmine 染色法と Giemsa 染色法の優劣を比較する意味で Tr 細胞に Carmine 染色を行なつた場合は後染色法を用い、同液を滴下し、30 分染色した。この際は室温で行なう。

Carmine 染色液の調剤法: Carmine 染色は通常の作製法によつた染色液では十分染色されなかつたので、次のごとく作製した。

Carmine 1g を無水エチルアルコール10ml に溶解し、硫酸アルミニウムアンモニウム飽和液90ml を加え、5分間煮沸する、冷却後2% CaCl<sub>2</sub> 5ml と酢酸5ml を加えてから濾過し、室温で1日または37°C 恒温槽で2時間熟成させる。ただちに使用しない時は冷蔵庫に保存しておく、使用時にはよく振盪してから濾過液を用いる。

#### ⑥ 包埋、切片作製

上昇エタノール系で脱水後、プロピレンオキサイドとエタノール、プロピレンオキサイドのエポキシ樹脂混合液、エポキシ樹脂の順に十分浸透させてからカプセルに包埋し、37°C および60°C におのおの24時間放置して重合させた。Porter-Blum MI. I型マイクロームでなるべく離れた4カ所より1 $\mu$ の切片を作製した。

#### ⑦ Dipping, 感光, 現像

さくら NR-M<sub>2</sub> を蒸留水で2倍に稀釈したもので Dipping 処理し、数分間垂直に立てて余分の乳剤を除き、乾燥後、暗箱にシリカゲルと一緒に入れ、冷蔵庫に保存する。感光はすべて3週間である。現像はレンドール、20°C、4分。定着は8分。水洗乾燥後、バルサムで封入する。

#### (3) Labeling index の計算

通常の方法で Labeling index (以下 L.I. と略す) を計算した。しかし標本によつては細胞数が少ないものもあるのでこれを除外し、100個の細胞を計測した。

#### (4) 世代時間の測定法

Prophase の細胞は識別し難いものもあるので、Metaphase 以後の分裂細胞で取り込みのある細胞の比率を計測し、Quastler<sup>9)</sup>および山田<sup>4)</sup>の方法に従って計算した。

#### (5) Electron microscope autoradiography

① <sup>3</sup>H-TdR 濃度を10 $\mu$ c/ml とし、10分間培養する。

② (2)の③と同様な操作で分離した Em-d から通常の電顕法に従って切片を作製する。

③ コロジオン保護膜の付着した銅グリッドメッシュで切片をひろう。(水平法)<sup>9)</sup>

④ 数個のメッシュを写真1のごとくスライドガラス端に並べ、テープではりつける。ウラン染色を施し、カーボン蒸着をする。

⑤ 乳剤中にメッシュだけを沈め、蒸留水でぬらしたガーゼで裏側より余分の乳剤をすいとる。スライド立てに並べ、シリカゲルと共に暗箱に入れ、冷蔵庫中で4週間感光させる。乳剤はサクラ NR-H<sub>2</sub> を45°C で溶解し、同温度の蒸留水で約6倍に薄めたものを用いる。

⑥ コニドールXを蒸留水で調剤したもので現像する

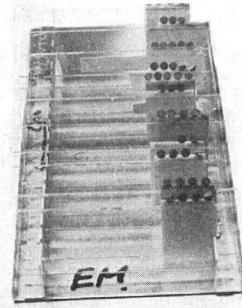


写真1 メッシュ処理法

(20°C, 4分)。

⑦ 現像後鉛染色を行なう。

### III 実験成績

#### 1. 各染色法における Graph の比較

1) Giemsa, Toluidine blue および Carmine による現像後染色法

Giemsa および Toluidine blue による後染色法は包埋、切片作製を省略できた Tr 細胞の ARG において分割細胞以外の細胞の取り込みを観察する際は、ほぼ満足すべき所見を得ていたが、Em-d においては包埋用エポキシ樹脂および乳剤が淡染されることが多く、核の染色状態も良好ではなかつた。また Giemsa 液により染色された核は赤色を示さず、大部分は青色を呈した(付図1)。Carmine 染色は常温では染まらないため加温(37°C, 24時間)する必要があり、その場合は乳剤が溶解してしまい、ARG を作ることはできない。

2) Giemsa および Toluidine blue による包埋前染色

材料以外の淡染を防ぐ意味で、包埋前染色法を試みたが、これらの色素は包埋過程で脱色し、包埋前染色法には不適當であつた。

3) Carmine による包埋前染色

包埋、切片作製、現像時に脱色することなく、赤色に染まつた核の色は最後まで保たれ、かぶりも生ぜず、非常に鮮明な Graph を得ることができた(付図2, 3)、核が赤く染色されることにより銀粒子の観察が非常に容易となつた。特に分裂細胞中の取り込みを観察し易くし、取り込みの有無の鑑別に困難さを感じなかつた。また染色材料を処理することにより、以後の実験操作時、実体顕微鏡を用いる必要はなかつた。これらの点から Em-d における染色法としては Carmine による包埋前染色が最良であり、以後の成績はすべて同染色法を用いた Graph から得たものである。しかし成書に記載され

た作製法による Carmine 液では核の染色が不鮮明であり、前述のごとき調製法によりはじめて満足すべき所見が得られた。

#### 4) Carmine を用いた Tr 細胞の Graph.

Carmine 染色法を Tr 細胞の後染色法に試みた結果、以前に発表した Giemsa 染色法 (付図 4) に比べて、はるかに良好な所見が得られた (付図 5)。

#### 2. $^3\text{H-TdR}$ 濃度と取り込み状態

##### (1) $0.1\mu\text{c/ml}$ 3 週間感光

5羽の家兎から得た胞胚45個のいずれにおいても uptake はまったく認められなかった。

##### (2) $0.25\mu\text{c/ml}$ 3 週間感光

6羽の家兎から得た胞胚68個の大部分に取り込みがなかった。数例に黒化した少数の銀粒子らしきものを認めたが、ARG 上取り込みがあると断定できるほどの像ではなかった。

##### (3) $0.5\mu\text{c/ml}$ 3 週間感光

10羽の家兎から得た130個の胞胚にきわめて鮮明な取り込みが認められ (付図 2, 3), 実験例のすべてにおいて陽性成績であった。核当りの銀粒子数は少ないもので 20~30, 多いもので 70~80 であり, 銀粒子数算定にはやや多いと思われるが, L.I. の計測に容易なことと, 取り込みのある分裂細胞を観察し易いことを目的としたため, 以後の実験ではすべて本条件下で labeling させた。

#### 3. Labeling index

前述の (3) で述べた胞胚から作った Graph について計算すると Labeling index は 50~60% であり, Tr 細胞の 70~80% より低値を示した。

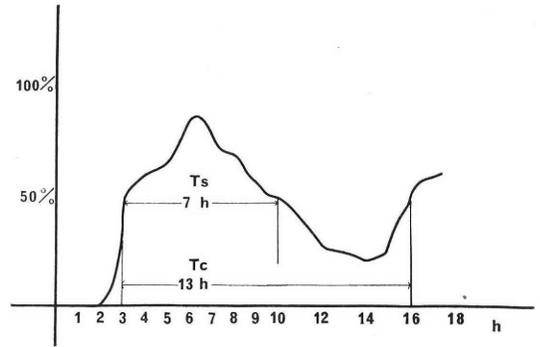
#### 4. 世代時間の測定

前述のごとき理由により本実験では Metaphase 以後の分裂細胞における取り込みを観察した (付図 6, 7)。その出現頻度は図 2 のごとくであり, 一時標識後の培養 2 時間までの胞胚においては取り込みのある分裂細胞はまったく認められなかった。2.5 時間では 9% の分裂細胞が labeling されており, 3 時間では 50% に急増する。以後は 6 時間値の 84.2% まで漸増し, 80% 以上の極値は 6.5 時間にも認められ, 次いで漸減し, 14 時間値の 21% までになり, その後ふたたび上昇する。

(図 2) により DNA 合成時間 (Ts) は 7 時間, 世代時間 (Tc) は 13 時間, と計測された。Ts 値と L.I. から Tc を計算する Quastler の公式を応用すると, 計算上の Tc は 13.2 時間となり, 本実験の測定値 13 時間とほぼ一致する。

#### 5. Electron microscope autoradiograph (付図 9,

10) 糸くず状の現像銀が核内に存在するのが認められ



ラベルされた中期以後の細胞数  
中期以後の全細胞数

図 2 世代時間の測定法

る。Mitochondria その他の細胞内小器管には存在しなかった。付図 9 では主として核の辺縁に粒子が集まっているのが観察される。

#### IV 考 按

家兎胞胚は他の実験動物に比べて非常に大きくなり直径は数 mm に達する。したがって組織学的に観察しようとする際、胞胚腔に多量に貯溜する胞胚液のため包埋、切片作製をうまくできず、胞胚固有の円形構造を示す切片を作り難い。しかも一層の Tr 細胞層は切り方により非常に薄い細胞層として認められるに過ぎないことが多く、該部の観察には不十分である。Moog & Lutwak-Mann<sup>6)</sup> による胞胚壁をカバーガラス上に展開する方法は Tr 細胞層の光学顕微鏡的観察には適した研究方法と考えられる<sup>2)</sup>。当教室では同法による材料を ARG に利用し、簡単にしかも明瞭な Graph を作製することができた。しかしこの方法は Tr 細胞が一層に並んだ部分に応用できるのであつて、Tr 細胞層の内側に内胚葉が発育している部分や細胞がさらに多層になっている Em-d には応用できない。したがって Em-d の ARG に際しては切片作製が実験方法確立の第一となるが、胞胚全体から作る場合は前述のごとき障害に加うるに Em-d の存在部位を識別し難い欠点がある。よつて Em-d のみを切り出し、実験操作を加えたことが本実験の第一の特徴である。しかし 6.5 日胚の Em-d の大きさは展開した標本で伸展した状態においても数 mm に過ぎないので、切り出した Em-d は切片作製などの種々の操作時またはこれに移行する時、肉眼的に他と鑑別することは困難であり、顕微鏡下での処理を行わなければならない。また実験中紛失することも稀ではなかつた。その解決策としてまず材料を染色した後に包埋以後の処理を試みたが、通常用いられる Giemsa 染色や Toluidine blue 染色では包埋などの操作中の脱色のた

め、包埋前染色の意味がなかつた。

光学顕微鏡と電子顕微鏡との両観察法を比較併用する場合、分解能の大きな差と標本作製法の違いのため、両法を比較研究し難いことがある。そこで最近では電顕に準じた超薄切片を作り、これに適した染色法を開発し、光顕の観察に供しようとする研究が多数発表されるようになった<sup>7)</sup>。本実験ではこの考えに基づき特殊な材料である胎胚の Em-d を Carmine 染色し、従来のパラフィンまたはセロイジン包埋法では製作できなかつた厚さ  $1\mu$  前後の標本を作り、きわめて鮮明な ARG を観察することができた。すなわち電顕に準ずる包埋過程前に染色する方法を行なつたことが実験方法的には最大の特徴といえる。

ARG における染色法は染色標本に乳剤をかける、いわゆる前染色と現像標本を染色する後染色とがある。前染色は手技としては容易であるがカブリなどの欠点が生じ易く、現在では後染色法の利用が多い。本法では通常の前染色法とは異なり、固定した標本をまず染色した後包埋したが、Carmine 染色法は軽度の脱色は認められても、観察に十分な染色度を保っており、広い意味での前染色法にもかかわらずカブリを生じないことが判つた。したがつて本実験法は家兎胎胚の Em-d の  $^3\text{H}$ -Thymidine ARG には最適な方法と云え、他の組織についても応用できると考えられる。この際 Carmine、エチルアルコール、硫酸アルミニウムアンモニウムと一緒に煮沸作製した Carmine 液では染色不十分であり、本実験のごとく調整した染色液で良好であつた理由はいまだ明瞭ではない。

$^3\text{H}$ -TdR の ARG は核における銀粒子の観察を目的とするのであるから染色は核染色法が用いられるのが常である。Giemsa 染色を後染色に用いると核は本来赤色を示すべきにもかかわらず青色を呈した。すなわち銀粒子の黒色と同系統の色調を示したが、Carmine 染色では赤色を示すことにより銀粒子の観察をきわめて容易にした。したがつて Giemsa の後染色法を用いた Graph により分裂細胞中の取り込みを観察する際はかなりの努力を必要としたが(付図 8)、本法の場合は一見して識別しうることができた。両染色法を比較しやすい Tr 細胞の Graph においてその差は一目瞭然であり、カラーライドの観察時には特に強く感じられた。また肉眼的操作のみで実験を進める事を可能にした。

本法を用いた鮮明な ARG により、Em-d における L.I. は 50~60% と計算され、Tr 細胞における 70~80% より低値であることが判明した。30分の Labeling 期間中 DNA 合成期にある細胞数の割合が Tr 細胞に比して少ないことを示すものであり、世代時間は逆に長いもの

のと推測された。

DNA 合成期の計測は初めて Lison & Pastiel 等 (1951)<sup>8)</sup> が microspectrophotometry を用いて研究した。1953年 Howard & Pelc<sup>9)</sup> は Cell cycle を G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>, および M 期の 4 部分に分け、Stanners & Till (1960)<sup>10)</sup> がこれを図式化した。Quastler<sup>9)</sup> は  $^3\text{H}$ -TdR による Pulse-labeling により Cell cycle の各時期を測定する方法を発表し、以来種々の研究対象について同様な方法による研究が報告されている。

マウスやラットの種々の臓器を材料とし、成熟した哺乳動物の細胞の Ts は 6~8 時間とされている (Pilgrim<sup>11)</sup>, Cameron<sup>12)</sup>。Defendi<sup>13)</sup> は多くの哺乳動物における S および G<sub>2</sub> 期はほとんど同じであるが、G<sub>1</sub> 期の差によりさまざまな世代時間を示すと述べている。また常に新生細胞が認められる造血組織では Cell cycle が短いことが予測され、実測値ではラットの脛骨骨髄巨核細胞の世代時間は 9.3 時間 (Odell)<sup>14)</sup>、犬の赤芽細胞では 10 時間<sup>15)</sup> などがある。Bianchi<sup>16)</sup> はラット骨髓細胞では 15 時間と報告し、これらから哺乳動物の造血組織中の各細胞は種類をとわず、約 10 時間の世代時間を示すとしている。また胎児組織を用いての測定実験はしばしば行なわれており、Zhinkin<sup>17)</sup> は妊娠 17 日のラット胎児の筋線維のサイクルは 20 時間と述べている。Atlas<sup>18)</sup> はマウスの 11 日胚の間質細胞の Ts は 5.5 時間とし、Kauffman<sup>19)</sup> はマウスの 10 日胚の神経管の Tc, Ts, Tm, はそれぞれ 8.5, 4, 1.32 時間と報告している。Cameron<sup>12)</sup> は妊娠 12 日目のマウスの Tr 細胞の Ts は 7 時間と計測した。

しかし着床前の胚における Tr または Em-d における細胞のサイクルを測定した報告はきわめて少ない。Gamow<sup>20)</sup> はマウス胚の 2~16 細胞期では G<sub>1</sub> 期を欠いており、桑実胚と胎胚では G<sub>1</sub> 期を認めるが、非常に短時間であると報告している。家兎胎胚については当教室の間壁<sup>21)</sup> が Tr 細胞について測定した報告があるに過ぎない。

以上のごとく一般に家兎以外の動物を使用した実験が多く、家兎胎胚では世代時間の測定は勿論のこと ARG に関する発表も少ない。それは前述のごとき理由による実験方法上の困難さのためと考えられる。Tr 細胞では Tc は 7.5 時間、Ts は 4.5 時間と既に計測され、哺乳動物細胞のなかでも Cell cycle のもつとも短いものの 1 つと考えられる。Em-d のそれも計算し、Tr 細胞と比較検討することは分裂、分化途上にある胎胚の性状を知る意味で重要である。形態学的に観察される有糸分裂中の細胞数や L.I. の差違により Em-d における Tc は Tr のそれより長いものと推測されたが、本実験により技術的隘路が開かれ、Em-d の世代時間が初めて実測

された。その結果 Tr はきわめて早い速度で増殖するが Em-d はそれよりかなり遅い速度で分裂することがわかった。

Tr 細胞の ARG においては  $^3\text{H-TdR}$  の濃度は  $0.1 \mu\text{c/ml}$  で十分であつたが、Em-d においては  $0.5 \mu\text{c/ml}$  ではじめて Tr 細胞とほぼ類似する Graph が得られた。Tr 細胞ではカバーガラスに並んだ細胞そのままの上に乳剤をかぶせ Graph を作ったことに対し、Em-d では Tr 細胞よりはるかに薄い標本から作製したために、この差が生じた。 $0.5 \mu\text{c/ml}$  の濃度は家兎の初期受精卵を用いた Szollosie<sup>21)</sup>の実験の  $1/50$  に過ぎないが、マウス卵を用いて初期胚の発育に及ぼす  $^3\text{H-TdR}$  の影響を検討した Snow<sup>22)</sup>の成績からみると、かなりの大量である。彼は  $^3\text{H-TdR}$  含有培地中で 2 細胞卵を胞胚まで培養し、 $^3\text{H-TdR}$  濃度が  $0.1 \mu\text{c/ml}$  以上では致命的であり、 $0.01 \mu\text{c/ml}$  でも胞胚の細胞数は減少していると述べている。また間壁は家兎胞胚を  $0.5 \mu\text{c/ml}$  濃度中で 4 ~ 5 時間培養すると Collapse を生じ、細胞分裂に支障を来したと報告している。本実験では Snow の数十時間培養にくらべてはるかに短い 30 分培養であり、世代時間測定時の経時的観察において胞胚および Em-d の発育が認められることにより本条件下の短時間 labeling では分裂に支障を来すほどの障害を与えないと考えられるが、今後この点での検討も必要と思われる。

Electron microscope autoradiography としては本邦においては水平等の報告、その他さまざまな方法が発表されてきている、すなわち、いわゆるワイヤーループ法、デIPPING法、タッチング法などである。また現像処理に伴う、銅メッシュの酸化防止法や乳剤の濃度などの面に関する研究があり、各自最良の方法と述べている。しかしこれらの方法はのおの優れた方法と思われるが、記載された通りに行なつても初心者にはなかなか望むとおりの結果が得られない。ワイヤーループ法にしるタッチング法にしる一枚のメッシュに乳剤膜を作ること自体が非常に難しく、まして多くの材料を一時に処理することは熟練しなければ不可能に近い。まだデIPPING法は余分の乳剤の除去が不十分のことが多く、染色時に汚染され易い。ところが本実験法のごとくメッシュをスライドガラスにはりつける方法により乳剤膜作製が容易となり、逆に汚染されることは少なく、さらに電子染色、カーボン蒸着、現像、鉛染色までも数個の材料を同時に処理することが可能となつた。Em-d を材料とし本実験法のごとき方法を考案したが、他の組織を用いても可能であり、Electron microscop autoradiography としては実用可能なやさしい方法と考える。

## 結 論

家兎胞胚の Embryonic disc の  $^3\text{H-Thymidine}$  Autoradiography および Electron microscope autoradiography に際し次のごとき方法を試み、鮮明な Graph を得、Labeling index, Generation time を測定した。

1. Em-d の分離標本を使用した。
2. Autoradiography には包埋前に染色を施し、電顕法に準じた過程により切片を作製した。
- (1) Carmine がこの過程中に脱色せず、カブリなどの障害を生じないことが判明した。
- (2) 赤く染色された核と黒い銀粒子の対比から銀粒子の観察をきわめて容易とした。
- (3) 染色材料を取り扱うので大部分の過程を肉眼的操作で行なうことを可能とした。
- (4) Labeling index は 50~60% である。
- (5) 世代時間は 13 時間、DNA 合成時間は 7 時間である。

3. Electron microscope autoradiography ではメッシュをスライドガラスにはりつけ、電子染色から現像までの操作を一時に数個の材料を処理しうる、誰でも可能な方法を考案した。

本論文の 1 部は昭和 46 年度日本不妊学会総会、昭和 47 年度日本先天異常学会総会で発表した。

稿を終るに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師林基之教授に衷心より謝意を表します。また御指導戴きました岩城章助教授に深謝いたしますとともに研究の御指導、御協力をいただきました平川博士、野沢修士、第一解剖学教室石橋博士、電顕室岩崎学士、東邦大学産婦人科教室員一同に感謝の意を表します。

## 参 考 文 献

- 1) 林基之ほか：医学のあゆみ，63，583，(1967)。
- 2) 間壁さよ子：日不妊誌，14，373，(1969)。
- 3) Quastler, H.: Exp. Cell Res. 17, 420, (1959)。
- 4) 山田正篤：蛋白質，核酸，酵素，9，196，(1967)。
- 5) 水平敏知：蛋白質，核酸，酵素，13，178，(1967)。
- 6) Moog, F.: J. Embryol. Exp. Morph. 6, 57, (1958)。
- 7) 黒滝光明：解剖学雑誌，47，237，(1972)。
- 8) Lison, L. et al.: J. Arch. Biol. 62, 1, (1951)。
- 9) Howard, A. et al.: Heredity. 6, Suppl. 261, (1953)。
- 10) Stanners, C. P. et al.: Biochem. Biophys. Acta 37, 406, (1960)。
- 11) Pilgrim, Ch. et al.: Naturwissensch, 49, 544, (1962)。
- 12) Cameron, I. L.: J. Cell. Biol. 20, 185,

- (1964).
- 13) Defendi, V. et al.: *Nature*. 198, 359, (1963).
  - 14) Odell, T. T. et al.: *Exp. Cell. Res.* 53, 321, (1968).
  - 15) Odartchenko, V. P. et al.: *Erythropoiesis*, 173, Grune and Stratton, New York and London (1962).
  - 16) Bianchi, N. O.: *Cytologia* 31, 276, (1966).
  - 17) Zhinkin, L. N. et al.: *J. Embryol. Exp. Morph.* 11, 353, (1963).
  - 18) Atlas, M. et al.: *J. Cell. Biol.* 26, 19, (1965).
  - 19) Kauffman, S. L.: *Exp. Cell Res.* 42, 67, (1966).
  - 20) Gamow, E. L. et al.: *Exp. Cell Res.* 59, 117, (1970).
  - 21) Szollosie, D.: *Anat. Rec.* 154, 209, (1966).
  - 22) Snow, M. H. L.: *J. Embryol. Exp. Morph.* 29, 601, (1973).

### Autoradiography on the embryonic disc of rabbit blastocysts

**Chikashi Tamiya**

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

In this experiments, for the  $^3\text{H}$ -thymidine autoradiography and electron microscope autora-

diography on the embryonic disc of rabbit blastocysts, the following methods were used to improve for clear graphs so as to count the labeling index and the generation time.

1: Embryonic discs separated from the whole blastocysts fixed after culture were used.

2: Dissected samples were stained with carmine solution before embedding and sectioned as in usual process for electronmicroscopy.

Carmine staining did not disappear through these treatment, and the artifacts, especially on the photographic process, were avoided with this technique.

The high contrast between red-staining nuclei and black silver grains were obtained for easy observation.

With the staining of dissected disc, almost all the processes can be done by naked-eye operation.

Labeling index was 50-60%.

Generation time and DNA synthesis time were 13 and 7 hours.

3: In electron microscope autoradiography, the technique was improved as follows, several meshes were stucked on coverglass.

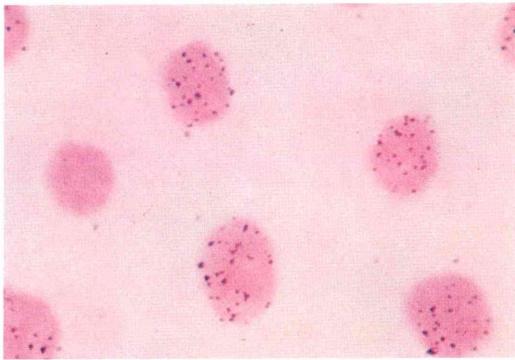
These techniques enabled easier to handle several materials at one time, in staining with uran-lead, autoradiographic and photographic processing.



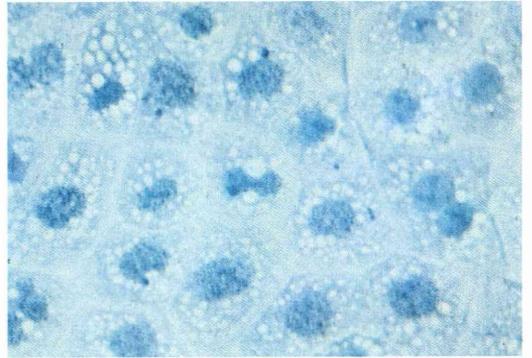
付図 1 Em-d, Giemsa 後染色



付図 2 Em-d, Carmine の包埋前染色



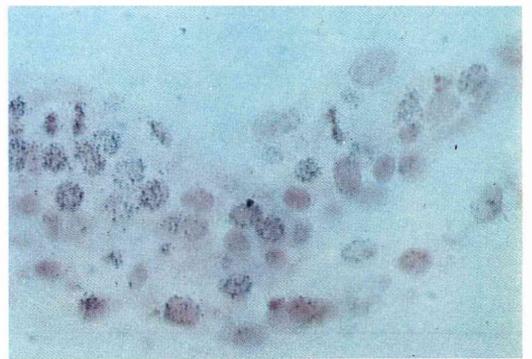
付図 3 Em-d, Carmine の包埋前染色(他の部分)



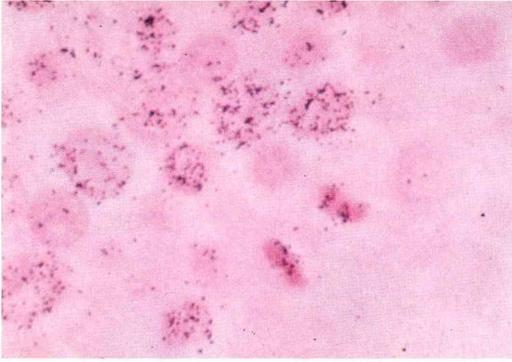
付図 4 Tr 細胞, Giemsa 後染色



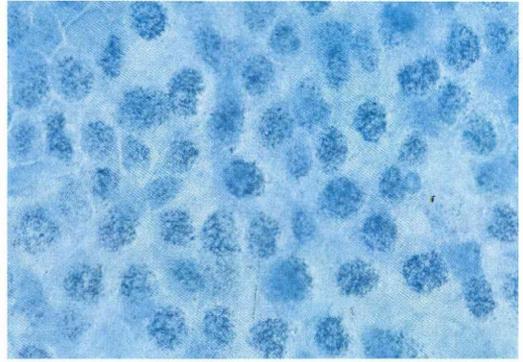
付図 5 Tr 細胞, Carmine 後染色



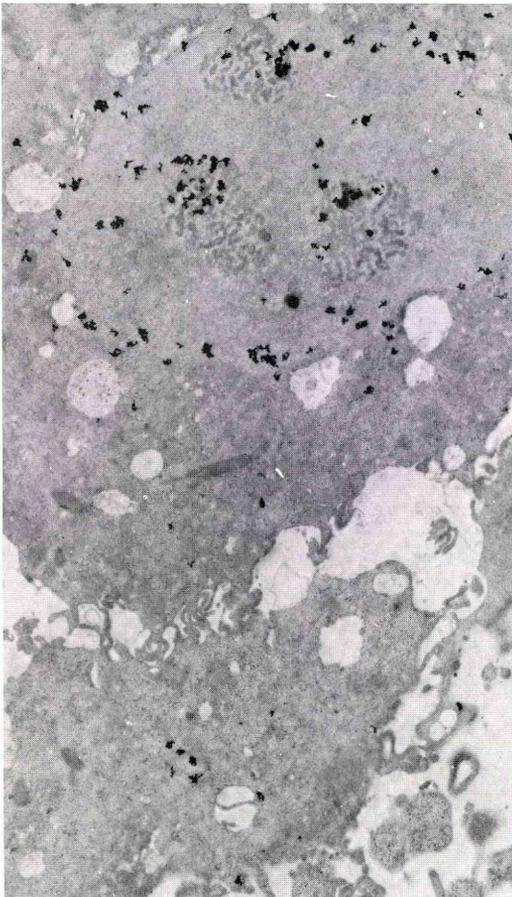
付図 6 Em-d, Carmine の包埋前染色. 取り込みのある分裂細胞



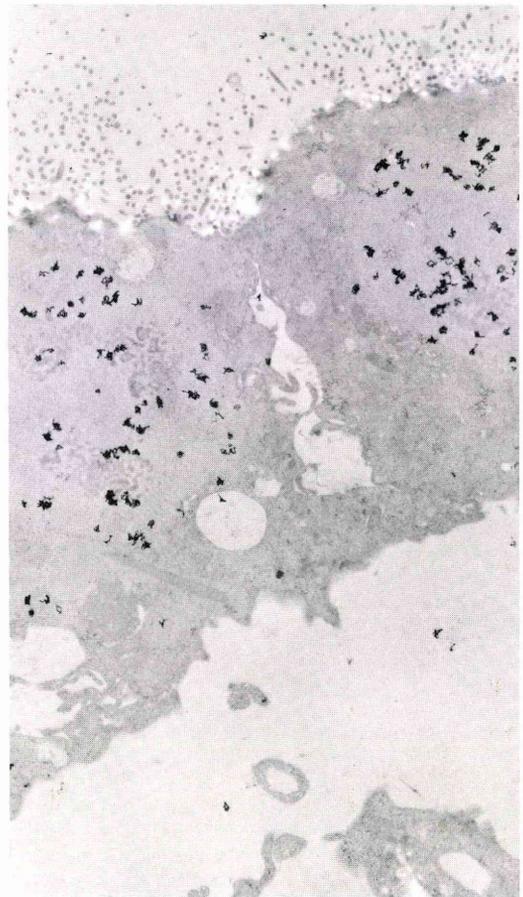
付図 7 Em-d, 他の部分の取り込みのある分裂細胞



付図 8 Em-d, Giemsa 後染色, 取り込みのある分裂細胞



付図 9 10 $\mu$ c/ml, 10 分間培養, 核周辺の取り込みが認められる ( $\times 3,000$ )



付図 10 付図 9 と同じ条件 ( $\times 3,000$ )

# 中規模病院における不妊外来—— 大学不妊クリニックとの比較

## Statistical Study on the Sterility at a Middle-Sized Hospital—— Comparison with Sterility Clinic of University

東邦大学医学部産婦人科教室 (主任: 林基之教授)

百瀬 和夫 平敷 好惟 大村 剛  
K. MOMOSE Y. HIRASHIKI G. OHMURA  
田中 リナ  
L. TANAKA

Dep. Obst. Gynec. Toho Univ. School of Med.  
(Director, Prof. M. Hayashi)

不妊患者の頻度、不妊因子の割合については、報告者によつてかなりの差がみられ、病院の性格、時代によつて変動するものと思われる。大学病院不妊クリニックと東京郊外にあるベッド数200程度の病院における不妊外来の検査成績を比較検討した。

1. 大学病院における児希望患者は18%の高率であるのに対し、一般病院では2%にすぎなかつた。
2. 年齢は平均29歳で、両者に差はない。
3. 不妊期間の長い患者は大学群で多い。
4. X線像による子宮の形態的異常は大学群でやや多い。
5. 卵管疎通障害は大学群で19.2%、一般病院は7.7%で著しい差がみられた。
6. 卵巣因子は大学で10%、一般病院では20%とかなり多かつた。
7. 男性不妊も大学の22%に対し、一般病院では37%と高率であつた。

不妊患者の頻度、不妊因子の割合については、報告者により、発表年度によつてかなりの差がみられる。厚生省の第6次出産力調査(昭和47年度)によると、出産を終了したと思われる35~39歳の婦人の無子率は5.3%で、これは戦前の半分以下であるという。おそらく結核、性病の激減、不妊検査、治療の進歩によるものと思われる。しかし外来を訪れる児希望患者の数はむしろ増加の傾向にあり、これは、4児以上をもつ夫婦が7%と、戦前の63%に比べて著しく少なくなり、養子という形の解決法が困難になつたためであろう。

このように不妊の原因が時代とともに変化するだけでなく、病院の性格によつても影響されることが考えられるので、大学病院不妊クリニックと、東京郊外にあるベッド数200程度の中規模の病院における不妊外来の患者の内容を比較してみた。

### 対 象

昭和47年1月から48年6月末までの1年半の間に、東

邦大学産婦人科の新患総数は5356例で、うち児希望を主訴とするもの966例、18%の高率を占める。同期間に子宮卵管造影法をうけたものは511例、実施率52.9%となる。女性不妊を教室の主要研究テーマの1つとしているため、ほとんど全国各地から集まり、すでに造影法程度の検査をすませている患者が多い。

比較対照とした高津中央病院は東京衛星都市郊外にあり、国電と私鉄の交叉点近く、周辺地区のセンター病院としての性格をもつ。同上期間の産婦人科新患数は7251例(ただし3カ月間受診しないときは新患抜かいとするため若干の重複はある)、不妊主訴は149例、2.06%、うち子宮卵管造影法105例、実施率70%となる。

すなわち、研究、診療が分化した大学病院で想像するほど、不妊患者は多くないという印象をうけた。

### 成 績

#### 1) 年齢

患者の年齢別分布をみると、そのピークは大学群で27

～31歳、高津群では27～30歳で、ほぼ同様であつた。平均年齢は、大学群29.6歳に対し、高津群29.5歳でやはり差はなく、昭和1ケタ代の38歳以上、10年代の28～37歳、昭和20年代の27歳以下の3群にわけても、大学群で4.1%、63.6%、32.3%に対し、高津群3.8%、64.8%および31.4%で、全く同様の分布を示した(図1, 2)。

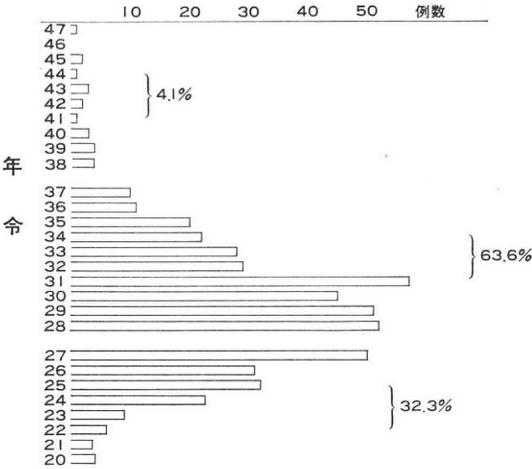


図1 年齢分布 (東邦)

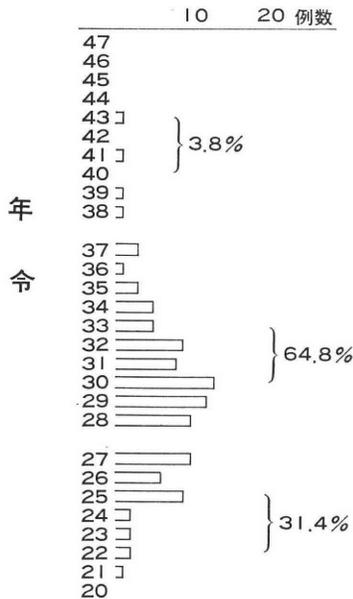


図2 年齢別分布 (高津)

2) 不妊期間

不妊期間の算出はかなり難しい。結婚すなわち児希望とは限らないので、避妊の有無、その期間を聴取し、児希望の年数をもつて不妊期間とした。不妊婦人でも避妊をしたことのあるものが10%をこえ、また原発不妊患者で婚前に妊娠の経験のあるものが年齢層により10%に

近いことがある。これについては別に報告した。

不妊期間別分布では、大学群で3年目、高津群では2年目にピークがあり、2年目および3年目で、それぞれ全体の36.2%、45.7%を占め、高津群では大学群に比べて、2～3年目により多くの不妊患者が集中している。また10年以上の長期不妊患者は、大学群で36例7%に対し、高津群ではわずか3例2.9%にすぎず、大学病院に不妊期間の長い患者が集まる傾向がうかがえる(図3, 4)。

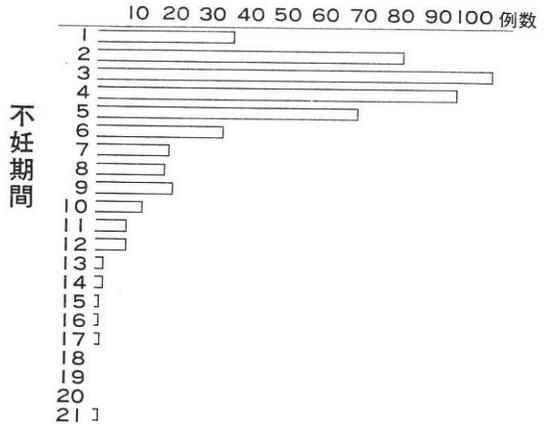


図3 不妊期間別分布 (東邦)

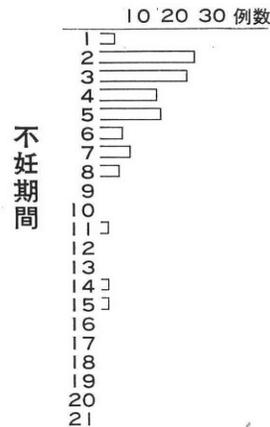


図4 不妊期間別分布 (高津)

3) 子宮X線像

従来、子宮卵管造影法は卵管疎通性検査の1つとして重視されていたが、内性器を視覚的に把握できる点が大きな長所と考え、不妊患者の子宮X線像の形態的分類を試みた。

造影剤の標準注入量を7mlとし、これで十分な卵管陰影と腹腔内流入像がえられ、子宮は逆2等辺3角形で、底部はほぼ直線状、左右側壁はわずかに内方に彎曲し

ているものを正常子宮像とすると、東邦では511例中214例41.9%とやや少なく、高津では105例中56例53.3%であった。

造影剤が2~3mlしか注入できないか、5~6mlで腹腔内に多量流入している場合を發育不全子宮とすると、大学群では19.2%、高津群では16.2%と大差ない。

種々の程度の奇形子宮、筋腫子宮は東邦で6.1%および3.5%であるのに対し、高津でも6.7%および4.8%で、ほぼ同程度の比率であった。

子宮の辺縁に細かい凹凸不正があり、全体として子宮像がややぼけた感じのする辺縁微細不正像は、卵管閉塞症と合併しやすく、炎症性変化の後遺症とも考えられるが、東邦群で4.5%に対し、高津群で1.9%と半分以下であった。これは後述の卵管不妊の頻度と関係がある。

子宮アトニー像、辺縁粗大不正像、ポリープ状欠損弛緩状などは、造影剤注入量の増加を必要とすることが多く、造影法のあとでさらに子宮腔内全面搔爬の対象としたので一括すると、東邦群の21.5%でやや多く、高津では14.3%であった。

脈管像の出現率は2.4%および2.9%で著しい違いはなかった(図5, 6)。

子宮は完全閉塞、欠如など極端な場合を除けば、絶対的な不妊因子とはなりえないが、形態的変化の著しいも

のが大学不妊群で比較的高率にみられた。

#### 4) 卵管X線像

これまでは女性不妊の最大原因の1つとされていた卵管因子は、近年、明らかに減少の傾向にある。100~200mmHg程度の比較的低い注入圧で卵管走向の全長が出現し、残像撮影で腹腔内にびまん性の分散像がえられたものを通過とし、卵管に疎通性はあるが残像で腹膜面にdepotを形成し、拡散が十分でないものを周囲癒着、200~300mmHgの高い注入圧にもかかわらず卵管通過像がえられないものを閉塞と判定した。両病院における造影法の実施、判定は著者らの1人がすべて行つたので、技術的な差による診断上の違いはなかつたものと思われる。

両側卵管疎通性ありは大学群で511例中304例59.5%に対し、高津群では105例中88例77.2%と明らかな差がみられた。両側閉塞、両側癒着、一側癒着で他側閉塞を含めた卵管不妊は大学で19.2%であるのに対して、高津群ではわずか8例7.7%にすぎなかつた(図7, 8)。

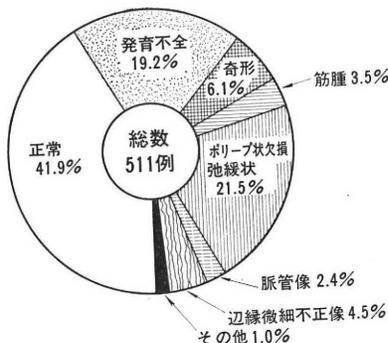


図5 子宮因子 (東邦)

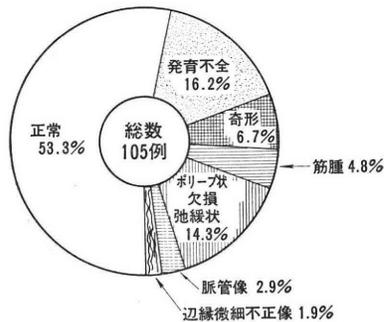


図6 子宮因子 (高津)

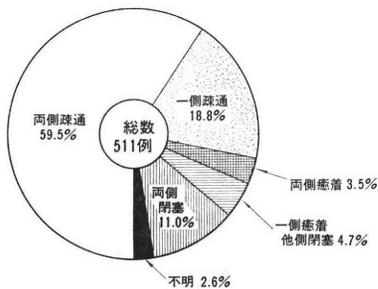


図7 卵管因子 (東邦)

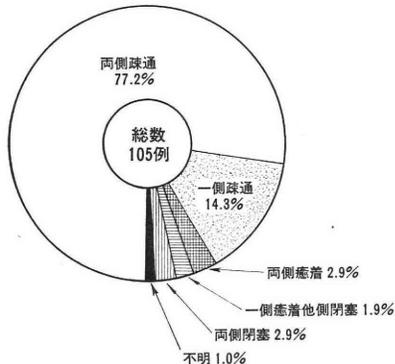


図8 卵管因子 (高津)

卵管因子が大学、高津の両群で著しい差があることは、大学における不妊患者の不妊期間が長いことと関係があるように思われ、各不妊期間別に不妊因子の分布をしらべたところ、不妊期間の長い群に卵管不妊が多く分布する傾向が認められた。

5) 卵巣因子

今回の調査は子宮卵管造影法をうけた患者を中心としたため、卵巣因子の詳細な分析については別の機会にゆずる。ただし、不妊原因の所在を明らかにするために、月経歴および基礎体温曲線から排卵が認められなかったものをわけてみると、卵管因子とは逆の関係が認められた。すなわち東邦群では排卵なし11%であつたのに対し、高津群では20%と倍に近い(図9, 10)。不妊期間別に

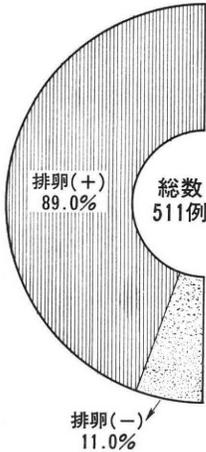


図9 卵巣因子 (東邦)

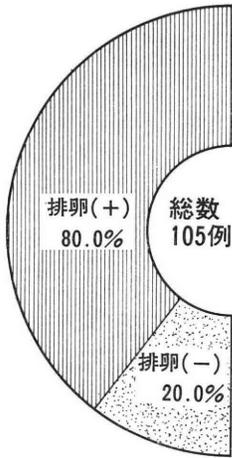


図10 卵巣因子 (高津)

卵巣因子の分布をしらべた結果、これが短い群に多い事実とも一致する。卵巣因子は機能性不妊として、比較的治りやすいものがあることを示すものと思う。

6) 精液検査

精液所見については未検査のものがまだ3分の1程度あり、最終的なことはいえない。5日間の禁欲期間をおき、1 ml 中4000万以下を精子減少症とすると、大学群

では正常78%、減少症15%、無精子症5%、その他2%に対し、高津群では正常63%、減少症31%、無精子症6%で、成績の不良のものがやや多かつた(図11, 12)。

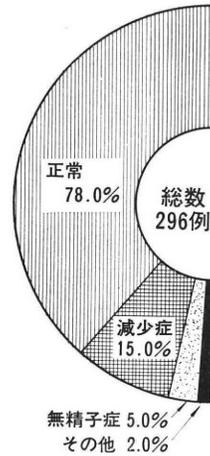


図11 精液検査 (東邦)

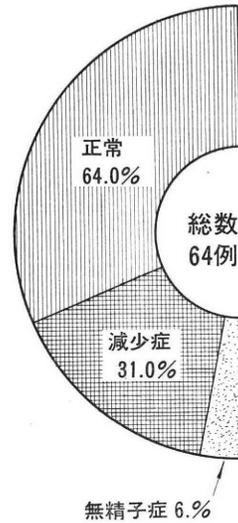


図12 精液検査 (高津)

7) まとめ

以上、大学における不妊クリニックと地区センター病院的な外来で検査をうけた不妊患者における主要因子を比較すると、子宮の変化は大学でやや多く10~20%と推定され、卵管不妊は大学の20%が圧倒的に多く、逆に、卵巣因子は大学で10%、男性因子も20%でかなり低率であつた。すなわち、各不妊因子の比率は病院の性格によって相当に変化することがわかつた。

表 1 不妊因子の分布

報告者	Smith	Slunsky	Döring	Leitsmann	林	植村	百瀬	
発表年度	1967	1969	1970	1972	1957	1972	1974	
例数	215	230	1160	361		658	511	105
卵巣因子	13.1%	33.8%	41.9%	31.6%	18.1% (クルド所見)	10.6%	11%	20%
卵管因子	11.7	36.8	29.0	27.0	49.9	21.1	19.2	7.7
子宮因子		6.9	6.7	2.0	5.0 (筋腫)	5.9	奇型 3.5 筋腫 6.1 変形 21.5	4.8 6.7 14.3
頸管	3.3	5.6	3.6	0.3	13.2			
膈			4.9	0.6				
性器外		2.5	1.2					
心因	1.4	1.3	0.6	0.3				
その他	1.0	6.5						
異常なし	58.2		12.1			46.4		
男性因子	22.5			12.0	33.6	15.2	21.9	37.6
備考	18~40歳, 6ヵ月~15 年不妊	20~45歳 2~20年 不妊	男性不妊と 40歳以上は 除外	主因につ いて			東邦大学	高津中央

考 按

ある因子が不妊患者のどのくらいの頻度に関与しているか決定することは想像以上に難しい。幾つかの因子が合併していることもあり、報告者によつて判定基準もまちまちである。表1に比較的近年の主要不妊因子の頻度をまとめてみた。患者の内容、診断方法などかなり違うので、厳密な比較にはならないが、大体の傾向はうかがえると思う。10~30%を占める男性不妊を除外すれば、卵巣、卵管因子は相対的に増加するし、完全な無排卵のみを卵巣因子とすれば、その頻度は10%程度になるが、散発無排卵、黄体機能不全、過少月経まで拡大すれば、比率はずつと高くなる。また不妊期間を3年以上と長くすれば、難治性の不妊因子、たとえば卵管因子などが増えてくる。Klinkの図式によれば、不妊の原因の50%は女性側にあり、35%が男性因子であり、残り15%が原因不明であつたという。

不妊患者における子宮X線像の分類については一定した基準はない。報告者によつてほとんどまちまちである(表2)。更級によれば、撮影の条件によつて著しく変化し、注入直後では正常像が多いのに対して、5~10分おくと、欠損像が増えてくるという。子宮腔そのものが完全な中空の器官ではなくて、potentially slit-like spaceと表現されるように前後壁が自然の状態では密着しており、造影剤の注入によつてひらかれるため、注入から時間が経過することにより影像が変化することは十

分に考えられる。さらに造影剤の注入量、注入圧によつても変形するので、弛緩像、發育不全、筋腫の診断には術者の主観が大きく影響する。弓状子宮、双角単頸子宮でも、どこに分類の一線をひくか厳密には決め難いであろう。

しかし今回の両病院における調査では判定を同一人がしているので、診断基準には差がなく、患者の内容による違いを明らかにしうるものと思う。表2に示したように、正常子宮像は高津群に多く、辺縁微細不正、アトニー像などの変化は大学群に高率であつた。奇型、筋腫、發育不全、脈管像などは余り差はない。

卵管所見については報告も多いので、年代による比率の変化をかなり推測できよう(表3)。通過性の判定については報告者による個人差はさほどないように思われ、比較的古い江口の報告の卵管因子46%が近年著しく減少していることが明らかである。病院の性格による卵管不妊の頻度の差も五十嵐によつて経験され、ほぼ同年代の国立病院と大学クリニックにおける卵管閉塞率が33.4%に対し41.6%であつたという。不妊期間の長い患者が、専門クリニックを有する大学病院に集中し、なかに難治性の卵管不妊が比較的高率にふくまれていることは十分に予想されるところである。しかし一般の市中病院には年間数例の卵管閉塞しか見出されないという事実は注目すべきことであろう。淋病、結核などの炎症性疾患の減少は不妊原因の頻度にも変化を来し、卵巣因子のよ

表 2 子宮卵管造影所見 (1)

報告者	新野		更級		百瀬	
	1962		1965		1973	
発表年度	1962		1965		1973	
例数	原発 151	続発 42	注入直後 218	注入後10分 325	大学 511	高津 105
両側通過	36.4%	54.8			59.5	77.2
一側通過	15.9	23.8				
両側閉塞	46.7	21.4			19.2	7.7
子宮						
萎縮	7.1	5.6	1.8	1.8		
脈管	7.8	19.5			2.4	2.9
不正	19.9	13.9	2.3	1.5	4.5	1.9
位置異常	25.6	30.6				
アトニー	5	2.8	4.6	4.0	21.5	14.3
奇形	5.7	11.1	6.4	1.8	6.1	6.7
欠損			5.0	48.0		
正常			86.2	44.6	41.9	53.3
發育不全					19.2	16.2
筋腫					3.5	4.8

表 3 子宮卵管造影所見 (2)

報告者	Johansson	Möbius	Zichel	江口	森島	五十嵐 (1)	(2)	藤原	岡村	杉本	楠田	
発表年度	1957	1959	1967	1959	1959	1961	1961	1962	1965	1967	1969	
例数	371	2105	434	1986	465	75	142	229	305	431	原発435	続発257
両側通過		52%		44.8%	40.5%	50.7%	52.1%	66.3%	56.7%	65.4%	67.4%	63.8%
一側通過		20.3	25.3%	9.4	21.5	15.9	6.3	10.1	20.7	17.8	11.5	17.5
両側閉塞	24%	27.7	25.6	45.9	38.0	33.4	41.6	23.6	14.1	16.8	21.1	21.4

うな機能的なもの、子宮不妊のような形態的なものが相対的に重要性をもつようになることが考えられる。

結 論

大学不妊クリニックと地区のセンター病院的な外来で検査をうけた不妊患者における各因子の割合を比較すると、子宮の変化は大学でやや多く、10~20%と推定され、卵管因子は大学の20%が圧倒的に多く、逆に、卵巣因子は大学で10%、精液因子も20%で比較的少ない。不妊の原因は多様であり、治りやすいもの、治しにくいものと程度もいろいろである。

地区センター病院の外来としては、腔分泌物検査、BBT、子宮卵管造影法、精液検査などの一般検査により不妊患者をスクリーニングし、近年開発された排卵剤やホルモンを中心に、機能性不妊の治療に努力すべきであり、卵管閉塞、無精子症や高度の卵巣機能不全などは、さらに詳細な検査を可能とする大学専門クリニックに集めるのが得策と考える。

(本稿の要旨は昭和48年10月、第18回日本不妊学会総会一名古屋で発表した。林基之教授のご指導を感謝する)。

文 献

- 1) Johansson, C. J.: Clinical studies on sterile couples. Acta Obstet. Gynec. Scand. 36, Suppl. 5, 1957.
- 2) Klink, R.: Die systematische Durchuntersuchung des kinderlosen Ehepaars. Gynäkologe, 3, 101, 1971.
- 3) Leitsmann, H. et al.: Behandlungsergebnisse der kinderlosen Ehepaare. Zbl. Gynäk. 94, 990, 1972.
- 4) Möbius, W.: Neuere Erfahrungen bei der Durchführung der HSG. Zbl. Gynäk. 81, 1537, 1959.
- 5) 江口: 卵管閉塞の臨床病理, 日不妊誌, 4, 231, 1951,
- 6) 藤原ほか: 不妊患者の統計, 日不妊誌, 7, 213, 1962.

- 7) 林, 百瀬ほか: 不妊症の予後, 産と婦, 24, 947, 1957.
- 8) 五十嵐ほか: 群大不妊外来の検査成績, 日不妊誌, 6, 92, 1961.
- 9) 五十嵐: 国立相模原病院における不妊症, 日不妊誌, 6, 162, 1961.
- 10) 郭: 不妊患者の子宮X線像, 日不妊誌, 14, 84, 1969.
- 11) 楠田ほか: 不妊の統計, 日不妊誌, 14, 95, 1969.
- 12) 百瀬ほか: 不妊症, 臨婦産, 27, 906, 1973.
- 13) 森島: HSG 所見, 日不妊誌, 4, 125, 1959.
- 14) 新野: 不妊症の統計, 日不妊誌, 7, 241, 1962.
- 15) 西村, 杉本ほか: 不妊統計, 日不妊誌, 12, 27, 1967.
- 16) 岡村ほか: 不妊外来統計, 日不妊誌, 10, 196, 1965.
- 17) 更級: 子宮卵管像の分析, 日不妊誌, 10, 72, 1965.

Statistical study on the sterility at a middle-sized hospital—Comparison with sterility clinic of university

**K. Momose, Y. Hirashiki, G. Ohmura  
and L. Tanaka**

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

There are many differences in the incidence of

infertile couples and frequency of each factor, probably due to the scale of the hospital and studied period. We have compared the data at Toho university hospital which has special sterility clinic with those of Takatsu hospital near the suburbs of Tokyo.

1. The frequency of sterile women at Toho university was 18%, but at the middle-sized hospital 2%.

2. The mean age of the patients was 29 years old and no difference was found between both hospitals.

3. The infertile period was longer at Toho than Takatsu.

4. Slightly much abnormal hystero-grams were found at Toho.

5. The incidence of the disturbed tubal patency was 19.2% at Toho, and 7.7% at Takatsu.

6. The ovarian factor was 10% at Toho, and 20% at Takatsu.

7. The male factor was 22% at Toho, and 37% at Takatsu.

8. It was suggested that there were more organic sterile factors at university clinic, and at usual general hospital functional sterility were prevalent.

## STUDIES ON STORAGE OF HUMAN SEMEN BY USING "PROGRAM FREEZER" \*#

Bai-Kwann TU, Yukio NAKAMURA, Toshihumi KOBAYASHI  
and Rihachi IIZUKA

Department of Obstetrics and Gynecology School of Medicine  
Keio University

**Abstracts:** A number of reports on the freeze preservation of human spermatozoa have been published in the last two decades. However, more detailed research in this field with the use of equipment for controlled rates of cooling is lacking. By using "Program Freezer", experiments of the present report were conducted to find out the optimal freezing technique on the preservation of human semen. And the following results emerged:

1) The human spermatozoa sustained great loss of motility between the temperature range  $5^{\circ}$  to  $-20^{\circ}\text{C}$ . Over this specific range of temperature, for minimizing the damage on spermatozoa and increasing the efficiency of preservation demonstrated the necessity of accurately controlling the rate of cooling during processing.

2) Slow freezing gave better results than did rapid freezing between room temperature and  $5^{\circ}\text{C}$ . This suggested that human spermatozoa were susceptible to temperature shock due to rapid cooling above freezing point.

3) Controlling the rate of cooling at  $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$  over the range  $5^{\circ}\text{C}$  to  $-15^{\circ}\text{C}$  and at  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  between  $-15^{\circ}\text{C}$  and  $-30^{\circ}\text{C}$ , permitted the best recovery of viable spermatozoa.

4) The survival of spermatozoa and their post-thaw motility as performed with step-wise freezing method, i.e. cooling at rate of  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$  between room temperature and  $5^{\circ}\text{C}$ ,  $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$  between  $5^{\circ}\text{C}$  and  $-15^{\circ}\text{C}$ ,  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  between  $-15^{\circ}\text{C}$  and  $-79^{\circ}\text{C}$ , were proved superior to that of rapid and slow freezing technics.

The history and development of semen freeze preservation have been amply reviewed<sup>1)</sup>. The observation that addition of glycerol increases the survival of mammalian spermatozoa after freezing (Polge, Smith & Parkes, 1949)<sup>2)</sup> is an important advance.

Since 1953, when Bunge and Sherman first reported conceptions from frozen-stored human semen, several reports<sup>3-9)</sup> pertaining to improvement of freeze-thaw procedures for human semen have been described. At the

present time, however, with respect to the use of frozen preserved semen in human recipients, success has been satisfactory but hardly outstanding. On the contrary, the freezing preservation technic is applied with enormous success in the control of bovine fertility.

With the development of cryogenic equipment in our laboratory to control accurately the rate of cooling over specific temperature ranges, we are able to examine critically the quality of preserved semen. And the purpose of this paper is to elucidate the effects of cooling, at various rate, on motility of human spermatozoa between room temperature and  $-79^{\circ}\text{C}$ , using Program Freezer (PF-22)\*.

\* The summary of this report was presented at the 18th Annual meeting of The Japanese Fertility and Sterility Society, Nagoya, Oct. 26, 1973.

# Supported by Scientific Research Fund of Education Ministry, Grants 757192.

\* EBARA Installations Co., LTD, Tokyo, Japan.

Base on this, we try to find out optimal freezing technic on the preservation of human spermatozoa.

### Material and Methods

1. Collection of semen specimens: Semen specimens were obtained from healthy donors. Only those which had 3 ml. or more in volume, 60 % or more in sperm motility, and  $60 \times 10^6/\text{ml}$  or more in sperm count were used for this experiment.

2. Preparation of protective medium: The protective medium prepared in this laboratory is KS-medium. The KS-medium consists of (1) egg yolk, 20 % by volume; (2) glycerol, 14 % by volume; (3) a mixture of 5 % glucose aqueous solution and 2.9 % sodium citrate aqueous solution in proportion of 2 to 3 (66 %). To each milliliter of the final mixture there were added 1mg of erythromycin and 20mg of glycine. The medium was then heated for 30 minutes at  $56^\circ\text{C}$ , adjusted to pH 7.4, and stored in sealed amber glass ampoules in refrigerator.

3. Freezing and freezing apparatus: After a semen specimens had been allowed to liquefy at room temperature, a part (0.2 ml) was mixed in a 1:1 ratio with KS-medium. The mixture was placed in small glass tube, and after 10 to 15 minutes of equilibration period these tubes were cooled in the Program Freezer. One of these 0.2 ml sample was utilized as a control for monitoring temperature with a temperature recorder connecting with thermocouple. The thermocouple was put in this control sample. In a series of preliminary experiments which were conducted to evaluate a critical range of temperature during freezing,  $1^\circ\text{C}/\text{min}$  and  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  freezing rate were taken. In the first procedure of experiments, the cooling schedule was following: at various rate of cooling set as  $0.5^\circ\text{C}/\text{min}$ ,  $1^\circ\text{C}/\text{min}$ ,  $3^\circ\text{C}/\text{min}$ ,  $6^\circ\text{C}/\text{min}$ ,  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  and  $20^\circ\text{C}/\text{min}$  on the program chart, the semen samples were frozen at specific temperature ranges, i.e. between room temperature and  $5^\circ\text{C}$ ,  $5^\circ\text{C}$  and  $-15^\circ\text{C}$ , as well as  $-15^\circ\text{C}$  and  $-30^\circ\text{C}$ . The second procedure was to cool the semen samples to  $-79^\circ\text{C}$  with various freezing methods. Immediately after the temperature of the

samples reached  $-79^\circ\text{C}$ , the tubes were transferred to a canister in a refrigerator, stored at  $-79^\circ\text{C}$  for over 2 days.

Program Freezer, as shown in Fig. 1, consists of three parts, i.e. freezing chamber, liquid nitrogen bombe and control chamber.

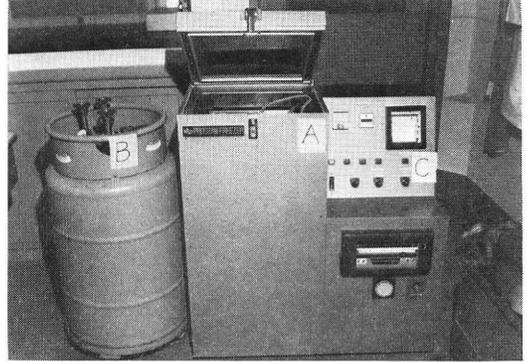


Fig. 1. Program Freezer. A, Freezing chamber; B, Liquid nitrogen bombe; C, Control chamber.

Between  $+250^\circ\text{C}$  and  $-150^\circ\text{C}$ , according to the cooling curve set on the program chart, temperature of freezing chamber is regulated automatically by control chamber via heater and liquid nitrogen.

4. Thawing: The semen specimens were thawed in air at room temperature. Matheson, Carlborg and Gemezell<sup>10)</sup> reported a temperature of  $20^\circ\text{C}$  was reached in 12 to 14 minutes. In this experiment, around 30 minutes after thawing the samples were observed for motility.

5. Analysis of semen: Before freezing and after thawing at determined thermal point, motility of spermatozoa was observed at direct microscopy. Comparison was made to the value before freezing as a measure of motility recovery rate and the assessment of live-dead was made by eosin permeability test described by Eliasson<sup>11)</sup>.

### Results

A profile of damage from cooling to  $-79^\circ\text{C}$  is shown in Fig. 2. It was discovered that a large and significant loss of motility of spermatozoa seemed to begin around freezing point, and reach the maximum when the temperature of the sample was lowed to around  $-20^\circ\text{C}$ . Forty to fifty per cent of

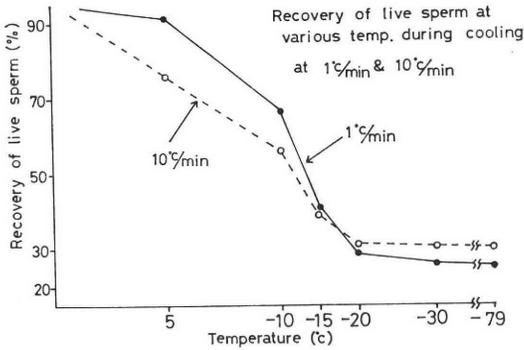


Fig. 2. Recovery of live sperm at various temperature during cooling at 1°C/min and 10°C/min.

the spermatozoa of both rapidly and slowly cooled samples were damaged by cooling from 5°C to -20°C. There seemed to be no further decrease in sperm survival when the temperature was lowered below -30°C. Thus, these data suggest that the temperature range 5°C to -20°C is critical to both slowly

and rapidly cooled human semen.

The results of the experiments conducted to investigate the effect of freezing rate on survival and motility of spermatozoa during cooling to various ranges of temperature is shown in Table 1. In which, the semen motility recovery rate was calculated according to the following formula :

$$\frac{\% \text{ motility after thawing}}{\% \text{ motility before freezing}} \times 100 \%$$

and the survival rate of spermatozoa as measured with supravital stain described by Eliasson is defined as following :

$$\frac{\% \text{ living cells after thawing}}{\% \text{ living cells before freezing}} \times 100 \%$$

The survival rate and motility recovery rate of frozen and thawed samples plotted against cooling rates in three different temperature ranges: room temperature to 5°C, 5°C to -15°C, and -15°C to -30°C, are shown in Fig. 3, 4, 5, respectively. In these figures, solid line represents motility recovery rate,

Table 1. Effect of freezing rate on survival and motility of spermatozoa during cooling to various ranges of temperature

Cooling Rate	0.5°C/min	1°C/min	3°C/min	6°C/min	10°C/min	20°C/min
Between room temp. & +5°C						
Survival Rate (%)	89.6	95.6	85.2	79.4	72.4	65.9
Motility Recovery Rate (%)	90.5	94.0	85.0	78.1	71.6	65.1
Between +5°C & -15°C ##						
Survival Rate (%)	30.5	37.8	51.2	70.4	65.1	33.5
Motility Recovery Rate (%)	29.3	34.2	48.1	64.3	63.3	30.3
Between -15°C & -30°C ††						
Survival Rate (%)	30.8	35.1	42.6	47.5	54.3	35.0
Motility Recovery Rate (%)	28.7	34.0	41.2	45.6	52.9	36.3
Between -30°C & -79°C (10°C/min from R.T. to -30°C)						
Survival Rate (%)	28.0				30.5	30.0
Motility Recovery Rate (%)	25.6				28.0	27.6

## between room temp. and 5°C, freezing rate was 1°C/min.

†† freezing rate was 1°C/min from room temp. to 5°C, and 6°C/min from 5°C to -15°C

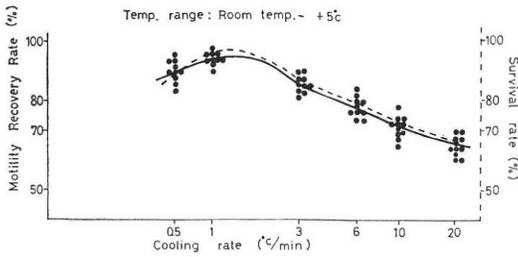


Fig. 3. Motility recovery rate and survival rate of human sperm during various cooling rate between room temp. & 5°C.

