

Japanese Journal of Fertility and Sterility

October 1974

日本不妊学会雑誌

第 19 卷

第 4 号

昭和 49 年 10 月 1 日

— 目 次 —

原 著

不妊患者における血中 LH, FSH, 及び尿中 LH. の推移……………飯田和質・他… 1
Sex steroid の下垂体 gonadotropin 分泌能に及ぼす影響
(合成 LH-RH 投与を中心として)
附: E 剤の前処置による排卵誘発……………三浦清巒・他… 6
合成 LH-RH の反復皮下及び静脈内持続投与による
下垂体—卵巢の反応について……………熊坂高弘・他…13
受精における線維素溶解現象の意義について……………浜野 壹…21
Dalkon shield 208 例の使用経験……………小林 高・他…32
経口避妊薬 SH 1000 の使用経験……………高柳 真・他…36
EFFECTS OF ORAL ADMINISTRATION OF ETHANOL
ON OVULATION AND EMBRYONIC
DEVELOPMENT IN THE RAT……………Yoshinori FUKUDA, 他…46
尿中 LH 測定による LH-RH Test……………中村幸雄・他…53
産褥初発排卵に関する研究……………高 俊 昭…60
昭和 48 年度不妊学会北海道地方部会……………70
第 62 回 日本不妊学会関東地方部会……………72
第 68 回 日本不妊学会関西支部集談会……………77

CONTENTS

Changes of Blood LH, FSH as well as Urinary LH in sterile Patients.....	
..... <i>K. Iida, S. Hashimoto & T. Motoe</i>	1
Effects of sex steroids on gonadotropin-releasing function in the pituitary by synthetic LH-RH (Induction of ovulation with estrogen pretreatment).....	
..... <i>S. Miura, H. Tagawa, T. Ishimaru, Y. Kase & K. Ohtani</i>	6
Pituitary-Gonadal Response to the Administration of Synthetic LH-RH by Repeated Subcutaneous Injection and Infusion in men.....	
..... <i>T. Kumasaka, Y. Yaoi, K. Kato, T. Ohkura, N. Nishi, T. Koyama & M. Saito</i>	13
On the Significance of Fibrinolytic Phenomenon in Fertilization	<i>M. Hamano</i>
208 Case Studies on Dalkon Shield.....	<i>T. Kobayashi,</i>
..... <i>H. Tadano, I. Matsuda & A. Ishihama</i>	32
Clinical Studies on the SH 1000 As Oral Contraception.....	<i>M. Takayanagi,</i>
..... <i>M. Kamada, N. Kushiki, K. Lyo, M. Fujiwara, O. Naka, K. Kayama & S. Isojima</i>	36
Effects of Oral Administration of Ethanol on Ovulation and Embryonic Development in the Rat.....	<i>Y. Fukuda & Y. Toyoda</i>
Urinary LH-RH test using Higonavis.....	<i>Y. Nakamura, S. Matsumoto,</i>
..... <i>H. Kurokawa, K. Saito & R. Iizuka</i>	53
Study on the Onset of first Ovulation During the Puerperium	<i>T. Ko</i>
	60

不妊患者における血中 LH, FSH. 及び 尿中 LH. の推移

Changes of Blood LH, FSH as well as Urinary LH in sterile Patients

金沢大学医学部産婦人科学教室 (主任 西田悦郎教授)

福井県立病院産婦人科 (院長 小坂政一博士)

飯田和質 橋本茂 本江卓
Kazutaka IIDA Sigeru HASHIMOTO Takashi MOTOE

Department of Obstetrics and Gynecology, University of Kanazawa
School of Medicine, Kanazawa (Directors: Prof. Nishida, Etsuro)

Department of Obstetrics and Gynecology, Fukui Prefectural Hospital,
Fukui (Director: Kozaka, Masaichi)

外来不妊患者を対象として RIA により血中 LH 及び FSH を、Higonavis を用いて尿中 LH を測定して各検査値の推移を検討した。(1) 正常排卵周期における排卵期の血中 LH peak は 127 min/ml で尿中 LH は 240 iu/l で、血中 FSH は 22,0 min/ml であった。(2) 黄体不全周期患者では排卵期の血中 LH peak は 77.5 min/ml、尿中 LH は 120 iu/l で正常周期例に比較して低値であった。(3) 第2度無月経患者の血中 LH 及び FSH の持続高値例を示した。腹腔鏡検査で PCO は認めなかった。(4) 無排卵周期症に Sexovid 投与後も血中 LH, FSH 及び尿中 LH の高値持続例を示した。(5) 無排卵周期症に Clomid を投与した場合に服用終了頃に頸管粘液が一時増量してのち減少し排卵期に再びより多く増量したが、血中 LH, FSH も同傾向がみられた。(6) 妊娠例における血中 LH は排卵期 peak の 151 min/ml より正常排卵周期の場合と同様に下降して、排卵より 13 日目頃より血中 LH が増加し以後は急増している事が推定された。

I 緒言

近年、血中の FSH 及び LH の微量定量が放射線免疫学的方法 Radioimmunoassay (以下 RIA) によつて測定され多くの発表¹⁻⁹⁾が行われている。この測定法の開発によつて、不妊患者の内分泌学的診断及び治療面に大きな進歩をとげ、加えて LH 放出ホルモン(LH-RH)の合成と臨床応用によつて、間脳-下垂体-卵巣系の内分泌学的解明が最近の大きな関心をよせている。今回われわれは、卵巣機能異常患者について、RIA により血中 LH 及び FSH を測定し、また尿中 LH を、Higonavis (持田製薬) を用いて測定し、検討を加えたので報告する。

II 検査方法及び対象

血中 LH 及び FSH の測定は、第一ラジオアイソト

ープ研究所の RIA-kit を用い ウェル型シンチレーションカウンターを用いて 2 抗体法で測定した¹⁰⁾。尿中 LH の測定に用いた Higonavis は HCG 抗体を感作した血球の直接凝集反応であり、検出感度と被検尿の稀釈倍数から LH または HCG の尿中濃度を半定量することが出来る。Higonavis の感度は LH で 12.5~20 IU/l (HCG で 5~8 IU/l) である。被検対象は外来に通院中の不妊患者であり、正常排卵周期、黄体不全周期、無排卵周期及び無月経の患者がこれに含まれている。

III 検査成績

症例 1. 正常排卵周期を有する不妊患者における血中 LH, FSH 及び尿中 LH の推移。

31歳の結婚後6年の不妊患者。BBT, 頸管粘液, 血中 LH, FSH 及び尿中 LH の検査値を図 I に示した。BBT は除々に高温相に移行する松本の分類¹¹⁾の第2型を示

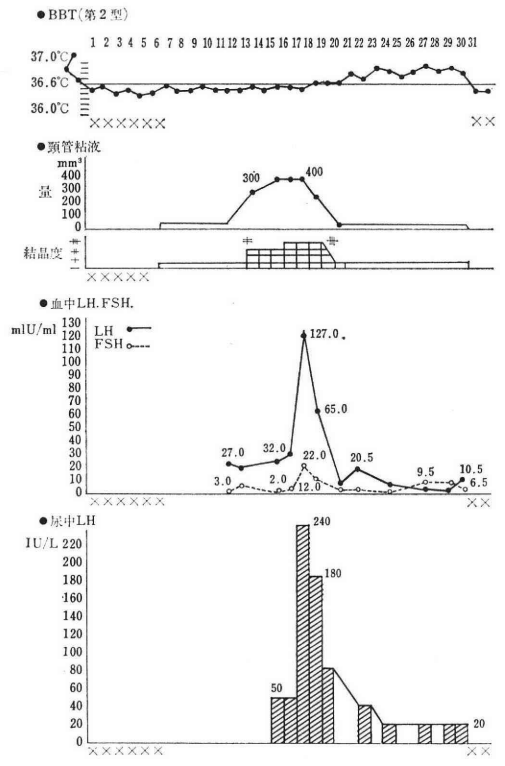


図 I 正常排卵周期の血中 LH, FSH, 尿中 LH の推移 (31歳, 結婚後7年)

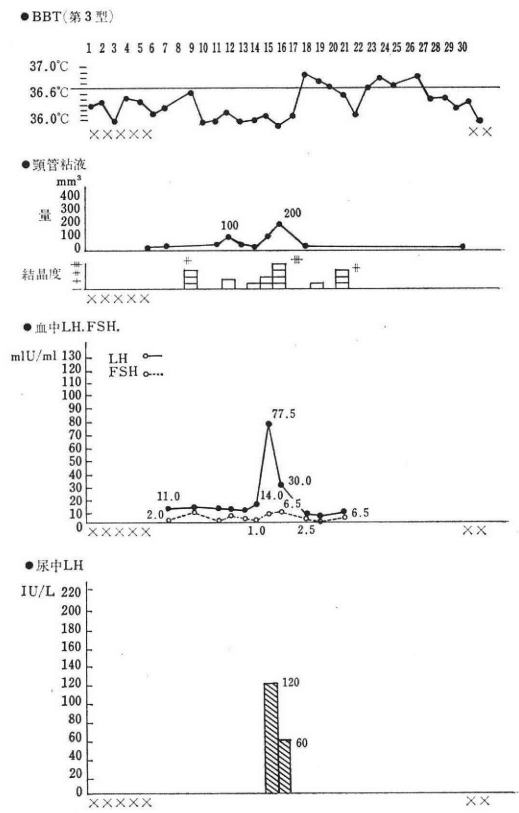


図 II 黄体不全周期における血中 LH, FSH の推移 (23歳, 結婚後2年)

し、頸管粘液は排卵期に著明に増加し400 μ lに達し、結晶度も第3度を示した。血中 LH の peak が月経周期の18日目にあり、127 mIU/ml を示し、血中 FSH も同日に peak を示し22 mIU/ml であった。尿中 LH は月経周期18日目に、peak を示し、240 IU/l で血中 LH peak と同じ日で、その他の血中 LH と尿中 LH の値は、相関関係が認められた。

症例 2. 黄体機能不全周期例。

23歳で結婚後2年の例で、BBT は第3型を呈し高温相の中間に谷があり高温相も8日間短かい。頸管粘液の最高値は月経周期の16日目で200 μ d、結晶形成は第3度を示した。血中 LH の peak は月経周期の15日目で、77.5 mIU/ml で尿中 LH は120 IU/l であった。血中 FSH は月経周期16日目に6.5 mIU/ml で、14日目1.0 mIU/ml、18日目2.5 mIU/ml より増加しているが peak が著明でない。正常周期例に比較して LH の値は低いと考えられる。この例の検査値の推移は図2に示す如くであった。

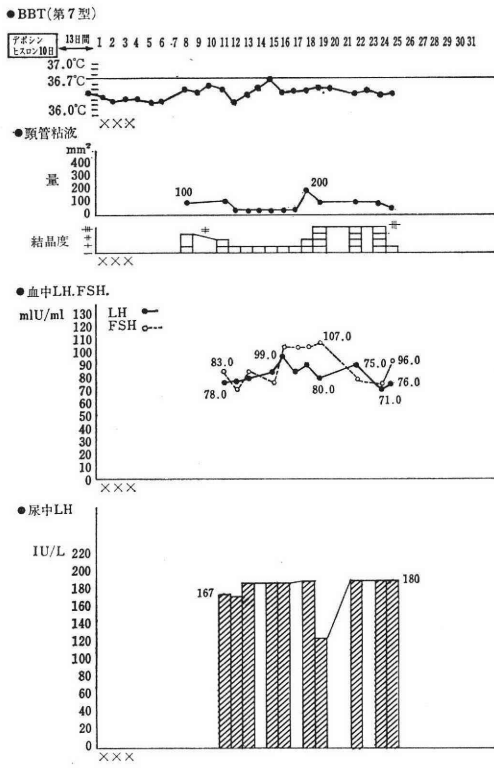
症例 3. 第2度無月経患者例。血中 LH, FSH の持続高値を示した例。

図3は24歳で結婚後3年の例で Proluton 30 mg 投与

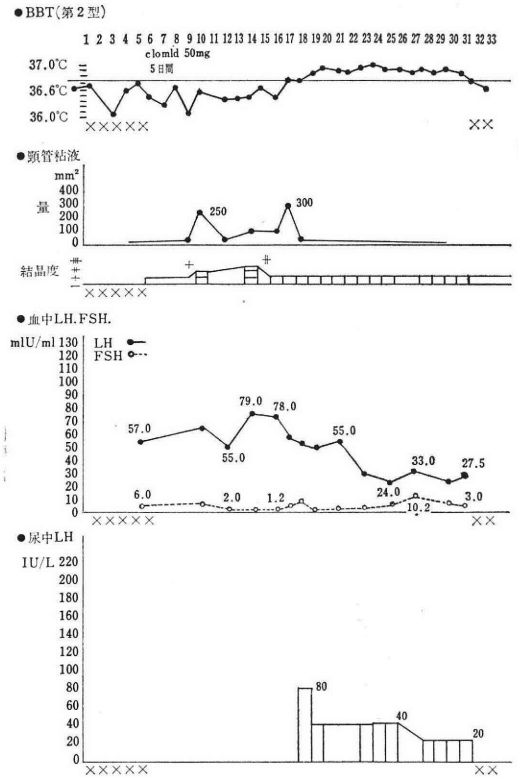
で月経が発来せず、Devosin 2錠及び Hislon 2錠10日間投与後に消腿出血をみた第2度無月経の患者成績である。この例は以前に Clomid 100 mg を5日間の投与を行なったが BBT は、低温1相性で排卵は認められなかった。頸管粘液量は長期に認められるが、BBT は1相性で、血中 LH は、71~99 mIU/ml、血中 FSH は、75~107 mIU/ml で高値持続していた。また尿中 LH も180 IU/l の高値が持続していた。多嚢胞卵巣 (PCO と略) を疑い、腹空鏡検査を行ったが、卵巣肥大は認められなく、尿中17-KS は2.85 mg/day と低値で17-OHCS は、3.95 mg/day と正常であり、多毛や肥満も認められなかった。

症例 4. 無排卵周期症例。Sexovid 投与後も、血中 LH, FSH の高値持続した例。

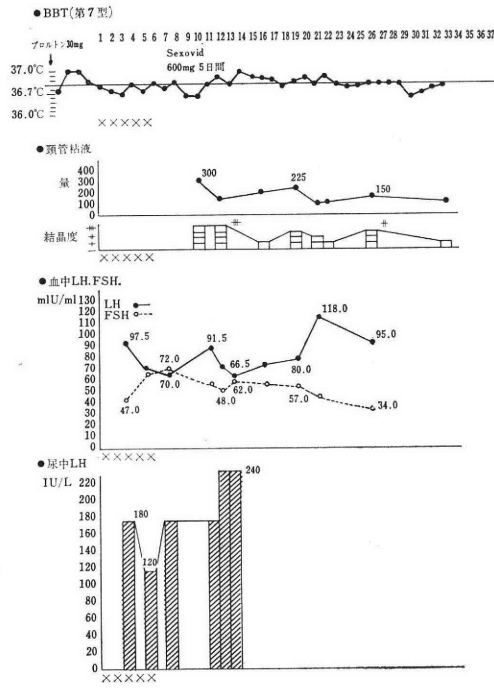
29歳で、結婚後8年の無排卵周期症に Sexovid を投与した場合の検査値の推移を図4に示した。月経は、1973年8月4日より5日間あり、その後、無月経で同年10月17日 Proluton 30 mg 筋注して、5日後に消腿出血をみた。消腿出血5日目より Sexvid 600 mg 5日間投与した。BBT は、第7型で無排卵とみなされた。頸管



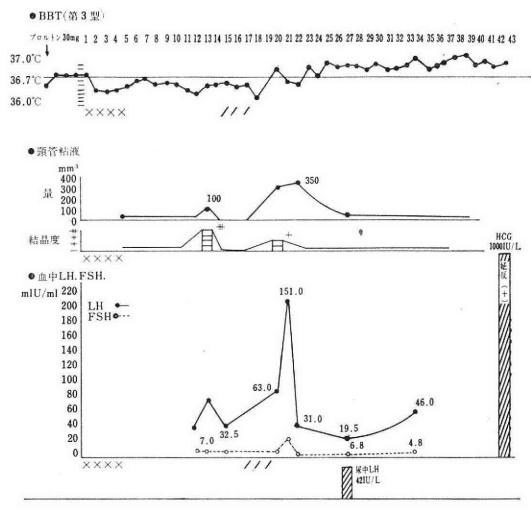
図Ⅲ 第2度無月経患者の血中 LH, FSH 尿中 LH の推移 (24歳, 続発性, 結婚後2年)



図Ⅴ Clomid 投与後の血中 LH, FSH 尿中 LH の推移 (24歳, 無排卵周期症, 結婚後2年)



図Ⅳ Sexovid 投与後の血中 LH, FSH 尿中 LH の推移 (29歳, 無排卵周期症, 結婚後8年)



図Ⅵ 稀発月経患者妊娠例の血中ゴナドトロピンの推移 (Cycle 90~120 day) (26歳, I-T, 結婚後1年半)

粘液の結晶度は、長期にわたって第2から第3度を示した。Sexovid 投与後頸管粘液の増量と、月経周期12日目からの BBT の高温化が認められたので、排卵も疑われ

たが、血中 LH は、66.5~118.0 mIU/ml と高値を維持し、血中 FSH は、34.0~72.0 mIU/ml を示し、尿中 LH も120~240 IU/l とそれぞれ高値を維持していた。PCO の疑いもあり現在その他の各種検査を続行している。

症例 5. 無排卵周期症に Clomid を投与し、排卵に成功した例。

24歳の結婚後2年の不妊患者で Clomid 投与前の BBT は低温1相性の第7型で、月経発来後の第5日目より Clomid 50 mg を、5日間投与した。各検査値の推移は図5に示したもので、BBT は、月経第16日目と17日目に高低の境界をもつ2相性を示した。血中 LH は24.0 mIU/ml~79 mIU/ml で比較的高値であるが、Clomid 服用終了時に一時やや増加し、次いで排卵期の第14~16日に peak があると考えられた。尿中 LH は血中 LH に比較して低い値となつて並行している。

症例 6 妊娠成功例における検査値

26歳で結婚後2年の稀発月経患者で Anovlar を2クール行ない、その後の BBT も低温相1相性であったが月経周期の30日間目に Proluton を投与し5日後に消褪出血があり、その周期に排卵誘発とともに妊娠した例である。検査値の推移は図6に示した。BBT は月経周期後22日目か23日目が低温と高温の境界と考えられ、排卵期出血と思われる少量出血が15~17日に認められた。頸管粘液は13日目に一時増量し、20~23日に最高 350 μ l に達していた。血中の LH は21日目に 151 mIU/ml の peak を認め、以後は減少し、27日目に 19.5 mIU/ml で、34日目に血中 LH が 46.0 mIU/ml と増量してきている。月経周期の34日目は LH peak より13日目にあたり、LH peak より22日目には、Gonavis (HCG 1000 IU/l) の妊娠反応が陽性であり、内診所見からも妊娠と判定した。

考察及び結論

正常月経周期を有する成熟婦人の血中 LH 及び FSH に関しては、Odell⁴⁾らは血中 LH は中間期に高値を示し、その LH レベルは、40~153.6 mIU/l で卵胞期は 16 mIU/l、黄体期は 12 mIU/l と報告し、また Saxena⁵⁾らは血中 FSH は卵胞期及び黄体期は、20 mIU/ml 前後で排卵前に、51.8 mIU/ml の peak を作ると報告している。

青野⁶⁾は正常月経周期婦人11例について血中 LH, FSH を一周期間連日採血測定して、血中 LH は卵胞中期から排卵期に向つて漸次増加し、110.4 mIU/ml の鋭い peak を示した後、黄体期には低値を示して持続するとし、血中 FSH は、卵胞初期はやや高値を示し、排卵前

期には、一旦下降したあと、19.4 mIU/ml の peak を示し、黄体期には、低値を維持すると報告している。排卵期の peak における血中 LH については、諸家の報告はほぼ一致しているが、血中 FSH については、報告者により、なお可成りの差がみられる。尿中の LH 値については、水野⁷⁾らは、卵胞期は 50 IU/l 前後、排卵期は 100~200 IU/l で黄体期はほぼ卵胞期と同様であったとしている。また中間期の LH-Surge に先立って、尿中 Estrogen の上昇がみられ⁸⁾、FSH-peak は、LH-peak より1日位あとにおこる事が多く、Yussman⁹⁾らは排卵時刻を、黄体日付け診断より推定して、血中 peak より、12~24時間後に起ると報告している。

黄体機能不全周期における血中 LH, FSH は青野⁶⁾の報告では、peak 値も、47.4 mIU/ml と 6.9 mIU/ml で正常例に比較して、低いとしているが、われわれの例でも同様な傾向がみられた。血中 LH 及び FSH が持続的高値を示す場合は、卵巣性障害のある場合が考えられ、閉経後や、卵巣剔除後は勿論であるが、青野⁶⁾の報告でも、Turner 症候群の場合及び PCO の場合に血中 LH の持続的高値がみられたと報告している。われわれも第1度無月経、及び第2度無月経患者の中に血中 LH 及び FSH の持続高値例がみられた。

Clomid により排卵に成功した場合には、Clomid 投与終了時より頸管粘液の増量を認め、2~3日で減少した後、排卵期に再び頸管粘液が増量しているが、同様な傾向が血中 LH, FSH にもみられた。妊娠した場合は、排卵日より12日目頃より、HCG の産生が急激に増加してくるといわれているが、妊娠に成功したわれわれの症例VIでは、排卵期の peak より血中 LH は、下降して正常排卵周期の場合と同様の推移を示し、排卵より13日目頃より血中 LH が増加し、以後、急増している事が推定された。Higonavis を用いての尿中 LH の測定と RIA による血中 LH は相関関係が認められ、Higonavis は検査法が簡易なため今後も臨床応用に有用な検査試薬であると思われるが、正確度の点では、RIA に劣ると思われる。われわれは不妊患者の卵巣機能異常例に RIA による血中 LH, FSH の推移を検討したので報告した。

本論文の要旨は、1973年12月23日第9回日本不妊学会北陸支部総会で発表した。

稿を終るに当たり、御校閲を頂いた、西田悦郎教授に深謝致します。

参考文献

- 1) Catl, K. J. Niall, H. D. Tregear, G. W. & Buger, H. G.: J, Clin. Endocr., 28: 121,

- 1968.
- 2) 津久井芳二, 玉田太郎: 日本不妊会誌, 15: 15, 1970.
 - 3) 玉田太郎, 津久井芳二: 産婦の世界, 22: 690, 1970.
 - 4) Odell, W D. Ross, G. T. & Rayford, R. L.: J. Clin Invest, 46: 248, 1967.
 - 5) Sexena, B. B., Demura, H., Gaudy, H. M. & Peterson, R. E.: J. Clin. Endocr., 28: 519, 1968.
 - 6) 青野敏晴: 日産婦誌, 25: 945, 1973.
 - 7) 水野正彦, 河本至誠, 水口弘司, 坂本正一: 産と婦, 40: 1651, 1973.
 - 8) Johansson, E. D. B. wide, L. and Geruzell, C.: Acta, Endocriol, 68: 502, 1971.
 - 9) Yussman, M. A. Taymor, M. L. Miyata, J and Pheteplace, C.: Fertil, & Steril, 21: 119, 1970.
 - 10) 吉本祥生, 森寺邦三郎, 井村裕夫: ホと臨床, 21: 753, 1973.
 - 11) 松本清一, 赤須文雄, 小林隆編: 婦人科診断学. p. 294, 医学書院, 東京(1968).

Changes of Blood LH, FSH as well as Urinary LH in sterile Patients

Kazutaka Iida,, Sigeru Hashimoto and Takashi Motoe

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

(Director: Prof. Etsuro Nishida)

Department of Obstrics and Gyencology,
Fukui Prefectural Hospital Fukui
(Director: Masaichi Kozaka)

Changes of blood LH, FSH as well as urinary LH in sterile outpatients have been examined using RIA and Higonavis, respectively, with the following results:

1. The peak of blood LH and FSH in ovulatory phase in normal ovulatory circle was 127 min/ml and 22.0 min/ml, respectively, while that of urinary LH was 240 iu/l.

2. In patients with incomplete luterl phase, the peak of blood LH in ovulatory phase 77.5 min/ml and that of urinary LH was 120 iu/l—apparently all lower than those in normal ovulatory circle.

3. Blood LH and FSH in patients with amenorrhea of the grade II continued to show high levels. PCO was not observed by laparoscopic examination.

4. Blood LH, FSH as well as urinary LH likewise showed high levels following the administration of Sexovid in patients with anovulatory circle.

5. In case Clomid was given in patients with anovulatory circle, cervical mucus decreased in amount after a temporary increase, to show once again and continue high levels in ovulatory phase. A similar tendency was demonstrated in blood LH and FSH levels.

6. In pregnant women, the peak of blood LH was, just as in case of normals ovulatory circle, lower than that of ovulatory phase (151 min/ml), to start to increase 13 days following the ovulation, and was considered to show an abrupt increase thereafter.

Sex steroid の下垂体 gonadotropin 分泌能に及ぼす影響 (合成 LH-RH 投与を中心として)

附: E 剤の前処置による排卵誘発

Effects of sex steroids on gonadotropin-releasing function
in the pituitary by synthetic LH-RH
(Induction of ovulation with estrogen pretreatment)

長崎大学産婦人科学教室 (主任 山辺徹教授)

三浦清鬱 田川博之 石丸忠之
Seiran MIURA Hiroyuki TAGAWA Tadayuk ISHIMARU
加瀬泰昭 大谷勝美
Yasuaki KASE Katsumi OHTANI

Department of Gynecology and Obstetrics, Nagasaki University School of Medicine
(Director: Prof. Toru YAMABE)

sex steroid と下垂体 gonadotropin (G) 分泌能の関係について検討するとともに、合成 LH-RH による排卵誘発の際の estrogen 前処置に関する意義について検討した。対象は無月経5名に対して sex steroid を投与し、その投与前、および投与後3~4日目、7~8日目に合成 LH-RH 200 μ g を1回筋注するとともに尿中エストロゲンを測定した。この結果 estrogen 剤投与により下垂体の LH-RH に対する感受性が高まることを認めたので、E 剤前処置後に合成 LH-RH 投与する方法で排卵誘発を行なった。対象は4名の第1度無月経患者で、いずれも過去にクロミッドの服用を受けて排卵不成功に終っていたものである。これらに①E 剤+合成 LH-RH および② clomid+E 剤+合成 LH-RH の投与を行なった。この結果①の方法では4例中1例、②の方法では4例中2例に排卵を認めた。E 剤+合成 LH-RH は estrogen surge および G surge を人工的に若起することが出来、さらに頸管粘液の増加をもたらした。E 剤前処置は意義あるものと思われる。

はじめに

LH-releasing hormone (以下 LH-RH と略) の化学構造の決定以来、今日では LH-RH は種々の機関で合成されるようになり、内分泌学の分野において多大の進歩をもたらした。現在合成 LH-RH は無月経の障害部位の診断や下垂体機能の診断のみならず、新しい排卵誘発剤としても使用価値が認められている。ところで合成 LH-RH の出現により下垂体における gonadotropin (以下 G と略) 分泌能を検討出来るようになったため、種々の sex steroid と下垂体 G 分泌能の関係についても合成 LH-RH を用いた報告がなされている¹⁻⁴⁾。今回私

ども臨床的に sex steroid と下垂体 G 分泌能の関係について検討するとともに、合成 LH-RH による排卵誘発の際の estrogen による前処置に関する意義について検討した。

I. 対象および方法

無月経患者5例に対して、sex steroid を投与したのち、LH-RH を行なった: 症例1 (28歳) は hypolastic ovary による卵巣性無月経、症例2 (19歳) は streak ovary による卵巣性無月経で1例卵巣に鶏卵大嚢胞をみとめた。症例3 (24歳) は視床下部性無月経、症例4 (21歳) は下垂体性無月経、および症例5 (47歳) は子

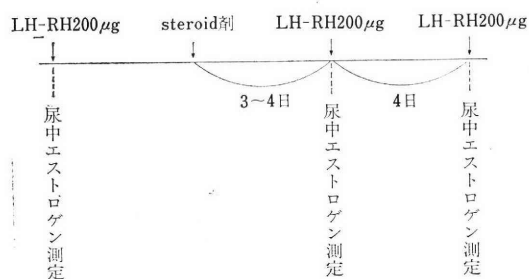


図 1 Sex steroid と LH-RH の投与方法

宮頸癌根治手術後 1 カ月 (両側卵巣欠如) の例である。Steroid 剤の投与は estrogen 剤としては estradiol valerate 10 mg (以下 E 剤と略), progesterone 剤としては hydroxyprogesterone caproate 125 mg (以下 P 剤と略), また estrogen+progesterone 剤としては estradiol benzoate 10 mg+hydroxyprogesterone caproate

125 mg (以下 EP 剤と略) を用いた。上記の steroid 剤の負荷前および負荷後 3~4 日目および 7~8 日目に各々合成 LH-RH 200 µg を 1 回筋注するとともに、尿中 estrogen を測定した (図 1)。

P 剤負荷は症例 1 および 3, E 剤負荷は症例 3 および 4, また EP 剤負荷は症例 2, 4 および 6 にそれぞれ行なった。なお血中 LH および FSH はいずれも radioimmunoassay (RIA) により測定した。LH は第 1 ラジオアイソトープの H-LH Kit を使い、FSH は standard には NIH の LER 907, 標織抗原および抗体は Calbiochem 社のものを使用した。尿中 estrogen は Brown-神戸川法 (螢光法) により測定した。また血中 estradiol (以下 E₂ と略) はミドリ十字社の RIA Kit を使用した。なお採血した sample は速かに遠沈し、血清は測定日まで -20°C で凍結保存した。また同一人の sample は同じ日にまとめて同一測定系で、すべて duplicate で測定した。

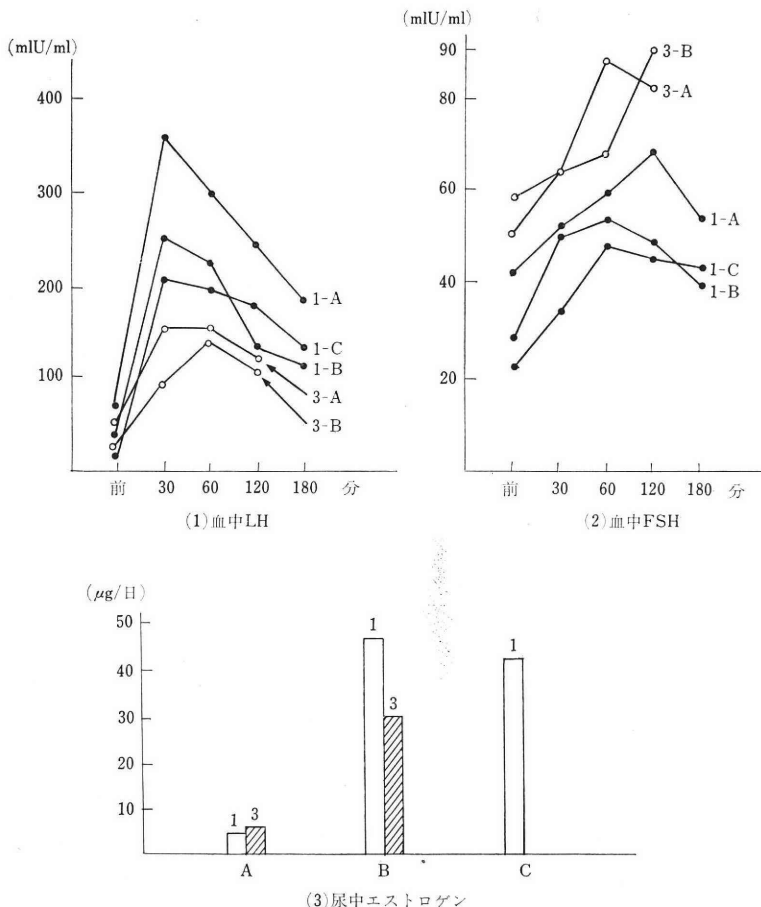


図 2 LH-RH 投与による gonadotropin 分泌能と尿中エストロゲン (hydroxyprogesterone caproate 負荷)

A : 負荷前, B : 負荷後 3~4 日目, C : 負荷前 7~8 日目 図中の数字は症例番号

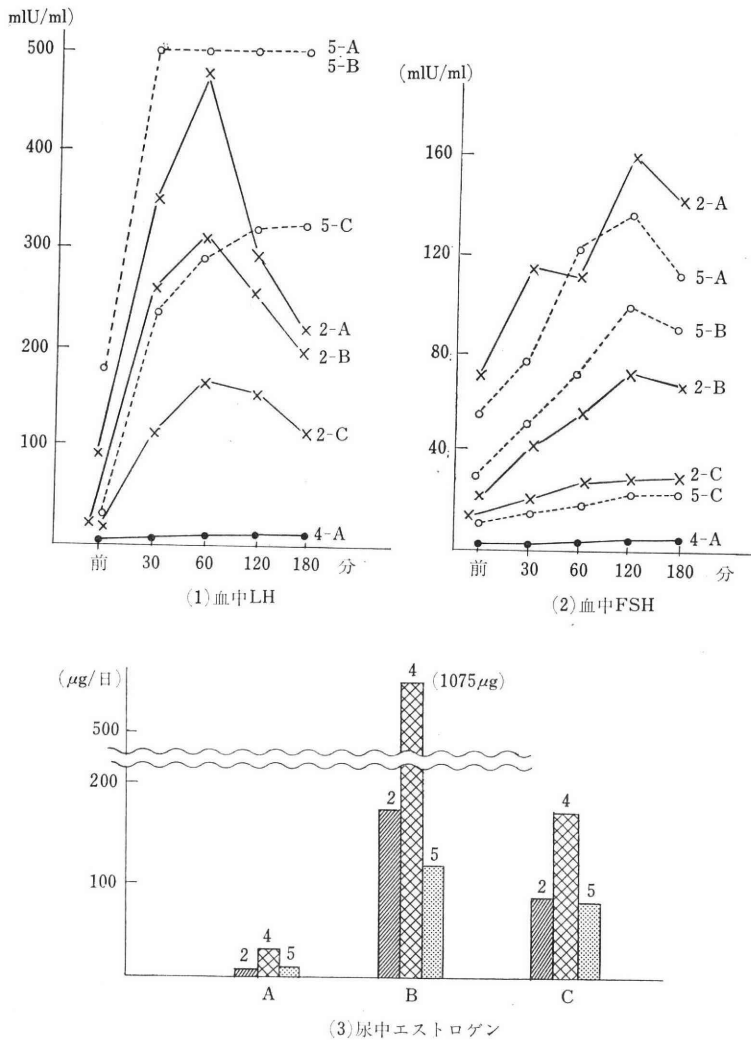


図 3 LH-RH 投与による gonadotropin 分泌能と尿中エストロゲン (estadiol benzoate+hydroxyprogesterone caproate 負荷)

II. 成績および考案

P 剤投与後の合成 LH-RH の反応は投与前に比べて症例 1 および 3 とも下垂体 LH 分泌能は抑制されており、日数が経過するにつれて、次第に強くなる傾向を示した。しかしながら FSH に関しては症例 1 では抑制、症例 3 ではかえって増加の傾向がうかがわれ、LH の場合とは異なり一定した傾向はみられなかつた(図 2)。次に EP 剤負荷前後の LH-RH の反応は症例 2, 4 および 5 ともすべて下垂体 G 分泌能は抑制され、P 剤と同様、負荷後の日数が経過するにつれ、不良となつた。なお症例 4 は EP 剤負荷後 3 日目と 7 日目の G 分泌能は強く抑制されており、測定不能であつた(図 3)。また症例 3 および 4 では E 剤負荷後 3 ~ 4 日目に、LH-RH の

反応は LH, FSH ともに亢進し、7 ~ 8 日目には steroid 処置前の値か、あるいはそれ以下となつた。とくに症例 3 の視床下部性無月経患者においては、E 剤負荷後 3 ~ 4 日目では LH, FSH ともに排卵期と同じか、それを越える良好な反応を示した(図 4)。次に P 剤、EP 剤および E 剤負荷の 3 群について、それぞれ負荷前(A)、負荷 3 ~ 4 日目(B)、および 7 ~ 8 日目(C)における LH-RH に対する最大反応値の平均値を比較した(図 5)。P 剤および EP 剤負荷群においては、LH, FSH ともに A, B, C の順に平均最大反応値は減少していた。その減少率は LH, FSH ともに EP 剤負荷群の方が P 剤負荷群よりも大きく、したがって P 剤よりも明らかに下垂体 G 分泌を抑制するものといえよう。また P 剤および EP 剤負荷後の尿中 estrogen は 7 ~ 8 日目にはすでに

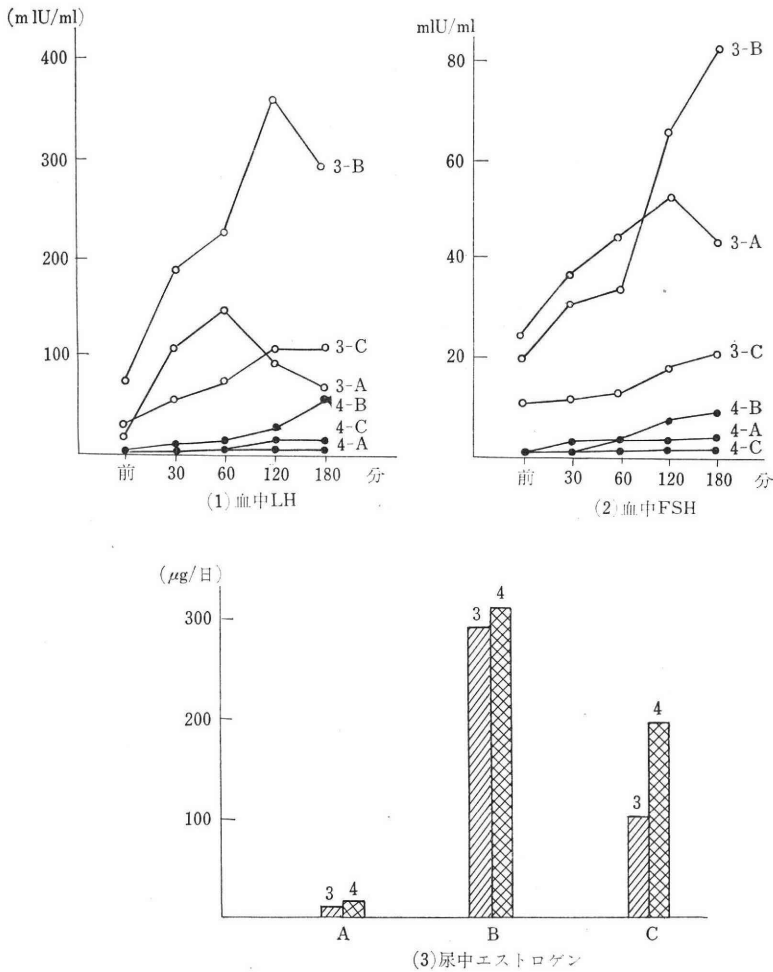


図 4 LH-RH 投与による gonadotropin 分泌能と尿中エストロゲン (estradiol valerate 負荷)