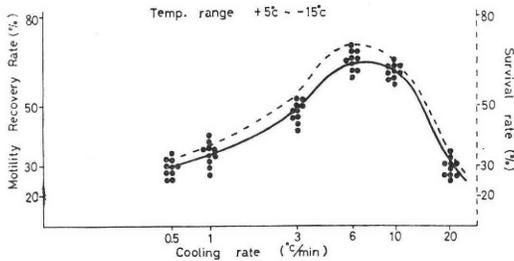


Fig. 4. Motility recovery rate and survival rate of human sperm during various cooling rate between 5°C & -15°C.

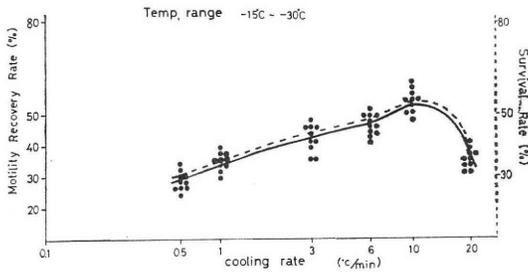


Fig. 5. Motility recovery rate and survival rate of human sperm during various cooling rate between -15°C & -30°C.

and dotted line is survival rate. Each point stands for the individual value of motility recovery rate. Assessment of the survival and the motility recovery of spermatozoa did not reveal any significant difference, although the former was slightly higher than the latter.

The best recovery of motility occurred when semen was cooled at rates from 0.5° to 1°C per minute between room temperature and 5°C. Within the range from 5°C to -30°C, cooling at the rate of 6° to 10°C per minute yielded the best result. Where co-

Table 2. Effect of various freezing technic on survival and motility recovery of human spermatozoa

freezing technique	survival rate (%) mean ± S.D.	motility recovery rate (%) mean ± S.D.
1°C/min	25.1 ± 9.21	23.9 ± 9.23
DIRECT	34.0 ± 11.36	32.2 ± 11.92
10°C/min	37.3 ± 8.67	35.8 ± 9.64
STEP-WISE	53.0 ± 10.56	51.6 ± 11.78

oling below -30°C, survival was approximately independent of cooling rate.

As may be seen in Table 2, cooling by step-wise technic, employed as follows: 1°C/min between room temperature and 5°C, 6°C/min between 5°C and -15°C, and 10°C/min between -15°C and -79°C, was found significantly better than the other methods. (P<0.01). The samples frozen by the direct method, i.e. placed directly in the liquid-nitrogen refrigerator at -79°C for over 2 days, produced a mean motility recovery rate 32.2%. Whereas by 1°C/min and 10°C/min freezing procedure, it was 23.9% and 35.8%, respectively.

### Discussion

During freezing and thawing, human semen is exposed to alternation in temperature, water content, salt of water, and solute concentration. The first event to occur is ice formation in the extracellular medium. The water within cells, however, remains initially supercooled and because of its higher vapor pressure, begins to flow out of the cell and freeze extracellularly. Bacquerel (1938) showed that living cells are specially vulnerable to damage in the zone around freezing point. This he ascribed to separation of water and electrolytes from colloidal particles at such temperature, due to formation of ice crystals. A more modern theory is that the cell death occurs from denaturation of the lipoprotein layer which coats the cells, as a result of increased salt concentration during freezing and thawing (Farant, 1965). Luyet (1940) reported that crystallization formed at the range of temperature between 0° and -30°C. Sawada<sup>12)</sup> described -15°C as a "critical" temperature

at which human spermatozoa sustain great loss motility when held at this temperature for 10 minutes. Behrman, Ackerman, and Sawada<sup>13)</sup> illustrated that significant increase in death of spermatozoa seemed to begin at freezing point, to rise progressively, and finally to reach the maximum when lowered to around  $-15^{\circ}\text{C}$ . The data in Fig. 2 indicated the same phenomenon at the temperature range from  $5^{\circ}$  to  $-20^{\circ}\text{C}$ , especially between  $-10^{\circ}$  and  $-20^{\circ}\text{C}$ . Therefore, it seems justified to conclude this temperature range, which is perhaps the range of freezing and eutectic point of the sample, is very critical to the recovery of spermatozoa.

A significantly higher spermatozoa survival was recorded in samples which had been slowly, rather than rapidly, cooled to  $5^{\circ}\text{C}$  before freezing (Table 1). This observation was in agreement with the work of Sawada, Behrman, and Ackerman<sup>13)</sup>, that human spermatozoa were found to be susceptible to temperature shock due to rapid cooling above freezing point. Martin<sup>14)</sup> suggested that rapid cooling rate initiated damage to the cell membrane of bull spermatozoa. It might be expected the same condition occurred in human sperm. Although the cell damage was prevented by addition of KS-medium, the degree of protection against thermal shock by KS-medium possibly was not an all-or-none phenomenon and might be influenced by the cooling rate. KS-medium may require several minutes of contact with the sperm membrane before they can adequately prevent cold shock.

Below  $5^{\circ}\text{C}$ , viability became increasingly dependent on the cooling rate used. Six freezing rates were compared for their influence on the recovery of motile sperm between the temperature range from  $5^{\circ}\text{C}$  to  $-30^{\circ}\text{C}$ . A significantly higher percentage of motile sperm was recovered in samples frozen with two-step freezing technic, i.e.  $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$  between  $5^{\circ}$  and  $-15^{\circ}\text{C}$ ,  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  between  $-15^{\circ}$  and  $-30^{\circ}\text{C}$ , than in those frozen rapidly ( $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) and slowly ( $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ). Slow freezing of semen was recommended by Freund and Wiederman<sup>6)</sup>, whereas Ackerman, Behrman, and Sawada<sup>13)</sup> stated that medium ( $5^{\circ}$ - $7^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) freezing rate was less damaging to the spermatozoa between this thermal

range.

Mazur<sup>15)</sup> proposed two mechanisms for freezing damage. One is based on the effects of concentrated electrolytes. When a cell is frozen, a certain amount of supercooled water remains unfrozen until very low temperature are reached. This water, which can act as a solvent for cellular electrolytes, becomes quite concentrated and eventually saturated as more supercooled water freezes at low temperature. When the temperature falls sufficiently, all of the solute precipitates out, and all of water freezes. In slow freezing, since more time is available to reach the solute precipitation temperature than in fast freezing, the cells are exposed to the concentrated supercooled solutions for longer periods of time. These solutions can damage the cell by changing the pH, altering tertiary and secondary structures of complex molecules, and removing lipids from the cell membrane. The second explanation involves differences in intracellular ice formation. Faster freezing rates increase the likelihood of intracellular ice formation, but the resulting crystals are usually small, because they did not have enough time to grow. If these crystals remain small, they are often relatively harmless. Slow freezing rates minimize the chances of intracellular ice crystals, but when they do form, they are usually large, because the slower rate gives them time to grow. According to this hypothesis, therefore, the optimal rate is the rate which minimizes both the time of exposure to concentrated supercooled solution and the probability or extent of intracellular freezing.

Mazur and Schmidt (1968) demonstrated cooling velocities above  $7^{\circ}\text{C}/\text{min}$  yielded sharply lowered survivals due to intracellular freezing. However, the cells cooled below  $7^{\circ}\text{C}/\text{min}$  that were predicted to result in the withdrawal of all freezable water, were found to produce high survival. In other words, survival of the dehydrated cells is very high. If cooled by permitting time for all freezable water to leave the cell and freeze externally, thus preventing intracellular freezing, maximum protection of cells subsequently cooled rapidly to lower temperature could be expected. As mentioned before,  $-15^{\circ}\text{C}$  is very critical to the recovery of

human semen and the death of spermatozoa seemed to be less significant below this temperature. Therefore, it was postulated all the freezable water in the human sperm becomed frozen and immobile below  $-15^{\circ}\text{C}$ . For dehydration of human sperm, it ought only to be necessary to cool to about  $-15^{\circ}\text{C}$ . Thus it might be expected if human semen was cooled at rate of  $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$  between  $5^{\circ}$  and  $-15^{\circ}\text{C}$  and  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  between  $-15^{\circ}$  and  $-79^{\circ}\text{C}$ , maximal post-thaw recovery of motile spermatozoa was obtainable. The present data are consistent with this view.

In this study we employed the eosin permeability test and motility measurement as criteria for evaluating the degree of "survival expression" of spermatozoa after thawing. It must be admitted this is less than ideal. The ultimate criteria for preservation of human spermatozoa should be fertility rate. The correlation coefficient of all known methods of evaluating bull semen with conception rates is only  $0.7\%$ <sup>16)</sup>. In human semen, Pedersen and Lebech<sup>17)</sup> suggested the pround changes in the acrosome region might account for the lowered fertility rate found after freeze preservation. In order to understand structure-function relationships relative to factors in freeze-thaw survival or injury, more basic studies are in progress.

### References

- 1) Sherman, J. K.: Synopsis of the use of frozen human semen since 1964: state of the art of human semen banking. *Fertil Steril* 24 : 397, 1973.
- 2) Polge, C., Smith, A. U. and Parkes, A. S.: Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature (London)* 164 : 666, 1949.
- 3) Bregulla, K. and Boquoi, U. M.: Studies on storage of human sperm by deep freezing. *Arch. Gynaek.* 212 : 323, 1972.
- 4) Sherman, J. K.: Improved methods of preservation of human spermatozoa by freezing and freeze-drying. *Fertil Steril* 14 : 49, 1963.
- 5) Sherman, J. K.: Freezing and freeze-drying of human spermatozoa. *Fertil Steril* 5 : 357, 1954.
- 6) Freund, M. and Wiederman, J.: Controlling and recording rates of freezing and defrosting of human semen. *J Appl Physiol* 18 : 407, 1963.

- 7) Fernandez-Cano, L., Menkin, M. F., Garcia, C. and Rock, J.: Refrigerant preservation of human spermatozoa: I. Factors influencing recovery in euspermic semen: clinical applications. *Fertil Steril* 15 : 390, 1964.
- 8) Sherman, J. K.: Research on frozen human semen: past, present and future. *Fertil Steril* 15 : 485, 1964.
- 9) Perloff, W. H., Steinberger, E. and Sherman, J. K.: Conception with human spermatozoa frozen by nitrogen vapor technic. *Fertil Steril* 15 : 501, 1964.
- 10) Matheson, G. W., Carlborg, L. and Gemzell, C.: Frozen human semen for artificial insemination. *Amer J Obstet Gynec* 104 : 495, 1969.
- 11) Eliasson, R. and Treichl, L.: Supravital staining of human spermatozoa. *Fertil Steril* 22 : 134, 1971.
- 12) Sawada, Y.: A study on freezing-preservation of human semen. *Jap J Fertil Steril* 4 : 1, 1959.
- 13) Sawada, Y., Ackerman, D. and Behrman, S. J.: Motility and respiration of human spermatozoa after cooling to various low temperatures. *Fertil Steril* 18 : 775, 1967.
- 14) Martin, I.: Effects of rate of cooling to  $5^{\circ}\text{C}$ , storage at  $5^{\circ}\text{C}$ , glycerol concentration, sodium chloride, fructose, and glycine on the revival of deep-frozen bull spermatozoa. *J. Agric. Sci.* 64 : 425, 1965.
- 15) Mazur, P.: Causes of injury in frozen and thawed cells. *Fed. Proc.* 24 : 1755, 1965.
- 16) Trelford, J. D. and Mueller, F.: Observations and studies on the storage of human sperm. *Canad. Med. Ass. J.* 100 : 62, 1969.
- 17) Pedersen, H. and Lebech, P. E.: Ultrastructural changes in the human spermatozoa after freezing for artificial insemination. *Fertil Steril* 22 : 125, 1971.

### Program Freezer によるヒト精子凍結保存に関する研究

塗 百寛, 中村幸雄  
小林俊文, 飯塚理八

慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室

ヒト凍結保存精子による妊娠例は、われわれの家族計画相談所では、すでに 150 例を突破しているが、新鮮精子による人工授精妊娠例に比し、妊娠率は、きわめて低値である。

今日われわれは、液体窒素とヒーターを用い、凍結速度を一枚の program chart で自由に自動的に control 可能な Program Freezer を用いて、凍結速度のヒト精子ソセイ率、運動回復率に及ぼす影響を検討し、次の結

論を得た.

① 室温から  $-79^{\circ}\text{C}$  を  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  の二種類の凍結速度で凍結すると,  $5^{\circ}\sim-20^{\circ}\text{C}$  の温度域で精子ソセイ率, 運動回復率の低下が著しく, この温度域が精子にとって一番有害な温度域と思われる.

② 室温より  $+5^{\circ}\text{C}$  の温度域では, 温度衝撃を避けるため  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$  のゆつくりとした凍結速度で凍結した場合最大のソセイ率, 運動回復率を得た.

③  $+5^{\circ}\sim-15^{\circ}\text{C}$  の温度域では,  $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$  のやや急速なる凍結速度で最大のソセイ率, 運動回復率を得た.

④  $-15^{\circ}\sim-30^{\circ}\text{C}$  の温度域では,  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  の凍結

速度が最良であつた.

⑤  $-30^{\circ}\sim-79^{\circ}\text{C}$  の温度域では, ソセイ率, 運動回復率は, 凍結速度に無関係であつた.

⑥ 以上の結果より, われわれの考える最良のヒト精子凍結法は, 室温より  $5^{\circ}\text{C}$  迄は  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$  のゆつくりとした凍結速度で,  $5^{\circ}\sim-15^{\circ}\text{C}$  は  $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,  $-15^{\circ}\sim-79^{\circ}\text{C}$  は  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$  といった step-wise な凍結法である.

本論文は昭和 48 年 10 月, 日本不妊学会で報告した. 又本研究は文部省科学研究費(昭和47年度)の援助の下に行なわれたものである.

## 農村都市における不妊症の実態

Clinical Observation on the Sterility in our Clinic at the Rural City

飯山赤十字病院産婦人科 (外山睦雄院長)  
東邦大学医学部産婦人科学教室 (主任: 林基之教授)

高 田 久  
Hisashi TAKADA

Dep. Obst. Gynec, Iiyama Red Cross Hospital (Director: M. Toyama)  
Dep. Obst. Gynec., Toho Univ., School of Med.  
(Director: Prof. M. Hayashi)

不妊統計に関する報告は多数あり、施設の大小、地域、報告者によりその成績に差が見られるが、著者は1972年7月より1973年9月迄の間に、人口3万程度の農村都市における不妊症の実態について次の成績を得た。

1) 不妊患者総数は81例で全外来患者の6.8%を占め、原発不妊は42例51.9%、続発不妊は39例48.1%である。続発不妊の先行妊娠では、分娩51.3%、流産18.4%、子宮外妊娠7.7%、人工妊娠中絶2.6%の順であった。

2) 不妊の因子別分類では、子宮因子32.6%、卵管因子26.5%、卵巣内分泌因子37%、男性因子13%、機能性8.7%、その他2.2%である。

3) 当科不妊外来における妊娠率は81例中24例で29.6%となり、続発不妊例において妊娠率が高く、妊娠例の不妊期間は原発不妊群で全例3年以内、続発不妊群では3年以上が9例と多くなっている。妊娠例の因子別検討では、子宮因子32%、卵巣因子28%、機能性20%、卵管因子12%、男性因子8%の順であった。

4) 妊娠例の主な治療内容は、Metharmon F, Ovasmon, B.B.T. による観察7例、Clomid, 全面搔爬術, 通気通水等が6例、Kaufmann, 卵胞・黄体ホルモン療法が5例、P.M.S (H.M.G), H.C.G 療法が3例、AIH 2例、双角子宮手術2例、男子不妊治療1例となっている。

### I 緒 言

近年挙児希望患者は僻地においても増加傾向を示す一方、不妊の検査、治療法もめざましい進歩をとげ、その精密度を増している。従つて患者の通院頻度、通院期間も増加し、また十分な設備を有する施設への通院となると、農村婦人は時間的余裕がなくその治療に当つては様々な問題点を生ずるものである。その結果僻地における小病院でもある程度の不妊治療の必要性が生ずるわけである。今回約1年間における当地方の不妊の実態について少数例ながら経験したので報告する。

### II 研究対象, 研究方法

1972年7月から1973年9月における不妊患者数81例を

対象とした。原発・続発性不妊の比率、続発不妊例の先行妊娠の分類、不妊期間の分類、初診時年齢、有児数、不妊の因子別分類、結婚年齢との関係、初潮年齢、月経との関係、月経困難症の有無、既往手術との関係、子宮卵管造影所見、精液検査、妊娠率、妊娠例の不妊期間別分類、妊娠例の因子別検討、妊娠例の主な治療内容、等について検討してみた。

### III 成 績

1972年7月から1973年9月までの不妊患者は81例で、全外来患者の6.8%にあたる。原発不妊は42例51.9%、続発不妊は39例48.1%である。不妊と先行妊娠との関係(表1)では、分娩例51.3%と約半数を占め、次いで流産例が38.4%、以下子宮外妊娠7.7%、人工妊娠中絶2.6

表 1 不妊と先行妊娠(分娩, 流産, 中絶)との関係

先行妊娠	例数
1 回 分娩	17 (43.6%)
2 回 分娩	2 ( 5.1%)
3 回 分娩	1 ( 2.6%)
人工中絶 1回	1 ( 2.6%)
人工中絶 2回	0 ( 0 )
流産 1回	10 (25.6%)
2回	3 ( 7.7%)
3回	2 ( 5.1%)
子宮外妊娠	3 ( 7.7%)
計	39 (100%)

表 2 不妊期間の分類

不妊期間	原発不妊	続発不妊	計
1年	11(26.2%)	8(20.5%)	19(23.5%)
2	12(28.6%)	10(25.6%)	22(27.2%)
3	5(11.9%)	7(17.9%)	12(14.8%)
4	1( 2.4%)	6(15.4%)	7( 8.6%)
5	4( 9.5%)	5(12.8%)	9(11.1%)
6	1( 2.4%)	2( 5.1%)	3( 3.7%)
7	2( 4.8%)	0	2( 2.5%)
8	2( 4.8%)	0	2( 2.5%)
9	1( 2.4%)	0	1( 1.2%)
10	1( 2.4%)	1( 2.6%)	2( 2.5%)
11	1( 2.4%)	0	1( 1.2%)
15	1( 2.4%)	0	1( 1.2%)
計	42	39	81

Subfertility: 41例 (50.6%)

Sterility : 40例 (49.4%)

%の順となつている。

不妊期間の分類(表2), では2年以内41例(50.6%), 3年以上40例(49.4%)となり, 原発不妊では前者が54.8%, 後者45.2%, 続発不妊群では, 前者が46.1%, 後者53.9%となつている。7年以上の不妊例は原発不妊群に8例, 続発不妊群に1例となり, 原発不妊に多くなつている。

初診時年齢および有児数(表3)。原発不妊では25歳~29歳に peak があり, 続発不妊では30歳から34歳に peak がある。有児数については, 無しが64.2%, 1人33.3%, 2人2.5%となつている。

不妊の因子別分類(表4)。子宮因子32.6%, 卵管因子6.5%, 卵巣内分泌因子37%, 男性因子13%, 機能的8.7%, その他2.2%となつている。原発および続発不妊

表 3 不妊症の初診時年齢

年 齢	原発不妊	続発不妊
20~24歳	7 (16.7%)	5 (12.8%)
25~29歳	19 (45.2%)	15 (38.5%)
30~34歳	11 (26.2%)	16 (41.0%)
35~39歳	5 (11.9%)	3 ( 7.7%)
40歳以上	0	0
計	42	39

不妊症における有児数

児 数	例 数	%
0	52	64.2
1 人	27	33.3
2 人	2	2.5
計	81例	100%

表 4 原発及び続発性不妊の因子別分類

因 子	原発性不妊	続発性不妊	計
子宮因子	17	13	30(32.6%)
卵管因子	2	4	6( 6.5%)
間脳・下垂体 卵巣因子	18	16	34(37.0%)
男性因子	10	2	12(13.0%)
機 能 性	2	6	8( 8.7%)
そ の 他	0	2	2( 2.2%)
計	49	43	92

の間では, 当然の事ながら 原発性において男性因子が多くなり, 続発不妊では機能的が比較的多くなつている。

結婚年齢(表5)では, 原発性不妊と続発性不妊の間には有意の差は認められなかつた。初潮年齢(表6)は, 原発不妊例に15歳以後例が12例と比較的多くなつている。

不妊と月経歴および月経困難症との関係(表7)。問診および基礎体温表で得られた例につき検討すると, 順調が45例(61.6%), 不順28例38.4%となり, 妊娠との関係では, 順調例に妊娠率がやや高いようである。月経困難症は, 続発不妊37.5%に比べ原発不妊は51.3%と多い。

既往手術との関係(表8)。手術例は27例で33.3%を占め, 原発不妊で17例(63.0%), 続発不妊10例(37.0%)と原発不妊に多くなつている。手術の種類は, 虫垂切除術が59.3%と最も多く, 以下子宮外妊娠, 卵巣腫瘍摘

表 5 不妊と結婚年齢 計 76例

結婚年齢	原発不妊	続発不妊
18歳	0	1
20	1	4
21	3	3
22	4	3
23	7	4
24	11	6
25	4	6
26	1	2
27	3	3
28	1	1
29	0	1
30	3	2
31	0	0
32	0	0
33	1	0
34	0	0
37	1	0

表 6 不妊と初潮年齢 計 67例

年 齢	原発不妊	続発不妊
11歳	1	0
12	5	7
13	8	9
14	11	12
15	10	2
16	1	0
17	1	0
18	0	0
19	0	0

表 7 不妊と月経との関係 計 73例

月 経	不 妊 例	治療後妊娠例
順	33 (60.0%)	12 (66.7%)
不 順	22 (40.0%)	6 (33.3%)

不妊と月経困難症 計 71例

月経困難症	原発不妊	続発不妊
(-)	19 (48.7%)	20 (62.5%)
(±)	5 (12.8%)	7 (21.9%)
(+)	10 (25.7%)	4 (12.5%)
(++)	5 (12.8%)	1 ( 3.1%)
計	39 ( 100%)	32 ( 100%)

表 8 不妊症における既往手術

合計：27例 27/81=33.3%  
 原発不妊：17例 (63.0%)  
 続発不妊：10例 (37.0%)

手 術 名	例 数	%
虫垂切除術	16	59.3
子宮外妊娠 Strassmann 手術	3	11.1
卵巣囊腫摘出	2	7.4
筋腫核出術	3	11.1
後屈手術	2	7.4
	1	3.7

表 9 不妊症における子宮卵管造影所見

所 見	原発不妊	続発不妊	所 見	原発不妊	続発不妊
子宮發育不全	4	5	位置異常	後屈 1	5
弓状子宮	1	1	前屈	7	8
子宮奇型	1	1	両側卵管閉塞	2	1
双角子宮	1	1	片側卵管閉塞	0	4
双角双頸	0	0	卵管溜水腫	1	2
子宮辺縁不整像	1	5	癒着像	2	6
ポリープ状陰影欠損	5	2	附属器腫瘍	0	0
子宮腔癒着(欠損)	2	1	正常像	7	7
子宮筋腫	2	0			
子宮弛緩像	3	5			

表 10 精液検査

Azospermia	3例 (12.0%)
Oligozospermia	9例 (36.0%)
Normal	13例 (52.0%)

不妊症における男性因子  
 12/81=14.8%

出、筋腫核出、双角子宮手術、後屈の手術の順となつて  
 いる。

不妊症例における子宮卵管造影所見(表9). 64例中  
 正常例は14例で、残りは様々な異常像を呈し、強度の子  
 宮前後屈、子宮發育不全、子宮弛緩像、癒着像、ポリ  
 ープ状陰影欠損像、子宮辺縁不整像等が比較的多くなつ  
 ている。

精液検査(表10). 計25例でその内分けは、Azosper  
 mia 12%, Oligozospermia 36%, normal 52%となつ  
 ている。男性因子は12例で14.8%を示しているが、田舎  
 においては精液検査となると男性側の協力が必ずしも十  
 分に得られない。

妊娠率、妊娠例の不妊期間別分類、妊娠例の因子別分  
 類(表11). 妊娠率は81例中24例で29.6%となり、続発  
 不妊14例(58.3%)、原発不妊10例(41.7%)と続発不

表 11 当科における不妊症の妊娠率

81例中24例 24/81=29.6%  
 原発不妊：10例  
 続発不妊：14例  
 妊娠例の不妊期間別分類

不妊期間	原発不妊	続発不妊
1年	5	3
2	4	3
3	1	2
4	0	3
5	0	2
6	0	1

妊娠例の因子別分類

因 子	例 数
子宮因子	8 (32%)
卵管因子	3 (12%)
卵巣因子	7 (28%)
男性因子	2 (8%)
機 能 性	5 (20%)

表 12 妊娠例の主な治療内容

治 療 内 容	例 数
ク ロ ミ ッ ド	6
全 面 ソ ー ハ 術	6
通 気, 通 水	6
カウフマン, 卵 胞	5
黄 体 ホ ル モ ン	5
F S H, H C G	3
A I H	2
Strassmann 手 術	2
メサルモンF, オパスモン	7
B B T	7
男 子 不 妊 治 療	1

妊娠例でやや高くなっている。不妊期間別分類では、原発不妊が3年以内であるのに対し、続発不妊では3年以後が9例と多くなっている。妊娠例の因子別検討では、子宮因子が32%と最も高く、卵巣因子28%、機能性20%、卵管因子12%、男性因子8%となっている。妊娠例の主な治療内容(表12)、妊娠直前の周期に行われた処置について検討すると、Metharmon F, Ovasmon, BBT等によるものが7例、clomid 全面搔爬術、通気通水等が6例、Kaufmann, 卵胞・黄体ホルモン療法が5例、F.S.H, LH 療法が3例、AIH 2例、双角子宮手術2例、男子不妊症治療1例となっている。

IV 考 按

本統計の特徴としては、続発不妊が諸家の報告に比べて多くなっていることで、その理由としては、対象地域が過疎化傾向が強く若年層の人口が少ないためと考えられる。次に絶対不妊としての無排卵症、両側卵管閉塞の少ない事、続発不妊の先行妊娠における人工妊娠中絶の占める割合の小さい事、有児数については、無しか1児であり、従つて都会地におけると同様小家族の傾向が強くなっている事等があげられる。近年不妊患者の精神状態が問題となつてはいるが、農村地方においては、さらに特殊な社会的環境、大家族制、患者の無知等が伴い、いきおい精密検査や人工授精等となると十分な説明にもかかわらず治療を中断する患者が多く、農繁期を通し一年中家族の主労働力である婦人は、頻回なる通院、入院、基礎体温の測定といった事になると、不妊症の妊娠率があまり高くない事と合わせて、治療に対し消極的となり合理的な治療は必ずしも容易な事ではない。さらに近年過疎化の傾向にもかかわらず、産児制限の傾向が強くなり、人工妊娠中絶術の増加、病院施設の普及に伴い、虫垂炎を始めとする腹腔内手術の頻度も増加するものと思われ、不妊治療にあつては、ますます様相が複雑化し、難かしくなるものと思われる。中小病院としての不妊治療は、その地域の特殊性と限界を考慮し、重症例については、大学病院を中心とした十分なる設備を有する施設へ送り、その原因を確認し、再び当地にて治療にあたるといった特殊な管理の必要性を痛感した次第である。

V 結 語

- 1) 1972年7月から1973年9月までの不妊患者は81例で全外来患者の6.8%にあたる。原発不妊は42例51.9%、続発不妊は39例48.1%である。続発不妊の先行妊娠は、分娩51.3%、流産38.4%、子宮外妊娠7.7%、人工妊娠中絶2.6%の順であつた。
- 2) 不妊の因子別分類では、子宮因子32.6%、卵管因子6.5%、卵巣内分泌因子37%、男性因子13%、機能性8.7%、その他2.2%となつてはいる。女性側絶対不妊としての両側卵管閉塞や無排卵は諸家の報告に比べかなり少ない。
- 3) 当科不妊外来における妊娠率は81例中24例で29.6%となり、続発不妊例において妊娠率が高く、妊娠例の不妊期間は原発性不妊群で全例3年以内であつたのに対し、続発不妊群では3年以後が6例と多くなつてはいる。妊娠例の因子別検討では、子宮因子32%、卵巣因子28%、機能性20%、卵管因子12%、男性因子8%の順であつた。

4) 妊娠例の主な治療内容としては, Metharmon F, Ovasmon, B.B.T による観察例 7 例, clomid, 全面掻爬術, 通気, 通水等が 6 例, Kaufmann, 卵胞・黄体ホルモン療法が 5 例, PMS (HMG), HCG 療法が 3 例, AIH 2 例, 双角子宮手術 2 例, 男子不妊治療 1 例となっている。

(稿を終えるにあたり御指導, 御校閲を賜わった恩師林基之教授に深謝すると共に, 本論文の発表にあたり御指導を頂いた百瀬和夫助教授に感謝の意を表します。本論文の要旨は第18回日本不妊学会総会で発表した)。

### 文 献

- 1) 加藤俊, 他: 日本不妊会誌, 16, 362, 1971.
- 2) 三浦清巒, 他: 日本不妊会誌, 19, 357, 1971.
- 3) 金岡毅, 他: 日本不妊会誌, 18, 99, 1973.

### Clinical observation on the sterility in our clinic at the rural city

**Hisashi Takada**

Dep. Obst. Gynec. Iiyama Red Cross Hospital  
and Dep. Obst. Gynec. Toho Univ.  
School of Med.

(Director: Prof. M. Hayashi)

There were many statistics on sterility, but the results were different according to the scale of the institutions, regional differences and authors.

The author studied sterile couples in the rural city with a population of 30 thousands from July 1972 to September 1973, and following results were obtained.

1) The sterile patients were 81 cases, and this corresponded to 6.8% of total outpatients. Primary sterility was 42 cases (51.9%), and secondary sterility 39 cases (48.1%). The previous pregnancies of secondary sterility were vaginal deliveries (51.3%), spontaneous abortion (18.4%), ectopic pregnancy (7.7%), induced abortion (2.6%).

2) As factors of sterility, following results were obtained. Uterine factor was 32.6%, tubal factor 16.5%, ovarian and endocrinological factors 37%, male factor 13%, functional factor 8.7%, others 2.2%.

3) In our clinic, pregnancy rate was 29.6%, the result was better in secondary sterility than primary sterility. As to the factors of successful cases of sterility, uterine factor was 32%, ovarian factor 28%, functional 20%, tubal factor 12%, male factor 8%.

4) Main effective treatment for sterility were as follows, Metharmon F, Ovasmon, BBT were 7 cases, Clomid, D & C, and insufflation, hydro-tubation, 6 cases, PMS (HMG), HCG therapies 3 cases, Kaufmann, follicular and corpus luteum hormon, 5 cases, AIH, 2 cases Strassman's operation, 2 cases, the therapy of male sterility was 1 case.

# 着床前家兎 uterine fluid 中の albumin および blastokinin の消長について

## Ovservation of Albumin and Blastokinin in The Rabbit Uterine Fluid before Implantation

北里研究所附属病院産婦人科

白井 英一郎

Eiichiro SHIRAI

慶応義塾大学産婦人科

飯塚 理八

Rihachi IIZUKA

Department of Obstetrics & Gynecology Kitazato Institute Hospital  
Department of Obstetrics & Gynecology School of Medicine, Keio University

排卵後3日目(D<sub>3</sub>)から6日目(D<sub>6</sub>)にかけて家兎 uterine fluid 中最も大きな組成比を示す Albumin (Al) と Blastokinin (Bl) について両者の増減を比較した。discelectrophoresis で蛋白分画し densitometry curve を描いた。その面積を計測し Al と Bl を比較した。血中からの浸出性産物と思われる Al は D<sub>3</sub> から D<sub>4</sub> まで最大の組成比を示した。一方 Bl は増加率著しく D<sub>5</sub> および D<sub>6</sub> において最大の組成比を占めた。D<sub>3</sub> から D<sub>6</sub> にかけて Bl が浸出性と思われる Al に比し急激な増加率を示したことから Bl は多分家兎子宮内膜による内分泌性の産物であろうと推測された。排卵後 UF 中に出現増加し着床期に最大の組成比を占めるに至る Bl は受精卵の発育着床過程で重要な役割を演じているものと思われる。

### I. 緒言

人間において卵管より輸送された受精卵は子宮の内腔を潤す uterine fluid (以下 UF) 中で数日間浮遊したのち着床すると言われる<sup>1)</sup>。その reproductive physiology に占める役割の重要さから UF を解明すべく種々な試みがなされて来た<sup>2)3)</sup>。近年家兎 UF 中に特異的に存在する蛋白が報告され“Blastokinin”(Bl) または“Uteroglobulin”(Ut) と呼ばれ注目されている<sup>3)4)</sup>。この蛋白は排卵後2日目(D<sub>2</sub>)位より UF 中に出現し5日目(D<sub>5</sub>)から6日目(D<sub>6</sub>)にかけて増加するといわれこれに関し様々な実験が見られる<sup>3)4)</sup>。但し着床前家兎 UF に含まれる種々な蛋白の増減について詳細に検討した報告は少ない。今回家兎着床前 UF 中に含まれる Bl と Albumin(Al) との消長を観察し D<sub>3</sub> から D<sub>6</sub> までのその動態について検討したのでここに報

告する。

### II. 材料および方法

ニュージーランド系雌家兎を2週間雄より隔離後使用した。家兎は交尾により排卵が誘発される。成熟雄家兎と交尾後3日目(D<sub>3</sub>)から6日目(D<sub>6</sub>)にかけて各々3匹づつ合計12匹の雌家兎より UF を採取した。開腹手術後切除せる両側子宮を各々5ml の等張 dextrose で洗滌した。採取せる検体は3000 rpm×10分間遠心沈澱しその上澄を使用した。総蛋白量測定に Lowry の方法<sup>5)</sup> を利用した。Orstein and Davis の方法<sup>6)7)</sup> により disc electrophoresis で蛋白分画した。Amide black で染色後7% acetic acid で脱色して得た protein pattern (図2) を densitometer を使用し分析した。Al 量および Bl 量は山状曲線の底辺とその頂点によつて作られる三角形の面積から算出した(図3)。D<sub>3</sub> から D<sub>6</sub> まで

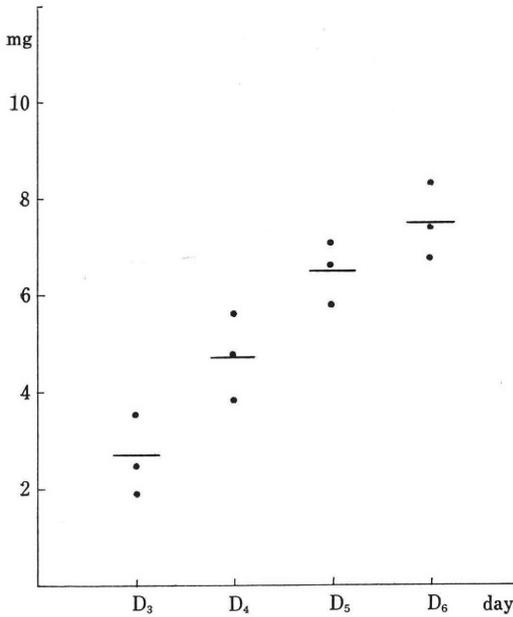


図 1 各採取日に於ける家兎 uterine fluid 中の総蛋白質量。  
横軸は排卵後 3 日目 (D<sub>3</sub>) から 6 日目 (D<sub>6</sub>) までの経日的変化を示す。グラフ中の点は各検体の総蛋白質量を横線は検体の平均値を示す。

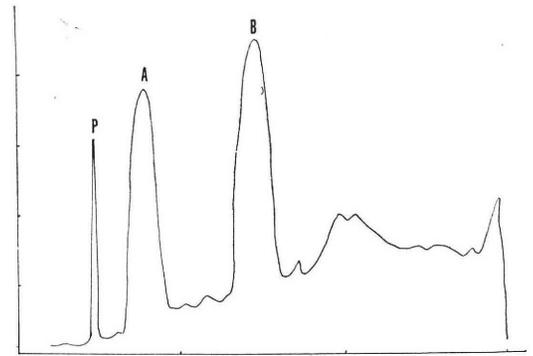


図 3 排卵後 6 日目の家兎 uterine fluid を disc electrophoresis により蛋白分画し densitometry curve を描いた。  
P: prealbumin, A: albumin, B: blastokinin

の UF 総蛋白質量および Al と Bl について経日的変化を観察した。

### III. 結 果

両側子宮より得た各採取日の総蛋白質量を図 1 に示す。D<sub>3</sub> から D<sub>6</sub> にかけて UF 総蛋白質の著しい増加が見られる。但し同一採取日においても非常な個体差がある。経日スペクトルの両端である D<sub>3</sub> と D<sub>6</sub> の protein pattern (図 2) および densitometry curve (図 3) を対称的に示すが D<sub>3</sub> と D<sub>6</sub> を比較し protein pattern が非常に異つている。UF 中の Al は D<sub>3</sub> から D<sub>6</sub> にかけての著しい総蛋白質量の増加と共に著しい増加が見られ  $Al_3 \ll Al_4 \ll Al_5 \ll Al_6$ —①なる結果が得られた(表 1)。誤差を少なくするため同じ protein pattern 中の Al と Bl を比較し各検体とも  $Al_3 \gg Bl_3, Al_4 \gg Bl_4, Al_5 < Bl_5, Al_6 \ll Bl_6$ —②なる結果を得た(表 1)。また同一 protein pattern 中の Bl/Al の各採取日における平均値を比較し  $Bl_3/Al_3 \ll Bl_4/Al_4 < 1 < Bl_5/Al_5 < Bl_6/Al_6$ —③の如く D<sub>3</sub> から D<sub>6</sub> にかけて Bl の著しい増加が認められた。①②および③の結果から  $Bl_3 \ll Bl_4 \ll Bl_5 \ll Bl_6$ —④なる結果を得た。

### IV. 考 察

最初 Al と Bl の値をそれぞれ別に計測する予定であつたが disc electrophoresis の column 毎に回収率が非常に異なることが判明したのでこれを中止した。

代つて単位のない Al 値および Bl 値を算出し出来るだけ同一条件下でその消長を比較した。すなわち Bl は同じ protein pattern 内の Al と比べ増加率を観察した。D<sub>3</sub> から D<sub>6</sub> までの Al 値の比較は検体を 3 群に分けてそれぞれ同じ条件下で操作しそのグループ内でのみ

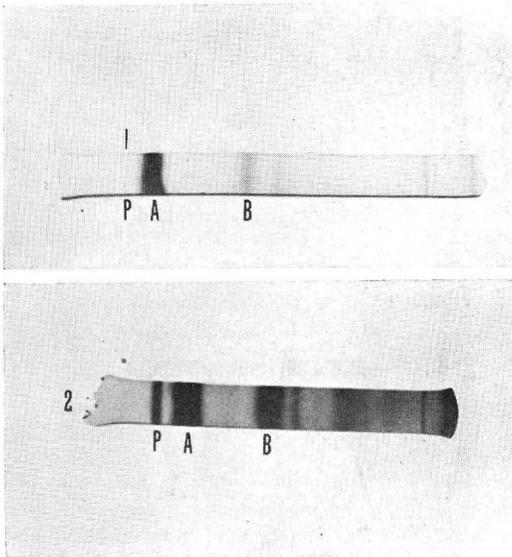


図 2 家兎 uterine fluid の disc electrophoresis による protein pattern  
一定容量 (1.5ml) の検体を分析し経日的増減を同時に観察した。1. 排卵後 3 日目の protein pattern. 2. 6 日目の protein pattern. P: prealbumin, A: albumin, B: blastokinin

表 1 各蛋白の計測値

densitometry curve から各蛋白を算出し albumin (Al) は単位のない計測値をそのまま記載した。回収率の違いによる誤差を出来るだけ小さくするため blastokinin は同じ検体の Al 値に対する比を求めその消長を観察した。

Al: albumin, Bl: blastokinin

D<sub>3</sub>~D<sub>6</sub>: 排卵後 3 日目から 6 日目。

数字は検体番号を示し, M は各検体の平均値を表わす。

		Al	Bl/Al
D <sub>3</sub>	1	8.25	0.22
	2	9.96	0.29
	3	7.60	0.24
	M <sub>3</sub>	8.60	0.25
D <sub>4</sub>	4	10.4	0.73
	5	11.9	0.93
	6	11.3	0.67
	M <sub>4</sub>	11.2	0.76
D <sub>5</sub>	7	12.8	1.12
	8	13.2	0.96
	9	12.4	1.08
	M <sub>5</sub>	12.8	1.05
D <sub>6</sub>	10	14.0	1.29
	11	15.1	1.73
	12	13.8	1.43
	M <sub>6</sub>	14.3	1.48

比較するようにした。その結果回収率の相違に拘らず D<sub>3</sub> から D<sub>6</sub> にかけての総蛋白の著しい増加もあり Al 値の経日的著増が認められた。排卵後の生理的現象として子宮内膜や UF に受精卵の浮遊—着床—発育により適するような変化が当然見られる。家兔 UF 中の総蛋白量, Al 値の増加もその一つの現れと思われる。Al と Bl の UF 中の組成比を見ると Al は D<sub>3</sub> から D<sub>4</sub> にかけて最大であるが D<sub>5</sub> および D<sub>6</sub> では Bl より小となつている。すなわち D<sub>3</sub> から D<sub>6</sub> にかけて Bl の方が Al より増加著しく D<sub>5</sub> および D<sub>6</sub> で Al に代り最大の組成比を占めている。UF は子宮内膜の分泌機能と浸出機能との産物であると言われる<sup>9)</sup>。血中多量に存在する Al は当然浸出性に UF 中に移行すると思われる。D<sub>2</sub> 頃より UF 中に出現急激に増加し D<sub>5</sub> から D<sub>6</sub> にかけて最大の組成比を示す Bl は増加著しいことから子宮内膜による分泌性の産物と思われる。Bl の詳細な生物学的活性について現在未だ明らかでない。但し D<sub>3</sub> から D<sub>4</sub> まで最大の組成比を占めた Al に代つて受精卵に最も重要と思われる着床期である D<sub>5</sub> D<sub>6</sub> に Bl が

最大であることが示された。このことは UF を解明する上で Bl 有究の重要性を示唆するものと思われる。

## 文 献

- Hertig, A. T. and Rock, J.: The implantation and early development of the human ovum. *Trans Int 4th Amer Congr Obstet Gynec. Amer J. Obstet Gynec* 61 A: 8, 1951.
- Shirai, E., Iizuka, R. and Natake, Y.: Analysis of human uterine fluid protein. *Fertil and Steril* 23, 522-528, 1972.
- Beier, H. N.: Uteroglobulin: a hormone sensitive endometrial protein involved in blastocyst development. *Biochem Biophys Acta* 160: 289, 1968.
- Krishnan, R. S. and Daniel, J. C. "Blastokinin": inducer and regulator of blastocyst development in the rabbit uterus. *Science* 158: 490, 1967.
- Lowry, O. H., Rosebrouch, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with Follin phenol reagent. *J. Biol Chem* 193: 265, 1951.
- Ornstein, L.: Disc electrophoresis-I. *Ann NY Acad Sci* 121: 321, 1964.
- Davis, B. J.: Disc electrophoresis-II. *Ann NY Acad Sci* 121: 404, 1964.
- Olds, D. and Van Demark, N. L.: Composition of luminal fluid in bovine female genitalia, *Fertil and Steril* 8: 345-354, 1957.

## Observation of Albumin and Blastokinin in The Rabbit Uterine Fluid before Implantation

Eiichiro Shirai, M.D.

Department of Obstetrics & Gynecology  
Kitazato Institute Hospital

Rihachi Iizuka, M.D.

Department of Obstetrics & Gynecology  
School of Medicine, Keio University

Rabbit uterine fluid protein was analyzed quantitatively by disc electrophoresis and densitometer. The amounts of total protein and albumin increased from the third day to 6th day after ovulation. Blastokinin was increased remarkably by comparing with albumin in the same sample.

This increase was shown from the third day to 6th day after ovulation. Blastokinin might be secreted from uterine mucosa and this is very important for the implantation of fertilized ova.

# Dehydroepiandrosterone Sulfate ならびに Enanthate

## の雌ラット性腺に及ぼす特異な効果

### 1) HCG を投与された未熟雌ラットにおける効果

#### An Specific Effect of Dehydroepiandrosterone Sulfate and Enanthate on The Reproductive Organs of Female Rat.

#### 1) Observation on the immature female rat treated with HCG previously.

鐘紡株式会社薬品研究所

三楽病院

小川 誠一 唐沢 陽介

Seichi OGAWA & Yousuke KARASAWA

Kanebo Medical Laboratories, KANEBO Ltd. & The Department of  
Obstetrics and Gynecology, Sanraku Hospital.

副腎皮質を主分泌源とし、循環血中にも、最も多量に存在する Steroid の硫酸抱合体である Dehydroepiandrosterone sulfate (DHA) は、従来、内分泌型として単に Metabolite とのみ考えられており、特に生物活性はないとされ多くは注目されなかつたが、近時その生理作用がいろいろな角度から検討されてきている。著者らも DHA が生殖機能と大きく関連すること、および個体の維持に大きな役割をもつことに注目し血流中の DHA-sulfate の濃度と free の DHA 濃度の間には血中の sulfatase によつて水解され、また sulfokinase によつて抱合されることによる平衡機能があるとされていることから DHA-sulfate を用いて生物作用を観察した。

DHA-sulfate は直接代謝としては硫酸抱合体の型でホルモン転換され、間接代謝としては硫酸抱合体が Sulfatase によつて硫酸基が水解遊離した free の DHA として Steroid 転換するといわれる。生体内の水解酵素のあり方が DHA-sulfate の生理活性と大きく関連することも予想される。一般に Steroid の硫酸抱合体は生物学的には不活性であるとされており、DHA-sulfate も同様に不活性型と考えられてきた。しかし循環血中には最も多量に存在し、Steroid 転換もその一部にすぎないという見方もある。本実験では未熟ラットを用い HCG によつて血中の hormonal steroid が増量されることから、予め HCG を投与し、ついで DHA-enanthate および sulfate を投与し性腺への影響を観察した。陰開口は早くなり、性腺重量に変化をきたし、とりわけ enanthate 投与による著しい子宮内膜の変化は注目されるもので、Sulfate は、新生仔、未熟仔には Sulfatase の僅少による要因が考えられる結果をみた。さらに、たまたま未受精卵の着床を思わせる所見もあつた。

### 緒 言

卵巣機能<sup>1)</sup>と副腎機能<sup>2)</sup>との関連性、間脳一下垂体系を介しての両者の関連性<sup>3)</sup>は生理学的<sup>4)</sup>にも病理学的<sup>5)</sup>にも種々な角度から観察されてきた。著者らは、副腎皮

質を主分泌源とする Androgen の主要分画である Dehydroepiandrosterone (DHA) の硫酸抱合体(Dehydroepiandrosterone sulfate, 以下 DHA-sulfate と略す)(図1)と脂肪酸 ester がどのような形で性腺へ作用を及ぼすかを主要器官との関連性を中心に生物活性<sup>6)</sup>の一

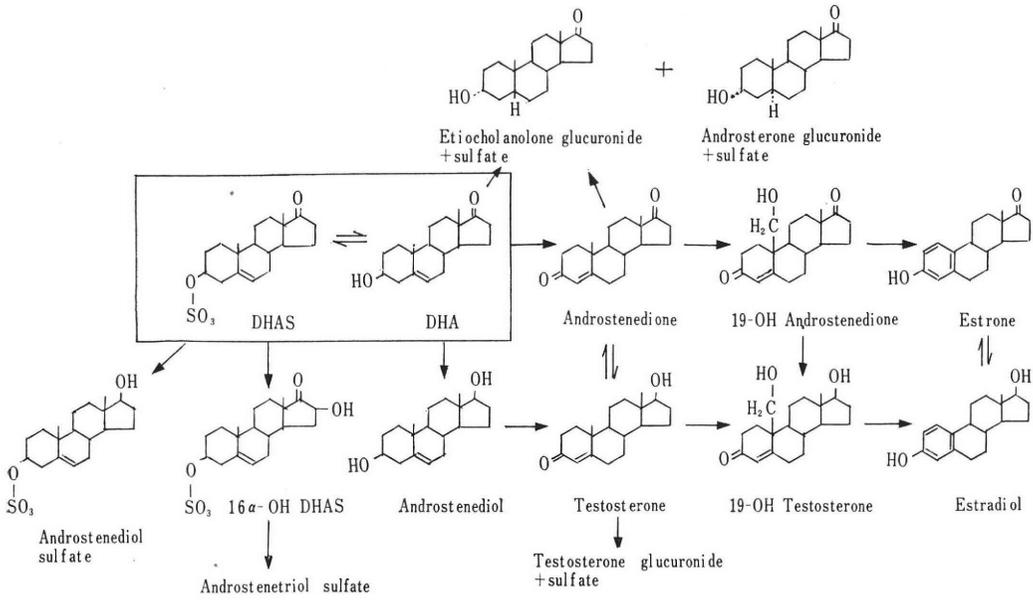


図1 Most probable routes of biotransformation of C<sub>19</sub> steroids.  
(By H. M. Gandy, 1971)

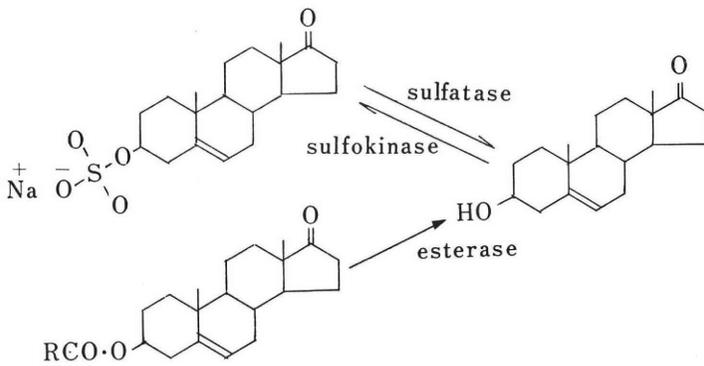


図 2

面をみて生理的意義を考察した。

例えば雌ラットの副腎を生後20日齢に摘除するとその10日後の観察で卵巣の発育遅延がみられる<sup>7)</sup>。この場合に摘除時から DHA を連日投与するとその卵巣は正常ラットとの差をみない発育をとげた<sup>8)</sup>。こうした結果をみると副腎に源をたどる DHA が未熟ラットの卵巣の発育に大きく関与<sup>9)</sup>していることがわかる。これは DHA が間脳-下垂体系を介して作用を及ぼしたと思われるが、また一方で、実験的に下垂体摘除後のラットで同様の試みをしたところ卵巣重量への変化がみられたので、これはやはり DHA の直接の作用もあることを知った。著者らは今回未熟雌ラットに予め HCG を投与<sup>10)11)12)</sup>して引き続いて DHA の硫酸抱合体、あるいは脂肪酸 ester を投与して一応の標的臓器の重量変化と

卵巣、子宮の変化の検索を行なった。E. L. Singer (1971)<sup>13)</sup>らは未熟雌ラットに PMS, 続いて HCG を作用させるいわゆる“Parlow rat<sup>14)</sup>”に DHA を数日間連続注射したところ、卵巣は有意に肥大し、その卵巣の Cholesterol は有意に減少したことを認めており、これはおそらく Prolactin の分泌が促進されたことによるものであろうと報じている<sup>15)</sup>。しかしながらこうした Steroid の生物効果の発現には種々の要因<sup>16)17)18)</sup>が複雑に関与して、とくに未熟仔においては効果のパターンはいろいろ異なる<sup>19)</sup>ものと予測される。副腎や性腺から分泌されて循環血中にも存在する DHA-sulfate と外因性の脂肪酸 ester とは母体 steroid は同一でも互いに異なった効果をもたらすことがある<sup>20)</sup>。それは体内に水分解酵素である sulfatase や esterase の存否によつて大き

表1 Effect of Administration of Human Chorionic Gonadotropin  
Mean value in venous blood (µg/100ml)

	5 A diol	DHA	4 A dione	Pregnenolone	Testosterone
Spermatic vein of 5 normal male aged 29-63	13.5	2.2	2.5	4.3	74.0
Spermatic vein of 3 male aged 25-44 with 5,000IU of HCG for 5 days	78.0	27.0	7.4	14.0	272.0
Elevated Ratio	4.2	17	3	3	3.7

	5 A diol monosulfate	5 A diol disulfate	DHA sulfate
Venous of 3 male aged 25-44	130	20	5.6
with 5,000IU of HCG for 5 days	144	18	7.7
	154	18	29.3

B Peripheral, before administration of HCG  
 D Peripheral, after administration of HCG  
 S Spermatic, after administration of HCG

(T. Laatikainen et al, 1971)

く関与されることも主要因の一つとなっているものと推測される<sup>21)</sup>(図2)。

著者らは既報に示すように Steroid pathway で Testosterone の前駆の位置にある DHA や 4-A-dion, 5-A-diol など C<sub>19</sub>-Steroid の生理的意義に関心をよせてきた。これらの Steroid は正常男子に Gonadotropin を投与すると睾丸静脈や末梢血中に増量してくることが報告されている。同時に sulfate も増量する<sup>22)23)24)</sup>(表1)。

実験方法

27日齢の Sprague-Dawley 系雌ラットの同腹仔5~6匹を一群とし、A, B, C, Dの4群にわけ、A群は対照群として生理的食塩液0.5ml ずつ5日間連続して頸背部皮下に注射した。B群は HCG (Primogonyl) 10iu, 0.5ml 水溶液を5日間同様の注射をした。(日局方の HCG 力価検定法に準拠した投与方法) C群は、B群と同一の条件で HCG を5日間投与したのち第6日目より DHA-enanthate 50mg (0.5 ml の油溶液) 1回皮下投与した。D群はB群と同一の条件で HCG を5日間連続して投与したのち第6日目より DHA-Na-Sulfate 10 mg の水溶液0.5 ml ずつを5日間頸背部皮下に注射した。以上の4群について、D群の注射終了後すなわち出生日より数えて第37日目に屠殺して、常法のごとく剖検

し、主要臓器重量を秤量し組織像を検した。実験期間を通して飼育条件は室温22°C.±2°, 湿度55%±5%, 人工光照明14時間, 暗黒10時間の調節を行ない、一匹あたりの飼育空間は基準通りとした。なお、人工光照明は床上80cm のところで150lux となるよう均等照明に留意した。

実験成績

陰開口はA群(対照)(写真1, 2)では35日齢で、うち1匹は33日齢であった。B, C, D 群ではいずれも早い傾向を示し、平均して32日齢で陰開口をみた。体重および器管重量を表に示す(表2, 3)。体重の増加や器管重量の変化は多面的な作用の集積と考えられる。

B群(HCG 10iu×5日間連続投与)

卵巣重量は対照群(24.5±5.6mg)に比較して有意に

表2 DHA-E or DHA-S Administration Continuously After HCG Injection to 27-Day Old Female Rats (I)

	A (5) 0.9% NaCl×5	B (5) HCG 10iu×5	C (6) HCG 10iu×5→ DHA-E 50mg	D (6) HCG 10iu×5→ DHA-E 10mg×5
Body wt. (g)				
before (27-day old)	50 ± 9.1	49 ± 5.0	42.2 ± 2.3	53.2 ± 13.3
after (37-day old)	92.2 ± 12.6	92.8 ± 5.9	96.3 ± 5.4	108.3 ± 18.1
increase	42.2 ± 3.6	43.6 ± 3.1	54.2 ± 3.9**	55.0 ± 4.9**
Pituitary (mg)	3.0 ± 0.3	3.4 ± 0.5	3.7 ± 0.5	3.4 ± 0.9
Thyroid (mg)	5.7 ± 1.1	9.0 ± 1.3	10.0 ± 5.9	7.9 ± 2.7
Thymus (mg)	404 ± 66	334 ± 8	220 ± 62**	263 ± 50*

Mean ± SD \* P<0.05, \*\* P<0.01 (compared with HCG treated rats)

表3 DHA-E or DHA-S Administration Continuously After HCG Injection to 27-Day Old Female Rats (II)

	A (5) 0.95% NaCl×5	B (5) HCG 10iu×5	C (6) HCG 10iu×10 DHA-E 50mg	D (6) HCG 10iu×5 DHA-S 10mg×5
Adrenal (mg)	30.0 ± 6.1	16.9 ± 2.0	20.9 ± 1.8**	23.0 ± 2.3**
Ovary (mg)	24.5 ± 5.6	37.1 ± 5.5	43.1 ± 2.8	36.4 ± 8.7
Oviduct (mg)	13.2 ± 4.9	9.5 ± 1.4	15.8 ± 3.0**	11.4 ± 3.0
Uterus (mg)	208 ± 105	142 ± 14	310 ± 30**	218 ± 54**
Preputial Gd. (mg)	43.1 ± 9.9	61.7 ± 13.8	95.1 ± 28.3*	60.3 ± 22.0

Mean ± SD \* P<0.05 \*\* P<0.01 (Compared with HCG treated rats)

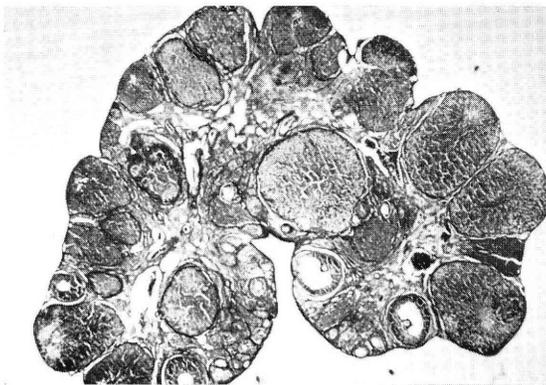


写真1

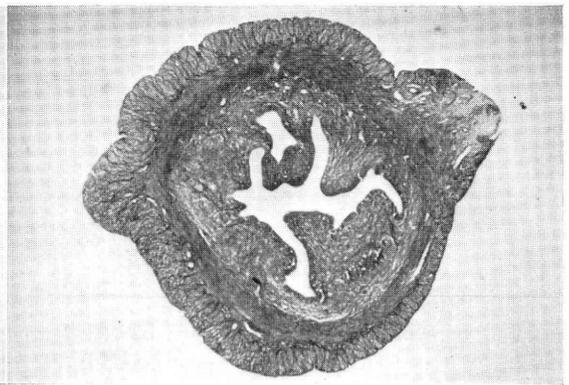


写真2

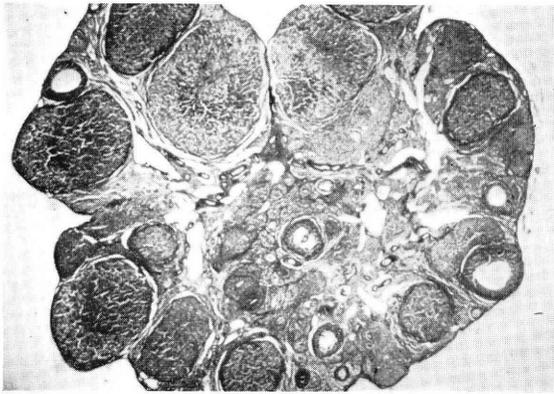


写真 3

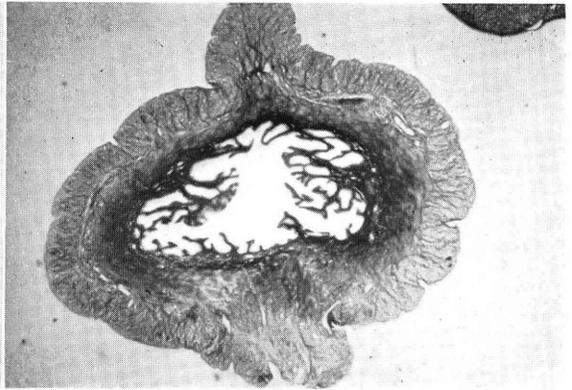


写真 4

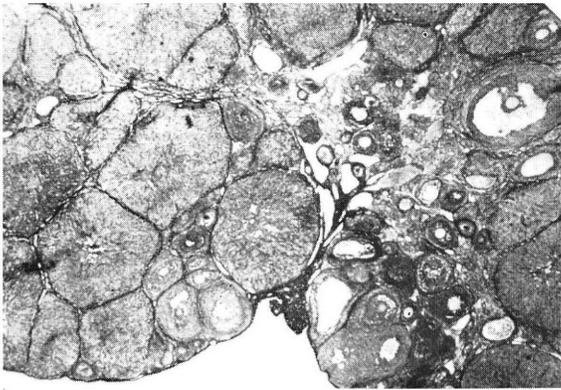


写真 5

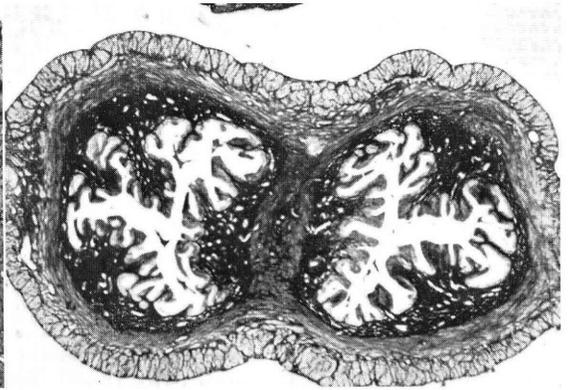


写真 6

重く ( $37.1 \pm 5.5 \text{mg} = P < 0.01$ ) 約 1.5 倍の肥大になり組織所見では卵胞や黄体の数がより増加しているなど全体として促進像であった。しかしながら子宮は対照群 ( $208 \pm 105 \text{mg}$ ) に比較してむしろ軽量化 ( $142 \pm 14 \text{mg}$ ) となった。その組織所見では 2 匹の子宮内膜に軽度の分泌期像がみられるにとどまった。(写真 3, 4)。

C 群 (HCG 10 iu  $\times$  5 日間連続投与 + DHA-enanthate 50mg 1 回投与)

卵巣は HCG 単独投与に比較して重量はさらに増加 ( $43.1 \pm 2.8 \text{mg}$ ) した他卵管が対照 ( $13.2 \pm 4.9 \text{mg}$ ) より増加 ( $15.8 \pm 3.0 \text{mg} = P < 0.01$ ) し、副腎、胸腺が有意に軽量化したことは注目される。一方、子宮は対照群 ( $208 \pm 105 \text{mg}$ ) に比較して有意に重く ( $310 \pm 30 \text{mg} = P < 0.01$ ) なり特異な組織像を裏づけした。C 群の卵巣の組織像は発育各過程の多数の卵胞と大小多数の黄体がみられまさに多彩をきわめた著しい発育促進像であった。増量した子宮は全例に内膜が極めて激しい分泌期像を示し、内膜腺は長く伸びた乳嘴状の増殖像で、樹枝状にからみ合い内腔はみたされ、とくに顕著な例では粘稠な液を容れている例もあつた (写真 5, 6)。そのうちの 2

例に、しばしば、未受精卵が一見着床しているような像を認めた。未受精卵は長く伸びた腺浅層にとどまり無構造ながら確かな位置を占めていた (写真 7, 8, 9)。これはきわめて偶然にマイクロトームアが通過したことにはちがいないが、卵管内の卵検索の結果数個を得ているので、連続切片による切削を試みた結果に他ならない。組織学的にパラフィン切片としたので、低温包埋はしたが、多くの特殊染色は試みられなかつたが、Fevlyen 反応陽性を認めた。その後同一の条件で実験を試み、SD 系ラット 26 日齢で、PMS と HCG と比較して卵の検索をしたところ 32 例中 2 例に同様の像をみつけ、そのうち 1 例は腺浅層に変形して附着したのもあつた。

D 群 (HCG 10 iu  $\times$  5 日間連続投与 + DHA-sulfate 10 mg  $\times$  5 日間連続投与)

卵巣は HCG 投与に比較してもわずかに軽く、対照群に比較すれば大きな差はあるが、子宮でみると HCG 投与群 ( $142 \pm 14 \text{mg}$ ) に比較して大きく増量し ( $218 \pm 54 \text{mg} = P < 0.01$ )、卵巣とは対照に生食液投与群とは大きな差はなかつた。卵管は HCG 投与例と差はあつたが enanthate の有意差のあつたことに対して、有意の

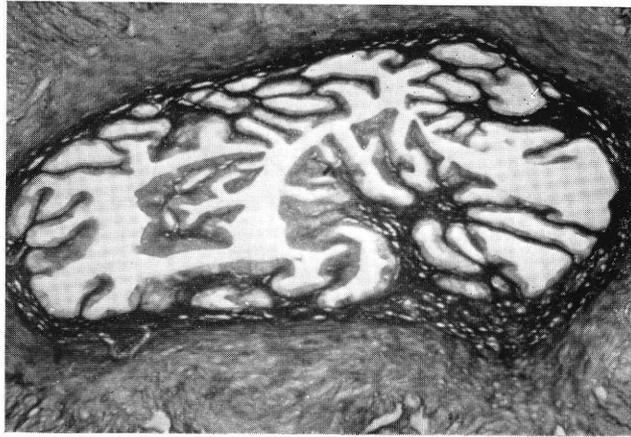


写真 7

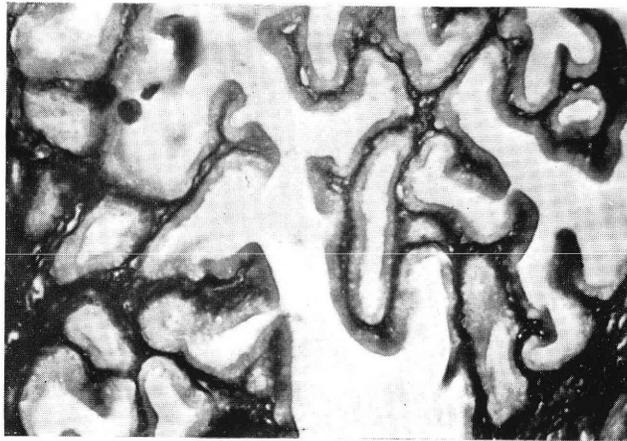


写真 8



写真 9

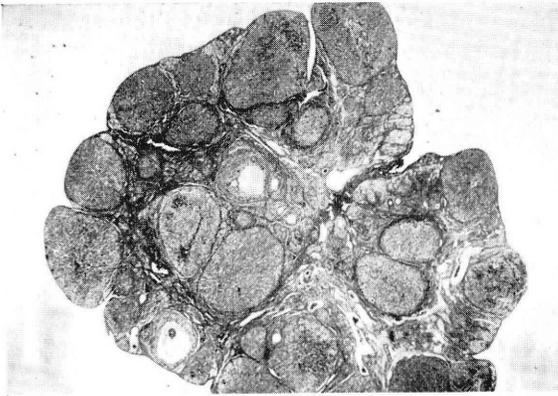


写真 10



写真 11

差はなかつた。体重は DHA-enanthate, sulfate とともに有意の増加を示したことは注目される。胸腺は生食液投与群が最も重く, HCG, DHA-enanthate, sulfate の順で軽くなり, 有意の差を示した。甲状腺は生食液投与に比較して enanthate は倍近くなり, sulfate でも増量の傾向を示した。組織像では卵巣は正常像および生食投与後と大差なく, とくに促進像はなく, 健全な機能を保っていることを認めた。子宮は -enanthate と同様の分泌期像の傾向を示したが, -enanthate ほどの激しいものではなかつた。しかし正常像と比較すれば旺盛な分泌期像で, その意味では促進された機能像といえるが enanthate と比較すれば軽度である (写真10, 11)。こ

れは未熟ラットには DHA-sulfate を水解する酵素 sulfatase がまだ僅少であるために外因性のものも含めて DHA-sulfate の大部分が水解されずにとどまつて不活性のままに終始したとみるべきであろう。未熟仔では DHA 本来の生物効果は成熟仔のときと比較して異なるパターンを示すことになる。

考 按

Steroid の ester は一般には ester 自身には生物活性はなく<sup>25)</sup> 体内の水解酵素によつて生成されて Steroid が活性を示すことになると考えられる<sup>26)</sup>。脂肪酸 ester は Acetyl esterase などの酵素によつて水解されるわ

表 4 Enzymes present in placenta and foetus

Enzymes	Placenta	Foetus
Hydroxysteroid dehydrogenases		
3β	+++	(+)
20α	+++	+
20β	∅	+
Δ <sup>5-4</sup> -Isomerase	+++	(+)
Δ <sup>4</sup> -5α-Reductase	∅	?
Aromatase	+++	+
Steroid hydroxylases		
6β	++	++
11β	+	+++
15α	∅	++
16α	(+)	+++
17α	(+)	+++
19	+++	?
20	(+)	+++
21	?	+++

Enzymes	Placenta	Foetus
Desmolases		
17a, 20	(+)	+++
20, 22	?	?
17β-Hydroxysteroid/NADP-oxidoreductase	+++	+++
Arylsulphatase	+++	∅
Sterolsulphatase	+++	∅
Arylsulphotransferase	∅	+++
3β-Hydroxysteroid-sulphotransferase	∅	+++
β-Glucuronidase	∅	+
UDPG-glucuronosyl transferase	∅	+

∅ not present.

? not known.

+ present.

(+) present but in low concentration.

(Diczfalusy, 1969)

表5 FORMATION OF C<sub>10</sub> STEROIDS BY THE FETAL ADRENAL

Precursor	Tissue preparation	Fetus' age (weeks)	Crown-rump(cm)	Product formed	Author
Acetate	Slice	12-22	8-21	DHA, pregnenolone, 11 $\beta$ -OH- $\Delta^4$ -androstenedione	Block and Benirschke <sup>21</sup>
	Slice	20	Not cited	DHAS, pregnenolone sulfate, cholesterol sulfate, 17 $\alpha$ -OH-pregnenolone sulfate	Jaffe, Pérez-Palacios, and Lamont <sup>128</sup>
20 $\alpha$ -OH-cholesterol	Slice	Not cited	Not cited	DHA, cortisol, 17 $\alpha$ -20 $\alpha$ -dihydroxy cholesterol, corticosterone	Shimizu, Shima, and Tanaka <sup>217</sup>
Pregnenolone	Homogenate slice	Not cited		DHA	Villee, Loring, and Villee <sup>273</sup>
	Homogenate	Not cited	10	DHA, androstenedione, 16 $\alpha$ -OH-DHA, 17 $\alpha$ -OH-pregnenolone	Villee and Villee <sup>275</sup>
	Mince	Not cited	10	11 $\beta$ -OH- $\Delta^4$ -androstenedione, cortisol, corticosterone, 16 $\alpha$ -OH-pregnenolone	
	Homogenate	Not cited	21	DHA, DHAS, pregnenolone sulfate	
	Mince	Not cited	10	Androstenedione, 11 $\beta$ -OH- $\Delta^4$ -androstenedione	Villee and Driscoll <sup>271</sup>
	Infusion	Not cited	Not cited	DHA, DHAS, pregnenolone sulfate, 17 $\alpha$ -OH-pregnenolone sulfate	Solomon <sup>258</sup>
	Slice	22	Not cited	DHAS, pregnenolone sulfate, 17 $\alpha$ -OH-progesterone, 11-desoxycortisol, cortisol	Klein and Giroud <sup>141</sup>
	Homogenate	42	36	DHA, androstenedione, cortisol, corticosterone, 11-desoxycortisol, 16-OH-progesterone, 17 $\alpha$ -OH-progesterone, progesterone	Villee and Loring <sup>272</sup>
Pregnenolone sulfate	Homogenate	12 to 19	Not cited	DHAS, 17-OH-pregnenolone sulfate, 16 $\alpha$ -OH-DHAS	Pérez-Palacios, Pérez, and Jaffe <sup>169</sup>
Progesterone	Homogenate	Not cited	Not cited	Androstenedione, 17 $\alpha$ -OH-progesterone	Solomon <sup>259</sup>
	Homogenate	Not cited	10	Androstenedione, cortisol, deoxycorticosterone, corticosterone	Villee <sup>273</sup>
	Mince	Not cited	10	11 $\beta$ -OH- $\Delta^4$ -androstenedione, 16 $\alpha$ -OH-progesterone	
	Homogenate	Not cited	21	Androstenedione, DHA, 11 $\beta$ -OH- $\Delta^4$ -androstenedione, 16 $\alpha$ -OH-pregnenolone	
	Culture Homogenate	<10 42	Not cited 36	Androstenedione Androstenedione, 16-OH-progesterone, cortisol, 17-OH-progesterone, corticosterone, deoxycorticosterone	Villee <sup>272</sup>

FORMATION OF C<sub>10</sub> STEROIDS BY THE PLACENTA

Precursor	Tissue preparation	Fetus' age (weeks)	Products formed	Author
Acetate	Perfused cotylidone	Term	Lanosterol, cholesterol	Levitz, Emerman, and Dancis <sup>157</sup>
	Mince	Term	Squalene	Leusden and Villee <sup>156</sup>
Mavalonate	Perfused cotylidone	Term	Squalene, lanosterol	Levitz, Emerman, and Dancis <sup>157</sup>
Progesterone	Homogenate	Term	Androstenedione, 16 $\alpha$ -OH-progesterone	Little, Shaw, and Purdy <sup>161</sup>
	Homogenate perfusion	Term	Androstenedione	Warren and Cheatum <sup>276</sup>
Androstenedione	Homogenate	20-21	Androstenedione, testosterone	Jungmann and Schweppe <sup>132</sup>
	Homogenate		19-OH- $\Delta^4$ -androstenedione	Longchamp et al. <sup>166</sup>
	Infusion	Not cited	Estrogens	Bolté et al. <sup>27</sup>
DHA	Infusion	18-20	Testosterone	Benagiano et al. <sup>17</sup>
	Slice		Androstenedione	Bloch and Newman <sup>25</sup>
DHAS	Perfusion	Not cited	Testosterone, androstenedione, estrogens	Bolté et al. <sup>27-29</sup>
	Perfusion	Midterm	Testosterone, androstenedione, estrogens	Lamb et al. <sup>151</sup>
Testosterone	Perfusion	Term	Androstenedione, 19-OH- $\Delta^4$ -androstenedione, estrogens	Charreau et al. <sup>46</sup>
	Perfusion	Midterm	Androstenedione, testosterone, estrogens, DHAS	Lamb et al. <sup>151</sup>
	Perfusion	Not cited	DHA, testosterone, androstenedione, estrogens	Bolté et al. <sup>27-29</sup>
	Homogenate	Term	DHA	Warren and Timberlake <sup>279</sup>
Testosterone	Perfusion	Midterm	Androstenedione, estradiol, estrone	Bolté et al. <sup>26,27</sup>
	Perfusion	18-20	Androstenedione	Benagiano et al. <sup>17</sup>
	Perfusion	Term	Androstenedione, 19-OH- $\Delta^4$ -androstenedione	Charreau et al. <sup>46</sup>

(By H. M. Gandy, 1971)

けである。一方硫酸抱合体は sulfatase によつて水解されるが体内には逆に硫酸を抱合する sulfokinase もあつて、sulfate と free の steroid の量的関係は調節されているともいわれる<sup>27)</sup> (図2)。このようにみてゆくと実験結果において脂肪酸 ester の方がより強い作用を示したことは、やはり esterase は新生仔から存在するとされることの証左であろう<sup>28)</sup> (表4)。また、新生仔には sulfatase が僅少である<sup>29)</sup>ので DHA-sulfate 投与例では enanthate 投与にくらべて軽度の作用しか認められなかつたのはそうしたことに原因するものと思われる。副腎 steroid は性腺の発育や機能に関与している<sup>30)31)32)</sup>と考えられているが具体的には臓器重量に微妙な変化をもたらす。胎児の副腎からは多量の DHA の sulfate が分泌され胎盤で水解されて芳香化され estriol に転換してゆく<sup>33)34)35)36)</sup>過程でみるとさらに興味ある生物実験が予測される(表5)。Tait らの提唱した Prehormone<sup>37)38)</sup>の影響はそれぞれ独自なもので生物効果としての特異な feed back 効果も次第に明らかにされている。著者らの既報による実験で<sup>39)</sup>、そうした効果発現のパターンは androgen や estrogen としての化学的力価に関連するものでもなく、(表6-I~II)

表6-I (By Kon et al. 1972)

Effect of androgenization by hormonal steroid (1 mg)  
injected to 4-day old female rats (On ca. 100-day old)  
5-A-diol > T > DHA > 4-A-dione

Steroid	Androgenicity	C-OH, (C=O)
5-androstenediol-3 $\beta$ ,17 $\beta$	1 $\mu$ ...500 $\mu$ g	3 $\beta$ ,17 $\beta$ -OH
testosterone (4-androstene-17 $\beta$ -ol-3-one)	15 $\mu$ g	17 $\beta$ -OH (C <sub>3</sub> =O)
dehydroepiandrosterone (5-androstene-3 $\beta$ -ol-17-one)	200 $\mu$ g	3 $\beta$ -OH (C <sub>17</sub> =O)
4-androstenedione-3,17	120 $\mu$ g	(C <sub>3</sub> =O, C <sub>17</sub> =O)

表6-II (By H.M. Gandy, 1971)

Relative androgenic potency of natural C<sub>19</sub> steroids

Steroid	Seminal vesicles	Capon's comb	Bone maturation
Testosterone	100	100	100
5 $\alpha$ -Androstane-17 $\beta$ -ol-3-one	200	75	
Androstenediol	33	75	
Androstenedione	20	12	
DHA	3	16	42
Androsterone	10	10	
Etiocholanolone	0	0	
Epitestosterone	0	0	
DHAS			100

生体内の酵素の要因<sup>40)</sup>が大きいことと、他に化学構造のわずかな相異によつて中枢に対する feed back も異なってくることは予測される。DHA-sulfate の他に Prehormone として女性血中に濃度の高い4-androstenedione の作用効果と比較して今後の研究を進めたいと考える。間脳一下垂体系を介しての feed back と中枢と

は別の代謝反応の steroid による酵素活性の面をほり下げれば最終生成物による feed back 調節現象や Steroid の自己調節機構の解明の一助ともなる。

未熟仔の場合の効果発現の相異は、こうした prehormone が steroid metabolic pathway の internal controller として機能を果たしているという Tait らの仮説を大きな前提としてみる事が出来ると近らの主張もある。また妊娠成立の内分泌調節という大きな問題の中で未受精卵の一見着床を思わす像はどのように解釈されるかはわからない。さらに着床の内分泌環境としての見方から着床という現象は黄体機能に大きく関連すると思われるので子宮内膜に及ぼす steroid の動態を知る一端となるのではあるまいか。しかしこうした実験がラットによつて正しい結論が得られたとは考えない。

### 総 結

1. HCG を投与した未熟雌ラットに DHA-enanthate を投与すると卵巣と子宮の発育に対して作用の加わることがわかり、体重増加と器官重量の増加、組織像に特異な機能促進作用を示す。未受精卵の着床を思わせる像もあつた。

2. DHA-sulfate の投与では enanthate と比較して作用は軽度で全体として促進作用の傾向を示した。

3. 上記の異なる効果発現の相違の要因として未熟仔には硫酸を水解する酵素の sulfatase がなかったまたは極めて僅少であるので不活性のままにとどまつたともいえる。一方、esterase は新生仔より存在する。

4. DHA-enanthate にみられた効果は HCG 前処置と大きく関連するが機序はわからない。

5. DHA-enanthate にみられる作用は遊離の DHA の本来の生物作用であると推測出来るが、卵巣や子宮に対するこうした生物活性は直接的な activity によるものかは不明であるが、間脳一下垂体系の大きな枠の中で feed back としてみることも出来るが明確な代謝機構は今後の研究をまたねばならない。

### 文 献

- 1) 小林隆, 中山徹也: 卵巣, 110-204, 共同医書出版社, 東京(1963).
- 2) Baillie, A. H.: Acta Endocr., 48, 423(1965).
- 3) Diczfalusy, E.: Acta. Obstet. Gynec., 41, 45(1962).
- 4) 川上正澄他: 日本不妊学会雑誌, 17(4): 18-27 (1972).
- 5) Hilton, A. S.: Veterinary pathology, 1299-1334, Lea & Febiger, Philadelphia, U.S.A. (1972).
- 6) Baird, D. et al.: Steroid prehormones, Pe-

- respect. Biol. Med. 11(1968).
- 7) 西田悦郎：第21回日本産科婦人科学会宿題報告，27-49，金沢(1969)。
  - 8) 西田悦郎：日産婦誌，15(12)，1151-1158(1964)。
  - 9) Korenchensky, V. & M. Dennison: Biochem. J. 30, 1514(1936)。
  - 10) 竹脇潔：幼時における性ホルモンの効果，5-25，協同医書出版社，東京(1966)。
  - 11) Takewaki, K.: Science Reports of Tokyo Woman's Christian College, 175-180。
  - 12) Takewaki, K., Annot zool. Japon., 1-9(1972)。
  - 13) Singer, E. L. et al.: Endocrinology, 89, 1223(1971)。
  - 14) Parlow, A. F.: Fed. Proc. 17, 402, 1958 (小林より引用)。
  - 15) Singer, E. L., et al.: Endocrinology, 89, 1234(1971)。
  - 16) Bernstein, S., et al.: Chemical and biological aspects of steroid conjugation, Springer-Verlag, 242-282(1970)。
  - 17) Baird, D. T.: Recentprogr. Hormone Res. 611-624(1969)。
  - 18) Barlow, J. J.: J. Clin. Endocrinol. 24, 586-596(1964)。
  - 19) 近鶴次郎他：日本薬学会第3回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム，8，98-109，福岡(1971)南山堂，東京(1972)。
  - 20) 小川誠一他：日本薬学会第5回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム7，(講演要旨)(1973)静岡。
  - 21) 井林博他：第43回日本内分泌学会総会(講演要旨)(1970)。
  - 22) Laatikainen, T., et al.: J. Clin. Endocrinol., 32, 59-64(1971)。
  - 23) Jeffery, J., et al.: J. Endocrinol. 48(1970)。
  - 24) Drucker, W. D., et al.: J. Clin. Endocrinol. & Metab. 35(1): 48-54(1972)。
  - 25) Gandy, H. M., et al.: J. Clin. Endocrinol. Metab. 28, 949(1968)。
  - 26) Fries, N., et al.: Acta Endocrinol. 56, 705-712(1967)。
  - 27) Goldman, A. S.: Endocrinology 87, 432(1970)。
  - 28) Diczfalusy, E.: Proc. 2nd Intern. Congr. Endocrinol., II, 732(1964)。
  - 29) Shackleton, C. H. L., et al.: Steroids, 18, 175-182(1971)。
  - 30) Askari, H., et al.: Endocrinology 87, 1377-1380(1970)。
  - 31) Rosenfeld, R. S., et al.: J. Clin. Endocrinol. & Metab. 35(2): 187-193(1972)。
  - 32) Jacobsohn, D.: Acta Endocrinol. 45, 402-414(1964)。
  - 33) Huhtaniemi, I., et al.: Steroids, 16, 197-206(1970)。
  - 34) Cooke, B. A., et al.: J. Endocr. 51, 533-546(1971)。
  - 35) Cooke, B. A., et al.: J. Endocr. 51, 547-556(1971)。
  - 36) Fry, J. M., et al.: Endocrinology 91(4): 852-859(1972)。
  - 37) Baird, D., et al.: Perspect. Biol. Med. 11, 384-421(1968)。
  - 38) Anita, H., et al.: Endocrinology 87, 316-322(1970)。
  - 39) 近鶴次郎他：第一回薬学会薬物活性シンポジウム(講演要旨)(1972)。
  - 40) 唐沢陽介他：産婦人科の世界，22(3): 285-293(1970)。

### An Specific Effect of Dyhydroepiandrosterone Sulfate and Enanthate on The Reproductive Organs of Female Rat.

- 1) Observation on the immature female rat treated with HCG previously.

Seiich Ogawa\* and Yousuke Karasawa\*\*

Kanbe Medical Laboratories KANEBO Ltd.\*  
& The Department of Obstetrics and Gynecology, Sanraku Hospital.\*\*

The 27-day old female rats were injected in advance subcutaneously with HCG 10 iu for 5 days incessantly. Then additionally some of them were injected continuously with DHA-sulfate 10 mg for 5 days incessantly subcutaneously. After 10 days, on the 37 th day after birth, the animals were autopsied and investigated histologically.

- 1) The ovaries extracted from the rats treated with HCG showed slight proliferation, viz., there were no large corpus luteum.

- 2) The ovaries and uteri isolated from the rats treated with DHA-enanthate 50 mg singly after HCG administration showed remarkable features. The most specific changes were observed on the uterine stroma and luminal epithelium. They proliferated markedly characteristically as to filled up the uterine cavity with numerous elongated endometrial papillate twigs. Rarely the implantation of a sterilized ovula on the papilliformed endometrium.

- 3) DHA-sulfate did not influenced like -enanthate upon uterine and ovarian tissue characteristically. This result was due to the lack of sulfatase in immature rats.

# Dehydroepiandrosterone Sulfate ならびに Enanthate

## の雌ラット性腺に及ぼす特異な効果

### 2) HCG を投与された 5-Androstenediol の不妊ラットにおける効果

An Specific Effect of Dehydroepiandrosterone Sulfate and Enanthate on the Reproductive Organs of Female Rat.

2) Observation on the sterilized rat by 5-Androstenediol treated with HCG previously.

鐘紡株式会社薬品研究所

三楽病院

小川 誠 一 唐 沢 陽 介

Seiichi OGAWA & Yousuke KARASAWA

Kanebo Medical Laboratories, KANEBO Ltd. & The Department of Obstetrics and Gynecology, Sanraku Hospital.

ラット雌新生仔では性中枢機能の分化が生後間もない時期に Androgen を投与されると、一様に雄型に変わり不可逆性の恒久的変化をもつたままになる。こうして不妊形成が起きたラットに HCG 等を付与すると排卵が起きることが知られ、本実験では HCG に加えて、副腎皮質を主分泌源とする Dehydroepiandrosterone の硫酸抱合体 (DHA-sulfate) と脂肪酸 ester を投与して、従来 Prehormone としてとくに生物作用に注目されなかつた steroid の生物活性を観察するために卵巣機能への作用を検索した。

その結果 Androgen によつて変化の加わつた卵巣は DHA-sulfate、-enanthate によつて健常卵巣に修復され機能をとりもどすことが出来た。

-enanthate 投与では卵巣はとくに機能促進像を示したことは前報の未熟仔の場合と異なることは興味深い。

### 緒 言

かつて Pfeiffer ら (1936)<sup>1a)</sup> の実験に源をたどる幼時における性ホルモンの影響についての研究がいろいろなされてきたが本来の形としてラットにおいては性中枢機能の分化は生後20日齢ごろ (実際には、極めて短い期間) までに精巣の存在によつて雄が確立される。それまでは一様に雌型であり生後の間もない時期に雌に対しての Androgen (精巣の移植等も含めて) の曝露によつて性中枢機能は雄型になることの背景には多くの要因がある<sup>1b)</sup>。人為的には雌、雄の差別なく幼時における Androgen の影響は観察することが出来る。しかしながら Androgen の曝露によつて視束前野周辺の分化の定まつていない時期に恒久的変化が起きるが<sup>2)3)4)</sup>、変化のパターンは卵巣のみ限り Androgen の種類によつて大き

く差異がある<sup>2)3)4)</sup> (図1)。これは FSH の分泌が全く失われてしまうかそうでないかによるものと思われる。しかし Androgen の種類は別として多くの場合 FSH の分泌は完全になくなるものではないことの証左として卵巣には大きな濾胞がありながら排卵像のないものなどがあつて、従来では Testosterone の propionate がよく使用されてきた結果では少なくともそうであつた。著者らが既報したように Androgen による sterilization の生物効果は必ずしも男性作用力価のみでは論じられなく生物活性は大きく異なることがある (表1)。著者らがかつての実験を通じて生物活性は T-propionate よりも 5-A-diol がより強い結果をみたので今回の実験では 5-Androstenediol を用いて不妊形成を行なつた。

Androgen の主要分画である DHA (図2) とその硫酸抱合体は Gonadotropin との関連性を中心に考える

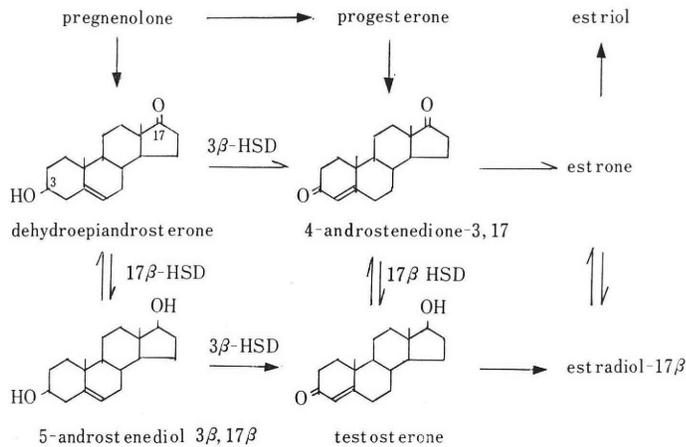


図 1

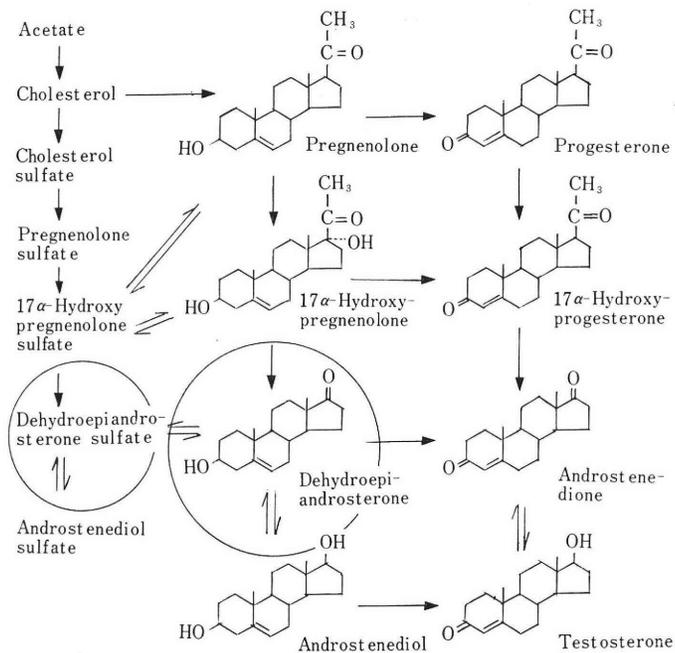


図 2

表1 Effect of androgenization by hormonal steroid (1mg) injected to 4-day old female rats (On ca.100-day old)

	5-androstenediol-3β,17β	> testosterone (4-androstene-17β-ol-3-one)
androgenicity	1 iu.....500μg	1 iu.....15μg
C-OH, (C=O)	3β-OH, 17β-OH	17β-OH, (C <sub>3</sub> =O)

と DHA はラットに単独に長期投与すると 卵巣重量は抑制されるが両側副腎摘除ラットに Gonadotropin と協働して作用させると卵巣は大きく肥大する<sup>7)8)9)</sup>。これは DHA が間脳一下垂体系を介しての Anabolic な作用として gonadotropin と協働した作用といえる。新生

仔に Androgen を投与して作られた永久不妊ラットに Gonadotropin を投与すると排卵することから<sup>10)</sup> 著者らはこの不妊ラットに HCG を投与して 卵巣重量、組織像をみたが HCG の量を倍にすると卵巣の肥大は著しくなり量との相関を知ることが出来たが、HCG と DHA-sulfate, -enanthathe の量的関係は明らかに出来なかつた (表2-5)。

実験方法

Sprague-Dawley 系雌ラットの成熟したものを使用した。基準通り飼育し妊娠させ、出産後同腹仔新生仔雌ご

表2 Administration of Testosterone in 4-day old female rats

Testosterone	No.	Rats	Age	Bd. Wt. g	Pituitary mg	Adrenal mg	Ovary mg	Uterus mg
Control	F3, G2, H1	9	103	289 ± 25	14.5 ± 1.5	70.4 ± 6.2	75.0 ± 12.0	560 ± 183
T 1mg	S4	5	92	246 ± 14	14.8 ± 4.5	63.5 ± 6.8	64.0 ± 3.9	496 ± 141
T-Propionate 1.25mg	I3, 4, 5	15	112	359 ± 50	*23.8 ± 5.4	*52.3 ± 14.7	*44.5 ± 9.3	479 ± 67
T-enanthate 1.45mg	J1	6	97	384 ± 25	**20.2 ± 3.3	*27.3 ± 8.7	*45.2 ± 3.9	**399 ± 24

Mean ± SD \* P < 0.01 \*\* P < 0.025

表3 Administration of Dehydroepiandrosterone in 4-day old female rats

Dehydroepiandrosterone	No.	Rats	Age	Bd. Wt. g	Pituitary mg	Adrenal mg	Ovary mg	Uterus mg
Control	H1, 2, 3	5	103	296 ± 38	13.8 ± 1.4	69.0 ± 13.5	76.0 ± 9.0	602 ± 221
DHA 1mg		6		270 ± 26	13.4 ± 2.1	59.1 ± 10.2	69.7 ± 9.7	490 ± 94
Control	U1, 2	5	114	307 ± 9	15.4 ± 1.9	75.3 ± 3.4	80.3 ± 17.9	618 ± 158
DHA-acetate 1.15mg		5		310 ± 15	15.5 ± 3.3	75.0 ± 11.0	*41.5 ± 8.6	721 ± 171
Control	T5	4	89	312 ± 11	13.1 ± 0.6	67.2 ± 1.8	101.1 ± 12.4	577 ± 305
DHA sulfate Na 1.35mg		4		305 ± 5	12.9 ± 2.0	62.5 ± 3.8	86.8 ± 14.6	517 ± 254

Mean ± SD \* P < 0.01

表4 Administration of 5-Androstenediol in 4-day old female rats

5-Androstenediol	No.	Rats	Age	Bd. Wt. g	Pituitary mg	Adrenal mg	Ovary mg	Uterus mg
Control	F3, G2, H1	9	103	289 ± 25	14.5 ± 1.5	70.4 ± 6.2	75.0 ± 12.0	560 ± 183
5-A-diol 1mg	N1, 2	10	118	342 ± 41	14.8 ± 2.9	75.7 ± 17.0	*32.1 ± 6.2	459 ± 62
-3-enanthate 1.45mg	P2	6	108	319 ± 27	*22.0 ± 3.0	77.3 ± 10.2	*39.9 ± 6.3	514 ± 39
-disulfat-Na 1.48mg	H2, 3	5	99	324 ± 24	16.1 ± 2.6	72.8 ± 4.4	84.7 ± 10.5	598 ± 206

Mean ± SD \* P < 0.01

表5 Effect of HCG Administration to Testosterone Propionate Sterilized Female Rats

	A (15) TP Steril. (112-day old)	B (4) HCG 10iu × 5 (123-day old)	C (4) HCG 20iu × 5 (123-day old)
Body wt. (g)	359 ± 50	326 ± 22.	326 ± 25
Pituitary (mg)	23.8 ± 5.4	25.3 ± 3.4	24.7 ± 1.6
Adrenal (mg)	92.3 ± 14.7	77.4 ± 13.4	76.9 ± 7.8*
Ovary (mg)	44.5 ± 9.3	128 ± 29**	257 ± 41**
Uterus (mg)	479 ± 67	388 ± 61*	408 ± 34*

Mean ± SD \* P < 0.05, \*\* P < 0.01

とに A, B, C, D の 4 群に分け生後 4 日目に 5-Androstenediol 1 mg を頸背部皮下に 1 回投与し引きつづいて室温 22°C ± 2°C, 湿度 55% ± 5% の飼育室内で, 14 時間照明, 10 時間遮光の人工光調節を行ない飼育室内床上 80cm の位置で 150lux とするよう光分散に留意した。腔開口後は定期的に毎日一定時間に腔垢検査をし連続発情像を確認した。出産日より数えて 210 日齢に達したとき, A 群は対照群とし, B 群は HCG (Prymogonyl, 10 iu ずつ 5 日間注射した。C 群は同様に HCG 10 iu ずつ 5 日間注射し 6 日目より DHA-enanthate 50 mg を 1 回注射した。D 群は HCG 10 iu 注射 5 日間行なつてのち 6 日目より DHA-sulfate 10mg を 5 日間注射した。注射部位は全部頸背部皮下に行なつた。D 群の注射終了後, すなわち最初の注射 (HCG) を行なつてから第 11 日目に, B, C, D 群を剖検した。A 群はそれより以前に屠殺した。各主要臓器を秤量し組織標本として鏡検した。

実験成績

A 群 (5-A-diol で不妊形成を行ない 0.5ml の生食液注射) (写真 1, 2 は正常像)

表6 DHA-E or DHA-S Administration Continuously After HCG Injection to A-diol Sterilized Female Rats

	A (10) A-diol Steril. (118-day old)	B (5) HCG 10iu × 5 (221-day old)	C (5) HCG 10iu × 5 → DHA-E 50mg	D (5) HCG 10iu × 5 → DHA-S 10mg × 5
Body wt. (g)	342 ± 41	410 ± 50	380 ± 42	385 ± 35
Pituitary (mg)	14.8 ± 2.9	15.5 ± 3.6	18.3 ± 4.4	15.6 ± 4.0
Adrenal (mg)	75.7 ± 17.0	91.2 ± 13.0	76.3 ± 6.2	76.8 ± 8.7
Ovary (mg)	32.1 ± 6.2	84.5 ± 22.9	195.3 ± 68.0*	100.1 ± 41.3
Uterus (mg)	459 ± 62	519 ± 61	697 ± 143	516 ± 65
Preputial Gd. (mg)	127 ± 49	166 ± 51	138 ± 27	

Mean ± SD \* P < 0.01 (Compared with HCG treated rats)

剖検所見として卵巣は著しく軽量 (32.1 ± 6.2mg) とになり子宮も軽量化 (459 ± 62mg) を示した。卵巣組織像は黄体はなく, 大小の変形した有腔濾胞のみで間質を菲薄となり全体に卵巣の形がいは残っていないほどの強い作用をうけていた (写真 3, 4)。

B 群 (HCG 10 iu × 5 日間連続投与)

卵巣は有意に肥大し (84.5 ± 22.9mg) し 5 例中 4 例に大型の黄体がみられ (写真 5, 6), また大小の有腔濾胞も混在してみられた。子宮はとくに大きくはなく, 内膜組織像や頸管腔周辺にもとくに著変はなかつた。副腎は対照に比較して大きかつた (写真 7, 8)。

C 群 (HCG 10 iu × 5 日間連続投与 + DHA-enanthate 50mg, , 1 回投与)

卵巣重量は HCG 単独投与のものと比較して約 1.4 倍になり, 対照と比較すれば 6 倍以上の増加を示した。副腎は重くなり, 包皮腺も増加したが, 胸腺, 甲状腺はむしろ軽くなつた。卵管は未熟仔試験のときと同様重くなる傾向を示した。組織像は, 卵巣では大きな黄体が全例にみられ, 同時に少数ながら有腔濾胞も混在した (写真 9, 10)。子宮内膜は分泌期像を示し, 頸管内腔は肥大した (写真 11, 12)。

D 群 (HCG 10 iu × 5 日間連続投与 + DHA-sulfate 10mg, 5 日間連続投与)

卵巣は, enanthate (195.3 ± 68.0mg) と比較すれば 1/2 (100.1 ± 41.3mg) であつたが対照に比較すれば 3 倍強となり HCG (84.5 ± 22.9mg) と比較すれば増加の傾向を示した。しかし子宮は HCG (519 ± 60.6 mg) と比較して大差 (516 ± 65.4mg) なく, 対照 (459 ± 62mg) とも差がなかつた。組織像は, enanthate と異なり 5 匹中 4 例に有腔濾胞の混在はなく多数の大小黄体によつて占められ, 中小卵胞が数多くみられ機能促進像がみられ健全な卵巣像に復元したことを認めた (写真 13, 14)。子宮内膜は 5 匹中 3 匹に著しい分泌期像を認め頸管内腔

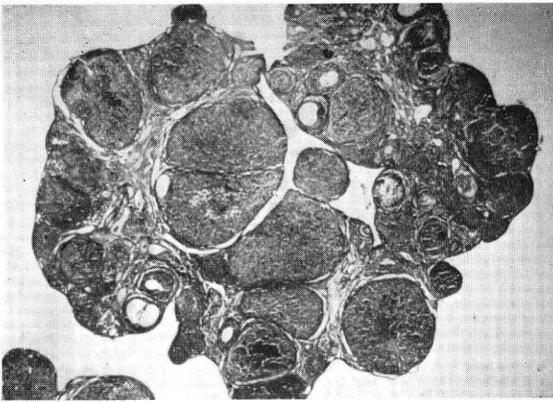


写真 1

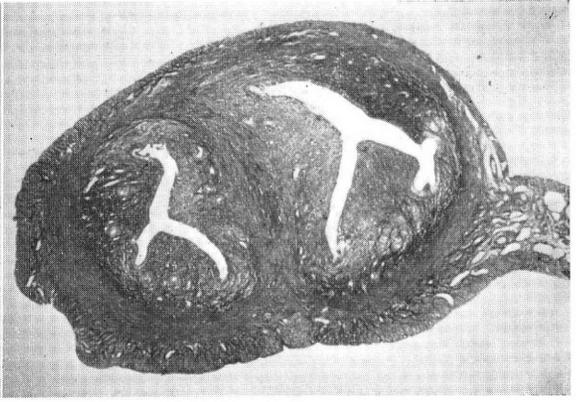


写真 2

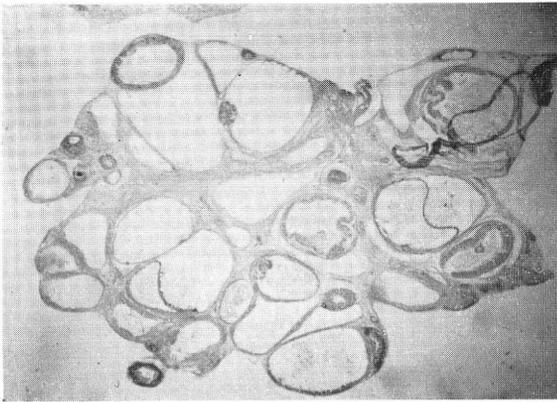


写真 3

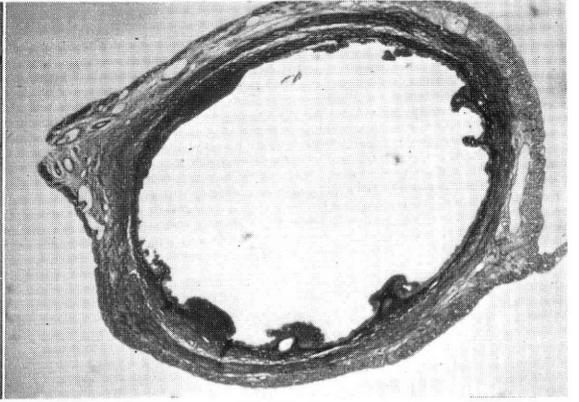


写真 4

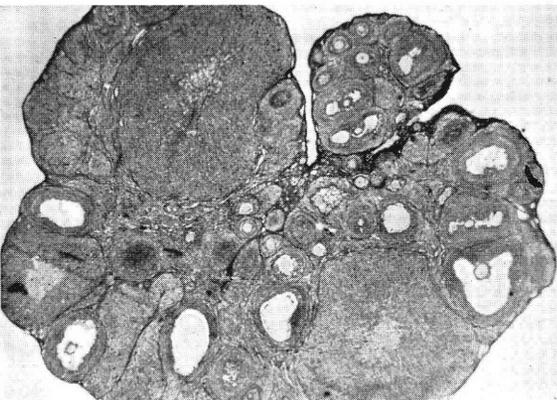


写真 5

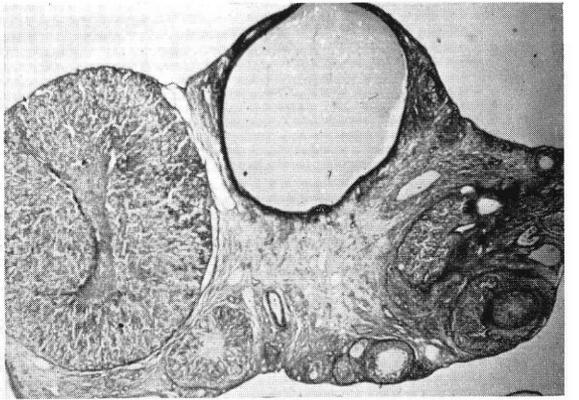


写真 6

は著しい増生をみ、内膜肥厚を認めた。この所見はA群の対照例と比較するとき大きな相異を見出すが、ただ5匹中1例に enanthate 投与例に類似した有腔濾胞の混在した型であった。

**考 按**

幼時に性ホルモンの影響を受けた雌ラットは性成熟後

も排卵のない永久不妊ラットとなつて雄型の不可逆性の性中枢機能に変化してしまう。こうした無排卵ラットに Gonadatropin を投与すると排卵が起きることは既に知られている。そこで著者は5-Androstenediol で無排卵ラットをつくり HCG を投与して卵巢を中心に観察した。HCG のみの投与では卵巢は大きな黄体と有腔濾胞がみられるが(共存的に) HCG 投与に引きつづいて

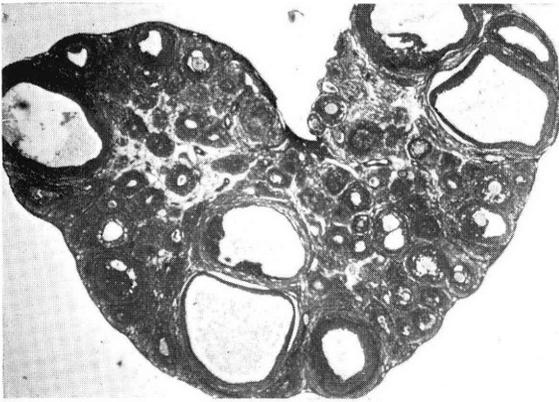


写真 7

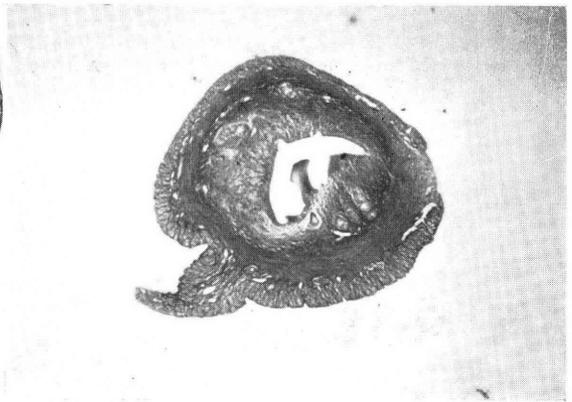


写真 8

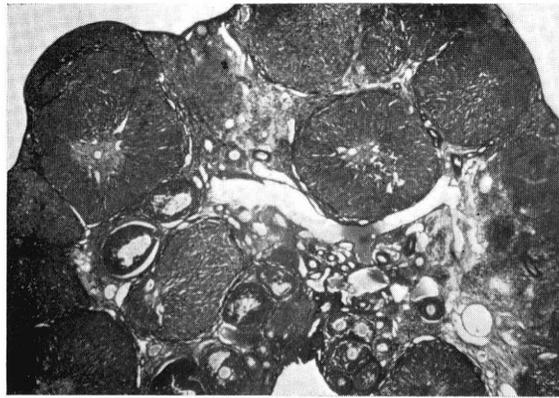


写真 9

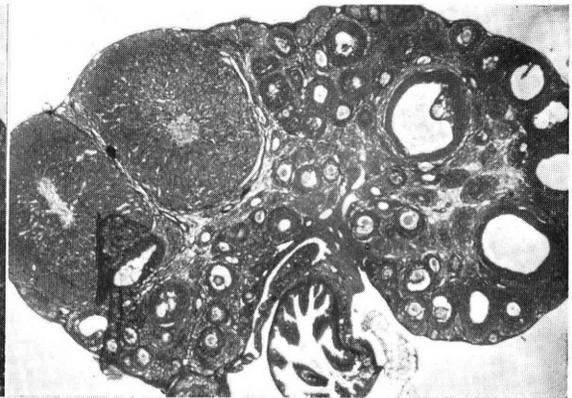


写真 10

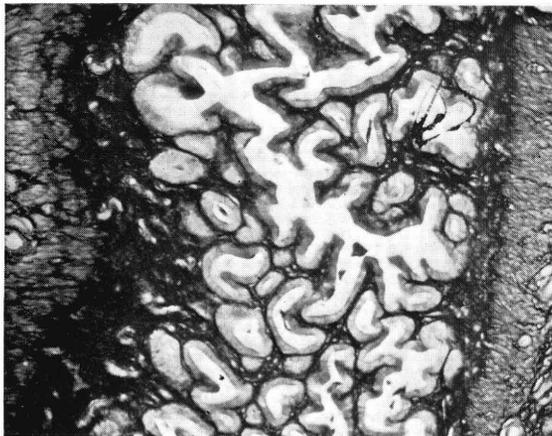


写真 11



写真 12

DHA-enanthate を投与すると卵巣は HCG 単独より倍以上に増大し sterilize された卵巣の 6 倍にもなる。しかしこの 2 つの効果の型は卵巣内では大きな黄体もあり同時に有腔濾胞も共存するので、本質的には類型とみるべきで、HCG の拡大された像が enanthate にあて

はめられる。Androgen の投与によって Cystic Ovary となる背景には種々のホルモナルな要因がからむが<sup>11)12)</sup>有腔濾胞の完全な消失が機能の回復とみてよいかどうかは不明であるが、前二者の卵巣像と、DHA-sulfate の像とを比較すると、後者には有腔濾胞の遺残はなく、卵

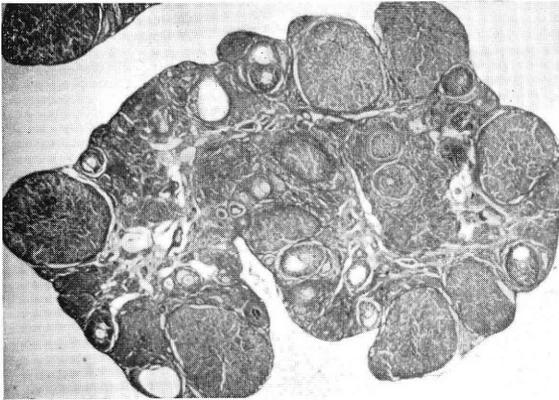


写真 13

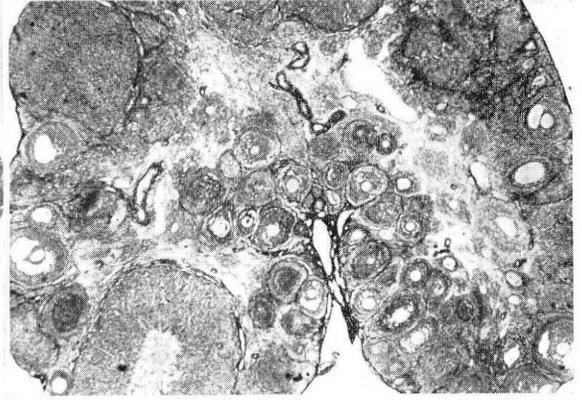


写真 14

巢はすべて黄体にとって代り、機能促進像がうかがわれたことは作用のあり方が enanthate と異なるものではなからうか。

DHA-enanthate による子宮内膜の分泌期像の発現や子宮頸管の内腔の拡大は enanthate の直接の作用とみられることも出来るが、推測出来ることは生体内の esterase の関連における効果とみること大切な見方である。DHA-Sulfate を HCG に引き続いて投与したときに重要な作用は単に重量だけにとどまるものではない<sup>13)</sup>ことがわかり、HCG 投与と差のない増加であったが、組織像は大きく異なった。この場合、Androgen による影響の痕跡はなくなり、黄体のみに占められたことは sulfate の特異な効果といえる。これは sulfatase によつて水解されて free の DHA の生物活性によるものか、あるいは DHA-sulfate 自身の活性によるものかは今後の研究によつて解明されねばならない。いずれにしても新生仔の性分化に及ぼす Steroid の影響は体内の水解酵素の存否によつて大きく結果を異にすることがわかつた。本実験の結果はさきの未熟仔の場合とは sulfate の作用が増大したことにおいて相違した。Steroid の sulfate は体液中ではイオン化して蛋白と結合して細胞膜を透過して生化学的営みをしている<sup>14)</sup>ことから体内の水解酵素 sulfatase によつて free の DHA が生成され、free の DHA は硫酸抱合酵素の sulfokinase によつて調節されていると考えられている。また脂肪酸は Acetyl esterase によつて水解されて free の steroid が生成される。従つて外因性の steroid の脂肪酸 ester が持続作用を示すのも esterase によつて徐々に水解されることによつて誘発される現象と理解出来る。

#### 総 括

1. 5-Androstenediol による不妊形成ラットに HCG を投与すると卵巣は肥大し、機能回復像がみられたが、

黄体と同時に大きな有腔濾胞も混在した。

2. HCG に引き続いて DHA-enanthate を投与すると卵巣はさらに肥大し有意の重量増加をみるが、黄体と同時に有腔濾胞も混在する点で HCG の拡大された像とみるべきで、完全な修復とはいえない。

3. HCG に引き続いて DHA-sulfate を投与すると卵巣重量は enanthate 例の半分に増加するが組織像は大きく異なり有腔濾胞はなく健全な黄体と中小の卵胞によつて占められ機能改善像がうかがわれた。子宮も分泌像を示し内膜の乳嘴状の増生をみた。

#### 謝 辞

(稿を終るに当り、御懇篤なる御助言を賜りました日赤医療センター 院長小林隆先生に深甚の謝意を表します。また研究を抄めるに当り御指導と御援助賜りました鐘紡株式会社薬品研究所長松本秀俊博士並に錦織功副所長に謝意を表します。動物実験に絶大な協力を惜しまなかつた薬品研究所員各位に衷心より感謝します。)

#### 文 献

- 1) <sup>a)</sup> Pfeifer, C. A.: Am. J. Anat., 58, 195 (引用) (1936).
- 1) <sup>b)</sup> Barraclough, C. A.: Endocrinology 68: 62-67(1961).
- 2) Arai, Y. & Gorski, R. A.: Endocrinology 82: 1010-1014(1968).
- 3) Barraclough, C. A. & Gorski, R. A.: Endocrinology 68: 68-79(1961).
- 4) 竹脇滑: 幼時における性ホルモンの効果, 4-25 共同医書出版社, 東京(1966).
- 5) 近鶴次郎他: 日本薬学会第3回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム, 8, 98-109, 福岡(1971).
- 6) 小川誠一他: 日本薬学会第5回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム(講演抄録) 静岡(1973).
- 7) 西田悦郎: 日産婦誌, 18: 4, 285-290(1964).
- 8) 西田悦郎: 日産婦誌, 18: 5, 383-392(1964).

- 9) 五十嵐正雄：第19回日産婦総会宿題報告(1967).
- 10) Segal, S. J. & Johnson, D. C.: Arch. Anat. Microscop. Morphol. Exp. 48: 261-274(1959).
- 11) Kawakami, M., et al.: Endocrinol. Japon: 19: (4), 349-358(1972).
- 12) Kawakami, M., et al.: Endocrinol. Japon: 20(1), 59-66(1973).
- 13) Takewaki, K., et al.: Annotatio. Zoologie. Japon: 45(1), 1-7(1972).
- 14) 唐沢陽介他：産婦の並界, 22(3), 285-294(1970).

An Specific Effect of Dehydroepiandrosterone Sulfate and Enanthate on The Reproductive Organs of Female Rat.

- 2) Observation on the sterilized female rat by 5-Androstenediol treated with HCG previously.

Seiichi Ogawa\* and Yousuke Karasawa\*\*

Kanebo Medical Laboratories, KANEBO Ltd.\*  
& The Department of Obsterics and Gynecology, Sanraku Hospital.\*\*

- 1) The 210-day old persistent sterilized rats

originated in 5-Androstendial neonatally were injected with HCG 10 iu for 5 days incessantly subcutaneously. Their ovaries underwent marked hypertrophy and showed many corpus luteum and large follicles. The uterine luminal epithelium and stroma underwent marked hyperplasia histologically.

2) The sterilized adult rats were continuously injected with DHA-enthate 50 mg singly after treated with HCG for 5 days. Their ovaries underwent more marked hypertrophy and showed a proliferation of the uterine luminal epithelium and a cervical dilatation.

3) The similar sterilized rats neonatally were treated with HCG for 5 days and continuously they were injected with DHA-sulfate 10 mg for 5 days incessantly showed slight proliferation in the uterine tissues, especially elongated pappilate endometrium was characteristic and also their ovaries showed entirely normal features with many intact large corpus luteum and ordinary size follicles.

## 昭和 48 年度第 18 回 (社) 日本不妊学会学術総会抄録

## 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

田 中 利 男

日本モンキーセンター

動物分類学上、ヒトとサル類全体が含まれている霊長類は、原猿類 Prosimiae と真猿類 Simiae の 2 つのグループに大別され、さらに 52 属 209 種、(Fiedler の分類に準拠) に分類される。

ヒトに最も近縁なサル類は、他の哺乳類の実験動物に比して、解剖学的構造や生理学的機能、生化学的代謝の面での類似性が高いこと、またサル類にしか感染しないヒトの感染症の研究やワクチンの製造に欠くことが出来ないなどの点から、実験動物として他の動物種では期待出来ない重要な役割を果している。

生殖生理の領域では、1894 年 Heape がアカゲザルを供試して霊長類の生殖生理の基礎となつた性周期に伴う子宮粘膜の変化を明らかにした報告が最初とされている。

近年、サル類の生殖生理に関する研究の進展は著しく、ヒトの生殖生理に関する生物学的知見にこの面より大きな寄与をして来た。

また一方、現在実験に入手使用しているサル類の大半は、野生動物の転用であり、実験動物としての一般的条件一年齢素性と育生された環境の明確なことは全く満されていない。

その上、ヒトに感染する危険性のある病原体を保有しているものが多い。加えて、長年に亘り世界中の多数のサル類が使用され、地域開発などとあいまってサル資源は枯渇の一途をたどり資源確保が深刻な問題となつている。

これらの問題点を打開する対策の一つとして、実験動物としての合目的なサル類の人工繁殖の重要性が強調されている。

200 余種にのぼるサル類の生物学特性は種属により著明な差異が認められている。

これらの点に関し、比較霊長類学的な立場から、ニホンザルで得られた成績を中心として、総説的に説明し、ヒトの生殖生理研究の参考に供したい。

## シンポジウム I. 「性腺の機能とその検査」

### S-1 下垂体、卵巣系の機能とその検査

水口弘司・森 宏之・桑原慶紀

東京大学医学部産科婦人科学教室

各種排卵障害、無月経の臨床的診断には、従来、Kupperman 方式、Schrank 方式、またはその変法による負荷試験、あるいは血中、尿中ステロイド、gonadotropin の測定が行なわれて来ました。しかしながら、各種治療法の選択には、間脳—下垂体—卵巣系の適確な機能診断と病態の分析が必要であります。LH-Releasing Hormone (LH-RH) の臨床使用により、下垂体前葉に直接侵襲を加えて、gonadotropin 分泌機能を診断することが可能になったのは最近の一つの進歩であり、また血中 gonadotropin あるいはステロイドの微量測定が可能となり、臨床的に各種無月経の詳細な病態分析ができるようになりました。そこでわれわれは、まず、下垂体前葉の LH-RH 反応性に及ぼす諸因子について基礎的検討を行ない、ついで各種無月経症例での間脳—下垂体—卵巣系の機能診断を試みました。

LH-RH 投与は原則として 100 $\mu$ g、一回筋注法により、血中 LH, FSH, Estradiol (E<sub>2</sub>), progesterone の測定は radioimmunoassay によりました。

正常女性の下垂体 gonadotropin 分泌は性成熟過程、月経周期、妊娠、分娩などの特殊な内分泌環境、閉経期などで大きく変化することは知られております。下垂体前葉の LH-RH 反応性も月経周期における排卵前期、あるいは閉経期のごとく、生理的に下垂体 gonadotropin 分泌能の高まる時期には亢進し、妊娠、産褥初期のごとく、下垂体 gonadotropin 分泌の抑制された状態では LH-RH 反応性も抑制される。一方、LH-RH 投与後同時に測定した血中 E<sub>2</sub> の動態は、排卵前期の血中 E<sub>2</sub> 値は著明に高く、卵胞期、排卵前期では多くの症例で LH-RH 投与後の血中 gonadotropin 増加に反応して血中 E<sub>2</sub> も速かに増加するが、逆に減少するものもあり、変動パターンは一様ではない。また、下垂体前葉の LH-RH 反応性は去勢により亢進し、性ステロイド投与により一過性に亢進するが、長期投与により抑制される。以上のごとく、下垂体前葉の LH-RH 反応性は、下垂体 gonadotropin 分泌能とほぼ平行し、LH-RH 反応性を変化せしめる諸因子は内因性 gonadotropin 放出因子の前葉への priming 状態に影響することが示唆された。

各種無月経患者に LH-RH, Clomid, gonadotropin 負荷試験を行ない、血中 FSH, LH, Estradiol の動態を分析すると、間脳性無月経と考えられた症例でも、1) Hypergonadotropic 2) Normogonadotropic 3) Hypogonadotropic の 3 型に分類され、それぞれに間脳の障害部位、病態は異なる。一方、卵巣性無月経の症例では血中 FSH の高値、E<sub>2</sub> 低値が特長的であり、血中 E<sub>2</sub> 値は gonadotropin 投与に反応して増量しない。下垂体性無月経では血中 FSH, LH は低値であり、LH-RH 投与に反応しないが、血中 E<sub>2</sub> は低値を示さないものもあり、gonadotropin 投与に反応して血中 E<sub>2</sub> 増加を示した。

ステロイド feedback 機構、gonadotropin 放出因子の産生、分泌、作用機序、下垂体 gonadotropin の産生と放出等の問題が明らかとなれば、今後さらに無月経の真の病態分析も可能となるものと考えられる。

(本シンポジウムに発表の機会をあたえられた渡辺会長ならびに座長の労をとられた倉智、酒徳両教授に感謝致します。)

### S-2 多嚢胞性卵巣のステロイド代謝と診断

宮崎正敏・青野敏博

大阪大学医学部産科婦人科学教室

多毛その他の男性化徴候の著明な欧米婦人の多嚢胞性卵巣では、これらの症状が 3 $\beta$ -OH-dehydrogenase、あるいは aromatization の障害による androgen の過剰分泌にもとづくものと考えられている。そこで男性化徴候の明瞭でない日本婦人の多嚢胞性卵巣のステロイド代謝が欧米婦人のそれとどのように異なっているかを in vivo で検討し、併せて多毛とステロイド代謝の関係についても考察した。

#### (1) 尿中ステロイド排泄値の変化

in site の状態では判然としないステロイド代謝の異常をより明確に強調するために、デキサメサゾン投与による副腎抑制試験、および HMG を負荷する卵巣刺激試験を行なった。その結果、副腎抑制後の卵巣性 11-deoxy-17-KS 値は平均 1.1mg/day で、正常群より有意に高値を示した。したがって男性化徴候の乏しい日本婦人の多嚢胞性卵巣でも正常卵巣より卵巣性 androgen の分泌が増大していることが分った。しかしその程度は欧米婦人に比べて軽度である。つぎに HMG を投与すると、半数の症例で尿中 estrogen が正常範囲を超える 150 $\mu$ g/day 以上の過剰増量反応がみられ、かつこれらの症例では尿中 11-deoxy-17-KS 値も正常群に比べ有意の増加を示す特徴がみられた。この結果日本婦人の多嚢胞

性卵巢では, aromatization activity は, 欧米婦人のそれと異なり決定的障害はないものと考えられる。

### (2) 末梢血中テストステロン値

androgenic activity のもつとも確実な指標となる血中 testosterone を competitive protein binding 法で測定した。正常婦人では約 39.5ng/dl を示し, 多嚢胞性卵巢では約 72.6ng/dl で正常対照例に比べ有意に高値を示した。しかし正常範囲を超えるものは 16 例中 4 例にすぎず, 欧米婦人の多嚢胞性卵巢では,  $\frac{1}{2}$  以上が正常範囲を超える高値を示すという Lloyd らの成績と著しい対照を示している。この血中 testosterone の差が日本婦人の多嚢胞性卵巢に多毛の発生頻度の少ない理由と考えられる。多嚢胞性卵巢を男性型多毛合併群, 多毛合併群, 多毛のない群に分けると, 血中 testosterone 値はこれらの順に高値を示すが, これを尿中 11-deoxy-17-KS 値でみると, 多毛の程度との間に有意の相関性は見出せなかった。

### (3) 多毛と 5 $\alpha$ -reductase 活性値

毛嚢を含む皮膚にも前立腺同様, 5 $\alpha$ -reductase の活性のあることが証明されている。そこで多嚢胞性卵巢症例の恥毛の毛嚢について, 高安らの微量測定法を用いて 5 $\alpha$ -reductase の activity を検討した。その結果, resting hair では平均 18.24nmol/100mg/hr, growing hair では 20.12nmol/100mg/hr でいずれも正常群よりやや高い傾向がうかがわれたが, 有意差は認められなかった。したがって多嚢胞性卵巢では, 高い血中 testosterone に induce されて 5 $\alpha$ -reductase の活性も多少亢進しているものと考えられるが有意な結論は得られなかった。

以上の成績から, 日本婦人の多嚢胞性卵巢の病態は, 間脳, 下垂体, 卵巢系も含めて欧米婦人のそれと異なる種類のものでなく, その程度が軽症であることが分つた。なおここに用いた dynamic test はこれらの病態生理を in vivo で追究するのに適した方法であり, 開腹所見とも一致したため診断的価値もあることが分つた。

## S-3 卵胞成熟・排卵の病態とその検査

五十嵐正雄・根岸正勝・中村 淳  
群馬大学医学部産科婦人科学教室

卵胞の発育と成熟度の検査法について検討し, 次の成績をえた。①試験開腹, ラパロスコプ, カルドスコプを用いる卵胞直接視診法は, 卵巢の表面のみを観察する点に限界がある。②BBT の低温相の長さは 11~22 日が正常範囲であるが, これは月経初日から排卵までに要した日数を retrospective に示すにすぎない。③Brown

の semiautomatic rapid method による尿中 estrogen 定量は理想に近い卵胞発育検査法であるが, 高価な器械を必要とする。④血中 estradiol の radioimmunoassay も理想に近い卵胞発育検査法であるが, 高価なカウンターと日数を必要とするので実用性に乏しい。⑤腔細胞診はよい卵胞発育検査法ではない。(Naujoks, Taubert & Jürgensen 1970) ⑥Insler の Cervical Score (1970) を WHO の Expert 委員会では最も良い卵胞発育検査法として推奨しているが, この方法は半定量的で, 必ずしも尿中 estrogen と平行せず, all or none 的傾向がある。⑦五十嵐が 1957 年以来発表している頸管粘液量検査の結果は, 血中 estradiol の radioimmunoassay の結果とよく平行した。そこで外部からホルモン投与を受けていない排卵性月経周期の婦人で頸管粘液量を多数例においてしらべた結果, A 期(頸管粘液量が 5~40 mm<sup>3</sup> を示す卵胞発育開始期), B 期(頸管粘液量が 40~180mm<sup>3</sup> を示す卵胞発育促進期), C 期(頸管粘液量が 180~480mm<sup>3</sup> を示す卵胞成熟期)の 3 つの時期が区別された。次にこの正常排卵性周期婦人における頸管粘液量の 95% の信頼限界を結んだグラフを Folliculogram 卵胞発育図と呼び, 1 人の婦人の頸管粘液量を連日または数日おきに定量して, 上記の Folliculogram の上に plot することにより, その婦人の卵胞発育を示す曲線がえられ, その曲線を Folliculogram 上の正常頸管粘液量の 95% の信頼限界と比較することにより, その婦人の卵胞発育が正常か, またはどのような異常経過をとつたかを一目で判定出来る。この Folliculogram を応用して月経周期異常における卵胞発育の動態を検討した結果, a) 重症 II 度無月経では卵胞発育停止状態が続いている, b) 軽症 I 度無月経では B 期または A 期の状態が続く, C 期を欠如している。c) 無排卵周期症では月経周期の早い時期から B 期または C 期に相当する卵胞発育のみられる卵胞早熟型もあり, 一方月経周期の前半は正常なのに途中から B 期が遷延する型, A 期が遷延する型, C 期が遷延する型などが認められた。d) 排卵性頻発月経では周期の早い時期に C 期が出現する卵胞早熟が認められ, e) 排卵性稀発月経では B 期の延長後 C 期が起ることが認められた。頸管粘液量検査法の唯一の欠点は estrogen 欠如が長期にわたる II 度無月経症では粘液量と血中 estradiol 量とが必ずしも平行しないことであるが, 大量の estrogen 剤を約 7 日間投与すれば頸管粘膜の estrogen に対する感受性を回復することは可能である。