減少の傾向にあり、この時期の LH-RH の反応は尿中 estrogen が高値を示す 3~4 日目における値よりも不良であった(図5)。すなわち、この結果は中枢抑制作用に、steroid の量、種類あるいは投与方法等のほか作用持続時間も重要な意義を持つことを示唆している。E 剤負荷群においては、尿中 estrogen が増加する時期に LH-RH の反応は良好となり、減少するにつれてその反応は不良となった。estradiol valerate の投与量 10 mg は尿中 estrogen 値から判断してもかなり大量であるが、このように一過性に estrogen 濃度が上昇することは下垂体の LH-RH に対する感受性を亢進させ、LH および FSH の分泌増加をひき起こすものと思われる⁵⁻⁷⁾。症例 4 は LH-RH test の結果、重症の下垂体性無月経と診断されたものであるが、E 剤負荷後には LH、FSH ともに著しく下垂体 G 分泌能が亢進していた。このことより、E 剤の前処置は下垂体機能の程度を推定するのに

役立つと思われ、さらにまた排卵誘発にも有用であると考えられる。E 剤+合成 LH-RH 投与は合成 LH-RH 大量単独投与の際と同じ程度の効果が期待される。そこで実際に E 剤の前処置をする際に、合成 LH-RH の投与時期が問題となるので、この点について検討してみた。estradiol valerate (Progynon Depot) 10 mg を筋注負荷後 36 時間から LH と FSH はともに上昇し、72 時間目に peak を示した(図6)。すなわち下垂体の内因性 LH-RH に対する感受性は estrogen 投与後 72 時間前後に最高となるものと推定された。そこで E 剤の前処置後に合成 LH-RH を投与することにより排卵の誘発効果を高めることが期待できる。

III. E 剤の前処置による排卵誘発成績

第 1 度無月経患者 4 名に E 剤+合成 LH-RH の投与および clomid+E 剤+合成 LH-RH の投与をこころみ

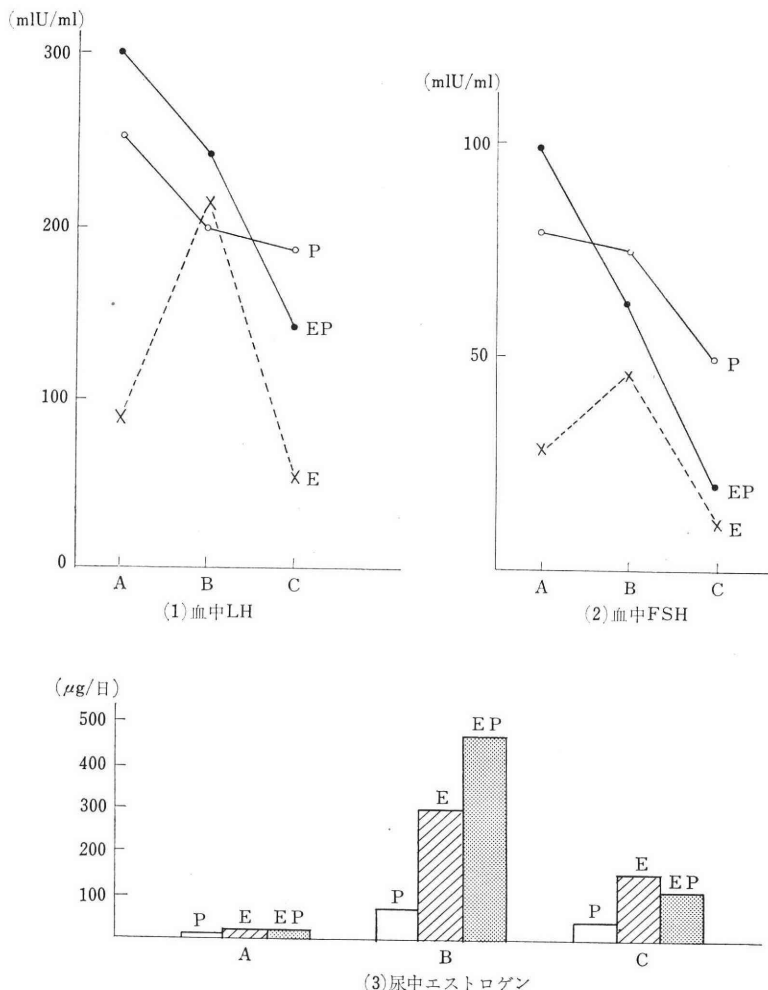


図 5 LH-RH に対する平均最大反応値と A, B, C 各時期における平均尿中エストロゲン値

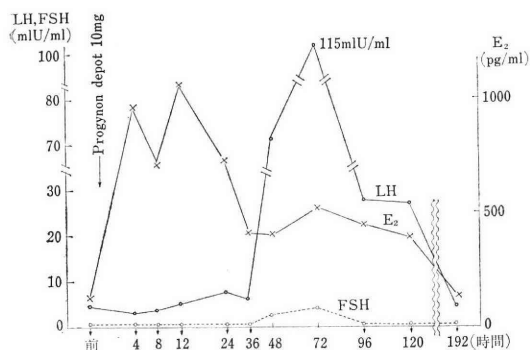


図 6 Estradiol valerate 投与後の血中 E₂, LH および FSH の推移 (症例 3: 視床下部性無月経)

表 1 Clomid + E 剤 + 合成 LH-RH 投与による成績

症例(年齢)	無月経の程度	治療成績		過去の治療
		排卵	頸管粘液増加	
T.T.(28)	第1度	-	+	クロミッドで排卵 (-) E+LH-RH で排卵 (-)
Y.F.(24)	第1度	-	+	クロミッドで排卵 (-) E+LH-RH で排卵 (-)
T.A.(30)	第1度	+	+	クロミッドで排卵 (-) E+LH-RH で排卵 (-)
N.A.(24)	第1度	+	+	クロミッドで排卵 (-) E+LH-RH で排卵 (+)

た(表1)。なお4例はいずれも過去に clomid を投与し (1クール 250 mg あるいは 500 mg 投与), 排卵不成功に終っていた症例である。これら4例のうち3例にはE

剤筋注後48~72時間目に各々合成 LH-RH 200 μg を筋注したが排卵はみられなかった。他の1例ではE剤投与後24時間目に合成 LH-RH 200 μg を筋注し, さらに48時間目より合成 LH-RH 400 μg を4時間かけて点滴静注したところ, 基礎体温はその1日後には上昇し, 以後

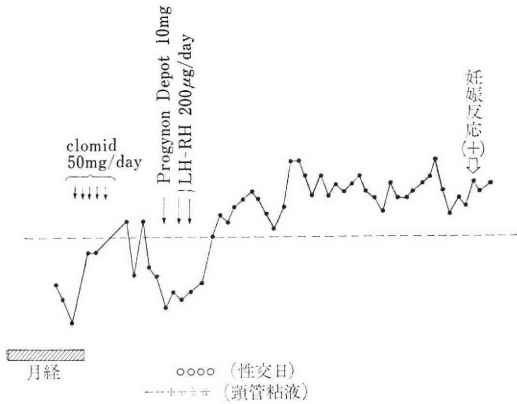


図 7 無排卵周期症(24歳)における排卵誘発例 (clomid+E剤+LH-RH)

高温相を示した。しかも血中 progesterone 値も黄体期 level にあり、排卵を起こしていたことが判明した。次にこの4例に clomid + E + 合成 LH-RH の投与を行なった。すなわち clomid の投与終了後6~7日目にE剤筋注、さらにその2日目に各々合成 LH-RH 200 µg を筋注した。その結果、2例に排卵を認めた。なお過去に無治療であった持続無排卵周期症の1例に本法を施行し、排卵誘発に成功するとともに、そのまま妊娠に移行させることができた(図7)。

以上の成績から、E剤+合成 LH-RH あるいは clomid + E剤+合成 LH-RH の投与法は、自然排卵周期の特徴である estrogen surge および gonadotropin surge を人工的に惹起することができ、さらにE剤の前処置は下垂体の LH-RH に対する感受性を高めるとともに、頸管粘液の増加をもたらす(表1, 図7)、妊娠の可能性をも高めるものと考えられる。したがって、合成LH-RH を排卵誘発に利用する場合、適当量のE剤による前処置は意義のあるものと思われる⁸⁾。

結 語

種々の sex steroid と下垂体 gonadotropin 分泌能との関連性を検討し、estrogen が LH-RH に対する下垂体の感受性を高めることを認めた。さらに臨床的にE剤+合成 LH-RH 投与および clomid + E剤+合成 LH-RH 投与による排卵誘発をこころみ、その成績についても述べた。

ご校閲いただいた恩師山辺徹教授に深謝します。なお本論文の一部は著者の一人石丸が第18回日本不妊学会において発表した。

文 献

1) Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R. M. G., Ari-

mura, A. & Schally, A. V.: Biochem. Biophys. Commun., 43 : 1334(1971).
 2) Arimura, A. & Schally, A. V.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 136 : 290(1971).
 3) Hilliard, J., Schally, A. V. & Sawyer, C. H.: Endocrinology, 88 : 730(1971).
 4) Debeljuk, L., Arimura, A. & Schally, A. V.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 139 : 774(1972).
 5) Yamaji, T., Dierschke, D. J., Hotchkiss, J., Bhattacharya, A. N., Surve, A. H., & Knobil, E.: Endocrinology, 89 : 1034(1971).
 6) Yen, S. S. C., & Tsai, C. C.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 34 : 298(1972).
 7) 石丸忠之, 加瀬泰昭, 大谷勝美, 田川博之, 三浦清登, 古賀 汎: 産と婦, 41 : 317(1974).
 8) 石丸忠之, 三浦清登, 田川博之, 加瀬泰昭, 森淳躬, 金子啓二郎, 河野前宣: 日産婦誌, 26巻, 6号掲載予定.

Effects of sex steroids on gonadotropin-releasing function in the pituitary by synthetic LH-RH (Induction of ovulation with estrogen pretreatment)

Seiran Miura, Hiroyuki Tagawa, Tadayuki Ishimaru, Yasuaki Kase and Katsumi Ohtani

Department of Gynecology and Obstetrics, Nagasaki University School of Medicine (Director: Prof. Toru Yamabe)

The relationship between various sex steroids and the gonadotropin-releasing function in the pituitary was studied in 5 women with amenorrhea by using synthetic LH-RH. Dosage of estrogen and progesterone agents administered to these patients was as follows: estradiol valerate 10 mg (E), hydroxprogesterone caproate 125 mg (P), and estradiol benzoate 10 mg+hydroxprogesterone caproate 125 mg (Estrogen+Progesterone).

Before and after 3-4 days and 7-8 days of steroid administration, synthetic LH-RH 200 mg was administered by intermuscular injection. Plasma-FSH and LH levels were measured before and after administration of synthetic LH-RH.

In cases that received P and EP, a decrease in the gonadotropin-releasing function was observed.

In contrast, in cases that received E, a marked rise in the gonadotropin-releasing function was observed.

From the results obtained, we concluded that

E may have effects to increase pituitary response to LH-RH. Thus, we attempted therapy to ovulation with the combined use of E and synthetic LH-RH.

Induction ovulation was investigated by administration of E+LH-RH (method I) and clomid+E+synthetic LH-RH (method II). The investigation was made in 4 patients with Grade I amenorrhea and in one patient with habitual anovulatory cycle. Those 4 patients with Grade I amenorrhea had not ovulated by prior treatment with clomid.

Ovulation was induced in one case by applica-

tion of Method I and in two cases by Method II.

From these results we concluded that I and Method II can provoke an artificial surge of gonadotropin and Estrogen to mimic the natural ovulatory cycle.

Pretreatment with E increased the pituitary response to LH-RH and stimulated excretion of cervical mucus, which may lead to a greater possibility of successful pregnancy.

Pretreatment with the appropriate amount of E for induction of ovulation using synthetic LH-RH seems to be significant.

合成 LH-RH の反復皮下及び静脈内持続投与による 下垂体—卵巣の反応について

Pituitary-Gonadal Response to the Administration of Synthetic LH-RH
by repeated subcutaneous Injection and Infusion in men

東京医科歯科大学産科婦人科学教室

熊坂 高弘 矢追 良正 加藤 広英
Takahiro KUMASAKA Yoshimasa YAOI Koei KATO
大蔵 健義 西 望 小山 嵩夫
Takeyoshi OHKURA Nozomu NISHI Takao KOYAMA
斉藤 幹
MOTOI SAITO

Department of Obstetrics and Gynecology, Tokyo Medical and
Dental University

合成 LH-RH を繰り返し皮下投与した場合、その投与間隔が3時間以内であると血中及び尿中 LH, FSH 値には相加的増強作用が認められた。

静脈内持続投与の場合は、初め LH, FSH は急速に増加するがその後は低下と上昇を繰り返す所謂 pulsatile な変動を示した。血中及び尿中 estrogen も増加を示したがその変動は著明ではなかつた。PCO に合成 LH-RH を持続投与した場合の血中 LH, FSH の反応 pattern からは、正常周期、卵胞期のそれと相異は見出せなかつた。合成 LH-RH を持続投与中 Premalin 20 mg の single shot injection を加えると、LH, FSH は著明に減少し、estrogen が下垂体に直接作用することが示された。しかし予じめ estrogen で priming した後に Premalin を与えると血中 LH, FSH は一過性に上昇した。

はじめに

合成 LH-RH 投与による下垂体の刺激効果は、設定条件の相異により種々修飾されることがすでに明らかにされている。排卵誘発を目的として LH-RH を投与する場合でも、内分泌学的環境が異なればその成績は当然異なってくるので、常に個々の具体的な条件を考慮する必要がある。

LH-RH による排卵誘発の成績が他の方法に比べて劣る主な原因の一つに、その作用時間が極めて短いことが挙げられている。今回われわれは LH-RH 効果と投与方法の時間的要因との関連性を主眼として検討を試みた。すなわち合成 LH-RH の反復皮下投与、静脈内持続投与が下垂体及び卵巣の反応性に及ぼす影響の差異を比較

した。又 LH-RH の投与中に結合型 estrogen を与え、LH-RH の下垂体刺激効果に対する直接的影響を検索した。

【実験方法】

投与対象は去勢、卵胞期及び多嚢胞性卵巣 (PCO) の婦人である。

合成 LH-RH は皮下投与の場合には1回100 µg を繰り返し、静脈内持続投与の場合は500~1000 µg を生食水500 ml~1000 ml に混入し等速持続投与を行なった。投与中は水分及び食事の摂取を制限した。

血中 LH, FSH は Midgley (1967)¹⁾の方法による radioimmunoassay により測定、その値は LER 907 に換算し ng/ml で表わした。測定法の感度は logit-trans-

tormed dose responsecurve で LH 3.9 ng/tube, FSH 7.8 ng/tube であり, 偏異係数は assay 内で LH 6%, FSH 10% である. 尿中 LH は, 1 時間毎に分画採取した尿について赤血球凝集反応を用いて測定し, 1 時間の排泄値 μg に換算した. 血中 estrogen は Hotchkiss, Knobil ら (1971)²⁾ による radioimmunoassay で測定, pg/ml で表わした. この場合の偏異係数は intrassay 間では 12.9%, interassay 間で 22%, 最低測定濃度は 20 pg/ml である. 尿中 estrogen は Cohen (1966)³⁾, Brown (1955)⁴⁾ による spectrophluorometry で測定その感度は 1.50 $\mu\text{g/day}$ である.

[成 績]

I 繰り返し皮下投与

正常月経周期婦人の卵胞期に LH-RH 100 μg を 30 分間隔で皮下投与した場合, 血中 LH, FSH は加重的な増加を示した. 然し 5 回目投与以降ではこの傾向は見られなかった. (図 1)

3 時間々隔投与の場合の LH, FSH 変動は図 2 の如くである. 血中 LH は LH-RH 投与後 30 分で peak を示した後一時低下するが, 再度の投与により前 peak 値をやや上廻る上昇を示し波動的 pattern が認められた. FSH についても LH とほぼ同様の傾向が認められたが, 高値の持続時間は LH より長く, 従つて波動的 pattern はさほど著明ではない. 1 時間毎に採取した尿中の LH は, 血中 LH よりわずかに遅れて段階的に上昇した. 然し血中 LH レベルのような著明な変動は見られなかった. 1 時間分画採尿における尿中 estrogen 値では著明な変化はみられなかった.

正常月経周期婦人の卵胞期に毎日 1 回, LH-RH 100 μg を 3 日間連続皮下投与した時の 30 分, 及び 1 時間後

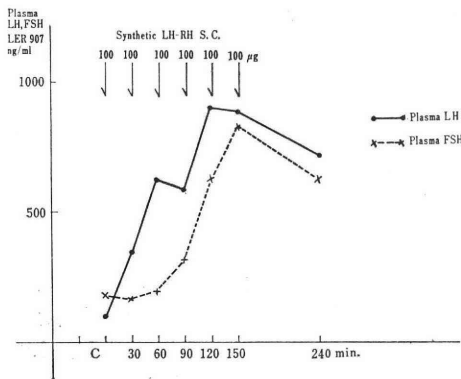


図 1 Plasma LH and FSH patterns before and after the repeated Administrations of synthetic LH-RH in subject at follicular phase

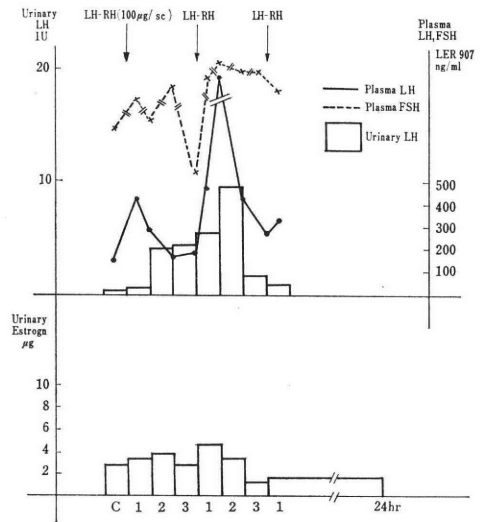


図 2 Plasma LH, FSH, Urinary LH and estrogen patterns before and after repeated administrations of synthetic LH-RH in subject at follicular phase (day 10)

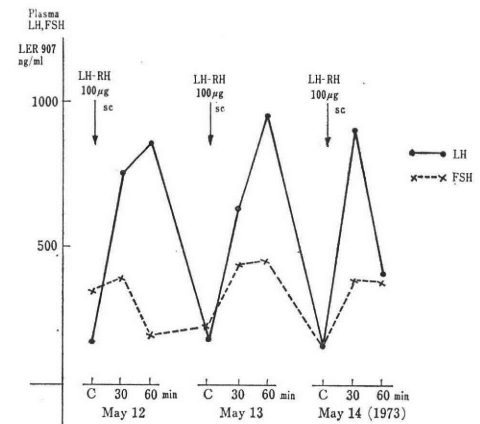


図 3 Plasma LH and FSH Patterns before and after the repeated administrations of synthetic LH-RH in subject

の血中 LH, FSH は図 3 の通りである. 血中 LH は 1 時間で peak を示し, 24 時間後では対照値に戻った. FSH についてもほぼ同様の傾向を認めた. 又この場合, 前述の 30 分間隔, 或は 3 時間々隔の場合と異り加重的効果は認められなかった.

II. 静脈内持続投与

静脈内持続投与では他の投与方法と異なり, 血中 LH-RH 濃度を常に一定に維持できる特異性がある. 今回は LH-RH 500 μg を 500 ml の生食水に溶解し, 4 時間で点滴が終了するように速度調節を行った. 1 例では LH-RH 1000 μg を 1000 ml の生食水に溶解し 8 時間持続投与し

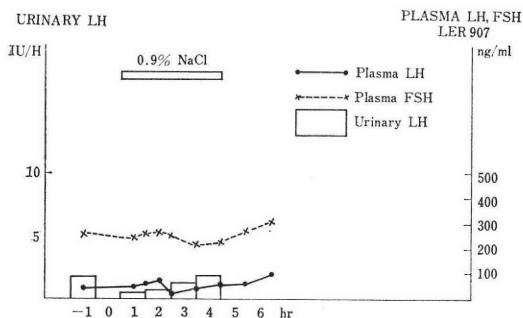


図 4 Plasma LH, FSH and urinary LH levels before, during and after 4-Hr infusion of saline in a subject at follicular phase. (35 yrs)

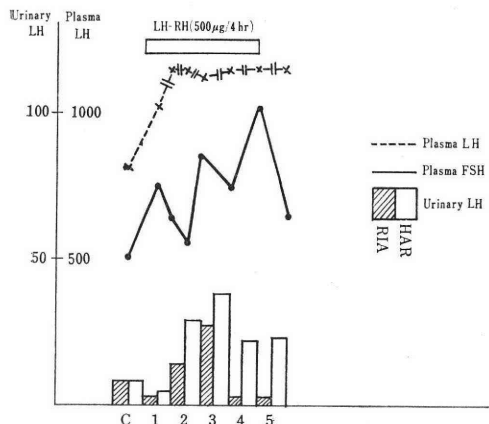


図 5 Plasma LH, FSH and urinary LH Levels after the administration of synthetic LH-RH in castrated woman (55 yr)

た。図 4 は対照として生食水 500 ml を、4 時間、静脈内点滴投与を行ったものである。血中 LH, FSH, 尿中 LH には殆んど変化が見られなかった。

estrogen 産生が極めて少いと考えられる去勢後 1 カ月の婦人に、LH-RH 500 µg を 4 時間静脈内持続投与した場合(図 5)血中 LH, FSH は急速に上昇する。特に LH は以後の経過において所謂 pulsatile な変動を示した。尿中 LH は血中より遅れて、明らかに上昇するがその変動 pattern は著明ではなかった。

正常月経周期婦人の卵胞期に静脈内持続投与した場合、血中 LH, FSH はいずれも上昇するがその増加率には個体差がある。さらにこれら血中濃度は波動を示しながら経過し、点滴中止後は急速に下降する(図 6, 7)。尿中 LH も投与開始後急速に増加し対照の 10~20 倍に達する。尿中 estrogen は尿中 LH とほぼ平行して増量し、対照値の 3~4 倍に達する。点滴中止後も約 2 時間程度は比較的高値を持続するが、それ以後次第に

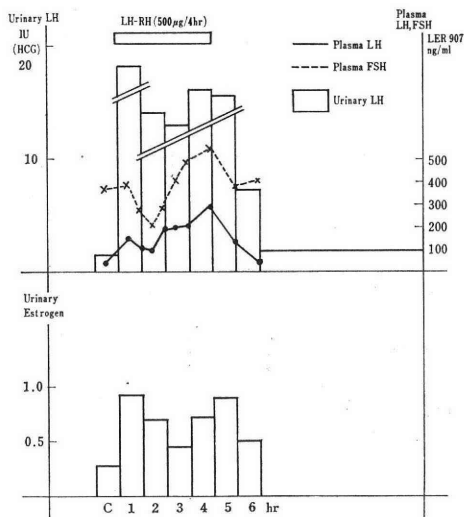


図 6 Plasma LH, FSH, urinary LH and estrogen levels following the administration of synthetic LH-RH with infusion in subject. At follicular phase after hemioophorectomy.

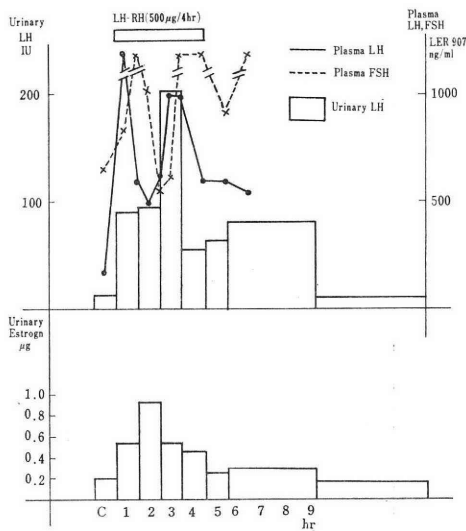


図 7 Plasma LH, FSH, urinary LH and estrogen patterns before, during and after 4-hr infusion of synthetic LH-RH (125 µg/hr) in subject

下降するようである。

図 8 には多嚢胞性卵巣 (PCO) の患者に LH-RH を持続投与した例を示した。本例は稀発月経を伴う無排卵症で、Clomiphene の繰り返しの投与に対して排卵しなかった。開腹時の卵巣の組織学的所見では、厚い被膜、結合織性の間質、多数の小嚢胞が見られるが黄体は認められ

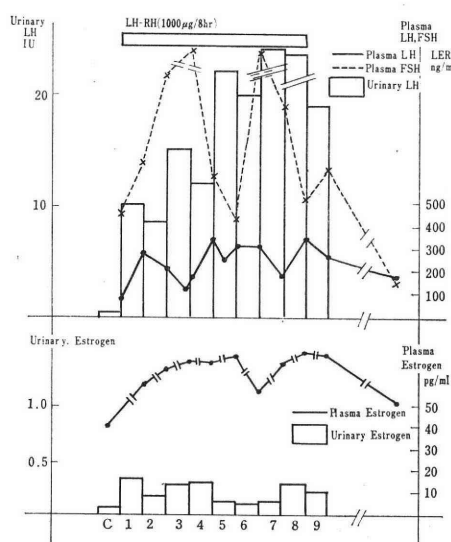


図 8 Plasma LH, FSH, urinary LH and estrogen patterns before, during and after 8-hr infusion of synthetic LH-RH (1000 µg/8 hr) in subject of polycystic ovary

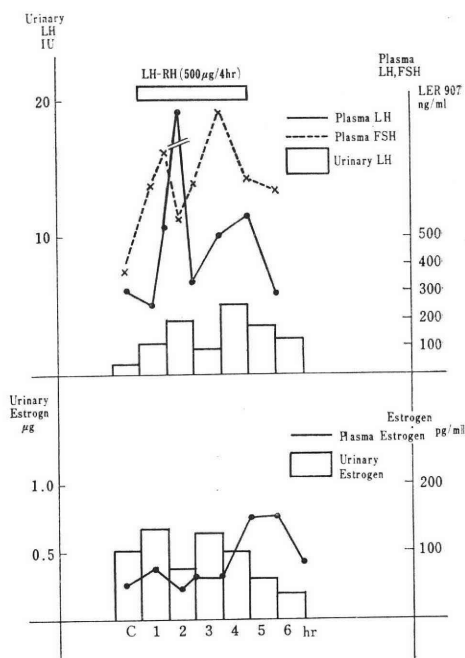


図 10 Plasma LH, FSH, urinary LH and estrogen patterns before, during and after 4-hr infusion of synthetic LH-RH (500 µg/4 hr) in subject of polycystic ovary post wedge resection

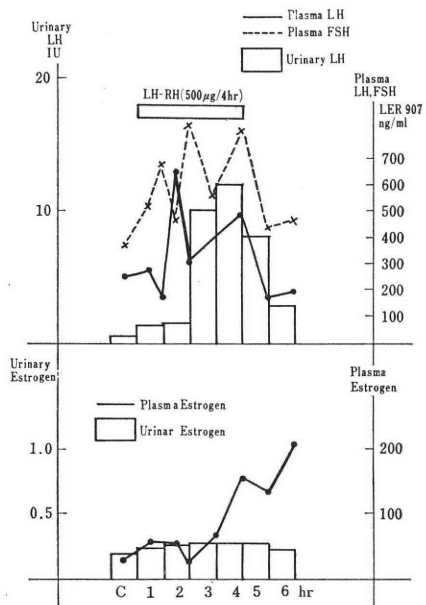


図 9 Plasma LH, FSH, urinary LH and estrogen patterns before, during and after 4-hr infusion of synthetic LH-RH (500 µg/4 hr) in patient of polycystic ovary (1)

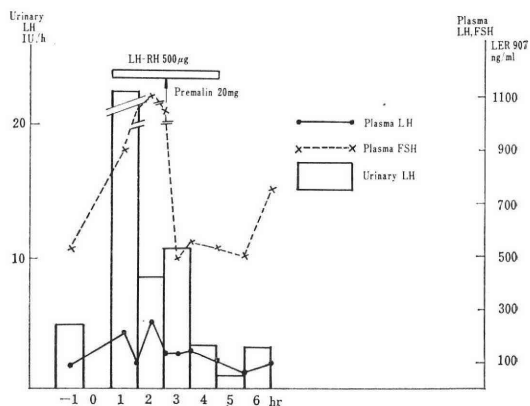


図 11 Plasma LH, FSH and urinary LH levels before, during and after 4-Hr infusion of synthetic LH-RH (125 µg/h) and a single shot injection of premainin (20 mg) in a castrated woman

ず、卵巣腫大を示さない PCO と考えられる例である。この症例に LH-RH 1000 µg を 8 時間持続投与したところ、血中 LH, FSH は共に約 3 倍の増加を示し、さらに pulsatile な推移経過を示した。尿中 LH は 10 倍

以上の増量を示した。血中 estrogen は尿中 LH と同程度の増加を示したが、尿中 estrogen の増加率は低かった。

図 9 は組織学的に典型的な PCO 像を認めた症例に LH-RH 500 µg を持続投与した場合のホルモン変動を

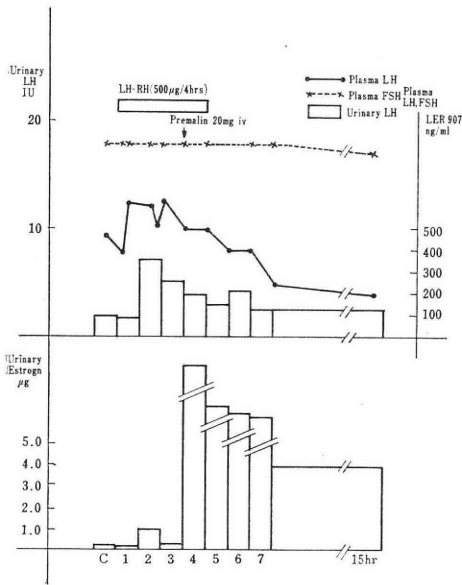


図 12 Plasma LH, FSH, urinary LH and estrogen patterns before, during and after 4-hr infusion of sythetic LH-RH (125 µg/hr) and one single injection of peremalin (20 mg) in subject

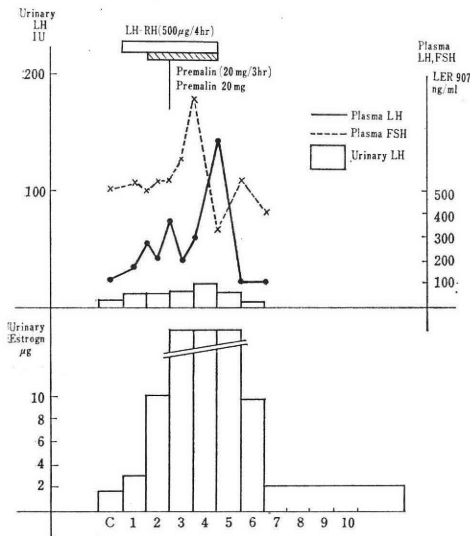


図 13 Plasma LH, FSH, urinary LH and estrogen patterns before, during and after 4-hr infusion of sythetic LH-RH (125 µg/hr), simultaneous 3-hr infusion of peremalin (20 mg/3hr) and one single injection of peremalin (20 mg) in subject at follicular phase.

(正常値: 2.8 ± 1.1 mg), 尿中 17 KS は 5.05 mg/day (正常値: 3.8 ± 1.2 mg) であつた. LH-RH 投与により血中 LH, FSH は約 2 倍程度に増加し, さらに図 8 例と同様の pulsatile pattern を示した. 尿中 LH は 3 時間目に 10 倍以上の増加を示した. 血中 estrogen は 4 時間後から急速に増加を示したが, 尿中 estrogen にはほとんど変動が認められなかつた. 本症例に卵巢の楔状切除を行い, 術後 2 週間で同様の LH-RH 投与を実施した結果を図 10 に示した. 血中 LH, FSH, estrogen の変動 pattern は術前と同様であり, 尿中 LH の上昇率は最高で 5 倍程度である. 尿中 estrogen の増加率は著明ではないが, 基礎分泌が充進していることが特徴的であつた. なお, 術後の尿中 17 KS は 3.6 mg/day, 17 OHCS は 2.1 mg/day であつた.

LH-RH の下垂体刺激作用に及ぼす estrogen の影響をみる目的で, 去勢婦人(去勢後 1 カ月)に LH-RH 500 µg 点滴投与中に conjugate estrogen である Premalin 20 mg を他側静脈から quick injection を行つた. 図 11, 図 12 に示される如く, LH-RH 投与により上昇した血中, 尿中 LH は共に減少を示し, 点滴続行による以降の上昇が見られなかつた. 血中 FSH は 1 例では著明に減少したが, 他の 1 例では変化が見られなかつた. 一方卵胞期に LH-RH 500 µg と Premalin 20 mg とを混合持続投与中, さらに Premalin 20 mg の quick injection を行つると, 図 13 の如く血中 LH, FSH は却つて一過性の上昇を示した.

〔考 案〕

成熟卵胞から排卵が起るために必要な LH の血中濃度及び持続時間についての明確な実験的証明は未だ得られていない. 正常周期においては, 排卵時の血中 LH surge は約 24 時間持続するものと考えられる(齊藤他 1973)⁵⁾. しかし無排卵症に対し LH-RH を 1 回, 皮下筋注しても排卵する例があることから考えると, 排卵に要する LH の高血中レベルは, 時には 2 ~ 3 時間で十分であろうという推定も成立つ.

合成 LH-RH を無排卵症或は第一度無月経の症例に排卵誘発を目的として投与する場合, 如何なる量, 如何なる投与方法が有効であるかという問題は臨床的に極めて興味がある. 一過性に LH の peak をつくるという意味からは静脈内への quick injection が望ましいし, 又一定時間にわたり血中 LH レベルを持続させるためには infusion が適当である. しかし infusion のように同じ刺激を持続した場合, その生物学的効果は経時的に低下してくることも考えられる. 周期的に刺激した方が効果的なこともありうる.

示した. 本例は無排卵症を伴う稀発月経で, Clomiphene の繰り返し投与に反応せず, 17 OHCS は 7.88 mg-day

有村, Schally (1972)⁹⁾は、幼若オスラットに同量の LH-RH を quick injection と 4 時間持続 infusion 投与を行つたところ、quick injection の場合は 15 分後には血中 LH, FSH 共に増加がみられたが 60 分後では生食水投与の対照例との差が認められなかった。一方 infusion の場合は 4 時間後になお血中 LH, FSH 共に著明な増加を示したことから、LH-RH の血中濃度を考慮すれば infusion の方が下垂体刺激効果は著明であると述べている。

quick injection の繰り返し投与に関して飯塚ら (1973)⁷⁾は、LH-RH 200 μg を 2~3 時間おきに 6 回投与して、血中 LH, FSH に相加的傾向がみられることを報告している。又排卵誘発を目的として LH-RH の infusion を行つた水口ら (1973)⁸⁾の報告では、1000 μg 24 時間投与で高い血中 LH, FSH が得られたが 12 時間後より低下して来たことを認めている。この際 LH-RH 投与中の LH, FSH の所謂 pulsatile な変動は認めていない。採血時間の間隔によるのであろうか。今日のわれわれの実験成績では、LH-RH による下垂体の反応は少くとも 3 時間々隔以内の繰り返し皮下投与で、血中 LH, FSH レベルには加重的増加がみられた。より長時間々隔投与については検討していないが、恐らくその反応は plateau になるか、或は低下することも予想される。従つて順次、投与量を増やすことも一法であろうと考えられる。

4 時間の infusion の場合、血中 LH, FSH は初め急速に増加するがその後 drop して所謂 pulsatile に変動する。一方血中及び尿中 estrogen も LH-RH 投与によりわずかに増加する傾向を示した。特に尿中 LH と尿中 estrogen の排泄 pattern から、卵巣が急速に gonadotropin に反応することが伺われる。

多嚢胞卵巣 (PCO) の LH-RH に対する反応態度について、中村ら (1973)⁹⁾は術前 LH-RH test で LH 前値が比較的高値で反応も良好な例では、楔状切除後の排卵成績がよいとしている。又術後成績の良好なものでは、術後の LH-RH test で LH, FSH 値共に前値及び反応値が上昇している例が多いとしている。青野 (1973)¹⁰⁾は PCO の LH-RH test で、LH は約 4 倍の上昇を示したが FSH は 1.3 倍程度の上昇しかみられず、この点卵巣原発型の機能不全と区別できるとしている。すなわち LH-RH test で PCO は所謂間脳下垂体系における変調の成立機転に関与している推定している。しかし卵巣の steroidogenesis に関与する酵素系が単なる中枢の変調によつて変化しうるものかどうかの実証はない。

下垂体からの LH 分泌が FSH より dominant であるにも拘らず、卵巣に polycystic な変化が発生するという機序は一般に理解し難い。従つて卵巣側の器質的、機能的原因も十分考慮する必要がある。

血中に増加している testosterone の視床下部に対する影響が PCO の原因の一つに考えられているが、青野 (1973)¹⁰⁾の報告によれば Premalin test では間脳の estrogen に対する反応はほぼ正常型という結果が報告されている。間脳の内分泌学的異常という表現が如何なることを意味するのか、又下垂体からの LH 放出 pattern が異なるというのであれば、その pattern 分析、さらにはこれを引き起す機序についての考察がなされないと、間脳不全の内容が判然としない。中村ら (1973)⁹⁾によると、卵巣の楔状切除後では LH-RH test による LH, FSH の反応が著明になるものがあり、これは血中 testosterone の低下と関連があると報告している。しかし術前でも G-放出反応が良好な例が見られ、これら症例における testosterone 値との相関は不明である。

われわれの 2 例の infusion による LH 及び FSH の反応 pattern は、正常周期卵胞期のそれと比べて差異は見られなかった。血中 estrogen の変動も卵胞期の値と類似しているが、尿中 estrogen についてみると総排泄量は確かに低い。術後の LH-RH-test でも血中 LH, FSH の反応 pattern は術前と変りなく、尿中 LH の増加率は却つて減少しているが、尿中 estrogen はむしろ増加している。すなわち楔状切除により卵巣機能は確かに改善されたことが想像される。従つて術前後の LH-RH-test の解釈には血中或は尿中 estrogen の分析が是非必要である。Yen ら (1970)¹¹⁾は 16 例の PCO の患者について血中 LH, FSH を連続測定した結果、LH は高値を持続し乍ら不定の fluctuation を示すが FSH は low level で constant であつたとし、又 estradiol 400 μg を 4 時間静脈内に infusion した結果では LH の急激なしかも著明な抑制がみられたが FSH には影響が見られなかったと報告している。このことは estradiol の投与によつて LH も FSH も共に抑制される正常周期の場合と異なる点であり、このような LH, FSH 放出 type が abnormal な steroidogenesis を起すのかも知れないと言っている。以上の如く PCO の中枢機能テストの結果が報告者により異なるのは、PCO の病態そのものの variation が大きいというところに原因があることも考えられる。

LH-RH の持続投与中に Premalin 20 mg の single shot injection を行つた実験で、去勢婦人の場合は LH, FSH 共直ちに放出が抑制された。しかし卵胞期婦人で LH-RH と Premalin の混合 infusion 中にさらに Pre-

malin を single shot injection を行つたものでは、血中 LH, FSH は共に一過性に上昇を示した。

すなわちあるレベルの estrogen で priming された下垂体がさらに大量の estrogen の急激な刺激を受けると、その刺激は下垂体に positive-feedback 的に作用すると考えられる。このような実験成績と解釈は、ヒトにおける midcycle の estrogen 増量と LH-surge の関連性を説明するのに好都合である。

Steroid の視床下部或は下垂体の調節機構に関してはすでに多数の報告がある。最近の 2~3 の文献についてみると、Kulin ら (1972)¹²⁾ は正常男子に ethynil estradiol 8~50 μ g を 1 週間連続投与した実験で、32~42 μ g の量では FSH の抑制がみられたが LH の抑制は見られず、従つて estrogen による FSH と LH 抑制の threshold に差があることがわかるとしている。Ganss ら (1962)¹³⁾、Parlow (1964)¹⁴⁾ はラットの実験でこれと反対の結果を報告しており、種属による調節機能の相異を窺わせる。又 sex steroid が LH-RH の LH, FSH 放出に与える影響については、Schally (1971)¹⁵⁾ はラットの実験で progesterone は視床下部に直接作用して LH-RH の作用を block し、estrogen は LH-RH の作用を促進させるが大量を投与すると FSH の放出を抑制するとしている。又 in vitro の実験では Schally ら (1972)¹⁶⁾ は、培養液中に ethynil estradiol (0.5 mg/ml) を加えることにより LH-RH による下垂体からの LH, FSH 放出が抑制されることを認め、estrogen の下垂体への直接作用を示している。この事実は去勢婦人に premalin を投与したわれわれの結果と一致するものである。Debeljuk ら (1972)¹⁷⁾ はラットを用いた testosterone 1.5 mg (T), estradiol benzoate 20 μ g (EB), +1.5 mg+EB 20 μ g の投与実験で、EB 単独では抑制はおこらなかったが、T と EB の混合投与の場合には LH-RH の下垂体に対する作用が抑制されたことから、sex steroid は直接下垂体に作用すると結論している。steroid の視床下部及び下垂体への作用機序について、Schneider ら (1970)¹⁸⁾ は蛋白合成阻害剤を用い実験から、peptide 或は protein の生成により媒介されると発表している。現在では cyclin AMP dependent protein kinase が ATP の γ -P を利用して特異的な蛋白をリン酸化し、それ以下の反応を規定してゆくという概念に発展している (兼子 1973)¹⁹⁾。最近血中の LH-RH の測定が報告されるようになり (Nett et al 1973²⁰⁾、Crighton et al 1973²¹⁾、Keye et al 1973²²⁾、Arimura et al 1973²³⁾、LH-RH と LH, FSH 放出との関係がさらに明らかにされつつある。われわれが今回行つた LH-RH infusion の経験では、LH-RH 投与と下垂体の

反応を経時的に観察すると、個体の条件によりその細部はかなり相違することがわかつた。

結 論

1. 合成 LH-RH を 3 時間々隔以内で繰返し皮下投与した場合、血中 LH, FSH 放出には加重的効果が認められた。
2. 合成 LH-RH 500 μ g を静脈内に持続投与すると血中 LH, FSH は急速に上昇するが直ちに plateau に達し、その後は pulsatile の fluctuation を示し作ら経過する。
3. PCO に合成 LH-RH 500 μ g を持続投与した場合の反応 pattern と正常周期を対象としたものとの間に相異は認められなかつた。しかし卵巣の楔状切除後は LH-RH 投与によつて血中及び尿中 estrogen の増加が認められた。
4. 合成 LH-RH 持続投与中に premalin 20 mg を single shot injection すると血中、尿中 LH の低下が著明であつた。予じめ Premalin で前処置されていた場合には血中 LH, FSH の一時的上昇が認められた。

終りに臨み合成 LH-RH と尿中 LH 測定のため、Hi-gonavis を提供していただいた持田製薬に感謝します。

文 献

- 1) Midgley, A. R.: J. clin. Endocr. 27: 295, 1967.
- 2) J. Hotchkiss, L. E. Atkinson, and E. Knobil: Endocrinol. 89: 177, 1971.
- 3) Cohen, S. L., J. clin. Endocr. 26: 994, 1966.
- 4) Broun, J. B.: Biochem. J. 60: 185, 1955.
- 5) 斉藤 幹, 熊坂高弘, 西 望, 加藤広英, 矢追良正, 小山嵩夫, 大蔵健義, 古屋徳夫, 長岡成郎, 有村 章, Schally A. V., 日産婦誌, 25: 955, 1973.
- 6) Arimura, A., L. Debeljuk and A. V. Schally: Endocrinol. 91: 529, 1972.
- 7) 飯塚理八, 中村幸雄, 黒川博厚, 松本 茂, 斉藤 薫: ホと臨床, 21: 935, 1973.
- 8) 水口弘司, 森 宏之, 田村 貴, 坂本正一: ホと臨床, 21: 365, 1973.
- 9) 中村幸雄, 清水謙一, 黒川博厚, 斉藤 薫, 小林俊文, 飯塚理八: 産婦の世界, 25: 1095, 1095, 1973.
- 10) 青野敏博: 日産婦誌, 25: 945, 1973.
- 11) Yen, S. S. C., P. Vela, and J. Rankin: J. clin. Endocrinol. 30: 435, 1970.
- 12) Kulin, H E. and E. O. Reiter: J. clin. Endocrinol. 35: 836, 1972.
- 13) Gans, E. and Van Rees, G. P.: Acta Endocrinol. 39: 24, 1962.

- 14) Parlow, A. F. *Endocrinol* 75 : 1, 1964.
- 15) Schally, A. V., A. J. Kastin and A. Arimura : *Fertil. and Steril.* 22 : 703, 1971.
- 16) Schally, A. V., T. W. Redding, H. Matsuo and A. Arimura : *Endocrinol*, 90 : 1561, 1972.
- 17) Debeljuk, L., A. Arimura and A. V. Schally : *Endocrinol*, 90 : 1578, 1972.
- 18) Schneidr, A. P. G. and S. M. McCann : *Endocrinol.* 87 : 330, 1970.
- 19) 兼子俊男 : ホと臨床, 21 : 893, 1973.
- 20) Nett, T. M., A. M. Akbar, G. D. Niswender, M. T. Hedlund, and W. F. White : *J. clin. Endocrinol. Metab.* 36 : 880, 1973.
- 21) Crighton, D. B., J. P. Foster, D. T. Holland and S. L. Teffcoate : *J. Endocrinol.* 59 : 373, 1973.
- 22) Keye, W. R. Jr., R. P. Kelch, G. D. Niswender and R. B. Jaffe : *J. clin. Endocrinol. Metab.* 36 : 1263, 1973.
- 23) Arimura, A., H. Sato, T. Kumasaka, R. B. Worobec, L. Debeljuk, J. Dunn, and A. V. Schally : *Endocrinol.* 93 : 1092, 1973.

Pituitary-Gonadal Response to the
Administration of Synthetic LH-RH
by repeated subcutaneous Injection
and Infusion in men

**Takahiro Kumasaka, Yoshimasa Yaoi, Koei Kato,
Takeyoshi Ohkura, Nozomu Nishi,
Takao Koyama and Motoi Saito**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Tokyo Medical and Dental University

Synthetic LH-RH was repeatedly injected s.c. at follicular phase with various time intervals. LH and FSH levels were increased accumulatively, when the injection interval was shorter than 3 hours.

Normal menstrual and castrated women were subjected to an infusion of 500 ug LH-RH over four hours. After the sharp elevation of serum LH and FSH concentrations, the increased LH and FSH level were maintained with periodic and pulsatile pattern. The response of LH and FSH release after the infusion of LH-RH in polycystic ovary was not distinguishable from that of normal menstrual women. The single shot injection of Premalin 20 mg was given during the LH-RH infusion to investigate the effect of estrogen on the pituitary. Elevated LH and FSH secretion induced by LH-RH were markedly depressed. On the contrary, serum LH and FSH increased promptly after the quick injection of Premalin in preliminary estrogen treated case.

受精における線維素溶解現象の意義について

On the Significance of Fibrinolytic Phenomenon in Fertilization

東京医科大学産婦人科学教室 (主任 藤原幸郎教授)

浜 野 壹

Makoto HAMANO

Department of Tocology and Gynecology, Tokyo Medical College, Tokyo

(Director: Prof. Y. Fujiwara)

著者は、Fibrin 平板を用いて頸管粘液、頸管粘膜、精液の線溶活性値の測定を行い、次の結論をえた。排卵期頸管粘液の流動性は、activator 作用によるところが多く、Estrogen 作用の支配により変動するものと推測される。頸管粘膜も同様のパターンで変動し、又頸管粘液の分泌源の局在を Fibrin Film method を用いて証明した。精液における線溶活性も activator 作用によるところが多く、線溶活性値は精子数、精子運動率の良好なものほど高値を示し、精子には plasmin 活性はみられなかつた。Millerkurzok test 陽性例における頸管粘液と精液の等量混合液の活性値は、頸管粘液と精液の活以上の値を示し、精液中の plasminogen が両者の activator により活性化され plasmin 様物質を産生し線溶活性の増大を来し、精子の穿通性を良好にしているものと推測される。陰性例における等量混合液の活性値は頸管粘液と精液の和以下の値を示し、頸管粘液には精液に対する anti-plasmin の存在が推測せられる。

I. 緒 言

線維素溶解現象 (以後線溶現象と略す) は、Dastre¹⁾ (1893) により初めてそれが特有の酵素によつて起るものであることが立証され、Macfarlane²⁾ (1937) は臨床応用のきつかけを作り、その後幾多の研究者により研究され今日に至っている。線溶は単に一度凝固した血液が溶けるといだけではなく、炎症、腫瘍、ホルモン代謝等にも関連するもので広い分野において線溶の立場から研究されてきている。特に Astrup & Permine³⁾ (1948) は、血液以外の組織或いは体液を Fibrin 平板法により線溶系因子を測定する事を可能とし、現在臨床面に広く利用されてきている。本邦においては安部⁴⁾ (1966) がこの方法を導入して以来臨床的応用が可能となり、この分野の研究が活発になってきた。産婦人科領域においても多くの線溶現象に関する多くの研究発表がなされているが、従来の発表は血液に関する研究が多く、血液以外の分野での研究は少ない。受精に関した研究では、古くは Miller-Kurzrok⁵⁾ (1928) によつて精液には頸管粘液を溶解する作用があることが発見され、その後 Huggins & Neal⁶⁾ (1942) 中に Fibrin を溶解する酵素が存在するこ

とを報告している。又 Von Kaulla & Shettler⁷⁾ (1954) は、頸管粘液、精液について線溶の立場からその因子を測定し、受精に関する線溶現象の意義を考察した。本邦では雨宮⁸⁾ (1964)、岡崎⁹⁾ (1971) 等により詳細な発表が行なわれているが、受精に際し精子の遭遇する第1の重要な場所は頸管粘液であり、排卵日には流動性を増し精子の穿通作用に線溶現象が関係あることが推測された。従来 Fibrin 平板法による線溶測定法について Fibrinogen の量が問題となるので、Quick¹⁰⁾法により Fibrinogen 測定を行い Fibrin 平板を作製し、これを用いて排卵期を中心とした頸管粘液並びにその分泌源である頸管粘膜、精液の線溶系各因子の値を測定し、又 Fibrin Film method による頸管粘膜に存在する分泌細胞の局在を証明した。又同時に Miller-Kurzrok test に於ける頸管粘液、精液および両者の等量混合液における陽性例、陰性例の線溶活性等を研究することにより、受精における線溶現象の意義を解明するために本研究を行った。

II. 実験方法

A. 実験材料

1) 頸管粘液

東京医科大学病院産婦人科不妊外来を訪れた患者より、1 ml のツベルクリンシリンジにて採取した。排卵期及びその前後に採取し、帯下により混濁したものや血液を混じたものは使用しなかつた。排卵期の判定は、B.B.T.、頸管粘液量、結晶形成、牽糸性、透明度により判定した。

2) 精液

不妊外来を訪れた患者の夫の精液を使用し、禁欲4～5日後用手法にて滅菌シャーレに採取させた。採取後30分間室温に放置後、精液量、精子数、精子運動率についての検査を行った。

3) 頸管粘膜

性周期を有する患者の Biopsy 並びに手術時の頸管粘膜を使用した。

B. 試薬

Fibrinogen : Amour Laboratories 社製の Bovine-Fibrinogen

Thrombin : 持田製薬社製

Plasmin : ミドリ十字社製

Strepto kinase : Lederle Laboratories 社製の Vari-dase

Imidazol Buffer : 東京化成社製

Borate Buffer : 岡崎の方法により作製

C. 測定法

1) 標準 Fibrin 平板作製法

Fibrin 平板作製にあたり、Bovine-Fibrinogen の量に問題があるので、表1に示す様に Quick 法による Fibrinogen 測定により80 mg/dl に基準を定めた。平板作製方法は、Bovin-Fibrinogen 300 mg をピーカーに

表1 ボビン・フィブリノーゲンの測定法(Quick法による)

1. 使用器具並びに試薬

- | | |
|--------------|---------------|
| 1) ハーゲドロン管 | 2) ガラス棒 |
| 3) 1ml ピペット | 4) ろ紙 |
| 5) 10単位トロンビン | 6) 0.85% NaCl |

2. 測定法

- 1) ハーゲドロン管中に0.85% NaCl 約15ml とボビンフィブリノーゲン1 ml と10単位、トロンビン1滴(約0.05ml)を入れ約1時間、37°C 中に放置
- 2) フィブリンが完全に析出したら、ガラス棒にて巻きたる
- 3) ろ紙にて水分を完全に除去し、フィブリンをガラス棒より除去
- 4) 37°C のフラン器内で、1夜放置して乾燥させ、重量を化学天秤にて測定(単位mg/dl)

計り、0.85 NaCl 90 ml と Imidazol Buffer 10 ml を混和した溶液により溶解し、その8 ml を内径8 cm のシャーレに流し水平静置を行い、均一な Fibrinogen 液を作製し、50単位/ml の Thrombin 液1 ml をピペットにて4滴散布添加し、直ちにシャーレを水平に動かし Thrombin 液の均等混和をはかり、室温に30分間放置し作製した。

2) 加熱 Fibrin 平板作製法

標準 Fibrin 平板を85°C、30分間恒温器にて加温し、以後室温になるまで放置作製した。

各々の平板上に頸管粘液0.05 ml、精液0.05 ml、頸管粘液と精液の混合液0.05 ml を滴下し、又頸管粘膜は20 mg を平板上に置き、37°C の恒温器に20時間加温静置し、その活性値を測定した。尚精液中の精漿、精子の分離については、精液を3000回転/min で10分間遠沈して上層を精漿とし、沈渣を3000回転/min 10分間遠沈を3回繰返し精子とした。又精漿 Euglobulin (以後 Eug と略す) の作製は、精漿を蒸留水で20倍量に稀釈し、ガラス電極 pH メーターで pH を測定し、酢酸を加えて pH 5.2 に調整し、3000回転/min で10分間遠沈し、その上清をすてて沈渣に、Borate Buffer (pH 7.75) を加えてもとの精漿量にもどし作製した。これらの0.05 ml を平板上に滴下し活性値を測定した。

判定は平板上の表面に形成された溶解部分の長径を測定し、この積 (mm²) をもつて線溶活性値とした。尚 Strepto kinase (以後 S.K と略す) の最適単位量100単位/ml (岡崎1971) を使用した。

3) Fibrin Film method による Fibrine 溶解の局在診断法。

採取した頸管粘膜をクレオスタットにて8 μ に Frozen section し、頸管粘膜の切片を作りスライド・ガラス上にのせる。次にその切片上に50単位/ml の Thrombin 液を2～3滴垂直滴下し、さらに Fibrinogen 液を2～3滴散布し均等混和を行う。直ちに凝固するが、それを37°C、30分間恒温器にて加温後室温まで放置し、メタノールとエーテルを半々に混和した固定液に入れ20分間固定を行う。その標本を Fibrine 染色を行い、バルサム封入し検鏡する。

4) 線溶系因子の測定は、次の様に行つた。

① 加熱平板上に被検液0.05 ml を滴下し、その測定値を plasmin 値 (以後 pl と略す) とした。

② 標準平板上に被検液0.05 ml を滴下し、その測定値と①の pl 値との差をもつて activator 値 (以後 act と略す) とした。

③ 加熱平板上に被検液と100単位/ml の S.K 液の等量混合液0.05 ml 滴下し、その測定値と①の pl 値との

差をもつて plasminogen 値(以後 plg と略す)とした。

④ 標準平板上に被検液 100 単位/ml S·K 液の等量混合液 0.05 ml 滴下し, proactivator 値 (以後 proact と略す)とした。

⑤ 加熱平板上の 検液 0.05 ml における pl 値と被検液の Eug 値との差をもつて Anti-plasmin 値 (以後 anti-pl と略す)とした。

⑥ 標準平板上の被検液 0.05 ml における act 値と被検液の Eug 値との差をもつて Inhibitor 値 (以後 Inhi と略す)とした。

III. 実験成績ならびに小括

1) 基礎的研究

Fibrin 平板上による線溶活性の測定に関して, 従来 Fibrinogen の量に問題があるとされているので, Quick 法により簡易測定を行い Fibrin 平板を作製し, 本実験の基礎となるので線溶活性値と量的関係を調べ, その有用性を検討した。すなわち図 1 に示す如く, 標準平板上に plasmin を 0.025 ml, 0.05 ml, 0.1 ml, 0.15 ml と増量すると活性値は, 272 mm², 520 mm², 870 mm², 1320 mm² と増大し, $y=8191.2x+80.0$ の回帰曲線が得られ, 相関係数 0.998, F 値 598.77 と良好なる成績を示した。又加熱平板においても図 2 に示す如く両者の関係は plasmin を同様に増量すると活性値は, 53

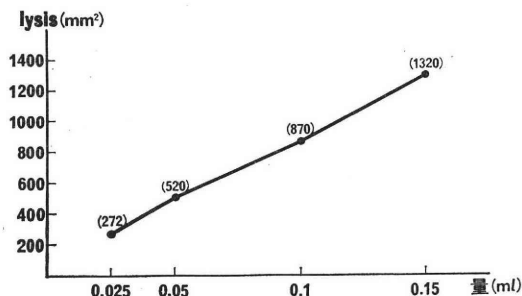


図 1 標準 Fibrin 平板

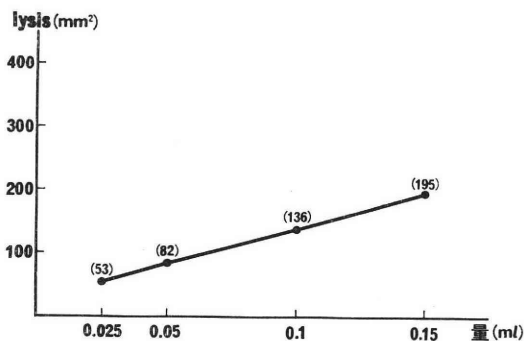


図 2 加熱 Fibrin 平板

mm², 82 mm², 136 mm², 195 mm² と増大し, 回帰曲線 $y=1129.5x+24.7$, 相関係数 0.9998, F 値 5641.37 と良好なる成績をえ, 本平板の臨床的応用に際しその有用性を証明した。

2) 臨床的研究

a) 頸管粘液について

図 3 は排卵期を中心にして頸管粘液の act 値を標準平板を用いて表わしたものである。排卵日を 0 として, それ以前を(-), それ以後を(+)として表わした。各々の値には 306~550 mm² とばらつきはあるが, 排卵期に近づくと徐々に上昇し, 排卵期には 580 mm² のピークに達し, 以下黄体期になるに従つて減少傾向を示した。尚実線は平均値を表わしたものである。又表 2 は個々の症例の活性値とその平均値を表わしたものである。これを同一個人について排卵期前後の変動を観察すると, 図 4 に示した如く, 排卵期 500 mm² をピークに漸次減少傾向を示した。図 4 中(-)~(卅)の記号は, 粘液結晶形成度を示したものである。又頸管粘液に SK を加えて proact 値を検討すると, 個々の症例及び平均値は表 3

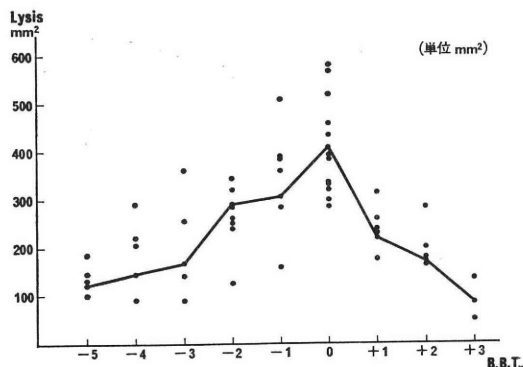


図 3 排卵日を中心とした頸管粘液の線溶活性値

表 2 排卵日を中心とした頸管粘液の線溶活性値
頸管粘液 (単位 mm²)

B.B.T.	- 5	- 4	- 3	- 2	- 1	0	+ 1	+ 2	+ 3
症例数	3	3	3	3	5	8	3	2	2
活性値	100	92	140	345	304	386	176	165	80
	120	140	90	286	388	285	240	180	85
	142	204	256	250	361	520	220		
					160	460			
					304	336			
						324			
					580				
					405				
平均値	121	146	162	294	303	412	212	173	83

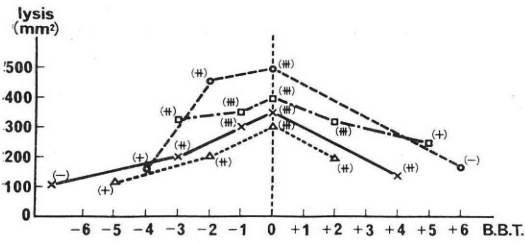


図 4 同一個人の排卵期前後の頸管粘液の線溶活性値

表 3 排卵日を中心とした頸管粘液の線溶活性値
頸管粘液+S.K. (単位 mm²)

B.B.T.	- 5	- 4	- 3	- 2	- 1	0	+ 1	+ 2	+ 3
症 例 数	3	3	3	3	5	8	3	2	2
活 性 値	162	158	221	436	436	480	354	255	182
	244	278	321	372	574	362	213	271	188
	122	244	337	401	484	760	321		
					224	566			
					337	465			
平 均 値	176	237	293	403	411	555	296	263	185

に示す如く act 値と同様に排卵期の 798 mm² をピークにその前後は減少傾向を示している。加熱平板を用いて

表 4 排卵日を中心とした頸管粘膜の線溶活性値
頸管粘膜 (単位 mm²)

B. B. T.	- 5	- 4	- 3	- 2	- 1	0	+ 1	+ 2	+ 3	+ 4	+ 5
症 例 数	2	2	2	3	2	3	3	3	3	2	2
活 性 値	598	840	1342	1600	1840	2140	754	518	457	345	330
	398	1220	930	1310	1600	1880	676	382	483	369	430
				1509		2050	730				
平 均 値	498	1030	1269	1472	1720	2000	720	450	470	357	380

表 5 排卵日を中心とした頸管粘膜の線溶活性値
頸管粘膜+S.K (単位 mm²)

B. B. T.	- 5	- 4	- 3	- 2	- 1	0	+ 1	+ 2	+ 3	+ 4	+ 5
症 例 数	2	2	2	3	2	3	3	3	2	2	2
活 性 値	1164	1320	1748	1835	2390	2890	1098	945	1020	885	880
	828	1670	1603	1550	2100	2580	1167	1000	995	914	871
				1750		2690	901				
平 均 値	996	1495	1675	1705	2245	2720	1050	970	1008	899	875

pl 値を測定したところ溶解がみられず、すなわち pl の存在は否定された。すなわち頸管粘液には pl は存在せず、多量の act, proact が存在することが判明した。

以上の結果より頸管粘液の流動性と線溶系との間に関連性が考えられるので、頸管粘液の粘稠度の大きいものに act 作用を有するところの Urokinase 0.05 ml を等量混合し牽糸性を調べたところ粘稠度の減少がみられた。すなわち頸管粘液の流動性と線溶活性とが関係あることが推測される。

b) 頸管粘膜について

標準平板を用いて排卵日を中心として頸管粘膜の act 値を観察すると表 4 に示す如く、排卵期に高値を示しており、又これらの症例の平均値は、排卵期における 2000 mm² をピークにその前後は減少傾向を示している。又、proact 値を検討すると表 5 に示す如く、その平均値は act 値と同様に排卵期には 2720 mm² に達し、その前後は減少している。すなわち頸管粘膜にも頸管粘液同様に pl は存在せず、多量の act, proact が存在する事が判明した。

c) Fibrin Film method による頸管粘膜の Fibrin 溶解の局在診断法。

頸管粘膜の線溶活性を調べた結果、頸管粘液と略同様のパターンで変動することがわかったので、その分泌源である頸管粘膜の分泌細胞の腺溶現象における局在を Fibrin Film method を行つて証明した。すなわち、写真 1 は頸管粘膜上皮細胞を示したものであり、これは

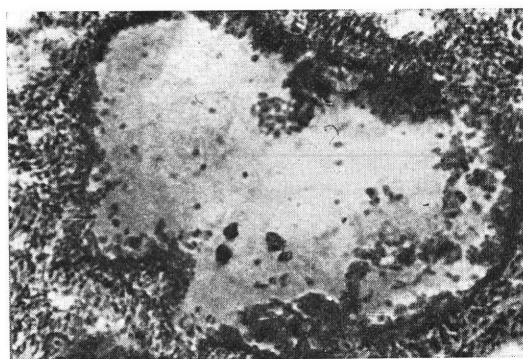


写真1 (10×10)

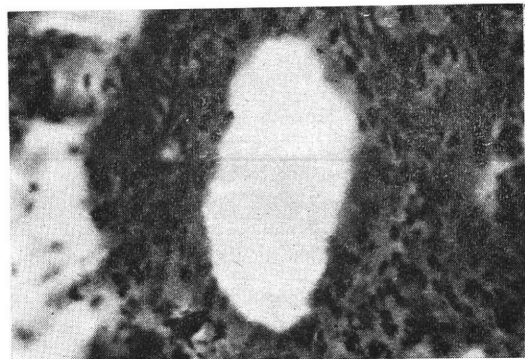


写真2 (10×10)

Fibrin 膜がみられ溶解或は認められていない. 写真2は Fibrin 膜の消失がみられ, 透明な溶解域が認められている. この溶解域が認められている部分は, 頸管粘膜上皮細胞の核上部細胞質内に存在している分泌物が線溶

活性を起したものであろうと推測せられる.

d) 精液について

正常精液を精漿, 精子に分離して線溶系因子とその活性値を検討すると表6に示す如く, 又これらの平均値を

表 6 精液における線溶活性値 (単位 mm²)

		標 準 平 板						加 熱 平 板						備 考	
		Sample			Sample+S. K.			Sample			Sample+S. K.			精子数 (×10 ⁶)	精 子 運 動 率 (%)
		精液	精漿	精子	精液	精漿	精子	精液	精漿	精子	精液	精漿	精子		
正 常 精 液	1	615	525	48	795	660	63	38	26	0	50	41	10	112	80
	2	582	502	44	575	652	57	36	26	0	49	37	9	91	82
	3	545	585	41	705	615	53	33	24	0	47	35	7	69	71
	4	603	498	46	781	670	59	35	25	0	48	38	10	120	68
	5	528	436	36	701	588	56	28	18	0	39	27	5	48	60
	6	578	492	43	758	636	54	34	24	0	49	34	7	79	75
	7	553	470	37	713	605	49	29	23	0	40	30	8	81	75
	8	582	428	43	750	645	56	35	22	0	50	40	8	89	76
	9	556	458	36	735	621	47	27	20	0	51	30	8	96	70
	10	598	488	46	775	654	58	35	24	0	49	36	9	107	72
精 子 減 少 症	1	492	350	33	562	460	41	35	24	0	48	46	7	30	69
	2	430	302	29	492	406	36	27	20	0	39	40	5	26	55
	3	436	300	29	502	410	37	28	19	0	40	43	5	28	50
	4	394	280	26	452	385	33	26	18	0	36	35	3	19	30
	5	412	301	28	470	406	34	28	18	0	38	35	4	23	45
	6	438	303	29	498	413	36	29	19	0	40	42	5	28	48
	7	440	302	20	504	404	37	30	22	0	41	42	6	26	48
	8	422	304	29	488	400	34	27	19	0	38	41	4	22	56
	9	478	318	31	548	423	37	32	23	0	44	45	7	30	58
	10	438	306	29	500	406	37	29	20	0	40	42	6	26	48
無 精 子 症	1	410	288		500	408		9	0		25	8			
	2	350	246		435	358		6	0		21	6			
	3	340	242		400	347		5	0		20	6			
	4	290	200		385	380		3	0		16	5			
	5	360	250		430	364		7	0		22	7			

表 7 精液における線溶活性値

(単位 mm²)

	標準平板						加熱平板						備考	
	Sample			Sample+S. K.			Sample			Sample+S. K.			精子数 (×10 ⁶)	精子 運動率 (%)
	精液	精漿	精子	精液	精漿	精子	精液	精漿	精子	精液	精漿	精子		
正常精液	574.0	488.6	42.0	747	634.0	54.6	33.0	23.1	0	46.4	34.6	8.2	89	73
精子減少症	483	306.6	29.4	502	441.2	36.2	28.9	20.3	0	40.4	41.2	5.1	26	51
無精子症	350	245.2		429	351.3		6.0	0		20.8	6.3			

示したものが表7である。act 値は精液 574.0 mm²、精漿 488.6 mm²、精子 42.0 mm² であり、proact 値は精液 747.7 mm²、精漿 634.6 mm²、精子 54.6 mm² であつた。又加熱平板上では精子は溶解を示さなかつたので精子の pl 活性はみられなかつた。次に正常精液、精子減少症(精子数3000万以下)、無精子症に分類し各々の活性値を比較検討すると、act 値は正常精液 574.0 mm²、精漿 488.6 mm²、精子 42.0 mm² に比し、精子減少症では、それぞれ 438.0 mm²、306.6 mm²、29.4 mm² と前者に比べ低値を示し、無精子症ではそれぞれ 350.0 mm²、245.2 mm² とさらに低値を示した。proact 値は正常精液では精液 747.0 mm²、精漿 634.6 mm²、精子 54.6 mm²、精子減少症ではそれぞれ 502.0 mm²、441.2 mm²、36.2 mm²、無精子症ではそれぞれ 429.0 mm²、351.3 mm² と act 値と同様に正常精液が高値を示し、精子減少症、無精子症の順に低値を示した。pl 値は正常精液では精液 33.0

mm²、精漿 23.1 mm²、精子減少症ではそれぞれ 28.9 mm²、20.3 mm²、無精子症ではそれぞれ 6.0 mm²、0 mm² と各々の値は正常精液に比し、精子減少症、無精子症の順に低値を示している。又 plg 値は正常精液では精液 13.4 mm²、精漿 21.5 mm²、精子 8.2 mm²、精子減少症ではそれぞれ 11.5 mm²、20.9 mm²、5.1 mm²、無精子症ではそれぞれ 9.8 mm²、6.3 mm²、0 mm² と pl 値同様の傾向を示し、正常精液に比し、精子減少症、無精子症の順に減少傾向を示しているが、これらの間には著差はみられなかつた。又正常精液、精子減少症、無精子症各々 5 例について精漿と精子に分離し、Inhi を検討するため精漿の Eug を作製し、Eug, Eug+S.K, Inhi, anti-pl の線溶活性値について個々の症例の値を示したものが表 8 でその平均値を示したものが表 9 である。尚 act 値は参考の為に掲載した。標準平板において Eug の act 値は正常精液 352 mm²、精子減少症 191 mm²、無精

表 8 精漿における線溶活性値

(単位 mm²)

		標準平板				加熱平板				備考	
		Act.	Eug.	Eug. +S.K.	Inhi.	pl.	Eug.	Eug. +S.K.	Anti-pl	精子数 (×10 ⁶)	精子 運動率 (%)
正 常 精 液	1	495	352	425	143	22.8	16.7	26.2	6.1	92	70
	2	524	367	432	157	23.0	15.9	21.3	7.1	95	73
	3	540	380	409	160	30.5	20.1	30.6	10.4	108	76
	4	482	358	388	124	27.2	17.3	25.1	9.9	86	67
	5	446	302	382	144	20.4	12.6	18.8	7.8	67	56
精 子 減 少 症	1	342	202	253	139	20.3	12.6	17.3	7.7	29	55
	2	315	186	246	129	18.7	14.2	21.3	4.5	23	38
	3	328	190	229	138	19.5	16.4	28.0	3.1	28	48
	4	304	194	224	110	18.9	14.0	16.2	4.9	21	37
	5	300	180	210	120	16.4	12.6	16.8	3.8	22	35
無 精 子 症	1	240	196	228	54	0	5.0	7.2			
	2	209	159	169	50	0	2.0	388			
	3	224	166	178	58	0	2.3	3.2			
	4	196	155	169	39	0	1.8	2.8			
	5	166	123	138	43	0	1.5	2.3			

表 9 精漿における線溶活性値

(単位 mm²)

	標準平板				加熱平板				備考	
	Act.	Eug.	Eug.+S.K.	Inhi.	pl.	Eug.	Eug.+S.K.	Anti-pl	精子数 (×10 ⁶)	精子運動率 (%)
正常精液	497	351	407	146	24.8	16.5	24.4	8.3	90	69
精子減少症	318	191	233	127	18.8	13.9	21.9	4.9	25	43
無精子症	208	160	176	48	0	2.5	3.9			

子症 160 mm², Eug の proact 値は正常精液 407 mm², 精子減少症 233 mm², 無精子症 176 mm², Inhi 値は正常精液 146 mm², 精子減少症 127 mm², 無精子症 48 mm² を示し、いずれも正常精液が他に比し高値を示しているが、Eug の act 値は他よりかなりの高値を示している。加熱平板において Eug の pl 値は正常精液 16.5 mm², 精子減少症 13.9 mm², 無精子症 2.5 mm² と少量ではあるが正常精液、精子減少症の順に高値を示し、特に無精子症では微量しかみられなかつた。又 Eug の plg 値は正常精液 7.9 mm², 精子減少症 4.5 mm², 無精子症 1.4 mm² と pl 値同様のパターンを示している。又 anti-pl 値

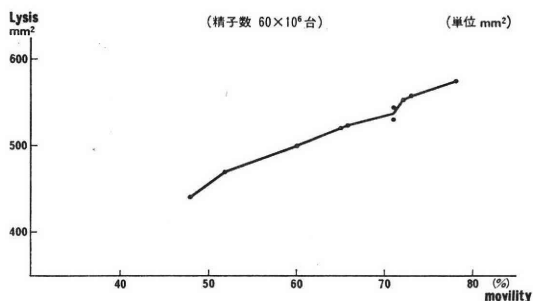


図 6 精子運動率と精液線溶活性値

は正常精液 8.3 mm², 精子減少症 4.9 mm², 無精子症 2.0 mm² を示し、無精子症では anti-pl 作用はないと推測される。又精液線溶活性と精子数、精子運動率との関連性が考えられるので、両者の関係を検討すると、表 6 の正常精液にみられる様に精子数 (精子運動率 70% 台を対象とした) の増加につれ act 値は図 5 に示す如く徐々に上昇傾向を示した。又精子数 6000 万台を対象とし精子運動率を検討すると、表 10 に示す如く、これを図示すると図 6 の如く運動率の上昇につれ act 値の上昇がみられた。よつて精子数、精子運動率と精液線溶活性とは平行関係にあることが判明した。

以上の結果より、精液には多量の act, proact が含まれ、線溶系における作用は act 作用が主であり、pl 作用は少なく精子には pl 活性はみられなかつた。又精子数、精子運動率と精液の線溶系各因子の関係は、両者に平行関係がみられ、精子数、精子運動率の上昇が線溶系の亢進を来し、妊孕性に好影響を及ぼすものと推測される。

e) Miller-Kurzrok test 陽性例、陰性例について。

頸管粘液、精液、精漿、精子、頸管粘液と精液との等量混合液を Miller-Kurzrok test 陽性例、陰性例に区別し、各々の線溶活性値を示したものが表 11 で、その平均値を示したものが表 12 である。act 値は陽性例では頸管粘液 251 mm², 精液 628 mm², 精漿 519 mm², 精子 46 mm² 等量混合液 661 mm² を示し、陰性例ではそれぞれ 109 mm², 543 mm², 420 mm², 14 mm², 267 mm² を示し、

(精子運動率 70% 台) (単位 mm²)

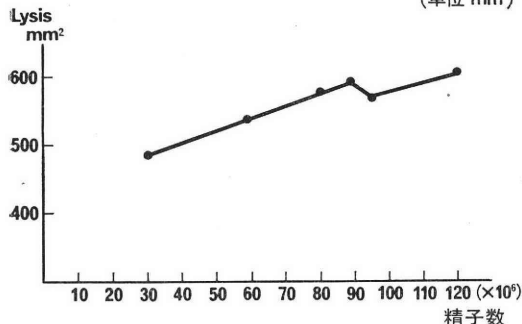


図 5 精子数と精液線溶活性値

表 10 精子運動率と精液線溶活性値 (精子数 60×10⁶ 台)

症例	精子数 (×10 ⁶)	精子運動率 (×%)	活性値 (mm ²)
1	60	48	440
2	60	52	472
3	62	78	578
4	66	73	563
5	68	66	530
6	68	71	530
7	69	71	545
8	69	72	552
9	65	60	500
10	66	65	522

表 11 Miller-Kurzrok test 陽性例, 陰性例における線溶活性値 (単位 mm²)

		標準平板					加熱平板					備考	
		頸管粘液	精液	精漿	精子	頸管粘液+精液	頸管粘液	精液	精漿	精子	頸管粘液+精液	精子数 (×10 ⁶)	精子運動率 (%)
陽性例	1	234	670	520	42	684	0	15.2	13.6	0	6	68	78
	2	240	592	514	55	652	0	15.5	13.2	0	8	66	71
	3	260	682	552	44	698	0	18.0	16.2	0	10	79	75
	4	247	612	520	38	667	0	14.9	12.8	0	8	68	62
	5	274	586	480	49	606	0	20.6	18.4	0	12	72	70
陰性例	1	108	540	450	9	286	0	14.5	13.2	0	0	68	67
	2	77	480	338	12	260	0	14.2	13.2	0	0	68	65
	3	42	528	383	15	152	0	14.0	13.0	0	0	65	67
	4	136	516	390	19	306	0	14.6	13.7	0	0	69	65
	5	180	660	540	13	330	0	14.3	13.4	0	0	64	68