## S-4 下垂体睾丸系の機能とその検査

熊本悦明・丹田 均・青山竜生  
丸田 浩・藤田征隆  
札幌医科大学泌尿器科学教室

睾丸機能は間脳—下垂体—睾丸系の feed back 機序により調節されている。そのため睾丸機能を論ずる場合、Gonadotropin 分泌能も同時に考えねばならない。

Gonadotropin 分泌能を検索する方法としては、

- 1) 血中 Gonadotropin 値の測定
- 2) 間脳下垂体系の Gonadotropin 分泌予備能検査 (Clomiphene や LH・RH 投与による Gonadotropin 値の変動測定) とがある。

この2つの方法を用は Gonadotropin 分泌能が加齢や睾丸機能障害でどの様に变化するか、次のような Schedule で検索してみた。

- 1) 血中 Gonadotropin 値 (FSH および LH) の Basal level の変動…Episodic secretion を中心に
- 2) Gonadotropin 値と睾丸機能との関係
  - (a) 加齢による変動
  - (b) 精子発生能障害との関係
  - (c) Leydig 細胞機能障害との関係
- 3) Gonadotropin 分泌能と睾丸機能との関係

(a) LH・RH 投与

- i) 加齢による変動
- ii) 各種睾丸障害例の所見
- (b) Clomiphene 投与

i) 各種睾丸障害例の所見

このような Gonadotropin 分泌能は、特殊の場合を除き(間脳・下垂体系の機能不全の時)、睾丸より分泌される feed back factors で調節されているとされている。しかしその factors が何であるかは、いまだに的確になつてはない。そこでこの問題を分析する一手段として、一応その feed back factors と考えられる Androgen および Estrogen を臨床例に投与し、その dosis と Gonadotropin 分泌能の変動について検討した。

## S-5 睾丸のステロイド生成

穂坂正彦  
横浜市立大学医学部泌尿器科学教室

睾丸は性ホルモン分泌能と精子形成能との二つの機能を有しているが、睾丸由来の性ホルモンのうち testosterone は男子性機能を左右する最も重要なステロイド

である。

従つて、このたび私は in vivo の観点から plasma testosterone level および in vitro における睾丸組織中の男性ホルモン生合成能から、睾丸のステロイドの生成について言及したい。

## 〔I〕測定方法

(a) plasma testosterone および  $5\alpha$ -dihydrotestosterone の Radioimmunoassay ; Sephadex LH-20 micro column chromatography (system ; hexane : benzene : Mtoh=90 : 5 : 5) により、testosterone を短時間に完全分離することに成功し、同時に同一抗体により dihydrotestosterone の Radioimmunoassay を確立した。

(b) in vitro における睾丸組織中の男性ホルモン生合成 ; 特に検体組織の微量化 ; progesterone-7  $\alpha$ -H (9.6 Ci/mM) を substrate とした場合、使用量  $1\mu\text{Ci}$ ,  $2\mu\text{Ci}$  のいずれにも  $50\text{mg}$  の少量の睾丸組織 (成人停留睾丸および老人睾丸組織) にて、substrate は完全に消費され、incubation 1 時間で同一個体の testosterone 変換率は一定となる。すなわち、組織重量、incubation 時間、その他の全ての条件を一定にすれば、わずか  $50\text{mg}$  の生検材料で他疾患との比較検討が可能である。

## 〔II〕正常男子の睾丸或性ホルモン分泌

(a) 男性ホルモン分泌の年齢的变化 ; testosterone 分泌の発現は  $12\sim 13$  歳で、同年代でほぼ成人 level に達し、以後  $80$  歳代で初めて有意の下降を示す。

(b) HCG 刺激試験 ; 判定基準確立のため、一回筋注法 ( $4,000$  単位および  $10,000$  単位筋注、1 時間および 2 時間後の testosterone level) と連続筋注法 ( $4,000$  単位連続 3 日間筋注) を検討した。その結果一回筋注法では投与量での差はなく、 $4,000$  単位の最高反応倍率は  $1.3\pm 0.2$  倍 ( $n=10$ )、 $10,000$  単位では同じく、 $1.29\pm 0.26$  倍 ( $n=10$ ) で、連続筋注法の最高反応倍率は  $2.6\pm 0.6$  倍であつた。また一回筋注法は反応し得ない例もあり、HCG 刺激試験においては連続負荷が必須である。

指導 ; 高井修道、共同研究者 ; 西村隆一、今野稔、間宮紀治、公平昭男、藤井浩、岩崎寛和

## S-6 ヒトにおける精子形成能

根岸壮治  
東京医科歯科大学医学部泌尿器科学教室

精子形成能 Spermatogenesis は未分化の精細胞が分裂増殖して精子に成熟する過程である。精細管のなかには種々の分裂、成熟段階の精細胞がいろいろな組合せで配列されている。この精細胞の組合せ cell association

は精細胞の成熟につれて変化するが、結局はじめに存在した cell association が再生し、このことが繰返されている。この cell association はいくつかの pattern に分類され、これは stage と呼ばれている。stage の一巡は精子形成能のサイクルに相当するが、ヒトでは同一精細管断面にいろいろな stage が混在しているため精細胞の組合せは一見極めて不規則にみえる。しかし多数の標本についてみると凡よそ 6 つの stage に区別することが出来る。したがって、精子の増殖成熟におけるこの cell association という組合せはヒト精子形成機能を判定するにあたって十分に考慮されなければならない。

睾丸生検による精子形成能の判定にはすでにいろいろの基準が発表採用されているが、要は出来るだけ客観的な評価が可能な方法を決めることである。この意味でわれわれは上述の cell association を考慮しながら Johnsen の score count 法を 700 例の睾丸生検標本に適用して比較検討を加えた。これは精細管内の精細胞の成熟度を 10 段階の評点 score の基準をもうけ、個々の精細管の score をつけ、全精細管の score の算術平均 mean score (MS) を求める方法であるが、700 例の MS と年齢との関係をみると満足すべき結果がえられた。

また、胎児あるいは乳幼児期の睾丸の精細管は未分化の精細胞と sertoli 細胞からなっている。われわれの検索によると、この初期の未分化の精細胞はそのまますべてが精祖細胞に分裂発育するものでなく休止状態からその大部分は消滅あるいは休止状態にはいつてしまい、思春期にはいつてはじめて本来の精子形成能をいとなむ精細胞が再出現して来ると考えられる所見が得られている。たとえば組織化学的にも、この未分化精細胞は alkaline-P-ase の存在という質的に特異な所見を呈しているが、生後しばらくしてこの酵素は証明できなくなる。このことは性腺分化の時期に性腺に移動した原始精細胞が alkaline-P-ase 陽性ということで他の細胞と区別されるという Witschi の成績と照合すると興味深い。胎児および乳幼児期と思春期以後では精細胞が質的に異なり、multipotent の原始精細胞が精子になる potentiality のみに方向づけられるには何らかの Factor が関与しているものと考えられる。この点に関連して合成 LH-RH の臨床応用成績をも報告する。

sertoli 細胞は精子形成能が発現する時期になると次第に識別できるようになる。sertoli 細胞は少なくとも組織化学的にはステロイド合成能の存在を想定しがたく、電顕的にもステロイド生成細胞とはかなり異なる構造を示している。sertoli 細胞の生理学的役割についてはいろいろと論じられているが、われわれのその他の検索成績をもとにこの点にも言及する。

## シンポジウム II 「流産の成因と治療の限界」

### S-7 細菌感染と家畜の流産

喜多 英治

三重県中勢家畜保健衛生所

家畜においては集団的な流産の原因となる細菌(含原虫)としては、牛に対する *Brucella abortus*, *Vibrio fetus*, *Trichomonas foetus* および *Leptospira* sp., 馬に対する *Salmonella abortus-equi* 並に羊に対する *Vibrio fetus* が良く知られている。

一方、演者らが家畜衛生試験場中国支場において、牛流産胎児 894 例の細菌学的な検査を行ない 571 例 (63.9%) から流産の原因とみなされる細菌を検出することができた。

検出された細菌の主なものは *Vibrio fetus* 183 例 (20.5%), *Escherichia coli* 111 例 (12.4%), *Streptococcus* sp. 44 例 (4.9%), *Staphylococcus* sp. 29 例 (3.2%), *Corynebacterium* sp. 24 例 (2.7%) および *Clostridium* sp. 23 例 (2.6%) であった。この成績では *Vibrio* による流産の多はことが注目されるが、この検査では普遍的に材料を集めたのではなく、とくに *Vibrio* 汚染地域からの材料が多く含まれていたことによるものである。

つぎに流産機序を明らかにする目的で *Vibrio fetus* を妊娠後半期のモルモットに接種し、体内における菌増殖と流産の関係を検討した。静脈内接種では、接種後 3 時間目までは実質臓器および脱落膜壊死域にきわめて少数の菌が認められたが、6 時間以降 3 日目まではいずれの部位からも菌は検出されなかつた。3 日目以降になると脱落膜、とくに壊死域および結合帯に多数の本菌集簇が認められ、これらの部位は本菌の増殖拠点と考えられた。ここで増殖した菌はしだいに栄養細胞域および副胎盤に広がり、その後、臍帯および胎児に侵入する所見が認められた。この時期には多くの例が流産し、子宮腔の汚染がみられたが、このような例では巨細胞層から菌が検出されることが多かつた。腹腔内接種例の菌増殖は、静脈内接種群に比べ約 2 日遅れて認められた。この材料について、乾は組織学的に検討し、血管変性、血栓形成および血行静止などによる循環障害が早期の菌接種反応として特徴的であることを認め、この初期反応の循環障害のため脱落膜の小血管内に *Vibrio fetus* が増殖し、ついで変性、壊死に陥つた周辺組織へ菌が拡散し、増殖するものと推察している。

同様目的で妊娠モルモットに *Leptospira autumnalis* を接種すると、モルモットは、発熱開始とほとんど同時または24時間以内に流産するもの(1群)、発熱の中期および後期に流産するもの(2群)、発熱が終了してから流産するもの(3群)およびさらにおくれて流産するもの(4群)の4つの群に区分することができた。これらの群の *Leptospira* 検出状況は、1および2群では肝、胃、子宮および胎盤が *Leptospira* 陽性、胎児は陰性、3群では肝、胃、子宮、胎盤および胎児いずれも *Leptospira* 陽性、4群では肝、胃、子宮、胎児いずれも陰性であった。

### S-8 ウイルス感染と家畜の流産

藤崎 優次郎

農林省家畜衛生試験場

馬、牛、豚のウイルス性流産の発生とその要因について述べ、特に豚の死流産に関連した日本脳炎ウイルス(JEV)の胎盤・胎児感染については、マウスによる実験成績をも含めて話題提供したい。

文献上みられる主な流産原因ウイルスは次のようである。馬では、鼻肺炎(ヘルペス)、動脈炎(ヘモ)の各ウイルス、牛では、伝染性鼻気管炎(ヘルペス)、下痢症(ヘモ)およびリフトバレー熱(アルボ)の各ウイルス、豚では、偽狂犬病(ヘルペス)、HVJ(ミクソ)、豚コレラ(ヘモ)、JEV、エンテロおよびパルボの各ウイルスである。以上のほかに垂直感染が認められるものが2、3ある。

日本で発生し被害がでているのは次のものである。

1. 馬鼻肺炎ウイルスによる流産：このウイルスの常在地では子馬の時代に感染し免疫になるので流産発生は散発的であるが、馬の移動などによつて集団発生することがある。

日本では、1967年に米国から輸入した馬に集団発生した。在来株とは抗原性が異なるウイルスによるものであった。馬の妊娠期間は約11カ月であるが、流産は9、10カ月のものに多発する。ウイルスは流産胎児の肺、肝、脾などから分離される。ウイレミーはみられない。

2. 牛伝染性鼻気管炎ウイルスによる流産：このウイルスによる牛の病気は多様で、鼻気管炎、結膜炎、急頭炎、流産、脳炎などを起す。日本では、1970年に米国からの輸入牛が伝染源となつて北海道で集団発生した。牛の妊娠期間は約9.5カ月であるが、流産は6～8カ月のものに多発する。ウイルスは流産胎児の胎盤、肝、脾などから分離されるウイレミーはみられない。

3. JEV、豚パルボウイルスによる流産：豚の死流産

は年間を通じて全国的に発生し経済的損害は大きい。そのうち JEV とパルボによるものが、かなりのウエイトを占めている。繁殖豚の一部は毎年更新されるが、そのうち春～夏に種付けされる初産豚に多発する。その理由は、それらの豚が妊娠中に両ウイルスの流行期に遭遇して初感染をうける率が高いからである。いずれも感染時にウイレミーがみられるが母豚には障害を与えない。豚は多胎でその妊娠期間は114日であるが、妊娠前半に感染すると発生率高く、分娩予定日頃に種々の發育段階の死亡胎児を娩出する。それは、豚の胎盤が胎児ごとに独立しているので胎児死亡が同時に起らないことを意味する。妊娠末期に死亡し娩出された胎児の脳や内臓からウイルスが分離される。

マウスを用いて JEV の胎盤・胎児感染実験を行なつた結果、マウスの系統、使用ウイルス株、接種経路、接種時の妊娠日数によつて感染率が差がみられた。母体感染の強弱、感染時の胎齢、胎盤の感染、胎児の感染、胎児死亡などの相互関係は、きわめて複雑であるが、データにもとづいて若干考察したい。

### S-9 昭和48年秋、西日本に多発した牛の異常産

野坂 大

宮崎大学農学部畜産学科

昭和47年初秋から関東以西の24都県下に脳や四肢の奇形を伴う牛の流早死産が多発し、昭和48年3月末までに総数27,852頭に達した。われわれは宮崎県内における本疾病の発生状況、異常子牛の臨床・病理所見を検索した。

宮崎県における昭和47年1月から昭和48年5月末までの牛異常分娩の総数は5,055例で例年の数倍である。今回の異常産は(1)例年みられる流早死産、(2)虚弱子牛、(3)肢の奇形(関節彎曲症)子牛の流早死産、(4)脳奇形(脳水腫)子牛の流早死産に分けられる。流早死産および虚弱子牛は9月を、肢の奇形は12月を、脳奇形は2月をそれぞれピークとした発生のずれを現わして出現し、昭和48年5月に一応終息した。発生割合は流産、肢奇形、死産、早産、脳奇形、虚弱子牛の順であった。

入手可能な異常子牛約50例について稟告聴取・臨床検査を実施した結果、牛の品種・性別間に差がなく、母牛は初産から4産次にわたり、妊娠中全身状態に異状はなかつたが胎水過多を示したものが多く、異常分娩がその後の発情・受胎に与える影響はない。分娩は予定日より早いものが多く、出生時体重は軽いが胎位の異常・難産が多い。関節彎曲症は、四肢のいずれかあるははすべて

が強く屈曲または伸展したまま硬直し、人力によるも屈伸不能で、子牛は起立不能、X線検査で骨には変化がないが罹患肢の筋肉は非動性に萎縮して関節は硬着、筋電図検査で関節の彎曲を反映した成績を示した。罹患肢は前後・左右・数は区々だが屈位硬直が多い。肢の奇形に相応して脊椎の彎曲したものもある。脳水腫子牛例には四肢の関節彎曲症を伴って起立不能のものと肢に異常がなく起立歩行は自由のものがある。脳奇形子牛の特徴的臨床症状は盲目、門歯の發育不全、呼吸音の異常（喘鳴など）で、血液の一般所見・生化学的検査では著変を認めないが脳脊髄液の蛋白量が異常に多い。

病理学的に脳奇形は大脳の両半球を全く欠如した水腫性無大脳症や大脳側頭葉が欠損している水腫性小大脳症で、頭蓋の形はやや大きい程度の補空性脳水腫である。また関節彎曲症の筋は形成不全像を示した。脳奇形、肢奇形の全例を通じた特徴的病理像は中枢神経系の変性病変であり、本症発生の前半時には虚弱子牛や関節彎曲症、その後半は脳奇形の異常子牛が出現している。

以上、今回の牛の異常産は、昭和47年8月を中心としたある限られた時期に、胎児の中枢神経系をも侵すある種の感作が妊娠牛を襲い、その時期の胎児は胎齢に関係なく流早死産および虚弱子牛分娩を発生、流産を免かれた3~4カ月胎齢の胎児は脳の形成に障害を受けて脳水腫に、5カ月以上の胎齢のものは運動中枢神経系に障害を受け関節彎曲症として早死産および正産したと思考される。

本症の病因については、その流行の様相から病原微生物の疑いが強いが、われわれの検索では陰性に終わった。

## S-10 卵の異常

鈴木秋悦

慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室

性細胞の形成時に始まり、受精、病床、臓器形成期、さらに妊娠期間、分娩時に至る、すべての Developmental stages にわたって、個体は異常發育または流早産の危険に曝露されるといつても過言ではない。

その原因の中で、最も重要な因子の1つとして、従来から両親の性腺中の形質的なもの、あるいは遺伝的因子の欠陥になるものがあげられてきている。すなわち、卵子、精子等の性細胞形成時の異常発生、減数分裂期を中心とした受精卵初期発生過程での染色体異常発生の問題、さらに、遺伝的因子、または母体側の原因などで、發育、着床、胎盤形成時に障害の生ずる場合もあり、Embryo そのものの原因にくわえて、Receptor として

の母体側との相互関係の破綻が、流早産あるいは胎児死亡につながるともいえる。もちろん、この他に、外因性の直接的因子の関与によつて、流早産が惹起される場合もあり、子宮環境の変化が間接的に流産の原因となつている場合もありうる。

流産の成因として、精子および卵子の異常が関与しているということについては、従来から多くの報告がなされており、とくに、卵子については、いわゆる、病的卵 (Pathologic Ova) が、流早産の原因として重視されてきているが、病的卵の生物学的特性については解明されてきていない。

われわれは、最近、性細胞の老化現象と、老化卵子の生物学特性、あるいは、老化卵の電子顕微鏡による微細構造の解明、老化卵受精後の胞胚期における染色体分析等を通じて、配偶子病 (Gametopathy) の成因に関する研究を行なつてきている。しかし、臨床的に妊娠の成立を確認する前における流産例、すなわち広義の着床不全のカテゴリーに入るものの成因に関する本態は、なお不明であり、まして、その治療あるいは予防上の問題点は全く解明されていない。

従つて、流早産の成因としての卵子の異常の関与という問題は、実験的研究を通じて、これを類推することが出来るだけである。

われわれは、本シンポジウムにおいて、先づ、流産の成因としての病的卵の関与の可能性について解説し、ついで、最近、われわれが行なつてきている、遅延排卵、遅延受精、遅延着床と流産の関連性についての実験的研究の一部を紹介し、合わせて、人卵子を含む各種哺乳類卵子の老化過程に関する電顕的研究を報告し、今後の問題点にふれたいと思う。

## S-11 着床の異常とその周辺をめぐる諸問題

林 要

神戸大学医学部産科婦人科学教室

着床のメカニズムは複雑である。このため着床現象を具体的に追求しようとするれば、その方法論はおのずと基礎実験的なものにならざるを得ない。われわれはこの方面の研究で得られた実験結果を主とし、臨床的観察を副として述べてみたい。

### I) homograft としての胚着床の形態学的特異性

胚は卵子と精子の hybrid cell である。したがって trophoblast と子宮表面上皮細胞がたがいに接着する着床現象は極めて興味深い。

われわれはラット着床の初期段階では両者間に simple apposition が、ついで intermediate あるいは gap

junction like structure が形成され、trophoblast の上皮基底膜破壊後は trophoblast と脱落膜細胞間に junction like structure の形成されることを観察している。

## II) 着床と progesterone (P)

卵巣摘除、P 投与方法による遅延着床ラットの子宮内膜を透過型、走査型電顕を用い、P 非投与群のそれと比較した結果、前者では表面上皮に豊富な apical vesicle、拡大した Golgi 野、巨大な細胞質突起がみられ、こうした形態像が子宮内胚の viability 維持に密接な関連性を持つと推定できた。また遅延着床ラットに着床量の estradiol を投与、P 同時投与群と非投与群の内膜を比較した結果、脱落膜細胞や表面上皮の微細構造上の面からも P の必要性が示された。

## III) 着床と estrogen

遅延着床ラットに着床量の estradiol (E) を投与した結果、投与後 4 時間頃から内膜表面上皮の胞体上部における脂肪滴の出現、胞体下部の polysome の増加などの所見のほかに、間質細胞の接近現象がみられた。そしてこの間質細胞の接近現象は actinomycin D の投与で block されない。

他方去勢ラットに E を投与、その子宮から抽出された高分子 RNA を遅延着床ラットの子宮腔内に投与した結果、着床が誘起されることを観察した。かかる着床促進作用は RNase 処置高分子 RNA、低分子 RNA、さらに去勢、P 投与、絹糸結紮法によつて作られた脱落膜性高分子 RNA の投与などにおいては現在のところ認められていない。このほか estrogen 依存性高分子 RNA を、去勢、P 前投与ラットの子宮腔内に投与したさいの内膜間質細胞の DNA 動態などについても言及する。

IV) ト黄体に対する HCG の作用と流産の予後判定法としての HPL, estriol の測定

教室で開発された卵巣—子宮ユニットとしての in vitro perfusion system などを用い、HCG 投与後における黄体の P 放出動態などについて検討したので、得られた結果を着床不全症に対する HCG 療法の治療的意義との関連のもとに述べる。

また流産の予後判定法としての HPL, estriol 測定の有用性などの問題についてもあわせて報告したい。

## S-12 免疫学的観点からみた流産の成因

高橋 威

新潟大学医学部産科婦人科学教室

I. 流産を免疫的方法により、実験的に起すことは可能か

妊娠ラットに対して、donor の雄ラットの皮膚移植を行ない、妊娠に及ぼす影響を検討したが、流産を起すにいたらなかつた。しかし、ラットの胎仔および胎盤の homogenate を用い家兎を免疫して作製した抗血清を、妊娠初期ラットに投与したところ、流産を起すものもあり、流産にいたらないものでも、胎仔・胎盤の数、重量、妊娠継続についてみると、対照に比し障害が認められた。

II. 流産患者は胎児抗原により、強く感作されている証拠はあるか

a). 流産胎児胎盤の形態学的研究：流産の場合は胎児の存在は認め難いか、あつても異常を伴うものが多く、胎盤は壊死を伴い線維性変性があり、免疫の形態表現と解される所見が認められた。

b). 血清抗体出現の有無：免疫粘着反応 (Immune adherence) を用い、正常および流産絨毛に対する自己血清中の抗体の有無を検討した結果、流産例に抗体を有する頻度が高かつた。また、間接蛍光抗体法を用い、同様に自己血清中の抗体の有無を検したが、正常絨毛では syncytiotrophoblast は陰性、cytotrophoblast では陽性であるものが多いのをたいし、流産絨毛では syncytiotrophoblast の外層に強い蛍光を示すものが多かつた。

c). 細胞性抗体出現の有無：絨毛細胞と母体リンパ球との混合培養 (mixed leucocyte trophoblast culture) により流産絨毛に対する患者リンパ球の反応性パターンを検討した。正常絨毛と母体リンパ球、他の妊婦リンパ球とでは、両者に培養日数により反応パターンが異なり、母体リンパ球が胎児抗原により感作されていることが示唆された。

d). 補体の動態：CH<sub>50</sub> 値は流産例で低値を示し、また、切迫流産例で血清中 Bic Globulin の低値傾向が示された。

III. 流産の成因における免疫的機序の関与

a). 習慣性流産夫婦間での MLC

3 回以上流産を経験した習流夫婦間で、MLC を行ない、夫の刺激細胞と妻の反応細胞を用いた one way reaction では、対照群に比し高い反応性を示し、夫婦間の移植抗原性の差の強いことが示唆された。

b). 血清中免疫抑制因子 (immune inhibitory factors) の動態：妊婦血中にはリンパ球に PHA に対する反応性を抑制する因子が存在することは確実であるが、流産患者における本因子の消長は目下検討中である。

また pregnancy zone protein (Smithies ら) の消長についても検討を進めている。

まとめ：妊娠現象そのものの免疫学的機序の解明の不十分な現在、流産の成因における免疫機序を明らかにす

ることは、まだ極めて困難であるが、以上の実験成績が示唆するように、流産の中には免疫機序の関与があり、また、早期胎芽死亡時の流産物排出に免疫的拒絶機序の関与することが推察された。

### S-13 妊娠初期流産に対する免疫学的研究

伊藤 祐 正

愛知医科大学産婦人科学教室

流産における免疫学的な成因を検索するために、移植免疫において主体となる細胞性免疫の担い手であるリンパ球について、正常妊娠初期妊婦（以下正常妊婦）と妊娠初期切迫流産患者（以下切流）の両者で種々検索し比較検討した。

実験は第1に *in vitro* でリンパ球を培養し、Blastogenesis *in vitro* を応用し以下の検査を行なった。①非特異的免疫反応状態を比較するために PHA を添加培養、②母体にとって特異的抗原と考えられる絨毛細胞と混合培養、③組織適合性の面より mixed wife-husband lymphocytes culture、以上の3点でリンパ球幼若化率を正常妊婦と切流で比較検討した。

第2に妊娠して新たに産生される HCG は免疫反応を抑制するとの報告もあり治療の面より流産に対する HCG の免疫学的効果を検討するため、切流に HCG 5000 I.U. ~ 10000 I.U. 投与しその後で上記①②の検査を行なった。

第3に妊娠したことによって起る母体リンパ球の変化をみるために末梢血リンパ球の DNA analysis を行ない非妊婦と比較すると同時に正常妊婦と切流とを比較検討した。

対象は正常妊婦122名、切流57名、健常非妊婦24名、健常男子8名の末梢血リンパ球を使用した。

実験方法はリンパ球は Ficoll-angiogratin による比重分離法で分離し、20% Fetal calfserum 添加 TC 199 を medium とし培養した。PHA は Difco の M を使用し72時間培養し、絨毛細胞と夫リンパ球は mitomycin C にて処理した one-way method にて120時間培養した。幼若化の判定は DNA 自動測定装置 impulse cytophotometer (I.C.P. 11型) にて培養細胞の DNA 量を測定し行なった。末梢血リンパ球の DNA analysis は比重分離法で分離したリンパ球についても I.C.P. にて DNA ヒストグラムを描き分析した。

実験結果は第1の *in vitro* の実験では①PHA に対する反応は切流を正常妊婦ではみとめられなかったが、切流で連続測定したのものにおいて幼若化率の上昇するものがみられた。また妊婦は非妊婦に比べ低い幼若化率を

示し妊娠中は非特異的免疫反応は低していると考えられる。②絨毛細胞との混合培養では妊婦の場合10~20%の幼若化を示し、絨毛細胞が Transplantation antigen を持っていると考えられる。また切流の中には連続検査した場合著明に値の上昇するものが多く免疫学的機序の関与が示唆された。③wife husband mixed culture では切流において高い幼若化率を示すものが多くみられた。第2に HCG 5000~10000 I.U. 投与前後の検査では特に変化はみられなかった。*in vitro* で PHA と HCG を同時に加えて培養した場合、PHA の反応を抑制する効果が非妊婦でみられた。

第3に母体末梢血リンパ球の DNA analysis では妊婦は2n 以外にも4n に2n の約  $\frac{1}{10}$  のピークをほとんどの例にみとめ、非妊婦では4n 以外のピークはみとめなかった。妊娠することにより母体リンパ球に何等かの変化一例え幼若化のような一が起ることが示唆された。正常妊婦と切流では DNA ヒストグラムに現在のところあまり差はみとめなかったがさらに検討したいと考えている。

以上の実験結果より母体は妊娠したことにより何等かの免疫学的 attack を受け流産の中にはそれが成因となっているものがあると考えられ、さらに追求する所有であるが、その反面この attack を block する因子が当然存在すると思われ、この点を含めて追求することにより流産の免疫学的成因もさらに明確になると考える。

### A-1 黄体機能と血中 Progesterone

○万羽 進・安達武士・伊藤銈一  
青木孝允・成田 収・中西 勉  
石塚直隆

名古屋大学医学部産科婦人科学教室

血中 Progesterone を連続測定し、黄体機能を動的に捕えんと試みた。すなわち月経周期の血中 P を連続測定し、さらに HCG 合成 gestagen を負荷して P の変動を追跡した所、HCG は黄体機能を賦活し、gestagen は抑制する。その抑制は可逆的であると考えられる。さらに妊娠時の黄体機能を見る為に血中 P を測定した。妊娠7~9週に中絶を行なった症例で、その前後で P を測定すると、何れの症例においても、中絶後著明な低下を認め、その値は、黄体期の血中 P 値より、さらに低値となつた。中絶後 HCG 6000 単位3日間投与すると P の低下が遅延した。すなわち妊娠黄体が胎盤性の HCG により刺激されていたことを推定させ、妊娠黄体も、また、外来性の HCG によって賦活されると考えられる。また妊娠初期に gestagen を投与し、血中 P の変動を見

ると月経黄体に見られるような著明な抑制の Patern は得られない。また妊娠初期に黄体摘除せる症例で血中 P を測定すると黄体摘除のみで P は低下した。

以上より妊娠 7 週の早期より、すでに胎盤性の P が産生されていると考えられ、妊娠黄体もまた、外来性の HCG によつて賦活されると考えられる。この事実は今後、黄体機能不全、切迫流早産における HCG 療法の、臨床応用の有効性を示唆するものと考えられる。

A-1

質問 楠田 雅彦 (九大・産婦)

・HCG 3000IU を 5 日間投与して血中 P 値が有意に上昇しているが、対照周期は同一症例についてか。

・この HCG に対する P の反応は例数にしてどれだけの割合で認められたか。

・HCG に反応が悪い症例の BBT や内膜その他の所見はいかがでしたか。

答 万羽 進 (名大)

・前周期を control した同一症例である。

・HCG 負荷した症例は 4 例あり、全例でも反応を認めるも 1 例は血中 P の上昇は不十分であった。

質問 広井 正彦 (新潟大・産婦)

・妊娠初期には大量の HCG が分泌され、これが妊娠黄体を賦活していると考えられているが、HCG 3000~5000IU で本当に妊娠時と同様な妊娠黄体を賦活出来るか。というのは私達が高単位 HCG を投与し尿中および血中 HCG 値を測定しても妊娠時のごとき大量の HCG の変化がみられないのでお聞きしたい。

答 万羽 進 (名大)

・月経黄体は HCG 3000 単位/day で賦活されたが妊娠黄体では HCG 3000 では著明な上昇が認められない症例もあった。スライドは 6000 単位で stimulate された症例である。

質問 品田 孝夫 (群大・産婦)

・私共も合成 Gestagen を黄体期に投与すると、Control にくらべて有意に血中 Progesterone の低下することを認め、すでに昨年の本学会総会で発表致しました。臨床的に黄体機能不全や、切迫流産に対する合成 gestagen 療法の有効性について、どのようにお考えですか。

答 万羽 進 (名大)

・流産には gestagen の種類によるが外来性に天然型の黄体ホルモンである progesterone を追加することは有効と考える。

・切迫流産、黄体機能不全に対しては、黄体より内因性 P を促進する意味で HCG 投与が有効であると考えている。

## A-2 妊娠尿中全中性 Steroids の Gaschromatography HMG-HCG 療法による妊娠例の解析

○戸谷良造・佐伯明彦・鈴置洋三

国立名古屋病院産婦人科

児玉 光雄

愛知県ガンセンター化学療法部

〔目的〕 17-OHCS に属する Steroids はガスクロによる分析が困難であったが、MO-TMSi 誘導体とすることにより全ての尿中中性 Steroids を一斉に分析しうようになった。正常月経周期 および HMG-HCG 療法による妊娠例の尿中中性 Steroids を解析することにより、妊娠時の Steroid 代謝を解明せんとした。〔方法〕 正常月経周期婦人、HMG-HCG 療法による無効例、排卵例、妊娠例の 24 時間尿から中性 Steroids を抽出し MO-TMSi 化して昇温 gaschromatography による分析を行なった。〔成績〕 得られた約 14 種の既知 Steroids および MU 値 25.0~26.5 の分画 F<sub>1</sub> (主として 11-deoxy-17KS を含む)、MU 値 26.5~28.5 の分画 F<sub>2</sub> (Pd, Pt および 11-hydroxy-17KS を含む) および MU 値 28.5 以上の分画 F<sub>3</sub> (主として 17 OHCS) として分析定量すると、正常月経周期例、HMG-HCG による排卵例とも黄体期には F<sub>2</sub> を構成する全ての Steroids、すなわち Pd, Pt, 11-hydroxy-androsterone, 11-hydroxy-etiocholanolone の上昇を見た。F<sub>1</sub> は月経周期を通してほとんど変化せず、F<sub>3</sub> は黄体期に軽度の上昇を見た。特に妊娠例では排卵推定日直後より F<sub>2</sub> 分画の Steroids がいずれも上昇し妊娠経過とともにその上昇は進行した。F<sub>2</sub> に対する F<sub>1</sub>, F<sub>3</sub> の比をみると、排卵、黄体形成、妊娠の成立による変動は F<sub>2</sub>/F<sub>3</sub> に比し F<sub>2</sub>/F<sub>1</sub> に大きくみられた。尿中中性ステロイドの同時一斉分析による F<sub>2</sub> 値あるいは F<sub>2</sub>/F<sub>1</sub> は卵巣機能、胎児-胎盤系機能を推察する示標となりうることを提示した。

## A-3 教室不妊外来における排卵誘発療法の検討

### その 2. ゴナドトロピン療法を除く

○中村正彦・津田知輝・倉野彰比古

永田行博・熊本照史・楠田 雅彦

九州大学医学部産科婦人科学教室

当科不妊外来で系統的に検査、治療を行なった排卵障害婦人について、ゴナドトロピン療法を除く諸種の療法の成績を検討し、次のような結果を得た。クロミッドでは、270 例、926 周期のうち、II 度無月経を除くと、例数が約 90%、周期数で 60% 以上の排卵率を得て、投与周期の妊娠は 66 例 69 周期であった。セキノビッドでは、94

例, 183周期のうち, 例数周期数とも, 約48%の排卵率で, 9例9周期の妊娠を得た. エピメストロールの38例155周期では, 例数で55%, 周期数で26%の排卵率, 4例4周期の妊娠を得た. これら三者の投与量の検討では, クロミッドでは50mg 5日間で無効のものに100mg 5日間, さらに150mg 5日間投与を試みてみたが, 約 $\frac{1}{3}$ に増量の効果が認められた. セキソビッドでは600mg 5日間で排卵率が良く, エピメストロールでは2.5mg 10日間, 5mg 10日間で差がなかった. 頸管粘液は, 三者とも約半数に0.1ml以上の増量が見られ, 排卵に成功した周期の増量が多かった. 排卵の時期は, クロミッド, セキソビッドでは服用開始後11~16日目に排卵する例が多く認められたが, エピメストロールではやや遅れる例が多かった. 卵巣楔状切除術についても検討したが, II度無月経を除き31例で87%の排卵率, 42%の妊娠率を得た. これらの治療を受けた不妊婦人264例のうち, 最終的に104例に妊娠が成立し, II度無月経を除けば約45%の妊娠率であった.

## A-3

質問 森 宏 之 (東大・産婦)

・Clomid と Sexovid にて ovulation(-)の Case で, CM 量の増加に差があるとの発表であったが, その Mechanism をどう考えるか.

答 中 村 正 彦 (九大・産婦)

・Sexovid の weak-estrogenic な作用と, clomid の anti-estrogenic な作用の差に起因していると思うが, 頸管粘液を check した回数が少ないので, その差がそのまま出ているかどうかわからない.

質問 平 野 睦 男 (東北大・産婦)

・Clomid と Sexovid の排卵率の差のほかに排卵した症例についてのみの妊娠率の差について検討されていたら御教示下さい. われわれの成績では sexovid は低いが, 排卵した症例についての妊娠率は clomid より高いという結果をえております.

答 中 村 正 彦 (九大・産婦)

・Sexovid, clomid の排卵例数に対する妊娠例数は, 投与例数に差があるので今回は検討していない.

質問 布 川 修 (新潟大・産婦)

・続発排卵周期症では自然排卵で妊娠にむすびつくことが考えられ, 排卵誘発をしなくてもよい場合もあつたのではないか.

・Occasionally anovulation, persistent anovulation Amenorrhea などの診断異常をどのようにしておられますか.

答 楠 田 雅 彦 (北大・産婦)

・無月経の grade 判定法として, 内服投与としては

Dehydroretroprogesterone 1日10mg を5日間, 注射としては progesterone 25mg を1回筋注して, 消退出血あるもの1度とした.

・持続性かまたは散発性無卵周期かの判定は実際にはかなりむづかしいことがあるのは, この方面の研究に従事されている方は皆さん実感されていると思う. 私共は一応4カ月間の BBT 観察で, その間に不完全でも1回でも排卵ありと推定されるパターンを示したものは散発としている. 御指摘の偶発した排卵が, 薬物による誘発排卵かについてはわれわれは十分に注意をはらって総合的に判定している.

## A-4 初潮齢と閉経齢の関連について

○岡田雄一・勝 信昭・一戸喜兵衛  
和歌山医科大学産科婦人科学教室

初潮発来齢の個体差は多くて数年であるのに, 閉経齢では2倍以上の10数年の広がりを持ち, その遅速を支配する因子がいろいろと推測される. 今回これらの事実の検討もあつて初潮発来齢と閉経年齢との相関性について1888年~1917年間に生れ, 初潮と閉経の両年齢が明確な婦人を対象に若干の統計観察を行なつた. [I] まず初潮発来の早い婦人の閉経齢は果して早いのか否か, また逆に初潮齢の遅い婦人の閉経齢が遅い傾向でもあるのか否かを検討したが, かかる初潮齢と閉経齢の意義ある相関は全く認められなかった. したがつて初潮の早い婦人の閉経期は遅れるといった傾向も全くみられなかった. [II] 排卵周期は妊娠, 分娩, 授乳期を通じて休止するが, 生涯に分娩を0回から10回経験した高齢婦人について, 夫々の初潮より閉経までの期間を比較したが, 分娩回数の増加は閉経到来の遅速には全く影響をもたないことがわかつた. 以上は卵巣からほとんどの卵胞が閉鎖消退しておこると思われる閉経の到来は, 初潮発来の遅速には左右されないことを伝えるとともに, 従来の排卵周期ごとに数千個の卵胞が消退するという内分泌的影響の蓄積が閉経であるという考えに対しても, 10回もの分娩, すなわち妊娠, 授乳期をふくめ婦人の reproductive life の半分もの期間, 排卵周期を休止した場合ですら閉経到来に特に遅速がおこらぬこともわかり, 卵巣の aging はむしろ経時的な独自の歩みをもっているかの如くに推測された.

## A-4

質問 安 部 徹 良 (東北大・産婦)

・閉経年齢は年代による変動はなかつたといわれるが, 閉経年齢は調査対象の文化的社会的条件によつて非常に異なつた結果が得られることが知られている. 調査され

た対象の文化的、社会的条件を検討されたのでしょうか。

答 岡田 雄一 (和歌山医大・産婦)

・閉経齢の時代的推移について、今回の私共の調査対象は和歌山医大、和歌山日赤病院を訪れた婦人の記録をもととしたものですが、特に経済的背景は考慮に入れておりませんが、和歌山市およびその周辺が文化的に特に遅れていることはないと思います。しかし初潮齢は外国および本邦での報告とよく一致した時代的推移を示しておりますので、閉経齢についても私共の調査と他の地域のそれとあまり変わらないと思います。

質問 亀谷 謙 (京都府立医大・第一解剖)

・初潮、閉経の時期は排卵開始、排卵終了の時期と一致すると考えてよいのですか、BBT その他の検査を初潮前後、閉経前後に調査したデータがありましたらお教えいただきたい。

・環境、時代その他によつて初潮、閉経と排卵開始、終了の時期のずれがあるかどうか文献的にでもデータがあればお教えいただきたい。

答

・初潮および閉経前数年の期間の排卵状態については、今回調査は行なつてはしません。また閉経少し前の排卵状態については興味深く、今後調査してみたいと思います。

#### A-5 一側卵巣と生殖機能

○赤山紀昭・金丸英彦・成川守彦

勝 信昭・馬淵義也・一戸喜兵衛

和歌山医科大学産科婦人科学教室

婦人の片側卵巣摘除や子宮摘除後の保存卵巣の機能については、古くから臨床上是勿論内分泌学上からも興味がよせられていたが、必ずしも釈然とした定説はなかつた。このたび本題につき検討を行なつたので報告する。

〔I〕片側卵巣と子宮が摘除され、一側卵巣のみ保存されたO群では術後6カ月から10年を経過したものでも尿中 estrogen はいずれも正常範囲で、一個の卵巣が十分正常分泌量を維持しうるものとおもわれた。また血清FSH 値、LH 値も閉経期齢のものを除き正常範囲であつた。これらO群は術後まもなく若干の増加をみるが、1カ月前後で旧値に復し、その後のBBT もほとんどが連続的な二相性をみせ、高温相尿中 pregnanediol 値も高く、排卵の周期性持続とともに卵巣—上位性中枢間での相互調節は全く正常とおもわれた。〔II〕子宮のみを摘除したOO群でも10年におよぶ経過観察で全く同様の傾向を認め、子宮摘除の婦人卵巣機能に対する抑制的な

影響はほとんど認められなかつた。〔III〕子宮を残し卵巣のみを摘除したOU群について一側卵巣欠如による閉経期至来の遅速関係を検討したが、閉経年齢は $47.6 \pm 2.8$ 歳で調査地域の正常婦人のそれと有意差はなかつた。また30歳前に一側卵巣を摘除した後5年間の妊娠率も92%とかなり高いことがわかつた。

以上、子宮の有無にかかわらず保存卵巣は一個でも正常婦人とかかわらぬ内分泌環境が生涯維持され、子宮のある場合には正常と変らぬ生殖能の維持が推測された。

A-5

質問 森 宏之 (東大・産婦)

・Ovariectomy が Menses Cycle のいかなる時期に行なわれても血中 Gonadotropin の一過性の上昇が認められるか。

・この場合 Gonadotropin の peak が生理的に認められる mid-cycle peak ではなく Ovariectomy のためであるとする理由は、

答 赤山 紀昭 (和歌山医大・産婦)

・その通りです。luteal phase で手術した例は術直後の peak は少し低いようです。

・保存した卵巣には手術時にまもなく排卵すると思われる程度の卵胞は認められなかつた。また pre ovulatory phase で手術した1例でも術後3日目の LH 上昇は認められなかつたが、排卵期の LH level に比べると可成低いと思われた。また私共の BBT および Pregnanediol 測定結果で排卵が最も早くあつた例でも術後29日目で一側卵巣保存例での手術直後の gonadotrophin の peak は排卵によるものではないと考えております。

質問 安部 徹良 (東北大・産婦)

・一側卵巣摘除の場合にラットなどの動物では、残存卵巣が腫大することが知られているが、ヒトの場合にはこのような現象はみられたでしょうか。

答 赤山 紀昭 (和歌山医大・産婦)

・保存された卵巣の肥大については、術後確かめようもありませんので正確なことは申し上げられません。

#### A-6 血中 Prostaglandin の Radioimmunoassay

○富田悦充・広島敏彦・太田正博

嶋川映己・石塚直隆

名古屋大学医学部産科婦人科学教室

<目的> 基礎的、臨床的知見より prostaglandins (以下 PG) が、生殖の場で、大きな役割を果している可能性が示唆される。しかし、PG の排卵、着床等妊娠現象における生理的意義については、なお今後の解明に待つ部分が多い。その観点より、今回、私達は、PG の

Radioimmunoassay 系を確立し、月経周期に伴う PG の変動を追求した。

<方法>PG と牛血清アルブミンとを、Carbodiimide を用いて結合し、それを抗原として家兎に筋注し、抗体を生成した。PG の抽出は、N-Binthanol を使用、TLC にて分離精製し、Radioimmunoassay の条件は、4°C、1 時間の incubation とし、結合型と非結合型との分離には dextrane coated chacoal を使用した。

<成績と考案>PGF<sub>2α</sub> 抗血清は500倍稀釈で、PGE<sub>1</sub> 抗血清は200倍稀釈で使用し、共に0.5ng~10ng の測定感度が得られた。また、PGF<sub>2α</sub> 抗血清は PGA<sub>1</sub>, PGA<sub>2</sub>, PGE<sub>1</sub>, PGE<sub>2</sub> との cross reaction を認めないが、PGE<sub>1</sub> 抗血清は PGA<sub>1</sub> PGA<sub>2</sub> PGE<sub>2</sub> との cross reaction があり、より high-specific な抗体の生成が望まれる。本測定法を用いて、正常月経周期の症例の、卵胞期、黄体期、月経時、各時期の末梢血中 PGF<sub>2α</sub>, PGE<sub>1</sub> を測定、PGF<sub>2α</sub> は月経時に、PGE<sub>1</sub> は late-follicular にそれぞれ高値を認めた。また同一症例について連続測定を経日的に施行し、同様の変動を認めた。PGE<sub>1</sub> と排卵、PGF<sub>2α</sub> と月経発来との関係については、今後の詳細な検討が必要であろう。

A-6

質問 岡村 均 (京大・婦)

・PG F<sub>2α</sub> の測定を human での luteolysis と関連させて検討されるとのことですが、human では PGF<sub>2α</sub> の luteolytic な作用は現在議論の多いこととあり、大勢は否定的ですが、先生はどうお考えですか。

答

・luteolysis について、現在 luteolization と luteotrophic action の三つの説があり in vitro には luteolization に対する意見の方が多し。しかしながら in vivo を考えた場合、現在のところ結論はだせないと思われ、われわれも検討中である。

A-7 ラット卵巣によるラット FSH・LH のとりこみ

玉田 太朗

群馬大学医学部産科婦人科学教室

ホルモン作用の基礎的なメカニズムとしてレセプターが注目されているが、ゴナドトロピンの卵巣に対する作用においてもこの機序を無視することはできない。過去にヒトのゴナドトロピンのラット卵巣によるとりこみをみた成績は報告されているが異種蛋白である点に問題がある。今回私どもは同種ゴナドトロピンを用い、対照として BSA を用いとりこみを調べた。その結果 FSH

は D<sub>1</sub> に、LH は Proestrus 午前に著明に増加することがわかった。これが卵巣ステロイドによる調節をうけているか否かをみるため垂摘幼若ラットをステロイドで前処置した後、FSH・LH のとりこみを調べたところ、E 投与後 LH のとりこみが有意に増加することを認めた。

A-7

質問 杉 並 洋 (京大・産婦)

・Gonadotropin の iodination の方法は、chloramine T 法、pesoxidase 法などがあり、biological activity に相当な差があると思われませんが、先生はどちらの方法を使用されたのでしょうか。次に in situ の状態において proestrus において progesterone が相当高値を示しますが、この progesterone は gonadotropin のとりこみについてどのような影響を持つとお考えでしょうか。

答

・クロラミンT法を用いました。  
・私共の成績でも Proestrus で血中および卵巣中にプロゲステロンがふえてきます。当然その影響が考えられますが、垂摘ラットにおける実験でポジティブな結果が得られなかつたので因果関係をつけることは控えました。

A-8 In vitro におけるヒト卵胞壁の収縮性

○岡村 均・岡崎武志・中嶋 昇

京都大学医学部産科婦人科学教室

近年の生殖生物学の著しい進歩とともに、排卵現象における内分泌面での調節機構については詳細に検討されている。しかし排卵における最も直接的な現象である卵胞破裂の機序に関してはいまだ不明の点が多い。卵巣平滑筋の存在および卵巣の収縮現象とその卵胞破裂への関連性についても議論の多いところである。本研究では電子顕微鏡によつて観察されたヒト卵巣平滑筋について報告するとともに pressure transducer を用いて観察したヒト卵巣卵胞壁の in vitro での収縮性について報告する。

開腹術患者より摘出された正常な卵巣を用いて卵胞壁の一部を電子顕微鏡用に固定包埋した。卵巣の収縮の測定には卵胞壁を含めて厚さ約 1 mm、幅 1 mm、長さ 1 cm の組織片をきりだし、これを 37°C に保つた人工灌流槽中で一端を固定し他端を pressure transducer に接続して観察に供した。

卵胞基底部の外夾膜層には微細構造上 typical な平滑筋細胞が認められるが卵胞頂部附近には atypical な平

平滑細胞と考えられる細胞のみが認められた。

この卵胞壁組織片は収縮曲線を描きせしめても基底部および頂部ともに著明な収縮をおこすことが観察された。この収縮性は卵胞あるいは黄体の認められる性成熟期の卵巣ではよく認められるが、更年期以降の萎縮した卵巣ではほとんど認められない。向交感神経系薬剤によっても収縮を示すが、これもやはり性成熟期の卵巣で強い反応がみられた。

A-8

質問 亀谷 謙 (京都府立医大・第一解剖)

・ヒトでは卵胞壁の Theca externa に平滑筋が認められるという発表でしたが、血管と関連しない卵胞固有の平滑筋は Theca externa には認められなかったでしょうか。

・平滑筋の電顕所見について卵胞の表面 (apex) と実質側との違いと生理学的データとの関連性はどうか。

・性週期によつて、特に排卵が近づくと平滑筋が増加する等の変化はなかったでしょうか。

答 岡村 均 (京大・婦)

・ヒト卵胞内夾膜層にも典型的ではないが、平滑筋細胞と考えられる細胞が認められる。

・卵胞頂部組織には典型的な平滑筋細胞は認められない。卵胞頂部の卵胞壁と卵胞基底部の卵胞壁の収縮性には違いが存在するが、これは次の機会に報告する予定です。

・ヒトでは検討していないが、Rhesus monkey では卵胞成熟につれて平滑筋細胞が増加しているごとき印象を持っている。

#### A-9 ラット卵巣のコラーゲン分解酵素活性について

○岡崎武志・岡村 均・西村敏雄

京都大学医学部産科婦人科学教室

排卵における最も直接的な現象である卵胞破裂の機序を理解するうえで、コラーゲン分解酵素の存在が問題となつてきている。すなわち、形態学的には家兎卵胞壁頂部組織の主構成成分であるコラーゲンが卵胞破裂直前に消失するとともに細胞間基質物質が融解しており、また卵胞壁の線維芽細胞においても活発な蛋白合成を意味する粗面小胞体の増加ならびに本酵素が局在すると考えられるリソゾーム様顆粒の増加が観察されている。一方酵素学的にも家兎卵胞液に含まれている本酵素活性が排卵に先立つて著明に増加することが明らかにされ本酵素の卵胞破裂への関与が示唆されている。われわれはすでに本酵素活性がウィスター系ラット卵巣抽出液に存在することをコラーゲン分解酵素に特異的と考えられる合成基

質を用いて観察しその酵素学的な性質を検討した。

本研究ではウィスター系未熟ラット 16 匹を用いて PMS 25 単位および HCG 50 単位にて処置し、HCG 投与後 9~29 時間後の卵巣を用いて卵巣抽出液ならびに粗卵胞液について経時的に本酵素活性を測定した。

卵巣抽出液中の本酵素活性の HCG 投与後の経時的变化については 29 時間後までほとんど変動が認められなかった。卵胞液中の酵素活性の非常に低値を示しやはり有意の経時的な活性変動は認められなかった。

#### A-10 家兎卵胞のゴナドトロピン反応態度について

渡辺行正・阪口耀子・竜宮敏郎

○美馬博史・山田博夫

東京慈恵会医科大学産科婦人科学教室

近年、排卵に対する各種の薬剤が出現し、その効果もすぐれた報告が見られるが、特にこれら薬剤の卵巣における形態学的変化、並びに排卵機序に関してはさらに解明すべき点があると考えられる。

われわれはこの問題につき従来より卵巣における卵胞の動態、間質の変化等につき検討を試みた。さらにゴナドトロピン過剰投与における過排卵および反復過排卵について、正常卵胞動態並びに間質等に著しい変化を来すことを確認した。前回当学会総会においても、PMS、HCG 処理家兎卵巣の組織学的検索を行ない、各卵胞型の成熟度に従いその反応態度の異なることを報告した。

今回われわれはさらに成熟日本白色種家兎を使用し、処置群に PMS 10 IU, 20 IU, 30 IU をそれぞれ 5 日間投与、6 日目より HCG 25 IU, 50 IU を静注し、12 時間後、24 時間後の卵巣剔出を施行し、7 通りの検索方法を試みた。

なお剔出卵巣はカルノア固定後、ヘマトキシニンエオジン染色、アザンマロリー染色、ワンギーソン染色、1 部に組織化学を施行した。

その結果、前回われわれが報告した高単位ゴナドトロピンに比較すると今回の検索では III 型~V 型の各卵胞型の増加が見られ、間質においては、リンパ管様管腔の拡大、充血、浮腫並びに間質腺細胞の肥大を認めた。また変性卵胞はその変化が軽度であるが閉鎖卵胞、嚢状卵胞、出血卵胞として認められた。

A-10

質問 亀谷 謙 (京都府立医大・第一解剖)

・正常の排卵過程と今回の実験との質的、量的の差位を簡単に説明していただきたい。

答 美馬博史 (慈恵医大・産婦)

・現在迄われわれは交尾排卵についても検索してまいり

ましたが、その件に関しましては、教室佐藤が既に不妊学会誌に報告済みですので、それを参考にしていただければ幸いと存じます。

**質問** 中川 公夫 (東北大・産婦)

・Gonadotropin 投与による卵胞反応として血胞、嚢状卵胞、閉鎖卵胞が出現しますが、その発生機序に関してはどうでしょうか。

**答** 渡辺 行正 (慈恵医大・産婦)

・只今の質問は仲々むずかしい点となりますので、従来私共の行なっております成績から総括して申し上げます。卵胞の発育成熟排卵という一連の過程は極めて厳密なサイクルの下に行なわれているものと思われ、従ってただ排卵、排卵と排卵のみを目的とする考え方は恐らく間違っていると思う。卵胞はⅠ型から漸次Ⅱ・Ⅲ型へとプロセスを進めるもので、そのプロセスには一つ一つステップがあるものと想定される。この点を十分に解明しなければ只に卵胞の成熟あるいは排卵といつても観念論的に止まって具体的でない。その意味から前回報告では高単位静注によるゴナドトロピンの卵胞への作用、今回は低単位による各型卵胞の組織反応態度をみたわけです。これらの所見から何れ最も確かな人工的の自然排卵の誘導が可能になると思う。

#### A-11 Gestagen test と予後

○川越慎之助・布川 修・佐藤芳昭

広井 正彦・竹内正七

新潟大学医学部産科婦人科学教室

無月経患者に対する gestagen test はその後の治療方針をたてるに際しても非常に重要なものであるが、その投与量については各機関一定していないのが現状である。われわれは progesterone を 10, 30, 50, 120mg と漸時増量し、その適量を検討すると共に、さらにこれらの排卵誘発成績についても検討した。

対象は60日以上にわたる無月経患者87例で、progesterone 10mg により消退出血をみたのは44例 (50.6%)、出血のなかつた43例に 30mg を投与することで7例 (16.3%) に出血をみ、全体で87例中51例 (58.6%) に消退出血が生じた。一方、残りの例で50mg 投与により出血したのは1例、120mg では3例にすぎず、87例中4例 (4.6%) となる。このことから、大量投与も余り意味がなく、臨床的には30mg 投与によつてある程度判断し得ると思われる。

さらに、gestagen test から clomid 50~100 mg による排卵誘発まで確認した第1度無月経患者49例について、gestagen 30mg で BBT が上昇したのは40例で、

clomid で排卵が生じたのは20例 (50%) であつた。このうち8例が妊娠成立をみた。BBT の上昇しなかつた9例では clomid による排卵誘発成功例は3例 (33.3%) と前者に比し成績が劣つた。

このような gestagen test と BBT との関係はあまり検討されていないが、われわれの成績からは gestagen 投与による BBT の上昇の有無はその後の排卵誘発を含めた予後を考えて場合に非常に参考になるものといえる。

A-11

**質問** 平野 陸男 (東北大・産婦)

・gestagen 10mg で直接排卵したと思われる例はなかつたか。

・御発表のように gestagen の Dosis を増量することによつて消退出血例がふえています。gestagen 10mg で直接排卵し、妊娠する例もありますので、私共は原則として gestagen は 10~20mg を使用している。

**答** 布川 修 (新潟大・産婦)

・progesterone 10mg 投与で4~5日後に ovulation し妊娠につながつた一例があります。progesterone ovulation induction の mechanism については不明としか云えない。progesterone 投与後、10日以上3週間後観察しているので、progesterone 投与のみで排卵の有無も観察している。

・progesterone の段階投与については、progesterone 投与後少なくとも10日以上様子をみ、血中 progesterone、内膜組織診などを時々加えて、反応のないものにさらに増量投与を行なつていきますので、蓄積は考えられないと思つております。

**追加** 楠田 雅彦 (九大・産婦)

・私も10年以上前に体温上昇作用の強い noreehistrone を負荷した際の体温上昇の程度と症型や予後との相関を検討したが結果は negative data に終つた経験がある。

**質問** 楠田 雅彦

・体温の elevated と no change とは具体的にどのような基準で判定されましたか。

・elevated cases に排卵誘発率が高かつたという成績は大変興味がありますが、その意義をいかに解釈されますか。

**答** 川越 慎之助 (新潟大)

・BBT 上昇の判定は progesterone 投与と投与後との差をとることが必要でその判定は困難であるが、今回の発表例では progesterone 投与前には 36.7°C 以下で、その後 36.7°C 以上とはるかにこえたものは上昇群とし、その他は投与前数の平均が 0.4°C 以上のものを

上昇群とした。

・progesterone 投与後 BBT 上昇群では clomid による排卵誘発成績が不変群に比し良好であるが、この意義は progesterone 単独で種々の作用を示すとは考えられず、withdrawal bleeding を起こすにも estrogen の協調が必要であるように、体温上昇作用にも他の内分泌腺との Synergism が必要と思われる、体温上昇群では内分泌環境がある程度正常にあることが推察される。また Hypothalamus には性中枢の他に体温調節に関与する中枢が存在するといわれ、BBT が上昇することはこの部が intact であると考えられ、この事が BBT 上昇例で排卵率が高いものと思われる。

#### A-12 Clomiphene 無効なる多嚢胞性卵巣 (PCO) 症例における LH-RH Test の意義とその治療

清水謙一・中村幸雄・黒川博厚  
齊藤 薫・小林俊文・飯塚理八

慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室

無排卵症患者の中には polycystic ovary を有する患者が比較的多く含まれると思われるが、診断基準が確立されてないため、楔状切除の排卵率には大きな差がみられる。われわれはこれら患者の診断基準を作成し、さらに内分泌学的、組織学的に検討を加えた。

1) 第1度無月経、2) 頸管粘液0.2ml 以上、結晶形成Ⅲ度、3) Clomiphene、加うるに HCG にても排卵せず、4) LH-RH Test にて LH 前値比較的高値反応良好、以上の4条件を充たす20例および4)のみを充たさぬ4例について開腹し polycystic ovary を確認、楔状切除を行なった。

尿中 estrogen 分画は卵胞期平均よりやや高く、17 KS、17 OHCS はほぼ正常であった。血中 testosterone は多毛を示した1例以外は正常であった。dynamic test にて11-deoxy-17 KS はそれ程抑制されず、卵巣性 androgen の増量を示唆した。11-oxy-17 KS は十分に抑制されていた。血中 Testosterone で HMG に反応しない例では、LH-RH Test で LH 前値も低く、反応も不良だった。術後の血中 Testosterone 値は全例術前より減少していた。術後の LH-RH Test では多くの例で LH 前値が高くなり、反応も良好となっていた。

術後成績は条件を充たした20例では15例が排卵しており、妊娠は3例に見られた。4)をみたさぬ4例では1例のみしか排卵せず、組織学的に cirrhotic type であった。われわれの診断基準を充たす症例では積極的に開腹し、楔状切除を行なうべきである。

#### A-13 多嚢胞卵巣症候群の診断と Wedge resection の効果

○本多 啓・阿部 穰・鈴木正彦  
杏林大学医学部産科婦人科学教室  
新井 繁・岡村 泰  
川口済生会病院産婦人科

多嚢胞卵巣症候群は無排卵症の中の特殊型として、不妊症診療上重要な意義を有し、またその発生をめぐって、中枢説、末梢説などがあり興味ある疾患であるが、われわれは開腹によつて確かめ得た7例を含む11例の本症に関して、臨床症状および内分泌環境について検討し、wedge resection 前後の尿中ステロイドホルモンの変動を調べた。

1) 臨床症状では無排卵症にもとづく不妊のほかは、何等かの型の月経異常が必発であり、続発性無月経が11例中7例(62.7%)にみられた。男性化徴候は必ずしも頻度高くなく、多毛が5例、低声が3例、陰核肥大が2例みとめられたがいずれも軽度であった。

2) 尿中ステロイドホルモン値は estrogen が正常ないし低値、pregnenediol 低値、17 KS 高値、17 OHCS 正常ないし高値が、共通のパターンであり、甲状腺機能は正常のものが多かった。

3) 薬物質排卵誘発法は Sexovid、clomid は無効例が大部分で、Gonadotropin では PMS-HCG、HMG+HCG、がわずかに有効であった。

4) Ovarian wedge resection は7例に行ない、うち効果の判明している6例中、切除術のみで有効だったものの2例、切除後 clomid+HCG 療法により排卵したものの2例で、6例中4例(66.7%)に有効であり、うち2例が妊娠した。

5) Wedge resection 前後の尿中ステロイドホルモンの変動は4例に検査し、estrogen はやや増加の傾向、Pregnenediol は不明、17-KS は全例下降で特徴的、17-OHCS はやや下降の結果を得た。

#### A-13

質問

楠田 雅彦 (九大・産婦)

・polycystic ovary に gonadotropin 療法を施行して数例に排卵誘発に成功しているようですが、その際卵巣腫大はみられませんでしたか。私共は P.C.O. に G を使った時、屢々過剰反応を認めている。

答

本多 啓 (杏林大・産婦)

・PMS-HCG 療法で2例3回、HMG-HCG 1例1回を、BBT 上排卵と判定いたしました。いずれの場合にも ovarian enlargement は認められませんでした。

### A-14 排卵障害婦人の HMG-HCG 療法と腹腔鏡所見 —主に無効例について

立山浩道・〇梶原健伯・村上利樹  
門田 徹

九州大学温泉治療学研究所産婦人科

clomiphene に反応しなかつた重症排卵障害婦人14例に HMG-HCG 療法を行ない、さらに腹腔鏡検査、LH-RH test および 1 部は RIA による血中 Progesterone, Estradiol 測定, 卵巣の組織診を行ない総合的な観点から検討を試みた。

腹腔鏡による卵巣の所見は形成不全または發育不全型と思われるものを (I), (II) 型とし, 萎縮型と思われるものを (III), (IV) 型とした。

① HMG 療法の成績: 原発性第 II 度無月経 2 例 2 周期中排卵 (OV), 消退出血 (WB) とともに 0 例。続発性第 II 度無月経 8 例 8 周期中 OV, 0 例, WB, 2 例 2 周期。続発性第 I 度無月経 4 例 7 周期中 OV, 2 例 2 周期, WB, 1 例 3 周期で, OV 例の Estradiol 値は 631.6pg/ml と上昇し, Progesterone 値はそれぞれ 6.9 ng/ml, 16.5ng/ml と上昇した。OV (-), WB (+) 例の Estradiol 値は 170.3pg/ml と上昇したが, Progesterone 値はいずれも 1 ng/ml 以下であった。