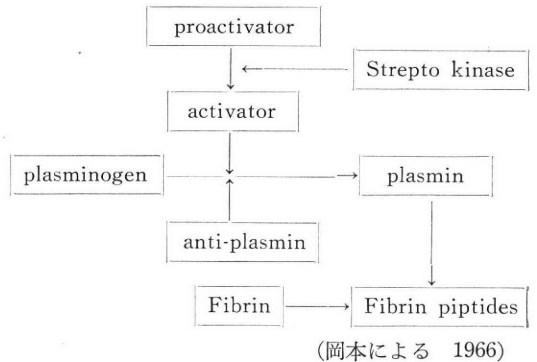
表 12 Miller-Kurzrok test 陽性例, 陰性例における線溶活性値の平均値 (単位 mm²)

		標準平板					加熱平板					備考	
		頸管粘液	精液	精漿	精子	頸管粘液+精液	頸管粘液	精液	精漿	精子	頸管粘液+精液	精子数 (×10 ⁶)	精子運動率 (%)
陽性例		251	628	519	46	661	0	19	15	0	8.8	71	69
陰性例		109	543	420	14	267	0	14	13	0	0	49	66

陽性例が陰性例に比しいずれも高値を示し、特に等量混合液においては2~3倍の高値を示した。又同一容積における線溶活性値を検討すると、陽性例における等量混合液の活性値は、頸管粘液と精液の活性値の和以上の値を示すのに反し、陰性例では頸管粘液と精液の活性値の和以下の値を示している。又陰性例において頸管粘液の活性値が症例 No. 2, 3 の如く42 mm², 77 mm² と極端な低値を示すものがみられたが、これは牽糸性の少ないもので、粘液の硬い不良のものであつた。又加熱平板における pl 値は、陽性例では頸管粘液0 mm², 精液19 mm², 精漿15 mm², 精子0 mm², 等量混合液8.8 mm² を示し、陰性例においてはそれぞれ0 mm², 14 mm², 13 mm², 0 mm², 0 mm² であつた。すなわち陽性例の等量混合液に pl 活性がみられた。

IV. 総括ならびに考案

現在 Fibrin 溶解のしくみは下図の様に、plg に act が働いて pl になり、この pl が Fibrin を分解し Fibrin peptides になりここに線溶現象が起ると想定されている。又正常体液では pl は非活性の plg として存在し、又これを pl に転化させる act も前駆物質すなわち proact として存在し、これに S·K を加えると proact を act に変化させる作用がある。体液中には anti-pl があ



り、これは pl 作用と plg 又は act の両者を抑制し、正常では pl と平衡関係にある故に線溶現象はみられない。以上の想定のもとに受精における線溶現象を考察した。頸管粘液及び精液における線溶現象に関する研究は、19世紀の初めより Miller-kurzrok⁵⁾(1928), Huggins & Neal⁶⁾(1942)等により発表されてきたが、現在でも未だ不明な点が数多く残されている。頸管粘液の化学的、生化学的構成は Miller-Kurzrok⁵⁾(1928)により発見されたが、その作用機序については不明な点が多かつた。Von kaulla & Shettles⁷⁾(1954)は頸管粘液に S·K を加えると Fibrin を溶解する現象を認め線溶現象について推論した。その後雨宮¹¹⁾(1965), Beller & Weiss¹²⁾

(1966), 岡崎⁹⁾(1971)等の研究により頸管粘液における線溶現象と妊孕性との重要な関連性が認識される様になってきた. 従来の Fibrin 平板法は Fibrinogen の量に問題があるとされているので本実験を行う基礎となる平板を Quick 法により Fibrinogen の量を一定にして簡易測定し, plasmin を用いて本平板の臨床的有用性を検討した. その結果 plasmin 量と線溶活性値との間では標準平板, 加熱平板ともに相関係数0.99で良好な成績をえ, 両者に平行関係がみられ本平板の臨床的有用性を確認した. 本平板を用いて頸管粘液の線溶系各因子を測定すると, 多量の act, proact が認められ pl はみられなかった. 又性周期との関連について観察すると, 排卵期をピークにその前後に徐々に減少する傾向がみられた. 頸管粘液の分泌源である頸管粘膜の線溶系も頸管粘液と同様のパターンで変動するのがみられ, その分泌源である頸管粘膜細胞の腺索の局在を Fibrin Film method¹⁰⁾を用いて証明した. 頸管粘液の流動性は act 作用によるものが多く, 且つ Estrogen 作用に支配されて変動することが推測される. 精液についての線溶現象に関する研究は, Huggins & Neal¹¹⁾(1942) がヒト精液の溶解能を初めて発見し, その後雨宮¹²⁾(1964), 岡崎⁹⁾(1971)等の研究により精液中における線溶系各因子が明らかになってきたが, 頸管粘液に対する精子の穿通作用に何らかの関係があるのではなからうかと推測されるにすぎなかった. 精液においては精液, 精漿, 漿子, 精漿 Eug, 精漿 + S·K, 精漿 Eug + S·K の線溶系各因子とその活性値, 精子数, 精子運動率と精液線溶活性との関連性について検討した. 正常精液には多量の act, proact が存在し, これを精漿と精子に分離して検討すると, 精漿には多量の act, proact がみられ, 少量の plg, pl が認められたが, 精子には精漿の約 $1/10$ の act, proact, 微量の plg がみられたが pl は認められなかった. これを精子数により分類すると act, proact は正常精液に多く, 精子減少症, 無精子症の順に減少を示した. 少量の plg, pl は正常精液, 精子減少症との間にはあまり差がみられず, 無精子症では極微量の plg しかみられなかった. 又精漿を Eug にする事により Inhi を除外する事が出来る. それ故に Eug を作製し Inhi を検討すると act 値の高いものほど, すなわち正常精液では act に対する Inhi が多く, 無精子症では著しく低下を示した. しかし anti-pl は正常精液, 精子減少ともに差はみられなかった. 又精子運動率と線溶活性値との関係をみてみると, 運動率の上昇につれ線溶活性値の亢進するのがみられた. この様に, 精液の線溶系因子は act, proact が多く, 少量の plg, pl が存在し, その作用は act 作用が主であり pl 活性作用は少なかった. 又 Inhi は act

作用の多いものほど多く存在し, 両者は血液における線溶現象と同様に互に拮抗し, 平行関係を保っているものと推測される. 精液の線溶系因子は, 前立腺に多く存在し, 辜丸で造られた精子と共に射精され, その後精子数, 精子運動率に比例し線溶活性を発揮するものと考えられる. 受精に際し, 精子の遭遇する第1の重要な場所は頸管粘液であり, ここで重要な問題は精子がいかに頸管粘液を穿通するかである. 精子の頸管粘液穿通性の検査法として, Miller-Kurzrok test, Hüner test と2通りあるが, Hühner test では時間的問題が残され test の結果が不正確な為に Miller-Kurzrok test を行い精子の頸管粘液穿通性の有無を確かめ, 陽性例, 陰性例に分類し, その各々の線溶系因子を測定した. Miller-Kurzrok test 陽性例では, 頸管粘液も流動性をおび, 精子数, 精子運動率も陰性例に比し良好で, 線溶系各因子は高値を示し, 特に頸管粘液と精液の等量混合液の同一容積における活性値は, 頸管粘液と精液の活性値の和以上の値を示し, かつ少量ではあるが pl 活性がみられた. これに反し陰性例では, 頸管粘液の不良なものが多く (特に陰性例症例 No. 2, 3), 精子数も陽性例に比して少なく, 等量混合液における活性値は, 頸管粘液と精液の活性値の和より低値を示し, 陽性例の $1/2 \sim 1/3$ の活性しか示さず, かつ pl 活性はみられなかった. これは頸管粘液には精液に対する促進因子と抑制因子とが考えられ, 頸管粘液の促進因子が優位の場合は, 陽性例における如く混合液の活性値が個々の値の和以上の高値を示し, 精子の穿通性が促進され, 又抑制因子が優位の場合は, 陰性例に於ける如く混合液の活性値は個々の値の和以下の低値を示すものと考えられ, その結果, 精子の穿通性が抑制されると推測される. 頸管粘液の Inhi の証明は, これを水溶性にして Eug にする事により可能であるが, 水溶性にすることにより頸管粘液中に含まれる蛋白分解酵素が破壊されてしまうので, 現在 Inhi の証明は未だ出来ないのが現状である. しかし Miller-Kurzrok test 陽性例において等量混合液に pl 活性がみられた事は, 精液中の plg が頸管粘液, 精液の act により活性化され pl 様物質を産生し, 線溶活性の増大を来しているものと推測される. これに反し陰性例において頸管粘液と精液が合する事により頸管粘液の anti-pl 作用により pl 活性がみられないものと考えられる.

以上より, Fibrin 平板上に於ける受精の線溶現象は, 精液に比し頸管粘液の抑制因子が重要な役割を占めているものと推測せられる.

V. 結 論

著者は Quick 法により簡易測定した Bovine-Fibri-

nogen を用いて作製した Fibrin 平板を用いて頸管粘液、頸管粘膜、精液の線溶活性値の測定を行い、次の結論をえた。

排卵期頸管粘液の流動性は act 作用によるところが多く、Estrogen 作用の支配により変動するものと推定される。頸管粘膜も同様のパターンで変動し、又頸管粘液の分泌源の局在を Fibrin Film method を用いて証明した。

精液における線溶活性も act 作用によるところが多く、線溶系各因子の活性値は、精子数、精子運動率の良好なものほど高値を示し、精子には pl 活性はみられなかった。

Miller-Kurzok test 陽性例における頸管粘液と精液の等量混合液の活性値は、頸管粘液と精液の和以上の値を示し、精液中の plg が両者の act により活性化され、様物質を産生し、線溶活性の増大を来して精子の穿通性を良好にしているものと推測される。陰性例における等量混合液の活性値は、頸管粘液と精液の活性値の和以下の値を示し、頸管粘液には精液に対する anti-pl の存在が推測され、妊孕能力の低下を来しているのではなからうかと推測せられる。

稿を終るに臨み、本研究に際して御指導と御校閲を賜わった恩師藤原幸郎教授に深甚なる謝意を捧げると共に、絶大なる御指導、御鞭撻を賜わった本学臨床病理学藤巻道男助教授、同産婦人科学小坂順治講師に深謝いたします。また同臨床病理学教室馬場百合子技師並びに同産婦人科学教室不妊研究班の諸先生方に深謝いたします。

本研究は昭和47年度及び昭和48年度日本不妊学会にて発表しました。

参考文献

- 1) Dastre, M. A. : Compt. rend. soc. biol. 45, 995, 1893, cited by 3), Dastre, M. A. : Arch. physiol. norm path. 5, 666, 1893. cited by 3)
- 2) Macfarlane, R. G. : Lancet 1, 10, 1937.
- 3) Astrupt, T. & Permin, P. M. : Fibrinokinase and fibrinolytic enzyme. Nature 161, 689, 1948.
- 4) 安部 英 : 線溶現象の基礎と臨床, 5, 医学書院, 東京, 1966.
- 5) Miller, E. G. & Kurzrok, R. : Amer. J. Obstet & Gyne. 15, 56, 1928.
- 6) Huggins, C. & Neal, W. : J. Exp. Med. 76, 527, 1942.
- 7) Von Kaulla, K. M. & Shettles, L. B. : Klin. Ueschr. 32, 468, 1954.

- 8) 雨宮 章 : 日不妊誌, 9, 245, 1964.
- 9) 岡崎 寛 : 日不妊誌, 16, 132, 1971.
- 10) Quick, A. J. Stanly : Disease. Ist. Ed. Lea. and Febiget Philadelphia pp 379, 436, 1957.
- 11) 雨宮 章 : 日不妊誌, 10, 46, 1965.
- 12) Beller, F. K. & Weiss, G. : Fertil. & Steril. 17, 654, 1966.
- 13) 相馬広明 : 臨床病理(11), 5 : 271, 1963.

On the Significance of Fibrinolytic Phenomenon in Fertilization

Makoto Hamano

Department of Tocology and Gynecology,
Tokyo Medical College, Tokyo
(Director: Prof. Y. Fujiwara)

The author did a measuring with Quick' method and made the fibrine plate with which the value of every factor of fibrinolytic system. Concerning 100 patients who visited our clinic for sterility the periodical change of cervical mucus and and mucous membrane was observed on reference to the BBT and endometrial biopsy. On the other hand the seminal fluid was separated into sperm serum and spermatozoa and the sperm serum euglobuline was made. In both cases, positive and negative with regard to the Miller-Kurzrok test, each factor of fibrinolytic system was investigated using the standard fibrin plate and heated plate: on these plate let fall a drop of 0.05 ml cervical mucus, seminal fluid, 0.05 ml mixed solution of these mucus and seminal fluid, and 20 mg cervical mucous membrane respectively, then let them stand in 37°C thermostat for 20 hours and after that the value of activity was measured. The product (mm²) of longer and shorter diameter of dissolved area which was built on those plate was used as the value of fibrinolytic activity. Also the fibrin film method was used to determine the localized existence of fibrinolys in the cervical mucous membrane where the secretory source of cervical mucus existed.

It was observed that the cervical mucus had a plenty of activator and proactivator, but none of plasmin. The investigation of fibrinolytic factors of cervical mucus mainly on the day of around ovulation revealed a tendency that the activity gradually increased in accordance with coming up to the ovulation period and attained the peak with the ovulation and then declined with coming up to the corpus luteum period.

In the cervical mucous membrane, in common with cervical mucus, plenty of activator and proactivator and none of plasmin was observed.

And it was also confirmed that the every factor of fibrinolytic system changed its activity in accordance with the same pattern as in the case of cervical mucus. Based on the fact that the fibrinolytic activity of cervical mucous membrane changed with the pattern as that of cervical mucus, it was demonstrated using the fibrin film method that in the field of fibrinolytic phenomenon the localized existence of secretory cells in the cervical mucous membrane.

The seminal fluid had a plenty of activator and a small amount of plasminogen and plasmin, and stronger the activator was, the more inhibitor it had, and a little antiplasmin. The main effect of seminal fluid in fibrinolytic system was mainly the activatory effect and just a little was the plasmin effect, and the spermatozoa had none of plasmin activity. It was naturally imagined that the augmentation of number of sperm and activity of it brought about such a augmentation of

activity of fibrinolytic system as consequently to be liable to be pregnant.

In the case of positive reaction of Miller-Kurzrok' test the activity value of cervical mucus, seminal fluid, sperm serum, spermatozoa and mixed solution of same amount of both cervical mucus and seminal fluid showed all a higher value compared with the negative case. Especially the value of mixed solution attained two to three times higher value. Regarding the fibrinolytic activity in the same volume of solution, the value of activity of mixed solution of equal volume of cervical mucus and seminal fluid in case of positive reaction attained above the sum of each value, but in case of negative reaction it showed less than the sum of each. Besides in the mixed solution the plasmin activity was observed only in case of positive reaction, but not in case of negative reaction.

Dalkon shield 208 例の使用経験

208 Case Studies on Dalkon Shield

岩手医科大学産婦人科教室 (主任 秦 良磨教授)

小 林 高

Takashi KOBAYASHI

盛岡赤十字病院 (菊池俊雄院長)

只 野 宏 松 田 勲

Hiroshi TADANO Ishao MATSUDA

栃木県小山市立病院

石 浜 淳 美

Atsumi ISHIHAMA

Iwate Medical University (Professor, Y. Hata)

Director of Oyama City Hospital

IUD の避妊効果が経口避妊薬について高いことは衆知の事実である。

1959年われわれの報告以来、各種の新型 IUD が報告されている。

今回われわれは A. H. Robins 社が開発した Dalkon Shield という新型 IUD の提供をうけたので、これを 208 名の経産に使用し、20カ月間の follow up を行つたのでその成績を簡単に報告する。

実験材料及び実験方法

Dalkon Shield は〔図-1〕に示したごとく、特有の型をした新型 IUD である。じゅうらいの IUD が、主として<線>で構成されていたのに対し、この IUD は<面>で構成された不活性 IUD である。

実験対象は避妊を希望した健康な経産婦だけを選び、母子健康センターに集めて挿入前簡単な説明と検査を行つた。

挿入は1カ月後、3カ月後、6カ月後、及び1年後と follow up を行つた。

定期検査以外に異常のあつたものは、岩手医大産婦人科に來訪させて検査した。

実験成績

208例、4,281周期の観察で、妊娠6例、妊娠以外の除去7例、計13例を除去した。妊娠率1.68、妊娠を含めた除去率3.64で、有効継続率は96.36%であつた。

おわりに

われわれは Dalkon shield なる不活性新型 IUD を、208例の避妊を希望する健康な経産婦に20カ月間使用し(1部24カ月)、妊娠6例、妊娠以外の除去7例、計13例を除去した。100婦人年に換算した妊娠率は1.68、除去率は3.64で、有効継続率は96.36%であつた。

本 IUD は、挿入、除去が簡単で、自然脱出もなし、極めて有効な IUD と考えられる。

はじめに

IUD の普及率は最近爆発的に増加し、日本を除いて

現在1,500万の婦人が IUD を装着しているといわれている。これにともない、各種の IUD が改良され、報告されている。われわれはアメリカ A. H. Robin 社が7

年前に開発した Dalkon Shield という新型 IUD を208名の経産婦に使用し、その追跡調査を行ったのでその成績を簡単に報告する。

実験材料および実験方法

Dalkon Shield は図1に示したごとく特有の型をした IUD である。これはいわゆる inert IUD (不活性IUD) の一種で、open IUD、closed IUD のどちらにも属さないタイプである。というのは従来の IUD が<線>を主体にしたものであつたのに反し、これは<面>を主体にしたもので、形態的には closed であるが、機能的には open IUD に属するものと考えられる。挿入方法は<図2>に示したように、頸管を拡張することなし

に簡単に挿入出来る。すでに滅菌されてある Dalkon Shield を子宮の傾きに沿つて挿入し、先端が子宮底に達したなら inserter を90°左又は右に回転し、そのまま inserter を子宮外に引き出す。

この shield の挿入の際、疼痛を訴えることは殆んどなく特にわれわれが行つた経産婦の場合には、拡張を必要としたものは1例にすぎなかつた。

対象としては、避妊を希望した健康は経産婦だけを母子健康センターに集め、挿入前に簡単な説明をした上で、母子センターにおいて挿入した。その他は岩手医大産婦人科外来及び盛岡日赤病院産婦人科外来において挿入した。挿入後は1カ月、3カ月、12カ月、20カ月と追跡調査し、追跡の途中で異常のあつたものは大学病院において精査した。挿入の開始は1972年9月からで、同年10月までに挿入を終り、又盛岡日赤病院においては同7月より38例の挿入を行い、計208例の挿入を行つた。

実験成績

1) 挿入者の年齢構成及び経妊分布

表1のごとく25~35歳がもつとも多く、1~2回経産婦がもつとも多い結果が得られた。

2) 挿入者の身長、体重、血圧

IUD の効果とこれらがどのような関係にあるか不明であるが、われわれの行つた実験成績では、表2のごとく身長150cm以下の婦人が84名もあつたことが特徴的である。

3) 機関別挿入数と周期

表3のように208例4002周期である。

4) 機関別除去及び除去の理由

表4のように昭和49年4月末日までに除去したものは、妊娠を含めて12例に、そのうちわけは出血1、経痛1、希望4、妊娠によるものが6例であつた。

5) 除去までの期間

表5のように12例中7例までが3カ月以内に除去されている。

6) 妊娠例の検討及び妊娠率

表6のごとく208例、4,002周期で6例の妊娠、妊娠率は1.8/hwyであつた。この6例中3例は、糸の結び目が外子宮口の挿入時の位置よりも下降しており、IUD の下降を思わせた。

7) 挿入前の Pap-Smear

表7のように class I 80名、class II 127名、class III 1名で、class III の1例はその後も follow-up しながら挿入を続けている。

8) 挿入中の X線写真

Dalkon-Shield には糸がついており、結び目の位置に

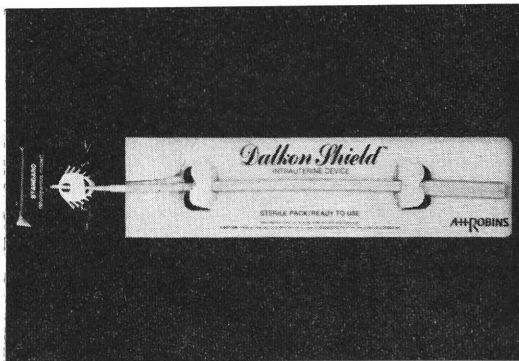
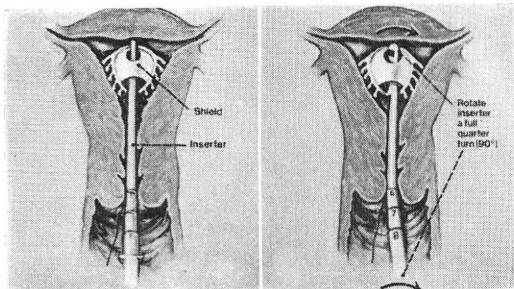
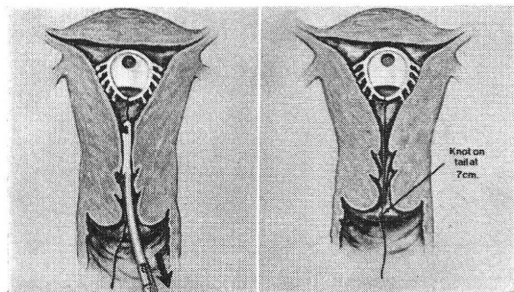


図1 Dalkon shield



Withdrawal of inserter Confirming insertion depth



Highfundal positioning Disengagement of inserter

図2 挿入法

表 1 年齢分布, 経妊分布

年齢分布		経妊分布		
年齢	例数	回数	経産	流産
~19	3	0	1	68
20~24	24	1	27	61
25~29	53	2	71	51
30~34	73	3	51	18
35~39	47	4	28	7
40~	8	5	30	3
計	208	計	208	208

表 2 体重, 身長, 血圧の分布

体重kg	例数	身長cm	例数	血圧	例数
~45	25	~150	84	~100	
46~49	50	151~155	63	101~120	
50~54	48	156~160	17	121~140	
55~59	26	161~	6	141~	
60~64	9	不明	38	不明	
65~	12				
不明	38	計	208	計	208
計	208				

表 3 機関別挿入数, 挿入月日, 総周期
機関別挿入数, 挿入月及び総周期

挿入月	日赤	岩手	雫石	紫波	医大	計	周期
72年7月	38	0	0	0	0	38	836
9月	0	18	37	0	1	56	1,120
10月	0	14	17	33	1	65	1,238
12月	0	20	2	0	2	24	408
73年1月	0	17	4	0	4	25	400
	38	69	60	33	8	208	4,002

表 4 除去例及び除去理由

機関	例数	出血	疼痛	希望	妊娠	計	率 %
日赤	38	0	0	0	0	0	0
岩手町	69	1	0	3	3	7	10.1
雫石町	60	0	1	1	3	5	8.3
紫波町	33	0	0	0	0	0	0
医大	8	0	0	0	0	0	0
計	208	1	1	4	6	12	5.8%

よつて下降しているか否か簡単に判るようになっているが、造影剤が入っているので、単純撮影でもその位置の確認が容易であるが、図3のように子宮腔との関係をみ

表 5 除去までの期間

	1カ月	3カ月	7カ月	8カ月	13カ月	16カ月	計
出血	0	0	0	0	1	0	1
疼痛	1	0	0	0	0	0	1
希望	2	0	0	1	1	0	4
妊娠	0	4	1	0	0	1	6
計	3	4	1	1	2	1	12

表 6 妊娠例及び妊娠率

症例	挿入時期	挿入期間	所見
A	月経以外	3	in situ
B	"	7	下降
C	"	3	下降
D	"	3	in situ
E	"	3	下降
F	"	16	in situ
	周期	4,002	妊娠率 1.8/hwy.

表 7 挿入前後の膣スミア

スミア	挿入前	1年後
class I	80	108
class II	127	100
class III	1	0
計	208	208

表 8 IUD の分類

- I. Inert IUD
 - open IUD (loop, coil, saf-T-coil)
 - closed IUD (ring, bow)
- II. Activ IUD
 - copper IUD (copper-T, copper-7)
 - progesterone IUD (UPS,)
 - others

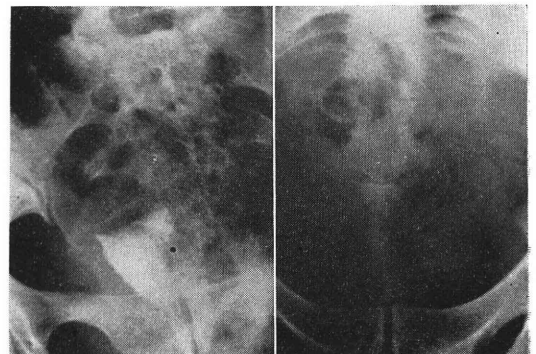


図 3 Shield 挿入中の X線写真

るためには、子宮卵管造影の方がすぐれている。

考 案

われわれが IUD の報告をして以来、coil, loop といった新型 IUD が相次いで登場し、国際的な脚光をあびた。しかしこれら新型 IUD はその後、アジア地域での多数の実験の結果、高い脱出率と中止率が報告され、IUD の改良は世界的関心の的となつた。そして挿入し易く脱出し難く、しかも避妊効果の高い IUD の開発が世界各国で行われている。

最近では効果を高めるために、銅線を巻いたり、プロゲステロンを入れた IUD も開発され、それらを含めて現在 IUD は表 8 のように大別される。

Dalkon-Shield は Davis らの協同開発によるもので、従来の IUD が<線>で構成されているのに対し、Shield は<面>をもつて構成されており、従来のものに比べてその表面積は著明に大である。そして Davis らは IUD の表面積が大なる程避妊効果が高いとのべている。

Ostegard は 1320 例に使用し、1,189 周期で妊娠率 1.2/hwy と報告している。今回われわれが行つた 208 例、4,002 周期では妊娠 6 例、妊娠 6 例、妊娠率 1.8/hwy であつたが、自然脱出 0、出血による除去 0、と従来の IUD に比してすぐれており、妊娠を含めて除去率は 5.8% であつた。すなわち acceptability は 94.2% であつた。

今回われわれが用いた Dalkon-Shield は大きさが一定のものであり、大きさの違つたものを用いたればさらに良い結果を得られたかもしれない。

む す び

われわれは 208 例の経産婦に Dalkon-Shield なる新型

IUD を挿入し、4022 周期で妊娠率 1.8 hwy、除去率は妊娠を含めて 5.8% という結果を得たので、ここに簡単に報告した。

御校閲をいただいた秦 良鷹教授に深謝いたします。本論文の要旨は第 18 回日本不妊学会総会において発表した。

208 Case Studies on Dalkon Shield

Takashi Kobayashi

Iwate Medical University
(Professor, Y. Hata)

Hiroshi Tadano, Ishao Matsuda

Atsumi Ishihama

Director of Oyama City Hospital

We have inserted into 208 healthy multipara Dalkon Shields (new inert IUD) which was introduced by A. H. Robins in U.S.A. In these studies for the past twenty (20) months (4281 women menstrual cycle), we have recorded six (6) cases of pregnancy, seven (7) cases of removal for other reasons than pregnancy, making a total removal of thirteen (13) cases.

The above results connote 1.68/hwy of pregnancy, 3.64/hwy of removal, and 93.75% of continuation rate.

In our studies, Dalkon Shield has been recognized comparatively easy in insertion and removal, much less expulsion, and a most effective IUD.

経口避妊薬 SH 1000 の使用経験

Clinical Studies on the SH 1000 As Oral Contraception

徳島大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 足立春雄教授)

高柳 真 鎌田 正晴 櫛木 範夫
Makoto TAKAYANAGI Masaharu KAMADA Norio KUSHIKI

梁 君成 藤原 美恵子 奈賀 脩
Kunsei Lyo Mieko FUJIWARA Osamu NAKA

兵庫医科大学産科婦人科学教室 (主任: 磯島晋三教授)

香山 浩二 磯島 晋三
Koji KOYAMA Shinzo ISOJIMA

Department of Obst. & Gynec., Tokushima University, School of Medicine
(Professor Haruo ADACHI)

Department of obst. & Gynec., Hyogo Medical College
(Professor Shinzo ISOJIMA)

経口避妊薬として SH 1000 (d-Norgestrel 0.25 mg+ethinyl estradiol 0.05 mg) を Combination method にて胞状奇胎分娩後の者22名, 帝王切開術後の者6名, 正常婦人2例合計30名について最短5周期, 最長31周期, 合計452周期に投与し, 月経周期に関する変化, 自覚的副作用, および各種臨床検査成績について検討した。

月経周期に関する変化は初期(1~6周期), 中期(7~12周期), 後期(13周期以上)に分けて考察すると, BBT (Basal Body temperature) について排卵型を示すものは初期2.7%, 中期1.4%, 後期8.8%, となり月経周期日数の変化は平均値では殆んど変化はないが, 服用期間と共にやや延長気味の attem を示し, 持続日数はやや短病気味であり, 経血量の減少は約半数にみられた。

臨床検査成績としては GOT, GPT の異常値を示した者が4例にみられた。赤血球数および Hb 値はやや上昇傾向がみられた。尚避妊効果は100%であった。

はじめに

近年の著しい steroid 物質の合成化学の進歩, 発展により, 経口投与剤としての黄体ホルモン様作用を示す数多くの経口 gestagen が開発され1958年 Pincus ら²²⁾により progesterone の排卵抑制作用を応用して経口避妊法としてすぐれた報告がなされている。しかし steroid による経口避妊は, 未だその作用機序については完全に解明されているとはいえないが, 避妊効果の確かさ, 簡便さの点から, 現在問題となつている人口抑制の手段として IUD と共に最も普及していると考えられるもので, すでに全世界の推定使用人口は2,000万人以上とも

いわれている。

現在 steroid 避妊法として主に行われている方法は (1), Combination method (合剤投与法) (2), Sequential method (progesterone 単味製剤の少量持続投与法) などの方法があるが, いずれも長期間に亘る steroid 剤の経口投与は, 当然ながら内分泌および代謝環境に或る程度の変化を来し, 稀には重篤な合併症の発生も報告されていないでもない。また経口避妊薬としての発売をめぐつて性道徳上からの論議も少くないがある。我々はこのたび最も古くから行われている Combination method として Shering 社より提供を受けた SH-1000 (d-Norgestrel 0.25 mg+Ethinyl estradiol 0.05 mg) の使

第 1 表 現在わが国で開発または発売中の経口避妊薬

Steroid	Drugs	Progesterone	(mg)	Estrogen	(mg)
19-nor steroid	Sophia	Norethistrone	5.0	Mestranol	0.050
	Sophia-C	Norethistrone	2.0	Mestranol	0.100
	S 3,800 B (Norlute-D)	Norethistrone	5.0	Mestranol	0.050
	S 3,800 C, D ₂	Norethistrone	2.0	Mestranol	0.100
	S 2,800 E (Norlute D ¹ , Sophia A)	Norethistrone	1.0	Mestranol	0.050
	Ortho-novin	Norethistrone	2.0	Mestranol	0.100
	Anovlar	Norethistrone acetate	4.0	E. E.	0.050
	Gynovlar	Norethistrone acetate	3.0	E. E.	0.050
	Conovid	Norethinodrel	5.0	Mestranol	0.075
	Conovid-E	Norethinodrel	2.5	Mestranol	0.100
	Enavid	Norethinodrel	2.5	Mestranol	0.050
	Lyndiol 5.0	Lynestrenol	5.0	Mestranol	0.150
	Lyndiol 2.5	Lynestrenol	2.5	Mestranol	0.075
	SH 850	Norgestrel	0.5	E. E.	0.050
	SH 1000	d-Norgestre	0.25	E. E.	0.050
	SC 11,800 (2.0)	Ethinodiol diacetate	2.0	Mestranol	0.100
SC 11,800 (1.0) (Ovulen)	Ethinodiol diacetate	1.0	Mestranol	0.100	
SC 11,800 (0.5)	Ethinodiol diacetate	0.5	Mestranol	0.050	
17-hydroxy steroid	Volidan	Megestrol acetate	4.0	E. E.	0.050
	Provest	Medroxyprogesterone acetate	10.0	E. E.	0.050
	Aconcen	Chlormadinone acetate	3.0	Mestranol	0.100

E. E. = Ethinylestradiol

用経験について報告する。

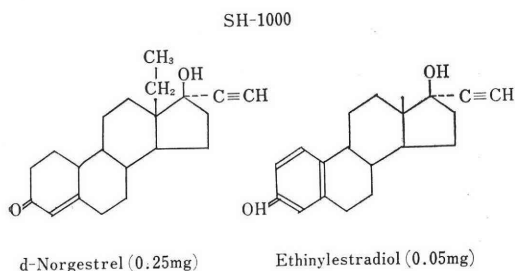
1. 投与方法。

昭和45年5月より昭和48年12月までの間、徳島大学産婦人科外来にて胎状奇胎を分娩し治療を受け、その後順調に経過し経口避妊を希望した者22名(うち7例はMTX治療を受けている)。帝王切開術後順調に経過し経口避妊を希望した者6名(子宮破裂1例を含む)、経口避妊を希望した正常婦人2名、合計30名について24週間

を目標に SH-1000、投与を行つた。SH-1000の構造式は第1図に示す。投与周期は第2表の如くで、年齢分布は

第 3 表 服用者の年齢 (SH 1000)

年 齢	実 数	%
18~19	1	3.3
20~21	4	13.3
22~23	6	20.0
24~25	6	20.0
26~27	2	6.6
28~29	6	20.0
30~31	1	3.3
32~33		
34~35	1	3.3
36~37		
38以上	3	10.0
合 計	30	100%



第 1 図 SH-1000 の構成

第 2 表 SH 1000 服用周期数 (30名)

周 期	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	合 計
服用周期	452	437	437	437	429	411	411	389	341	328	300	240	224	190	136	136	136	136	136	136	112	87	61	61	61	61	31	452

第3表に示す。

投与方式は月経周期の第5日目より21日間連続服用し、次周期の投与は消褪性出血の第5日目より再び21日間服用を繰り返した。

2. 服用中の自覚的副作用

服用中の自覚的副作用発現頻度は第4表に示すように、初期(初めの3周期)と全周期の発現頻度に分けて考察すると、頻度の比較的多いものは頭痛、悪心などで初期ではそれぞれ13.3%、11.1%であるが全周期では7.3%、8.4%、と投与を続けていくと減少していくが、スポッティングは逆に初期3.3%、全周期では6.4%、と、増加傾向を示したが、何れの自覚的副作用についても投与を中止せねばならぬ程の重篤な副作用はみられなかった。

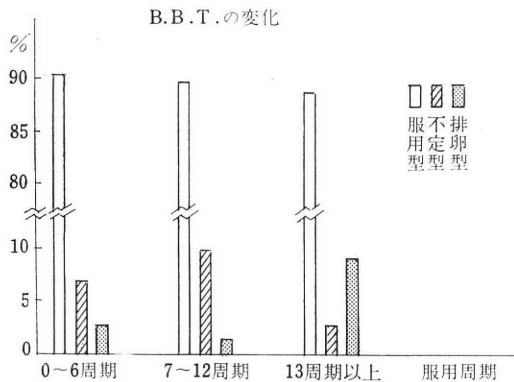
第4表 自覚的副作用発現頻度(SH 1000. 30例)

	1~3周期		全周期	
	実数	% (実数/周期)	実数	% (実数/周期)
頭痛	12	13.3	33	7.3
悪心	10	11.1	38	8.4
嘔吐	1	1.1	5	1.1
めまい	2	2.2	17	3.8
乳房痛	1	1.1	5	1.1
腰痛	2	2.2	7	1.5
腹痛	0	0	2	0.4
スポッティング	3	3.3	20	6.4
無月経	0	0	0	0
体重増加	0	1.1	5(例)	16.6(5/30)
湿疹	1	1.1	1	0.22
肩こり	1	1.1	1	0.22

3. 月経周期に関する変化

1) BBT の変化

第2図に示すように、服用者30名のうちほぼ完全と思

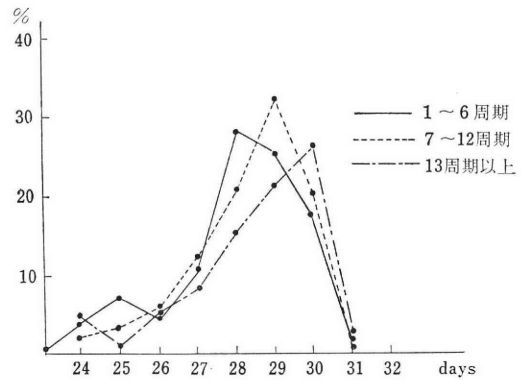


第2図 BBT の変化

われる月経周期の記録426周期について BBT を、①服用型、②不定型、③排卵型に分類し検討すると、服用第6周期まででは服用型90.3%、不定型6.8%、排卵型2.7%で、7~12週期では服用型89.7%、不定型8.7%、排卵型1.4%、13周期以上では服用型88.4%、不定型2.6%、排卵型8.8%、となり、13週期以上では排卵型が増加している。

2) 月経週期日数の変化

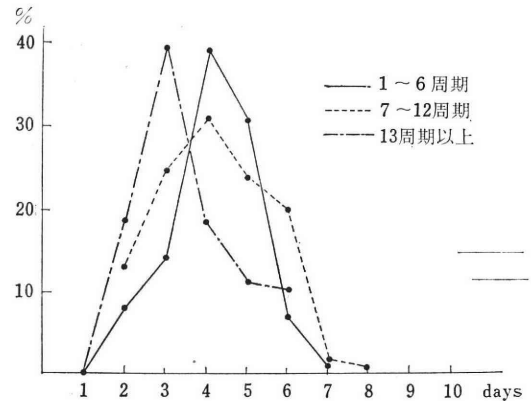
月経周期日数の変化を429周期について検討すると第3図のように、初めの1~6周期より、7~12週期、13週期以上と、服用期間が延長すると共に月経周期日数が延長するような pattern を示したが、その平均値は1~6周期27.97日、7~12週期28.06日、13週期以上では27.61日であった。



第3図 月経周期日数の変動

3) 月経の持続日数

月経持続日数の変化は第4図に示すように379周期の観察では服用周期の延長と共に出血日数は減少する傾向を示している。平均日数でみると初めの1~6周期では4.1日、7~12週期では3.91日、13週期以上では3.52日であった。



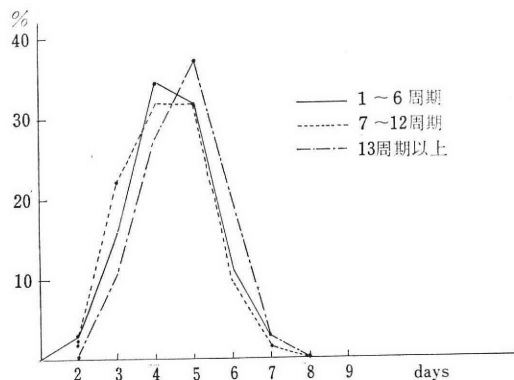
第4図 月経持続日数の変動

4) 経血量の変化

経血量の減少は服用者の約60%にみられた。448周期についてさらに検討すると、始めの6周期では減少する者62.9%、不変36.4%、増量0.5%、7~12周期で減少62.5%、不変37.5%、増量0%、13周期以上では減少57.7%、不変41.4%、増量0.8%、と、服用周期による変化は特にみられなかつた。

5) 消褪性出血までの期間

服用中止後消褪性出血開始までの日数を422周期について検討すると、第5図に示すように服用周期が13周期を越えると消褪性出血までの期間がやや延長する傾向がみられるが、周期別平均日数でみると1~6周期で4.42日7~12周期は5.13日、13周期以上では4.69日であつた。



第5図 消褪性出血までの日数の変動

4. 臨床検査成績

1) 副腎皮質機能

服用時の尿中17-OHCS, ならびに17-KSについてはそれぞれ Direktor 変法, Dorter-Siluer 法にて測定した。

17-OHCS は服用前の平均値4.6 mg-day, 4~6周期4.2 mg/day, 13周期以上で3.2 mg/day (7例) でやや低下がみられた。

17-KS は服用前の平均値3.46 mg/day, 4~6周期3.5 mg/day, 12周期以上では4.2 mg-day, (6例) とやや増加気味であつた。しかし両者とも正常範囲内にあり、いずれも特に副腎皮質機能に影響はみられなかつた。

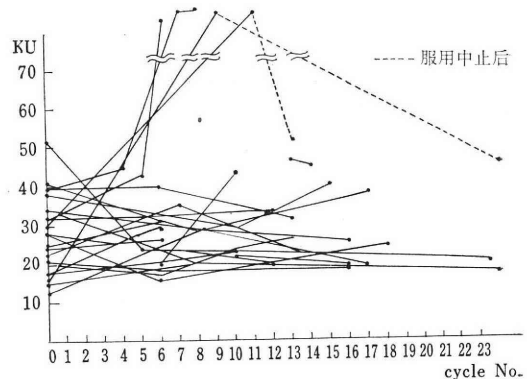
2) 肝機能

Steroid 投与により肝機能障害が誘発される可能性のあることについてはすでに多くの報告がある。われわれは肝機能検査について、①GOT, ②GPT, ③総ビリルビン値, ④チモール混濁反応(TTT), ⑤アルカリフォスファターゼ, ⑥血清総蛋白量等の検査をおこなつて検討し

た。

(1) GOT (正常範囲9.1~31.5 KU)

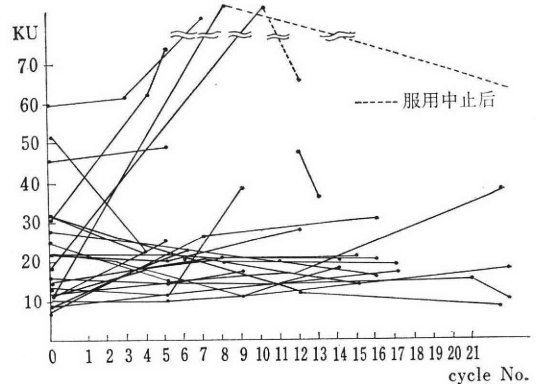
服用前, および服用中各期の血清 GOT 値の変化は第6図に示す通りで、服用前の GOT の均値は26.5 KU (26例)で異常高値4例を除く周期別平均値は、4~6周期26.1 KU (15例) 7~12周期では27 KU (17例), 13~18周期で27.6 KU (11例), 19周期以上では36.6 KU (6例), となり殆んど変化はないが全服用例中100 KU以上の異常高値を6周期以内の服用で示した者が4例あつた。



第6図 GOT の変動

(2) GPT (正常範囲1.5~27.5 KU)

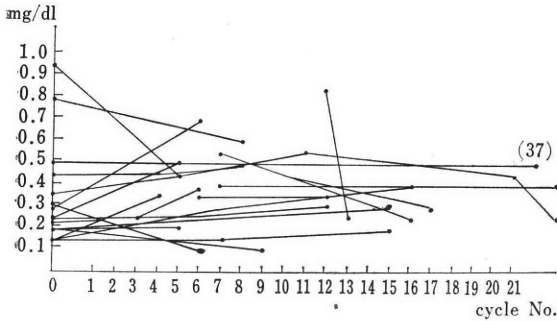
GOT の場合と同様に服用前の血清中 GPT 値の平均は23.3 KU (25例)で異常高値4例を除く周期別平均値は3~6周期で17.5 KU (14例), 7~12周期20 KU (17例), 13~18期21 KU (12例), 19周期以上では17.8 KU (5例), と殆んど変化はないが、GOT の高値を示した4例はいずれも GPT 値の異常高値を示し、この頻度は30例中4例, 13.3%となるが、この内訳は胞状奇胎娩出後 MTX 投与を受けた者2名, 受けていない者1名, 子宮破裂(輸血1000 ml) 後1名であつた(第7図)。



第7図 GPT の変動

(3) 総ビリルビン値 (正常範囲 0.25~1.0 mg/dl)

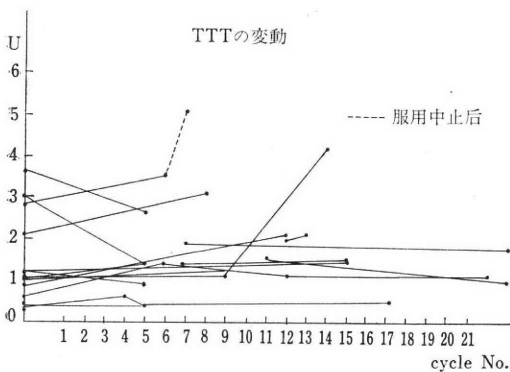
服用前の血清ビリルビン値の平均は0.51 (17例) 3~6周期で0.37(12例), 7~12周期0.41(12例), 13周期以上0.3 (10例) となり, いずれも正常範囲内であつた(第8図).



第8図 Total bilirubin 値の変動

(4) TTT (正常範囲 0~4 U)

チモール混濁反応については異常高値を示した者は2例, うち1例は他の検査 (GOT, GPT) も異常高値を示したが, 他の1例は他の検査では異常を認めなかつた. 異常高値を除いた服用周期別平均値の推移は, 服用前1.55 U (14例), 3~6周期1.57(10例), 7~12周期1.8 U (12例), 13周期以上1.46 U (8例) となっている(第9図).

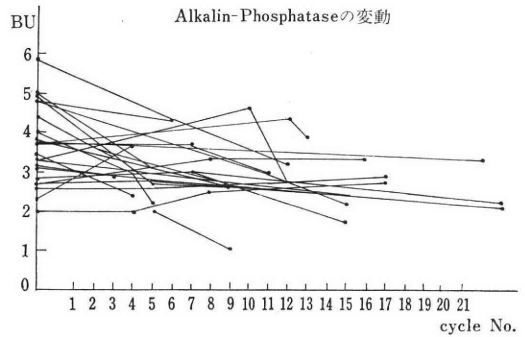


第9図 TTT の変動

(5) Alkaline phosphatase (正常範囲0.65~3.3 BU)

血清 Alkaline phosphatase は GOT, GPT 異常高値を示した症例も含めて特に異常な変動を示したものはなく, 服用前比較的高い値を示したものは服用中に下降している. 周期ブロック別平均値でみると服用3.65 BU (22例), 3~6周期2.94 BU (16例), 7~12周期3.13 BU (17例), 13周期以上2.37 BU (11例) であつた(第10図).

(6) Total protein (正常範囲 7.7±0.33 g/dl)



第10図 Alkaline-phosphatase の変動

Total protein の変化は特に異常な変化はみられなかつた. 周期ブロック別平均値でみると服用前は7.7 g/dl (9例) 3~6周期7.94 g/dl (5例) とやや高くなるが, 7~12周期は7.5 g/dl (6例) であつた.

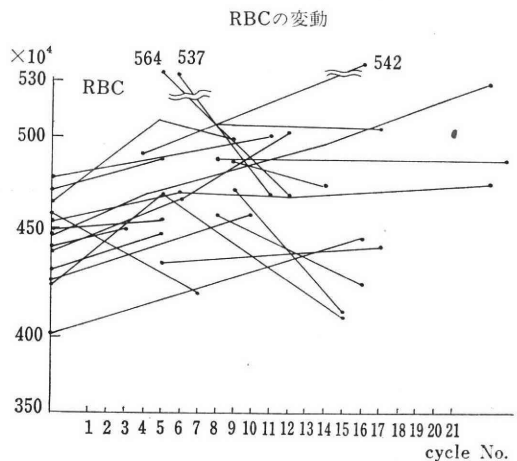
(7) Cholesterol (正常範囲 164±36.3 mg/dl)

Cholesterol については例数が少ないが, 服用前の平均値は215 mg/dl (5例), 3~6周期204 mg/dl (5例), 7周期以上では175 mg/dl (4例) となり, 投与により減少傾向がみられた.

5. 血液学的検査

1) 赤血球数の変動

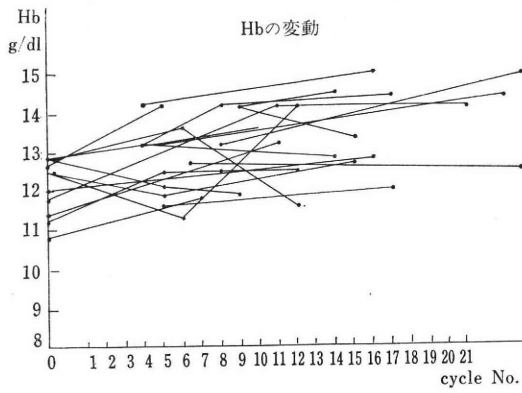
赤血球(RBC), の服用周期別推移は第11図に示すように, 漸増傾向のみられる症例が多く, その平均値でみると, 投与前440万(15例), 3~6周期480万(15例), 7~12周期464万(16例), 13~18周期458万(9例), 19周期以上では477万(4例)であつた.



第11図 RBC の変動

2) Hb の変動

Hb 値の推移は第12図に示すようになり, 平均値でみると服用前11.97 g/dl(14例), 3~6周期で12.5g/dl(13

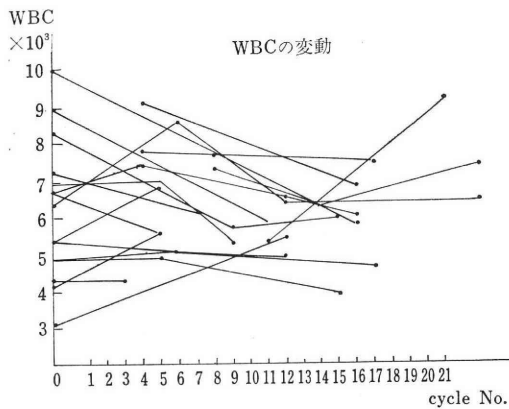


第 12 図 Hb の変動

例), 7-12周期では12.3 g/dl(15例), 13~18週期13.56 g/dl(8例), 19周期以上では14 g/dl(4例). と明らかに増加傾向がみとめられた.

3) 白血球数の変動

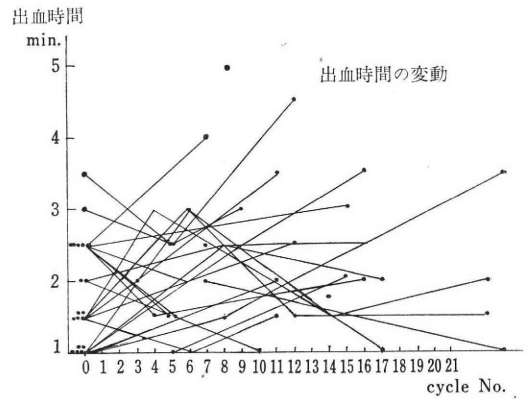
白血球(WBC)数の変化は第13図に示す. 服用週数別推移を平均値でみると, 服用前6846(15例), 3~6周期6.546(15例), 7~12周期6,450(15例), 13~18周期5,984(9例), 19周期以上7867(3例), となり, いずれも正常範囲内で特に異常はみられないが, 3~12周期のばらつきは投与前より少くなる傾向がみられる.



第 13 図

4) 出血時間 (正常範囲 Duke 法 1~3分)

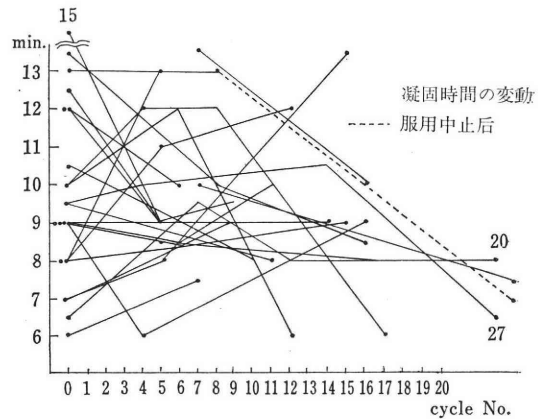
第14図に示すように, 周期別推移を平均値でみると服用前2分28秒(23例), 3~6周期2分0秒(15例), 7~12周期2分28秒(16例), 13周期以上では2分13秒となるが, 個別に変動をみると服用周期の進行と共に出血時間は3~6周期では短縮する症例もみられるが, それ以後は出血時間の延長する方向に分散している症例が多いがいずれも正常範囲内であつた.



第 14 図

5) 凝固時間 (正常範囲 Lee-White 法 5~15分)

凝固時間の推移は第15図に示すが, 周期別推移を平均値でみると服用前9分41秒(23例), 3~6周期, 9分43秒(16例), 13~18周期9分16秒(9例), 19週期以上では6分45秒(4例)と, 平均値の変動は少いが各症例別にみると服用後3~6周期では一般的に投与前のばらつきが一旦少くなり, 10周期頃より短縮傾向のみられる例もあるが, いずれも正常範囲内であつた.



第 15 図

6. 子宮内膜所見

服用周期中月経周期前半3例, 後半4例, 計7例の子宮内膜を採取し検討した. 全例共 Rest phase の像を示し, 増殖能, 分泌能の減退がみられた.

7. 服用中止後の妊娠分娩

SH-1000, 5周期以上の服用者30例のうち, 中止後, 妊娠, 分娩した症例は8例, その内訳は第5表に示すように, 分娩した者5例, 現在妊娠中3例で, 特に奇形等の発生は認めていない.

第5表 服用中止後の妊娠分娩

No.	氏名	服用 周期	中止後 妊娠ま での期 間	正 常 分 娩	外 表 奇 型	備 考
1		5	9周期	3020 g	(-)	
2		5	15	3385 g (帝切)	(-)	
3		10	2	9カ月前置胎盤	(-) 児死産	
4		14	12	3774 g (帝切)	(-)	
5		25	2	3445 g	(-)	
6		11	12	妊 娠 中		
7		16	2	妊 娠 中		
8		19	2	妊 娠 中		

考 案

Steroid contraceptive としてわれわれは SH 1000 (d-Norgestrol 0.5 mg + Ethinyl estradiol 0.05 mg) を combination method により30名、延452周期に投与し避妊効果は100%、であった。

避妊効果の機序については未だよく分っていない点も多いが、現在一般に、(1) 排卵抑制効果 (a, 視床下部レベルでの作用, b, 下垂体前葉レベルでの作用, c, 卵巣レベルでの作用), (2) 精子の頸管粘液内浸入機序, (3) 精子の Capacitation の問題, (4) 子宮内膜の変化, (5) 卵輸送の問題, などで検討されている。

排卵抑制効果については, Pineus(56)²¹⁾らは投与周期中に卵巣に黄体を認めたが妊娠例はないと報告し, 五十嵐(67)¹⁴⁾は尿中 FSH 分泌抑制, LH 分泌は早期に異常に刺激され, これが排卵抑制の原因と報告し, また Mishell(72)¹⁹⁾らは血中 FSH, LH が全週期にわたって低く, 血中 estrogen が低いと報告し, 一般に LH peak が起らないか, あるいは起つてもタイミングが悪く排卵にむすびつかないと考えられる。東条('68, '73)²⁶⁾¹³⁾らはこれらの FSH, LH, および estrogen の動態は gestagen の種類や服用量によつて異なるが, 3つの型に分類し, それぞれの卵巣の状態を, 1. menopausal ovary type, 2. cystic ovary type, 3. atrophic type に分け, また同一薬剤でも個人差により変化すると報告している。

estrogen, progesterone については, Brown('62)⁴⁾, Fuchs('64)⁸⁾, 渡辺(金)('68)²⁹⁾, 松崎('70)¹⁸⁾, 水野('70)²⁰⁾, その他殆ど報告者は服用中の尿中 estrogen, pregnadiol (p-diol) の減少を指摘している。

一方 Ovulation escape の問題については Goldzieher('62)¹¹⁾, 植田('66)²⁸⁾らも数%に排卵後期と同程度の P-diol の上昇から, 水野('70)²⁰⁾も BBT, 尿中 LH, P-diol から ovulation escape を推定しているが, われわれの症例では LH, P-diol を測定していないし BBT だけ

で排卵の Criteria とならないことは勿論であるが, 典型的2相性を示す頻度が全体で3.9%, 特に13周期以上では8.8%, に増加していることは興味深い。

精子の頸管粘液内進入機序については林('68)¹²⁾は d-norgestrel 投与により頸管粘液中には運動精子が認められるが, 子宮体部からは運動精子を認められなかつたことから Mechanical な精子の上昇阻害効果のほかに頸管レベルでの精子の Capacitation 阻害作用も推察している。Zañartu('68)³²⁾, Cohen('68)⁶⁾, Browman('68), 松崎('70)¹⁸⁾, Aref('73)³⁾らも服用者の Huhner test 陰性を指摘している。

子宮内膜像についてもわれわれの症例は他の多くの報告と同様に, 非定型的初期分泌期像で静止期の像を示し, 受精卵の着床が阻害されると考えられる点から, たとえ排卵があつて, 受精したとしても有効な妊娠に結びつかないであろうと考えられる。

steroid contraceptive の副作用についてはすでに多数の報告がある。長期間に亘るこれら steroid の影響は全身組織において生化学的過程に変化をおよぼしていることは明らかで, これらの報告をまとめると²⁴⁾, 糖や Lipid の代謝を変化させ²⁵⁾, 血清中の鉄, 銅, cortisol, thyroxine, insulin, growth hormone²⁵⁾を増加させ, また血清中の trans aminase レベルを上昇させ, BSP の貯留を増加させ, renin-substrate レベルを上昇させ, aldosterone 分泌が増加し, 血清および尿中の magnesium や plasma 中の Zine レベルを減少させ, 尿中 δ -aminolevulinic acid の分泌を上昇させ, 血清中や赤血球中の folate レベルが低下し, histidine 負荷後の尿中 FIGLU は異常値を示し, arteriosclerosis の患者では血小板値も変動し, 循環血液中の血液凝固因子 (Factor VII, IX, および fibrinogen) レベルの減少や, トリプトファン代謝の阻害から V B₆ の低下も推察され, 血清 B₁₂ レベルも減少し³⁰⁾, 服用中の血圧上昇²³⁾⁷⁾や体重増加, らが報告されている。

われわれの症例で, 肝機能については30例中4例(13.3%)に GOT, GPT の異常高値を認めているが, TTT ではそのうち1例に異常高値をみただけで, アルカリフォスファターゼやビリルビン値は殆んど正常範囲内の変動にとどまっているが, 投与スケジュールについては, これらの副作用の発現に十分な考慮を払うことが必要である。

また副腎皮質機能に関しても尿中17-OHCS は steroid contraceptiveにより下垂体における ACTH の産生または放出の抑制, 副腎皮質における steroid の合成と分泌の抑制, corticoid 代謝の変化から一般に低下傾向があるとされているが本実験では殆んど変化がなく, 17-KS

も同様であった。

出血時間および凝固時間は血栓症の危険性の点から大切な検査であるが、特に短縮した症例はなかつたが、Hb 値や赤血球数はやや増加傾向がみられた。この原因が経血量の減少によるものかについては不明であるが、今後出血傾向や特に凝固機能については、より適確な検査が必要であると考えられる。

また血栓症による死亡頻度については Vessey, Inman ('70¹⁵), '73²⁷) らによる統計的観察によると経口避妊薬中の estrogen 含量が 50 μg より以上の投与例には発生率が高いことを指摘している。

発癌性の問題に関しては estrogen dependent な乳癌や子宮頸癌の発生の増加は、当然危険視されるところであるが、実際には発生率が増加したという報告は殆んどみられず、頸癌の発生については関係ないという報告もみられるが³¹⁾, Laurine ('71)¹⁷) らは Norgestrel 5.5 mg + Ethinyl estradiol 0.05 mg を 98,268 周期に投与し Abnormal vaginal smear の増加率は 7~17 周期で 1.9/1,000, 18~30 周期では 2.9/1,000, 3~5 年ではみられなかつたが、頸癌の悪化または進行させる因子であろうと推定している。したがって服用前、および服用中は年に 2 回位の cytologic screening が必要であろう。子宮体部癌については服用者の子宮内膜像より考えて危険性は少ないと考えられるが、子宮筋腫の場合は増大することも考えられるので気をつけるべきであろう。

したがって健康な婦人が経口避妊薬の副作用から免れるためには、血栓性静脈炎、重症肝障害、内分泌疾患、高血圧、乳房性器の悪性腫瘍などの既往、または疑いのあるときは禁忌とすべきで、服用後 3 周期目、6 周期目、以後 6 カ月毎の定期検査が必要であり、適応と禁忌¹⁰⁾にも十分留意されなければならないと同時に服用者自身も経口避妊薬の説明書や服用中の検査スケジュールを十分理解していることも必要である²⁾。

胎児の催奇作用については流産胎児の染色体異常の報告もみられるが³⁾, 服用中止後の妊娠で胎児の異常の発生例は、まだ報告されていないし、われわれ 5 例の分娩(うち 1 例は、前置胎盤による死産)でも胎児に奇形はみられなかつた。

また、避妊以外の目的として少数例であるが月経困難症や乳汁分泌停止に使用し良好な結果が得られた。

steroid 避妊中止後の Amenorrhea や時に galactorrhea の合併する over suppressin syndrome の出現についても多くの報告がみられるが、われわれの症例では殆んど問題にならなかつた。

また経口避妊薬による副作用は、妊娠したために予測される危険率に比較すれば取るに足りないという意見も

あるが、慎重な観察が必要であると考えられる。

結 語

1. 経口避妊薬として SH-1,000 (Shering 社) を 5 周期以上 30 名、合計 452 周期に投与し、月経周期に関する変化、服用中の自覚症状、副作用等について検討した。
2. 避妊効果率は 100% であつた。
3. 服用者 30 名中 4 名に transaminase (GOT, GPT) の異常高値を認めた。
4. 以上の副作用の点より経口避妊薬の投与については適応と禁忌を最重に守り、適当なスケジュールで必要な検査を繰返し、十分な観察が必要であると共にさらに避妊機序が解明されて estrogen の少い pill, あるいは mini-pill, post coital pill の開発が望まれる。

御指導、御校閲をいただきました足立春雄教授に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 足立春雄, 奈賀 脩: 経口避妊薬, 産婦実録, 18: 320(1969).
- 2) 足立春雄: 経口避妊薬, 産と婦, 40: 1204(1973).
- 3) Aref, I., Hefnawi, F., Kandiol, O., & Abdel Aziz, M. Tr: Effect of Minipills on Physiologic responses of human cervical mucus, endometrium, and Ovary. Fertil, Steril, 24: 578(1973).
- 4) Brown, J. B., Fotherby, K., & Loraine, J. A.: Effect of Norethisterone and its acetate Ovarian and Pituitary function during the Menstrual cycle. J. Endocr., 25: 331(1962).
- 5) Carr, D. H.: Chromosomes after Oral Contraceptives. Lancet, 2: 830(1967).
- 6) Cohen, M. R.: Cervical Mucorrhoea and Spinbarkeit in Patients taking Norethindrone plus Mestranol. Fertil & Sterility 19: 405(1968).
- 7) Fisch, I. R., Freedman, S. H., & Myatt, A. V.: Oral Contraceptives, Pregnancy and Blood pressure. JAMA. 222: 1507(1972).
- 8) Fuchs, F., Johnsen, S. G., & Alling Moeller, K. J.: Studies on Pituitary, Adrenocortical, and Ovarian function during treatment with Medroxyprogesterone actate. Int. J. Fertil, 9: 147(1964).
- 9) Gamberell, R. D., Greenblat, R. D., & Mahesh, V. B.: Postpill and Pill-related Amenorrhea-Galactorrhea. Am. J. Obst. & Gynec. 110: 837(1970).
- 10) Golditch, I. M.: Postcontraceptive Amenorrhea. Obst. & Gynec. 39: 903(1972).
- 11) Goldzieher, J. W., Moses, E. M., & Ellis,

- L. T.: Study of Norethindrone in Conception. JAMA, 180: 359(1962).
- 12) 林 要: 経口避妊, 特にその着床阻止作用のしくみを中心として, 産婦治療, 17: 646(1968).
 - 13) 林 要: 受胎調節のすべて(我妻堯縁集), 南山堂(1973).
 - 14) 五十嵐正雄: 「脳下垂体性ゴナドトロピン分泌に関する研究」第19回日本産科婦人科学会宿題報告要旨(1967).
 - 15) Inman, N. H. W., Vessey, M. P., Westerholm, B., & Englund, A.: Thromboembolic Disease and the Steroidal content of Oral Contraceptives: A Report to the committee on Safety of Drugs. Brit. Med. J. 2: 203(1970).
 - 16) 倉智敬一: 経口避妊(Pill)の適応と禁忌, 産と婦, 40: 456(1973).
 - 17) Laurie, R. E., & Korba, V. D.: Cervical Cytology and Histology in Patients Treated with a Combination Oral Contraceptive in Low dosage. Contraception 3: 415(1971).
 - 18) 松崎日出夫: Oral contraceptionに関する臨床的研究, 日不妊会誌, 16: 267(1970).
 - 19) Mishell, D. R. Thorneycroft, I. H., Nakamura, R. M., Nagata, Y., & Stone, C. C.: Serum E-diol in women Ingesting Combination Oral Contraceptive Steroids. Am. J. Obst & Gynec. 114: 923(1972).
 - 20) 水野和彦: Ethynodiol diacetate と Estradiol-3-methyl-ether の混合錠(SC-11800)による経口避妊に関する研究, 日不妊会誌, 16: 35(1970).
 - 21) Pincus, G.: Some effects of Progesterone and Related compounds upon reproduction and early development in mammals. Acta Endocrinol. suppl. 28: 18(1956).
 - 22) Pincus, G., Mass, S., Rock, J., & Garcia, C. R., Mass, B.: Rice-Wray, E., Piniagua, A. M., Rodriguez, B. S., & Pedaras, P. R.: Fertility control with Oral Medication. Am. J. Obst. & Gynec. 75: 1333(1958).
 - 23) Rosenberg, M.: Factors in Oral Contraception Related Hypertension. Am. J. Obst. & Gynec. 104: 1221(1969).
 - 24) Salanick, H. A., Kipnis, D. M., & Vande Wiele, R. L.: Endited Metabolic Effects of Gonadal Hormones and Contraceptive Steroids. New York, Plenum Press. 1969.
 - 25) Spellacy, W. N., Buih, W. C. & Birks, S. A.: The effect of estrogens on carbohydrate Metabolism: Glucose, Insulin, and Growth hormone studies on one hundred and seventy-one woman ingesting Premalin, Mestranol, and Ethinyl estradiol for six months. Am. J. Obst. & Gynec. 114: 378(1972).
 - 26) 東条伸平, 林 要, 岡村博行: 排卵と着床の人為的制御, 産婦世界, 20: 577(1968).
 - 27) Vessey, M. P., & Inman, W. H. W.: Speculations about mortality trends from Venous Thromboembolic disease in England and Wales and their Relation to the pattern of Oral contraceptive usage. The J. of obstet. & Gynec. Br. Commonw. 80: 562(1973).
 - 28) 植田安雄: 経口避妊の将来, 産婦治療, 12: 183(1966).
 - 29) 渡辺金三郎, 八神喜昭, 原田高和, 水野金一郎, 鈴木崇夫, 岩井克股, 中西義紀: S3800C錠による経口避妊実験について, 産と婦, 35: 924(1968).
 - 30) Wertalic, L. F., Metz, E. N., LoBuglio, A. F., & Balcerzak, S. P.: Decreased Serum B₁₂ Levels with Oral Contraceptive Use JAMA. 221: 1371(1972).
 - 31) Worth, A. J., and Boyes, D. A.: Case control study into Possible Effects of Birth Control Pills on Preclinical carcinoma of the cervix The J. Obstet. & Gynec. Br. Commonw. 79: 673(1972).
 - 32) Zanärtu, J., Pupkin, M., Rosenberg, D., Guerrerro, R.: Rodoriguez-Bravo., Garcia-Huidobro, M., & Puga, J. A.: Effect of Oral continuous Progesterone Therapy in Microdossage on Human Ovary and Sperm transport Brit. Med. J. 2: 266(1968).

Clinical Studies on the SH 1000 As Oral Contraception

**Makoto Takayanagi, Masaharu Kamada,
Norio Kushiki, Kunsei Ryo,
Mieko Fujiwara and
Osamu Naka**

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

Koji Koyama and Shinzo Isojima

Department of Obstetrics and Genecology,
School of Medicine Hyogo Medical
college, Nishinomiya

SH 1000 (d-Norgestrel 0.25 mg+ethinyl estradiol 0.05 mg), an oral contraceptive was administered by the combination method to 22 patients after delivery of hydatidiform mode, 6 patients after cesarean section and 2 healthy women for a total of 30 women for 5 cycles at shortest and 31 cycles at the longest for a total of 452 cycles, and studies were made of a change related to the menstrual cycle, subjective side-effects and results of various clinical examinations.

When the change related to the menstrual cycle was examined in three stages, namely, the

early stage (1-6 cycles), the middle stage (7-12 cycles) and the late stage (13 cycles or more), B.B.T. showing an ovulation pattern stood at 2.7% in the early stage, at 1.4% in the middle stage and 8.8% in the late stage; the number of days of menstrual cycle hardly changed in mean values, but showed a pattern of increasing slightly with the extension of the period of medication; the duration of the cycle tended to be somewhat shorted, while a decrease in the men-

strual flow was observed in the majority.

As to the results of clinical examination, there were 4 cases that showed abnormal values in GOT and GPT.

Red blood cell counts and Hb values showed a tendency to rise slightly.

Its contraceptive effect was 100 per cent; however, in administering these oral contraceptives, caution should be exercise about their indications and contraindications.

EFFECTS OF ORAL ADMINISTRATION OF ETHANOL ON OVULATION AND EMBRYONIC DEVELOPMENT IN THE RAT

Yoshinori FUKUDA and Yutaka TOYODA

Department of Animal Science, Kitasato University, Towada-shi,
Aomori 034, Japan

Abstract: Ovulation fertilization and embryonic development were investigated in the 4-day cyclic rat after oral administration of ethanol by means of a gastric tube. Ethanol was prepared for oral administration as 20 v/v% or 10v/v% solution in distilled water. The solution, at 4.7 ml/kg body weight per time, was administered eight times at 15 min intervals starting from 1 PM on the day of proestrus. Ovulation was blocked in 22 of 25 rats which treated with 20% ethanol, while administration of 10% ethanol solution blocked ovulation in 2 of 5 rats. Fertilization rate and the morphology of fertilized eggs in rats with delayed ovulation were not affected as compared with those in intact rats, except a high incidence of supplementary sperm. In the observation of embryonic development, the number of viable fetuses in rats with delayed ovulation reduced significantly as compared with intact rats.

Introduction

It is well established that ovulation in cyclic female rats is inhibited or delayed by administration of many central depressant drugs¹⁾. Ethanol blockade of ovulation has also been reported in rabbits^{2,3)} and rats⁴⁾. But it is not known whether "oral" administration of ethanol can inhibit ovulation in the rat and if so, whether delayed ovulation can be induced as in the case of pentobarbital sodium^{5,6)}.

It is of interest to determine whether delayed ovulation causes the overripeness of eggs in the follicles and the increase of abnormalities of zygotes and embryonic development⁶⁻¹⁰⁾. Accordingly, the purpose of this investigation is to determine (1) whether oral administration of ethanol can inhibit or delay ovulation, (2) whether ethanol blockade of ovulation is due to an inhibition of endogenous LH or direct effects on the ovary, and (3) whether eggs with delayed ovulation can accomplish normal fertilization and consecutive fetal development in rats.

Materials and Methods

Animals

Adult virgin female rats of the Wistar strain were kept under controlled photoperiod of 14 L:10 D (light on 5:00-19:00) and fed ad libitum with drinking water and a solid breeding diet for rats (CE-1, CLEA). Vaginal smears were taken daily and rats were used only after their vaginal smears displayed a minimum of two consecutive 4-day estrus cycles. Body weights of the first day of experimental treatment were 228 ± 3 g (mean \pm SE).

Oral Administration Schedules

Ethyl alcohol (Special Grade, Wako Pure Chemical Industries, Ltd) was diluted to a concentration of 20 v/v% or 10 v/v% with distilled water and 4.7 ml of the solution per kg body weight was given by means of a gastric tube without any supplementation of anaesthetic drugs. The administration was repeated eight times at 15 min intervals starting from 1 PM on the day of proestrus (Day 0) (the last administration 14:45); thus

the total dose of ethanol per kg body weight was 7.48 ml (ab. 6 g) or 3.74 ml (ab. 3 g) for 20 or 10% ethanol solution, respectively.

In a control group, the same volume of distilled water were administered on the day of proestrus to see whether the stress of oral administration itself might have some effect on ovulation.

The human chorionic gonadotrophin (HCG) (Puberogen, Sankyo Zoki, Ltd) tested for ability to reverse the ethanol blockade of ovulation was injected intraperitoneally in a dose of 20 iu/0.4 ml per rat at 3 PM on the day of proestrus after ethanol treatment.

Pentobarbital sodium (Nembutal, 50 mg/ml, Abbott Laboratories) which was used to know the "critical period" for ovulation in the colony of rat used, was injected intraperitoneally in a dose of 40 mg per kg body weight at 1 PM or 4 PM on the day of proestrus.

Blockade and Delay of Ovulation

To estimate the incidence of ovulation, the treated rats were laparotomized under ether anaesthesia between 9 AM and 11 AM on Day 1 and the ovary and the oviduct from one side were carefully exposed and examined. If the ampulla was swollen and filled with clear fluid, the animal was considered to have ovulated.

The animal that was considered to have ovulated was killed immediately and both oviducts were carefully separated from the ovaries and uterine horns. Each oviduct was placed between two glass slides and the number of fresh eggs was counted under a dissecting microscope and ovaries were examined histologically to ascertain the presence of fresh corpora lutea.

When the animals were judged not to have ovulated, they were placed with fertile males from 5 PM on Day 1 until 11 AM on Day 2. Mated animals were used for observation of fertilization and embryonic development (see below). Unmated animals were killed immediately and examined for the presence of eggs in their tubes.

Embryonic Development

The animals in which the ovulation was inhibited by ethanol treatment, were placed

with fertile males from 5 PM on Day 1 until 11 AM on Day 2. Females having vaginal plug or sperms in the vaginal smear were considered to have mated successfully (day 0 of pregnancy).

About half of the mated animals were killed between 1 PM and 5 PM on the next day (day 1 of pregnancy) in order to examine the fertilized eggs at the 2-cell stage. Oviducts were flushed with 0.2 ml of 0.85% NaCl in order to recover the eggs. The eggs transferred to slide were compressed gently between a cover slip and slide, and then examined under a phase contrast microscope. The remaining mated animals were kept until day 18 of pregnancy for observation of fetal development. To determine whether effects of ethanol on the fertilization were due to ethanol itself or delayed ovulation, the eggs of "ethanol control group" were observed. "Ethanol control" rats were treated with 20% ethanol from 1 PM on a day before proestrus (second day of diestrus) and were placed with fertile males from 5 PM until 11 AM on Day 1 for mating.

Results

Effects on Gross Behaviour

All rats treated with ethanol exhibited behavioural sign of intoxication. In 20% ethanol group, most of the treated rats progressed to the anaesthetized condition, i.e. about 1.5-2.5 hr after the first treatment, rats fell into the condition of coma and about half of them did not show the reflex to the stimuli added by pinching the hind limbs with a forceps. But in 10% ethanol group, the sign of intoxication was less distinct. Almost all rats of both groups appeared to have completely recovered on the following morning.

The onset of anaesthesia occurred within 5 min after pentobarbital. The anaesthesia was much more variable for the ethanol than for pentobarbital. No intoxication was observed in the administration of distilled water.

Effects on Ovulation

Effects of oral administration of ethanol

Table 1. Blockade of ovulation by oral administration of ethanol in the proestrus rats*

Oral administration of ethanol		No. of rats	No. of rats that had ovulated	No. of eggs per ovulating rat (mean±SE)
Dose (%)	Starting time			
20	1 PM	25	3	11.7±1.2
10	1 PM	5	3	9.3±3.8
0 (water)	1 PM	5	5	11.6±0.9
20	4 PM	5	5	12.2±0.7
20 + HCG (20iu)	1 PM	5	5	9.0±1.5
	3 PM			

* Observation was performed at 9-11 AM on Day 1 (Day 0=proestrus).

on ovulation are presented in Table 1. Twenty % ethanol given at 1 PM on Day 0 inhibited ovulation in 22 of 25 treated rats according to the observation on Day 1. The remaining 3 rats had almost full sets of fresh eggs in their ampullae on Day 1. Of 25 rats in which the ovulation was inhibited, fourteen animals copulated with males during the intervening night between Day 1 and Day 2. Eight of them were autopsied on Day 3 for the examination of eggs (Table 2) and remaining six animals were further observed for the maintenance of pregnancy (Table 3). The 8 unmated rats had no egg in their tubes but large atretic follicles were seen in their ovaries at the time of autopsy on Day 2. Ten % ethanol from 1 PM on Day 0 inhibited ovulation in 2 of 5 treated rats. Of 3 rats which ovulated, 2 had a almost full sets of fresh eggs, but the third one had only two eggs in her tubes and several large atretic follicles were found in her ovaries. All the rats treated with distilled water from 1 PM on Day 0 (control group) had ovulated normally at the time of autopsy on Day 1. When the start of administration of 20 % ethanol was delayed until 4 PM on Day 0, ovulation was normal in all the rats.

The injection of 20 i.u. HCG at 3 PM (2 hr after the start of ethanol treatment) reversed the ethanol blockade of ovulation. Ovulation occurred in all of the 5 animals and the number of ovulations was 9.0 ± 1.5 . Pentobarbital sodium injection at 1 PM on

Day 0 inhibited ovulation in 4 of 6 treated rats, while the administration at 4 PM did not block ovulation, all the rats ovulation normally (Av. no. of eggs: 14.8 ± 0.7).

Of 8 rats which were treated with 20 % ethanol from 1 PM on the day before proestrus (ethanol control, Table 2), 5 mated on Day 1 and 4 of them had normal fertilized eggs but one rat had no fertilized eggs (all eggs were at the unfertilized 1-cell stage), remaining 3 rats did not mated on Day 1 but mated on Day 2 (2 rats) and on Day 3 (one rat), leaving them with fertile males from Day 0 until mating occurred. These results seem to show that ethanol administered from 1 PM on the day before proestrus delays ovulation for about 1-2 days in some rats.