② HMG 療法前の Gonadotropin 値と腹腔鏡による卵巣の所見 (I)~(IV) 型の間には一定の傾向はなかつた。

③ LH-RH test による下垂体の反応性と卵巣の所見 (I)~(IV) 型の間には一定の関係はなく, 大部分が比較的良く下垂体予備能を保っていた。

④ 卵巣の所見と HMG および PMS 療法との関係は, (I), (II) では型は全く不良で OV, WB 例は 1 例もなかつた。(III), (IV) 型では OV, 1 例, WB, 1 例があつたことから他の症例も排卵の可能性があると思われた。

A-14

追加

平野陸男(東北大・産婦)

・HMC-HCG 療法でも排卵しないような症例の卵巣組織所見を見ますと, primodian follicle がほとんどないとか, 極端に少ないということ, および stroma の膠原線維の増量が多いことが目立ちます。したがって laparoscopy による所見と, 診断の根拠にはなりますが, 卵巣組織所見も治療に先立つて検索する必要があると思えます。

答

梶原健伯(九大・温研・産婦)

・おおせの通りであります, われわれも腹腔鏡施行時できるかぎり卵巣生検を行なうようにしています。

### A-15 人無排卵卵巣の機能と形態

—特に Steroidogenic enzymes の組織化学的検索を中心として—

〇鷲尾元夫・仲野良介・橋場信之  
林 要・東条伸平

神戸大学医学部産科婦人科学教室

すでに, われわれは無排卵症卵巣を形態学的に, 1. polycystic type 2. sclerotic type 3. normotrophied type 4. hypoplastic type 5. atrophic type 6. streak type の 6 型に分類することが可能であり, かつ, これらの形態学的分類と HMG-HCG を用いた卵巣に対するゴナドトロピン負荷試験の成績とが, ある程度まで相関関係を持つことを報告して来た。

合成 LRF の出現により LRF 負荷試験が可能となり, 先きに述べたゴナドトロピン負荷試験との両者の成績から, 無排卵症の原因を, 視床下部性, 下垂体性, 卵巣性の三つに分類できるようになった。

今回は, 視床下部性, 下垂体性, 卵巣性と推定される無排卵症の症例に対して, 卵巣生検を行ない, 3 $\beta$ -HSD, G6PDH, LDH 等の組織化学的検索を行なったので, その結果を報告する。

視床下部性の卵巣では Steroidogenic focus が多く認められるものと, 非常に少ないものが混在し, 下垂体性のもものでは, 低い Steroidogenic enzymes の活性がみられ, 卵巣性無排卵卵巣では, ほとんど組織化学的に, Steroidogenic focus が認められなかつた。

### A-16 不妊因子としての射精障害に関する検討

〇齊藤宗吾・守殿貞夫・石神襄次

神戸大学医学部泌尿器科学教室

最近の 1 年 9 カ月間に神大泌尿器科を受診した 20 歳から 50 歳までの射精障害患者は 118 例で, 同年代男子患者の 4.8% に相当する。射精障害はある意味では不妊の重要な因子であり, これら症例を原因別に追求した。器質的なものは 48 例で, 副性器疾患によるもの 20 例, 内分泌性のも 21 例, 神経因性のも 7 例, これに対し機能的なものは新婚インポテンツ 20 例, 外傷後心因性のも 11 例, 純粹に心因性のも 35 例, 精神病に付随したのも 4 例の合計 70 例である。これらについて射精障害の型と原因の関係, とくに無精液症群については勃起との関係について検討した結果をのべた。

A-16

質問

木村行雄(東北大・泌尿)

・私共は射精障害 39 例中膀胱内圧曲線上および EEG 所

見上13例に高位中枢に異常のある症例を経験しているが、このような高位中枢に異常のある症例をみられたかどうか。

答 齊藤宗吾(神戸大)

・自律神経異常と考えられる症例もかなり多いと想像されるが、膀胱内圧その他明らかな神経因性所見をみとめたものは7例である。

#### A-17 射精時における Seminal Emission と内尿道口の閉鎖の神経支配について

○木村行雄・安達国昭・木崎 徳

東北大学医学部泌尿器科学教室

射精現象のうち seminal emission と内尿道口の閉鎖の2つの現象と下腹神経、下腸間膜動脈神経叢に入る神経線維群、各内臓神経との関係を雄雑種成犬を用い実験的に検討した。実験方法。上記の各神経を露出、切断したのち、その末梢端を電気刺激し、emission の有無の観察、内尿道口の収縮の記録を行なった。emission の測定には昨年の本学会で報告した後部尿道圧曲線を用い、内尿道口の収縮は latex balloon を内尿道口に挿入し、神経刺激時の balloon 内圧の変動をもつてした。またこの結果を確かめるため該当する神経を切断し、無麻酔の下で陰茎を用手刺激して射精を起し、電気刺激による成績を確認した。実験成績。下腹神経内には seminal emission、内尿道口閉鎖を支配する神経線維が含まれることが認められた。下腸間膜動脈神経叢に入る神経線維群のうち中央線維群は emission ejaculation を、また側方から入る線維群は射精時における内尿道口の収縮を支配していることがわかった。また内臓神経についてみると、上部の内臓神経特に第3下内臓神経は emission を支配し、下部の内臓神経、特に第5下内臓神経は射精時の内尿道口の閉鎖を支配することが判明した。

A-17

質問 齊藤宗吾(神戸大・泌尿)

・下腹神経障害の場合の clinical manifestation を問うた。

答 木村行雄(東大・泌)

・Reteograde ejaculation の原因は、局所の異常所見を示すものと、神経因性のものがある。局所の異常に関しては内尿道口の開大が考えられ、神経因性の原因としては下部腰髄およびここより発する交感神経系に異常がある場合に起こることが考えられる。

追加 宍戸仙太郎(東北大・泌尿)

・以前に膀胱結核の膀胱痛除去の目的で下腹神経切除術(Cotte の手術)を行なったことがある。その際4例に

射精障害を起し因つたが、それが木村の研究で逆行性射精碍であることが分つた。なお膀胱内括約筋部の閉鎖に関係することが分り、その支配神経は腰髄でも下部腰髄が重要な役目をする事が分つた。

#### A-18 男性不妊患者精液の亜鉛、マグネシウム濃度に関する検討

○末光 浩・彦坂幸治・田中邦彦

齊藤宗吾・石神裏次

神戸大学医学部泌尿器科学教室

演者らは、神戸大学泌尿器科不妊外来患者のうち、乏精子症、無精子症例の、精漿中、亜鉛、マグネシウムを測定し、正常者のそれと比較、検討した。方法は新鮮精液を用い、精子数により、正常、乏精子軽症、中等症、重症、および無精子症に分ち、亜鉛、および、マグネシウムの定量は、原子吸光によりおこなつた。

(結果) 精液中の、亜鉛と、マグネシウムとは、比較的安定した値を示し、正常者では、共に80から160mcg/ml の間にあるものが多い。乏精子症群では、80mcg 以下のものが多くみられ、この傾向は、特に、軽症群に強い。精子数減少につれて、両金属の量的分布パターンは、正常群のそれに、ちかずき、無精子症群では、ほとんど、正常者のパターンに、類似する。各群で、精漿のマグネシウムと亜鉛濃度は、密接な相関をもつて増減した。以上の結果より、同精子症群において特異なパターンを示すことは、これらの症例の中には、低亜鉛、低マグネシウムを来す、何らかの原因が、前立腺に存在し、それが不妊の原因たりうると考える。

#### A-19 X-染色体を有する精子と Y-染色体を有する精子の分離法に関する研究

○白井将文・松田尚太郎

東北大学医学部泌尿器科学教室

X-染色体を有する精子と Y-染色体を有する精子を分離し、それら精子を使用し人工授精を行なうことにより希望する性の子を得ることが畜産学分野では一つの夢であり、これまで pH の変化による分離や、遠心による分離などが試みられて来た。一方通電により両者を分離しようと云う試みもかなり古くより行なわれて来たが、これら通電により分れた精子が本当に X-染色体を有する精子か Y-染色体を有する精子かを確認する方法がなかつた。ところが最近蛍光染色法の導入により両者を識別出来るようになった。そこでわれわれはこれら精子の蛍光染色法を応用してヒト精液を用い種々なる条件

で通電を行ない両者の分離を行なつてみた。その結果通電条件は2.3V, 200 $\mu$ A で30分間通電が最も適しており、陽極側に Y-染色体を有する精子が集り、しかも運動率が上昇し、陰極側には X-染色体を有する精子が集り、運動率はむしろ通電前より低下を示した。また電解質は通電により著変はみられないが、pH は陰極側でアルカリ性に傾くことが判つた。

A-19

質問 宮本 弘毅 (慶応大・婦)

・先生の御発表になされた実験成績は歴史的にみても最も良い分離の度合を得られたと思われます。つきまして少々おたずねいたします。先生の方法では電場の強さが0.82v/cm となり泳動溶媒の pH は6.0~8.0で、泳動時間は1800sec で、1961年の Nevo の一過性不動性精子に対する実験より計算すると electric traction としては1.5mm しか遷移しません。またこれを同年の Bangham の実験にあてはめると、この可動域は at random の精子の可動域の1%位に相当し、先生の得られた結果は大略精子の at random の動きに基づいているのはないですか。

答 白井 将文 (東北大・泌尿)

・通電前、後、さらに通電停止後15分でそれぞれ比較しておりアトランダムに X-染色体を有する精子と、Y-染色体を有する精子が集つたことは考えられず、通電により分離されたことは明らかである。

#### A-20 ミオアクチン C による男性不妊の治療

○石川 博義 (練馬総合病院泌尿器科)

土方 允久 (荻窪病院泌尿器科)

木村 茂三 (大森日赤病院泌尿器科)

不妊期間2年以上の男子不妊症を対象に、ミオアクチンCを週3回を原則として、1カ月から3カ月の期間で投与した。1回1Aで合計30本を目標とした。全例数33例で一部症例は果糖とリゾチームを測定した。精液量に対して27.27%の有効率(1cc.以上の増加)であつた。精子数に対して21例中4例(19.04%)で1000万以上の増加を有効とした。1000万/cc.以下の症例は全例無効で、精子数が多いもの程、有効例が多かつた。運動率に対する効果は、50%以上の例に有効例が多く、運動率が低いものにも使用しても無効の例が多かつた。有効率は17.6%であつた。果糖と精子数の間に、明らかな相関は見られなかつたが、加藤等の研究でも見られたように9000万/cc.以上の精子数を有するものに、果糖の低下(190mg/dl)を認めた。また、精子濃度の低いものにも果糖の低下(218.7mg/dl)がみられた。リゾチームと精

子数との相関は見られなかつたが、運動率との関係を見ると、無精子群と運動率10%以下の群にリゾチーム活性の低下(2.75r/dl~3.42r/dl)が認められる。最高値は運動率20%の7.67r/dlで以後漸減する傾向がみられた。ミオアクチンCは無精子症には無効であるが、2000万/cc.以上の乏精子症には有効な薬剤で57.14%の有効率を示す。ミオアクチンCのATP、シスチン、チロジンが細胞代謝を高め、精子自体にも作用するものと思われる。

#### A-21 男子不妊症患者精漿の生化学

○高岸秀俊・片山 喬・百瀬剛一  
千葉大学医学部泌尿器科学教室

本学外来を訪れた194例を対象として、精漿中 Na, K, Ca 酸フォスファターゼ, GOT を測定した結果、Na<sup>+</sup>濃度はN群(50×10<sup>6</sup>/ml以上)123.6, OI群(20~50×10<sup>6</sup>/ml)122.4, OII群(20×10<sup>6</sup>/ml以下)123.5, A群(精子無い)119.5mEq/Lで差をみず、K<sup>+</sup>濃度もN群29.7, OI群32.8, OII群29.3, A群31.8mEq/Lと各群間に有意差を認めず、Ca<sup>++</sup>濃度もN群36.8, OI群39.6, OII群38.0, A群39.9mg/dlと各群間に差を認めず。またK<sup>+</sup>およびK<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>比と運動率をみると共に、運動率の程度では有意差を見られず、運動がみられない群とにのみ差をみた。(r=0,3418)またK<sup>+</sup>のみ精漿中濃度と血清中濃度に相関性(r=0,2563)をみた。酸フォスファターゼレベルは、N群48495, OI群, 43053, OII群, 37648, A群35928 B. LUで、A群に比して他群に有意差を認め、GOTレベルは、N群310.2, OI群309.2, OII群278.8, N群, 225.6 KUで、A群と他群とに有意差がみられ、両酵素共運動率とは有意の相関がみられなかつた。

A-21

質問 斉藤 宗吾 (神戸大)

・無精子症精漿中の acid-phosphatase 減少の原因について教えて欲しい。

答 高岸 秀俊 (千葉大・泌)

・Hormonal Action によると考えられる。炎症等による影響は考えなかつた。

#### A-22 ラット子宮液の性状ならびにその添加が精子の呼吸に及ぼす影響

○入谷 明・三宅正史・西川義正  
京都大学農学部畜産学科

目的。ラットにおける子宮液の分泌量、糖、アミノ酸、蛋白などの濃度と性周期との関連については、すでに

かなりの報告がみられる。演者らは精子に対する環境要因としてのラットの発情期子宮貯溜液の意義を究明することを目的として、生化学的性状を明らかにするとともにその添加が精子の呼吸に及ぼす影響をしらべた。

方法. 正常な性周期を示す体重200~222g のウィスター系ラットを用い、発情前期の子宮貯溜液をツベルクリン筒で採取した。採取量、pH を記録し、遠沈後の上澄につき全窒素、非蛋白窒素、糖、乳酸、GPC diesterase、無機塩類などの濃度を測定し、また濃縮液につき蛋白の電気泳動像をしらべた。また精巢上体精子は、採取後 Ca 欠 KRP に浮遊させ、精子浮遊液 0.5ml に KRP 0.5ml (対照)、子宮液 0.5ml、子宮液 0.5ml + 4 ~ 8 倍希釈精のう液 0.5ml を加えてそれぞれ Warburg 検圧計により好気条件下、37°C で1時間呼吸量を測定した。

結果. ラット子宮貯溜液の化学的組成は、他種動物にくらべて無機塩類以外はきわめて低濃度であり、乾物量、蛋白、非蛋白-N、還元糖、乳酸はそれぞれ 1.61g/dl, 0.16g/dl, 3.1mg/dl, 1.78mg/dl, 7.2mg/dl であった。ただ GPC diesterase 活性は著しく高かった。精巢上体精子の呼吸に対して glucose や albumin の添加は著効がなく、一方子宮液の添加により、さらに子宮液と精のう液の両者の添加により著しく呼吸量が増大した。

#### A-23 血液、性管剝脱細胞、性管内精子の Quinacrine 染色性に関する研究

○光部啓一・北崎光男

札幌医科大学産科婦人科学教室

鳥居恒明

札幌医科大学泌尿器科学教室

Quinacrine 染色技術は、種々の限界を指摘されながらもその簡便さから最近 Reproduction の領域で脚光を浴びて来ている。演者らが既に予想したごとく、Sex Control の問題を解く鍵とも考えられる。ヒトの Sperm については Barlow ら (1970) が X-, Y-bearing Sperm の識別が可能である事を報告しているが、ヒトを Sex Control の研究に供する事は出来ない。Sex Control の研究を進めるには、F-body を有する動物を見出す事にある。Zech ら (1970) および Francke and Nesbitt (1971) がマウスの Y-染色体が最も強い蛍光を示すと報告しているのでマウス (dd 系)、ラット (Wister 系)、家兎 (白色系) を用いた。対照のヒト多形核白血球では明瞭な F-body を認めるがマウス、ラット、家兎では、いずれも F-body を検出しえなかつた。対照のヒト精子では、F-body が輝点として認められるが、マウ

ス、家兎では、いずれも F-body を検出しえなかつた。従つて、これら齧歯類は Sex Control の実験動物として適当でないと考えられる。次に性管内での精子の移動を Quinacrine 染色によつて検索する予定であつたが、精子に F-body を認めない事が明らかになつたので Papanicolaou 染色によつて検討した。家兎の性管結紮部位により第1群卵管膨大部、第2群卵管子宮移行部、第3群子宮中央部、第4群子宮下部に分け、施術14日後に Gonadotropin を投与し交尾後3~5時間で精子を検索した。第2群 (施術側子宮にのみ精子が移動する) を除き性管結紮は、精子の移動に影響を与えないようである。

#### A-24 哺乳類精子の蛋白溶解酵素について：酵素の活性および抽出法

○宇賀昭二・佐藤嘉兵・尾川昭三

日本大学農獣医学部家畜繁殖学研究室

名取正彦

日本大学農獣医学部農芸化学科

目的：精子頭部の蛋白分解酵素について；(1) その放出様式、(2) 精子運動性、生存率と酵素反応、(3) 急速凍結融解と酵素反応、(4) 酵素の新しい抽出法とその活性側定法について検討した。

方法：人、牛、犬、家兎、ラットの射精精液を用いた。蛋白溶解反応の有無の判定には主としてゼラチン膜溶解を指標とした。資料中の酵素活性は disk 電気泳動組織化学的染色 (BANA + diazonium) によつて調べた。観察には位相差顕微鏡と走査型電子顕微鏡を用いた。精子の生存率は生体染色法によつて調べた。

結果：(1) 用いたすべての動物種の精子に蛋白溶解反応が認められた。(2) 動物種によつてこの反応の出現速度に差があり、家兎精子が最も速かつた。(3) グリセリン、DMSO を少量添加して凍結融解した精子頭部には酵素反応が認められ、これを無添加にて処理した精子には反応がなく、従つて凍結融解処理により精子頭部の酵素が遊離すると推定された。(4) この凍結融解 (グリセリン、DMSO 無添加) 資料を遠心分離して上清を採取これを disk 電気泳動後、上述の組織化学的染色を施こした結果、明瞭な酵素活性を認めた。(5) さらに、この上清を極めて少量、ゼラチン+寒天膜上に作用させることにより、酵素活性を容易に肉眼的に観察が可能となり、しかも、その酵素活性を量的に表現することも可能となつた。

## A-25 Impulse cytophotometer による不妊症および不育症患者の夫精子 DNA の検討

○山田昌夫・野口昌良・渡辺金三郎

愛知医科大学産科婦人科学教室

研究目的. 不妊症および不育症患者の原因解明に資する目的で, 本症患者の夫精子 DNA 量を, 二波長法による顕微分光測光法により, ホイルゲン染色を施こして測定し既に第17回日本不妊学会総会にて報告した. 今回は西ドイツ・ミンスター大学にて新たに開発された DNA 量自動測定装置, Impulse cytophotometer 11型を用い, 1検体につき前回の検討の40倍以上の精子数について DNA 量の動態を検討し, 若干の知見を得たので報告する.

研究方法. 研究対象としては不妊症患者25例, 不育症患者5例の夫精子を無選択的にこれにあて, 対照としてはこの一年以内に成熟児を得た健康性成熟期男子5例を選定した.

実験方法. 1週間以上禁欲させ, 用手法によつて得た精液を2時間以内に, その量, 精子数, 奇形率, 運動率を測定したのち50%エチルアルコールにて固定し, 固定後生食にて一度洗い, 0.25%ペプシンにて5分間, 摂氏37度で処理したのち, 0.01%エチジウムブロマイドにて染色を施こした. 装置の調整には正常男子リンパ球を用い, それぞれの症例につき3000以上の精子 DNA 量を自動測定した.

研究成績. (1) DNA 量の平均値は対照群の方がやや高値を示した. (2) 精子数・運動率と DNA 量を比較検討すると, 不妊群は広い分散を示し, 対照群では一定の傾向を示し, その反面習流群では全くかけはなれたところに位置しているが認められた. (3) 同一人の精子の中でも n 以外にも相当分散が認められた.

## B-1 家兔卵管および子宮の L.D.H. アイソエンザイムについて

○橋本直夫・林 基之・林 晴男

伊藤元博・天野久夫

東邦大学医学部産科婦人科学教室

乳酸脱水素酵素は, 嫌氣的解糖系の最終段階に働く酵素であり, ほとんど全ての臓器および組織などに存在することから, この酵素についての研究は, 数多く報告されている. このたびわれわれは, 家兔卵管子宮組織における乳酸脱水素酵素について若干の知見が得られたので報告する.

実験材料および方法

日本産の雄と隔離した3gr 前後の成熟家兔を使用し, 生理的機能面で, 卵胞期群, 排卵期群, 妊娠6.25群の3群に分け, 卵管角部を除外した卵管, 子宮および卵巣の一部の組織を取り出し, その0.29gr を材料とした. その抽出液で, 総 L.D.H. 活性の測定, L.D.H. アイソザイムの分析, 総窒素量の測定を行なった.

実験結果および考案

総 L.D.H. 活性値は, 卵胞期群10例, 排卵期群10例, 妊娠6.25日群3例について検討し, 卵管が子宮に比べて, 3群共約2倍の活性を示し, 卵管および子宮は, 妊娠6.25日群が, 卵胞期群に比べて非常に高値を示した. しかし, L.D.H. アイソザイムは, 卵胞期群10例, 排卵期群10例, 妊娠6.25日群5例について検討し, その分画比が卵管は L<sub>3</sub> L<sub>4</sub> L<sub>5</sub> にその割合が多く, 子宮は, L<sub>1</sub> L<sub>2</sub> L<sub>3</sub> にその割合が多いが, 3群においては, 共に著変がなかつた. これらのことは, 生理学的および発生学的にも大変興味のあることであり, 今後さらに検討したい.

## B-2 プロスタグランディンの卵管作用についての臨床的検索

大 沢 辰 治

東京通信病院産婦人科

Prostaglandin と卵管との関係は不妊症におけるキーポイントになる問題と思われる.

Rutin test による16例の実験で, PGE<sub>1</sub> および F<sub>2α</sub> の通気曲各因子に対する影響を点滴静注により数値的に比較した. その結果は E<sub>1</sub> は, 通気圧諸因子を生理的範囲内で励起していると思われる結果を得た. スクの如き作用は他にはホルモン剤, 自律神経毒, 筋運動物質等にもみられない特殊なものである. E<sub>1</sub> によると通気曲線の pattern の変型は少ないが F<sub>2α</sub> では大きい. こういう点の違いは Saudberg らの研究による如き卵管への作用点の相違によるのかもしれない. 量的関係を現在検討中である. 局処使用による結果は9例に通気および描写式通水法による検討を試みているが, 点滴静注に似た成績を得ている. 不妊症に対しての PG の応用は E<sub>1</sub> による薬物通水が先づ考えられるべきであろう.

## B-3 腹腔鏡による癒着剝離後の妊娠例の検討

山本 浩・岩田嘉行・宮坂昌人

平林稔之・井上 彬

川崎市立川崎病院産婦人科

腹腔鏡は女性内性器の視診を可能とし, 不妊症の診断

方法の一つとして重要であるが施行時に癒着があれば、腹腔鏡の観察のもとにこれを剝離する。いわゆる腹腔鏡下の手術の行なえる利点を有する。

われわれは、これまで腹腔鏡下の癒着剝離術後に、10例のうち4例の妊娠例をみているので報告し、検討を加える。

第1例は子宮底から卵管狭部にかけてのやや強固な膜様の癒着を、第2例では左側の広範な癒着と、右側の小卵巣のう腫間の軽い癒着を、第3例では左卵管膨大部と直腸との間のやや太い索状の癒着を、第4例では子宮底および両側付属器への網状組織の広範な癒着を、鉗子、剪刀、あるいは電気メスを用いて切開した。

これら4例の妊娠までの術後期間をみると、第1例から第3例までが2周期目、第4例が次周期と、いずれも妊娠までの期間の短いことが共通している。

腹腔鏡による手術では、開腹手術に比べ、腹壁への侵襲がはるかに少なく、日常生活への復帰が早く、早期の妊娠を可能にするものと推察できる。

しかし、妊娠例のうち2例は生児を得てるが、あとの2例は子宮外妊娠という結果に終わっているのは残念である。けれども開腹の際、見た限りでは、癒着剝離部位に癒着がほとんど見られなかつた。

### B-3

質問 林 基 之 (東邦大・産婦)

- ・腹腔鏡手術の入院期間は？ Comment
- ・欧米では多数行なわれている。
- ・Appendektomie も腹腔鏡で。
- ・現在まだ手技料が低く評価されているのがはなはだ残念である。

答 宮 坂 昌 人 (川崎市立川崎病院)

- ・私達の病院で腹腔鏡手術を行なう場合、その入院期間は入院前の期間も含めまして、炭酸ガスで気腹した場合には3～4日、大気にて気腹した場合には約5～6日と短いのが特徴と思います。

### B-4 卵管上皮の透過型ならびに 走査型電子顕微鏡的研究

伊藤武夫・鈴木秋悦・藤原達司

浜田光磨

慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室

従来の透過型電子顕微鏡に加え、最近開発されてきた走査型電子顕微鏡による表面の微細構造の立体的観察が行なわれるようになりました。今回、受精を中心とした初期分割の内部環境としての卵管の走査電子顕像を分析して来ましたので報告します。

試料作製. 今回は主として徳永らの行なっているアミルアセテート・エタノール法により、一部は臨界点乾燥法を行ないました。

家兎卵管狭部横断面. 同じく粘膜炎. 透過型電顕像. 家兎卵管膨大部. ヒト卵管狭部粘膜細胞. 同じく強拡大. 透過型電顕像. ヒト卵管膨大部粘膜細胞. 同じく強拡大. ヒト卵管采部表面.

終りに、方法としては臨界点乾燥を用いる方法が最適と思われる。透過型電顕と合わせて観察しなければならぬ。

走査電顕は表面を主体的に、かつ量的にとらえます。表面の持つ機能を量的にとらえることは生殖生物学上、大いに用いられる方法と思います。

### B-5 家兎卵管上皮の走査型電子顕微鏡的観察 (実験的卵管炎を中心として)

高野 昇・大久保綜也・○戸出健彦

小林総介・川島 裕・清水三郎

田巻勇次

千葉大学医学部産科婦人科学教室

主として牛型結核菌による実験的卵管炎、両端結紮による人工卵管水腫例、および結紮後、油性造影剤を注入した例の、それぞれ処置後2カ月以上経過したものについて卵管上皮の走査型電子顕微鏡像を供覧し、光学ならびに透過型電子顕微鏡像とも比較検討した。牛型結核菌による卵管炎では、一部上皮細胞が大小不同となり、内腔へ突出し、線毛、マイクロビライの破壊が見られ、透過型電子顕微鏡像との一致した所見が認められた。人工卵管水腫例では、非線毛細胞は平坦となり、細胞境界は不明で、平坦な細胞表面から多くは一本の線毛様突起が出ているのが観察された。また、所々、非細毛細胞が内腔に向かい膨隆したと思われる像が見られた。油性造影剤注入後、両端結紮した例では、ほぼ、人工卵管水腫例における同様の像が見られたが、非線毛細胞が膨隆したと思われる像は、人工卵管水腫例におけるより、著明に見られた。以上卵管上皮細胞表面の微細構造について観察を行なつたが、より自然に近い形での観察のためには、標本作製上、解決されねばならない問題が残されている。われわれは透過型電子顕微鏡におけると同様、標本作製に注意を払いながら、今後はさらに研究を重ね、臨床との関連について検討する予定である。

## B-6 家兔卵管上皮細胞の電子顕微鏡的観察 (卵管分泌機能との関係)

○大久保綜也・高野 昇・川島 裕  
戸出 健彦・小堀恒雄・田巻勇次  
清水 三郎

千葉大学医学部産科婦人科学教室

受精環境の構成,あるいは,受精卵の栄養,保護などに重要な役割を演じ,女性不妊因子として,大きな影響をもつと考えられる卵管分泌液について,当教室高野等が検討を加え,本総会にも報告してきた。

今回は,卵管分泌液を分泌する,卵管上皮細胞について,光学的に,あるいは,透過型,走査型電子顕微鏡を用いて観察した。

実験材料は,性静止期家兔卵管を用い,ホルモン環境の変化と共に,卵管采,卵管腹腔側,卵管子宮側の部位的な差異の有無を比較した。

卵管分泌細胞の分布は,卵管子宮側に多く,特に粘膜ヒダ底部に多い。その比率は,線毛細胞1に対し,底部ではほぼ3,粘膜ヒダ上部で2の割合である。膨大部相当の卵管腹腔側では,両細胞が,ほぼ1:1に分布するが粘膜ヒダ底部に僅かに分泌細胞が多い。采部では,分泌細胞は,一層機能を減ずると共に数も著しく減少し,線毛細胞が5に対し分泌細胞1程度となる。

粘膜ヒダは,卵管子宮側から,腹腔側に向つて次第に発達し采部で最も著しい。

分泌細胞の分泌顆粒は,核上部,核側部,基底部の良く発達したゴルジ装置から生成,離断され,細胞自由表面膜下に集る。

分泌は,アポクリン分泌を主とするようであるが,メロクリン分泌も多い,ホロクリン分泌は認められない。走査型電子顕微鏡では,メロクリン分泌の方が多く認められた。

## B-7 Single AID と分娩予定日

○小林栄子・小林俊文・飯塚理八  
慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室  
大野 虎之進  
東京医科歯科大学市川病院産婦人科

慶応病院家族計画相談所における一周期一回非配偶者間人工受精 Single AID 妊娠例につき検討したので報告する。昭和30年から昭和47年までの Single AID で妊娠し自然分娩した例のうち基礎体温の入手および授精日,分娩日を確認しえた 529例とそれ以外の最近通常妊娠分娩例4851例を対象とした。またそのうち Single

AID 妊娠分娩例と通常妊娠分娩例 313例において妊娠末期より分娩前まで尿中 Estriol, CAP, HSAP 等測定した。

(結果) Single AID 妊娠例の排卵日と授精日との関係では O-day に31.2% (165例) が授精し妊娠しており最も多く, -2日から O-day までに72% (410例) が含まれている。また平均在胎日数およびその標準偏差は 265.85日±5.95日で全体の70%が266日±5日に含まれており最終月経第一日目より計算した妊娠持続日数は 278.01日±7.84日であった。

予定日超過率(妊娠43週以降)は8例で1.51%であった。一方通常妊娠分娩例の妊娠持続日数平均値と標準偏差は278.13日±11.83日,予定日超過率は274例(5.65%)であり,AID 例に比しかなりの差が認められた。次に Single AID 妊娠例における尿中 Et 値は分娩1~2週前に最高値を示し以後減少しながら分娩に至る例が多かつた。血清 CAP 値, HSAP 値も共にバラツキが大きかつたが,個々の検査結果を組み合わせるとはじめて胎児胎盤機能検査の総合的判断が出来得ると思われる。

## B-8 Program Freezer によるヒト精子凍結保存に関する研究

塗 百寛・中村幸雄・松本 茂  
飯塚理八

慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室

program freezer は,ヒーターと液体窒素によつて,+250°~-150°C に至るまで,あらかじめ設定された program によつて,自由に凍結速度を control 可能な装置である。program freezer によるヒト精子に対する凍結速度の影響をみると,+5°C~-20°C,特に-10°C~-20°C の範囲が一番有害な温度域であつた。室温から+5°C の温度域では,温度衝撃をさけるために,1°C/min. のゆつくりとした凍結速度が望ましく,この速度で最大の蘇生率が得られた。+5°C~-15°C の温度域では6°C/min, -15°C~30°C の温度域では10°C/min. の凍結速度で最大の蘇生率が得られ,-30°C 以下では凍結速度の影響をうけなかつた。以上の結果よりヒト精子にとつて最良の凍結法は,室温~+5°C までは1°C/mit, +5°C~-15°C までは6°C/min, -15°C 以下は18°C/min. の stepwise に凍結するのが最良である。

program freezer は,理想的な stepwise 凍結法を一枚の program chart で行なうことができ有用な装置であるが,現在の装置は液体窒素の消費量が大きく,さらに改良の余地がある。

### B-9 Chemically defined medium を用いた家兎卵管卵の体外受精

岩城 章・〇久保春海・小泉義博  
野沢あき子・上山 護

東邦大学医学部産科婦人科学教室

当教室では家兎において、雌性生殖道内からの回収精子ではなく、射精精子を用いて体外受精し得ることを報告したが、この点についてさらに検討した。

培養液:

I 受精用培養液; ①199+Ham F<sub>10</sub>+F<sub>12</sub> (6:2:2) を base にし、牛血清アルブミン40mg %, その他を加えたもの、②塩類溶液にピルビン酸塩, Glucose を各々 3g/l 加えたもの。

II その後の培養用 Medium; ①に30%仔牛血清を加え、バクトトリプターゼおよびフェチンを除く。

培養法:

I 液で1時間または10時間培養した後、II 液中で培養する。

成績:

1 細胞期の卵管内受精卵25ケ中24ケがII 液中で桑実胚以上に発育した。

2. ①中で受精後、II で培養。

16~18時間卵 164ケ中42ケが分割した。20時間卵では90卵中53ケが分割し、16分割卵に達した。

3. ②中で受精後、II 液中で培養

82卵中23ケが分割した。また2に比べて前核形成時期は遅かった。

B-9

質問 林 基 之 (東邦大・産婦)

・もし chemically defined medium で 100%体外受精が成功すれば将来は避妊の研究に画期的な方法が発見される時代がくると考えられる。

質問 飯塚理八 (慶大・産婦)

・家兎の射精液をそのまま使つて受精したことは意義があり、Capacitation については如何考えられますか。

答 久保春海 (東邦大)

・雌生殖道内ばかりでなく、合成培地中でも capacitation を起こし得るのではないかと思います。

### B-10 Isotopic Antiglobulin Technique によるヒト精子細胞表面抗原の検索

〇香山浩二・磯島晋三

兵庫医科大学産科婦人科学教室

奈賀 脩・足立春雄

徳島大学医学部産科婦人科学教室

ヒト精子細胞の表現する抗原性はほとんど精漿抗原に由来していると考えられており、われわれの精漿抗原分析実験によると精漿蛋白中には血清蛋白および肝・腎等の somatic antigen 以外に少なくとも6種の抗原成分が存在し、その内2種類の抗原成分が人乳抗原と共通している事が明らかとなった。今回、精漿抗原群の中でのいかなる抗原成分が精子表面抗原、すなわち精子附着抗原となっているかを isotopic antiglobulin test で検討した。すなわち家兎抗精漿血清・抗人乳血清を作成し、これら抗血清を血清蛋白、人乳および精漿蛋白等で順次吸収していき、各吸収段階の抗血清を十分に洗浄した精子細胞と反応させ、反応後、遠心洗浄を十分に行なった後、再び <sup>125</sup>I 標識抗家兎  $\gamma$ -G と反応させ、これを示標として精子細胞と反応した各吸収段階における抗血清中の抗体量を測定し、この精子へ吸着した抗体の種類から反対に精子細胞表面の抗原群を想定した。対照としての正常家兎血清 (1.0) および抗ヒト血清蛋白血清 (1.2~1.4) に比べて、抗精漿、抗人乳血清は共に特異的な精子吸着 (4.5~5.7) を示した。両抗血清共血清蛋白吸収による有意な吸着率の減少は示さなかつたが、さらに抗精漿血清を人乳蛋白で吸収すると吸着率 (2.2) は著しく減少したが、なお対照血清に比べて有意な吸着を示した。抗人乳血清をさらに人乳 lactoferrin 分画で吸収すると著しい吸着率の低下 (2.8) を示し、さらに精漿蛋白で吸収後 (1.5) は対照血清と有意差を認めなかつた。

### B-11 Skin graft によるラットの妊孕現象に及ぼす影響

〇西山藤司夫・布川 修・川越慎之助

広井 正彦・竹内正七

新潟大学医学部産科婦人科学教室

〔実験目的〕最近 reproduction における免疫の関与が重要視されて来ている。妊娠は一種の同種移植であるとの立場より考えると、流産には胎仔胎盤に対する免疫学的拒絶反応の関与が考えられるが、これを以下の動物実験により検討した。(1) 雄の皮膚移植による免疫化が、妊娠に如何なる影響を及ぼすか。(2) 雄の皮膚移植による免疫化の妊娠の継続に及ぼす影響。

〔実験方法〕 成熟ラットを用い、あらかじめ毎朝膈スミアを採取し規則正しい性周期のあるもののみを用いた。皮膚移植は donor の背部皮膚を約  $2 \times 2$  cm とり出し、直ちに recipient の同一部に移植した。control として雌の皮膚移植を行なった。非妊時、妊娠初期、妊娠中期、妊娠末期の各期に分け観察した。

〔実験結果〕 (1) については、交尾前一回の雄皮膚移植と三回の雄皮膚移植では、交尾後の妊娠率を見ると、対照群に比し移植回数が多いもの程、妊娠が阻止される傾向を認めた。(2) 妊娠時に雄の皮膚移植を行なうと、とくに妊娠初期の方が末期におけるより妊娠継続を阻止する傾向を認めた。なお移植した皮膚は10日前後において rejection された。

〔まとめ〕 流産の mechanism の内、父方の因子による拒絶反応の有無を知る為に、雄の皮膚を雌に移植して、その妊孕現象に及ぼす影響を検討し、雄の因子の関与も示唆された。

質問 金子 義雄 (京大・産婦)

・演者の結果はすべて傾向が認められたと云うことですが、これは統計学的に有意差が認められなかったということで、場合によつては対象群との全く有意差がないと解釈してよろしいでしょうか？ 今迄の多くの報告に見られるように。

答 西山 藤司夫 (新潟大)

・有意差はあまりありませんでした。

質問 香山 浩二 (兵庫医大・婦)

・先生の実験目的にされた抗原は Histocompatibility Antigen か、Y-Antigen か？ Y-Antigen とすると、Young (出来た胎児) の♀の比率はどうであつたか。

質問 八神 喜昭 (名市大・産婦)

・Control は如何にとられたか？

答 西山 藤司夫 (新潟大)

・♀の skin graft, 実験操作と同じ

質問 中北 武男 (愛知医大・産婦)

・rejection (妊娠の中絶) を認めたものの他の臓器 (例えば腎) についての検討はいかに。

答 西山 藤司夫 (新潟大)

・他の臓器については検討していない。

質問 都竹 理 (阪大・産)

・使用したオス・メスラットの strain は、

答 西山 藤司夫 (新潟大)

・Wister 系 Rat です。

## B-12 悪性腫瘍 myeloma の移植により paternal antigen に対して強度に免疫された雌マウスの妊娠率

○小川 誠・佐治文隆・若尾豊一

根来孝夫・都竹 理・倉智敬一

大阪大学医学部産科婦人科学教室

受精卵、胎児および胎盤は父親由来の Histocompatibility antigen を持っているにもかかわらず母体によつて免疫学的に拒否されないのはいかなる理由によるのであろうか。われわれは受精着床、胎児の発育、分娩の各段階において、胎児胎盤を母体の免疫反応から防御しているのはいかなる因子であるのかを、in vivo 並びに in vitro において解明しようと試み、まずその第1段階として雄マウスの Histocompatibility antigen によつて雌マウスを非常に強く免疫した場合、妊娠率や胎仔数に変化が起るか否かを検討した。

近交系マウス C3H/He に発生した Myeloma は腫瘍特異抗原の他に Histocompatibility antigen を多量に含んでいる。この腫瘍の移植によつて C57BL/6J の雌マウスを非常に強く免疫した上で、C3H/He の雄マウスをかけ合わせ、交尾後20日目に開腹して、妊娠率、胎仔数を観察した。

その結果

1. 交尾率および妊娠率は対照と比較して著明な差を認めなかつた。

2. 一方、生存胎仔数に関しては、胎仔の死亡によつて減少を来すもののがかなり多く生存胎仔数の平均も対照に比べ有意に少ないことを認めた。

以上の結果から父親由来の Histocompatibility antigen に対して母体を強力に免疫した場合には、それが妊娠の継続に対し何らかの障害をもたらす可能性のあることが示唆される。

質問 金子 義雄 (京大・産婦)

・3群の実験はすべて同一条件下で、実験を行なったか？

・myeloma 移植を繰り返したマウスには外見上、衰弱等の異常所見は認められなかつたか？

答 小川 誠 (大阪大)

・3グループ共、同時に mating を行ないました。

・感染の危険に対しては、消毒を厳重に行ないましたし、肉眼的に injection の部位に感染の徴候を認めませんでした。なお開腹時の体重でみましても、妊娠群、非妊娠群各々約30g, 20g で特に体重減少の著しいものと認めませんでした。

追加発言 磯島 晋三 (兵庫医大・産婦)

・circulating anti-histocompatibility antibody は trophoblast 表面に附着して対応する移植抗原に感作されたリンパ球の attack より protect しているという考えの方が強いが演者らの報告はむしろ damaging effect を狙っておられるように思う。対立した見解は必要なことで、各々別な方面から究明してゆかれることを望みます。

答 都 竹 理 (大阪大・産婦)

・2群すなわち免疫した C57BL/6J のメスと C57BL/6J のオスとの組合せによる妊娠率、胎仔数の変化は TSA の影響を反映していると考えられる。

### B-13 胎児に移行した paternal histocompatibility antigen に対する抗体の胎児各組織への localization について

○佐治文隆・小川 誠・若尾豊一  
根来孝夫・都竹 理・倉智敬一

大阪大学医学部産科婦人科学教室

妊婦の血清中にはかなりの割合で夫の組織適合性抗原 (paternal histocompatibility antigen) に対する抗体の存在する事が確認されている。これらの抗体の内 IgG は胎盤を通過して胎児に移行するがこれが胎児に対してどのような影響を与えるか興味ある次第である。これを解明するためには先ず胎児に移行した抗体が胎児の如何なる部位に附着するのかわ定量的に知る必要がある。そこでラットを用いてこの問題を実験的に検討しようとしたが何分にもラットの胎児は小さく実験を行なう事が技術的に困難なので胎児の代りに 8~10 週齢の F<sub>1</sub> hybrid について以下の検討を行なった。免疫方法は近交系ラット Buffalo (BF) の spleen cell で他の近交系ラット MP を反復免疫し BF の histocompatibility antigen に対する抗血清を得た。これの 7S- $\gamma$  グロブリン分画を <sup>125</sup>I で標識した後 BF の spleen cell を immunoadsorbent として精製し非常に感度の高い抗体を得た。この <sup>125</sup>I 標識精製抗体を BF のオスと MP のメスとの間に生まれた 8~10 週齢の F<sub>1</sub> hybrid に投与した所、1) 抗体は流血中の赤血球に先ず免疫反応によつて附着するが、2) その上肝臓その他の各臓器へも抗原抗体反応によつて結合した。附着した抗体量は whole organ では肝、脾、腎の順であつたが単位重量当りでは脾臓にもつとも強く附着した。3) 注射後 16~20 時間で血清中に残存する精製抗体には最早抗体活性は認められず抗体活性を有するものはすべて赤血球または各臓器に附着していた。

質問 香 山 浩 二 (兵庫医大)

・8~10W 齢の F<sub>1</sub> hybrid と妊娠初期胎児の Hist-

ocompatibility Antigen の体内における、または各 organ における distribution に違いがあるのではないかと。

答 佐 治 文 隆 (大阪大)

・実験に使用した 8~10 週齢の F<sub>1</sub> hybrid と胎児との間に histocompatibility antigen の分布に違いがあるかどうかは検討していない。胎児における paternal histocompatibility の分布を知ることは technique 上困難なのでわれわれは 8~10 週齢の F<sub>1</sub> hybrid より胎児を類推した。

### B-14 paternal histocompatibility antigen に対する抗体を反復大量投与された妊娠ラット胎盤の抗体透過性について

○都竹 理・佐治文隆・小川 誠  
若尾豊一・根来孝夫・倉智敬一  
大阪大学医学部産科婦人科学教室

われわれはこれ迄妊娠末期のラットに paternal histocompatibility antigen に対する抗体 (以下 anti PHA と記載) をごく微量投与した際投与された抗体がどのように胎児に移行するか定量的に検討してきた。しかし現実の妊娠では anti PHA が妊娠末期にただ 1 回のみ胎児に移行するのではなく妊娠中抗体は頻回に胎児に移行すると考えられる。そこで妊娠中大量の anti PHA が胎児に移行した場合胎児および胎盤にどのような影響を与えるかを検討した。近交系ラット Buffalo (BF) の spleen cell で他の近交系ラット MP を反復免疫し BF の histocompatibility antigen に対する抗血清を得た。次に BF のオスと MP のメスを mating させ妊娠した MP ラットを 3 群に分け、妊娠前半、後半、分娩直前にそれぞれ上記の抗血清を反復投与した。そして分娩直前にさらに BF の histocompatibility antigen に対する <sup>125</sup>I 標識精製抗体を投与し、胎児への移行の具合を定量的に検討した。その結果分娩直前に抗血清を投与された妊娠ラットでは胎盤に存在する paternal antigen の約 60% が block されたが、抗体の胎児への移行率ならびに妊娠の経過には何ら変化をみとめなかつた。

質問 香 山 浩 二 (兵庫医大)

・placenta と結合した circulating Antibody は、妊娠継続に対して障害的に働くものなのか、または Cellular Antibody に対して protective に、すなわち enhancement として働くものなのか。

答 都 竹 理 (大阪大)

・われわれの行なった実験の範囲では slide にも示した通り、circulating antibody は placenta に結合はする

が、妊娠続行率の低下は特にきたさなかつた。

今回の実験 (B-14) では Cellular antibody に関しては検討していない。

### B-15 凍結融解後の哺乳動物胚の生存性

○尾川昭三・佐藤嘉兵・山本好男

日本大学農獣医学部家畜繁殖学研究室

目的、哺乳動物胚の凍結保存 (-79°C) 法確立のため以下の項目について凍結実験を行なつた。方法; 交配後 13 日のマウス, ラット, 家兎の卵, 牛の卵胞卵を用いて (1) 凍結保護物質, (2) 温度下降速度, (3) 氷晶の Seeding 処理, (4) 融解方法および凍害保護物質除去方法等と凍結生存性との関係を調べた。また胚の凍結生存機構についても検討した。結果: (1) の保護物質のうち DMSO のみが胚の凍結保護効果を有した。(2) 氷晶の Seeding 処理と緩慢凍結方法を採ることが必要, (3) DMSO 除去は 0°C で時間をかけて行なうことが望ましい, (4) 胚はラット, マウスでは 2 細胞期が凍結保存後の生存率 (48%) が最も高く, 家兎卵では 1 細胞で培養後 8~16 細胞期迄発育せしめたもののみが凍結保存に耐え生存しうる, 等が判つた。用いた胚に共通して最も生存率の高かつた凍結融解処理方法は: 胚を少量 (0.1~0.2ml) の培養液に移し, 1°C/3min. の速度で 0°C まで下降, 等量の 2~2.5 M. DMSO 液を加え 15 分内外保持, 次いで 1°C/2min. で -35°C に下降, 極めて小さい氷晶片を液の上面に置く (Seeding), 5 分間保持して, 1°C/3~4min. の速度で -50°C, 1°C/3min. で -79°C に保持, 融解は 4~5°C/min. で行ない, 0°C で培養液を 2 分間隔で 3 回加え稀釈, さらに 10 分間保持後, 胚を新鮮培養液で洗浄, 培養に移した。さらに, このラット胚は移植により着床した (45%)。牛卵胞卵は凍結融解後も型態的には処置以前と変わらず, 生存しているものと考えられた。

### B-16 家兎胚のいわゆる透明帯について

岩城 章・室井克夫・○野沢あき子

東邦大学医学部産科婦人科学教室

佐藤嘉兵・尾川昭三

日本大学農獣医学部

家兎胚において従来透明帯と称されている被膜について次のごとき実験を行ない, 卵胞卵, 卵管卵における本来の透明帯とは異なると考えた。

1. 受精卵の培養: アルブミン層の付着が少ない時期の卵の培養では透明帯が破れ, hatching 様現象を生じた。付着が多い桑実胚の培養時に透明帯が破れ, 細胞部

分が脱出するがアルブミン層内に停つている。

2. in vivo における胚の観察: 3.0, 3.25, 3.5, 3.75, 4.0, 6.0, および 7 日目の各胚にはいずれも hatching 現象は認められなかつた。8 日目胚では伸展された trophoblast 層の外側に薄い被膜が存在するが, 9 日目には消失する。

3. 電顕像: 卵胞卵~卵管卵の透明帯は一層構造である。胞胚期の被膜は多層性を示した。

4. 染色性: メチレンブルー, トルイジンブルー, アルシヤンブルー, ルテニウムレフト, PAS, 染色を行なつた。卵胞卵の透明帯は単層で淡染される。4 日胚では濃染されたアルブミン層と淡染された透明帯。6 日胚では多層性を示し, 4 日胚とは異なり, 最外層は淡く, 内側に濃染部が存在する。

Kirchner は蛍光抗体法と電気泳動法により胞胚の被膜の最外層は Uteroglobulin であることを証明したが, 以上の実験とともに, 6 日胚では一般的に透明帯と呼ばれている被膜はアルブミン層と Uteroglobulin が主であると考えられる。

### B-17 片側卵巣摘出マウスにおける 卵子の着床と妊娠に関する研究—系統差について—

○栃木明人・遠藤 克・西川滇八

日本大学医学部公衆衛生学教室

佐久間 勇次

日本大学農獣医学部家畜生理学教室

目的: 片側卵巣を摘出した動物は, 他側の残存卵巣が代償的に肥大し, 排卵数は正常動物とほぼ等しくなると報告されている。

演者らは, 種々の原因により, 片側の卵巣を摘出した婦人の生殖機能の再現性を明らかにする目的で, 片側の卵巣を摘出したマウスについて, 片側卵巣における排卵, 着床および妊娠との関係, また, 片側子宮の胎児の許容限界および卵子の反対側子宮への移行による着床などの点について, 5 系統のマウスを用いて比較検討した。

方法: 供試マウスは, 自家繁殖した CF#1, ICR, NC. C57BL/6 および C<sub>3</sub>H/He 系の 1 経産マウスであり, 左側卵巣摘出後 2 週間を経てから, 同系統の雄マウスと交配し, 腔腔を確認した日を妊娠の 0 日とし, 妊娠第 15 日にと殺開腹し黄体数, 着床数, 生存胎児数および残存卵巣重量を記録した。

結果: 片側卵巣を摘出したマウスは, 正常マウスの片側卵巣における黄体数, 着床数および生存胎児数と比較した場合, 明らかに増加し, 正常マウスの左右合計に近

くることが認められた。また、代償の程度には系統によつて差があることを知った。残存卵巣においては重量の増加が認められ、正常マウスの片側に対し 1.5 倍程度の増加であつた。子宮の許容については、片側子宮で両側分の胎児を許容できうるものと考えられる。他側子宮への卵子の移行は CF#1, ICR, C57BL/6 で 1 例ずつ生存胎児を認めた。

質問 一戸喜兵衛 (和歌山医大)

・片側卵巣を削除した動物 (マウス) での長期観察で、生殖 (妊孕) 期間が正常マウスのそれと比較して短くなるようなことはなかつたのでしょうか。また老化にもなつて低下する letter size の下降は正常雌動物のそれと比較してどうか。

答 柄木明人 (日大医・公衛)

・片側卵巣を摘出マウスは残存卵巣に負担がかかってくるので老化が早まるものと考え、現在この点について検討を行なつています。

質問 佐藤嘉兵 (日大農獣医)

・系統間の差を支配する因子は何か、  
・片側卵巣摘出マウスの 1 回目の産子数と 2 回目の産子数の比較をしているか。

答 柄木明人 (日大医・公衛)

・系統によつて当然繁殖能力に差があり、今回の実験では摘出後交配までの期間が一定であることなどから、因子を解明するまでにはいたっていない。  
・現在この点については検討中である。

#### B-18 Dehydroepiandrosterone-sulfate ならびに— enanthate の雌ラット性腺に及ぼす特異な効果

2) 「未受精卵の着床」と思われる現象について

○小川誠一

大阪鐘紡 K K 薬品研究所

唐沢陽介

東京都三楽病院産婦人科

Androgen の sulfate や脂肪酸 ester 自身には生物活性はなく、生体内の sulfatase や esterase によつて水解された遊離の steroid が活性を示すと理解されている。従つて生物作用の発現にはこれら水解酵素の存否が鍵となる。また HCG は、未熟ラットに PMS とともに投与すると “Parlow rat” が出来るが、この雌未熟ラットの卵巣から分泌される Progesterone と estrogen の分泌量は成熟ラットの妊娠中期のレベルであつて副腎は抑制萎縮された形となつていことから予め HCG

を投与して DHA を投与したとき卵巣は肥大するという E.L. Singer らの報告と比較するため Primogonyl 投与後、DHA-enanthate, DHA-sulfate をそれぞれ投与すると HCG 単独投与と比較して、卵巣、子宮は enanthate 投与のものが有意に肥大、とくに子宮内膜は著しい分泌期像を示し内膜子宮腺に前回同様の未受精卵とおもわれる “卵” が着床したかのような形でみとめられた。

一方 DHA-sulfate では卵巣、子宮の重量は対照の生食液投与例と差はなく DHA の性腺に対する基本的な作用としては、未熟仔投与の場合は、体内水解酵素の存否と大きく関連することが理解出来るが、未熟ラットには esterase は存在するが sulfatase は本実験のごとく 27 日齢ごろでは、いまだ僅少であるという事実を証明し得た。未熟ラットは体重も増加し膈開口も 32 日齢で早く、またこうした卵の着床をおもわせる所見が得られたことはこれが卵か否かは別として着床を促すに足る十分な場を作り得たことは興味深い現象である。

質問 舘 鄰 (東大・理・動物)

・DHA が子宮内膜の上皮細胞群あるいは、間質細胞群の何れかに特異的に細胞分裂をひき起こしていることを示すようなデータはありますか。

・子宮上皮細胞表面は、エストロジェン、プロジェステロン等によつて、特異的な transformation をしますが、DHA はこの点に関してどのような作用を持つているか SEM など御観察になられたら面白いのではないのでしょうか。

・DHA をかなり大量に注射しておられる訳ですが微量のエストロジェンの混雑などはありませんでしょうか。

答 小川誠一 (大阪鐘紡研)

・細胞レベルは、まだよく検討しておりません。今後卵巣機能を中心に progesterone と estrogen との関係につきまして追及するつもりです。

#### B-19 マウス受精卵の腎被膜下移植に関する (第4報) トロホブラストの浸潤と宿主との関係

○金子義雄・杉本 修・西村敏雄

京都大学医学部産科婦人科学教室

従来より、母体と胎児、あるいは trophoblast (tr.) と宿主との組織適合抗原 (H-抗原) 性の相違が著しい程、tr. の浸潤が激しいと云われている。また、胎児の存在によつて、tr. の浸潤が抑制されるという意見もある。そこで tr. の浸潤が、胎児の種類や宿主の条件によつて、どのような影響を受けるかを、マウスの胎児あるいは ectoplacental cone を、腎被膜下に移植することによつ

て検討した。その結果、tr. の浸潤の程度は、同系移植と異系移植との間では差がなかった。また、腎被膜下移植卵から分化する胎児の存在の有無、あるいは、子宮内胎児の存在の有無と、tr. の浸潤との間には、何らの相関も見い出せなかった。すなわち、胎児の存在は、直接的にも間接的にも、tr. の浸潤には、影響を与えなかった。一方、C57BL/J 系、胎胚の tr. の浸潤は、ICR 系のそれに比べて、有意に、抑制されていた。しかし、両者の妊娠18日目の胎盤では、大きさにおいて差は見られなかった。また、メス宿主では、オス宿主に比べて、tr. の浸潤が抑制される傾向が見られた。これは、今回の実験から、少なくとも、progesterone や testosterone とは関係なく、性の分化に関する他の因子によるものと思われる。以上より、tr. の浸潤は、妊卵自身の遺伝的特性によつて左右される場合もあるし、宿主によつて左右される場合もあると考えられる。

質問 竹内正七(新潟大産婦)

・Billington らの実験成績と先生の成績との差がでた理由は何んであるとお考えですか。

・胎児の有無とは関係ないとのことですが、先生の実験系における胎児の生存の有無についてお伺いしたいと思います。

・絨毛細胞の増殖パターンを見ますと、腎実質の表面をひろがっているだけのようですが、それをあえて浸潤という term を用いられている理由は何か

答 金子義雄(京大・産婦)

・最近になりましてイギリスの Clark が Billington の睾丸内移植実験の結果を否定する報告しています。また Prof. Behrman も gross impression ではなりませんが、われわれの成績に賛成しています。(注、腎被膜下と子宮内とは異ると思われる)

・腎被膜下胎児は移植後平均9日間生成しておりました。

・Billington の報告に従つて、invasion と云う言葉を使いましたが、正確には extendの方がよろしいと思います。

## B-20 女性性器内におけ精子の移動

○元島正信

熊本大学医学部産科婦人科学教室

Diane S. F. Settlage, Donald

R. Tredway

南カリフォルニア大学

膈内に射精された精子が、如何にして受精の行なわれる卵管まで到達し、その後どのような経過をたどるかは

非常に興味深いところである。動物においては、比較的広範な研究が行なわれてきたが、人間の場合は卵管から精子が発見された報告はあるが、射精後精子の女性性器内の移動に関する研究は皆無に等しい。

著者等は、正常な受精能力を持つ婦人で、排卵期に Intravaginal insemination の後卵管切除術を行ない、切除した卵管を用いて内腔を露出した後生理的食塩水を容れた試験管で洗い、その洗滌液を Cyto centrifuge で遠心沈澱した。乾燥したスライドを May-Greenwald-Giemsa 法で染色して、スライドの精子数を算定した。このようにして、精子の膈から卵管までの移動に要する時間、単位時間後の卵管における精子数および精子数と Inseminate された精子数との関係を検討した。

Intravaginal insemination の2分後には卵管から精子は発見出来なかつたが、5分後には既に存在した。その後精子数は急速に増加して15分後にはピークに達し、数は45分後まで一定であるが、2時間後には減少がみられた。卵管内で発見された精子数は Inseminate された精子数、殊に運動性のある精子数と深い関係を示した。

質問 永田行博(九州大学・産婦)

・全く健康な婦人ということですが、Portio Erosion などの症例はあまりせんか、あればその結果は?

答 元島正信(熊本大・産婦)

・婦人科的疾患のある症例は全て除外しております。

質問 山口竜二(奈良医大・婦)

・演者のデータでは今まで知られている精子の速度と大いに異なるがどう考えられるか。

答 元島正信(熊本大・産婦)

・in vitro では精子の前進速度は毎分1~3mm と考えられております。in vitro では inseminate された後、passive の factor が働き、精子の前進が促進されると思われま。

## B-21 脱落膜形成機序に関する研究(第三報)

### 床脱落膜の形態について

蜂屋祥一・○塩塚幸彦・中島敏男

杉田 玄

東京慈恵会医科大学産科婦人科学教室

われわれは脱落膜細胞がいかなる機序にて、かつどの時期に形成されるかを解明する目的にて、分泌期末期より妊娠初期内膜を採取し逐日的推移を追求し、さらに、子宮外妊娠時内膜、pseudo pregnancy 療法施行子宮内膜の検索を行ない、すでに第58回不妊学会関東地方部会・第17回不妊学会総会で発表した。

今回は、主として床脱落膜の組織化学的、超微形態学

的検索を行ない、床脱落膜の妊卵着床へ機能的意義を示唆する興味ある結果を得たので報告する。

検索対象、子宮内容除去術、または、子宮剔除術により得られた妊娠5週より12週の内膜を用いた。

検索方法、ホルマリン固定にて H・E 染色、Gitter 染色、PAM 染色(矢島)を行ない、カルノア液固定にて PAS 染色、コロイド鉄染色を行なった。さらにグルタルアルデヒド、オスミウム酸二重固定、EPON 812包埋を行ない、電顕による超微形態学的検索を行なった。

検索結果、床脱落膜では脱落膜細胞が密に配列し、Gitter 染色、PAM 染色にて黒色に染まる線維の網状構造が認められ特に Tnoplblast 細胞と接する部位に線維の層状構造が認められた。この部位にはいわゆる Fibrinoid の層も存在する。Glycogen は腺上皮細胞、脱落膜細胞に豊富に存在しコロイド鉄染色にて陽性の AMPS が間質基質に認められた。超微形態学的検索では床脱落膜細胞に多数の粗面水胞体と大形の Lysosome の存在が特徴的である。

質問 館(東大・理・動物)

・ネズミにおいては特に Trophoblast 細胞と接している decidual cells に非常に顕著な microfilaments の蓄積が見られるが、人の decidual cells でそのような現象は見られますでしょうか？ また fibrinoid の filament の前駆体のようなものが細胞内に何かありますでしょうか？

・極く基礎的な質問なのですが、人の床脱落膜の細胞は polyploid だと考えてよろしいのでしょうか。

答 塩塚幸彦(慈恵医大・産婦)

・間質に発現する microfibrin の如き形態の繊維は、細胞質内には認め得ない。

・大形の核は脱落細胞の形態的特徴である。

## B-22 人卵胞内卵の体外培養と培養卵の電子顕微鏡的研究

関賢一・鈴木秋悦・藤原達司

浜田光磨

慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室

最近、各種哺乳類卵の体外培養に関する報告が散見されるが、人卵についての報告は非常に少なく、とくに、人培養卵の微細構造については、Zamboni の報告があるだけである。

卵胞内卵の体外培養に関する研究は、卵子成熟のプロセスを、in vitro で観察分析し、性細胞の分裂様式として特有の減数分裂の機構を解明するだけでなく、培養

成熟卵の体外受精への応用、あるいは、受精の本態を解明する上でも非常に重要である。

われわれは、従来から、各種哺乳類卵の体外培養、体外受精を行なつてきており、本学会でも、度々、これを報告してきているが、今回は、手術時に摘出した人卵巣より卵胞内卵を採取し、これを24~48時間、HAMF-12中で体外培養し、培養成熟卵を電子顕微鏡を用いて観察した結果について報告したい。

卵胞内より採取直後の卵胞卵は、多層の顆粒膜細胞群に包まれており、卵実質内には偏心性に、比較的大きい核が認められる。この時期は、いわゆる、休止期にあるもので、Germinal vesicle といわれるものが明白に認められる。培養によつて、核膜は消失し、約48時間で、極体の卵実質周囲腔内への放出が認められる。この時期の培養成熟卵の電顕像でも、第2減数分裂の中期の染色体像と Spindle を明らかに認めている。

## B-23 走査型電子顕微鏡による卵子表面の微細構造の分析

浜田光磨・鈴木秋悦・伊藤武夫

関賢一・藤原達司

慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室

最近、生物試料の表面構造の解析に走査型電子顕微鏡が応用されるようになり、生殖生物学領域においても受精にともなう各種哺乳動物の性細胞ならびにその内部環境の表面構造が観察されてきている。

しかし、哺乳動物卵の場合、特殊な膜構造でかこまれているため、またその細胞の大きさにおいても固定その他の諸操作が困難なためにいまだ満足すべき結果は報告されていない。

われわれは、これらの方法論の確立をめざし各種哺乳類卵で受精を中心とした性細胞の表面構造を観察しているが、本学会ではその一部を報告したい。

方法：採取した卵は、2.5% Glutaraldehyde 燐酸緩衝液(0.1M, pH 7.4)で4°Cで24時間固定した。

透明帯は酵素および機械的操作により固定前または固定後に除去した。のち、Succrose 燐酸緩衝液(0.1M, pH 7.4)中で48時間4°Cで放置した。

以上の前固定ののちに0.1Mの燐酸緩衝液で十分に洗浄し、1% Osmic Acidで1時間の後固定を4°Cで行なった。固定後再び0.1Mの燐酸緩衝液で洗い、直ちに50%、70%、90%、100%のメチルアルコールで数分間脱水した。

脱水後、試料は金属支持台上に直接あるいは、カバーガラスに Mount して風乾し、炭素、金の二重蒸着を行な

い観察した。

## B-24 着床の電子顕微鏡学的観察

—とくに胚、内膜間に見られる細胞間結合様式について—

林 要・○松岡謙二・李文遠  
東条伸平

神戸大学医学部産科婦人科学教室

胚着床は同種間における組織移植の成立を意味しており、このため着床現象は、同種間の組織移植が、宿主と移植組織との遺伝子の相違のために免疫学的に拒否されるという生物学的な通則からみて、きわめて興味ある現象といわなければなりません。今回私共はラットの胚と内膜との相互関係に焦点を合わせ、電顕的観察を行ないました。以下主な所見を報告致します。

実験方法は L<sub>4</sub> から L<sub>6</sub> の Wistar 系妊娠ラットの胚着床部内膜を 燐酸緩衝 paraformaldehyde-glutaraldehyde 固定液で生体固定し、切片作製後、電顕で観察致しました。

このスライド(1)は L<sub>4</sub> 22 attachment stage の妊卵附着部で trophoblast と内膜表面上皮の microvilli が交互嵌入しており、trophoblast 内には plaque や inclusion body 類似の特異な構造体がみられます。

次のスライド(2)も同時期の trophoblast と内膜表面上皮で trophoblast の表面上皮対向部には蛋白摂取現象を示すといわれる bristle coated membrane が観察されます。

次のスライド(3)は L<sub>5</sub>-adhesion stage の妊卵接着部のエポキシ切片による光学顕微鏡写真で、着床部の内膜上皮は著明に薄化しています。

次のスライド(4)は L<sub>5</sub> 17°における妊卵接着部で、上皮表面の microvilli は消失し、代つて cytoplasmic protrusion が互いに密接し、かつその表面は trophoblast と密着しています。また trophoblast 内には inclusion body 類似の特異な構造体が観察されます。

次のスライド(5)は同時期の表面上皮の apical portion で蛋白摂取現象を示すといわれる、vacuole と結合した bristle coated vesicle がみられます。

次のスライド(6)は L<sub>6</sub> 1°における妊卵接着部で、相対する内膜表面上皮の細胞膜と homograft としての trophoblast の細胞膜が肥厚し、intermediate Junction 様構造を示す部位が各所に認められます。

次のスライド(7)では内膜上皮と trophoblast の細胞膜が肥厚し、細胞間隙はほとんど消失した、いわゆる gap junction 様構造が観察されます。

次のスライド(8)は trophoblast 侵入期の L<sub>6</sub> 11°の妊卵着床部で内膜表面上皮は非常にうすくなり、一部ではすでに消失している部分もあります。この trophoblast の上皮内侵入と呼応するかの如く、inner cell mass の著しい増大がみられ、また、間質細胞は扁平化して互いに密着しております。

次のスライド(9)は L<sub>6</sub> 11°の妊卵着床部で、trophoblast は上皮細胞間に侵入し、基板にまで達しています。上皮細胞内には大量の脂肪滴がみられます。

次のスライド(10)は L<sub>6</sub> 22°の妊卵着床部で、内膜表面上皮は完全に消失しており、trophoblast は直接間質細胞に接しています。inner cell mass は内側の embryonic ectoderm とそれをとり囲む endoderm および ectoplacental cone とにはつきり 区別出来るようになります。

次のスライド(11)は L<sub>6</sub> 22°の trophoblast と間質細胞で上皮基底膜を破つた間質細胞の細胞質突起が trophoblast と接して simple apposition の状態を呈しています。両者の細胞間隙の sinus 状に拡大している部位には collagen fiber が観察され、また trophoblast の blastocyst cavity 側には Reichert membrane が認められます。

次のスライド(12)も同時期の trophoblast と間質細胞で相対する両者の細胞膜が肥厚し、desmosome 様構造を示す部位が観察されます。

以上結論としまして、attachment stage では trophoblast と内膜表面上皮間に両者の microvilli の交互嵌入がみられました。ついで adhesion stage では microvilli は消失し、trophoblast と内膜表面上皮境界は平坦化、さらに密着して simple apposition の状態となり、ついで intermediate junction 様構造や gap junction 様構造などいわゆる細胞膜の specialization をきたし、当部における trophoblast の固定化や、両者間における物質交流の一層の亢進などが推測出来ました。こののち invasion stage では trophoblast は上皮内への侵入を開始し、trophoblast の histolytic mechanism を思わす表面上皮間侵入像などを認めました。さらに上皮消失後は、trophoblast と間質細胞は直接、接するようになり、両者間に simple apposition や desmosome 様構造を認めました。

質問 館 郷 (東大・理・動)

・Gap junction であることを確かめられましたか。

・Invasion 後の trophoblast 細胞と、stroma 細胞との desmosome formation は非常にひんぱんに見られますか、

答 松岡謙二(神戸大)

・Trophoblast-stroma cell 間にみられた desmosome-like structure は trophoblast-epithel 間にみられた. intermediate junction は like structure ほどしばしばみられるものではなかつた.