Effects on Embryonic Development

Table 2 presents the observations on eggs recovered from the oviducts of rats killed on day 1 of pregnancy. Of 8 rats mated in delayed ovulation group, one female had fourteen unfertilized eggs in her oviducts, judging from the appearance of cumulus, these eggs were considered to have ovulated 1/2 to 1 day previously (delayed ovulated for approx. $1\frac{1}{2}$ days) and these eggs were not included. The rate of fertilization was 91, 97 and 98 % for delayed ovulation, intact control and ethanol control without delayed ovulation groups, respectively. The rate of polyspermy. The rate of polyspermy was very low in all groups. Polyspermy was

Table 2. Effecte of delayed ovulation on fertilization*

Group	No. of orats having fertilized eggs/No. of rats mated	No. fo eggs examined	Total fertilized eggs	Monospermic eggs at 2-cell stage		Polyspermic eggs at 2-cell	Fertilized eggs other than 2-cell		Unfertilized eggs
				Total**	With suppl. sperm		1-cell	Frag-mented	
Delayed ovulation	7/8	67#	61# (91.0%)	56#	49# (1-15)	1 : dispermy	1#	3#	6#
Intact control	6/6	77	75 (97.4%)	75	30 (1-5)	0	0	0	2
Ethanol control***									
Without delayed ovulation	4/5	55#	54# (98.2%)	54#	16# (1-5)	0#	0#	0#	1#
With 遅 delayed ovulation for :									
1 day	2/2	23	23	21	8 (1-3)	1 : dispermy	1	0	0
2 days	1/1	9	9	9	8 (1)	0	0	0	0

* Eggs were examined at 1-5 PM on day 1 of pregnancy (day 0 of pregnancy=the day when sperm were found)

** Monospermic eggs at 2-cell stage 2-cell stage include a egg with accessory nucleus in delayed ovulation group, a egg with unequal blastomeres in intact group and a giant egg in ethanol control without delayed ovulation group.

*** Rats were treated with 20% ethanol from 1 PM on the day before proestrus.

One rat which had no fertilized eggs is not included.

Table 3. Distribution of number of spermatozoa found in perivitelline space of eggs at 2-cell stage.

Group	No. of eggs with <i>i</i> sperm in perivitelline space.											Total
	<i>i</i> =0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10≤	
Delayed ovulation	7	12	11	2	6	8	3	1	3	1	3	57
Intact control	45	14	10	3	1	2						75
Ethanol control												
Without delayed ovulation	38	9	5	1		1						54
With delayed ovulation for :												
1 day	13	6	1	2								22
2 days	6	3										9

observed only in delayed ovulation group. Most of the fertilized eggs were at the 2-cell stage in all groups. The only recognizable difference between the eggs of two control groups and delayed ovulation group was a high incidence of supplementary sperm

(sperm in the perivitelline space) in rats with delayed ovulation following ethanol treatment on the day of proestrus (Table 3). The percentages of eggs with supplementary sperm were 88, 40 and 30% for delayed ovulation, intact control and ethanol without

Table 4. Effects of delayed ovulation on embryonic development

Group	No. pregnant/ No. mated	No. corpora lutea*	No. implantation sites*	No. living fetuses*	Ay. weight of fetus* (g)
Intact control	8/8	14.5±0.65	13.3±1.37	12.9 ±1.39	1.65±0.04
Delayed ovulation	5/6	13.7±0.92	8.8±1.92	5.5**±1.77	1.75±0.07

* Mean±SE

** Significant difference from intact control ($P<0.01$).

delayed ovulation groups, respectively.

On the other hand, the rats with delayed ovulation for 1 to 2 days in the ethanol control group did not show the significant increase in the incidence of supplementary sperm.

Effects of delayed ovulation on fetal development are presented in Table 4. Corpora lutea were used as indices of ovulation.

The average number of corpora lutea in delayed ovulation group was not affected. The average number of implantation sites in delayed ovulation group was smaller than that in intact control group but there was not significant difference. The average number of living fetuses in delayed ovulation group is significantly smaller than that in intact control group ($p<0.01$).

Discussion

Blockade and Delayed Ovulation

Certain inferences can be drawn from this investigation about the nature of the inhibition of ovulation by oral administration of ethanol. It is considered that ethanol blockade of ovulation constituted an inhibition of the release of endogenous LH rather than a direct effect on the ovary. This follows from the observation that administration of HCG substantially reversed the ethanol blockade of ovulation. The fact that ethanol could not inhibit ovulation when given from 4 PM-i.e., after the "critical period" for release of the ovulatory surge of LH supports this view.

The present results are agreed with that of Kieffere and Ketchel⁴⁾, which has shown the blockade of ovulation by injecting ethanol subcutaneously.

In our experiment, however, the failure of the exogenous hormone to reverse the

ethanol blockade of ovulation reported by Kieffer and Ketchel⁴⁾ were not observed. Exogenous gonadotrophin seems to reverse the ethanol blockade incompletely (Table 2), because of the reduction in the number of ovulation eggs as compared with the control. Large atretic follicles were found in the ovaries in these rats. Kieffere and Ketchel⁴⁾ suggested two possibilities for this relative ineffectiveness of exogenous gonadotrophin: ethanol may reduce the sensitivity of the ovary to hormonal stimulation or may have central effect tending to block the release not only of LH but also of FSH.

It is interest that 20% ethanol which was given from 1 PM on the day of proestrus delays ovulation for about 1 day in most rats (7 of 8 examined on Day 2) in which mating occurred, while it inhibited ovulation for more than one day in those animals which did not mate. The cause of this apparent correlation between the occurrence of delayed ovulation and behavioral estrus (mating) during the night is not clear at present, but it may be simply due to the fact that the neuroendocrine requirement are basically similar for both ovulation and estrus. Kieffer and Ketchel⁴⁾ reported that the ethanol given subcutaneously in a dose of 7.98 g/kg body weight inhibits ovulation for at least two days in 7 of 11 rats. In our experiment, total dose of ethanol is about 6.0 g/kg body weight and it may be possible that some of the treated rats may have shown the delayed ovulation for 2 or more days, if the observation has continued. On the other hand, it can not be ruled out that the "reflex ovulation" caused by the act of copulation may have been responsible, at least in part, for the association of ovulation with mating. The reflex induction of ovulation is known in those rats showing

continuous estrus by constant illumination, in pentobarbital-blocked rats or in 4-day cyclic rat received estradiol during diestrus¹¹. It has been shown that a low dose of pentobarbital sodium (20 mg/kg body weight) delayed ovulation for only several hours (intermediate delay), while a higher dose (30 mg/kg body weight) caused "complete delay" for 24 hours⁶. In the case of ethanol, low dose (10%) reduced the number of blocked rats and did not result in the intermediate delay, but one female showed intermediate delay for approx. 1 1/2 days.

In the present experiment, ethanol administered from 1 PM on the day before proestrus, also caused delayed ovulation for 1 or 2 days in 4 of the 8 rats. The delay of ovulation by pentobarbital and barbital administration during diestrus has also been reported by Shwartz and Lawton¹¹, and Okamoto, Nobunaga and Suzuki¹². Shwartz and Lawton¹¹ reported that pentobarbital on the day before proestrus was partially successful in blocking ovulation (18 of 43 blocked ovulation), on the other hand, barbital, a long acting barbiturate, at this time was quite successful in blocking ovulation (12 of 15 blocked ovulation). Okamoto, Nobunaga and Suzuki¹² reported that the pentobarbital anaesthesia was able to delay the ovulation in 4-day cyclic rats by one day, when it was applied at more or less limited period on the afternoon of various stages except the day of estrus. To block the ovulation, however, larger doses or more long lasting anaesthetic effects were needed in the day of diestrus compared with the day of proestrus or the day of metestrus, so the effective period of the anaesthesia to block the ovulation was much wider in the day of diestrus than the day of proestrus or the day of metestrus.

Embryonic Development

Delayed fertilization has been known to cause the reduction of normal fertilization rate and increased the incidence of abnormal development^{13,14}, which is considered to be due to the deterioration that takes place in the eggs. In the present experiment, the eggs following delayed ovulation can be fertilized efficiently and most of the fertilized

eggs were apparent normal. Thus, our results are in agreement with those of Toyoda and Chang⁶, but not in agreement with those of Fugo and Butcher⁷. Toyoda and Chang⁶ discussed that the discrepancy between their result and those of Fugo and Butcher⁷ may be partly due to a strain difference in cycle length, or to the fact that the period of intrafollicular aging was not long enough in their experiment. It is common that a high incidence of supplementary sperm was observed in the eggs following delayed ovulation^{6,7}. But it is of interest that in the delayed-ovulated rats treated with 20% ethanol on the day before proestrus, a high incidence of supplementary sperm was not observed (Table 3). From this observation, a high incidence of supplementary sperm seems to occur when the ovulation was delayed following the treatment on the day of proestrus.

It has been reported that ovulation delayed for one day with pentobarbital did not affect fertility in the 4-day cyclic rat^{6,9}. But in this experiment using ethanol, as shown in Table 3, ovulation delayed for one day did not affect the average number of implantation, but reduced the number of viable fetuses significantly. The reduction in the number of viable fetuses may be due to the toxic effect of ethanol. Toyoda and Chang⁶ reported that ovulation delayed for two days reduced the number of fetuses slightly and suggested that a discrepancy between the developing embryos and the hormonal status of the mother may have been responsible for the loss of embryos. Butcher, Blue and Fugo⁹ also reported that ovulation delayed for two days (in 4-day cyclic rat) or for one day (in 5-day cyclic rat) decreased the number of fetuses significantly.

These authors¹⁰ transferred the blastocysts recovered from control rats or from rats with delayed ovulation to normal recipients in which ovulation had been delayed and concluded that delaying ovulation decreases implantation rate through changes in the intrauterine environment and that changes in the egg following delayed ovulation result in increased embryonic death and development defects. Further investigation is apparently needed for the analysis of the

reduced fertility caused by ethanol treatment at proestrus.

Acknowledgment

This work was supported by Grant (No. 86586) from the Japanese Ministry of Education awarded to Prof. T. Hosi, to whom we are grateful for much helpful criticism and advice. Thanks are due to Miss Teruko Yamazaki for assistance.

References

- 1) Everett, J. W.: Central neural control of reproductive functions of the adenohypophysis. *Physiol. Rev.* 44: 373, 1964.
- 2) Saul, G.: Blockade of ovulation in the rabbit by intoxicating doses of ethyl alcohol. *Anat. Rec.* 133: 332, 1959.
- 3) Chaudhury, R. R. and Matthews, M.: Effect of alcohol on the fertility of female rabbits. *J. Endocrin.* 34: 275, 1966.
- 4) Kieffer, J. D. and Ketchel, M. M.: Blockade of ovulation in the rat by ethanol. *Acta Endocr.* 65: 117, 1970.
- 5) Everret, J. W. and Sawyer, C. H.: A 24-hour periodicity in the "LH-release apparatus" of female rats, disclosed by barbiturate sedation. *Endocrinology* 47: 198, 1950.
- 6) Toyoda, Y. and Chang, M. C.: Delayed ovulation and embryonic development in the rat treated with pentobarbital sodium. *Endocrinology* 84: 1456, 1969.
- 7) Fugo, N. W. and Butcher, R. L.: Overripeness and the mammalian ova: 1. Overripeness and early embryonic development. *Fertil. Steril.* 17: 804, 1966.
- 8) Butcher, R. L. and Fugo, N. W.: Overripeness and the mammalian ova: 11. Delayed ovulation and chromosome anomalies. *Fertil. Steril.* 18: 297, 1967.
- 9) Butcher, R. L., Blue, J. D. and Fugo, N. W.: Overripeness and the mammalian ova: 111. Fetal development at midgestation and

at term. *Fertil. Steril.* 20: 223, 1969.

- 10) Butcher, R. L., Blue, J. D. and Fugo, N. W.: Role of intrauterine environment on ova after normal and delayed ovulation. *Biol. Reprod.* 1: 149, 1969.
- 11) Shwartz, N. B. and Lawton, I. E.: Effects of barbiturate injection on the day before proestrus in the rat. *Neuroendocrinology* 3: 9, 1968.
- 12) Okamoto, M., Nobunaga, T. and Suzuki, Y.: Delay in ovulation with pentobarbital anesthesia applied at various stages of the 4-day cyclic rat. *Endocrinol. Japon.* 19: 11, 1972.
- 13) Blandau, R. J.: The female factor in fertility and infertility: 1. The effects of delayed fertilization on the development of the pronuclei in rat ova. *Fertil. Steril.* 3: 349, 1952.
- 14) Braden, A. W. H.: Are nongenetic defects of the gametes important in the etiology of prenatal mortality? *Fertil. Steril.* 10: 285, 1959.

ラットの排卵および胚発生に及ぼす エタノール経口投与の影響

福田芳詔・豊田 裕

北里大学 畜産学部

ラットの排卵に及ぼすエタノール経口投与の影響を調べ、次に排卵が遅延した際の受精成績および胎児への発生を観察した。膣垢像が発情前期像を示したラットに午後1時から15分間隔で8回、20 v/v%エタノールを体重100 g 当り0.47 ml の割で経口投与し、翌日排卵が抑制されているかどうかを観察した。排卵抑制率は88% (22/25) であつた。投与時期を午後4時まで遅らせた場合と、午後1時から投与して午後3時に HCG (20 iu/0.4 ml) を追注した場合には、ともに排卵の抑制は見られなかつた。遅延排卵された卵の受精率に影響は見られなかつたが、補足精子を有する受精卵の割合が高くなつた。妊娠18日における観察では平均生存胎児数が有意に減少した。

尿中 LH 測定による LH-RH Test

Urinary LH-RH test using Higonavis

慶応義塾大学医学部産婦人科

中村幸雄 松本茂 黒川博厚

Yukio NAKAMURA, Shigeru MATSUMOTO, Hiroatsu KUROKAWA

斉藤薫 飯塚理八

Kaoru SAITO Rihachi IIZUKA

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

ハイゴナビスによつて尿中 LH を測定し、LH-RH Test を行なつた。対象は正常腎機能者とし、LH-RH 100 μ g 筋注により LH-RH Test を行なつた。血清 LH 濃度 (mIU/ml) と尿中 LH 濃度 (mIU/ml)、尿中 LH 排泄量 (mIU/min.) とは、互に有意な ($p < 0.01$) 相関がみとめられた。したがつて正常腎機能者にあつては、単位時間の尿量を測定せずとも単に尿中 LH 濃度の測定のみで LH-RH Test が行ないうる。

尿中 LH-RH Test の peak time は60分で、血清値より30分の遅れをみた。尿中 LH-RH Test の反応パターンは血清と同様 low-poor, intermediate, high-good Type の3型に分類でき、尿中、血清 LH-RH Test の間に相関がみられた。

FSH 因子を考慮していない点に注意すればハイゴナビスを用いて尿中 LH を測定することにより、十分 LH-RH Test を行ないうる。

LH-RH の分離、合成にもとづき、LH-RH を用いて間脳下垂体の機能検査を行なう LH-RH Test の応用は、ほぼ確立されたといえる。

しかしながら LH-RH Test を行なうためには、血清 LH、FSH を radiomunoassay にて測定する必要があり、どこでも行なえる検査法とはいいがたい。

今回抗 HCG 抗体感作血球凝集反応を用いた尿中 HCG、LH 定量法であるハイゴナビスが開発され、その基礎的検討により簡便・正確さが証明されている。われわれは、このハイゴナビスを用いて、尿中 LH 測定による LH-RH Test を行ない、その実用性を検討した。

すでにハイゴナビスを用いた LH-RH Test については、二、三の報告がみられるが、いずれもごく少数例の検討にとどまり、かつまた、尿中 LH を表現するため単位時間の尿量を測定し、単位時間の尿中 LH 排泄量でみると、きわめて煩雑な操作をとつているが、いかに LH 測定法が簡略化されても、それに附随する操作が煩雑であつては、その効用は半減してしまふ。

われわれは尿中 LH 排泄量 (mIU/min) と尿中 LH 濃度 (mIU/ml) とを血清 LH 濃度と比較し、尿中 LH 濃度のみで十分 LH-RH Test が行なえるか検討し、その臨床応用とともに報告することとした。

I. LH-RH Test の方法および対象

対象は慶応病院および慶応健康相談センター婦人科外来を訪れた患者のうち、creatinine clearance 正常者を対象に LH-RH 100 μ g 筋注法による LH-RH Test を行なつた。Test は原則として午前9時開始とし、血清 LH-RH Test は、すでに報告した方法によつた¹⁾。

尿中 LH-RH Test は、血清 LH-RH Test と同時に行ない、朝食後、Test 終了時まで禁飲食とし、図1に示すように、①LH-RH 投与前、投与後30分、60分、120分、180分、24時間後の随意尿 (尿量測定せず) 中の LH 濃度 (mIU/ml) を測定した。②一部の症例では、LH-RH 投与前1時間前より LH-RH 投与直前まで、投与後30分まで、60分まで、120分まで、180分までの全尿量を採

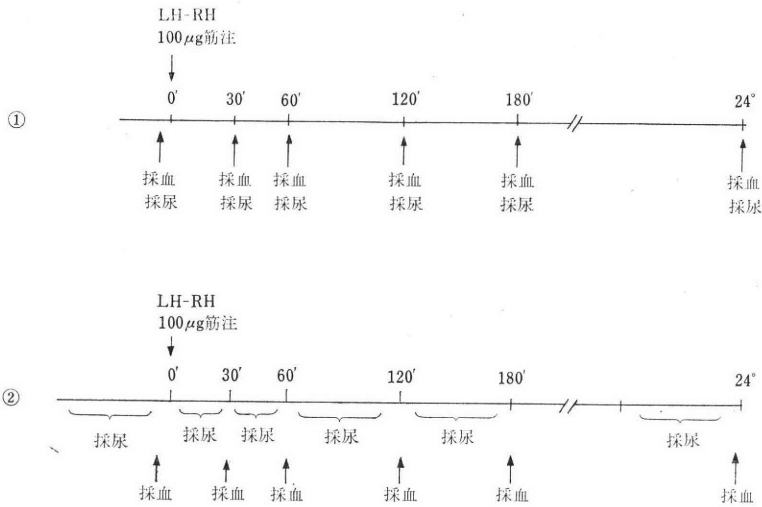


図 1

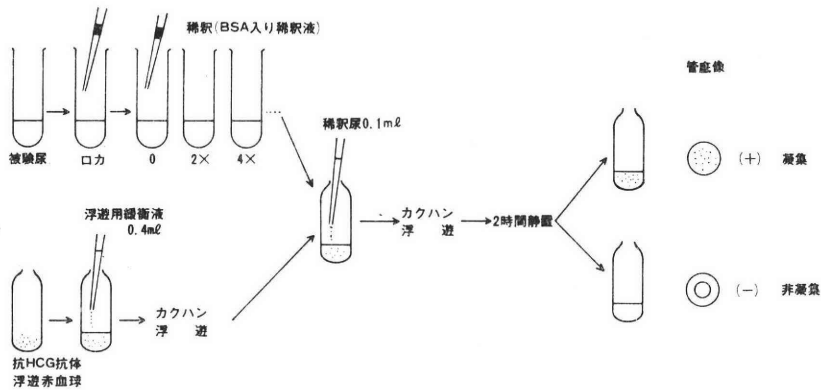


図 2 ハイゴナビス測定手技及び判定基準

取, 尿量測定, 翌日 24 時間尿も同様 1 時間尿を採取, 尿中 LH 濃度と単位時間尿量とより尿中 LH 排泄量 (mIU/min) を求めた。

尿中 LH 濃度はハイゴナビスを使用し, 図 2 に示す方法によった。

II. 成 績

1) 血清 LH 濃度と尿中 LH 排泄量との関係

同一時点にて採取した血清の LH 濃度 (mIU/ml) と尿中の LH 排泄量 (mIU/min) との関係は, 図 3 に示すように相関係数 $r=0.7809$ ($N=31$) と, きわめて高い相関を示した。 ($p<0.01$)

2) 血清 LH 濃度と尿中 LH 濃度との関係

血清 LH 濃度と尿中 LH 濃度 (mIU/ml) との関係は図 4 に示すように相関係数 $r=0.7587$ ($N=99$) と, きわめて高い相関を示した。 ($p<0.01$)。

血清 LH 濃度と尿中 LH 排泄量との相関係数よりやや小ではあるが, 有意な差はみられなかった。

尿中 LH 各濃度における血清 LH 濃度の $M \pm SD$ は, 図 5 に示すように, 尿中 LH 200 mIU/ml までは, 血清 LH 濃度とよく相関するが尿中 LH 400 mIU/ml では, やや血清 LH 濃度との関係が, 低濃度に比し, 低く出る傾向がみられた。

3) 尿中 LH 排泄量と尿中 LH 濃度との関係

尿中 LH 排泄量, 濃度との関係は, 図 6 に示す如くで, 相関係数 $r=0.9421$ ($N=34$) と, きわめて高い相関を示した。 ($p<0.01$)

以上の結果より, 正常腎機能者にあつては尿中 LH 値は, 単に尿中 LH 濃度 (mIU/ml) の測定のみで, 十分血清 LH 濃度との相関が認められたので, 以下尿中 LH-RH Test は, すべて尿中 LH 濃度にて表現した。

4) 血清および尿中 LH-RH Test における peak

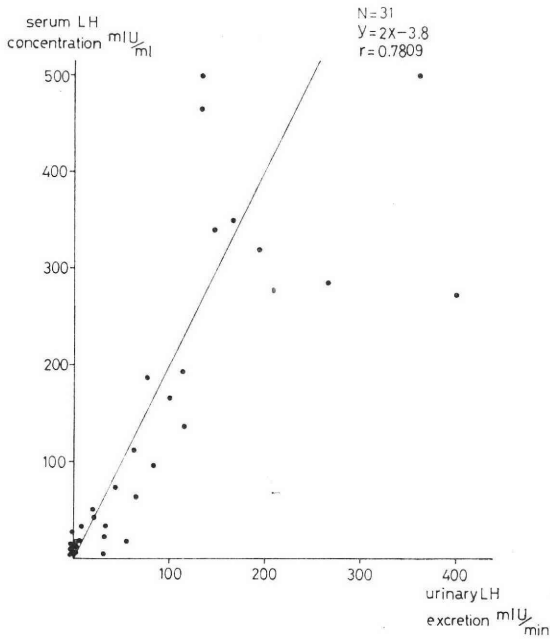


図 3 血清 LH 濃度と尿中 LH 排泄量

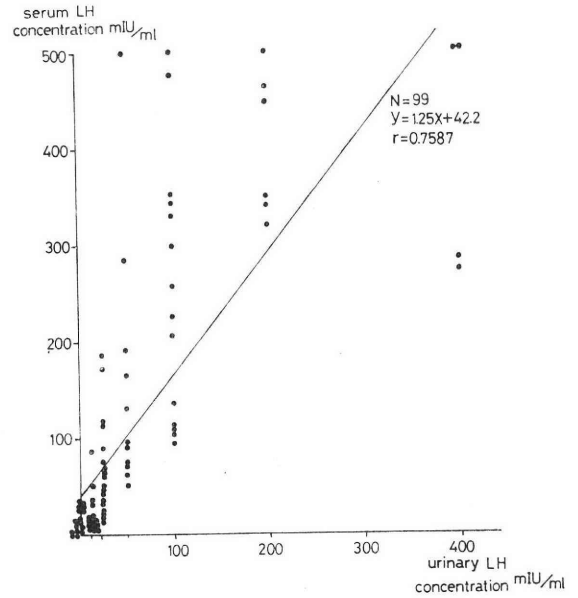


図 4 血清 LH 濃度と尿中 LH 濃度-I

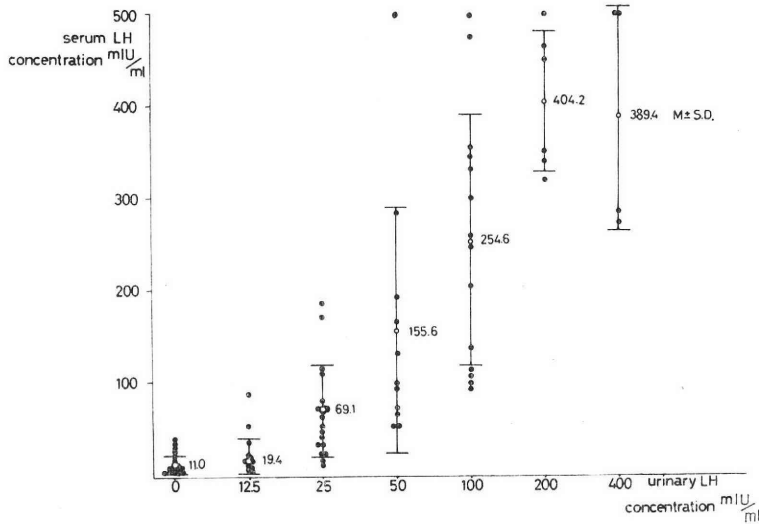


図 5 血清 LH 濃度と尿中 LH 濃度-II

time の差

図 7 に示すように、血清 LH-RH Test における peak time は30分、尿中では60分に存在し、尿中 peak time は、血清より遅れる傾向を示した。

5) 血清 LH-RH Test および尿中 LH-RH Test のパターン分類について

すでに著者等²⁾³⁾は、血清 LH-RH Test の結果より、図 8 に示すようなパターン分類を行ない、病態との関係を明らかにし、臨床きわめて有意義なることを発表し

ている。尿中 LH-RH Test の結果も、これに準じて 3 型に分類し、両者の相関をみた。

尿中 LH-RH Test の結果 high-good 型は、前値 25 mIU/ml 以上、peak 値 50 mIU/ml 以上、中間型：前値 12.5 mIU/ml、peak 値 25 mIU/ml 以上、low-poor 型：前値 12.5 mIU/ml 以下、peak 値 12.5 mIU/ml 以下と分類した時、血清 LH-RH Test のパターン分類と相関が最大となつた。(図 9)

この結果尿中 LH-RH Test の結果より、あるていど

血清 LH-RH Test の結果を推定することが可能となつた。

6) 症例 1 (high-good 型)

図10は、血清 LH-RH Test で前値105 mIU/ml, peak 値500 mIU/ml, 尿中 LH-RH Test で前値100 mIU/ml, peak 値400 mIU/ml を示す、ともに high-good 型と分類された。本症例は続発性第Ⅱ度無月経で、PMS (HMG)-HCG 療法が無効であり、卵巣性無月経が推定された。このような high-good 型には、その他去勢婦人、閉経期婦人、原発性・続発性第Ⅱ度無月経の一部が入る。

7) 症例 2 (中間型) (図11)

症例は、血清 LH-RH Test で前値25 mIU/ml, peak 値228 mIU/ml, 尿中 LH/RH Test で前値 0 mIU/ml, peak 値100 mIU/ml を示し、共に中間型と分類された。本症例は、第Ⅰ度無月経で clomiphene 有効例である。中間型に属するものは、その他正常性周期婦人、第一度無月経、無排卵周期症、PCO、原発性・続発性無月経の一部が入る。

8) 症例 3 (low-poor 型) (図12)

症例は、血清 LH-RH Test で前値3.6 mIU/ml, peak 値9.2 mIU/ml, 尿中 LH-RH Test で前値 0 mIU/ml, peak 値 12.5 mIU/ml と、いずれも低値を示し、low-poor 型と分類された。本症例は神経性食思不振症に基づく第Ⅱ度無月経で、PMS-HCG 療法にて排卵している。この low-poor 型に属するものには、原発性・続発性第Ⅱ度無月経の一部、神経性食思不振症、減食性無月経、下垂体周辺の器質的疾患が入る。

III. 考 按

すでにハイゴナビスの基礎的検討については、数多く

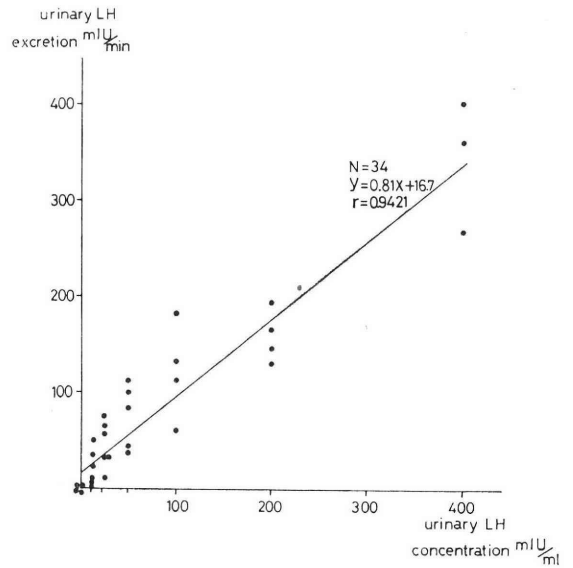


図 6 尿中 LH 濃度と尿中 LH 排泄量

S-LH (mIU/ml) peak time	U-LH (mIU/ml) peak time				
	30'	60'	120'	180'	
30'	16	1	1	—	18
60'	10	12	—	1	23
120'	1	2	3	—	6
180'	—	—	—	3	3
	27	15	4	4	

図 7 尿中 LH-RH Test と、血清 LH-RH Test の peak time

尿中 LH-RH Test	血清 LH-RH Test		病 態
	LH パターン	FSH パターン	
normal range (前値 20 ↓ peak 30-250)	normal range (前値 20 ↓ peak 40 ↓)		正 常
high-good 型 (前値 25 ↑ peak 50 ↑)	1. high-good 型 (前値 60 ↑ peak 100 ↑)	(high-good)	} 卵巣機能低下
中間型 (前値 12.5 ↓ peak 25 ↑)	2. 中間型 (前値 60 ↓ peak 30 ↑)	高 FSH 群 (peak 40 ↑)	
		低 FSH 群 (peak 40 ↓)	間脳及び 上位中枢機能低下
low-poor 型 (前値 12.5 ↓ peak 12.5 ↓)	3. low-poor 型 (前値 10 ↓ peak 30 ↓)	(low-poor)	下垂体機能低下 (原発性、続発性)

図 8 尿中・血清 LH-RH Test のパターン分類

serum LH mIU/ml \ urine LH mIU/ml	high-good type (25↑ : 50↑)	intermediate type (12.5 : 25↑)	low-poor type (12.5↓ : 12.5↓)
high-good type (60↑ : 100↑)	9	1	—
intermediate type (60↓ : 30↑)	4	22	1
low-poor type (10↑ : 30↓)	—	2	10

図 9 血清 LH-RH Test と尿中 LH-RH Test の相関

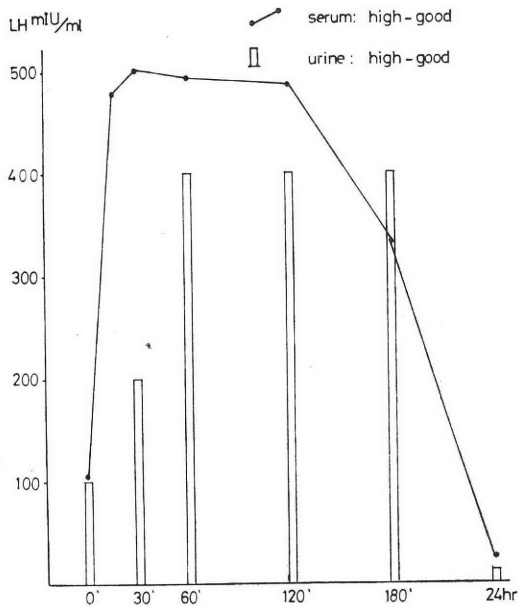


図 10 high-good 型

の報告がみられ、その簡便かつ正確性は認められている⁴⁾⁵⁾⁶⁾。また、尿中 LH(HCG)値の RIA 測定値とハイゴナビスによる測定値との間には有意な相関が認められている⁴⁾⁵⁾。われわれはこれらの報告に基づき、血清 LH-RH Test とハイゴナビスによる尿中 LH-RH Test とを比較検討し、尿中 LH-RH Test の実用性を追求した。

尿中 LH 測定による LH-RH Test については Luteonosticon による LH-RH Test が発表されているが⁷⁾、測定感度、測定手技の煩雑さのため実用に供せられてはいない。一方ハイゴナビスを使用した尿中 LH-RH Test は、すでに二、三報告がみられる、吉本⁸⁾、松田⁹⁾は尿

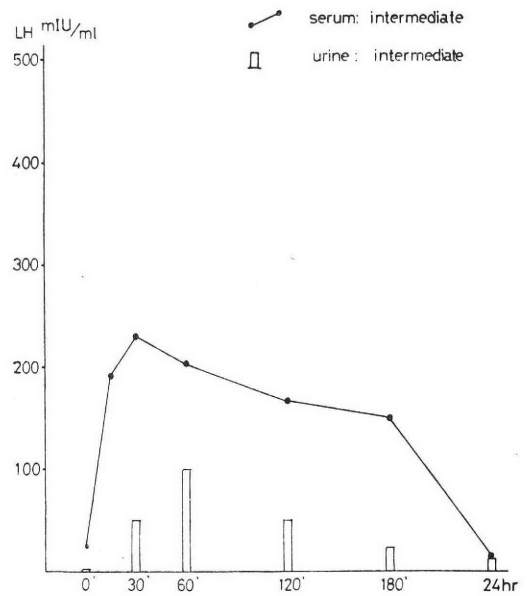


図 11 中間型

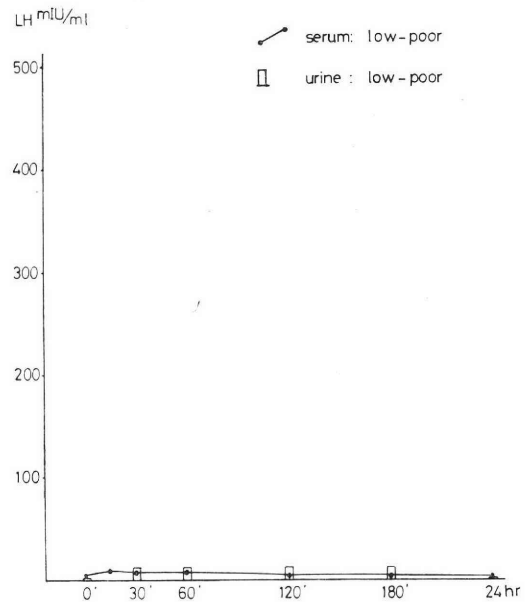


図 12 low-poor 型

量を測定せず尿中 LH 濃度の測定による LH-RH Test を施行し、十分血清値との相関を認めている。しかし神経性食思不振症、尿崩症等では尿中 LH-metabolic rate の変化、尿中分泌量、尿量の変化により、血清 LH-RH Test と解離をみとめ⁸⁾、採尿条件の一定化⁹⁾の必要性をのべている。

八神¹⁰⁾、三宅⁴⁾は、尿中 LH 値を単位時間の LH 排泄量 (IU/hr) にて示し¹¹⁾、熊坂は分画尿にて LH-RH

Test を行ない、各々実用性を証明している。しかしこれら報告はいずれもごく少数例の検討にすぎない。

これら報告によると尿中 LH 値を表現するには、単に尿中 LH 濃度で表現した場合には、尿量等の影響のため血清 LH 濃度と解離を示す場合があり、単位時間の LH 排泄量で表現する方が、血清 LH 濃度とよく平行するようである。しかし實際上 LH-RH Test を施行する上で、Test 時間中全尿量を採取、尿量を測定し、単位時間の LH 排泄量を求めることはきわめて煩雑で、せつかく簡便なるハイゴナピスを用いた LH-RH Test の効果を半減してしまう。そこでわれわれは、腎機能正常者 (creatinine clearance 正常者) で、採尿条件を一定にした場合、単に尿中 LH 濃度のみで LH-RH Test が可能か検討したわけである。

図 3, 4, 5 に示すように、血清 LH 濃度と、尿中 LH 濃度、LH 排泄量との間には、ともに有意な相関がみとめられた。したがって正常腎機能者にあつては、尿 Test 施行時の条件を一定にすれば尿量の影響は無視でき、尿量測定を行なわずとも、たんに尿中 LH 濃度の測定のみで血清 LH 濃度を推定可能である。

血清、尿中 LH 濃度の間に図 6 に示すように尿中 LH 200 mIU/ml まではよく平行するが、400 mIU/ml では、血清値との解離がみられた。これは例数が少ないこと、尿稀釈を低倍率から高倍率へと行なうための影響等が関係しているものと思われる。

尿中 LH-RH Test の peak time は、60 分に存在し、血清 LH-RH Test の peak time 30 分と、約 30 分のずれを示した。松田も尿中 peak の遅れを認めており、血流中より尿中へ排泄される過程よりみて、ごく自然の結果といえる。

血清 LH-RH Test のパターン分類については、われわれはすでに図 8 に示す分類を行ない²³⁾、水口²²⁾、青野¹³⁾も同様分類を行ない、いずれも病態とよく一致した成績を得ている。尿中 LH-RH Test においても、血清におけると同様の分類が可能であり、この分類を用いれば、血清 LH-RH Test と同様、病態変化を把握可能である。しかしながら、黒川²⁾が指摘するように、中間型高 FSH 群は、gonadotropin 療法の排卵率がきわめて低く、第 II 度無月経より中間型高 FSH 群を選別することは、治療上きわめて有意義である。尿中 LH-RH Test では、FSH 因子を全く除外して行なっており、このことを十分考慮する必要がある。間脳一下垂体系機能検査として、十分実用可能であるが、必要に応じて血清 LH-RH Test の施行が望ましい。

IV. 結 論

1. 正常腎機能者にあつては採尿条件を一定にすれば、ハイゴナピスを用いて測定した尿中 LH 排泄量、濃度は、とも血清 LH 濃度と相関があり、尿中 LH 濃度のみでも LH-RH Test が行なえる。
2. 尿中 LH-RH Test の結果は、血清 LH-RH Test と同様の分類が可能であり、病態とよく一致した。
3. 尿中 LH-RH Test の peak time は、血清 LH-RH Test より 30 分遅れる。
4. ハイゴナピスを用いた尿中 LH 測定による LH-RH Test は、間脳一下垂体系機能検査法として有用である。

稿を終るに望みハイゴナピスを提供された持田製薬 K.K. に感謝する。尚本論文の要旨は、第 48 回日本産婦人科学会関東連合地方部会にて発表した。

参 考 文 献

- 1) 中村幸雄, 黒川博厚, 高 俊昭, 清水謙一, 松本 茂, 小林俊之, 斉藤 薫, 飯塚理八: 日不妊会誌, 18, 953, 1973.
- 2) 黒川博厚: 日産婦誌, 26, 621, 1974.
- 3) 中村幸雄, 黒川博厚, 松本 茂, 高 俊昭, 飯塚理八: 日不妊会誌, 19, 306, 1974.
- 4) 三宅 侃, 谷沢 修, 角田真紀子, 衣笠隆之, 南川淳之祐, 正田常雄, 山地建二, 青野敏博, 倉智敬一: 臨産産, 27, 1071, 1973.
- 5) 水野正彦, 河本至誠, 水口弘司, 坂元正一: 産と婦, 40, 1651, 1973.
- 6) 斉藤 薫, 武井節子, 中村幸雄, 飯塚理八: 第 48 回日産婦学会関東連合地方部会総会講演要旨.
- 7) 渡辺 昇, 吉原暉文, 奥村淑子, 黄 伸有, 関光倫: 日産婦誌, 24, 1086, 1972.
- 8) 吉本祥生, 森寺邦三郎, 井村裕夫: ホルモンと臨, 22, 319, 1974.
- 9) 松田尚太郎, 白井将文: ホルモンと臨, 22, 553, 1974.
- 10) 八神喜昭, 水野金一郎, 花田征治, 真野哲郎, 万歳 稔: ホルモンと臨, 21, 1275, 1973.
- 11) 熊坂高弘, 加藤広英, 矢追良正, 小山崇夫, 西望, 大蔵健義, 斉藤 幹: 日産婦誌, 25, 1237, 1973.
- 12) 水口弘司, 森 宏之, 田村 貴, 坂元正一: ホルモンと臨, 21, 365, 1973.
- 13) 青野敏博, 南川淳之祐, 河村憲一, 寺川直樹, 谷沢 修, 倉智敬一: 日内分泌誌, 48, 578, 1972.

Urinary LH-RH test using Higonavis

**Yukio Nakamura, Shigeru Matsumoto,
Hiroatsu Kurokawa, Kaoru Saito
and Rihachi Iizuka**

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

A urinary LH value was measured with using Higonavis for the purpose of LH-RH test. All subjects, having normal renal function, were performed intramuscular injection of 100 μ g of LH-RH and were measured the urinary LH value by Higonavis.

A significant correlation was recognized in the serum LH concentration (mIU/ml), the urinary LH concentration (mIU/ml), and the urinary LH

excretion (mIU/min). If the subjects have normal renal function, the LH-RH test is possible to measure a urinary LH concentration without investigating a urinary volume per minute.

The peak time of urinary LH-RH test was 60 minutes after injection and it was 30 minutes later comparing with a serum LH-RH test. The pattern of the reaction of a urinary LH-RH test was classified into three types just like a serum LH-RH test. They are low-poor type, intermediate type and high-good type. The correlation was recognized between the pattern of urinary LH-RH test and that of a serum LH-RH test.

The measurement of the urinary LH by Higonavis, considering about the lack of the factor of FSH, can give a satisfactory result of the LH-RH test instead of the measurement of serum LH.

産褥初発排卵に関する研究

Study on the Onset of first Ovulation during the Puerperium

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 (指導: 飯塚理八教授)

高 俊 昭

Toshiaki KO

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Keio
University (Director: prof. Rihachi Iizuka)

授乳褥婦80名および非授乳褥婦66名に対し、主に BBT の記録および LH-RH test を施行することによつて、産褥期初発排卵が生起するまでの過程を検討し、以下の結論を得た。

- 1) 授乳期間が1カ月以上継続している婦人において、産褥初発排卵までの日数は、授乳期間に比例して延長する。
- 2) 授乳期間が1カ月以内にとどまった場合、産褥期における初発月経周期が有排卵性である割合が、授乳期間が1カ月以上の群に比し高率になる。
- 3) 産褥初発月経周期における BBT 上の高温相持続日数は授乳期間に影響されずほぼ一定で、約10日間である。
- 4) 産褥期において妊娠前の体重に比し肥満傾向にある婦人、または貧血状態にある婦人の初発排卵までの日数は延長する。
- 5) 産褥期における血中 LH は産褥2週までは HCG の交叉反応による高値を示すが、本来 LH、FSH 値は共に産褥2週までは低値を示し、3~4週以後より正常卵胞期レベルに復帰する。
- 6) LH-RH test において、産褥3週までは低または無反応、4週以後は一時的な FSH の反応亢進を示しながら回復する。
- 7) 産褥期の LH-RH test の低または無反応期では、その投与量増加による変化を示さない。
- 8) 授乳状態による LH-RH test の有意の差は認められない。

緒 言

妊娠の生理学に比し、産褥生理学は褥婦の長期 follow up の困難さから漠然と理解されているに過ぎない。従来より産褥期における排卵過程に関する報告は多数あるが、古くは Lyon¹⁾(1946)が BBT を主に用いて、泌乳状態との関連性において論じている。また近年においても Perez²⁾(1972)はこの事項に関する報告を行つているが、産褥期における婦人の一般全身状態と排卵過程との相関にまで言及されていない。さらに産褥期の内分泌学的検索、特に間脳一下垂体一卵巢系の回復過程は今日においても十分に把握されていない。

著者は産褥期初発排卵が生起するまで BBT を追跡する一方、褥婦の general physical condition との相関

を含めて初発排卵に至る過程に LH-RH Test による内分泌学的検討を加えた。

I 研究対象および方法

A. 研究対象

昭和46年5月から昭和49年5月までの3年間に、慶応病院産婦人科、済生会宇都宮病院産婦人科にて分娩した褥婦146名を対象とした。

年齢分布は、21歳から38歳、既往分娩歴は0経から3経、分娩様式は経産、帝切分娩の区別なく、満期産にて2500g以上の児を分娩したものに限定した。また上記146名は妊娠前少なくとも2週期以上にわたり基礎体温曲線を記録し、正常月経周期であつたことを確認した。

B. 研究方法

1. 産褥期における一般状態と BBT pattern の検討
 上記対象婦人について全員分娩 7 日目より BBT の記録を依頼し、退院後 2 週間毎の産褥外来での follow up を通して以下の検討を行なった。

1) BBT の記録の確認

産褥期における排卵および月経の再来を判定した。なお産褥期排卵は高温相が 5 日以上継続し、これに続く子宮出血のあつたものについて排卵ありと推定したが、その根拠は子宮内膜および陰スメアなどの検討を経た上である。

2) 体重の測定

産褥経過中、来院毎に体重を測定し BBT 上 2 相性を示した時点の体重と妊娠前の体重とを比較検討した。

3) 授乳状態

次の 2 群に大別した。すなわち分娩直後より人工的に泌乳を抑制し、または自然に泌乳のなかつたもので、授乳が全く行なわれなかつた褥婦群と、分娩後自然に泌乳が生起し、母乳のみで児が標準以上の体重増加ができた群とした。なお後者においては人工栄養を必要とした時点までの期間を授乳期間と限定し、これをさらに小群に分類した。

4) 年齢および既分娩数

34 歳未満と 34 歳以上の 2 群に分け、一方既往分娩数については初産婦と経産婦の 2 群に分け、それぞれの産褥期初発排卵に対する影響を検討した。

5) 産後の末梢血状態

産褥 4 日目における末梢血検査により著しい貧血を示す褥婦に対し、ザーリ値の回復過程と初発排卵に至る日数との関連性を追求した。

6) 分娩様式

経腔分娩と帝王切開による分娩の 2 群に分け、それぞれの初発排卵に対する影響を求めた。

2. 産褥期における内分泌学的検討

前記 146 名の産褥婦人の内、47 名について下記の事項についての内分泌的検討を行なった。

1) 産褥期婦人の血中 LH, FSH 値の測定

産褥 1 週より 24 週まで、1 週毎に産褥婦人の静脈血を採血し、血中 LH, FSH 値の各週数別の動態を追求した。なお血中 LH, FSH の測定は、すでに発表した RIA の方法によつた³⁾。

2) 産褥婦人の LH-RH Test

産褥週数別に、産褥婦人に合成 LH-RH 100 μ g 筋注投与による LH-RH Test を行なつた⁴⁾⁵⁾。

また一部の症例では、100 μ g の LH-RH 筋注投与に引き続き、3 日後に 400 μ g の LH-RH 筋注投与による LH-RH Test を行ない、LH-RH 投与量増加による産褥婦人の下垂体の反応性を検討した。

II 研究成績

A. 産褥期における褥婦の一般全身状態と産褥期初発排卵との関係

1. 授乳状態と産褥期初発排卵

1) 分娩後より全く授乳が行なわれなかつた婦人の産褥期初発排卵に至るまでの平均日数は、76 日で、産褥 56 日 (8 週) までに 21.2%、84 日 (12 週) までに、73% 排卵している (表 1)。

産褥期初発排卵までの最短日数は 36 日、最長日数は 186 日であつた。一方産褥期初発月経発来までの平均日数は、67.2 日であり、産褥 56 日 (8 週) までに 54.5%、84 日 (12 週) までに 73%、の婦人に月経の発来を認めて

表 1 非授乳褥婦群の産褥各期における排卵出現数

産褥日数	0~28	29~56	57~84	85~112	113~140	計
No. (%)	0 (0%)	14 (21.2%)	34 (51.5%)	12 (18.2%)	6 (9.1%)	66 (100%)

表 2 非授乳褥婦群の産褥各期における月経出現数

産褥日数	0~28	29~56	57~84	85~112	113~140	計
No. (%)	0 (0%)	36 (54.5%)	12 (18.2%)	12 (18.2%)	9 (9.1%)	66 (100%)

表 3 非授乳褥婦群の初発月経周期における排卵出現率および高温期持続日数

	初発月経前 (有排卵性月経周期)	初発月経後 (無排卵性月経周期)	
排卵出現数(率)	32 (48.5%)	34 (51.5%)	平均高温期 持続日数
高温期持続日数 (M \pm S.E.)	8.47 \pm 0.58	10.46 \pm 0.48	9.47 \pm 0.53

表 4 授乳褥婦群の授乳期間別にみた初発月経および初発排卵までの平均日数

	授乳期間(日)	0~28	29~56	57~84	85~112	113~	平均
	例数		30	14	16	12	8
初発月経	平均日数	59.8	61.0	98.5	100.2	178.7	81.0
	Range	36~81	44~80	49~174	80~111	124~222	36~222
初発排卵	平均日数	61.9	82.5	113.0	143.3	171.0	96.5
	Range	36~86	61~110	80~174	96~221	148~194	36~221

表 5 授乳褥婦群の授乳期間別にみた初発月経周期における排卵出現率

授乳期間	排卵出現数(率)	
	初発月経前 (有排卵性月経周期)	初発月経無 (排卵性月経周期)
≤ 28 日	14 (46.7%)	16 (53.3%)
≥ 29 日	16 (32.0%)	34 (68.0%)

いる(表2)。

なお産褥期初発月経発来までの最短日数は35日、一方最長日数は165日であった。産褥初発月経周期が有排卵性であったものは48.5%であった。授乳の行なわれなかつた婦人の産褥初発排卵後の BBT 上の高温期持続日数の平均は、9.5日である。また産褥初発月経が先行した後の最初の有排卵性月経周期における群の高温期持続日数は、10.5日であり、7日以下の者は4人(11.8%)である。産褥初発月経周期が有排卵性である群では、8.5日であり、このうち7日以下の者は8名(25%)である(表3)。

この群で妊娠したのは3名であった。

(2) 泌乳のある産褥婦人の産褥初発排卵および初発月経に至る日数の平均は、それぞれ前者では96.5日であり、後者では81.0日である(表4)。さらにこれを授乳期間別に分けそれぞれの期間における産褥初発排卵および

産褥初発月経に至るまでの平均日数は表4の如くであるが、授乳期間が長いほど産褥初発排卵および産褥初発月経に至る日数は延長している。さらに1カ月以内の授乳期間にとどまつたものの産褥初発排卵、および産褥初発月経に至る平均日数は授乳の行なわれなかつた産褥婦人のそれよりも短縮している。授乳の行なわれている婦人の産褥初発月経周期における有排卵性月経の割合は表5に示す通りである。すなわち28日以下の授乳にとどまつた褥婦に高率に認められる。授乳の行なわれている婦人の産褥初発月経周期における BBT 上の平均高温期持続日数は表6の如く授乳期間の長さに関係は示さず、一定で平均9.9日である。

2. 年齢と産褥初発排卵

表7に示すように年齢を34歳を境とし、34歳未満、34歳以上の2群に分けてそれぞれの産褥初発排卵に対する影響を検討した。表7の如く、授乳の行なわれなかつた褥婦に限定した場合、34歳未満の褥婦に産褥初発排卵に至る日数の少差延長を認めた。

3. 既往分娩数と産褥期初発排卵

表8の如く、授乳の行なわれなかつた褥婦について、初産婦と経産婦の産褥期初発排卵に対する影響の変化は認められなかつた。一方授乳状態を考慮しなかつた場合、経産婦において初産婦に比し産褥初発排卵に至るまでの日数の延長を認めたが、両者間には有意差はなかつ

表 6 授乳褥婦群における授乳期間別にみた平均高温期持続日数

授乳期間	0~28	29~56	57~84	85~112	113~	平均
平均高温期日数 (M±S.E.)	10.3±0.7	10.0±1.1	9.9±0.5	9.0±0.9	10.3±0.3	9.9±0.4

表 7 年齢と初発排卵までの平均日数

	非授乳群		全症例	
	34歳未満	34歳以上	34歳未満	34歳以上
例数	44	22	108	38
初発排卵までの日数 (M±S.E.)	72.6±8.2	75.0±10.6	93.7±7.1	88.9±8.5

表 8 既往分娩数と初発排卵までの平均日数

	非 授 乳 群		全 症 例	
	初 産 婦	経 産 婦	初 産 婦	経 産 婦
例 数	46	20	90	56
初発排卵までの日数 (M±S.E.)	73.4±7.9	75.9±10.3	84.6±6.0	102.3±10.1

表 9 分娩様式と初発排卵までの平均日数

	非 授 乳 群		全 症 例	
	初発排卵までの日数(M±S.E.)	例数	初発排卵までの日数(M±S.E.)	例数
帝王切開群	65.7±15.9	10	68.7± 9.6	18
経陰群	79.9± 7.1	56	90.5± 5.4	128

た。

4. 分娩様式と産褥期初発排卵

表 9 に示すように授乳の行なわれなかつた褥婦を対象とした場合、帝王切開群が経陰分娩に比し数値的には早期に産褥期初発排卵を生起せしめる傾向にあるが、両者間には有意差はなかつた。一方対象を授乳者を含めた全体にとると、帝王切開群と経陰群との間に有意差を認め、帝王切開群において産褥初発排卵に至るまでの日数の短縮がみられた。

5. 褥婦の末梢血状態の産褥期初発排卵

分娩後 4 日目における末梢血検査の結果、ザーリ値 9 g/dl 以下の著しい貧血褥婦とそれ以上の褥婦との 2 群に分けて検討した。表 10 の如く授乳の行なわれなかつた

褥婦のみに対象をおくと、ザーリ値 9.0 g/dl 以下の貧血褥婦に産褥期初発排卵に至る日数の延長を認めた。さらに対象を授乳状態を考慮しない全体とした場合においても同様にザーリ値を 9.0 g/dl 以下の婦人に有意差のある産褥期初発排卵日の遅延を認めた。

6. 産褥期における体重変動と産褥期初発排卵

産褥経過中、BBT を測定した 146 例の婦人の産褥期初発排卵と体重変動との関連性を調査し排卵を BBT 上に示した時点と体重との関連は図 1 の如くである。すなわち分娩後肥満の傾向にある婦人において産褥期初発排卵までの平均日数は最も遅延している。一方妊娠前の体重に復帰した褥婦において最も早期に排卵する。また産褥初発排卵が生起した時点での体重変動の状態は表 11 に示す如くである。

B. 産褥期における内分泌学的検討

1. 産褥期婦人の血中 LH, FSH 値

図 2、表 12 は産褥 1 週より 20 週までの週数別にみた血清 LH, FSH 値の変動を示したもので LH は産褥 2 週までは高値を示し、3 週以後から正常卵胞期レベルに回復する。一方 FSH は LH と対称的に 2 週までは低値

表 10 貧血と初発排卵までの平均日数

	非 授 乳 群		全 症 例	
	9.0g/dl 以下	9.0g/dl 以上	9.0g/dl 以下	9.0g/dl 以上
例 数	12	54	32	114
初発排卵までの日数 (M±S.E.)	105.8±21.4	69.9±5.5	114.8±13.9	86.0±5.7

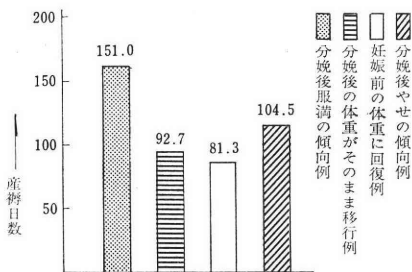


図 1 分娩前後における体重変動と初発排卵までの日数

表 11 初発排卵生起時点での体重の状態

分娩前後の体重の状態	例 数	%
分娩後肥満の傾向	14	9.5
分娩後の体重がそのまま移行	40	27.4
妊娠の前体重に復帰	84	57.5
分娩後やせの傾向	8.6	5.6
計		

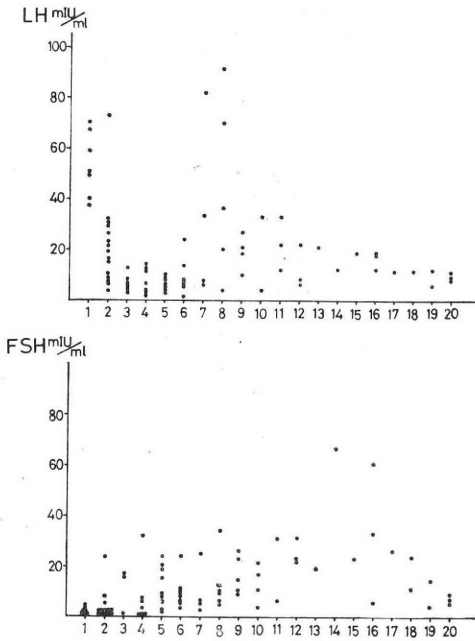


図 2 産褥週数別にみた血中 LH, FSH 値の変動

表 12 産褥婦人の LH, FSH 値

産褥週数	例数	LH mIU/ml (Mean+S.E.)	FSH mIU/ml (Mean+S.E.)
1 ~ 2w	18	22.88±3.99	2.10±0.75
3 ~ 4w	11	5.63±0.74	5.31±1.38
5 ~ 10w	31	12.55±2.23	11.74±1.55

を示し 3 ~ 4 週以後正常域に達する。

2. 産褥婦人に対する LH-RH Test

表13, 図3は産褥週数別にみた LH-RH Test の結果を示したもので LH, FSH とともに産褥3週までは無反応を示し, LH 値は一般に高値を示したが, FSH は低値, 1例を除いて無反応であった。4週以後は LH-RH に対する下垂体の反応性が急激に回復してくるが一時正常のレベルを越す反応性を示しこの傾向は特に FSH に

おいて著しい。しかしこの反応の亢進もやがて卵巣機能の回復, 産褥初発排卵の発来とともに正常のレベルにもどるものと思われる。LH-RH Test の産褥期における変化をさらに同一人にて追求すると図4の如くでこの症例は産褥10週まで授乳を行なっていた褥婦であるが, 産褥2週では LH, FSH とともに無反応, FSH は産褥3週より反応性を示し一時反応亢進を示した後正常レベルにもどっている。一方 LH は FSH よりやや遅れて5週より正常の反応性を示した。図5は授乳状態と下垂体の LH-RH に対する反応性の相違の有無を比較したものであるが授乳による影響は認められなかつた。表14はさらに上記について産褥2カ月(5~8週)の時期において授乳が行なわれていた者と, 行なわれていなかった者に対する LH-RH Test の結果を比較したもので, 授乳者において LH, FSH peak に高値の傾向を示したが授乳の有無による有意差は認め得なかつた。図6は産褥1~4週の時期に LH-RH 100 µg, 筋注投与で無反応であった症例に3日後さらに LH-RH 400 µg を投与しそれぞれの peak 値を比較したものでこの時期においては LH-RH 投与量の増加によつても下垂体の反応性は認められなかつた。

III 考 按

A. 産褥期における褥婦の一般全身状態と産褥期初発排卵との関係

1. 授乳状態と産褥期初発排卵の検討

(1) 非授乳褥婦群

従来より, この授乳状態と産褥期初発排卵出現時期の課題に対しいくつかの研究報告があるが, 古くは Lyon 等⁹⁾の報告にみられるように泌乳のない褥婦のうち, 産褥初発月経周期の95%は無排卵性であると述べている。一方最近では, Cronin⁶⁾が90人の無泌乳褥婦について, その30%が有排卵性月経周期であり, このうちの70%において高温期が8日以上続いているとし, さらに産褥84日までに62%の婦人に初発排卵が認められ, このうち産

表 13 正常性週期婦人の LH-RH test と産褥期の LH-RH test

	例数	LH 前値	LH peak	FSH 前値	FSH peak	
正常性週期婦人	19	9.1± 1.6	102.7±12.8	6.5± 1.0	18.5± 2.2	
卵 胞 期	9	8.3± 1.7	120.4± 2.16	6.1± 1.2	22.5± 2.8	
		9.8± 2.7	86.6±13.7	6.9± 1.6	14.9± 3.0	
排 卵 期	19	58.1±11.1	404.5±29.2	9.8± 1.6	34.0± 5.6	
産 褥 期	2 ~ 3 w	18	19.8± 5.2	23.7± 5.3	14.7± 0.9	6.9± 0.9
	4 ~ 20 w	37	14.9± 2.0	213.7±35.2	14.13± 2.2	64.3± 9.1

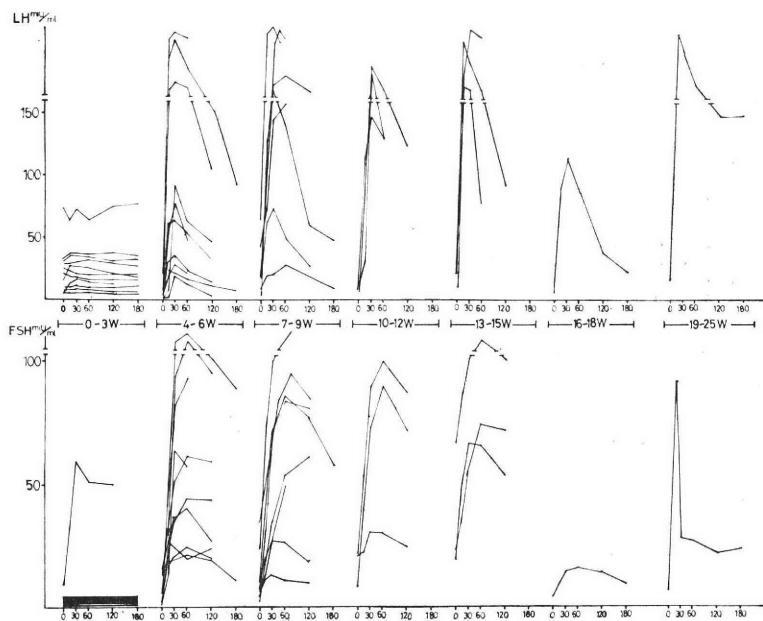


図 3 産褥週数別にみた LH-RH test.

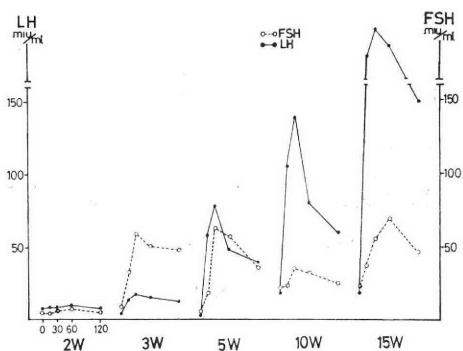


図 4 同一人における LH-RH test の週数別にみた推移

褥28日以内に2.2%において排卵が有つたと報告している。これに対し、Perz²⁾は、人工的に泌乳を制限させた褥婦30名のうち最も早期に排卵を認めたのは産褥36日目であつたと述べている。

著者の成績では、分娩後全く授乳の行なわれなかつた婦人66名のうち、産褥初発月経周期が有排卵性である割合が48.5% (32名) に見られ、そのうち最も早期に排卵したものは産褥35日目であつた。この有排卵性月経周期の高温期持続日数は平均8.5日であつた。このうち25% (8例) が7日以下で、残りの75% (24名) が8日以上の高温期持続期間を示した。これは非授乳褥婦全体の36.4%に相当し、従つてこの割合で産褥初発月経を見ずして妊娠する可能性が理論的に存在することになつている。

この事項に関し、Cronin⁶⁾は23%の率で妊娠することの可能性を指摘している。しかしながら著者の症例中では、この非授乳褥婦において産褥期に子宮出血を見ずに妊娠した者は無かつた。

すなわち無排卵性子宮出血後の排卵がそのまま妊娠に結びついた例が3名あつた。

この事実は、Lyon¹⁾が非泌乳褥婦について、有排卵性月経周期における高温期に採取した子宮内膜のほとんどに黄体機能不全が存在するとし、一方無排卵性月経周期に続く有排卵性月経周期では正常黄体期像を示すと述べていることと関連づけられる。また著者の指摘したこの周期におけるBBT上の高温期持続日数が10.5日である事実からもその妊孕性を推測することは興味あることである。

次に産褥期における妊孕性の時期的な回復について、Cronin⁶⁾は泌乳のない褥婦において産褥4週以前に排卵したものと報告し、これに対し、Perz²⁾は産褥36日が最も早期にみられた排卵であつたとし、泌乳のない褥婦では産褥1カ月間は避妊の必要がないと述べている。著者の成績でも産褥1カ月以内に排卵を認めた例がないことよりこのPerz²⁾と同様の結論に帰着することができる。

(2) 授乳褥婦群

授乳期間が1カ月以内にとどまつた褥婦の産褥期初発排卵までの平均日数は62日であつて非授乳者のそれと比較してむしろ平均日数において短縮している。またこの

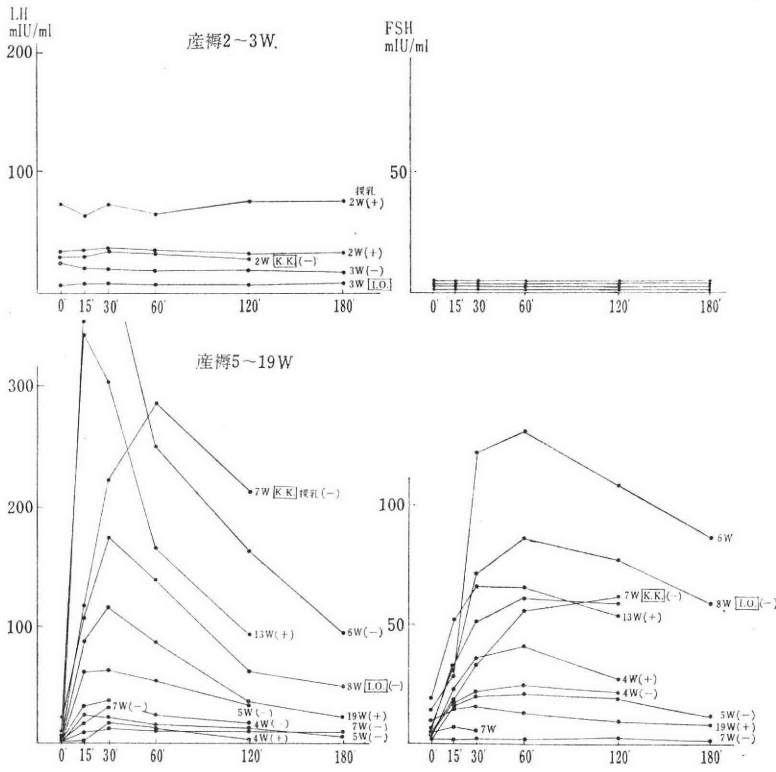


図 5 授乳状態と LH-RH test

表 14 授乳の有無と LH-RH test (産褥2カ月)

LH 前値		LH peak		FSH 前値		FSH peak	
授乳(+)	授乳(-)	授乳(+)	授乳(-)	授乳(+)	授乳(-)	授乳(+)	授乳(-)
16.7±7.2	12.3±3.2	250.6±68.1	209.8±43.2	14.5±3.6	10.5±2.9	88.9±12.7	58.9±9.8
N=8	N=12	N=8	N=12	N=8	N=12	N=8	N=12

(M±SE: mIU/ml)

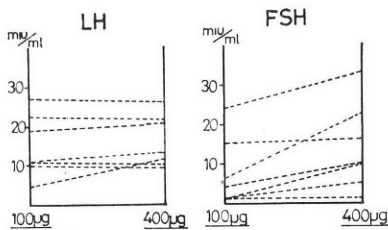


図 6 LH-RH に無又は低反応期における LH-RH 100 µg, 400 µg 投与による peak 値の差 (N=7)

うちの最も早期に排卵を認めた者は36日で, Cronin²⁾, Perez²⁾の成績においても, 短期間の授乳者では産褥6週以前に排卵が生起している 婦人が存在すると述べている. またこれらの褥婦における有排卵性月経周期の出現

率は46.7%であり, また BBT 上の高温期持続日数が平均10.3日であることより推測して, 児分娩直後より1カ月以内の授乳期間にとどまった者は, 非授乳褥婦と同様に産褥期の比較的早期に, また初発排卵がそのまま妊娠に移行する可能性があることを示唆している. 一方授乳期間が長期におよぶに従い, 産褥期における有排卵性月経周期の出現率が低下している. これに対し Perez²⁾は授乳期間が長期におよぶほど有排卵性月経周期の出現率が高くなるとして, 200名の対象者のうち, 12人が妊娠し, その全例が産褥初発月経を見ずに妊娠したとしている. 著者の成績では, 1カ月以上授乳を行なつた褥婦54名のうち妊娠した者は3名で, いずれも無排卵性月経周期後に排卵した者に限つて妊娠している. このことは著者の本研究で得た特徴である. また2カ月以上授乳を行

なつた褥婦において、授乳停止後ほぼ1カ月後に初発排卵が出現しており、授乳停止以前に排卵したものはなかつた。この事実より著者は、母乳のみにて哺育している限りにおいては妊娠の可能性はきわめて低いと結論したい。

2. 年齢、既往分娩数および分娩様式の及ぼす影響

年齢について、34歳を境界とし、34歳未満と、34歳以上の2群に区分して産褥期初発排卵に対する影響を検討した。その理由は、飯塚⁷⁾が AID による年齢別妊孕性は34歳を境として以後低下するとしているからである。

結果的には泌乳状態の如くにかかわらず初発排卵に対する影響は認められなかつた。

次に既往分娩数の排卵におよぼす影響について著者の成績では統計学的有意差を示していないが、経産婦に産褥初発排卵に至るまでの日数に対し差延長を認めた。これは Sheikh⁹⁾が述べているように大部分の経産婦において、体重増加率が初産婦に比し大であることに関連すると考える。河上⁹⁾は通常、分娩回数が重なるに従い体重が増加して行く婦人が21.5%存在すると述べている。このことから後述する体重の増加が排卵に及ぼす影響の一つのモーメントになっていると思われる。

帝切群と経産婦との排卵におよぼす影響は、授乳状態との関連性を考慮するに、帝切群においては児分娩直後より人工栄養による哺育が高率である事実から、産褥期初発排卵までの日数の短縮を認め得た。一方非授乳者群においては、両者間に有意差は認められなかつたが、ここにおいても授乳の影響が強く関与していることが解かる。

3. 褥婦の末梢血状態と初発排卵への影響

著しい貧血状態にある褥婦において初発排卵までの日数に延長がみられることは、その全身状態の排卵におよぼす影響の一因子としての現象であると理解している。さらに貧血状態にある褥婦のほとんどにおいて泌乳状態が不良であつた事実からも、全身状態および内分泌的環境の変化にも反映しているように思われる。

4. 産褥期における体重変動の初発排卵におよぼす影響

分娩を契機として、妊娠前の体重と比較して体重増加傾向にある褥婦は、著者の成績では排卵生起時点において37%であつた。河上⁹⁾の研究では、500名の婦人を対象として、産褥30週の時点での肥満傾向にある者が21.5%であつた。これらの事実は、かなりの高率で、分娩を重ねる毎に肥満して行く婦人が存在することを示唆する。またいわゆる肥満症と思われる褥婦において、初発排卵までの日数の延長を認め得たことは、授乳状態の排卵におよぼす影響とともに一つの大きな因子である。

B. 産褥期における内分泌学的検討

1. 産褥期における LH, FSH 値

分娩を境としてそれまで高値であつた胎盤由来性のホルモンであるエストロゲン、プロゲステロンは分娩後数時間内にその血中濃度を減じ数日間低値を保つていく¹⁰⁾¹¹⁾。これと同様のパターンを HCG 値においても認められる。Midgley¹²⁾、Rizkallah¹³⁾は HCG の生理的半減期を非妊婦に対し、10000 IU 筋注投与により30時間前後としているし、中村等¹⁴⁾は HCG 5000 IU を正常婦人に筋注投与しその Peak を24時間以後、半減期は33時間と報告していることより、血中 HCG は分娩後1~2週間低値ながら持続するものと思われる。Faiman¹⁵⁾も分娩後の内因性 HCG の半減期を6.6時間とし24時間以内に急激にその値を減じ、その後6日間にわたつて徐々に血中濃度が減じて行くと報告している。以上の報告より著者の成績の産褥2週まで LH の高値を示したことはこの時期における HCG の交叉反応のためであつて下垂体性 LH は本来低値であると思われる。産褥3週以後 LH 値は正常卵泡期レベルに回復することは Reyes¹⁶⁾、Taffe¹⁷⁾、Keller¹⁸⁾も同様に述べている。一方 FSH 値について著者の成績では産褥2週まで低値を保ち3週以後より正常卵泡期レベルに回復して行く傾向が認められた。これと同様の傾向は過去において多くの報告が¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾あるが、Talas¹⁹⁾は妊娠各期における FSH 値は4.8~5.9 mIU/ml の範囲内の低値のままほとんど不変であると述べていることより分娩後もこの低値のまま続行してきているものと思われる。Faiman¹⁵⁾は産褥6週までは泌乳状態の影響による血中 FSH 値の差異は認められなかつたとし、他方 Hanson²⁰⁾は尿中 FSH 値において泌乳のなかつた婦人は産褥5週まで、泌乳良好なる婦人においては8週まで低値を保つたと述べている。Reyes¹⁶⁾も授乳による分娩後の FSH 値に対する影響はないとし産褥10~12日まで抑制状態にある FSH 値はその後急激に正常卵泡期レベルに達し卵巣機能の回復するまでその値が上昇すると述べ、Taffe¹⁷⁾も産褥15日まで低値が続きその後20日まで急激に卵泡期レベルに上昇し以後このまま50日前後までこの状態が継続して行くと報告している。以上の諸家の報告と著者の成績から下垂体性ゴナドトロピンは少なくとも産褥2週までは正常卵泡期レベルより低値にあるものと思われる。

2. 産褥期の LH-RH Test について

産褥期の LH-RH Test については萱場²⁰⁾の報告では4日で反応(+), または(-), 30日では全例(+), 五十嵐²¹⁾は10~19日目の一部反応(+), 坂元²³⁾は6~13日目で反応(-)と報告している。著者の症例では産褥3週までの LH 前値は HCG の影響で高値を示すものもある

が反応は poor であり FSH は low-poor 型を示す。同一人で産褥週数別に LH-RH Test を追求した例では LH は5週より、FSH は3週より正常反応を呈している。下垂体の LH-RH に対する反応の回復過程で4週以後 LH-RH ともに反応の亢進をみるがこれは特にFSH において著しくこの傾向は五十嵐²⁰⁾も認めている。著者等²¹⁾はこの FSH の前値が高値であること、および反応の亢進は閉経期、卵巣性無月経等にみられるのと同様に卵巣機能の低下を意味するもので卵巣機能の回復、産褥初発排卵の発来とともに正常レベルに復するものと解釈している。産褥初期における LH-RH Test に対する無または低反応は LH-RH 投与量の増加によつても変化はなかつた。一方授乳による下垂体の LH-RH に対する反応性への影響について Minaguchi²⁴⁾らは動物実験により授乳による乳頭吸引刺激が内因性、LH-RH を抑制するとし、このことにより坂元²³⁾は2次的に下垂体の LH-RH の反応性の低下が存在すると述べているが著者の成績からでは授乳による LH-RH Test の差異は認められなかつた。

3. 産褥期における視床下部—下垂体—卵、巢系の機能低下の成因について。

Keller¹⁸⁾, Crystle²⁶⁾, らのいわゆる “ovarian refractoriness,” なる考え方が支配的であつたが鷺尾²⁵⁾らはこれについての原因は逆に視床下部—下垂体系の機能低下に基づく2次的な hypogonadism であるとしている。すなわち彼らはゴナドロピン負荷試験に対する卵巣の反応性は産褥1週で15名の婦人のうち11名に反応を示し産褥2週、4週では全例に反応があつたと報告している。一方 Zarate²⁷⁾は6例の授乳婦人に対し HMG 筋注による卵巣の反応性を検討した結果、産褥3週までの期間においては無反応であつたとしている。著者は前述するように産褥期 LH-RH Test の回復過程特に FSH の一時反応亢進は閉経、卵巣性無月経にみる卵巣機能低下と同様な状態を示唆するものと考え、やはり産褥期においては “ovarian refractoriness,” を推定したい。しかしこれに関しては今後の検討をまたねばならない。

結 論

- 1) 授乳期間が1カ月以上継続している場合、産褥初発排卵までの日数は、授乳期間に比例して延長する。
- 2) 授乳期間が1カ月以内にとどまつた場合、産褥初発月経周期が有排卵性である割合が、授乳期間が1カ月以上の者に比し、高率になる。
- 3) 産褥初発月経周期における BBT 上の高温相持続日数は授乳期間に影響されずほぼ一定で、約10日間である。

4) 産褥期において、妊娠前の体重に比し肥満傾向にある婦人、または貧血状態にある婦人は初発排卵までの日数は延長する。

5) 産褥期における血中 LH は、産褥2週までは HCG の交叉反応による高値を示すが、本来 LH, FSH 値はともに産褥2週までは低値を示し、3~4週以後より正常卵胞期レベルに復帰する。

6) LH-RH Test において、産褥3週までは低または無反応、4週以後は一時的な FSH の反応亢進を示しながら回復する。

7) 産褥期の LH-RH test の低または無反応期では、その投与量増加による変化を示さない。

8) 授乳状態による LH-RH test の有意の差は認められない。

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜つた恩師飯塚理八教授ならびに終始御指導いただいた河上征治講師、慶応健康相談センター婦人科医長中村幸雄博士に謹んで深謝を捧げます。検査ならびに測定に御協力いただいた家族計画相談所の諸兄姉ならびに健康相談センター研究室伊藤緑氏、榎本悦子氏に衷心より感謝いたします。

(なお本論文の要旨は、第45回日本産婦人科学会総会および第47回日本内分泌学会総会において発表した。)

参 考 文 献

- 1) Lyon, R. A. and Stamm, M. J.: The Onset of Ovulation During the Puerperium, Calif. Med. 65: 99, 1946.
- 2) Perez, A., Vela, G. S., Masnick, G. S., and Potter, R. G.: Fist ovulation after childbirth: The effect of breast-feeding, Am. J. Obstet. Gynecol. 114: 1041, 1972.
- 3) 中村幸雄, 黒川博厚, 高俊昭, 清水謙一, 松本茂, 小林俊文, 齋藤薫, 飯塚理八: LH-RH Test と血中 LH, FSH の変動, 日不妊誌, 18: 246, 1973.
- 4) 中村幸雄, 黒川博厚, 松本茂, 高俊昭, 飯塚理八: 産婦人科領域における LH-RH Test の診断的意義について, 日不妊誌, 19: 70, 1974.
- 5) 黒川博厚: 排卵障害症に対する LH-RH test の臨床応用, 日産婦誌, 26: 621, 1974.
- 6) Cronin, T. J.: INFLUENCE OF LACTATION UPON OVULATION, The Lancet, 24: 422, 1968.
- 7) 飯塚理八, 己斐秀豊, 小林俊文: 不妊症学, 275, 金原出版, 1974.
- 8) Sheikh, G. N.: Observation of maternal weight behavior during the puerperium, Am. J. Obstet. Gynecol. 111: 244, 1971.
- 9) 河上征治, 高俊昭, 松本茂, 飯塚理八: 女性の体重変動と続発不妊, 日産婦誌, 16: 51,

- 1971.
- 10) Munson, A. K., Mueller, J. B., and Yannonne, M. E.: Free plasma 17 β -estradiol in normal pregnancy, labor, and the puerperium, *Am. J. Obstet. Gynec.* 103 : 340, 1970.
 - 11) Llauro, J. L., Runnebaum, and Zander, J. Z.: Progesterone in human peripheral blood before, during, and after labor, *Am. J. Obstet. Gynec.* 101 : 867, 1968.
 - 12) Midgley, A. R. and Jaffe, R.B.: Regulation of Human Gonadotropins: II. Disappearance of Human Chorionic Gonadotropin Following Delivery, *J. Clin. Endocr.* 28 : 1712, 1968.
 - 13) Rizakllah, T., Gulpide, E. and Rankin, J.: *J. Clin. Endocr.*, 30 : 435, 1970.
 - 14) 中村幸雄, 前田宣紘, 仁科進弘, 印出秀二: 黄体機能不全に対する HCG 高単位療法, 産婦の世界, 26 : 37, 1974.
 - 15) Faiman, C. Ryan, R. B., and Zwirek, S. J.: Serum FSH and HCG During Human Pregnancy and Puerperium, *J. Clin. Endocr.* 28 : 1323, 1968.
 - 16) Reyes, F. I., Winter, J. S. D. and Faiman, C.: Pituitary-ovarian interrelationships during the puerperium, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 114 : 589, 1972.
 - 17) Jaffe, R. B., Lee, P. A. and Midgley, A. R.: Serum Gonadotropins Before, at the Inception of, and Following Human Pregnancy, *J. Clin. Endocr.* 29 : 1281, 1969.
 - 18) Keller, P. J.: Excretion of Follicle-Stimulating and Luteinizing Hormone During Lactation, *Acta Endocrinologica.* 57 : 529, 1968.
 - 19) Talas, M., Midgley, A. R. and Jaffe, R. B.: Gel Filtration and Electrophoretic Analysis of Endogenous and Extracted Immunoreactive Human FSH of Pituitary, Serum and Urinary, *J. Clin. Endocr.* 36 : 817, 1973.
 - 20) Hanson, F. W., Powell, J. E. and Trelford, J. D.: Postpartum FSH Levels, *Obstet. Gynecol.* 35 : 462, 1970.
 - 21) 萱場文子, 森 明, 小辻文和, 鷺尾元夫, 仲野良介, 東条伸平: 日内分泌会誌, 49 : 145, 1973.
 - 22) 五十嵐章, 中川公夫, 笹森源弘, 平野睦男, 古武克幸, 鈴木雅州: 第25回日産婦総会講演要旨(札幌), 1973.
 - 23) 坂元正一, 水野正彦, 水口弘司, 田村 貴, 中川利昭, 桑原慶紀, 森 宏之: LH-RH の臨床, 産と婦, 40 : 675, 1973.
 - 24) Minaguchi, H. and Meites, J.: Effects of Sucking on Hypothalamic LH-Releasing Factor and Prolactin Inhibiting Factor, and on Pituitary LH and Prolactin, *Endocrinol.* 80 : 603, 1967.
 - 25) 鷺尾元夫, 仲野良介, 森 明, 橋場信之, 森要, 東条伸平: Puerperal Hypogonadism の成因に関する動的解析, 第26回日産婦総会講演要旨(東京), 1974.
 - 26) Crystle, C. D., Sawaya, G. A. and Stevens, V. C.: Effects of ethinyl estradiol on the secretion of Gonadotropins and estrogens in postpartum woman, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 116 : 616, 1973.
 - 27) Zarate, A., Canales, E. S., Soria, J., Ruiz, F., and MacGregor, C.: *J. Obstet. Gynecol.* 112 : 1130, 1972.