#### A-26 ゴナドトロピン放出因子のラジオイムノアッセー—ヒト性周期における変動—

玉田太朗・小沼誠一・荒木重雄  
群馬大学医学部産科婦人科学教室

合成ゴナドトロピン放出因子 (Gn-RH) (第一製薬) を抗原としてウサギを免疫し抗 Gn-RH を作製した. 免疫にはチャーコールに吸着した抗原とフロイント Adjuvant を混合したものを用いた. Gn-RH を  $^{125}\text{I}$  用い, クロラミンT法により標識し, ラジオイムノアッセーを確立した.

正常性周期中の変動を平均してみると, 卵胞期に低く排卵期にむかって漸増し, 排卵期 LH ピークの前後にピークを作るものが多かつたが, 黄体期中も比較的高値を持続した.

去勢後, 妊娠中ならびに正常男子の血中 Gn-RH 値についても報告する.

質問 齊藤 幹 (東京医歯大)

・正常周期の血中 LH-RH が  $1 \sim 2 \text{ ng/ml}$  であるとする, 流血中  $5 \sim 10 \text{ mg/5 l}$  の可成りの量が存在することの計算になるが, この点をどう解釈したらよいか.

答 玉田太朗 (群馬大)

・血中の RH の濃度は  $1 \sim 2 \text{ ng}$  でした. 特異性は FSH, LH, oxytocin, TRH と交叉反応を認めていない.

#### A-27 性ホルモンの下垂体 Gonadotropin 分泌能に及ぼす影響について (合成 LH-RH 投与を中心として)

三浦清巒・田川博之・○石丸忠之  
加瀬泰昭・大谷勝美  
長崎大学医学部産科婦人科学教室

性ホルモンと下垂体 Gonadotropin (G.) 分泌能の関係については種々の報告がみられるが, その成績は必ずしも一致していない. そこで今回われわれはヒトを用いて性ホルモンと下垂体 G 分泌能の関係を検討したので報告する.

[実験対象ならびに方法]

対象は 5 名の無月経および卵巣剔除婦人である. この 5 名に Progesterone 剤として Hydroxyprogesterone caproate 125mg (P 剤), Estrogen 剤として Estradiol

benzoate 10mg (E 剤), EP 剤として Hydroxyprogesterone caproate 125mg + Estradiol benzoate 10 mg (EP 剤) を投与した. 上記性ホルモンを投与前, 投与後 3 ~ 4 日目, 7 ~ 8 日目に尿中 Estrogen を測定し, さらに合成 LH-RH,  $200 \mu\text{g}$  を 1 回筋注射し, LH-RH 投与後 30 分, 60 分, 120 分, 180 分, の血中 LH, FSH, を測定した. 血中 G 値は Radioimmunoassay 2 抗体法, 尿中 Estrogen は Brown-神戸川法により測定した.

[成績および考按]

P 剤投与では LH は, 全例下垂体 G 分泌は抑制, FSH は一定の傾向を示さなかつた. EP 剤では LH, FSH ともに抑制された. なお尿中 Estrogen が下降する 7 ~ 8 日目にその抑制は最も著明であり, この事は feed back 機構はステロイドの作用持続時間が重要な因子であることを示唆している. E 剤投与では LH, FSH ともに 3 ~ 4 日目にその分泌は亢進した. この事より適当量の E 剤前処置と合成 LH-RH の組合せによる排卵誘発も検討価値があると思われる.

質問 熊坂高弘 (東京医歯大)

・Estrogen 投与した場合に LH-RH 1 回投与で 180 分まで上昇を続けて, その上昇率が LH-RH 単独投与に比べて上昇が低いようですが, これは Estrogen 投与と何か関係があるとお考えですか.

答 石丸忠之 (長崎大・産婦)

・estradiol valerate 10mg 投与による LH-RH response が 180 分で peak を示していたが, Estrogen の影響であるかどうか. 私共は LH-RH test として  $200 \mu\text{g}$  1 回筋注射していますが, 正常周期婦人においても, しばしば 180 分で peak を示す場合があり, Estrogen pretreatment による為の peak のずれとは考えられない.

#### A-28 分娩前より産褥授乳期に至る LH-RH 負荷による血中 LH, FSH の反応について

○村山 茂  
東京電力病院産婦人科  
中村 幸雄  
慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室

産褥授乳期における下垂体の LH-RH に対する反応を分娩後長期に亘り, 泌乳, 頸管粘液, 膣スミア, 子宮内膜所見等と併せて検討した. 症例は 40 例をこえるが今回はこの中で調査の終わった 26 例について報告する. 方法は合成 LH-RH  $100 \mu\text{g}$  を 1 回皮下注射し, 注射後, 30 分, 60 分, 120 分後に採血を行ない, 二抗体法による Radioimmunoassay により血中 FSH, LH の測定を行な

つた。合成 LH-RH は田辺製薬より提供されたものである。〔成績〕①分娩前および産褥 6 日迄は LH-RH 投与前の血中 FSH は共に 2~4 m IU/ml と低く、また投与後の上昇も認められない。これに対し LH (HCG) は分娩前の値は 500mIU/ml 以上を示すが産褥 6 日目には 70~80mIU/ml 前後と急速に低下する。しかしなお投与後の上昇は認められない。② 1 カ月後においては平均 FSH 9.5mIU/ml, LH は 33 mIU/ml となり平衡状態となる。この頃より下垂体前葉の反応が現われるようになった。すなわち 30 分後の値で FSH, LH とも約 10 倍に増加した。③経時的に見ると血中 FSH の反応は泌乳量別に区分した場合、分娩後 1~2 カ月では分娩後 3~4 カ月より反応性が良好である如き印象を受けたが、全体的に見ると例数の少ない関係もあつて各月間の差はなお明かではなかつた。また血中 LH の反応は泌乳(-)の場合に限り分娩後 1~2 カ月より 3~4 カ月の方が FSH とは反対に反応性が良好である如き成績を示したが、これも全体として見ると FSH と同じく月別の差は明らかではなかつた。これらの点についてはさらに検討を要する。④泌乳状態による LH-RH test の反応上の差異については必ずしも一定の傾向は認め難いようである。すなわち血中 LH の反応は泌乳の如何に拘らず全例良好であつた。しかしながら FSH の反応については泌乳不良な症例は不良、泌乳良好な症例は FSH の反応も良好である如き成績を示した。しかしこの点についても数例を増加し検討したい。⑤分娩後長期無月経例について検討すると、分娩後 5 カ月以上無月経の症例における LH-RH test の血中 FSH, LH の値は共に正常月経周期の卵泡期とほぼ変らない反応を示した。ただし FSH においては、産後 4 カ月までの平均値に比較した場合、その反応がやや不良であつた。⑥次に頸管粘液の良好なる症例に対して、LH-RH test を行なつた。(2 例)、われわれは分娩後数カ月の症例においてやや頸管粘液の多量を持続的に示しながら排卵に至らない症例を見ることがある。膣細胞診は良好で泌乳は不良な場合が多い。このような症例に対し LH-RH test を行なつた所、血中 LH は顕著な反応を認めた。すなわち排卵前期の如き反応を示した。この場合 FSH の反応はむしろ良好とは云えなかつた。

以上分娩前および産褥授乳期の婦人に対する LH-RH test の成績を述べたが、さらに症例数を増加しその検討結果につき報告したい。

追加 平野 睦 男 (東北大・産婦)

・われわれの成績では産褥 11 日目ころから LH-RH に対する response があらわれて来ます。しかしその反応を詳細に検討しますと、11 日目頃には、FSH は反応す

るが、LH の反応はない。産褥 3 週で LH の反応もあらわれて来る。産褥 4 週、1 カ月ではまだ FSH の反応の仕方がつよいという経過をとつております。只今の先生の御発表で、分娩 1 カ月、2 カ月、3 カ月と経過するにつれ、LH の反応の仕方が高まり、FSH の反応の仕方は低くなるという成績は、以上のわれわれの data と考えあわせ、大変興味深いことと思われま

#### A-29 老齡婦人の下垂体—卵巣系機能について

○吉田 裕・金丸英彦・横田栄夫  
一戸喜兵衛

和歌山医科大学産科婦人科学教室

教室の一戸らは、妊孕齢をはるかに越えた老齡雌動物に成熟卵巣を交換移植すると妊娠、分娩の生殖生理が回復されることを実証し、昨年(第17回)本学会で既に発表した。今回はヒト老齡婦人の下垂体—卵巣系機能状態を観察し、婦人性機能老化の起源を追求すべく、閉経後 92 歳に至る健康老齡婦人 122 名を対象に下垂体の gonadotrophin (PG) 分泌能、LH-RH への反応能および授与性 steroids に対する feedback 機構の存否を検討し以下の如き成績を得た。

〔I〕閉経後婦人の血清中 LH の radioimmunoassay 値は成熟期の約 7 倍、FSH 値は約 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する。〔II〕かかる長期間に亘る PG 過剰分泌状態の下垂体でも、合成 LH-RH 皮下注射に対し成熟婦人とはほぼ同様に正しく反応する機能を保持している。〔III〕閉経後の positive feedback によるとされているこの PG 分泌昂進は estradiol の連日経口授与により成熟期レベルまで劇的に抑制される。同時に閉経後上昇する FSH/LH 比も成熟レベルに復する。progesterone も比較的大量長期間連用すると僅かに PG 抑制を示すが estradiol による抑制とは比すべくもない。また両者の併用は LH 抑制に相乗効果を示す。

以上、卵巣機能が廃絶した後の老齡婦人でも、下垂体は PG 分泌能および視床下部情報への反応能を維持しており、また間脳—下垂体系は卵巣系情報に feedback 能を生涯潜在保持し続けることが窺われ、ここに婦人性機能の老化の起源は卵巣に始まるものと推測された。

質問 安部 徹 良 (東北大・産婦)

・閉経後婦人の間脳下垂体系の卵巣ホルモンに対する feed-back 機構が生涯、正しく保持されるとの根拠として ethinyl-estradiol 0.08mg/day, 21 日間授与した成績をあげておられるが、この投与量は生理的な feed back を惹きおこすのに適当な量と考えるか。またその根拠は

何か。

・閉経発来機構の原発部位は卵巣にあるといわれるが、婦人の estrogen 分泌が、閉経を境として明らかに低下しているとのデータをお持ちでしょうか。

答 吉田 裕 (和歌山医大・産婦)

・ethinyl estradiol 経口授与による血中濃度の変動については測定していない。授与量としてはかなり微量であるが、成熟期婦人の血中濃度との詳細な比較は今回発表のデータ内では不能である。

・所謂閉経期といわれる年代層における血中 estradiol 量は、お説の通り個人差が多い。今回の対象である、閉経後数年以上を経過した高齢者では、その estradiol 量は成熟期に比して明らかに低下している。

### A-30 合成 LH-RH の反復皮下投与および持続静脈内投与による下垂体および卵巣の反応について

熊坂高弘・○矢追良正・西 望  
加藤広英・大蔵健義・斉藤 幹

東京医科歯科大学医学部産科婦人科学教室

合成 LH-RH の作用における時間的要因に生眼において、反復皮下投与と持続静脈内投与とを比較しつつ下垂体および卵巣の反応態度を検討し、さらに LH-RH の投与中に conjugate estrogen を作用させ、LH-RH の下垂体刺激効果に及ぼす estrogen の影響を検討した。

① 卵胞期婦人では、LH-RH の30分間隔の繰返し投与により、血中 LH, FSH の加重増強効果、および尿中 estrogen の増加が認められた。

② 術後1カ月の去勢婦人の LH-RH 静脈内持続投与で、血中 LH, FSH の上昇経過に振幅がみられた。

③ 卵胞期婦人、および測定型は PCO 婦人での LH-RH 静脈内持続投与中、血中 LH, FSH の増加中に一過性の低下現象がみとめられた。

④ PCO では Wedge resection 後に LH-RH 持続投与に対する LH の反応が改善され、estrogen 分泌も増加した。

⑤ 卵胞期婦人、去勢婦人に LH-RH 持続投与、プレマリンを別に投与し、その効果をみると、LH 放出に抑制効果がみられるが、その反応態度が両者で異なり、去勢婦人では一過性の LH 増加は認められなかった。

質問 楠田 雅彦 (九大・産婦)

・Polycystic ovary の楔状切除術後、何日目に LH-RH test を施行されましたか。

・術後 LH-RH に対する反応が良くなったとのこと

ですが、何例に施行されたのか、またすべて同じような結果を得られたのか、全例に好転したとすればその機序をいかにお考えですか。私共は数例について施行し、必ずしも一定の傾向を得ていないので……

答 矢追良正 (東京医歯大)

・PCO の症例は Wedge resection 術後1週間目に行ないました。

・PCO の症例2例につき検討しほぼ同様の結果を得ました。

質問 中村 幸雄 (慶応大・産婦)

・PCO 症例において術後 Estrogen 値上昇、LH-RH test 反応上昇の Data をお示しいただきましたが、血中 Testosterone 値の手術前、後値を判定しておりましたら、御教示下さい。われわれの症例では、全例術後 Testosterone 値が低下していました。術後の LH-RH test の反応上昇の mechanism と関係あると思いますので。

答 熊坂 高広 (東京医歯大)

・この例の術前の17-ks は5.6mg (正常値3.8), 術後は3.6mg に減少した。術後の LH-RH 投与で LH の反応が良くなったのは、estrogen の増加によるのではないかと考えている。

### A-31 LH-RH 投与時における血中各種ホルモンの動態

○小林 巖・伊藤暁二・鈴木正英  
嶋川映己・石塚直隆

名古屋大学医学部産科婦人科学教室

LH-RH test を無排卵症における排卵障害部位診断に応用し、LH-RH 投与後の LH の反応パターンから無排卵症を(1) low-good 群(2) low-poor 群(3) high-good 群(4) high-poor 群の四型に大別分類した。障害部位は、それぞれ(1) 群では、卵巣または視床下部、(2) 群では、下垂体または下垂体兼視床下部、(3) 群では、卵巣、(4) 群では、調節障害と推定された。

また障害部位をより詳細明確にするために、血中 Estradiol (以下 E<sub>2</sub>) 動態を RIA にて追求して、卵巣の機能性判定も同時に行なった。

その結果、無月経第一度、第二度何れの群にも E<sub>2</sub> の増加を示すものが認められ、無月経一度、二度の間には偏在は認められないように思われた。また E<sub>2</sub> 値は、無月経第二度において寧ろ高値であった。卵巣障害が疑われる high-good の症例においても E<sub>2</sub> 動態に変化を認めなかった。他の群でも E<sub>2</sub> の増加の認められないものは、卵巣の障害が疑われた。

一方, LH-RH test は, その旧体の個体の内分泌環境の流れの一断面をとらえ得るにすぎないために, その成績の判定には注意を要する。

症例によつては, 臨床上 discrepancy の認められるものが 2, 3 経験された。

従つて, その個体の有する内分泌環境を十分に解明するためには, 症例により LH-RH test を繰り返し施行する必要のあることが示唆された。

質問 五十嵐 正雄 (群馬大)

・只今の御発表と抄録とは内容がちがつていたようですが, 抄録に「A群 low-good の群では間脳あるいは下垂体が障害部位と考えられ」とかいてありますが, LH-RH に good response を示したのに下垂体に障害があるというのは理解出来ませんが, 御説明下さい。

答 小林 巖 (名大・産婦)

・抄録の「low-good response の症例における障害部位は, 視床下部または卵巣のあやまりであります。

質問 青野 敏博 (阪大・産婦)

・LH-RH 負荷により卵巣の機能を血中 estradiol の動きから検査する方法は下垂体から放出された LH のレベルが一定でない点, および卵巣の反応を分単位で検知しているの従来 HMG-test に比し卵巣の形態的な変化を伴わない点に問題があると思われませんが, 如何でしょうか。

答 小林 巖 (名大・産婦)

・LH の response が良好であるものにおいては Estradiol の測定で卵巣機能の判定は可能と考えます。また LH の response との見られないものにおいては exogenous な gonadotropin の負荷による E<sub>2</sub> 動態を追求する必要があると考えます。

・hormonal な response をとらえることにより卵巣機能の判定が可能と思われる症例もかなりあり, 全例に HMG test をする必要はないと考えます。中には HMG test により形態的な変化を持つて, その後に E<sub>2</sub> を測定する必要のある症例もあると考えます。何れにとつても screening として LH-RH test 時の E<sub>2</sub> の追求を行なうことは, 有意義であると考えます。

質問 関 光 倫 (千葉大・産婦)

・主として FSH に関して, low-poor response のほとんどが HMG-HCG 療法で排卵したか。

答 小林 巖 (名大・産婦)

・low-poor の症例ではまだ HMG-HCG 療法の follow を十分に行なっておりませんので, 残念ながらお答え出来ません。只私達は high-good の症例で卵巣障害があると思われ, 排卵誘発は比較的困難であろうと推察されたものか, HMG-HCG にて容易に排卵した例をお示し

した訳であります。

### A-32 合成 LH-RH 負荷による排卵障害部位の検討

○岡本清子・野口昭二・中村 博  
平川 舜・清水工経・大村 剛  
西田修二

東邦大学医学部産科婦人科学教室

排卵障害婦人80例に, 合成 LH-RH 負荷試験を行ない, 血中 LH, FSH の反応パターンより排卵障害部位の解析を試み, これと臨床分類とくに内視鏡施行群においては卵巣形態との相関を検討した。〔方法〕合成 LH-RH 100 $\mu$ g 静注負荷後採血, 血中 LH, FSH の測定は二抗体 RIA によつた。内視鏡施行は負荷試験の同周期としたが一部で異にした。〔成績〕無排卵周期症25例中, LH が比較的高い前値より過剰または良好反応型, 一部にタイミングのずれた LH 放出群を含め21例, いずれも LH 放出持続, FSH は正常範囲が特徴。うち9例を内視鏡で P.C.O. と同定, 間脳不全型は4例。第I度無月経20例では総じてそのパターンは無排卵周期症に類似, 5例の P.C.O. を内視鏡で同定。間脳不全型6例。第II度無月経35例では LH 過剰反応型でも FSH 高値が特徴的, 従つて LH/FSH は低値で卵巣原発型機能不全群と低反応型を示す下垂体不全群に大別。なお内視鏡にて4例の P.C.O. を確認。低反応型のうち FSH 値比較的高値群13例を含む。以上の成績より臨床分類と排卵障害部位との明確な相関はえられなかつた。これは排卵機構がきわめて複雑な内分泌支配下にあることを物語るもので, この意味からもクロミッドテスト, プレマリンテスト, ゴナドトロピン負荷試験等も不可欠である。とくに反応パターンから障害部位が卵巣に求められる場合には, 情報を直接把握できる内視鏡の施行が有力な補助診断となることを確認しました。

### A-33 各種疾患における LH-RH 試験

○金上宣夫・佐藤卓広・南 邦弘  
田中昭一

札幌医科大学産科婦人科学教室

1971年 Schally らにより LH-RH の構造が決定され, その合成も可能となつた。この LH-RH を用いることにより視床下部に下垂体, 卵巣系の機能変動があり正確に把握できるようになつた。今回 LH-RH を各種疾患患者に投与し, 投与後の血中 FSH, LH を測定して LH-RH に対する反応をみたので報告する。対象は polycystic ovary syndrome 3例, 無月経第1度 4

例, 第2度5例, Turner syndrome 1例, rudimentele ut+aplasia vaginalis 2例, craniopharyngioma で下垂体切除例1例の計16例である。投与法は LH-RH 100 $\mu$ g を生食に溶解し静注, 投与前, 15, 30, 60, 90, 120分に採血し, LH, FSH を RIA で測定した。結果: polycystic ovary syndrome では投与前 LH は高値であり LH-RH に反応し投与後30分に peak を示した。FSH 反応は弱かった。無月経第1度では測定前値は低く, LH-RH に反応し30分に peak を作り減じた。FSH はほとんど反応しなかった。第2度無月経は1例は前値は低く反応したが他の4例は LH-RH に反応しない下垂体性のものと判定した。FSH に反応は認められない。rudimentele ut+aplasia vaginalis の2例中1例は間脳性の反応, 他例は LH-RH 投与後血中 LH は増加しつづけ 120分でも増加傾向を示した。FSH は無反応であった。Turner syndrome の1例は LH, FSH とも測定前値は高い, 両者とも LH-RH に反応し投与後30分で peak に達した。craniopharyngioma で下垂体切除例では LH の前値は低く LH-RH に反応する視床下部性無月経を示した。FSH は投与後60分で peak を示した。

#### A-34 Clomiphene citrate 無効婦人の LH-RH に対する反応性

○岩崎武輝・木津取二・中野義雄  
東山秀声

京都府立医科大学産科婦人科学教室

第1度無月経婦人のうち, clomiphene citrate 1日 150mg 5日間投与でも排卵に成功しなかった症例10例について, 合成 LH-RH に対する血中 LH および FSH の反応を検討した。すなわちこれらのうち5例(A群)を, さらに clomiphene 150mg 5日間投与で前処置した5例(B群)および正常排卵周期婦人の卵胞後期4例(C群)と比較した。なお血中 LH, FSH は2抗体法による Radioimmunoassay を使用した。合成 LH-RH の投与方法は1回200 $\mu$ g 筋注とした。A群に合成 LH-RH を1回筋注した場合, 血中 LH は正常卵胞後期と類似の反応パターンを示した。すなわち全例が15分から60分に LH のピークを認め, 前値の5~21.5倍であった。一方血中 FSH は反応がきわめて緩慢で15分から60分にピークを示し前値の2.8倍であった。B群の clomiphene 投与終了後7~10日目に, 合成 LH-RH 200 $\mu$ g を2時間おいて2回筋注投与した。この場合血中 LH は投与前にすでに高値を示し, 投与後15分から30分にピークを示した。この場合の血中 LH の値はC群のそれよりも約8倍の高値を示すものもあつた。2回目投与後60分に

第2のピークをみるも, 最初ほど高くなくその後漸減した。また血中 FSH は1回目投与ではあまり反応がなく, 2回目投与後60分で反応性が良好となる症例もみられた。A群の1例に LH-RH 単独筋注で妊娠には結びつかなかったが排卵に成功した。B群の1例では排卵にひき続き妊娠が認められた。

質問 水口 弘 司(東大・婦人)

・clomid-LH-RH 順次投与をやつておられますが, clomid 投与前後で LH-RH 反応性に差がみられませんでしたか。

・排卵誘発成功例と不成功例での LH-RH 反応性は差はありましたか。

答 岩崎 武 輝(京都府立医大・婦人)

・clomiphene 投与後, 経日的に血中 LH, FSH を測定していませんので排卵例と無排卵例の血中レベルの差異はわかりかねますが, 排卵例と無排卵例の clomiphene 投与後, 合成 LH-RH 投与した時の血中 LH, FSH の差異はあまり認めませんでした。

質問 森 宏 之(東大・産婦)

・5例の症例のうち PCO の疑いのある症例がなかったか。

・clomid 投与後の LH-RH の反応性が LH 前値が高く, Response が良好であるが, FSH の反応性がほとんどないという理由はどう考えるか。

答 東 山 秀 声(京都府立医大・産婦)

・内診所見で5例中1例は両側卵巣が軽度腫大し, 他の1例は1側の卵巣が触知された。

・clomiphene 前処置群での LH-RH 投与前の血中 LH が高値を示しているのは, clomiphene 投与中止後7~10日に LH-RH を投与したから, この時期に clomiphene により前葉からの LH 分泌がすでにおこっていたからと考えられる。polycystic ovary に対する LH-RH 反応とよく似ている。

LH-RH 投与後の FSH の反応性が悪い, すなわち前葉の FSH 分泌予備能が低いことが, 逆に clomiphene 150mg/日 $\times$ 5日 で排卵しなかった原因と推測される。

#### A-35 LH-RH test による HMG+HCG または Clomid 療法適応患者の判定

関 光 倫・○黄 伸 有・奥村淑子  
関 克 義

千葉大学医学部産科婦人科学教室

合成 LH-RH による無排卵患者における HMG+HCG または Clomid 療法適応患者判定の可能性を検討した。HMG+HCG または Clomid の投与法は既に発

表した通りであるが、前者には HMG+Colmid+HCG 療法、後者には Clomid-epimestrol 療法が含まれる。合成 LH-RH は持田製薬および田辺製薬提供のものを使用し、100 $\mu$ g (30例)、500 $\mu$ g (27例) および 1000 $\mu$ g (9例) 1回皮下注射後の血清 LH、FSH を NPA 提供の RIA-kit を用いた DASP-RIA で定量した。採血は原則として注射前も含め経時的に 9~10 回行なった。LH-RH 100 $\mu$ g および 500 $\mu$ g 注射時の血清 LH の経時的変動は HMG+HCG 療法での排卵の有無による差は少い。これに反し HMG+HCG 療法による排卵失敗群 (HMG+HCG (-)) の血清 FSH 値は LH-RH 100 $\mu$ g および 500 $\mu$ g 注射時高値域内において変動するものが多い。両療法で共に排卵失敗群の FSH の前値は排卵成功群のそれより高く、特に HMG+HCG 療法で著明である。HMG+HCG (+) の LH 増加率は 7.1~7.7 を示し、HMG+HCG (-) の 2.7~6.0 より大である。注射前および peak 時の LH/FSH (A および B) とその比 (B/A=C) は Clomid 療法の C を除き排卵成功群の値が失敗群のそれよりも大きい傾向にあり、特に peak 時の LH/FSH に差がみとめられた。以上 HMG および Clomid 適応患者を決定する場合 LER-907 の standards で peak 時の LH/FSH が少なくとも 1 以上を目標とすべきで、さらに HMG 投与患者では FSH の前値が低く、LH の増加率が 5 以上であることが望ましい。

質問 嶋川 映己 (名大・産婦)

・LH-RH ステートを一回だけ施行することによって診断を決定するのは危険性がある。何回か繰返し検査をし verlauf を追う必要がある。

・LH-RH test の投与前値のみを重要視しているようですが、その理由は？

答 黄 伸有 (千葉大・産)

・確かに仰せの通り、長い期間には症型が変化するものもあります。従つてわれわれも同一人で数回の LH-RH test を行なっております。

・HMG+HCG 療法適応患者判定には FSH の前値が重要な Criterion にはなっておりますが、LH-RH test では LH および FSH の増加率および peak 時の LH/FSH も比較的有効な criteria と考えられます。

#### A-36 排卵誘発の trigger 作用に関する合成 LH-RH の臨床的検討

○余語郁夫・杉木 修・岡村 均  
青地秀樹・杉並 洋・西村敏雄  
京都大学医学部産科婦人科学教室

血中 LH 排卵直前に急激に増加する現象は直接また

は間接に排卵の引き金としての役割を果たしていると推測されている。合成 LH-RH の LH 放出効果を期待してこれをそのような排卵誘発の trigger として応用する試みについてわれわれはその初期の成績を昨年の本学会において報告した。今回はさらに新たに症例数を加え、とくに人工受精に際しての排卵の timing の問題も含めて合成 LH-RH を応用した臨床成績の一部を報告したい。

対象は京大産婦人科不妊外来を訪れた患者のうち正常周期をもつもの 64 例および無排卵周期症または第 1 度無月経の患者 58 例であった。これらの患者の基礎体温および頸管粘液の状態を観察し、とくに頸管粘液羊歯状結晶が +3 以上になった際に合成 LH-RH (田辺製薬) 200 $\mu$ g を筋注した。排卵の有無は注射後 48 時間以内の基礎体温の上昇およびその後 12 日以上の高温相の持続などによつて主に判定し、一部の症例では血中 progesterone の推移も参考にした。

成績は正常周期を示す患者で AID を受けたもの 27 例 36 周期のうち排卵例は 25 例 34 周期、妊娠 8 例 (22%) であった。AIH 例では 29 例 49 周期のうち排卵を認めたもの 25 例 45 周期で妊娠 4 例 (13%)、LH-RH 投与以外に特別の処置を受けなかつたもの 10 例 11 周期では全例に排卵が認められ 2 例の妊娠があつた。一方、無排卵症では 58 例 76 周期のうち 23 例 (39%)、32 周期 (42%) に排卵がみられ 4 例 (6.8%) が妊娠した。

以上の成績を LH-RH を用いなかつた場合と比較してみると、まず人工受精の際の妊娠率は AID で 21%、AIH で 8.3% であり (西村他; 1967 年)、対象数に対する妊娠率には AID では差異はなく、AIH ではやや LH-RH 併用例が優つていた。ところが人工受精施行周期数をみても今回の成績では AID 1.3 回、AIH 1.8 回であつたのに対し、合成 LH-RH を投与しなかつた場合は AID 4 回、AIH 6 回であり、このことを考慮に入れると、人工受精の際に合成 LH-RH を投与することが有意に妊娠成功率を高めたと云える。一方、無排卵症に対しては例えば clomiphene 投与例における排卵誘発率が諸家の報告によると 55~94% (Sharf et al: 1971 年) であるので今回の成績 39% は低いと言わざるを得ない。さらに頸管粘液以外の指標も探り投与時期および投与対象を選定した投与方法および投与量などについても検討を深めなければならない。

質問 布川 修 (新潟大・産婦)

・正常性周期をしめている症例で、しかも CM が排卵に近い状態で LH-RH を用いるメリットをどのようにお考えですか。trigger という概念をどのように考えておられますか。

答 余 語 郁 夫 (京大・産婦)

・とくに人工受精の時期と排卵の timing を一致させた  
いとの意図でこのような試みを致しました。

#### A-37 多嚢胞卵巣の内分泌的動態と内視鏡所見

○西田修二・林 基之・野口昭二  
平川 舜・中村 博・林 晴男  
長岡貞雄・黒沢忠彦

東邦大学医学部産科婦人科学教室

極めて多彩な内分泌動態下にある多嚢胞卵巣 (P.C.O) の診断に際し LH-RH test による特異的な反応パターンが注目されてきた。われわれも35例の P.C.O を推定しうる症例を経験し、内視鏡的同等と反応パターンの相関性を検討した。また3年不妊、LH-RH test 同周期に妊娠に移行した1例を経験したので併せて報告する。  
〔対象および方法〕、無排卵周期症25例、第I度無月経20例、第II度無月経35例、を対象とし合成 LH-RH 100 $\mu$ g 静注法。血中 LH, FSH 測定は二抗体法 R.I.A. によった。内視鏡による卵巣の観察時期は出来だけ、LH-RH 負荷後の同周期を選定したが、一部で周期を異にした。  
〔成績と考按〕P.C.O. の LH-RH 反応パターンを4型に分類した。すなわち 1) LH 高い前値をとり反応も高値持続で代表される 定型的過剰反応型、1例。2) LH 高い前値、高値持続せる過剰反応型、4例。3) LH 比較的高値を有する良好反応型、6例。4) 過剰反応型に類したパターンを呈しタイミングのずれた LH 放出持続型、6例であった。今回排卵機構に障害あると思われる症例に LH-RH test 施行した結果、われわれの予想に反し P.C.O. を疑う症例の頻度が以外に高いという成績が得られた。一方われわれの内視鏡による卵巣分類の Criteria にしたがって21例中17例を P.C.O と同等した事実より卵巣形態と反応パターンの間に有意の相関性を確認した。しかしながら臨床分類との間に明確な相関性は認められなかった。P.C.O 同等例中3例 (2例 clomid 無効) に Culdoscopic wedgerection 後妊娠移行例を経験した。これらの事実より今後 P.C.O 推定せられる症例には形態的な同等と同時に治療面では Culdoscopic wedgerection を加えることよりかなりの排卵誘発を期待しうると考える。

質問 楠 田 雅 彦 (九大・産婦)

・われわれにも排卵障害症約70例の卵巣を形態学的、組織学的に検索した結果、無排卵周期症と無月経1度のほとんどは polycystic ovary であつたことを昨日も発表した。しかし無月経2度の26例の中には polycystic ovary は皆無で、わずかに P.C.O より移行したかの

とき scleromicro polycystic atrophic ovary を数例認めている。先生の無月経2度の P.C.O. 4例の組織学的所見は如何でしたか。

答 西 田 修 二 (東邦大・産婦)

・内視鏡的 PCO の同等であり (併せて Biopeccy も施行しておりますが) 組織学的な検討レベルでの問題点に関しましては十分御答えできる date をもち合せておりません。

しかしながら内視鏡的 P.C.O. の分布に関しましては田中も認めている如く広範囲に分布する事実をわれわれも認めております。先生御質問の第II度月経にも P.C.O. が認められるかという点に関しましてはわれわれは今回4例の内視鏡的同等を認めております。なお今回 LH-RH 反応パターンと内視鏡的同等の相関性を得られなかった4例中3例が第II度月経でありました。

#### A-38 ラットの妊娠および産褥における下垂体ホルモンの変動

○斉藤昌治・笹森源弘・小泉保子  
高橋克幸・平野陸男・鈴木雅洲  
東北大学医学部産科婦人科学教室

目的: 妊娠経過における下垂体ホルモンの動態を知る上での指標の一つにすべく、ラットの妊娠および産褥における血清中、下垂体前葉中の LH, FSH, PL を RIA で測定し、その変動を観察した。

方法: Wistar 系成熟ラットを交配させ、その妊娠周期、産褥 (授乳および無授乳) のラットを断頭し、血清および下垂体前葉を採取して実験に供した。測定は NIAMO より提供された標準品を I<sup>131</sup> で標識し、2抗体法 RIA でおこなつた。

結果: 妊娠周期における血清中の LH は、妊娠初期、後期で高値を示したが、中期では低値であつた。下垂体前葉中の LH は、中期にやや高値であつた。FSH は、血清中、下垂体前葉中ともに LH の変動とほぼ類似したパターンを示したが、LH ほど著明な変動は示さなかつた。PL は血清中、下垂体前葉中ともに、妊娠初期にやや高く、中期は低値で後期は急速に増加する傾向を示した。授乳産褥期における LH, PL は、血清中、下垂体前葉中ともに妊娠後期より維持された高値が次第に減少の傾向を示したが、FSH は妊娠後期同様低値を示した。分娩直後に仔を離したいわゆる無授乳産褥期における LH, FSH は、血清中、下垂体前葉中ともに授乳産褥期における LH, FSH の変動パターンと類似していたが、PL は血清中、下垂体前葉中ともに急速に減少してゆくという授乳産褥期とは著明に異なつた変動を示した。

**質問** 仲野良介(神戸大・産婦)  
 ・妊娠ラットの LH, FSH の下垂体含量と血中濃度との著明な解離を報告しておられますが、その意義についてはどのように解決しておられますでしょうか。

**答** 斉藤昌治(東北大・産婦)  
 ・実験数が少ないので今の所は何とも云えません。血中への放出、下垂体での合成などに関しては今後さらに検討したいと思っています。

**質問** 加藤広英(東京医歯大・産婦)  
 ・最近 Green wood や Tyson がヒト血中 Hpr の測定を行なっているが basic Hpr level 30  $\mu\text{g/ml}$  以内のものが妊娠回数より漸増し、分娩時には 200  $\mu\text{g/ml}$  にも達し、産褥期に急減する傾向を示しているが、ラットでは妊娠初期に1つのピークを示した点について如何にお考えですか。

・産褥で suckling の群と none suckling の群に分けたものについてプロラクチン反応に差があつたか否か。

**答** 斉藤昌治(東北大・産婦)  
 ・Coitus stress を考えたいと思います。  
 ・スライドに示した通り、明らかに差がありました。

**質問** 江原洋一(群馬大・産婦)  
 ・PRL の血中レベルの測定では、とくに測定値の variation が大きいと諸家の報告でも云われていることですが、これをどのように解釈しておられるでしょうか。

**答** 斉藤昌治(東北大・産婦)  
 ・ラットの種類、飼育方法、実験操作時、検採採取のストレスなどによりその値の変化が激しいと云われているので現在その点を考慮して検討中です。

**追加** 余語邦夫(京大・産婦)  
 ・私共のところでも妊娠時のラットの gonadotropin の推移を検討しておりますが、御発表の成績とよく似た成績を得ておりますので追加させていただきます。

#### A-39 妊娠時の Radioimmunoassayable FSH : 血中濃度と LRF に対する反応

○仲野良介・鷲尾元夫・東条伸平  
 神戸大学医学部産科婦科学教室

従来から、妊娠中の下垂体は gonadotropic activity を休止しているのではなからうか、との推測がなされて来たが、特にヒトにおいては種々の実験方法論上の隘路のため、文字通り推測の域を出なかつた。

radioimmunoassay が開発されるに及んで、妊娠血中 FSH が数人の研究者達によつて測定され、いずれも正常卵胞期などのレベルと比較して低値ではあるが測定可能であるとされて来た。

今回、妊娠初期、中期、末期の婦人、それぞれ5名に対して 200  $\mu\text{g}$  の合成 LRF を静脈内に投与し、投与前後の血中 FSH の値を二抗体法 RIA によつて測定した。

妊娠初期、中期、末期、いずれの例も血中 FSH の値は 2 ~ 9 mIU/ml と低値であり、200  $\mu\text{g}$  の合成 LRF を投与しても血中 FSH の値に変動は認められなかつた。

さきに、われわれは産褥第1週から第3週にかけての褥婦に合成 LRF 200~400  $\mu\text{g}$  の投与を行ない、血中 FSH を測定して LRF に対する反応の認められないことを報告したが、妊娠中から産褥初期にかけては下垂体の LRF に対する反応性が抑制されているものと考えられる。

妊娠中の下垂体機能、特に FSH activity について、文献的考察を混えながら、われわれのデータを報告する。

**追加** 斉藤幹(東京医歯大)  
 ・自然排卵後に妊娠した婦人の排卵から血中 HCG 上昇までの血中 FSH を連日測定した結果では、FSH が低値であり、またほとんど変動を示さなかつた。

#### A-40 各種 Gonadotrophin および合成 LH-RF によるマウス、ラット、ウサギ間の排卵誘起力の比較

○杉山修・信永利馬  
 中外製薬総合研究所

各種 Gonadotrophin (GTH) および合成 LH-RF (Schally のグループの構造決定に基づいて当研究所岡田らにより合成され、純度80%以上)の皮下投与 (Dose/animal) による排卵誘起反応を指標にしてマウス、ラットの反応に対するウサギの反応の鋭敏度について検討した。ラットの排卵(発情間期投与)に必要な投与量はマウス(発情間期投与)のそれに比較すると Ovine FSH で6倍、Unfractionated Ovine P-GTH (P-GTH) では7倍それぞれ多く必要であつた。これに対して Equine P-LH では12倍、HCG では16倍、PMSG では45倍、マウスよりもラットの方が多く必要であつた。ウサギの排卵に必要な量はマウスのそれに比較すると FSH では51倍、LH では96倍、P-GTH では254倍、HCG では131倍、PMSG では161倍であつた。ラットを基準にするとウサギは FSH で8倍、LH で8倍、HCG でも8倍であつたが P-GTH は35倍必要であり、PMSG では4倍で排卵可能であつた。合成 LH-RF ではラットはマウスの16倍、ウサギではマウスの32倍、ラットの2倍

で排卵が可能であつた。したがつて本成績から FSH は LH よりもマウスを基準にするとウサギに排卵させやすく、P-GTH は FSH, LH よりもはるかにウサギに排卵させにくい。また P-GTH はラットを基準にしてもウサギに対してやはり同様の成績であつた。LH-RF ではマウスを基準にしてもラットを基準にしてもウサギの排卵に必要な量は GTH よりもはるかに少量であつた。

質問 五十嵐正雄(群馬大)

・ラット、マウスのような自発排卵のある動物とウサギのような交尾排卵のある動物を同一条件で実験しておられます。従つて治療効果は外因性ゴナドトロピン、プラス内因性ゴナドトロピンの効果と考えられますが、いかがでしょうか。また誘発排卵と自発排卵をどのように区別されたかもお伺いします。

答 高橋和明(中外総合研)

・共同研究者である信永が静岡で只今開かれている実験動物のシンポジウムの座長としてまいつており、この席で御回答出来ないのではありますが後ほど個人的にお答えできると思います。

#### A-41 マウス卵子の着床に及ぼす Gonadotrophin の影響

○遠藤克

日本大学医学部産科婦人科学教室

高場美智子・佐久間勇次

日本大学農獣医学部家畜生理学教室

目的：近年、GTH は産婦人科領域および家畜の臨床繁殖の分野などにおいて広く、一般に応用されているが、各種の GTH については、その投与方法、とくに最も適切な投与単位および投与時期などについては、必ずしも明らかにされていない。

演者らは、CF#1系のマウスを用いて交尾を確認した排卵後のマウスに PMS, HCG および Prolactin などの GTH を経時的に投与した場合、GTH は、その投与時期によつて、また、投与単位によつては、受精卵子の着床を阻止することがあるのを知つたのでその成績を報告する。

方法：供試マウスは、自家繁殖した CF#1系の未経産マウスで、排卵後10, 34, 58, 82および106時間後に PMS 5IU, HCG 5IU および Prolactin 10IU をそれぞれ皮下投与した。その後、妊娠第10日にと殺開腹して妊娠の有無、黄体数、着床数、生存胎児数および卵巣重量を記録した。

結果：PMS 処置群における10~82時間区の妊娠率は10~50%であり、卵巣重量は増加する傾向が認められ

た。HCG 処置群では、10~82時間区で妊娠率が40~80%であり、黄体数および卵巣重量が増加する傾向が認められた。Prolactin 処置群では、10~106時間区の妊娠率が70~100%であつたが、着床数、生存胎児数は減少する傾向にあつた。

以上のように、排卵後に GTH、とくに PMS および HCG を投与する場合は、十分検討する必要があるものと考ええる。

質問 永田行博(九大・産婦)

・HCG, PMS 投与による妊娠率の低下をどのように解釈されるか、(その機序について)また黄体数、卵巣重量は増えているが、血中ホルモンの動態はどうであつたか。

答 遠藤克(日大医)

・PMS, HCG を投与することによつて内因性のEの増加によるものと考えられる。黄体数の増加は、PMS, HCG 投与によつて、排卵が誘起され、その黄体数が加つているものと考ええる。卵巣重量の増加は PMS, HCG による反応の結果と考えられる。血中のホルモン動態は今後検討したいと考えている。

#### A-42 HMG-HCG 療法による排卵誘発時の血中 FSH, LH および progesterone の動態

○青野敏博・宮崎正敏・南川淳之祐

倉智敬一

大阪大学医学部産科婦人科学教室

HMG-HCG 療法中の血中 gonadotropin (G) level の推移を知ることは、治療スケジュールを組むためや、治療の限界を知る上に重要である。われわれは5例につき HMG 製剤を225IU 筋注後の血中 FSH 値を調べたところ、前値の1.9mIU/ml から8時間後に8.4mIU/ml のピークを形成し、24時間後でも6.8mIU/ml の値を維持した。一方 HCG 3000 IU 筋注後の LH-HCG 値は、投与前の9.1mIU/ml が8時間後には78mIU/ml とピークを示し24時間後には69mIU/ml と高値を持続する傾向を認めた。次いで hypogonadotropic の無排卵婦人6例の8周期につき HMG-HCG 療法を行ない、連日採取した血清中の FSH, LH-HCG と progesterone (P) を測定した。8周期中6周期に排卵が誘発され、うち1周期において妊娠が成立した。排卵陽性周期のホルモン測定値を HCG 投与日を中心に平均化したところ、血中 FSH 値は HMG を150IU ずつ投与すると10.1mIU/ml から21.3mIU/ml へと徐々に上昇し、HCG 3000IU の注射に切り替えると漸減し黄体期には低値を示した。血中 LH-HCG 値は HMG の投与中はやや下降傾向を

し、HCG 投与後100mIU/ml を越える3日間のピークを作り、黄体期に HCG を1000IU ずつ隔日に投与すると30mIU/ml 前値のレベルを維持した。血中Pは HCG 注射後漸増し25ng/ml に及ぶ増量が認められた。一方無排卵に終わった2例は Sheehan 症候群および下垂体部分切除後の婦人であり、卵胞のGに対する反応準備状態が不十分であったものと推察された。

**質問** 倉野 彰 比古 (九大・産婦)

・排卵誘発不成功例において、Progesterone の値が10 ng/ml 程度のかかなり高い値があつたが、分泌部位はどこと考えるか。

・この際 BBT の温度上昇は見られたか、また消退出血の有無についてお教え願いたい。

**答** 青野 敏 博 (阪大・産婦)

・HCG 投与後一過性に progesterone の上昇のみられた症例がありましたが、経過をみますと再び低値に戻り、BBT の上昇も一過性で消退出血も認めませんでした。なお分泌源は夾膜細胞層と推察される。

**質問** 立山 浩 道 (九大・温研・産婦)

・HMG 投与後 HCG 3000エルの投与を行なわれているが、大量 one shot は行なつてないのでしょうか。最近 one shot 投与による報告が多いようですが…われわれは HMG 投与に続いて HCG 10000 IU の One shot 投与を行なつている。

**答** 青野 敏 博 (阪大・産婦)

・外国では高単位1回投与が多いようですが、われわれは以前からの投与法を踏襲したわけです。なお gemzell から直接聞いたところでは1回投与の方が外国では多発排卵が少いそうですので、今後切り替えるつもりです。

**質問** 五十嵐 正 雄 (群馬大)

・HMG の投与量は225IU/day でしょうか。個別的に調節しておられますか。

**答** 青野 敏 博 (阪大・産婦)

・現在 HMG の投与量は標準として150IU/day。下垂体不全が高度と思われる症例(血中 LH-FSH の basal level の低い症例)では225IU から開始している。

**質問** 杉 並 洋 (京大・産婦)

・Gonadotropin 療法を行なう場合、follicle maturation と云う問題を考えねばならないと思いますが、もし血中 estrogens の測定を行なつておられましたら、どのような傾向を示したのでしょうか。

**答** 青野 敏 博 (阪大・産婦)

・HMG-HCG 療法中の血清中の estradiol については現在測定中であり、今回は estrogen の指標として頸管粘液を用いた。

### A-43 Clomiphene-HCG 療法による妊娠

○東山秀声・木津収二・岩崎武輝

小畑 義・村上 旭

京都府立医科大学産科婦人科学教室

clomiphene citrate は軽症の排卵障害にはすぐれた排卵誘発効果を示すが、これが妊娠成立に結びつくのは少ないとされている。そこで本剤による排卵誘発後の妊娠成立に関し、検討した。散発性無排卵症25例、無排卵周期症56例、第1度無月経76例の排卵率は100~85.5%、投与周期数に対する排卵率も98.8~65.0%と高率であつた。本剤投与中の妊娠例は散発性無排卵症11例、無排卵周期症32例、第1度無月経32例、第2度無月経2例であり、くりこし効果による妊娠成立は7例となつた。すなわち174例中77例、48.3%に妊娠の成立をみた。しかし投与周期数に対する妊娠成功率は12.7%であつた。このように本剤投与による妊娠の成功率が低いのは、排卵誘発後の黄体機能不全が妊娠成立の障害の一因子となると考えられる。このため本剤によつて排卵が誘発された後、高温期の第3~5日目から HCG 1,000 IU を6~7日間投与する方法と、HCG 3,000IU を高温期に2~3回投与する方法を行なつたところ、投与周期数からみた妊娠成功率は、HCG 投与を行なわない群の12.0%に比較して前者では15.4%、後者では28.1%に妊娠の成立がみられた。すなわち人工排卵後の高単位の HCG 投与によつて、黄体の機能が刺激され、妊娠成立によい効果をもたらしたと考えられる。このような点から、clomiphene citrate による妊娠成功率の向上には、排卵誘発後の高温期に HCG 1日3,000 IU を2~3回投与するのがよいと思はれる。

**質問** 石丸 忠 之 (長崎大・産婦)

・clomiphene 投与のみで第2度無月経患者に17例中7例に ovulation を誘発出来たとの事であるが、clomid 投与前に何か適当な性 hormone を pretreatment してあるかどうか。

・1度無月経と2度無月経の診断基準について。

**答** 木津 収 二 (京都府立医大・産婦)

・第2度無月経に対しては clomiphene 投与前に2~3周期、Kaufman cure を行なつている。第1度~第2度に対する判別はプロルトン30mg で行なつている。

**質問** 五十嵐 正 雄 (群馬大)

・只今の御発表では排卵後 HCG を投与しておられますが、排卵前に HCG を投与した経験をおもちでしょうか。私は clomiphene 単独投与無効例に対し clomiphene 150mg 5日間投与後、5日間休薬し、次いで

HCG 5000IU/日 3日間投与する方法で、かなり良い排卵率と妊娠率をえています。

答 東山秀声(京都府立医大・婦)

・clomiphene 投与後、卵胞の成熟徴候が現われれば、HCG 3000IU を5日投与して排卵誘発率が上昇するのを認めている。

・今回の clomiphene HCG 療法のおもな目的は clomiphene などによる人工排卵誘発後の黄体機能不全の存在が妊娠率の向上とならないとも考えられるため、排卵誘発後の黄体機能不全の治療として HCG を使用した。

#### A-44 教室不妊外来における排卵誘発療法の成績

##### その 1. ゴナドトロピン療法

○熊本熙史・中村正彦・津田知輝

倉野彰比古・永田行博・楠田雅彦

九州大学医学部産科婦人科学教室

教室不妊外来において Gonadotropin 療法を施行した221例、384周期の排卵誘発成績について検討した。治療例数毎の排卵率は無排卵周期で80.0%、第1度無月経で61.2%、第2度無月経で28.4%であり、治療周期毎の排卵率でも同様の傾向であった。HMG 療法による排卵率は38例中20例、52.6%であったが、無排卵周期～第1度無月経7例では100%であった。妊娠成功例は計25例あり、その中投与周期妊娠が14例あった。出産数は計8例、流産が6例あり、第2度無月経には妊娠例を認めなかった。Gonadotropin 投与時の副作用は37例、16.7%、47周期12.2%に認められ、卵巣腫大8.9%、腹痛4.7%であったが、第2度無月経ではそれぞれ4.4%、1.9%とその出現率は低かった。頸管粘液と排卵との関係は頸管粘液量0.2ml以上の増加が認められた群に排卵例が多いのは当然であるが、排卵例の20.4%が頸管粘液の増加がないままで排卵し、逆に排卵が起らなかった群の21.6%に頸管粘液の増加が認められた。PMS の投与形式は1日3,000～5,000単位等量連日投与がほとんどであるが、これを PMS 単独群と HCG 併用群とに2大別してみると PMS 単独群で明らかに排卵率が劣り、特に第2度無月経でその差は著明であった。Premarin, Sexovid, Clomid 療法と Gonadotropin 療法との比較では無排卵周期～第1度無月経の症例では Clomid 療法の排卵率が高く、ついで Gonadotropin 療法であったが、第2度無月経で排卵を誘発し得たのは Gonadotropin 療法のみであった。

質問 平野睦男(東北大・産婦)

・第2度無月経の PMS alone で排卵のおこつた1例に

つきまして、その排卵誘発機序をどのようにお考えですか。

答 熊本熙史(九大・産婦)

・PMS 単独療法という形のゴナドトロピン療法例は最初から HCG を使用しない予定で行なわれたものではない。PMS 自身 LH 様生物活性があることが知られており、動物では PMS のみでよく排卵を起し得ます。ヒトの場合でもこの LH 様活性が排卵にプラスの因子として働いたものと思う。

質問 五十嵐正雄(群馬大)

・只今のスライドで頸管粘液が増加したかしないかを0.2ml で、判定しておりましたが、先生の大学では FSH の投与を中止して HCG に切替える時期を0.2ml で実施しておられるのでしょうか。

答 熊本熙史(九大・産婦)

・以前は0.3ml を指標としていたが、最近では経験的にこの量では多少厳しすぎるのではないかという考えで最近値として0.2ml をとっている。

#### A-45 血中プロラクチン (H. Pr.) の動態

○布川修・佐藤芳昭・樋口朗

川越慎之助・高橋威・広井正彦

竹内正七

新潟大学医学部産科婦人科学教室

坂井友吉

マルピーサール研究所

蛋白質化学の進歩によって、従来不可能とされていた Human prolactin の測定が可能となつてきた。

今回、われわれは H. Friesen 提供による H. Pr. の Homologous radioimmunoassay を行なう機会を得たので婦人科領域で検討を加えて報告する。

対象は正常性周期、各種排卵障害婦人、妊娠および産褥期婦人で Prolactin は二抗体法で行なつた。測定可能範囲は10～50ng/ml で他の Gonadotropin との交叉反応はみとめられなかった。

実験成績；月経周期による H. Pr. の動態を検討すると著明な変動をみとめなかった。無排卵周期症、無月経では正常卵胞期 $25.6 \pm 3.1$ ng/ml 黄体期 $26 \pm 4.7$ ng/ml にくらべて一般に高値をしめた。妊娠月数、分娩前後、産褥期についてみると、妊娠月数につれて H. Pr. は増量し、40週で最高275ng/ml となり、分娩後急激に低下し、産褥期の3日目にはすでに非妊時の値にもどっていた。なお、高値をしめす例もあり、Prolactin が不安定であり、assay までの時間、保存の面など検討を加えなければならないと考えられる。しかし、Reprodu-

ction にしめる prolactin の役割を考える場合にやはり、他の gonadotropin との相関関係で論じなければならずなお、今後検討を加えねばならない。

追加 関 光 倫 (千葉大・産婦)

・われわれも最初 mixed heterologous method で、最近 homologous method でヒト血清 prolactin を測定している。

・正常性周期婦人12名の周期中の変動に関しては御二人の成績と同様一定の変化はない。

・排卵障害患者13名に関して検討した結果では継続的に低値を示すもの5名、無意味な変動を示すもの6名、排卵時に spike を示すもの2名見られた。一例は常に高値を示しながらも clomid で妊娠した。

#### A-46 月経周期中のプロラクチンの変動

江原洋一・五十嵐正雄

群馬大学医学部産科婦人科学教室

S.S.C. YEN

カリホルニア大学産科婦人科学教室

正常月経周期を有する婦人11例の12周期につき一日一回採血法による血清中 Prolactin (PRL) をヒト Homologous Radioimmunoassay にて測定し、同時に Gonadotropins (FSH, LH), Estrogen および Progesterone の測定結果と比較検討したところ、月経周期中 LH の Peak の日に一致して最高の平均値を得た ( $27.8 \pm 10.3$  ng/ml)。個々の周期変動のパターンには一定の傾向を認め得ず個人間の周期を通しての平均値の変動の幅も大きかった。 $(8.6 \pm 0.6$  から  $31.8 \pm 2.9$  ng/ml) これらの結果は Hwang et al, L'Hermite et al および Jacobs et al らの Heterologous assay の結果とよく一致する。また卵胞期の平均値 ( $17.8 \pm 1.2$  ng/ml) と黄体期のそれ ( $18.2 \pm 1.4$  ng/ml) との間には有意の差を認めなかつたが婦人の値の平均値は男性のよりも有意に高かつた。薬剤 (アンヘタミン) の内服により血中 PRL が異常高値を有する1婦人の2周期において、乳汁分泌を伴なつていたにも拘らず月経周期は正常であり黄体期機能にも特別な変化を認めることが出来なかつたことは PRL の分泌増加が卵巣機能に直接関与する可能性がないことを示唆した。

質問 広 井 正 彦 (新潟大・産婦)

・Prolactin の日内変動があるか。あるとすれば何時にするのが望ましいか。

・月経周期における prolactin の意義をどう考えるか。

答 江 原 洋 一 (群馬大・産婦)

・Sassin et al (Science) の報告にもあるが睡眠により

急速な PRL の放出が起る、また日中でも episodic な変動があるので一本の採血では結論的なことは云えないと考える。

・ヒトにおいては積極的に Luteolytic あるいは Luteotrophic な作用を意義づける data は in vitro, in vivo 共まだ報告されていない。PRL の Metabolic action は今後検討されるべき問題となる可能性はある。

質問 齊 藤 幹 (東京医歯大)

・Stress による H. Pr. の変動はおこるか。

答 江 原 洋 一 (群馬大・産婦)

・Stress の定度の問題もあるが、持続採血による程度の stress では変動しないようであつた。

質問 熊 坂 高 弘 (東京医歯大)

・Prolactin では Pansalic の変動か、Estrogen や Progesterone の投与で変化があるのででしょうか。

答 江 原 洋 一 (群馬大・産婦)

・PRL には pulsatile の変動はない (少なくとも rhythmicity はないように思う) ようです。

#### A-47 子宮内膜日附診断算定法としての“interval 法”の検討

小堀恒雄・○田巻勇次・高野 昇

川島 裕・大久保綜也・清水三郎

戸出健彦

千葉大学医学部産科婦人科学教室

Noyes 等により確立された子宮内膜の日附診断は、不妊に関して子宮内膜の占める位置が大なるにもかかわらず、不妊診断には余り用いられていない。これは、基準点と one point biopsy ということに問題があるためと思われる。

そこで、今回 dating の基準点を明確化し分泌相の推移を動的にとらえることを目的とし、不妊患者60名について、4~10日の interval をおいて2回の biopsy を同一周期の分泌相において行なつた。従来通り次回月経開始日・推定排卵日を基準点として、“Interval Method”としては第1回 biopsy 基準点とし、Noyes 等の基準にしたがい dating を行ない判定した。

“Interval Method”は一致例を peak とする正規分布を示し、第1回・第2回共に排卵を基準とした場合には peak は1日遅れにあり、月経を基準にした場合には促進例は一例も認められなかつた。±1日を一致例にとると、分泌期不全内膜の頻度は着床期 biopsy で32%であり、遅延28%促進3%であり、“Interval Method”では24%で、促進17%、遅延7%となり、遅延例と促進例が逆転していた。これは、大部分の正常内膜は一定の

speed で分泌性変化を来すが、分泌期不全内膜に関しては一定の speed で推移するという仮定に立つことは出来ないため、one point biopsy では、その分泌相全体の推移を把握し得ないが、“Interval Method”ではその推移をより反映していると思われる。よって、“Interval Method”は、基準点を明確化し分泌相の推移を動的にとらえるのに有用であると思われる。

質問 村上 昇 (慈恵医大)

・Interval 法による場合、着床の時期からへだたつた時期にての検索となり、着床の面からみた内膜因子を見落す危険性はないか。

・Dating は Noyes 等の基準に依つたのか。

答 田 卷 勇 次 (千葉大・産婦)

・“Interval Method”で、第1回 biopsy を着床期に大部分の例で行なつている。“Interval Method”は分泌相推移の大勢を示していると思われるため、従来の着床期の one point biopsy にかわりうらと思われる。

・Noyes 等の基準を元とし、蜂谷等の基準を参考とし、われわれの criteria によつた。

#### A-48 不妊婦人子宮内膜における Glycogen および C-AMP の変動

○須藤幾三・斉藤厚生・中原和彦  
前山昌男

熊本大学医学部産科婦人科学教室

妊卵着床の場である子宮内膜の生理的意義は、妊卵の着床およびその維持にあるが、不妊症の検査上、着床および妊卵維持に必要にして、かつ十分な内膜因子についての criteria は決め難い。これは採取内膜量には限度があること、また妊娠成立周期の内膜を検討する機会には容易に遭遇し得ないこと等が考えられる。われわれは、妊卵のエネルギー源として意義深い子宮内膜 glycogen につき、その微量定量法、またその臨床応用につき報告してきたが、今回、幸運にも妊娠成立周期の子宮内膜につき、分泌期7～8日目の内膜 glycogen 含量、C-AMP 等検討し得た。そこで、これらの事象につき、妊娠成立周期内膜と、各種不妊症の子宮内膜との比較検討を行ない興味ある結果を得たので報告する。先づ妊娠成立周期の内膜 glycogen 量は、非妊娠成立周期のそれに比べ高く、しかも、その値は一定以上に局限している。続発性不妊症の子宮内膜 glycogen は、ほぼ、妊娠成立周期のそれと同一値を示すが、その分数度はより大きい。原発性不妊では、子宮内膜 glycogen 含量は明かに低く、かつ分数も大きい。また glycogen 代謝酵素活性因子である C-AMP は glycogen の pattern とほ

ぼ、一致するものであつた。そこでわれわれは、外来受診時の採取内膜量で測定可能な glycogen また C-AMP の測定は、不妊因子分析の一助になり得る可能性大なものと思つている。

質問 桃井 俊 美 (慈恵大・産婦)

・剥脱・再生をくり返す子宮内膜に対する検討を原発性・続発性不妊に分類して行なつておられ、かつその成績が有意の差をもつていてと発表されましたが、いかなる意義をもつとお考えですか。

・不妊症に対する偽妊娠療法について子宮内膜の検討から有意義であるとお考えですか。

答 須藤 幾 三 (熊本大・産婦)

・分類は既往妊娠歴により行なつたが、これは原発性不妊群が続発性不妊群に比べ内膜 glycogen 含量が少ない過去のわれわれの成績によつた。

・現在正常月経周期にホルモン負荷するか否かについては結論は出せない。内膜の glycogen また C-AMP に及ぼす steroid Hormones の作用を検討中である。

#### A-49 着床期内膜における機能性異常について —不妊患者における子宮内膜性因子の検討 第2報—

○細田 肇・桃井俊美・村上 昇  
篠塚正一・蜂屋祥一

東京慈恵医科大学産科婦人科学教室

1951年、教室蜂屋は器質的異常を認めない不妊婦人にて、着床期内膜異常を機能的形態異常として①同時異相型②分離異相型③偏在混合型④分泌不全型⑤孤立性混合型の5型に分類し、不妊因子としての重要性を指摘した。われわれはこれら各型の成立機序を解明する目的で、子宮性不妊患者のうち器質的異常を除いた BBT 二相性の20例につき、同一周期の前期診(増殖期内膜診)と尿中E値を、また後期診(着床期内膜診)と尿中Pd値を、BBT 曲線で低温相日数・高温相への移行様式・高温相日数等を比較検討した。その結果①前期診正常例は12例でE値は平均36.36 $\mu$ g/day、BBT 低温相日数は平均型(13～16日)が11例であり、異常例は8例で、E値は21.35 $\mu$ g/dayで、低温相短日型と長日型が7例であつた。②後期診正常例は3例でPd値2.57mg/dayで、BBT は正常な型を示した。異常例は17例でPd値は高値と低値群とに別れた。③同時異相型は6例で、前期診異常が4例、E値19.65 $\mu$ g/day、Pd値1.11mg/dayと低く、BBT は低温相が長日型と平均型で、BBT 上移行様式遅延型が4例であつた。④分離性異相型は6例で、前期診正常が5例あり、E値40.21 $\mu$ g/day、Pd値5.60mg/dayと高く、BBT 上低温相は短日型と平均型であ

つた。以上の結果から、着床期内膜の機能的形態異常とした各型の成り立ちが内分泌環境と一定の関連性を持ち、その中には増殖期における発育過程と関連するものがあることを明らかにした。

質問 小堀恒雄(千葉大・産婦)

・高温相に移行するまで3日以上を要するものが多かったとの事であるが、推定排卵日と真の排卵日とのズレが後期診判定にどの程度影響を与えていると考えるか。

答 細田肇(慈恵・産婦)

・真の排卵日を捉えることが困難であるので日常臨床には CM や BBT で推定排卵日を決めており、後期診判定にどの程度影響を与えているか不明です。従つて同時異相型の中には真の排卵日から見た時、正常例となる可能性は含まれていると思われます。

#### A-50 HSG よりみた子宮癒着症についての検討

○上羽捷之・植田充治・大西泰彦  
西川義雄・山口龍二

奈良県立医科大学産科婦人科学教室

われわれは1971年4月より1973年6月に至る間に行なつた子宮卵管造影(HSG)462例につきHSG上から子宮腔癒着症について検討した。HSGの適応は不妊、月経異常、帝王切開術後、性器腫瘍その他である。造影剤は主に40% moljodolを使用し、注入量は $V(ml) = 7 + [S(ゾンデ長) - 7] \times 2$ 、撮影は最低2回(直後、24時間後)、必要に応じて撮影数を追加した。

成績：(1) HSG 462例中子宮腔癒着症は29例(6.2%)に発見された。そのうち4例(13.8%)は結核性であった。(2) 病変の程度を子宮腔の一部癒着を(+), 腔の $1/2$ まで占めるものを(++)、 $1/2$ 以上占めるものを(+++)とすると、(+)は20例、(++)は5例、(+++)は4例であった。(3) 結核を除く子宮腔癒着症25例中18例(62.1%)は子宮腔内操作を受けていた。そのうち帝切の既往歴を有するものは4例(13.8%)で全て(+)であった。(4) 462例中帝切術を既往に受けたものは33例で(術後約3カ月でHSG施行)、そのうちHSG上子宮腔癒着症と診断されたものは4例(12.1%)であった。(5) 不妊の主訴でHSGを行なつたものは462例中108例であったが、そのうち子宮腔癒着症は6例(5.6%)であった。この6例中2例は子宮内操作(1例は流産後の子宮内清掃術、1例は人工妊娠中絶)を受けていた。(6) 以上より外傷性子宮腔癒着症は従来言われているように子宮内操作が重要な原因であることを知つたほか帝切後の子宮腔癒着症発生も無視出来ない高頻度であることを知つた。

質問

楠原浩二(慈恵医大)

・帝切方法はいかなる方法であるか。  
・帝切方法により子宮腔癒着症の出現頻度等に差はあるか。

答

上羽捷之(奈良県立医大)

・帝切の方法は4例とも頸部横切でありましたので他の方法との比較検討は出来ませんでした。

質問

杉原一太(名古屋市開業)

・帝切後癒着症4例の経過を説明して下さい。

答

上羽捷之(奈良県立医大)

・一例を除いて特に変わった経過はありませんでした。原因と考えられる臨床的な因子はすべてスライドに示しました如く、検討致しましたが、原因はつかめませんでした。

答

西川義雄(奈良県立医大)

・帝切例の4例の経過については凡てスライドに示しました。この経過から一例は術後感染があつたのではないかと、その為にsynechia ut.が起つたのではないかと想像致しましたが、特異的にsynechia ut.をおこすと思われる原因はみつきませんでしたし、かわつた臨床経過もみられませんでした。

#### A-51 奇形子宮に対する子宮整形術の意義

○小池皓弼・安藤勝也・水野金一郎  
八神喜昭

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室

奇形子宮が流産の主因と考えられた例に対して、Strassmann氏手術とJones and Jones氏手術を行ない両手術を比較してみると、子宮整形術後の生児獲得率はJones and Jones氏手術群の方が優れた成績であつた。この事はすでに本学会で発表した所である。

そこで、Jones氏手術がいかなる理由でその効果を上げうるかを検討し知見を得ましたので報告しました。

Jones氏手術にて子宮底部を楔形切除した組織を検診しました所、粘膜下および筋層内の血管像が少ない事を認めましたので、子宮底部並びに中隔部の血管像を検診する為に、子宮卵管造影と同一整位にて骨盤血管撮影を行なつた所、Jones氏手術前と手術後を比較検討してみると、手術後の子宮底並びに筋層の血管像がよく造影されており、かつ血管の吻合もより多くみられた。なお、子宮の形態も手術後非常によく改善されていた。

以上の事から、Jones氏手術が術後生児獲得率が改善される理由としては、単に子宮の形態を改良するのみならず、子宮底部の血行を改善し、妊卵の着床並びに発育に好影響をもたらす結果によるものと考えられた。

質問 木下英夫(慈恵医大・産婦)

・Jones-Jones の対象として strassmann の Angiographic は行なっておりますか。

答 小池皓式(名市大・産婦)

・Strassmann 氏手術につきましては、骨盤血管撮影はまだ施行した例はありませんが、今後その点につきましても追求していくつもりです。

#### A-52 不育症における子宮腔および子宮口形成手術

山本 浩・岩田嘉行・○猪俣吉広  
林 茂隆

川崎市立川崎病院産婦人科

妊孕性はあつても生児を得る事の出来ない、所謂不育症患者のうち、子宮腔や頸管の異常が原因と思われる症例には、手術的療法が適応となる。われわれは最近4年間に経験した奇形子宮14例、子宮腔癒合症8例、頸管不全10例、合計32例の術後成績を報告する。

奇形子宮のうち4例は弓状子宮残りは双角子宮であつた。術後生児を得た率は術前の3%に比し70%と上昇しているが、術後なお生児を得る事の出来ないものうち、流産回数4回以上の3例のうち2例が含まれている。

腔癒合症では生児を得る率は術前6%、術後75%、頸管不全では術前9%、術後50%と上昇している。なかには術後流産をくり返すものは腔癒合症に1例、頸管不全に2例もあり、これらを検討してみると高度の異常があつた。

3つの群を集計すると15回の人工妊娠中絶を含め90回の妊娠により生児を得たのは6人(7%)であるが、術後は30回の妊娠により19人(63%)の生児を得かつ現在2人が妊娠中であり、子宮腔および子宮口形成手術は器質的な不育症患者に対して有効といえる。

しかし、3~4回の流早産後に施行しても腔の癒合から不妊に陥つたり、あるいは流早産をくり返す症例があり、患者の年齢等も考慮の上、2回場合によつては1回の流早産後においても、積極的に検査治療を行なう事がのぞましい。

#### A-53 黄体機能不全に対する高単位 HCG の臨床応用

○大原 康・高橋 威・広井正彦  
竹内正七

新潟大学医学部産科婦人科学教室

1) 目的: 従来黄体機能不全患者に対しては主に gestagen 療法が行なわれてきた。今回われわれは、

「高単位 HCG」の黄体賦活作用を検討する目的で該当患者に高単位 HCG を投与しその効果を BBT および血中 progesterone 値で観察し、ならびに medroxyprogesterone 投与時と比較検討した。

2) 方法: まず対象患者の HCG 投与前周期において高温相3日目より隔日に3~5回採血し、ついで次周期同様の時期に HCG 3000IU を隔日に合計15000 IU 投与しそれぞれの日に採血した。medroxyprogesterone は高温相3日目より10mg/day 7日間投与し同様に採血した。血中 progesterone は RSA, RIA にて測定を行なつた。

3) 成績: 高単位 HCG 投与群7例中5例中においては投与前周期に比し BBT, 血中 progesterone ともに著明な上昇を認めた。このうち2例は次周期に妊娠成立し現在経過順調である。一方、7例中2例は前周期に比し特に BBT, 血中 progesterone ともに上昇傾向がみられなかつた。

medroxy progesterone 投与群4例についてみると、血中 progesterone 上昇は2例、BBT 上昇は3例にみられた。progesterone 上昇は HCG 投与群の方が著明であつた。

4) まとめ: 高単位 HCG の黄体賦活作用を BBT および血中 progesterone レベルで検討しその有効性が確められ、黄体機能不全患者に対する治療として gestagen 療法に加うる有力な手段であると思われる。

質問 五十嵐正雄(群馬大)

・HCG 投与周期に妊娠せず、次の周期に妊娠が成立した機序について、もしお分かりでしたら御教示下さい。

質問 品田孝夫(群馬大・産婦)

・HCG 療法の次周期の方が妊娠率が高いと感じますがそれはどういうメカニズムによるものでしょうか。高単位ですと次周期の卵巣機能が抑制される可等性があると考えますか。

答 大原 康(新潟大)

・妊娠成立例はすべて高単位 HCG 投与次周期に認められたが、なぜ投与期間に妊娠せず次周期に妊娠成立したか、その機序はまだ明確でなく、今後検討を加えたい。

・高単位 HCG 投与次周期においてのみ妊娠成立が認められた。

・高単位 HCG 投与次周期の血中 progesterone 値は pretreated cycle 時の値とほぼ変りなく、特に黄体不全が悪化するようには思われない。

### A-54 排卵性機能性不妊婦人に対する Sexovid の効果

品田孝夫・横田佳昌・根岸正勝  
中村 淳・五十嵐正雄  
群馬大学医学部産科婦人科学教室

不妊症に対する諸検査で、異常の認められない不妊夫婦の割合は比較的多いものである。これらの不妊症の患者の基礎体温表を見ると卵胞期の長い、稀発月経の傾向のあるものがしばしばみられる。一方正常な卵の産生のためには、排卵が正期に生ずる必要があるといわれ、とくに Graaf 卵胞の破壊が遅れる場合は黄体機能が不完全であつたり、排卵された卵が過成熟であつたりして妊娠成立に障害をきたす可能性がある。

J. G. Boutselis ら (1972) によると少量の結合型 estrogen や排卵誘発剤である Clomid の少量の卵胞期投与により、排卵時期をきわめて一定に出来るといわれる。そこで私共は、当科不妊外来に通院するいわゆる排卵性機能性不妊婦人に排卵誘発剤である Sexovid の少量 (100mg/day) を月経周期の第 5 日目から 9 日目までの 5 日間投与して、排卵日の変化、黄体機能、妊娠に対する効果を検討した。黄体機能の検査法としては血中 Progesterone の Radioimmunoassay を用いた。Sexovid 投与により卵胞期の延長する症例は稀れで、卵胞期の長さは不変か短縮する症例がほとんどであつた。また排卵が抑制された症例は認められなかつた。黄体期の血中 Progesterone 値は Sexovid 投与周期に上昇する傾向が認められた。Sexovid 投与周期および投与次周期に妊娠する症例も認められ、いわゆる排卵性機能性不妊婦人に対して、少量の Sexovid 投与の有効な場合のあることが分かつた。

**質問** 戸谷 退造 (国立名古屋病院・産婦)  
・先生の発表には妊娠率に対する効果が述べられてませんが、如何でしたか。私の経験では low phase の短縮は見られましたが、妊娠率の改善がみられませんでした。

**質問** 立山 造道 (九大・温研・産婦)  
・排卵性機能性不妊婦人に sexovid を投与されて、その周期の黄体期における血中 progesterone 値が上昇しているが、その mechanism についてはどのようにお考えかお聞きしたい。

**答** 品田 孝夫 (群馬大・婦)  
・卵胞期の長い症例では妊娠率は高かつた結果を得ました。  
・Sexovid 少量 (100mg/day) 投与が卵胞成熟に対して

効果的に働くものと考えます。卵胞の発育が良くなるとそのときの黄体機能も良くなると考えます。

### A-55 Estrogen-Clomiphene citrate Sequence 療法による機能性不妊症に対する妊娠への approach

高嶋 達夫  
国立小児病院婦人科

研究目的：無排卵性月経、無月経による不妊症に対する排卵誘発剤として Clomiphene citrate, cyclofenil HMG, LH-RH 等の薬剤の出現は下垂体性腺系の機能が改善され、著しい効果をあげている。私は群馬大五十嵐教授の“はねかえり現象”にヒントを得て、排卵性機能性不妊患者の月経周期において estrogen にて排卵を抑制した後、このすぐれた排卵誘発剤を用いて、排卵を rehabilitation させた場合、妊娠への approach に大いなる影響を与え得るのではないかという観点から臨床実験を行なつた。

臨床実験方法：子宮内膜分泌機能不全を含めた機能性不妊症に対する治療として HCG progesteron, 代謝ホルモン、はねかえり療法等があるが、排卵性の機能性不妊症で BBT 曲線により不全を示すもの、超指大の子宮発育不全症および稀発月経に対し月経第 5～第 11 日に estrogen depot 5mg 注射後 7 日目に clomiphene citrate を 1 日 50mg 総量 250mg～300mg 投与、すなわち estrogen clomiphene citrate Sequence 療法 (以下 ECS 療法と略す) を行なつた。

臨床実験成績：ECS 療法を行ない最初の 1 クールで 27 例、2 クールにて 11 例、3 クールにて 1 例、計 39 例が妊娠に成功した。また ECS 療法による不成功例には次周期 1 クールにて 21 例、2 クールで 5 例、3 クールで 1 例であり、次周期妊娠せるもの 10 例が最も多く第 2 周期で 7 例、第 3 周期で 8 例、計 25 例であつた。このうち 1 例は 2 卵性双胎であつた。

結論 ECS 療法は機能性不妊症に対する新しい療法とし極めて価値あるものと考える。

**質問** 五十嵐 正雄 (群馬大)  
・全く新しい治療法によつて非常に優秀な妊娠率をあげておられることに敬意を表します。この ECS 療法の前に、同一患者に estrogen depot 剤を用いる rebound 療法または clomiphene 療法を行なわない、無効であることを確かめておられるのでしょうか。

**質問** 楠田 雅彦 (九大・産婦)  
・種々の面からみて興味ある治療法と思う。エストロゲンデポー 5mg とお示しになつたのはおそらく estro-

diol dipropionate であろうと思うが、この程度の投与であれば排卵前に不快な消退出血を来たすことはないでしょう。

**答** 高嶋達夫(国立小児)  
・estradiol dipropionate 5mg を注射し、更に7日目再び消退出血が来ないように、estradiol dipropionate 5mg を注射するので消退出血は estradiol dipropionate 10mg を注射すると同様だと考えてよろしいと存じます。なお estradiol dipropionate 2回注射後最終日より7日目の Endometrium は増殖期の内膜を得ております。

#### A-56 教室不妊外来における排卵性機能性不妊婦人の検討

○永田行博・倉野彰比古・津田知輝  
中村正彦・熊本熙史・楠田雅彦  
九州大学医学部産科婦人科学教室

不妊外来を訪れた排卵性不妊婦人のうち BBT, HSG, Huhner test, その他の諸検査およびある程度の follow up の出来た症例を pick up し、検査所見、治療成績を検討した。

総数651例で妊娠率は27.0% (176例)であったが、原発性不妊が3分の2以上を占めているにもかかわらず妊娠率は19.1%であり、続発性不妊の妊娠率は44.4%であった。年齢別、不妊期間別に見ると年齢よりも不妊期間が長いほど妊娠率は低下する傾向にあり、原発性不妊では3年以内と3年以上で著しい差が見られた。HSG で原発性不妊に10.5%、続発性不妊に5.4%の器質的因子が見られた。また、Huhner test good のものに妊娠率は当然高いが、精液検査で31.8%の Oligospermia が見られ、一方 Millerkurzrok test との相関を見ると一致したものは63.7%であった。

これらの症例を治療別に見ると、gestagen による補充療法が231例中33例で最も高率である。HCG 単独、HCG, Prolactin 併用による黄体刺激療法は意外と妊娠率は低く127例中4例であったが、BBT の延長、改善、血中 progesterone の増加等を認め、今後もこの治療法の検討を行なう計画である。AIH の成績は128例中12例であり、続発性不妊で Huhner test poor の症例で17例中6例が成功しており有意義であると考えられる。また排卵促進では55例中5例、通水128例中6例等であった。

**質問** 蜂屋祥一(東京慈恵医大)  
・多数の症例について Biopsy をやられていますので、次の点について教えていただきたいと思います。その所見の判定を治療法の決定に当たってどのように生かされて

いるか。

**答** 楠田雅彦(九大・産婦)  
・先生の内臓組織診の診断的のみならず治療的な意義についての御質問の趣旨はよくわかりますが、時間がないのでごくかいつまんでお答えします。当然組織診によって治療法を選択するというのが原則ですが、biopsy 周期に妊娠する例も少なく、また補充療法、黄体刺激療法とも必ずしも目的には沿わず、はつきりした結論は得ていないが、それぞれの成績や意義についての私共の解決は3年前の日産婦総会に報告している。近日中にまとめて paper にする予定です。

#### A-57 パルス X 線発生装置を用いた X 線テレビ子宮卵管造影法の診断精度と BBT

○山田滋彦・立山皓道・門田 徹  
九州大学温泉治療学研究所産婦人科

われわれはテレビ透視下における HSG (HSG-TV) 時の卵巢被曝線量を測定し、加えて被曝線量軽減方法を検討し、卵管描写時間と通水圧との関係、さらに卵巢機能への影響を BBT の変化により比較検討した。装置は日立パルス X 線発生装置シネック H を組合せた X 線テレビで線量測定は熱蛍光線量計を後陰門蓋に挿入し測定した。対象は排卵性不妊患者ならびに子宮摘出術前患者70例でパルスの条件を変え比較検討した。結果① X 線テレビ透視下での子宮卵管造影出現順序で子宮腔全体→両側膨大部→峡部→卵管采部→腹腔内流出のタイプが70~80%であった。②両側卵管通過良好例での通水圧は約50~100mmHg で X 線テレビでの卵管描写時間は約40~50秒で造影された。③各パルスにおける透視所要時間、腹厚と卵巢被曝線量との関係では、透視時間の長いもの、腹厚のうすいものほど被曝線量が多くなっている。④各パルス毎の卵巢被曝線量は撮影2回で  $67 \pm 46\text{mR}$ 、0.5パルスで  $82 \pm 34$ 、1パルスで  $96 \pm 39$ 、2パルスで  $118 \pm 35$ 、5パルスで  $191 \pm 105$ 、10パルスで  $215 \pm 100$ 、15パルスで  $319 \pm 188$ 、連続透視で  $446 \pm 208\text{mR}$ 、であった。⑤パルス X 線発生装置の使用で10~15パルスで連続透視と同程度の動的観察ができた。BBT により HSG 前3周期と後6周期を比べると、排卵までの日数では前  $16.2 \pm 2.4$  日、後  $16.2 \pm 2.4$  日、高温持続日数は前  $14 \pm 1.6$  日、後  $13.7 \pm 1.1$  で両者に有意差はみられなかった。⑦卵巢被曝線量が500mR 程度でも BBT 上での影響がなかった。詳細は内分泌学的、組織学的、遺伝学的な検索が必要であろう。

**質問** 西川 潔(大阪大)  
・私も6~7年前の不妊学会総会、シンポジウム(性管

造影法)において、テレビ透視下 HSG について発表しているが、曝射線量のことを考えると少ないといつてもやはりテレビ観察は出来るだけ短い方が良いと思う。私は現在テレビは確認のみに止め、3~4枚の連続撮影を行なつて、卵管の動的観察を行なつている。これについてのお考えについて。

・尚造影剤の使用量はどれ位ですか。

答 山田 滋彦(九大・温研・産婦)

・われわれは被曝減少装置を用い、パルスの条件を変え、出来るだけX線卵巣被曝量を減少させています。ただ単なる盲目的撮影であれば卵管の運動および癒着程度の診断が分かりにくいように思われます。

・5~7ml 程度です。

質問 山下 裕国(佐世保共済病院・婦)

・HSG で卵巣に対する被曝の影響は悪影響だけで、物理的刺激的の卵巣機能に対する良影響は全く考えられないのでしょうか、教えてください。

答 立山 浩道(九大・温研・産婦)

・HSG-TV により卵巣機能が改善した症例は認めていない。卵巣機能に異常が考えられる症例にはつとめて HSG-TV は行なっていないので、そのようなメリットは見い出せてないのかもしれない。

#### A-58 妊孕性を基準とした子宮卵管造影のスコアリングに関する研究

○杉山 武・高 俊昭・前田宣紘

河上征治・飯塚理八

慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室

不妊患者の HSG の診断において受精着床の場としての Possibility は漠然と理解されチェックされている現状であります。今回われわれは、撮影条件、造影剤を一定として、撮影した不妊患者のうち、妊娠成功例および反復せる AID 不成功例の HSG film より妊孕性を基準とした HSG Scoring Card を作成しました。

(1) 卵管通過性: 子宮内容積を V ml, 卵管より腹腔内に造影剤が流出するまでの量を E ml とすると (E-V) が卵管通過に必要な造影剤の量となる。(E-V) が 2ml 以内を good patency, 3ml 以上を poor patency としこれに occlusion を加え 3 種類に分類し左右卵管の持点をそれぞれ 5, 4, 0 点とした。(2) Tubal condition Hydrosalpinx PFA, PTA, 卵管延長像については、-3, -2, -2, -1 の減点とした。また Uterotubal junction の spasm の状態の強度症例を -1 点の減点とした。(3) Cavity 子宮内容積が 6ml から 8ml, 9ml 以上, 2ml 以下を -4, -7, -8 点の減

点とした。Defect Adhesion, Anomaly について -6 より -2 点の減点とし、内腔の irregular を -1 点の減点とした。スコアリング後 1 年間の follow up 成績の分析によれば、累積度数分布において、不妊患者一般は 6 点にて 50%, 不妊患者妊娠成功例は 7 点にて 50% である。さらに妊娠成功例は 5% が 4 点未満であり、したがつてわれわれは一応 4 点を HSG における妊孕性の基準と考えております。

質問 木下 英夫(慈恵大・産婦)

・対象例は機能的な不妊患者をも含んでいるか。

・HSG に異常があり、その後妊娠成立した例はその異常に対して積極的な治療を行なつたか。

答 杉山 武(慶応大)

・2年間以上不妊を訴える外来患者を対象にしております。

・Score が 4 点以下の例に対しては、通水、通気、症例によっては、卵管開口術を行なつて score の改善と妊娠との相関を follow up しています。

質問 西川 潔(大阪)

・HCG Film においてその面積の検討についてのお考えはいかがですか。

・Kante に出る特異な像(三角像)について、この像の出る時の卵管ケイレン等卵管の機能的な面との関連性について検討されていますか。またそれについてのお考えについて。

答 杉山 武(慶応大)

・子宮腔像の面積の問題ですが、フィルム面との距離により拡大率が異なることから volume で表現しました。

・Spasm と子宮卵管角の両端の断裂の問題ですが、妊娠例には確かに両端の断裂像を示した症例は少ない。また IUD を挿入している婦人の HSG の子宮卵管角のバルジ両端は断裂している例が多い。

#### A-59 バルーンカテーテル法による卵管疎通検査および治療

○明石敏男・落合 寛・丸山 浩

丸岡 央・西迫平雄・川村尚道

長崎光子・青山文代

東京・済生会中央病院産婦人科

卵管疎通性検査には種々の器具があるが、同一器具で卵管通気法、色素通水法、子宮卵管造影法に共用できるものはない。また従来手技として多くの場合、子宮腔部を鉗子で狭控牽引するために患者の苦痛も少なくなく、注入ガスや薬剤がもれないためにはある程度の熟練を要する。そこでわれわれはこれらの解決法として、昭和44

年より導尿用 Balloon Catheter に点滴用タコ管を接続して子宮卵管造影を試み、昭和45年臨床大会でその成績の一部を報告した。その後この方法を描写式卵管通気法や治療通水にも漸次導入し、一層手技を容易にするため、合成ゴム製の腰の強い Catheter を試作し、各検査に共用できるようにした。

44年9月より461例に描写式卵管通気法を行ない Balloon によるものはそのうち308例で47年からはほとんど本法によつて行なつた。通気曲線の分類では正常型215例、攣縮型65例で従来の方法と比較して攣縮型が減少している。

治療通水を行なつたものは(Balloon法)は44例で4回以上反復通水せるものは22例でその6例が妊娠した。HSGは426例中257例に行ない、描写式卵管通気法との不一致例は5%強で従来のものより合致例が増加した。この Balloon 法の利点は手技が簡単で注入薬剤やガスもれが少なく、患者の苦痛も少なく、通気や通水法では問題はないが、HSGでは頸管部の観察ができない欠点がある。

#### A-60 不妊症における子宮卵管造影側面像の検討

神津 弘・仲村健一・前田光土  
桑原正樹・〇真島靖重・国立実夫  
布施養慈  
愛知・聖霊病院産婦人科

47年度の不妊症外来220名中138例の子宮卵管造影を行なつたうち、特に検討し得た側面像115例につき、卵管走行に関して妊娠成功例と不妊例につき比較検討を行なつたので報告する。卵管走行の区分は造影された子宮の骨盤水平面の上下とで3つに区分し、上部、中部、下部とした。卵管走行が2つの部位にまたがるものは卵管采を含む部位に分類した。内容は妊娠成功例の92%に少なくとも一側は下部に属するものが含まれた。また、不妊例には中部以上に属するものが50%にみられた。また、卵管走行に関して強度前屈例の判読には注意が必要で、側面像の方が卵管走行に関し、判定しやすいと結論をみた。また側面像の利点は立体的な子宮の位置、子宮捻転、卵管走行、Douglas 窩の観察にあると思う。子宮卵管造影時のカニューレやマルチン鉗子による牽引では卵管采までは動かかなかつた。従つて不妊症における子宮卵管造影で正面像にて判定し得なかつた卵管走行の立体的位置関係を読みとることは、予後判定に大きな意義をもつと考える。

#### 追加

馬 島 秀 磨 (日大・産婦)

・子宮卵管造影像の側面像を検討するという着想は大変

よい考えであると思う。私はこれを立体撮影を実施しているが、これによると卵管の走向が極めて明瞭に立体的に判読できる。また子宮の前傾、後傾なども非常に明瞭である。

#### 追加

柴 田 直 秀 (東邦大)

・HSGの側面観察はX線量も食い、実際に出来上つた写真もコントラストの強い判読のむずかしい写真になりがちです。

アグファ・ゲバルトの方でカラーのレントゲンフィルムが開発されており、卵管等の細い線を追突するのに非常に向いております。すでに日本にも入つておりますので、これを利用されるときらにより診断資料として効果が増すと思います。

#### A-61 ハイゴナビスによる男子尿中 LH の測定

〇松田尚太郎・白井将文

東北大学医学部泌尿器科学教室

ハイゴナビスは血球凝集反応を利用し尿中 HCG, LH を測定する試薬であり、操作は極めて簡単で従来の Radioimmunoassay と同程度の検出感度を有するものである。われわれはこれを用いて正常男子ならびに当科不妊外来を訪れた男子不妊患者の尿中 LH を測定すると同時に、RIAによる血中 LH 測定、LH-RH 負荷試験などを行ない両者の相関性などについて検討を加えてみた。

まず尿中 LH をハイゴナビスで、血清中 LH を RIA で測定比較してみたが全例が近値を示した。また不妊を主訴として来院した患者数例に LH-RH 負荷を行ない、尿中 LH の動きを見てみたが、負荷前の値は精子数正常例より無精子症の方がやや高い数値を示した。またその response を見るとすべての症例において peak は60分にあり、無精子症において高い増加率を示した。また LH-RH 負荷をして尿中、血中 LH を同時に測定してみると、血中 LH の Peak は30分に、尿中のそれは60分にあるという Phase のずれがみられた。以上の結果によりハイゴナビスの信ぴょう性はかなり高く、LH-RH 負荷と組合わせれば血中 LH 等を測定することなく、間脳-下垂体-睾丸系の feed back 機序の解明の手助けになると思われる。

### A-62 Radioimmunoassay による血中 Progesterone の測定法について

○古橋信晃・大橋一夫・安部徹良  
中川公夫・平野睦男  
東北大学医学部産科婦人科学教室

〔目的〕近年血中 progesterone 測定法は、CPBA Radioimmunoassay の導入により著しく進歩した。われわれは今回、血中 progesterone を Radioimmunoassay によって測定し、またこの方法によって種々の婦人に合成 LH-RH を投与した時の血中 progesterone の動態について検討した。

〔方法〕対象は当科ホルモンクリニック受診婦人である。測定は向井、吉田らの方法に準じて行なった。すなわち血清に回収率補正の目的で1,000dpm の P-<sup>3</sup>H を加え、エーテル抽出、水洗後乾固した。この乾固物をメタノールに再溶解し、assay 用と recovery 用に分取した。assay 用には P-<sup>3</sup>H 10,000dpm を加え、乾固後、帝臓、牧野氏より提供を受けた P-3-oxime BSA に対する抗血清を加え、incubate した。Bound と Free の分離には硫酸塩析法を使用した。抗血清を使用して標準曲線を作製したが、0点での結合率は約80%であった。精度、再現性も満足すべきものであった。water-blank は約6Pg/ml、recovery は約80%であった。以上の方法を用いて、種々の婦人に合成 LH-RH 100 $\mu$ g を投与した時の血中 progesterone を測定した。また同時に血中 LH、FSH もこの抗体法による Radioimmunoassay で測定した。

〔成績および考按〕一部の症例では、合成 LH-RH 投与により血中 LH の上昇する15分から30分にかけて、すでに卵巣レベルでの steroid hormone 分泌が促進されたと思われる成績が得られたが、測定値の分析困難な症例もあり、今後症例を増して種々の検討を加えていきたい。

### B-25 辜丸の酵素組織化学的検討—精細管内の酸フォスファターゼ

○斉藤 薫・浜野耕一郎・多田 茂  
三重大学医学部泌尿器科学教室

精子形成能をよりの確に把握するため、組織化学的検討の必要性を感じ、まず酸フォスファターゼの検討を行なうべく次の実験を行なった。

DS マウスを飼育、処置、観察し、屠殺後除糞し、Burstone 法による酸フォスファターゼ染色を行なった。(1) 加齢による変化をみるため、生後3、6、9

週と経時的に屠殺した。——思春期前には、基底膜付近の精粗細胞に活性を認めるのみで、他の精細胞には、ほとんどみられなかつた。また間質の Leydig 細胞での活性も、精細胞のそれよりは強いが、この時期ではまだ弱く、成熟すると強い活性がみられるようになった。

(2) 対照群中に不妊雄性マウスを発見し、屠殺除糞した。——Spermatogenesis の比較的良好に保たれている部分と、精細胞が脱落し、精粗細胞と Sertoli 細胞のみ残存している部分とがみられた。前者では、精細胞での活性はそれほど著明な変化はみられなかつたが、全体的に間質の増殖と、同部ことに Leydig 細胞での活性が著明に強くみられた。(3) ATP アデホス2.5mg)、ビタミン B<sub>1</sub>、B<sub>6</sub>、B<sub>12</sub> 混合剤 (Vitamedin、B<sub>1</sub> で5mg)、PMS (Serotropin 100単位)、PMS、HCG。テストステロン混合剤 (Gonasteron、PMS で10単位) の不妊治療剤を、生後4週目より週2回、4週間皮下注射し、妊娠させうることを確認後屠殺し、これらの薬剤による変化をみた。——ATP およびビタミン注射群では、精細管内酵素活性に著明な変化をみながつたが、PMS、HCG 注射群では、活性の亢進が認められた。

質問 熊本悦明(札幌医大泌尿)

・生後3W マウスと成熟マウスとの比較で成熟精細胞での Ac-pattern の存在に差のあるのは Androgen の level と関係あると考えますか。

答 斉藤 薫(三重大泌尿)

・生後3W のもので Spermatogenesis はどの程度までか。

精子細胞までは明瞭に分化していたが精子については一部のものに管腔内にみられたが少なかつた。

・思春期前後の変化は testosterone によるものと考えてよいか。

そのように考えて良いと思います。間質での Acid phosphatase の活性は明らかに相違があつた点よりもいえるのではないかと考えています。

質問 片山 喬(千葉大・泌尿)

・私も10数年前 Vit. E 欠乏およびエルカ酸投与ラットの辜丸酸フォスファターゼを染色したことがあるが、諸種薬剤の使用はもつと長くしてみたいか。

答 斉藤 薫(三重大・泌尿)

・確かにその通りとも考えられますが、ホルモン剤の投与と同一投与方法を行ないませんので今回は週2回、4週間の投与のみにしました。今後もつと短期間の群と長期間の群も考慮し、検討したいと考えています。

## B-26 ハムスター睾丸 Spermatogenesis に及ぼす Diethylstilbestrol (DES) の影響

瀬 畑 桂

山口大学医部第2病理学教室

Estrogen が spermatogenesis を抑制する機構を明らかにするために合成 Estrogen Diethylstilbestrol (以下 DES と略す) を用いて次のような実験を行なった。

成熟 Syrian hamster に  $^3\text{H-Tar}$  (0.7 $\mu\text{c/gm}$  of b.w., s.a. 2.0 $\mu\text{c/1 m mol}$ ) を腹腔内投与後 DES (0.3mg/0.1 ml ゴマ油溶解) を短期間 (3~17.4日) 隔日皮下注射し, cell count および autoradiography によって検索した。

DES 処置群では5日目より germ cell の剝離脱落および spermatid の異常分裂像が認められ, 睾丸重量は17.4日では対照群の  $\frac{1}{4}$  に減じた。単位精細管当りの細胞数をみると germ cell は全般的に著明に減少したのに反し, type B spermatogonia は約2倍に増加した。標識細胞の一定分化段階への最短到達時間により成熟速度を比較すると対照群と差異はなかつた。以上の事実は DES 作用Fにおいては type B spermatogonia が spermatocyte に分化する過程で maturation arrest が起こることを示唆している。

また, 処置量を減じて起こる変化についても併せて報告する。

## B-27 停留睾丸の内分泌学的研究 (血漿 testosterone)

○清水 憲・大橋輝久・高田元敬  
新島端夫

岡山大学医学部泌尿器科学教室

血中 testosterone の定量は男性における性腺機能を知るために最も重要かつ直接的な診断法の一つである。今回われわれは停留睾丸における種々の問題を解決する手掛りとして帝国臓器製薬より抗血清の提供を受け, T を RIA により測定した。測定は牧野等の方法を modify したが若干の検討を加え, 検体は serum を使用した。Sephadex LH-20の micro column chromatography の solvent system は Hexan, Benzen, Methanol 81:9.5:9.5が最も適当であつた。また T 200 Pg 添加, 終わりまで操作して得た値で T の測定値を補正した。なお total recovery は73%, water blank は16 Pg であつた。標準曲線は抗血清1:1,9000で500 Pg までほぼ直線が得られた。正常男子12例について, 成人では他の報告とほぼ同じ値であり, 小児では0.14~0.42 ng/nl, 3歳の例では0.15ng/ml, C.V. 66.67%であつた。正常小児

7例と停留睾丸患者25例を比較すると後者は約70%が低値であつた。睾丸固定術前後の血清 testosterone を比較したが有意の差は認めなかつた。また停留睾丸患者における血清 testosterone, HCG test, 尿中 Gonadotropin との間の相関関係はみられず, 他の報告と一致した結果は得られなかつた。

質問 友吉唯夫 (京大泌尿)

・血漿テストステロン値の日内変動について考慮を払われたか?

答 清水 憲 (岡山大・泌尿)

・Plasma testosterone の日内変動は, 現段階では行なっていない。

質問 白井将文 (東北大・泌尿)

・2~3歳の未熟の小児に HCG 負荷試験を行ない, plasma testosterone が増加しなかつたからといって本当に Leydig 細胞が機能低下を示していたと判定してよいものかどうか?

答 清水 憲 (岡山大・泌尿)

・症例数が少ないため, 現在の段階では結論は出ていません。今後検討の予定です。

## B-28 睾丸の intratubular body について

○小松洋輔・友吉唯夫

京都大学医学部泌尿器科学教室

睾丸, ことに未熟な睾丸組織の精細管内にアミロイド小体様の円形沈着物がまれに観察されることはかなり以前より知られていた。intratubular body あるいは Ring tubuli などの名称で記載されているが, その本態については従来議論のあるところで, なお明らかではない。これまでの報告では停留睾丸に観察されたことが最も多いが, 真性半陰陽, 性染色体異常個体の睾丸にもみられ, また, 陰嚢内睾丸にさえ, 観察されることが記載されている。

われわれは, 停留睾丸6例 (うち1例は prune belly syndrome), XXY, hypogonadotropic hypogonadism 1例, 尿崩症に合併した hypogonadotropic hypogonadism 1例, 陰嚢内睾丸1例の計9例に intratubular body を観察することができた。これらの所見を呈示し, その本態について考察を加えたい。

## B-29 精子発生不全症例における精細管壁の電子顕微鏡的観察

○古屋聖児・熊本悦明

札幌医科大学泌尿器科学教室

精子発生不全症例および器官培養したヒト睾丸の精細

管壁につき、電顕的観察を行なつたので報告する。

(1) 精細管壁は3つの Component……(a) Basement Membrane, (b) Non Cellular Layer, (c) Cellular Layer より成る。Cellular Layer は数層の細長い線維芽細胞と思われる細胞より成るが、中に平滑筋細胞の特徴を示した細胞を認めた。

(2) 精子発生不全の障害程度と、精細管壁の肥厚とが相関する結果を認めた。

(3) 基底膜の変化として、(a) 肥厚, (b) 多層化, (c) Infold 形成, (d) bleaf 形成, を認めた。これらの変化により基底膜を4型に分類され、それぞれ精子発生不全の障害程度と相関することを認めた。

(4) 基底膜の Infold には2種類あり、(a) 細胞間隙への基底膜の Id folding (市川・熊本分類Ⅳ～Ⅲa型)、(b) 基底膜側細胞膜の Infolding (Ⅱ型)である。

(5) 精細管壁の肥厚とは、基底膜の肥厚, Collager fiber の増加, Cellular Layer の増加であることを認めた。

(6) 器官培養2日目では、基底膜は薄く平滑、固有膜では、微細な Fiber が豊富に認められた。15日目では、基底膜は変化ないが、固有膜に Mature Collager Fiber が多数認められた。

### B-30 Klinefelter 症候群における LH-RH 試験

○小松洋輔・友吉唯夫

京都大学医学部泌尿器科学教室

永山洋一

京都大学医学部内科学教室

Klinefelter 症候群の下垂体 gonadotropin 産生細胞の機能を知る一助として、合成 LH-RH を用いて Klinefelter 症候群の LH および FSH の分泌予備能を検討した。

47, XXY 型 Klinefelter 症候群の7症例を対象とした。合成 LH-RH は100mcg を静注し、投与前後に採血した。血漿 FSH および LH の測定は radioimmunoassay によつた。

血漿 LH の前値は平均37.7mIU/ml と高値で、LH-RH に対して20分～45分後に2.5～9.7倍に達する peak を作つた。平均値では20分後に最大反応値134.2mIU/ml となり、以後60分まで、次第に減少するが、60分で、なお前値より有意の高値にとどまつた。

血漿 FSH の前値は平均44.2mIU/ml と高値を示した。LH-RH に対する反応は緩慢で、10分～60分後まで、1.2～14.倍の増加がみられたが、前値との間に有意差はなかつた。

gonadotropin 分泌亢進がある Klinefelter 症候群でも、外因性 LH-RH に対して、なお反応し得る下垂体予備能があり、特に LH において、増加率が著明であつた。

**追加発言** 白井将文(東北大・泌尿)

・われわれも同様に Klinefelter 症候群に対して LH-RH 負荷試験を行なつており、血中 FSH, LH の増加がみられ、下垂体の反応そのものには異常はみられないが、血中 testosterone は LH-RH 負荷によつても全く増加を認めないことより睾丸の Leydig 細胞機能そのものが低下しているものと思われる。

**質問** 成田 取(名大・産婦)

・Klinefelter 症候群においては性ステロイドホルモンに対する feed back 機構は如何でしょうか。

**答** 小松洋輔(京大・泌尿)

・調べたことはない。

### B-31 先天性性腺發育異常症の下垂体機能

万羽 進・安達武士・成田 取

中西 勉・石塚直隆

名古屋大学医学部産科婦人科学教室

従来 Turner 症候群を初めとする性腺發育異常症は、細胞遺伝学的、内分泌学的、病理組織学的な立場から検索がなされて来たが、この発生病理、病態については、まだ十分解明されたとはいえない。

われわれは、性腺發育異常症の中には、上位中枢の機能障害により2次的に惹起されたものがあるのではないかと考え、当科を受診した種々の染色体構成の性腺發育異常患者に LH-RH を投与し、FSH, LH の分泌動態を時間的に追跡すると共に estrogen の feed back を観察し以下の成績を得た。

1) 染色体構成が XO および mosaic における

LH-RH 投与前の血中 FSH, LH の値は共に高値であり、また LH-RH 投与後30～60'で最高値となり、平均投与前の約2.5倍に達した。更にこれらの症例に Premalin 40mg 静注すると、注射後3～5時間に FSH, LH は低下し、LH-RH 投与前の値より低下した。

2) 染色体構成が正常な XX-群においては

1例を除き、LH-RH 投与前の血中 FSH, LH の値は共に低値であり、更に LH-RH 投与に全く反応が認められなかつた。すなわち本 group には、下垂体障害に続発した2次的な性腺障害に属するものが存在することが推定された。

**B-32 最近当病院でみられた重症奇形 3 例**

神津 弘・仲村健一・前田光士  
真島靖重・桑原正樹・○国立実夫  
布施養慈

愛知・聖霊病院産婦人科

最近われわれは、比較的稀な奇形 3 例を経験したので報告する。

(症例 1) 一卵性双胎にみられた無心体で、緒方氏分類による無頭骨無頭無心体であり、羊水過多症を合併し、妊娠 7 カ月で、未熟産となる。第 1 児が無頭骨無頭無心体、第 2 児は剖検において全身の未熟性の他、何ら異常を認めなかつた。また臍帯、および胎盤血管系の吻合も確認し得た。

(症例 2) 単眼症の成熟児分娩例で、外観上特異的顔貌と、病理組織学的には、単眼窩複潜伏眼で、先天性白内障の像を呈し、また終脳の形成不全に伴う第 3、第 4 脳室の拡大、中心溝の欠如、視神経溝、視神経索の欠損が認められた。

(症例 3) 左下肢の広範囲に渡る皮膚欠損症、感染予防だけで生後 4 カ月たつた今、ほぼ完全治癒がみられ、患児母方の従兄弟にも同様の皮膚欠損がみられ、やはり完全治癒している点から、遺伝因子の関与を示唆しているものと考えられる。

**B-33 経口避妊薬 SH 850 の使用成績について**

浜田春次郎・出馬淳名・森田勝己  
市川 文雄・高山保守・柚木孝士  
池田 良

大阪医科大学産科婦人科学教室

上記物質について約 5 年間の使用経験を中心とし、これまでに得た臨床実験成績を整理報告し、現段階におけるステロイド避妊に対する考えを述べようと思う。

方法 上記物質について、Pincus 方式により検討した。対象は当科外来における昭和 42 年 5 月より昭和 47 年 12 月に至る間の避妊希望者 80 名とした。年齢は 21~41 歳の間にあり、経産回数は約 2 回で、服用総周期 1058 周期、最長服用者 66 周期である。

成績 1. 避妊効果はほとんど 100% であつた。2. 月経周期第 5 日目より 21 日間の服用により大部分は 28 周期となり、消退性出血までの日数は 3~4 日、持続日数は 3~5 日間で、血経量は減少傾向にある。3. 副作用は著明なものはなく、そのために服用を中止した例は認めなかつた。またその発現率は低率であつた。4. 各種検査成績から本剤により著しい影響は認めなかつた。5.

長期投与例について尿中ホルモンを追跡したが、現在までの成績ではやや抑制が認められた。

まとめ 長期連用の上記臨床成績において見る如く、健康婦人を対象とする限りにおいては本物質は産科医の管理のもとに経口避妊薬として一般使用にさしつかえないものと考えられる。

**B-34 経口避妊薬長期投与時の副作用に関する研究  
第一報 血液凝固能について**

街風喜雄・塚田一郎・藤井純一  
木暮正彦・岩崎哲夫

関東通信病院産婦人科

われわれは約 10 年前からステロイド避妊の臨床的研究に着手し、服用者にはほぼ定期的に種々の検査を施行して副作用をチェックして来た。今回、5 年以上服用者 17 名、3~5 年服用者 17 名、1~3 年服用者 13 名の検査所見を集計したので、第 1 報として、血液凝固能亢進の有無を検討した成績を発表する。その概略は以下の如くである。

- 1) 血液凝固時間：全例 5~15 分の正常範囲にある。
- 2) Prothrombin Activity (Quick 一段法)：3 年目の 1 例が低値を示したのみで、他はすべて 70~130% の正常範囲にある。
- 3) Plasma Prothrombin Test：これも 3 年目の 1 例が低値を示したが、他はすべて正常。
- 4) Heparin Clotting Test：4 年目の 1 例と 6 年目の 1 例に軽度促進、8 年目の 1 例に軽度遅延を認めたが、他はすべて正常。
- 5) F-V Activity：全例 70~130% の正常値。
- 6) Fibrinogen：2 年目の 1 例が 649 mg/dl、3 年目の 1 例が 528 mg/dl の値を示したが、他はすべて 201~400 mg/dl の正常範囲内。
- 7) Euglobulin：正常値は 4~24 時間であるが、4 年以上服用した例では 4 時間以下の値を示したものが過半数である。
- 8) 出血時間：約  $\frac{1}{4}$  は 1~1.5 分、他は 2~5 分。

**B-35 長期経口避妊薬服用例の代謝に関する一考察**

林 方也・浜田 宏  
聖マリアンナ医科大学産科婦人科学教室

各種の合成 Steroid がいわゆる“Pill”として頻用されているが、近年その作用機序に関連して内分泌および代謝環境への影響が観察されつつある。われわれも 1967 年以来当院を訪れ、機能的出血その他で Sophia C

(norethisterone 2mg+mestrenol 0.1mg) を服用した 20例に50g 糖負荷試験をはじめ、IRI, HGH, NEFA, Triglyceride の測定を行ない、合わせて血清蛋白の変動も観察した。静脈血 GTT 曲線は境界型で頂値の遅延を認め、IRI response は糖負荷後30分では正常、60, 90, 120分で flat かつ遅延傾向を示した。

HGH は60, 120分にやや高値を示す症例がみられ、NEFA では空腹時高値、3時間値の低下を観察した。GTT の成績を3型に分類すると、正常型8例、服用初期を中心として割合均等に分布、境界型は5例、6周期までに多く、糖尿病型は7例6~12周期および長期服用者にみられた。それに対する IRI response は GTT 正常型ではほぼ normal pattern を示し、境界型では遅延2例、高反応1例、糖尿病型では IRI にも異常を示す症例が多い傾向であった。すなわち耐糖能低下を示す群で IRI の hyper response と遅延傾向が著明にみられた。NEFA の変動は、正常型でほぼ対照と差異なく、境界型では空腹時高値、糖尿病型では空腹時の著明な高値および3時間値の低下を認めた。HGH は糖尿病型でやや異常な推移を示す症例もみられ、Triglyceride は空腹時高値を示したが糖負荷後の変動はない。同一3症例について服用中と消褪出血後とを比較すると、GTT pattern は軽度ながら耐糖能の改善がみられ、IRI response もやや正常化、NEFA も対照に近づく傾向が認められたが、3値とも全く正常化することは認めない。

今後の問題として服用中止後の follow up があるが、最高76周期に亘って服用した症例で GTT 糖尿病型、IRI 過剰反応型、NEFA, Triglyceride 空腹時高値を認め、中止3カ月後でやや正常化がみられたが、なお GTT 境界域、IRI は遅延反応を示した。一元拡散法により検索した11の蛋白分画では、低温期14例、高温期11例の対照に比し  $\alpha_1$  Antitripoin, Ceruloplasmin, Hemepexin, Transferrin,  $\beta$ -Lipoprotein はそれぞれ1%以下の危険率で有意の増加を認めた。これに対し  $\alpha_1$  Acidglycoprotein,  $\alpha_2$ -HS-glycoprotein,  $\gamma$ -A は減少傾向を示したが、Haptoglobin,  $\gamma$ -M,  $\gamma$ -G では有意の差はなかった。また服用周期の長短による明らかな差異はなく、消褪出血後は服用中に比して Ceruloplasmin, Transferrin にやや減少傾向、 $\gamma$ -A に上昇傾向がみられたが他の分画では差異はない。以上少数例ではあるが Pill 服用中には諸代謝の変動が認められ、これらの多くは服用中止後には正常化に向う reversible な変化と思われるが、この点については目下検討中である。また、われわれの成績では服用期間の長短による明らかな差異は認めなかったが、このような代謝の変調が長期間持続することによって irreversible な障害をもたらすこと

も危惧され、この点についても今後慎重な検討を要するものと考ええる。

**質問** 浜田 春次郎 (大阪医大・産婦)  
蛋白分画の変化において最も長期使用の例は何年であったでしょうか。

**答** 林 方也 (聖マリアンナ医大)  
われわれの今回検索した症例は20例、最長の服用症例は76周期である。

**追加** 浜田 春次郎 (大阪医大)  
問題は長期投与せる場合、その中止後どの位に正常に回復することである。われわれもその点に注目しているが、長期服用例にて中止後の観察例に乏しい。かつてなした動物実験の下垂体細胞所見では回復した成績をもっているものの、人における長期服用の回復が問題であつて、今後の観察が必要であると思つている。

**追加** 林 方也 (聖マリアンナ医大)  
76周期服用例では GTT, 糖尿病型, IRI 過剰反応型, NEFA, Triglyceride 空腹時高値を示し、中止後3カ月の時点でやや正常化がみられたが、なお GTT は境界域、IRI は遅延反応が観察され、代謝の正常化はみられない。文献的には6カ月、12カ月、24カ月などに各種代謝値の正常化がみられるという報告もときにみられる。

**質問** 池田 幸 (茨城済生会病院)  
投与期間または投与中止期を如何にしたら人体に対する影響を最小にすることが出来るか。

**答** 林 方也 (聖マリアンナ医大)  
休止後の臨床症状の経過、たとえば排卵の問題とか、Spotting とか、を参考の上先の代謝データの問題が重要な地位を占めるが、やはり中止後の諸代謝および内分泌環境の経過観察を十分に行なうことがこの問題の解決につながると思う。Pill 服用の医師の管理下におくべきことはいうまでもない。

**答** 浜田 春次郎 (大阪医大)  
服用期間を通常どれだけの長さにすれば最適かとの質問に対しては、これは極めて常識的な見解になるかもしれないが、私はドイツの Prof. Lax の私見を伺つたことがある。1年のうち10カ月服用すればあとの2カ月位休んでどうかと、その休む間は別の避妊法を応用すればよい。この意見は一つの参考になると考え、私共は長期投与の実験をして格別副作用を認めていないけれども、余り長く用いることについては願慮すべきものと考えている。なお、薬剤の使用には必ず医師の処方義務の範囲においてなすべきであると考ええる。

**追加** 街 風 喜 雄 (関東通信)  
長期服用については私も特に注意し、原則としては余りすすめたくないと考える。休業期間をおくことも一つ

の方法ですが、実施上薬剤以外の問題もあり、指導が必要でしょう。本日申し上げませんでした。他の諸検査と合わせ考えるべきで、また服用期間後のホルモン機能や妊娠への考慮も必要で、次の妊娠を希望しているものでは長期間服用は止めております。また服用中止後性機能の回復をみてから妊娠させた方が良くと思います。

**追加** 飯塚理八(慶応大)

糖認容については今まであまり日本では問題にしなかつたが、その *genese* については *estrogen* が *gestagen* についてかを含めて十分今後検索してほしい。

**追加** 林方也(聖マリアンナ医大)

Pill 服用に関しての大きな問題であり、われわれの検索では、諸代謝の変動が認められたが服用中および消滅出血後では、その変動も消長がみられ、5~7年服用例でも IRI response が低下型となるような重大な Diabetogenic な作用を示したものはなかつた。しかし2~3年以上服用者で GTT 糖尿病型、IRI, NEFA その他異常を示す症例が多いことも事実であり、今後この変調が果たして長く持続すれば irreversible になるのかという問題が解決されねばならない。休止期については前質問と重複するが、やはり根本的には投与中止後の観察を十分に行なつてから決めていきたい。

**追加** 王春雄(カリフォルニア大学)

Post Pill Amenorrhea は5~10%に起こることが統計的に出ております。私のところでは、経口避妊薬は2年の限度で一度止めて次の自然月経が出るまで待つことを原則としています。

**質問** 町世木辰夫(愛知県)

産婦人科医会でピルのための標準カルテを作る必要がありますので、長期使用中半年毎の検査として、最低限どれ位の検査を必要と考えられますか。

**答** 林方也(聖マリアンナ医大)

糖代謝に関するわれわれのデータでは6カ月までにやや GTT 境界型、6~12カ月に糖尿病型が出ており、この成績にはほぼ相関して、IRI response, NEFA, Triglyceride が動くので、この時期に一度50g GTT 検査を施行したいと思いますが、1回検査ならば血中空腹時 NEFA, Triglyceride を検索してもよい。ただ注意すべきことは、GTT 型の異常化と服用中止とは、また別の次元の問題であつて、これについては服用中止後の follow up と代謝変調の長期持続による影響に関する問題の解決が必要である。

**答** 街風喜雄(関東通信)

血液凝固に関する検査はただ今申し上げましたようなもの、あるいはそれ以上を行ないたいのですが、経費の点もありまず出血時間、凝固時間、血小板数(血液像も

含めて)などから始め、特に長期服用者には詳しい検査を行なうべきでしょう。

### B-36 Dalkon Shield 208例1年間の成績

石浜淳美・○小林 高

岩手医科大学産科婦人科学教室

Pill の長期間服用が薬害で問題のあるところから、IUD は長期間使用出来る避妊法として最も注目されている。しかし IUD の避妊効果は2.5/hwy と Pill の0.3に比して高く、目下世界中でこれが改良開発されている。われわれは A. H. Robins 社より Dalkon Shield なる新型 IUD の提供を受けたので、避妊を希望した 208名の健康な経産婦に、昨年の7月以来約1年にわたつて使用したので、その成績を簡単に報告する。

本 IUD は従来の IUD の分類からいえば、inert IUD (不活性 IUD) に属し、面をもつて構成されている。

挿入に際しては、頸管拡張を必要とせず、挿入直後の子宮収縮によつて子宮底の方に上昇して装着されるようになってい。挿入除去共に極めて簡単である。

昨年7月以来約1年にわたり、2751周期の観察で5例が妊娠し、その避妊率は2.1/hwy である。腹痛で除去したもの1例、本人の希望で除去したもの3例、計4例で、除去率は妊娠を含めて3.4%である。

本 IUD は従来の IUD が主として線を主体としたのに対し、面を主体としており、構造上からは closed IUD であるが、機能的には open IUD と同じで、極めてユニークなしかも有効な IUD であると考えられる。

**追加発言** 村山茂(東電病院)

私も Dalkon Shield 数10例を使用する機会を得ました。挿入方法としては頸管拡張をしなくてもよいのですが、症例によつてはヘガール No. 3, 4号位まで拡張した方が挿入が glatt で患者の痛みも少なく、よいという印象を受けました。特に未産婦に挿入する場合このことがいえると思いますが、如何でしょうか。挿入器、挿入法、あるいは糸の結び目、平面的な要素を持つ IUD であるなどは演者のいわれるように本 IUD 特徴であると思われます。

### B-37 カリフォルニア大学家族計画クリニックにおける Dalkon Shield の使用成績

王春雄

ロスアンゼルスカリフォルニア大学産科婦人科学教室

In order to evaluate contraceptive effectiveness.

including closure rate and continuation rate, a series of 1263 iud insertions at ucla family planning clinic were studied. The sample population was divided into two different social and educational background groups. Although there were some differences in effectiveness between the two groups, also differences in each type of termination rate by number of parity, no statistically significant differences were found. IUD is not as effective as oral contraceptive. However, with careful discussion and counseling before insertion, cautious selection of indication for insertion, and skillful sterile technique will reduce the incidence of unexpected complication. There is a need for further study and experience before we can reach to more effective contraception with IUD.

#### B-38 Mark 氏経膈部切開法による産褥早期の卵管不妊手術 (あわせてポメロイ氏卵管結紮術の成績)

○瀬口文暉・董 福雄・鷹見 登  
深山真一

愛知・蒲郡市民病院産婦人科

当院では、約 4 年間にわたり産褥早期に、経膈部腹式切開により腹腔に入り、ポメロイ氏法による卵管結紮術を施行している。麻酔法は主として腰麻である。すでに症例数は 200 有餘となり、その成績は満足すべき結果を得ているので報告したい。

##### ① Mark 氏経膈部切開法の利点と欠点

- 1) 膈部は皮下脂肪のうすさ、解剖的構造、産褥の腹壁の伸展により、容易に達しうる。そこで手術時間は少し慣れれば 15~20 分程度でよい。
- 2) 膈窩縁の半円状切開は、直線になおして約 2~3 cm であり、術後疼痛も少なく、経過も良好である。
- 3) 産褥早期に行なうので入院期間が短かく、患者の経済的負担が少ない。
- 4) 術後切開創は膈窩にかくれるか膈窩の皸裂により目立たなくなり美容上良い。
- 5) 子宮底が、膈高近くないと手術困難であるが、膀胱内に生理的食塩水を注入せしめ、子宮底を挙上しうる。

##### ② ポメロイ氏卵管結紮術

アメリカで普及している本術式は、わが国ではほとんど行なわれていない。われわれはマドレーナー方式の術後再妊娠の少なくないことから、本術式を採用した。以外

300 例近く (腹式、膈式共に) の症例中 1 例の妊娠例も経験していない。その術式は簡単かつ容易であり、しかも本方式に起因しうる術後後障害を経験していない。本術式の優秀性を強調したい。

#### B-39 ヒステロスコープ直視下卵管凝固による女性永久不妊法

○杉本 修・西村敏雄

京大医学部産科婦人科学教室

永久不妊の目的で、ヒステロスコープ直視下に卵管凝固を行なう方法は Gauss (1928) 以来 2, 3 の試みがあったが、基礎的検討や効果の追求が不十分で追試者が途絶えていた。だが近年、ヒステロスコープの改良によって、本法が見直され、われわれは昨年 10 月から基礎的ならびに実地面での検討を行なってきた。

直視下に卵管を凝固し、完全に閉鎖させるために必要十分な条件について検討した。

①卵管口を確実にみつけること。従来の生食水灌流では、45%の症例しか卵管を見出せなかつたが、最近開発された高稠デキストランを主成分とする S-8550 を用いると、84%特に月経直後には 95%に見えるようになった。

②卵管への電導子の挿入。子宮間質部では、卵管は子宮縦軸に対してほぼ直通に走っているため、直径 1.2 mm の電導子の先端は 5 cm にわたって、電解研磨により、弾力的に屈曲しやすくした。この電導子を用いれば 60 例中 48 例は卵管口から 10 mm 挿入可能で、その他の例も、5 mm 以上の挿入ができるようになった。

③卵管閉鎖に必要な十分な高周波通電条件。入力 100 V、出力 0~100 w、中心周波数 1 MHz の spark gap 方式の発生機である。子宮全剥予定の 45~7 日前に行なつた凝固部の組織学的検討によつて、出力 30 w、3~4 秒、または 40 w、2 秒の通電が最もよいことが分かつた。

効果を確実にするため、凝固は卵管口から 10 mm、5 mm、0 mm の 3 カ所で行なつた。

38 例の永久不妊希望例に本法を行ない、2~3 周期目の通気試験 (24 例)、造影法 (13 例)、によつて全例完全閉鎖を確認した。認むべき副作用はほとんどなかつた。さらに長期的追跡が必要であるが、卵管外部から操作を加える従来の方法に比べて、内面から卵管内膜のみを凝固させる本法は、より合理的で、簡単、安全な方法であると考えられる。

## B-40 クルドスコーピーによる避妊手術

○柴田直秀・林 基之・西田修二

東邦大学医学部産科婦人科学教室

骨盤内視鏡を用いた避妊手術は、大体次の方法があげられる。

- 1) クリップ法 (プラスチック, 金属)
- 2) 絹糸結紮法, 3) 電気焼灼法, 4) 冷凍手術法,
- 5) 接着剤注入法

上記の中で, 1), 2), 3), が, 現在既に施行されており, 手技の一部を紹介する。4) については, 冷凍手術を行なって新規に開発中の他の手術と共に, 後日紹介する予定である。5) は, New York の Clyman が「赤毛ザルを用いて試みられたが, 失敗が多く, 実用の域に達しない」と述べている。

1) は, 林や, ノースカロライナ大の Hulka が製作したプラスチック, または半プラスチック製のクリップもあるが, 2孔式手術という極力縫合を要せぬことを特色とする手技上, 小さな Weck 社金属クリップを使用している。クリップは1卵管に1コ, ないしは2コを使用する。

2) は, 婦人科用深部結紮器を用い, 絹糸の輪をくぐらせた把持鉗子で卵管采部をつまんで結紮する。卵管に癒着のないことが必要条件であるが, 軽度の癒着ならば剝離手術を行なっておいて施行出来る。癒着のない卵管の多くは采部を把持鉗子でつまんで腔腔に先端をひき出すことが出来る。この場合の結紮は極めて容易である。

3) は Walf 製の専用卵管焼灼器を用いると楽である。いずれも抜きの操作がうまく行けば, 翌日は帰宅させ, 縫合もしない。

## B-41 当病院における切迫流産の予後判定と予後不良例の組織学的検討

神津 弘・仲村健一・前田光士  
真島靖重・○桑原正樹・国立実夫  
布施養慈

愛知・聖霊病院産婦人科

妊娠初期の切迫流産の予後判定法については, 諸説がありますが, 流産の原因が多彩のため私達臨床医は, 日常診療に際し, 常に困難を感じています。本院は, Catholic 系という特殊性があり, 切迫流産例に挙児希望者が多く, その大多数を入院治療している。治療効果の判定および妊娠継続の可否は, 臨床症状および HCG. titer とインヂカン反応を併用し, これらの総合的結果を, 有力な Index としている。予後不良と診断された例は,

型の如く手術的処置を行ない material は全例, 病理学的検査を行なった。予後不良例50例につき, 術前検査所見と検鏡により組織変性度との比較検討しました。プレグノ稀積による許限値下まわり, インヂカン反応陽性例では組織像において, Villi および Decidua の強度変性がみられている。

1. 予後不良例では, 病理学的検索よりみて従来の諸報告にみられる如き, 妊娠週数による HCG titer よりも, インヂカン反応による結果が予後判定をする際, 先行するように思われます。

2. 検鏡による chorionic Villi および Decidua の変性度から見て HCG titer の低下と, インヂカン反応が陽性となる例は, 臨床症状の軽重よりも, 予後判定の補助的診断としての有用性があるように考えられます。

質問 山下 裕 国 (佐世保共済病院・婦)

・われわれも数年前よりゴナピスによる HCG の判定量を行ない好成績をえている。8倍稀積尿 (+) なら, 16倍稀積をやり, (+) なら予後極めて良好, 4倍稀積 (-) なら100%予後不良であった。

部分性胎状奇胎のとき判定を誤り, 不要な治療を行なった例が2例ある。この場合36倍稀積 (+), 100倍稀積 (-) だった。

答 桑原正樹 (聖霊病院)

・本院の統計的に見てインヂカン反応が HCG titer よりも先行するように思われました。

質問 西川 義 雄 (奈良医大・産婦)

・私達の検討で同様の傾向 (gonadotropin titer) を認め, 不妊誌18巻に発表致しましたが, Vaginal cytogram での検討されましたでしょうか。1971年 Youssef の報告によりますと gonadotropintiter よりも vaginal cytogram の方が信頼性があるということでございますので, 念のためおたずね致しました。

答 桑原正樹 (聖霊病院)

・御指摘の通り, Vaginal Smear も今後使用して予後判定をより明確にしていきたいと思えます。

## B-42 統計よりみた切迫流産の予後と「流産スコア」の提唱について

○広井正彦・大竹四郎・竹内正七  
新潟大学医学部産科婦人科学教室

妊娠初期にみられる流産の原因には器質的なものから機能的なものまでいろいろのものが考えられるが, 臨床的にはその原因を究明することは困難なことが多く, もつばらホルモン療法や子宮筋弛緩剤などを一律に用いている現状である。しかし, 近年流産の原因には染色体レ

ベルの異常が多いことが明らかになるにつれ、流産の治療にはいたずらに長期間薬物を投与していないかの懸念がもたれる。従つて流産例を詳細に分析し症状と内診所見である程度予後判定に利用出来るかを検討した。

対象には新潟大学附属病院産科に入院した昭和40年1月より46年12月までの7年間に妊娠4カ月未満で切迫流産の診断にて入院加療をうけて予後の判明している208例を用いた。

これらの切迫流産患者は全産科入院患者の3.7%を占める。このうち23%は入院24時間以内で流産し28%は数日以内で流産した。退院後8%が流産し、正常児を満期産したものはわずか30%であった。経産婦ほど予後が悪く、出血の多いもの、下腹痛のつよいもの、入院時すでに子宮口が開いているものほど予後が悪かった。

とくにこれらの既往歴、症状、内診所見などを中心に流産率30%以下を0点、50%前後を1点、60~70%前後を2点、80%以上を3点として流産スコアを算出すると、11点以上は全例流産し、得点と予後の間に密接な相関関係を示した。

質問 高田 久 (飯山赤十字)

・流産の治療について、いたずらに長く治療することが最近問題になつてきているが、子供がほしいということになるとどうしても長くなつてしまい、その処置には困ります。2~3質問したいことがございます。①職業別分類に差がないとのことですが、私共は農村地方における職種ですが、耕運機を使用したり、大腹部に重圧のかかる婦人の流産の傾向が多いように思うわけですが、如何でしょうか。

②6w 以前の出血で placental sign と称せられるものと切迫流産の鑑別をどのようにしているか。

③HCG 原尿1~1、内診所見、症状より胞状奇胎の考えられる“ない例”に流産した内容物によく胞状奇胎があることがあるが、Sore 状なにかそういう例に変わった点はないか。

答 広井正彦 (新潟大・産婦)

・職業でも農業の人がかなりいるが、これも大差がない。

・妊娠6週以前の妊娠とは、不妊、内分泌外来でBBTをとり、その所見から妊娠としたものが主である。

・この score で胞状奇胎の鑑別は出来ないが、これはHCG や HPL の測定を routine に行なつているので、それで両者の鑑別を行なつている。

### B-43 $\alpha$ -fetoprotein 測定による流産の予後判定について一特に 静脈血と 子宮血中の 同時測定を中心にして—

○佐藤芳昭・八向 勉・広井正彦  
竹内正七

新潟大学医学部産科婦人科学教室

妊娠母体血中  $\alpha$ -fetoprotein (以下 AFP と略) 測定が、流産の予後判定に役立つ可能性のあることをわれわれはすでに発表して来た。今回はさらにより早期に流産の予後を判定する目的にて、性器出血を主訴とする妊婦について、静脈血と同時に子宮出血を採取し、その血中 AFP を測定して retrospective に流産の予後と AFP 活性を比較して興味ある結果を得た。1) 実験方法: 妊娠2カ月より4カ月にかけての性器出血を主訴とする妊婦15名について、静脈血を採血と同時に、disposable の乾燥注射器を用いて子宮血の採血を行ない、3,000回転、10分で遠心、子宮血についてはその上澄をとつてさらに再遠心して検体とした。AFP 測定には二抗体法による radioimmunoassay 法 (Dainabott 社) により、duplicate に行なつた。

2) 実験結果: retrospective に予後不良であつた流産例について、その AFP 値をみると静脈血についてはばらつきがみられたが、子宮血で200ng/ml 以上を示したものはすべて予後不良であり、50ng/ml 以下の症例はすべて予後良好であつた。対照として測定した奇胎妊娠2例は、静脈血、子宮血ともに AFP は陰性であつた。

3) 結論: AFP 測定は流産予後の指標となり得ると思われ、特に子宮血中 AFP 値はよく予後を反映すると考えられ、さらに症例の検討を行なつている。

質問 都 竹 理 (阪大・産)

・流産の予後の悪い場合  $\alpha$ -fetoprotein が上昇するのをどのように解釈されますか。

答 佐藤芳昭 (新潟大)

・Missedabortion または胎児死亡で  $\alpha$ -fetoprotein 上昇の傾向を示す原因と推定されるものは、1) 児 liver の autolysis による  $\alpha$ -fetoprotein 量の増大。

2) 児死亡による胎盤透過性の上昇により児→母体への  $\alpha$ -fetoprotein の移行量の増大などが考えられるが詳細は不詳である。

#### B-44 中規模病院における不妊外来—大学不妊クリニックとの比較

百瀬和夫・田中リナ・○平敷好惟  
東邦大学医学部産科婦人科学教室

不妊患者の頻度、不妊因子の割合については、発表者によりかなり差が見られる。また、年度によつても変化し、最近の報告では35～39歳の婦人の無子率は5.3%で、これは戦前の半分以下であるという。しかし外来を訪ずれる不妊患者の数は減らない。これは4児以上を持つ夫婦が7.0%で、戦前の63.0%に比べて著しく低率となり、養子という形の解決法が困難になつたためもある。児を希望する患者の実態を知るために、大学病院における不妊クリニックと、東京郊外にあるベッド数200程度の病院における不妊外来の内容と比較する機会を得たので報告する。昭和47年1月から48年1月末までに、児希望を主訴として東邦大学病院を訪れた966例中、子宮卵管造影法を受けた511例と、同期間に高津中央病院で、同じ検査を受けた105例を比較検討した。1) 年齢別分布では全く差がない。2) 不妊期間は、2～3年目の者が大学群36.2%、高津群45.7%、10年以上の長期不妊患者は大学36例7%、高津3例2.9%であつた。3) 子宮因子は、子宮發育不全、奇形子宮、筋腫子宮には大差ない。辺縁微細不正像、粗大不正像、子宮アトニー像、ポリープ状欠損は大学群にやや多かつた。4) 卵巣因子は大学11%に対し、高津20%と倍に近い。5) 卵管因子は大学19.2%に対し、高津7.7%で卵巣因子と逆になつていた。6) 精液検査では不良のものが高津群にやや多かつた。

質問 松田正二(北大・産婦)  
・大学病院と中規模病院とにおける不妊患者の実態を調査されていますが、このような調査を行なうに当つてどのような(何らかの)期待をもつてされたと思うが、その辺のところについて御意見があれば伺いたい。

答 平敷好惟(東邦大学)  
・ヒステロによつて卵管通過性が高津中央病院に多いような感じを受けることからはじめた。

質問 松田正二(北大・産婦)  
・不妊原因の頻度において夫側、妻側の原因は大方の成書によれば半々といわれているから先生の調査では如何でしたか。

答 高田久(飯山赤十字)  
・農村地方、過疎地域においては農繁期を中心とした忙しさ、また出稼ぎ等も問題となりますが、そういった面から夫婦即男性女性の関与する割合ははつきりとわかり

ませんが、男性側の絶対不妊としての Azospermie は42例中3例を示しております。

答 平敷好惟(東邦大)  
・ヒステロを中心に女性側を主としたため女性側と男性側因子の比較は何とも言えない。

#### B-45 農村都市としての当科における不妊症の検討

高田久  
飯山赤十字病院産婦人科

近年児希望患者は僻地においても増加傾向を示し、また不妊検査、治療もめざましい進歩を遂げているが、一方において農村婦人は家庭の主労働力であり、時間的余裕も少なく、その治療には様々の問題を生ずるものである。昭和47年7月から48年9月までの約1年間における不妊患者は81例で全外来患者の6.8%を示したので少数ながら検討し報告する。原発不妊は42例51.9%、続発不妊は39例48.1%で、従来の諸家の報告に比べ続発不妊が多くなつている。年齢別では25歳から29歳に peak があり、以下30～34歳、20～24歳、35～39歳の順となつている。有児数は、なし64.2%、1児33.3%、2児2.5%となつている。不妊期間は2年以下の Subinfertility が41例で50.6%を占め、3年以上の Infertility は40例で49.4%となつている。子宮卵管造影法を中心とした原因分類では、子宮因子32.6%、卵管因子6.5%、卵巣内分泌因子37%、男性因子13%、機能性8.7%、その他2.2%となつている。当科における不妊症の妊娠率は、81例中24例で29.6%を示している。その他月経との関係では、不順例38.4%、順調例61.6%となり、初潮は原発不妊例に遅い例が多く、月経困難症も原発不妊にやや多くなつている。既往手術例は27例で33.3%となり、先行妊娠については、分娩例が51.3%、流産38.4%、以下子宮外妊娠7.7%、人工妊娠中絶2.6%の順となつている。妊娠例についても因子別、期間別、治療内容別に分け、詳しく検討した。

#### B-46 不妊症の心因的背景および Sexual Life に関する統計的観察

中村博・○久保春海  
東邦大学医学部産科婦人科教室

不妊婦人の情動障害を検討するために機能的な不妊群、器質的な不妊群に分類し、健康経産婦人を対照として当科外来を訪れた151名につき質問紙法、面接法を用いて調査を行なつた。その結果、不妊群58.6%、対照群18.9%の不妊婦人に圧倒的に情動障害を有する割合が多い。また器質的な不妊群63.4%、機能的な不妊群56%、深町の判定

基準でも前者は36.6%，後者は25.4%で器質的不妊群にやや情動障害が多くみられた。

CMI-MR 項による性格傾向では易怒性、過敏性、社会的不適応などの傾向が強く、情動障害を起こすと思われる環境因子を面接法により不妊婦人から解答を求めた結果、やはり妊娠願望に直結する性生活に対する不満が非常に多く、特にオルガスムスの欠如ないし不足を訴えるものが最も多かった。

不妊婦人の性生活は単に卵子と精子の結合を願うのみの肉体的演技にすぎず、オルガスムスを欠如するようになると思われ、この状態が続くと卵巣機能障害や腹部脈管系のうつ滞が起り、不妊症を更に難治なものとするのが推測される。

従って不妊婦人の治療には詳細な性歴の問診が必要であり、あまりにも受孕可能期性交に固執させることはかえって逆効果になると思われる。

#### B-47 東邦大、最近10年間のクルドスコピー

林 基之・○柴田直秀・西田修二  
曾張臻臻・林 晴男

東邦大学医学部産科婦人科学教室

東邦大学不妊外来でクルドスコピー検査に廻された患者の記録をここ10年分に区切ってまとめてみた。

ただし、1973年度分は、8月分までである。クルドスコピーも、この時期はほとんど全例が不妊症患者であつたが、3年位前から、外妊や癌の診断のケースが入り、更に二孔式手術が開発発表されてからは、今年辺りは、他の医院からの紹介で、開腹をいやがる良性嚢腫の患者の二孔式手術が依頼されるようになり、一概にクルドスコピーが不妊症外来の一環という立場だけでは、取まらなくなつて来た。患者総数は1,411、これを種々の方向から分析、また、麻酔法、器具、手技、それも当初は単なる診断法であつた立場から、不妊症手術、生検、等の範囲が拡がる歴史的な発展の足どりを数字的にたどつて発表してみたい。

内容の一部を紹介すると、クルドスコピー受診患者の  
イ) 初・経産別、ロ) 不妊期間、ハ) 年齢、ニ) 麻酔の変遷、ホ) 穿刺不可能例の%、ヘ) 診断結果の分類、ト) 外妊検査の確率、チ) 生検、リ) 手術の内容、ス) 手術の効果、ル) 妊娠例、その他について述べる。

質問 松田正二(北大・産婦)

・不妊患者の何%ぐらいにクルドスコピーが行なわれていますか。

・ラパロスコピーとの比較、あるいはそれに関する御意見を伺いたい。

答 林 基之(東邦大)

・1年の不妊新患 600名中約 120名で20%位です。腹腔鏡と Culdoscopy を比べると、長短はあるが、世界的な傾向は腹腔鏡の方となっている。視野が広いが本法は手術場でなされるべきで、Culdoscopy は外来でも出来る。

#### B-48 当科内分泌不妊外来における 卵巣機能不全患者の治療成績

○関 光倫・前田英康・奥村淑子  
河崎純忠・岡田俊雄

千葉大学医学部産科婦人科学教室

昭和42年9月より48年9月までの過去6年間に 823名の婦人科内分泌異常者がわれわれの内分泌不妊外来を訪れた。うち排卵誘発を目的とした 727名の治療結果を統計的に検討した。HMG+HCG 療法は80例に107周期の治療を行ない、47例に62周期の排卵を得、19例妊娠した。PMS+HCG 療法は180例に246周期の治療を行ない、99例に107周期の排卵を得、13例妊娠した。また、それぞれ6例と3例の多胎妊娠と各3例の流産をみた。これらの中には HMG+Clomid+HCG および PMS+Clomid+HCG 療法の結果が含まれているが、これらは HMG+HCG または PMS+HCG 療法だけでは排卵しなかつた例に行なつたにもかかわらず、それぞれさらに52.2および38.9%の排卵率を得た。Clomid (C)、Sexovid (S)、epimestrol (E) 療法ではそれぞれ461例に1,223周期の治療を行ない86例の妊娠、218例に562の治療を行ない28例の妊娠および208例に925周期の治療を行ない36例の妊娠を得た。各々14.3および8例流産し、多胎妊娠は C-E 併用療法による2例のみである。C療法の中にはCだけでは排卵しても妊娠しない例や黄体機能不全症に行なつた C-quinestrol 療法や、Cだけでは排卵または妊娠しない例に行なつた C-E 療法が含まれ、それぞれ8および9例の妊娠を得た。CSE 療法を比較した場合、排卵率は CSE の順に、妊娠率は CSE の順に減少する。流産率は S が最も小さく、E が最も大きい。121例に種々なる方法で199周期の合成 LH-RH 投与を行なつたが4例妊娠したのみで、LH-RH は排卵誘発に不適と考えられる。

### B-49 プロスタグランディンのウサギ 黄体退縮作用に関する光顕および電顕的研究

○大島 清・中井康光・松本公一郎  
京都大学霊長類研究所

吉田 浩介  
自治大産科婦人科学教室

HCG で偽妊娠を起こさせた 30 羽の家兔を 6 群に分け、PGF<sub>2α</sub> 250 μg/kg, PGE<sub>2</sub>・CD 500 μg/kg をそれぞれ 1 日 3 回腹腔内投与を 5 日間と 10 日間続けた 4 群の、対照として生理的食塩水 1 ml/kg を投与した 2 群を作った。最終投与の翌日に動物を殺し、子宮重量を測定し、摘出した卵巣は直ちに光顕および電顕用に固定した。

肉眼的には PGF<sub>2α</sub> 投与群に著しい黄体の退縮が認められた。子宮重量の著増は PGE<sub>2</sub> 10 日間投与群にみられた。HE 染色による光顕的観察では PGF<sub>2α</sub> の投与群の黄体の顆粒膜細胞の空胞化を主徴とする退縮が著明で卵胞膜細胞の変化は僅少であつた。PGE<sub>2</sub> 投与群では、F<sub>2α</sub> 群ほどの著変はなく若干の黄体退縮所見を認めるにすぎなかつた。

以上の光顕上の変化を更に電顕 (日立 HU-12) で観察した。試料はグルタル、オスミウムの 2 重固定、アルコール脱水した後エポン 812 で包埋後作製した超薄切片を電子染色 (酢酸ウラニール、鉛の 2 重染色) した。電顕的には、1) 滑面小胞体の膨化、変形、数的減少および脂肪滴との種々な形での密着状態および 2) 脂肪滴の変形、増加が著しい変化で、これは E<sub>2</sub>、F<sub>2α</sub> 投与の両群に認められた。リボソームや粗面小胞体はむしろ減少の傾向を示した。以上の結果から PGE<sub>2</sub>、F<sub>2α</sub> とも黄体のステロイド生成の酵素系を阻害することが推定される。光顕的にはこの傾向は F<sub>2α</sub> に強いことを示している。

**質問** 成田 収 (名大・産婦)  
・黄体および卵巣に入る血管系の変化について観察した成績がありましたら、お教え願いたいと思いますが。

**答** 大島 清 (京大)  
・ovarial blood flow は測定しておりませんのでお答えできません。

・卵巣での Histo chemical な enzyme activity の測定は、morphological な findings を確かめるために非常に重要な手段だの思います。

・Morphological な観察だけで luteolysis を論ずることはもちろん危険である。加えて血中ホルモン測定や京大岡村氏から御指摘のありました酵素活性の測定および下垂体、視床下部の形態的、機能的変化を同時に追及す

ることが望ましい。サルでは最近、プロスタグランディンの少量投与で Aropin, 大量で lytic という報告もある。

**追加発言** 岡村 均 (京大・婦)  
・PG F<sub>2α</sub> で処置した妊娠ラット黄体でも電顕的に luteolysis が観察されている (Okamura et al.)。この際黄体中の脂肪滴を extract して検討すると、その内容は主として cholesterol ester および triglycerides であり Behrman らのいう PG F<sub>2α</sub> の cholesterol esterase 活性阻害を意味しているものと考えられる。黄体中の 3β-hydroxysteroid dehydrogenase および 20α-hydroxysteroid dehydrogenase 活性を測定してみると 3β-HSD は PG F<sub>2α</sub> による顕著な SER の減少にもかかわらずその活性は変化していないが、20α-HSD は PG F<sub>2α</sub> 投与により顕著に上昇している。したがって、ラットで PG F<sub>2α</sub> は cholesterol esterase 活性阻害、20α-HSD 活性化という点で luteolysis を行なっているものと考えられる。このような現象が他種実験動物や human で観察されるかどうか今後の検討がまたれる。

**質問** 石塚 直隆 (名大)  
・形態的に黄体を調節しているという実験を他にプロスタグランディン以外に経験されているか。

**答** 大島 清 (京大)  
・この実験には血中 Progesterin の逐分的変動, ovarial blood flow, 光顕的手技を同時に採用している。

### B-50 不妊、不育症における子宮内膜症

○安藤勝也・平田 修・小池皓式  
八神喜昭

名古屋市立大学医学部産科婦人科学教室

今回当科において昭和43年1月より昭和48年8月までの開腹手術例 149例中、病理組織学的に性器における子宮内膜症を認めたものは、158例ありそのうち一次性不妊症16例、一度流産を経験しその後不妊であつたものを 2 次性不妊症とすれば12例、習慣性流産10例であつた。1 次性不妊症において外性子宮内膜症のみの例は 62.5%、内性のみの例は25%、内性と外性の合併例は12.5%であり、外性子宮内膜症としては75%であつた。そのうち endometrial cyst は91.6%を占めていた。2 次性不妊症において外性子宮内膜症のみの例は33.3%、内性のみの例は50%、内性と外性の合併例は16.7%であつた。外性子宮内膜症のうち endometrial cyst は83.3%を占めていた。以上のことより不妊因子として内性や外性の子宮内膜症が考えられ、特に 1 次性不妊症においては endometrial cyst が強く関与しているように考えられ

た。次に習慣性流産において内性子宮内膜症のみの例は 90%、外性子宮内膜症の例は 10% であった。流産歴については妊娠 3～6 カ月の間がほとんどであった。以上のことより習慣性流産に対する子宮壁因子として内性子宮内膜症が重要な一因子であると示唆される結果を得た。われわれは不妊、不育症における子宮内膜症の重要性を認め、今後とも子宮内膜症の診断、治療をおしすすめていきたいと考えている。

### B-51 不妊と子宮内膜症

○後藤清二・万羽 進・伊藤銈一  
安達武士・有井吉太郎・成田 収  
中西 勉・川島 喜良・石塚直隆  
名古屋大学医学部産科婦人科学教室

1. 子宮内膜症と不妊との関連を知るために、昭和 39 年より昭和 48 年春までに不妊を訴えて来院し当科で手術を受けた手術時 36 歳以下、術後 6 カ月以上 follow up ができ、不妊の男性因子の明らかな者 45 例のうち、保存手術が施行された 29 例について検討した。

2. 月経周期は 1 例を除いて規則正しく、基礎体温は 2 相性を呈し、全例が分娩を経験していなかった。卵巣子宮内膜症は 29 例中 27 例に見られた。術後の Gestagens を主体とするホルモン療法が 27 例に行なわれ、その投与期間の長短は術後の妊娠の有無を左右せず、大部分 1 年以内であった。ホルモン療法終了から妊娠に至る最終月経までの期間は平均約 1 年であった。

3. ダグラス窩が閉鎖した子宮内膜症の進んだ者も多数妊娠に至ったので、かかる場合保存手術が適応と考えられる。卵巣子宮内膜症と不妊との関連を示唆されるが、この場合排卵障害ではなく卵管因子の関与が考えられる。保存手術療法により 29 例中 13 例 (内 1 例流産) 約 40% に妊娠の成立を見たので、不妊の大きな因子が子宮内膜症と考えられる者に保存手術療法が有力な手段である。術後、自覚的所見の消失までホルモン療法が行なわれることが適当である。不妊を訴える婦人に子宮内膜症を絶えず念頭において診察する必要がある。

質問 安藤 勝也 (名市大・産婦)

・内膜症に対するホルモン療法の打ちきる時期決定。  
・ホルモン療法によって内膜症が完全に消失した例の有無について。

答

・内膜症のホルモン療期は出来るだけ長期間にわたる必要がある。その間に副作用の check が routine に必要である。  
・ホルモン療法により腫瘍は縮小し、時にほとんど消失

する症例は少なくない。

質問 杉本 修 (京大)

・初期エンドメトリオージスの診断は非常にむずかしく、ラパロスコピーによつてわれわれは normal infertility の症例などで発見する機会が多い。50, 51 番の先生方にこの初期診断をどのようにやっておられるかお聞かせ願いたい。

・frozen pelvis のように骨盤閉塞の著しい例に対する腹膜癒着の修復に何か工夫を施しておられるならばお教え願いたい。

答 石塚直隆 (名大・産婦)

・内膜症の初期の診断には peritoneoscopy を使用し直接的にその部位を直視出来ることが望ましいと考える。しかし熟練と関心を深めることにより双合診でも初期診断は可能である。

・腹膜の修復は可及的に行なうことは必要であろう。当然術後の癒着は起こり得るが、これには内膜症組織が残存するか否かにも関係する術後のホルモン療法の意義もここにある。

質問 柴田直秀 (東邦大)

・私共はクルドスコープでエンドメトリオージスをしばしば発見し、焼灼治療を行なっています。しかし 100% 完全に焼灼し尽せない時があります。私は別ですが以前尖形コンジロームの頑固な 1 例に物理的操作で 70% 位を結紮除去しましたら、残りが急速に快癒してしまつたので、人間の自然の回復力に非常に感動したことがあります。エンドメトリオージスでも大半を処理すれば、残りは自然に消失快癒するといったようなことはないでしょうか。

答 石塚直隆 (名大)

・内膜症の増殖、消退はホルモン環境の支配下に主としてあると考える。成熟期においては自然退縮は困難であろうが、更年期あるいはそれ以後の場合には自然に消失することも期待出来る。内膜症組織が術後に遺残したもものには、ホルモン療法が役立つものと考えられる。

### B-52 不妊症患者の CMI (Cornell Medical Index), 特に妊娠前後におけるその変動について

○植村次雄・高口二郎・塩島令儀  
横浜市立大学医学部産科婦人科学教室  
鈴木直行  
横浜市立市民病院産婦人科

<研究目的> 不妊症患者の CMI について調べ、更に、妊娠に成功した患者の妊娠前後における CMI の変動およびその分娩後の変化を検討して、不妊症患者の精

神身体医学的考察を試みた。

<研究方法>不妊期間1年以上の不妊症患者 402名について、CMI を施行し、更に、妊娠成功後 CMI を行なった67名のうち、妊娠悪阻のない43名について、妊娠前後の CMI の変動を、23名については産後の CMI も併せて検討した。対照として、妊娠悪阻のない妊婦を選んだ。

<成績>CMI のⅢⅣ領域の割合は対照群で11.0%であるのに対し、不妊群で23.3%と有意に高率であった。これを不妊原因別でみると、男性不妊においても、24.6%と不妊群全体とほぼ同率の割合を示した。また、CMI の領域別の妊娠率についてみると、いずれの領域も21.3%~26.1%と差が認められなかった。妊娠成功例の妊娠前後における CMI の変動についてみると、ⅢⅣ領域の割合は妊娠前27.3%で、妊娠後には15.9%と低下し、その中でも妊娠前Ⅳ領域であった12例では7例(58.3%)に改善がみられた。これを各区分別にみると、すべての区分において、反応数の減少がみられた。なお、産後も追求しえた妊娠前ⅢⅣ領域の5例のうち、産後再び悪化したのは1例にすぎなかった。

<まとめ>不妊症患者の CMI を追求し、不妊という事実が不妊症患者に精神的身体的影響を及ぼしていることを明らかにした。

質問 岩淵庄之助(川崎市立・心療産婦)

・Psychosomatic の問題の解決によく心理テストが用いられますが、これはあくまでも補助的なもので、その結果をうのみにすることは危険なことと思います。私共も心理テストを用いておりますが、あくまでも傾向化の輪郭を知るためですので必ず面接が必要だと思います。今回妊娠前後にテストを用いておりますが、「馴れ」の現象をどのように解決しているか、この評価にどのような配慮があるのかを伺いたいのです。

答 植村次雄(横浜市大)

・各種心理テストを組合わせて行なうのがよいのは当然であるが、一人一人の患者に対してすべて行なうのは困難であつて、今回は比較的簡便な CMI を用いて、不妊症患者全体の傾向を把握した。

質問 馬島季磨(日大・産婦)

・演者は不妊患者に CMI 深町式判定でⅢ、Ⅳ型が多いのは、不妊がストレスとなつたためであると述べているが、もともと神経症傾向があるために不妊になつたことも考えられる。すなわち不妊と CMI Ⅲ型、Ⅳ型はどちらが原因であるか、結果であるかは CMI のみでは判定困難であると思う。そこで CMI のみでなく、その他の性格テストを併用してみる必要がある。なお私は不妊期間との相関を調べることも原因、結果の判定に有効であ

ると考えている。

答

植村次雄(横浜市大)

・男性不妊の不妊婦人でも神経症傾向の認められること、CMI の領域別で妊娠成功率に差が認められたこと、妊娠後 CMI の改善が約50%に認められることなどから、CMI を指標にしてみたかぎりでは、不妊症であることが不妊症患者を神経症傾向にしていると考えられた。

#### B-53 不妊症の心身学的研究(妊娠した散発性無排卵の一症例)

岩淵庄之助・○長田 宏・坂倉啓一

川崎市立病院心療産婦人科

落合 寛・明石敏男

東京都済生会中央病院産婦人科

一般に不妊症診療にあつては、近代のめざましい進歩により、身体的にはホルモン分析などをはじめとして様々な方法が検査に治療に活躍しているし、その報告も多い。しかしながら身体的に次々と治療を加えても妊娠しない場合、ことに夫婦共にさしたる欠陥のみられぬとき治療者自身焦燥をおぼえることも事実であろう。また無排卵の症例にはまだ身体的治療のみにとられる傾向のあることは否定出来ない。今回われわれは無排卵の一症例に接し身体的な検索、治療を続けても効果が上らず、その経過中に多分に心理的葛藤のあることに気付く、以後心療産婦人科で治療を行なうことにした。患者は現在27歳で初診は1971年4月で、それまで散発性無排卵周期症であつたものが初診時には BBT 低温期長期持続の無排卵症になつていた。各種の身体的治療の後、心療産婦人科で心理療法を開始した。心理テストでは CMI Ⅲ型で神経症的傾向、Y-G 性格検査では E' 型で情緒不安定、内向的傾向がみられた。同時に下腹痛、Irritable Colon を始めとする不定愁訴も訴えていた。長時間にわたる面接法を主軸として、腹式呼吸、読書療法、自律訓練、黙想法、自己分析法、Jacobson の Relaxation、催眠法などの心理療法を行ない、患者の Relaxation を計つたところ、BBT は二相性になり、排卵するようになり、遂に妊娠することが出来た。現在妊娠経過は順調である。以上の結果に、力動的考察を加え報告した。

## B-54 不妊化効果の相異なる発現について

○小川 誠一

大阪府鐘紡 KK 薬品研究所

唐沢 陽介

東京都三楽病院産婦人科

新生仔雌ラットに C-19 Steroid 類を投与して、成熟後に永久不妊ラットを形成する Androgen の生物効果は必ずしも男性作用力価と比例しない。また、脂肪酸-ester は作用を増強するが硫酸抱合体は全く効果をもたらさない。これは新生仔には esterase はあるが sulfatase はないことに大きく関連する。水解酵素の有無が効果発現の相異につながる。Testosterone (1 iu=15 $\mu$ g) の free ものより propionate がより強い効果を示し enauthate はさらに強い効果を示すが sulfate は効果を現わさない。また、男性作用力価の最も弱い 5-Androstenediol (1 iu=500 $\mu$ g) が Testosterone よりも強い効果を示した。さらに 5-A-diol-3-enuathate ではより強い効果を示し卵巣重量は著しく軽くなり組織像は極めて著しく変化した。T-propionate, T-enuathate が下垂体、副腎、体重に有意の重量増加を示したのに対して 5-A-diol-3-enuathate は下垂体のみが有意に重くなり副腎は正常と差はなかつた。これは Testosterone の ester とは異なる所見で特異的である。5-A-dioldisulfate Na salt 投与では、卵巣重量はむしろ重くなり対照例より卵巣組織像は繁栄像を示し多数の黄体にとみ、性周期も失われず全く不妊化効果はなかつた。男性作用力価の最も弱い 5-A-diol (1 iu=500 $\mu$ g) の 3 $\beta$ -17 $\beta$  が最も強い効果を示したのは水解酵素の存否と関連して 5-A-diol には 3 $\beta$ -OH, 17 $\beta$ -OH が存在するのでこの水酸基が効果発現の生化学的因子と考えられる。

質問

塩島 令儀 (横浜市大)

・中枢不妊の問題の一つとして、男性ホルモン投与による性周期の消滅の問題がある。水酸基の数が問題となると云われるが、estradiol-triol の如きものの作用はどうか。

答

小川 誠一 (鐘紡・薬品研)

・新生仔への効果発現には、新生仔の場合 sulfatase が不在のために、不活性の sulfate としてとどまるために効果が現われませんが、そうした場合水解酵素の-3 $\beta$ , -17 $\beta$ -OH が関係しているものと推察され Estrogen の estradiol でもおそらく 17 $\beta$ -OH, C<sub>3</sub>-OH がありますので、5-A-diol と同様な効果を示すものと考えてよいと存じます。

## B-55 受精における線溶現象の意義

浜野 壺

東京医科大学産科婦人科学教室

研究目的 受精に際し精子の遭遇する重要な場所は頸管粘液であり、精子の穿通作用に線溶現象が関係あるものと推測されるにすぎなかつた。頸管粘液の分泌源である粘膜の Fibrin 溶解の局在診断法として Fibrin Film 法を行ない分泌細胞を認め、また Miller-kurzrok test における陽性例、陰性例について Trazyrol 平板にて Inhibitor の存在について比較検討し、精漿については Euglobulin を作製し線溶系各因子について比較検討しその意義について考察した。

研究方法 不妊外来を訪れた患者を対象とし、Miller-kurzrok test を行ない、陰性例、陽性例について Inhibitor の存在を比較検討し、Trzyrol 濃度の最適量を定めた。頸管粘膜の採取は性周期のある術後の粘膜を使用した。

研究成績 頸管粘液は頸管粘膜の分泌細胞より分泌され、Fibrin Film 法により分泌細胞の線溶活性が認められた。精漿には plasminogen-activator, proactivator, Inhibitor, 微量の plasminogen-plasmin, anti-plasmin の存在が認められ、それらの各因子は精子数、精子運動率と平行関係にあるものと考えられる。Miller-kurzrok test 陰性例において、Trazyrol 平板上に溶解が認められ、陽性例には認められなかつた。すなわち陰性例においては精液に対する頸管粘液の Inhibitor の存在が証明され、Fibrin 平板における受精の線溶現象は、精液よりも頸管粘液が重要な因子を占めているものと推測せられる。

# 日本不妊学会東北支部総会

期 日 昭和48年7月7日(土) P.M. 1:00-5:00  
場 所 東北大学医学部臨床研究棟3階会議室

## シンポジウム “Intersex”

### 1. 病例

#### a. 先天性副腎性器症候群症例

一条 貞敏, 伊達 智徳, 今村 巖  
平井 庸夫

(福島医科大学泌尿器科学教室)

症例1 4歳女子, 主訴外陰部異常, 生下時より性別に疑問をもたれてきたが, 最近陰核が異常に肥大してきた。入院時, 血圧130~60mmHg, 体格10~11歳並み, 皮膚は浅黒く, 性格が荒い。外陰部は陰毛を多少伴い, 陰核が異常に発達。血清電解質に異常ないも尿中17KS値が異常に高値。Dexamethasone 抑制試験, 陽性。血清 Progesterone 増加。11-deoxycortisol が軽度上昇しており, 11- $\beta$ -hydroxylase 障害の加味した21-hydroxylase 障害と診断。陰核切除, 膣口形成の上, 酢酸コーチゾン投与, 経過観察中。

症例2 5歳男子, 主訴陰茎肥大, 前例の従兄の子, 2~3年前より気が荒くなり陰茎が肥大してきた。入院時, 体格10歳並み, 血圧170~90mmHg。陰茎は成人大, 亀頭露出, 陰毛あり。尿中17KS 値異常高値, Dexamethasone で抑制される。酢酸コーチゾンで症状改善。

症例3 5歳女子, 診断21-hydroxylase 障害による副腎性器症候群(詳細は省略)。

#### b. 先天性副腎性器症候群症例

福島 峰子

(秋田大学医学部産科婦人科学教室)

外性器異常と原発無月経を主訴として来院した19歳の患者に種々内分泌学的検討を行なつたところ, 先天性副腎性器症候群であることがわかった。すなわちそのものに対し in situ における ACTH, FSH, LH 等下垂体 hormone 値および末梢各 steroid 値の測定の外に FSH, LH 刺激試験, insuline 負荷後各 level の変動, ACTH 負荷後17KS の変動, dexamethasone 投与後の17KS の変動を検討し, testosterone 系, estrogen 系,

および glucocorticoid 系について gas-chromatography 分析を行ない興味ある結果を得た。酵素系異常は21- $\beta$ -hydroxylase 欠乏が考えられたが, 血中11-OHCS は正常範囲, 尿中17OHCS はむしろ増加しており, 一見矛盾している。これらの事実につき考按する。

### 2. Intersex における副腎および性腺ホルモンの測定成績

古島 浩, 工藤 茂宣, 中野けい子

(弘前大学医学部泌尿器科学教室)

インターセックスにおける内分泌環境を検討するため, われわれはインターセックス8例の, 17OHCS とその分画, 17KS およびその分画, プレグナンジオール, プレグナントリオールを測定し, HCG 負荷, ACTH 負荷, メトピロンテスト等も加えた。症例は女性仮性半陰陽, 睾丸性化症2例, 混合型性腺不全, 真性半陰陽2例, クラインフェルター症候群2例であるが, 測定結果ではすべての例において, それぞれ異常反応が認められた。中でもクラインフェルターの1例における ACTH に対する副腎皮質の高反応, 他の1例における下垂体性ゴナドトロピンが高値にもかかわらず HCG 負荷で副腎, 性腺が更に著明な反応を示したこと, 真性半陰陽で性腺摘除後の HCG 負荷で KS 分画に増加反応がみられたこと等興味の存する結果が多々得られた。

### 3. 真性半陰陽および男性半陰陽について

白井 将文

(東北大学医学部泌尿器科学教室)

真性半陰陽ならびに男性半陰陽の症例を説明すると共にその発生原因についてのいくつかの仮説について述べると共にこれら症例, 特に外性器よりどちらの性とも判断しがたい症例に対する治療方針をどうするか, また治療の開始の年齢, 手術の可能性等について検討を加えた。

## 4. “Intersex の分類と症状”

中 村 徹

(東北大学医学部産科婦人科学教室)

胎生 8～9 週頃の性腺原基は睾丸または卵巣のいずれにも分化しうる両性能を有し、男性では性腺原基の髄質が発達して睾丸となり、皮質はそのまま退化する。一方女性においては皮質が発達して卵巣を形成し、それに伴って髄質が退化する。そしてこの一方の要素の分化発達を促す因子が性染色体上の遺伝子にあり、そして恐らく Y 染色体が睾丸発生に重要な役割を果たし、また正常の卵巣の分化のためには Y 染色体がなく、しかも 2 個の X 染色体が存在が必要であろうと考えられた。ところがこの正常な性分化の完成が妨げられ、何らかの形態的、ならびに機能的な異常を呈する場合、われわれはそれを性分化異常と呼ぶ。

Harmaton は性腺分化の機構について、genetic origin ではなく somatic origin であると述べ、X 染色体の cortical stimulating gene, medullary stimulating gene, Y 染色体上の controlling center, 常染色体の遺伝子を想定することにより性分化異常を説明した。

## 一般演題

## 1. マウス卵巣の器官培養 (第 1 報)

五十嵐 彰, 鈴木 雅洲

(東北大学医学部産科婦人科学教室)

近年、アメリカのローズによつて開発され、わが国に紹介されたローズの環流式培養装置は、臓器・組織を非常に良好な状態で培養出来る上に、in vitro において臓器・組織の機能面の追求と同時に、その臓器・組織の中で起こりつつある形態的变化を細胞レベルで、生きているままの状態を観察することを可能ならしめた画期的な装置でありまして、わが国において最近急速に普及しつつある装置であります。

今回私は、産婦人科内分泌学の中心的テーマである間脳-下垂体-卵巣系の内分泌学的諸問題を in vitro で追求する方法の一環として、本装置を用いてマウス卵巣の器官培養を試み、いささかの知見を得たので報告する。

## 2. ラットの妊娠経過と下垂体ホルモンの変動

斉藤 昌治, 笹森 源弘, 小泉 保子

高橋 克幸, 平野 睦男, 鈴木 雅洲

(東北大学医学部産科婦人科学教室)

目的：妊娠経過における下垂体ホルモンの動態を知る上で一つの指標にすべく、ラットの妊娠および産褥における血清中、下垂体前葉中の LH, FSH, PL を RIA で測定し、その変動を観察してみた。

方法：wistar 系成熟ラットを交配させ、その妊娠、産褥の各日にあつたラットを断頭し、血清および下垂体前葉を採取して実験に供した。測定は NIAMD より提供された標準品を  $I^{131}$  で標識し、2 抗体法 RIA で行なつた。

結果：血清中の LH は、妊娠初期、後期および産褥期では高値を示したが、中期では低値を示した。下垂体前葉中のそれは、中期にやや高値であつたが、他の時期では比較的的低値であつた。FSH は、血清中、下垂体前葉中ともに LH の変動とほぼ類似したパターンを示したが、LH ほど著明な変動は示さなかつた。PL は血清中、下垂体前葉中ともに、妊娠初期にやや高く、中期は低値で、後期、産褥期にかけて急速に増加する傾向を示した。

## 3. 合成 LH-RH のラット下垂体注入による血清 LH および FSH の変動

笹森 源弘, 斉藤 昌治, 小泉 保子

若井 貞子, 平野 睦男, 高橋 克幸

鈴木 雅洲

(東北大学医学部産科婦人科学教室)

ラットは去勢後、エストロゲン、プロゲステロンで前処置された。実験により次のことが認められた。①合成 LH-RH は下垂体前葉注入により明らかに反応を示し、下垂体に作用することを確認した。②合成 LH-RH は LH 放出に比し、FSH 放出作用が弱く、下垂体へ 20ng 注入時、Contral に比し、LH 値は約 10 倍、FSH 値は約 1.9 倍であつた。③LH, FSH 放出の時間的推移をみると、LH は 10 分～15 分、FSH は 5 分～10 分にピークをつくつた。④実験中、酸素投与すると投与しない群より、LH 値は 30% 上昇した。⑤合成 LH-RH の下垂体注入前にエストロゲンを下垂体に注入すると LH, FSH 値とも減少を示した。⑥正中隆起への合成 LH-RH 注入では、LH, FSH 値とも著明な変化を示さなかつた。

#### 4. 男性不妊症の LH-RH テスト

白井 将文

(東北大学医学部泌尿器科学教室)

当科不妊外来を訪れた15例の不妊症患者(内6例は無精子症, 8例は乏精子症, 1例は精子数は正常であるが運動率の悪い症例)に対し LH-RH を0.1mg 筋注した後10分, 20分, 30分, 60分, 90分に採血して血漿 LH, FSH ならびに testosterone を radioimmunoassay 法で測定した。その結果無精子症群で下垂体の LH-RH に対する反応の遅延がみられたが, 乏精子症群では全く正常であることがわかった。一方 testosterone は LH-RH 負荷によっても増加は著明ではなく, 従つて男子不妊症の障害の主体は睾丸そのものにあることが判明した。以上の如く LH-RH テストは下垂体, 性腺系の機能を同時にしかも短時間に測定出来る点で, 従来の HCG テスト, あるいは最近行なわれている rapid HCG テストなどより数等すぐれた検査法といえる。

#### 5. リプロダクションにおけるプロスタグランジンの意義について

河合 義雄, 小見 克夫, 川端 徳衛  
国本 恵吉

(岩手医科大学医学部産科婦人科学教室)

最近のプロスタグランジン(以下 PG)に関する研究の進歩は, 妊孕現象に関する PG の意義の重要性を次第に明らかにしてきている。とくに定量法に関する研究の進歩により, 生体内における PG の動態の追跡も可能となり生体内における PG の生理的意義が次第に明らかにされつつある。Reproduction における PG の意義は, 男性においては精液中 PG の局所血管拡張作用, 副性器平滑筋収縮作用, 精子輸送および精子代謝に対する作用, 女性においては黄体退縮作用に関連して月経発来機序に関する作用, 排卵現象に関する作用あるいは卵巣内ステロイド代謝に関する影響などが報告されている。

われわれは生体試料中の PG 濃度を RIA 法により測定し, その成績についてはすでに報告しているが, その結果 Reproduction に関する PG の意義は PGF 系と PGE 系の濃度化がその生理作用の発現に大きな意義を有することを示唆する成績を得た。今後さらに追求し, その意義を明らかにしたい。

#### 6. 脊損患者における性機能

木村 行雄

(東北大学医学部泌尿器科学教室)

私共は福島労災病院に入院中の脊損患者57例につき, その勃起, および射精の有無について調べ, さらに亀頭部を振動により刺激して勃起および射精の有無を厳密に調べた。

勃起の維持率は60%であつたが, 下部の脊損患者ほど維持される率が低かつた。また完全脊髄損傷例と不完全脊髄損傷例では完全脊髄損傷例で勃起維持率は低かつた。勃起が起こるのは局所の刺激によるものが最も多く, 下肢の痙攣, 精神的興奮, 膀胱充滿時, 排尿時などであつた。受傷より勃起回復までの期間は下部脊髄損傷例ほど長期間を要した。

射精の維持されていたものは10%であつた。腰髄, 仙髄損傷の患者で射精が維持されていた患者はみられなかつた。

振動による刺激を亀頭に加えた場合, 自然勃起の症例に加え受傷後自然勃起のなかつた症例3例にも勃起を起こすことが出来た。

#### 特別講演

##### 1. 牛の分娩後の性機能について

太田 実(東北大学農学部)

肉牛生産や酪農において経営を安定させるためには望む時期に牛に分娩させ, しかも出来るだけ分娩間隔を短縮することが重要な課題となつている。経営的には分娩間隔を12カ月にすることが理想とされているが農村における実態はこの範囲に入る牛は約50%にすぎない。牛の在胎日数は280日であるから分娩85日以内に受胎すれば先に述べた1年1産が可能となるがこの時期の牛の性機能は極めて変異が大きい。すなわち分娩後の最初の排卵は分娩後14日から85日の間に起こり早い牛と遅い牛では発情周期で3回の差がある。また第1回の排卵または発情では無発情排卵が41%, 卵胞閉鎖あるいは黄体形成不全が23%と発情排卵の異常が多い。これらの異常牛は次回発情では正常化するものが多い。子宮の大きさは分娩後2週間までに分娩時の約 $\frac{1}{2}$ に収復し, その後漸次大きさを減じ6週でほぼ収復を終る。子宮収復に要する日数と初回発情または排卵までの日数との間に有意の相関が認められる。

## 2. 兎とラットの LH 放出に関する諸問題

兼 松 重 任(岩手大学農学部)

ラットの正常な LH 放出は1,500から2,000の間に起こるが, nicotine tartrate を1,200, 1,400, 1,600に与えた場合, LH の放出は1,800以降に遅れ, しかもその量は抑制される。またニコチンを1,400—2,000間に30分毎に与えると  $\frac{5}{7}$  の排卵を抑制し, 排卵しなかつたものは翌日に排卵した。progesterone を発情前期の朝に与えると LH の放出が早まるが, ニコチンを与えると, この放出促進が起こらなかつた。ラットの脳を微小刀で

切り, 偽妊娠反応を観察した。脱落膜腫形成反応が最も起こりやすいのは脳弓, 内側皮質視床下部路を前交連の部位あるいはその下で切つた時であつた。諸種の刺激を行ない兎の LH 放出パターンを比較した。扁桃核の電気刺激の場合には2時間後にピークに達し, 4時間後に低下する。norepinephrine の第3脳室内注入では放出は遅れるが, 電気刺激と同じパターンを示した。交尾の場合には, 30分と2時間にピークがあり, LH-RH を与えた時には30分のみピークがあつたが, これは交尾の第一ピークに相当する。

## 第66回日本不妊学会関西支部集談会

日 時 昭和 48 年 9 月 22 日 (土) 午後 2 時より  
場 所 神大病院 第 4 講堂

### 1. 精液中マグネシウム濃度の検討

田中 邦彦, 彦坂 幸治, 末 光 浩  
斉藤 宗吾, 石神 襄次

(神大泌尿器科)

演者らは神戸大学泌尿器科不妊外来患者を対象に精漿中のマグネシウム濃度を測定し、精子数により、正常、乏精子症軽症、同中等症、同重症、無精子症の 5 群に分け、比較検討した。精液採取は、5 日間の禁欲の後、用手法にて行ない、原子吸光を用いて測定を行なった。実験結果) 症例大部分の濃度は 80~160mcg/ml にあり、正常者、無精子症例では 80mcg/ml 以下の低マグネシウム例は少ないのに比し、乏精子症例では低マグネシウム例の増加がみられた。この低マグネシウム例は、精子数減少と共に減少し正常者の濃度分布に近づいた。これらことから低マグネシウムを来たす何らかの疾患が前立腺に存在すると考え、現在検討中である。

質問 友 吉 唯 夫(京大泌尿器科)

精液中のマグネシウムの起源についてどうお考えか。また血漿中の諸物質の濃度はホメオスターシスできわめてせまい範囲にあるが、精液のような外分泌液中の物質濃度は諸種の条件で大幅に変化することが考えられるので、それをあまり厳密に解釈しない方がよいのではないか。

答 斉 藤 宗 吾(神大泌尿器科)

精液中マグネシウムは前立腺より分泌されることが、split ejaculation technique で確かめられている。ご指摘のように精液中のマグネシウムはかなり幅広い range を示すが、著しく低値を示すものは、前立腺分泌機能の低下を示唆すると考える。

### 2. 精液中亜鉛濃度の検討

末 光 浩, 彦坂 幸治, 田中 邦彦  
斉藤 宗吾, 石神 襄次

(神大泌尿器科)

演者らは、神戸大学泌尿器科不妊外来患者を対象に精

漿中の亜鉛濃度を測定し、精子数により系統的に分類し、比較検討した。精液の採取は 5 日間の禁欲の後、用手法にて行ない原子吸光を用いて亜鉛濃度を測定した。実験結果) 症例大部分のものは 80~160 mcg/ml の濃度を有したが、正常者では 80mcg 以下の低亜鉛例は少なく、乏精子症では低亜鉛例が多く特有の分布を示した。これらは精子数の減少度につれ減少し、無精子症ではほぼ正常者に近い分布を示した。これらのことは、亜鉛産生臓器としてまた、精液排出の点からみでの前立腺の機能低下を示唆すると考え、現在検討中である。また教室の田中の報告したマグネシウム濃度と亜鉛濃度とは密接な相関を有した。

質問 演題 1, 2 に対して

高 崎 登(大阪医大泌尿器科)

男性不妊症に対して Zn と Mg はいかなる作用をしていると考えられますか。また Zn と Mg との関係はどのようになっていますか。

答 斉 藤 宗 吾(神大泌尿器科)

不妊症患者の精液中の Zn および Mg を系統的に測定しているが、これらの中には Zn と Mg が低値を示す症例がかなりあり、とくに乏精子症症例と関連がある結果を得ている。副性腺とくに前立腺の機能低下が推定され、その原因について現在検索中である。

Zn と Mg はともに前立腺に由来するもので、この両者の値には精漿中でとくに相関がある。

### 3. 乏精子症に対する薬剤療法の再検討

大西 真尚, 高 崎 登, 宮 崎 重  
(大阪医科大泌尿器科)

われわれは昭和 47 年 8 月から昭和 48 年 7 月までの 1 年間当科不妊外来を訪れた乏精子症患者に対して、ゴナドトロピン、ATP、アルギニンを中心に治療を行なった。

不妊外来患者 94 人中乏精子症患者は 46 人であつたが、そのうち 35 人に対して治療を行なった。乏精子症を分類すると、1 度  $15+10^6 \sim 30+10^6$ : 16 人、2 度  $5+10^6 \sim 15+10^6$ : 8 人、3 度  $5 \times 10^6$  以下: 22 人であつた。精子数増加に効果を認められたもの 35 例中 9 例 (26.7%)、運動率に効果を認めたもの 35 例中 5 例 (14.1%) であつ

たが、そのうち3度ではいずれの治療も効果はなかつた。妊娠に成立したものは2度のゴナドトロピン単独投与群に1例認めた。

乏精子症の程度が高度であるものほど、薬剤の効果はないような傾向を示した。

われわれは1年間という短期間であるが、乏精子症患者に対して治療を行ない、男性不妊治療の困難なことを痛感した。

追加 友吉唯夫(京大泌尿器科)

一般に乏精子症に用いられている投与薬剤が睾丸実質にどの程度移行するかについてはまだ研究はないようだが、blood-testicular barrier のごときものがあり、物質によっては必ずしも睾丸組織に到達していないことも考えられる。しかし、臨床上、精子数や運動率の改善をみることもあるので、いろいろと治療を試みているしだいである。

質問 山口龍二(奈良医大婦人科)

1) 諸種薬剤を投与した場合、それらの睾丸組織内濃度はどうなるのか。

2) 乏精子症の精子個々の精子の受精能力はどうか、また治療により運動性や数の増えた精子の受精能は改善されるのだろうか。

追加 入谷明(京大畜産)

山口先生は「人の人工受精の場合は、かなり少ない数を子宮内注入することによって妊娠の成立をみている」ことを追加されましたが家畜、とくに牛においても人工受精の場合、100倍希釈(1,000万/ml)精液でよく受胎している。しかし乏精子症では、精子数という要因以外に精子の運動性のよくないこと、さらに見かけの運動性以外にも質的に受精能力の劣ることの方がはるかに大きく不妊の要因によっていることが推察される。

#### 4. 卵巣性無排卵症の内分泌学的検討

鷲尾元夫, 仲野良介, 橋場信之  
林要(神大産科婦人科)

ラジオインムノアッセイの出現に伴い、ゴナドトロピンやステロイドの測定方法が改善され、性周期に関する多くの知識の集積が意欲的に続けられ、かつ、HMG や Luteinizing hormone releasing factor (LRF) の登場により、無排卵症の追究はより一層の進展がみられたといつても過言ではありません。

今回、われわれは下垂体機能検査として LRF test を、卵巣機能検査として HMG-HCG test を実施し、卵巣生検を行ない、無月経患者を視床下部性、下垂体性、卵巣性の3群に分けた。

その結果、卵巣性無月経、特に atrophic や streak type の卵巣を有する婦人では、in situ のゴナドトロピンは高値で、かつ HMG-HCG test 無反応であるが、LRF test は反応良好であった。なお、卵巣性無排卵と考えられる婦人の卵巣で、少ないながら卵胞要素が存在する症例はより詳細な追究が必要であることを指摘した。

追加 仲野良介(神大産科婦人科)

Male hypogonadism において、HPLH や HCG の負荷試験を行なつて血中テストステロンの反応を調べると、反応型、無反応型の間に種々の移行形が認められる。

#### 5. Actinomycin D 投与とラット子宮内膜のいわゆる attachment reaction

林要, 李文遠, 松岡謙二  
東条伸平(神大産科婦人科)

胚着床に関与する内膜のいわゆる attachment reaction は内膜の estrogen 依存性現象であると一般に容認されているが、われわれは今回、去勢プロゲステロン投与方法による遅延着床ラットに actinomycin D を前投与し、estradiol 投与後に生ずる内膜反応の変化について電顕的に比較検討した。その結果、内膜表面上皮の微細構造に関しては、estradiol 投与4時間後では、actinomycin D 投与例においては apical vesicle の減少、ゴルジ装置の縮小などの所見がみられたが、6時間後にはこれら小器官は再び増加、拡大傾向を示していた。

他方、対向する内膜表面上皮の接近現象、さらに間質細胞間の接近像に関しては、48時間後では、正常妊娠着床時や actinomycin D 非投与ラットと同様に、接近現象が観察された。以上のわれわれの成績は、i) actinomycin D の阻害作用は一過性であり、また ii) actinomycin D 投与により阻害されにくい estrogen の生物学的作用の存在を示唆するものと思われる。

質問 李文遠(神大婦人科)

“ガラスに implant する”ということは、ガラス板を動かしてみて、卵が動かないということですか。

#### 6. 妊娠期間中のラット卵巣からのプロゲステン分泌について

中村行雄, 沢田勉, 森岡宏至  
市川茂孝(阪府大農)

われわれはラット卵巣静脈血漿中から6種のステロイドを分離同定した。それらは20-Keto-progestin (Proge

sterone, Allopregnanedione, Allopregnanolon) と 20 $\alpha$ -hydroxy-progestius (20 $\alpha$ -dihydroprogesterone, 20 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-3-one, Allopregnanediol) の 6 種である。本実験はこの Progestin の妊娠期間中における分泌量の変動, ならびに LH に対する妊娠ラット卵巣のステロイド分泌反応を調べた。Progesterone は妊娠 3~5 日と 13~15 日に分泌ピークを示した。Progesterone を除いた他の 5 種の Progestius は妊娠期間中低値を示した。20 $\alpha$ -dihydroprogesterone のみは分娩直後急激な分泌増加を示した。2  $\mu$ g LH 投与群では、妊娠期間中を通じて 20-keto-progestius が分泌増加した。また 20 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-3-one も妊娠前半期には増加した。これらの結果を黄体の活性化および退化の過程における Progesterone の代謝と結びつけて考察した。

#### 7. ラット受精卵の家兎生殖器官内への移植に伴う免疫反応について, I. 特に体外培養法, 移植法ならびにオクテロニー法による検討

角田 幸生, 榎野 庸子, 入谷 明  
西川 義正(京大畜産)

目的: 演者らはこれまでラット授精卵の家兎生殖器官内における生存性は、移植液, 家兎の性周期, 移植部位ならびに移植卵齢等により相異なることを報告した。またラットの 8 細胞以降の卵を家兎子宮に移植した場合、子宮と loose な接触をするまでは発育するが子宮膨潤を生ずるまでは発育しないことも報告した。本実験ではこの原因を明らかにするため免疫学的側面より検討を行なった。

方法: 偽妊娠家兎の片側子宮へ家兎卵を、残り片側子宮へラット卵を移植し、移植後 10 日目 (Day 16) に着床検査を行なった。次にラット卵を移植した家兎血清でラット受精卵の体外培養を行ない、培養卵の移植を行な

つた。またこれらの血清とラットの卵巣, 子宮, 胎児, 肝臓および腎臓間でオクテロニー法によりゲル内沈降反応を行なった。

結果: ①着床した家兎卵はすべて分娩までは到らなかった。②培養結果および移植結果とも対照区 (無処置家兎血清区) に比べ明らかに劣っていた。③オクテロニー法の結果 2~3 本の沈降線が明らかにみられた。

#### 8. 精管切断術とその復元術に対する私見

原 信 二(原泌尿器科)

昭和 47 年 4 月より 48 年 2 月まで原泌尿器科にて精管切断術 142 例, 精路復元術 6 例を施行した。この経験をもとにして私見を述べたい。

1. 精管切断術後に起こってくる合併症として 4 例の術後感染症と 2 例の副辜丸腫脹を経験した。4 例の術後感染症例は精査の結果 2 例の糖尿と 1 例の白血球減少が認められた。術前糖尿をチェックする必要性を感じた。2 例の副辜丸腫脹は術後 1~2 カ月後に起こってきた。症例は若年者であつたことからあまり若い症例には精管切断術はさけた方がいいのではないかと考える。

2. 精路復元術は瘢痕組織をむやみに取り除くことなくバイパスを作る要領で施行することが成功のコツと考える。

追加 友吉 唯 夫(京大泌尿器科)

1. 精管結紮後に血中抗精子抗体の上昇例が報告されており、これによる辜丸障害あるいは他の自己免疫的疾患が今後の課題であろう。

2. 精管結紮後の精液内精子死滅現象は精子に運動性を与える epididymal fluid の遮断によるものと推察される。

3. 私は精管復元希望例が多くなりつつあるので、精管の部分切除や二重結紮は行なっていない。

お し ら せ

会 員 各 位 殿

(社) 日本不妊学会

理事長 長 谷 川 敏 雄

先日臨時通信総会(会誌19巻1号)にて、昭和48年度決算見込みをお示しするとともに、昭和49年度予算案、会費値上げ案およびそれに伴う定款ならびに施行細則一部変更案をお計りいたしましたところ、各議案とも過半数の御賛同を得ましたので、下記の如く原案通り決定させていただきます。

なお、48年度決算の詳細は次回総会(10月於金沢)にて御報告致しますが、大要は下記の如くで決算見込みより次年度繰越金が533,909円増となりましたので、これに伴ない49年度予算における前年度繰越金(収入)および予備費(支出)を訂正(増額)させていただきましたので御了承下さい。

## I 昭和48年度収支決算書 (自昭和48. 4. 1. 至昭和49. 3.31)

収入の部			支出の部		
(単位円)					
項 目	決 算 額	決算見込額	項 目	決 算 額	決算見込額
賛 助 会 員 会 費	1,300,000	1,050,000	事 業 費	5,087,749	5,397,584
会 費	5,782,335	5,400,000	事 務 費	5,645,157	5,545,516
広 告 料	480,600	425,600	引 当 繰 入 支 出	1,500,000	1,500,000
利 子	826,868	952,620	翌 年 度 繰 越 金	3,083,468	1,990,429
雑 収 入	1,371,945	1,080,183			
購 読 料	136,300	106,800			
前年度よりの繰越金	5,418,326	5,418,326			
合 計	15,316,374	14,433,529	合 計	15,316,374	14,433,529

## II 昭和49年度収支予算(案) (自昭和49. 4. 1. 至昭和50. 3. 31)

収入の部			支出の部		
(単位円)					
項 目	決 算 額	決算見込額	項 目	決 算 額	決算見込額
賛 助 会 員 会 費	900,000	900,000	事 業 費	7,078,000	7,078,000
会 費	7,010,000	7,010,000	事 務 費	5,562,000	5,562,000
広 告 料	600,000	600,000	引 当 繰 入 支 出	300,000	300,000
利 子	1,000,000	1,000,000	予 備 費	1,209,968	676,059
雑 収 入	1,300,000	1,300,000			
購 読 料	256,500	256,500			
前年度よりの繰越金	3,083,468	2,549,559			
合 計	14,149,968	13,616,059	合 計	14,149,968	13,616,059

## III 会費値上げ

昭和49年度より会費を1,500円値上げし年額4,000円とする。なお会員以外の雑誌購読料もこれに準じて1,500円値上げする。

## IV 定款および施行細則一部変更

定款第8条1：正会員年額4,000円(旧・正会員年額2,500円) 施行細則第16条：購読料(年額)4,500円(旧・購読料(年額)3000円)

以 上

## 投稿規定

1. 本誌掲載の論文は、特別の場合を除き、会員のものに限る。
  2. 原稿は、本会の目的に関連のある綜説、原著、論説、臨床報告、内外文献紹介、学会記事、その他で、原則として未発表のものに限る。
  3. 1論文は、原則として印刷6頁（図表を含む）以内とし、超過頁並びに特に費用を要する図表および写真に対しては実費を著者負担とする。
  4. 綜説、原著、論説、臨床報告等には必ず400字以内の和文抄録並びに、ダブルスペース2枚以内の欧文抄録（題名、著者名、所属を含む）を添付すること。
  5. 図表並びに写真は稿末に一括して纏め、符号を記入しかつ本文中に挿入すべき位置を明示すること。
  6. 記述は、和文又は欧文とし、和文は横書き、口語体、平かなを用い、現代かなづかいによる。
  7. 外国の人名、地名等は原語、数字は算用数字とする。学術用語および諸単位は、それぞれの学会所定のものに従い、度量衡はメートル法により、所定の記号を用いる。
  8. 文献は次の形式により、末尾に一括記載する。
    - a. 雑誌の場合  
著者名：題名、誌名、巻数：頁数、年次  
原則として、特に原著の場合は著者名を全員あげる。  
誌名は規定または慣用の略字に従うこと。特に号数を必要とする場合は、巻数と頁数との間に入れて括弧で囲む。すなわち  
著者名：題名、誌名、巻数(号数)：頁数、年次
- 例1. Kilbourne, N. J.: Varicose veins of pregnancy, Amer. J. Obstet, Gynec. 25:104, 1933
2. 足高善雄, 竹村喬, 美並義博: 最近1か年間の我が教室に於ける外来不妊患者の統計的観察, 日不妊誌, 4:13, 1959
  3. 中島精, 中村正六, 角田英昭: 人工妊娠中絶と妊孕性, 日不妊誌, 2(4):38, 1957
    - b. 単行本の場合  
著者名: 題名, 巻数: 頁数, 発行所, 年次
- 例1. Rovinsky, J. J., and Guttmacher, A. F.: Medical, Surgical and Gynecological Complications of Pregnancy, ed 2: p 68, Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1965
9. 原稿の採否, 掲載順位その他編集に関する事項は編集会議で決定する。掲載は、原則として受付順による。
  10. 特別掲載を希望する場合は、受付順序によらず、すみやかに論文を掲載する。この際は掲載に要する実費は全額著者負担としかつ特別掲載料を納付する。
  11. 掲載の原稿に対しては、別冊30部を贈呈する。(但し、特に費用を要した場合は、その一部を著者負担とすることがある)  
それ以上を必要とする場合は、原稿に総別刷部数を朱書すること。30部をこす分についての実費は著者負担とする。
  12. 投稿先および諸費用の送付先は、東京都大田区大森西7丁目5の22  
社団法人 日本不妊学会 事務所宛とする。

### 日本不妊学会雑誌 19巻2号

昭和49年3月25日印刷

昭和49年4月1日発行

編集兼  
発行者 芦原慶子

印刷者 中村清雄  
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3581

振替口座番号 東京 93207