Study on the Onset of first Ovulation during the Puerperium

Toshiaki Ko

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

The investigation of the pattern and process of the postpartum ovulation was assessed primarily by means of basal body temperature and LH-RH test in sixty-six non-lactators and in eighty women who did lactate.

Results were as follows,

- 1) It appeared that average onset of ovulation was delayed following parturition in proportion to the length of lactation period when lactation continued over 4 weeks.
- 2) There were higher incidences of having first ovulatory menstruation in puerperal women who breast-fed within 28 days as compared with that did for 29 days or more.
- 3) In those who ovulated before the first menstruation during puerperium, unchanged duration of the hyperthermic plateau of 10 days was not influenced by the length of nursing.
- 4) The onset of first ovulation during puerperium delayed in women who tended to obesity or were under anemic condition.
- 5) In puerperium phase, LH level showed lower was during the 1st and 2nd week, and it regained its normal range since 3rd week. Similarly, FSH level was lower during the period from 1st to 2nd week, then it became normal since 3rd week.
- 6) During puerperal period, pituitary response to LH-RH was not recognized until the 4 week postpartum. However, transient over-response was found after that. And following the functional recovery of the ovary, normal response re-established.
- 7) Pituitary responsiveness did not vary with the increasing dosage of LH-RH during the period of the pituitary quiescence to LH-RH in the postpartum state.
- 8) Differences regarding the length of nursing and the pituitary response to LH-RH were not statistically significant.

昭和 48 年度不妊学会北海道地方部会

日 時 昭和 48 年 9 月 29 日 (土) PM 2:00~5:00
場 所 ム ト ウ 器 械 店 会 議 室

1. 辜丸欠損症

本 村 勝 昭(北大泌尿器科)

当教室過去 5 年間に潜伏辜丸として手術を行なった 77 例のうち、6 例は術側辜丸が発見されない monorchidism であり、さらに 1 例は両側共に辜丸を欠く anorchia であった。

anorchia 症例

4 歳、頻回再発性尿路感染と生来両側陰のう内容の欠除を主訴に来院。生後 6 カ月で VSD を指摘されている。現症；身体の發育良好で、外陰部も両側陰のう内に辜丸を触れない以外は正常。一般血液、生化学検査成績正常。総腎機能は正常範囲だが、IVP で右尿管の拡張を認め、排尿時撮影にて両側の refluxing megaloureter が証明された。両側停留辜丸の疑いで試験開腹。精管は左右共に存在し、かなり細い精管動静脈と共に鼠径管に入っているが、どちらも外鼠径輪近くで左側は精管の先端が線維状となつて終り、右側はその先に小豆大の構造を認めたのでこれを試切した。ついで辜丸の有無を内鼠径輪附近は直視下に、それより上部は指診にて腎茎部まで探索したが、遂に明らかな辜丸組織は発見できなかった。右精管先端の構造物は組織学的に副辜丸組織のみであった。

2. 札幌医科大学泌尿器科外来における男子不妊症の臨床統計的観察

○寺田雅生・青山竜生・熊本悦明
(札幌医科大学泌尿器科)

札幌医科大学泌尿器科外来を受診する不妊主訴患者は近年増加の傾向がみられる。われわれは、昭和 39 年より昭和 47 年末までの 9 年間に 539 例の不妊主訴患者を経験しているが、今回は、その臨床統計的観察を行なうとともに、若干の追跡調査を試みたので、その結果について報告する。

3. 種雄牛の採精頻度が精液性状に及ぼす影響について

平 尾 和 義(酪農学園大)

人工授精に供用されている種雄牛のうち、比較的精液性状の悪いもの 2 頭について、15~20 分間隔 5 回までの連続採精(部分潤濁試験)を実施、採精頻度が精液性状に如何なる影響を与えるか分析した。その結果を要約すると次の如くである。

(1) 精液量および精子数は射精回数とともに有意に減少し、特に精子数の減少は個体、各回の射精液ともその差は顕著であった。

(2) 精子数と果糖、クエン酸、全窒素量とは正の相関があり、pH 値の高低とは負の相関がみられた。射精液の質によつて副生殖腺液の分泌割合が異なるものと考えられる。

(3) 精子奇形の出現率は正常範囲であったが、各射精回数とも 1 次奇形は 2 次奇形よりも多く、精子数と 2 次奇形の増減は一致した。

(4) 精子生存率は射精回数 1~5 回までに次第に改善され、精巢上体尾部の精子は短時間内におきかえられるものと推察され、個体によつては未熟精子の出現率が増加する傾向がみられた。

4. マウス精上皮 cycle の stage 発現頻度の推計学的検討(予報)

宋 文 恭・○石川 恒・井上忠恕
(北大獣医学部)

千 葉 敏 郎(京大霊長類研)

stage の発現頻度は一般に個体および左右の精巢によつて著しい差を示すことはないといわれている。今回、この点について追試するとともに日内変動の有無について検討したのでこの一部を報告する。

50~60 日齢の DD 系 マウス 30 匹を 6 群に分け 18 時から翌日の 14 時まで 4 時間々隔で殺処分し、精巢を剔出、HE 染色標本について ortavant の分類に従つて stage の発現頻度を求めた。

stage 1 から stage 7 までの発現頻度の累積和について、精巣の左右別、材料採取時刻別に回帰方程式を求め、回帰係数を比較した。

時刻により回帰係数は変動を示したが、左右の精巣に共通した一定の傾向は認められなかった。左右別にして、時刻別の 6 コの回帰係数を比較したところ有意差を認めなかったが ($p < 0.05$)、左精巣の回帰係数は右精巣のそれより常に大であった。その範囲は左精巣右精巣それぞれ 11.83~13.00, 11.28~11.74 であつた。

5. Cyclofenil (sexovid) の臨床効果に対する検討

○岡部泰樹・佐藤卓宏・金上宣夫
光部啓一・田中昭一

(札幌医科大学産婦人科学教室不妊症センター)

女性不妊の重要な原因の 1 つとして排卵障害によるものが、かなりの割合を占め、いわゆる卵巣機能不全の軽度のものまで含めると非常に高率であると考えられる。従来より、これら排卵障害に対してホルモン療法が治療の主体をなして来たが、今回われわれは、Cyclofenil (sexovid) を用いる機会を得たのでその臨床効果に対する検討を試みた。

1) 対象および無排卵症の診断法；不妊を主訴として当教室不妊症センターを受診した婦人を対象とし、月経歴、基礎体温、頸管粘液、さらに倉智らの臓器鑑別法の変法を用いることにより診断を下した第 1 度無月経、無排卵周期症、散発排卵周期症および黄体機能不全症の 4 群に分けて検討を加えた。

2) 排卵誘発法：月経周期 5 日目より Crylofenil 600 mg/日、5 日間投与した。

3) 治験 (排卵) 成績：I) 第 1 度無月経 12 例の 25 周期に投与し、経過観察 7 周期を除いた 18 周期のうち 13 周期 (72.2%) に排卵を認めた。II) 無排卵周期症 11 例の 22 周期に投与し、経過観察中の 6 周期を除いた 16 周期中

13 周期 (81.2%) に排卵を認めた。なお、本症例のうち 2 は妊娠した。III) 散発排卵周期症 7 例の 17 周期に投与し、経過観察中の 1 周期を除いた 16 周期中 12 周期 (75.0%) に排卵を認めた。IV) 黄体機能不全症 18 例の 29 周期に投与し、経過観察中の 14 周期を除いた全周期に排卵を認めた。本症例中 1 例妊娠した。

4) 検討および結論：黄体機能不全症は、無排卵症ではないのでこの結果は当然であろうが、今回の治験では、その簡便さの故に臨床的に排卵および黄体機能の判定に最も利用されている基礎体温、精子誘引因子として妊学に関与している頸管粘液所見について薬物投与前後の変化を検討したので報告する。

黄体機能不全症を除いた 3 群を集計すれば、30 例の 64 周期に投与し、経過観察中の 14 周期を除いた 50 周期中 38 周期 (76.0%) に排卵を認めた。なお、症例数については、30 例中経過観察中の 6 例を除いた 24 例中 18 例 (75.0%) に排卵を認めた。これら 3 群についても、薬物投与前後の基礎体温および頸管粘液所見の変化について検討を加えたので報告する。

6. 北大産科における頸管無力症の治療成績について

○中嶋けい子・有賀 敏・芳賀宏光
清水哲也・松田正二(北大産婦人科)

妊娠中期に流産をくり返す頸管無力症の治療法としては、弛緩している内子宮口附近を縫縮する shiordkar 手術が有効であるが、昭和 42 年 4 月から昭和 47 年 3 月までの 5 年間に、北大産科で行なつた shiordkar 手術の成績をまとめたので報告したい。

手術例は 16 例で、そのうち健児を得たものは 13 例 (81.3%) であつた。手術時期は妊娠 3 カ月 1 例、妊娠 4~6 カ月 12 例、妊娠 7, 8 カ月 3 例で、分娩時期は 10 カ月満期産 11 例、10 カ月 (38 週) 早産 1 例、9 カ月 (33 週) 1 例で、3 例は手術後数日以内に流産した。

第 62 回 日本不妊学会関東地方部会

日 時 昭和 48 年 12 月 14 日 (金) 午後 2 時
場 所 三田会館内 9 階大会議室(友愛会館・会議室)

1. 正常性周期婦人血中ホルモンの動態

○桑原慶紀・目崎 登・森 宏之
渡辺晴夫・水口弘司・木川源則
坂元正一(東大産婦人科)

不妊症患者の中で、内分泌異常が疑われる例と、いわゆる機能性不妊症例のホルモン動態の分析を行なうため、その対照としてまず、正常排卵周期を有する婦人 5 例の経日的変化を検索した。

測定は、血中 FSH, LH, Estradiol, Progesterone をいずれも radioimmunoassay にて行なつた。

結果、各症例の平均値では、

① FSH は卵胞期は黄体期よりやや高値を示し、LH の peak と一致して、FSH も peak を生じる。

② LH は、midcycle peak を示すが、その他は、卵胞期、黄体期ともに低値が持続する。

③ Estradiol は、卵胞期は、40~60 pg/ml で LH peak 4 日前より上昇し始め、peak の前日に最高値(267 pg)に達する。その他減少した後、再び上昇し、LH peak 後 4~5 日で黄体期の最高値に達する (150 pg/ml)。

④ Progesterone は、卵胞期は、200~400 pg/ml と低値であるが、LH peak 後翌日より上昇し、8~9 日で最高値に達する (8.5 ng/ml)。

個々症例は検討すると、排卵周期を有していても、かなりの Variation を示している。しかし、LH の midcycle peak 前には、必ず Estradiol が、200 pg/ml 以上に上昇しており、排卵を起すには、その程度の卵胞成熟を必要とすると考えられる。無排卵症には、Estradiol 100 pg/ml 程度で LH peak を生じている例も認められ、興味深い。また、黄体期の Progesterone と Estradiol Level は必ずしも相関せず、片方が平均より高値を示し、他方が低値を示す例もあり、黄体機能の判定には、両者の測定が必要であると考えられる。

以上より、ホルモン異常の分析には、月経周期を通じての経日的変化を調べる必要性が強く示唆された。

質問 柳 沼 恣(三井記念病院産婦人科)
最近 Odell らは、ホルモン分泌の周期性の原動力は、

卵巣にあるように主張しているが、桑原先生が示した最後の症例は、矢張り脳中枢に、それがあるような事を示していると思われます。

これらの事に関して、先生はどうお考えになるか。

回答 桑 原 慶 紀

血中 Estradiol Level が、100 pg/ml 前後で LH Surge が発生したことになり、間脳中枢の LH Surge への Trigger の異常とも考えられ Odell の考えを否定することにはならないのではないのでしょうか。

2. 標識 HCG のラット体内分布

柳沼 恣・河合信秀(三井記念病院産婦人科)

HCG (Human Chorionic Gonadotropin) は、無排卵の人に対して排卵誘発のために使用され、その効果があることは、良く知られている。また、妊婦血中には、当然のことながら大量に存在する。従つて、HCG の体内における動態を知る上で、HCG がどの臓器のどの部分に集り易いかを知ることは重要である。かかる研究は、今迄に発表され、解明されている部分もあるが、未だ不明の部分が多い。そこで今回は、次のような実験が行なわれた。第一に、静注された HCG の体内分布特に卵巣内における分布を知ること。次に、免疫学的活性のみを残し、生物学的活性を失わせた HCG の体内分布を、上記の正常 HCG の体内分布と比較すること。第三に、脳内の HCG の分布を知ること。

〔方法〕 標識 HCG として、 ^{125}I -HCG が使用された。これをエーテル麻酔下で頸静脈より注入、一定時間後に、再びエーテル麻酔下で断頭屠殺し、臓器を剔出し、計量後放射能が測定された。一部の臓器には、オートラジオグラフィーが行なわれた。

〔成績〕 HCG は、卵巣内に高度に蓄積された。

オートラジオグラフィーによると、この蓄積は、成熟した黄体に最も著明であり、莖膜にも比較的多く認められた。熱処理や neuraminidase 処理により、免疫学的活性のみを残し生物学的活性を失わせしめた HCG は、卵巣における蓄積が少ない。これは、これらの HCG が、腎臓を通して、早く排泄されるためであることが分

つた。視床下部の正中隆起は、他の脳組織の約2倍の取り込み能力を持つ。しかし、血中 HCG 濃度に比べると極めて低い。

〔考案〕 HCG は、莖膜細胞および成熟した黄体細胞に作用すると思われる。HCG が、これらに作用する能力は、血中内の半減期が長いことに起因することが重要なものであると考えられる。視床下部の正中隆起は、比較的多く HCG が取り込まれることは、gonadotropin の internal feedback の一つの証拠である。

質問 街 風 喜 雄 (関東通信病院)

私も以前標識 HCG をつくり、同様な実験を行ない、日産婦学会、国際産婦人科学会に一部発表しましたので、御発表に非常に興味を覚えます、次の点につき伺いたいと思います。

① Up take をみますのに試料(各臓器)の生のままについて行なつたか、乾燥したものの重量について計算したか。

② 下垂体における成績は、時間的にどんなところで見えたか。

回答 柳 沼 恣

① wet weight を測定した。乾燥を避けるため、剔出臓器は秤量を終る迄、生食蒸気飽和シャーレ内に保存された。

② HCG 注射後30分、2時間半、4時間のものを調べた。

質問 水 口 弘 司(東大婦人科)

1) HCG の細胞内分布は

2) 卵巣への up take するという事は receptor の問題になりますが、B²にも多量に入っているのは、卵巣と同様に receptor があることでしょうか。

回答 柳 沼 恣

① オートラジオグラフィーによる方法のみの観察で、細胞質内(plasma)であることしか分らない。

② 推測すると、腎臓は排泄臓器の役割を果しているのではないかと思う。

3. 着床期におけるハムスター卵子の酵素組織化学

石 田 一 夫(新潟大学農学部畜産学科)

着床期における Blastocyst の酵素組織化学的性質を知ることは着床の機構を解くための手段として有効なものと思われる。このことについては、最近、2、3の研究報告がみられるが、なお、解明されるべき多くの問題が残されている。本実験は排卵後3日7時間から5日7時間までのハムスターの卵子について、酸およびアルカリホスファターゼ(Acid Pase, Alk Pase) (Gomori

金属塩法, Burstone アゾ色素法)、乳酸脱水素酵素(LDH) (Nachlas らの方法) およびコハク酸脱水素酵素(SDH) (Nachlas らの方法) を組織化学的に検出したものである。得られた成績の概要は次のとおりである。

排卵後3日7時間の発生初期の Blastocyst において、Acid Pase 活性は Inner Cell Mass(ICM) に強かつたが、Trophoblast (Tr) ではさきわめて弱かつた。ICM の Acid Pase 活性は伸長した Blastocyst (排卵後4日13時間) ではいちじるしく低下し、その後、着床が完了するまで変らなかつた。初期の ICM に Acid Pase 活性が強いということは、この時期の ICM が一時的に退行状態にあることを示していると考えられるが、なぜこのような状態におちいるかについては、さらに、あらゆる角度から検討する必要がある。Tr の Acid Pase 活性は Tr が Trophoblastic giant cell (TGC) に分化して子宮上皮を侵蝕するさいに、いくぶん高くなつた。初期の Blastocyst は ICM, Tr とともに強い Alk Pase 活性をあらわした。ICM の活性は伸長した Blastocyst で低下し、子宮粘膜に侵入する頃(排卵後4日16時間) からさらに低くなつた。Tr の活性は Tr が TGC に分化した後までつねに強かつた。初期の Blastocyst において、LDH 活性は Tr のほうが ICM より強かつた。いずれの細胞においても、この酵素の活性は着床が完了するまで変化しなかつた。SDH は着床完了時の Blastocyst の ICM に弱い活性がみられるほかは、まったく活性があらわれなかつた。

質問 林 基 之(東邦大学産婦人科)

このような組織化学法で、透明帯の態度はどうか、全然、酵素活性はないか、どうか。

回答 石 田 一 夫(新潟大学農学部)

今回はクリオスターフト切片を用いたので透明帯は消失しており、観察できなかつた。

しかし、透明帯には酵素活性はみられないものと思われる。

質問 浜 田 宏(聖マリアンナ医大産婦)

いわゆる orientation と invasion の srage についての所見は興味深く拝聴したが、attachment の時期の胚胚、内膜の態度、特に lysosome 酵素活性について御教示頂きたい。

回答 石 田 一 夫(新潟大学農学部)

attachment の時期の Blastocyst の Trophoblast における Acid Phosphatase 反応は子宮上皮の反応と識別が困難で、十分な観察ができなかつた。

4. 精製ヒト子宮頸管粘液ムチンとカルシウムイオンの結合性

佐賀正彦・浜田宏(聖マリアンナ医大産婦人科)

Val Davajan・Robert M. Nakamura

(南カリフォルニア大産婦人科)

ヒト頸管粘液から Gibbons 法により糖蛋白をエタノールにて分画精製(精製ムチン), これに含有されるシアル酸(大約5%)のカルボキシル基の存在から, この精製ムチンを負荷電高分子電解質とみなし Ca イオンの相互作用について研究した。まずこのムチンの粘度について観察し溶媒が純水においては Tris 塩酸緩衝液 (I=0.0022) pH 8.0におけるより極めて大きな値を示した。さらに NaCl を加えイオン強度を上げてゆくと粘度が低下を示した。これは負荷電によりムチン分子が純水中では拡張した形をとり塩添加により静電的に荷電が遮へいされ分子形が収縮することを示すものと推定された。時間の経過を追って粘度をみると純水および Tris が溶媒の場合粘度は不変で極めて一定の値を示した。これに CaCl₂ を添加してみると 5 mM CaCl₂ の存在で時間と共に粘度が上昇することがみられた。次に ⁴⁵CaCl₂ を使用しムチンと Ca の結合性について透析平衡実験を行なってみると, 80%の ⁴⁵Ca は2時間以内にムチン側に移行して極めてよく結合することが判明した。これを Scatchard によるプロットをしてみるとその Binding site は1つ, affinity は 347 μM bound Ca/g mucin となった。以上の実験結果を考案し, 糖蛋白によるゲル形成機構は, 第一義的に高分子相互のからみ合いによる網目構造であり, その物性にはカルシウム (およびその他の2価陽イオン) が影響を与える, すなわちカルシウムは糖蛋白に含有されるシアル酸のカルボキシル基と分子内のみならず分子間で結合し分子間架橋の役割を演ずるのではないかと推定された。以上の如く高分子電解質概念の導入, レオロジー手法により新たな観点からの頸管粘液研究方法について紹介した。

質問 高木 繁 夫(日大産婦人科)

Ca の結合性には Na は関係がありますか。

回答 佐賀

Ca とムチンとの結合性のみで, この間に Na を加えてその影響をみることはいたしませんでした。

5. 停留睾丸の診断治療の再検討

松十本泰・和久正良

(帝京大学医学部泌尿器科学教室)

1. 両側例には, ホルモン療法の有効な場合があるが, 一側例, または, 睾丸導体の附着異常がみられる例では, ホルモン療法は無効と考えられる。この際, 睾丸導体の異常附着は, 注意深い診察により診断し得ることが多い。

2. ホルモン療法の有効率をみる場合には初診時と, 手術時での睾丸の位置が異なる例が多く, ほとんどは初診時より下方に位置していることが多くみられる事實は, ホルモン療法の効果判定に当って注意を要する。

3. 腹部睾丸の診断には, 両側例の場合には, 内分泌系の検索である程度推測し得るが一側例には PDG が有用な一方法である。

4. 睾丸と副睾丸との附着異常が, 高率にみられたことは, 睾丸自体の不全が, 停留睾丸の原因の一つと考えられる。

5. 造精機能の点からみると, 腹部側では3歳までに, 鼠径部側では6歳までに, 治療することが望ましいが, 遠隔成績および, 6歳以降の正常睾丸と, 停留睾丸の造精機能の発育の差が大きくなると云う事実から, 停留睾丸はそれ自体に不全があり, 造精機能の遅延があり, 成熟細胞に達しないものと考えられる。

6. 男子下妊症患者の血中 LH, FSH

片山 喬・百瀬剛一・高岸秀俊

(千大・泌尿)

男子不妊症患者(減精子症58例, 無精子症17例, 閉塞性無精子症5例)および XXY Klinefelter 症候群9例, 男子性腺不全症4例, 正常15例の計108例につき, 第1化学アイソトープ研究所の Kit を用いて, 血漿中 LH および FSH を Radioimmunoassay で測定した。その結果, 減精子症を精子数 $10 \times 10^6/\text{ml}$ を境界として重症と軽症にわけると, plasma LH は正常, 軽症減精子症, 閉塞性無精子症例で差はなく, 重症減精子症, 無精子症では増加傾向を示した。この傾向は plasma FSH において顕著であつた。Johnsen の testicular biopsy score count との関係では plasma LH, FSH とほぼ逆比例の関係が認められた。さらに FSH の feed back に関連した問題について考察を行なつた。

質問 松本(帝京大)

1. Azoospermia の例では LH, FSH が高値を示しておりましたが, この場合の histology は全て Germi-

nal cell aplasia であつたのでしょうか、

2. Azoospermia の例には sex chromosome analysis をすると可成りの異常を呈す経験がありますが、この点からも追求すると面白いのではないのでしょうか。

7. ヒト精漿中の PGs 量について

竹内一成・○山本幸一・高木繁夫
(日本大学産婦人科学教室)

精漿中に高濃度に存在する PG はその生理的な合目的性の 1 つに妊孕現象に占める意義があり、殊に女性の子宮腔内精子の Migration に対する影響や精子代謝に対して影響する可能性がある。例えば実験的に PG E₁ を投与すると PG E₁ が子宮筋の頸部より体部に向う収縮波の伝播が伝わるが男子精子に対しては全く影響を与えないことを認めたので今回その第 2 段階の実験として正確に微量な PG 値を測定出来る RIA 法を用いて不妊男子と正常男子との精漿中 PG E₁ F_{2α} を測定し、その値と精子数、運動率、受精点数との関係から延いては副性腺機能との関係についても検討した。すなわち不妊症男子と正常男子との精液を採取し、採取 30 分後にそれらの精子数、運動率、柳沢係数、村上係数を求めて -25°C に凍結保存した上これらの精液中の PG 量、fructose cholestevol 量をそれぞれ測定したが精子数と PG F₁, E_{2α} 量、運動率、村上係数、柳沢係数および受精点数と、PG E₁ F_{2α} 量との間に特に一定の相関関係を認めることが出来なかつた。しかし男女共に異常が認めがたい、いわゆる機能的な不妊症男子の精液中 PG E₁ 量は 2620 ± 140 ng/ml であり児を有する正常男子の値 6480 ± 2122 ng/ml に比べると極めて低くこの両群間に有意の相違が認められることを知つた。これに対して F_{2α} 量は両群間にこのような有意な差を認めることが出来なかつた。次に副性腺機能と PG 量との関係を異るために fructose と cholestevol 量を測定して検討したがその両者の値に一定の関係を認めることが出来なかつた。従つて精液所見と精漿中の内因性 PG 量との関連性を追求した結果、1) PG E₁, F_{2α} 量は精子数、運動率などの精子所見とは一定の相関関係がなく、2) 副性腺機能を反映する fructose, cholestevol 共関係が無いこと、3) 機能的な不妊男子精漿中の PG E₁ 量は正常男子のそれより低く精子数その他が正常であつても PG E₁ 量が低いため精漿中の PG が先の実験成績(日大医学雑誌 32 卷 12 号 昭 48) を補填しまた女性性器に与える影響の面より妊娠成立にあずかることある著者の実験仮説の正しいことを実証したと思う。

第 1 回国際婦人科内視鏡学会に出席して

林 基 之(東邦大学)

1973 年 11 月 17~20 日の 4 日間北米 New Orleans の fairmont Hotel で、1,000 人位の専門家が 30 カ国から集つた。

日本人 6 人、インド、タイ、ベトナム、シンガポール、インドネシア、韓国各 1 人ずつで、その他はすべて欧北南米人であつた。アフリカから 2 名の参加を見た。

婦人科領域の内視鏡にはいろいろあるが、この学会では、腹腔鏡、子宮鏡、クルドスコープのみであつた。あらゆる問題が、シンポジウム、パネルやワークショップの形式で討議されたが、その主な論点は次のごとくであつた。

腹腔鏡とクルドスコープについては、

I) 適応：不明腹痛、不妊、エンドメトリオーシス、外妊、小腫瘍、卵管不妊術等。

II) 禁忌：肥満、心肺疾患、感染症、重症疾患、困難な開腹術後等。

III) 気腹の仕方と套管：クルドスコープでは、気腹法は、ダグラス窩穿刺による極めて簡単な自然法であるが、腹腔鏡では厚い腹壁を貫き、大網や腸管、血管等を傷けないよう注意を要する。

IV) 診断法：クルドスコープでは卵巣は見易く、卵管やダグラス窩そのものは見えない。腹腔鏡では卵管がよく見え、卵巣はやや見にくい、ダグラス窩はよく見える。

V) 手術法：1 孔式と 2 孔式とがあるが、細長い刀鉗、鉗子、針、焼灼器等がつくられている。

VI) 通電による危険：火傷が最も大きい問題である。電気や器械の内容については、各業者の首脳が自ら當つた。

VII) 麻酔法：1% プロカイン局麻、気管内、静注法等、

VIII) 卵管不通術：クリフ法、凝固法、焼灼法。

IX) 不妊検査と手術：卵巣形態と生検、卵管通過性、周囲癒着の発見に対し、有力な武器となつている。エンドメトリオーシス、結核、その他の病理所見が発見できる。

但し、クルドスコープでは、ダグラス窩にあるエンドメトリオーシスの観察は不能である。

X) 子宮鏡による診断と子宮角部焼灼：杉本、hindermann, Quinoes 等が診断法と、子宮角部焼灼につき発表。杉本の映画はすぐれていた。このほかに新しい研究発表が、日本から林(クルドスコープによる小手術の統計) 西田(卵巣形態と LH-RF テストの関係) 杉本(子

宮鏡による子宮角焼灼)の発表があり、好評であつた。また欧米人からは、腹腔鏡による卵巣腫瘍の早期発見、腹腔液分析、卵巣より卵採取、幼少時の卵巣観察と生検等の新法が発表された。本学会では、長期に互つて内視鏡を試み、いわば婦人人内視鏡の開拓者ともいふべきドイツの Frangenheim、フランスの Palmer、イギリスの Steptoe の3人の表彰と記念講演がなされた。

はじめての学会としては盛会で、将来の発表が望まれるが、日本人に対しては特に大きい期待がもたれた。

特別講演

ブラジルにおける生殖と遺伝に関する国際シンポジウムに出席して

館 郷(東大・動)

1973年12月3日より7日までブラジルのパヒア州サルバドールにおいて、第3回国際基礎生物学シンポジウムが開かれたが、今回のトピックスは生殖現象の生理学と遺伝学であり、多くの著名な産婦人科医、生殖生物学者が集つて盛会であつた。会はアメリカのオークリッジ研究所の A. Hallander 博士、コロンビア大学の F. Fuchs 博士、それにブラジルのパヒア州立大学の E. Coutinho 博士の3人によつて主催された。会の冒頭、イギリスの R. V. Short 博士が、ダーウイニズの関連からヒトの月経周期の問題を取り上げ、月経の生理的必要性を大胆に問いかけ、議論を呼び起こした。避妊の目的で人為的に無月経症を作るというアプローチが、現在取れないことは明白であるが、今後の可能性の一つとして研究者の関心を惹いた。続いて多くの分野にわたる研究発表が行なわれたが、以下では私が出席し得た範囲で、主な話題をひろつてみたい。

テキサス大学の E. Steinberg 博士は、造精機能のホルモン支配に関して、LH はライディッヒ細胞のテストステロン分泌を促がし、また FSH はセルトリ細胞のテストステロン・レセプター産生を制御して、テストステロン・レセプター複合体が、精子形成過程を支配しているのではないかとモデルを提示した。有名なテュレ

ー大学の A. V. Schally 博士は LH-RH に関して多くのデータを綜説したが、LH-RH の体内半減期が、ヒトで4 $\frac{1}{2}$ 分、ネズミで6分であることを明確にし、また des-His-2-des-Gly-10-LH-RH-ethylamide が有効な LH-RH の antagonist として有望なことを報じた。続いてメキシコの C. Gual 博士は LH-RH を用いて異なるタイプの amenorrhea 患者に卵胞発育、並びに排卵を誘起しようとした試みについて発表したが、結論として、LH-RH が他の薬剤またはホルモンに比して有利であると結論するに足る根拠はないことを強調した。カナダのラバール大学の F. Labrie 博士は LH-RH の作用機構に関して、LH-RH \rightarrow Prostaglandins \rightarrow CAMP \rightarrow Protein kinase \rightarrow LH release という pathway の存在する可能性を論じた。フィラデルフィア大学の L. Mastroianni 博士は、卵管中に存在する acrosomal proteinase 阻害物質と、そのホルモン支配に関して講演した。3種類の阻害物質が知られて居り、純化も進んでいるが、ホルモン支配の問題に関してはまだこれからという印象であつた。

イギリスのエジンバラ大学の A. McDaren 博士は、trophoblast 細胞が多倍体細胞ではなく、一本の染色体が異常に大きくなつた polytenic chromosomes を持つ2倍体細胞であることを明確にした。その他、ピッツバーグ大学の C. P. Channing 博士の卵巣顆粒層細胞の黄体化の機構に関する報告、ニュージーランドの G. C. Liggins 博士のヒツジにおける分娩開始機構に関する講演などがあり、ここ数年間の生殖生物学の目ざましい進歩を強く印象づけて、閉会した。私共は、脱落形成機構を中心に報告したが、卵着床の研究も卵側、子宮側双方の研究が、次第に進んで来ているようであり、また着床の阻害についてもいくつかの short communication があつた。

なお会期中に、日本の東邦大学林基之教授の「生命の神秘」のフィルムが上映され、非常に好評であつた。この映画はブラジルの国営放送テレビでも放映され、大きな反響をまきおこしたとのことであつた。

第 68 回 日本不妊学会関西支部集談会

日 時 1974 年 6 月 8 日 (土) 午後 2 時より
場 所 扶桑会館瑞穂殿

1. 重複精管の一例

大 山 武 司(大阪市立大学泌尿器科)

われわれは最近、左副睾丸炎の診断で、左副睾丸摘除術を施行したところ、左重複精管であつた一例を経験したので報告し、若干の文献的考察を加えた。

患者は38歳の男性で、6カ月前より左陰嚢内容の腫瘍と左下腹部痛を訴えて来院した。左副睾丸炎との診断で入院し、左副睾丸摘除術を施行したところ、太い正常と思われる精管と、細い精管が副睾丸尾部より出ており、重複精管であることが判明した。組織学的には太い精管は正常精管の組織像を呈しており、細い精管は固有層、筋層、外膜は正常精管と同じであるが、上皮が欠如していた。なお対側の睾丸、副睾丸、精管は異常なく、排泄性腎盂造影において、上部尿路に異常所見は認められなかつた。

ついで内・外における重複精管8例を集計し、若干の文献的考察を加えた。

2. 男子における Kupperman 氏更年期指数

○水谷修太郎(阪大泌尿器科)

兄玉正道(市立堺泌尿器科)

Kupperman et al. (J.A.M.A., 171: 1627, 1959) の menopausal index を、健康成人男子 570 名について、アンケート調査した結果を報告した。すなわち、鈴木・安部(ホと臨, 19: 999, 1971) に、更年期指数として紹介された項目に従つて、いずれの自覚症状も感じない最低17点から、強度に訴える最高68点まで配点したところ、20歳代前半 28.5 ± 5.9 (SD)、後半 29.8 ± 6.5 、30歳代前半 27.2 ± 5.1 、後半 28.2 ± 5.7 、40歳代前半 27.8 ± 5.8 、後半 27.7 ± 5.9 、50歳代前半 26.6 ± 6.1 、後半 26.7 ± 5.6 、60歳代前半 24.5 ± 4.5 、後半 32.2 ± 8.2 、70歳以上 27.5 ± 9.8 、となり有意の差を認めなかつた。しかし、平均値では、25歳から26歳にかけて30.2と peak を示したのは興味深く、また所謂女子閉経期に一致した年齢で高値を呈しなかつたのも興味深い。同時に調査した potency に

関する自覚では、本指数の高い群は、低い群よりも potency が低下したことを訴える割合が多かつた(30歳~45歳)。

質問 石神襄次(神戸大泌)

20数年前、男子更年期障害についての検索がかなりさかんに行なわれたことがあります。それ以後、あまりとりあげられておらないようです。臨床的に事実、男子更年期障害症と称すべきものが存在するか否かについても疑問もありますが、その点、如何お考えですか。

答 水谷修太郎(阪大泌尿器科)

現実には、女子の閉経期症状に一致した症候が男子にもあるかどうかについては、不評であります。性腺の脱落症状として、半陰陽の去勢後に経験することはあるが、なんら原因もなく生じた場合、更年期症状と表現しても、男性更年期と称するには抵抗があります。

答 水谷修太郎(阪大泌尿器科)

60歳以上は、対象が少ないために、高齢者間の年齢別統計はとれなかつた。

3. 最近2年間の男子性機能障害例の検討

斉藤宗吾(神戸大泌尿器科)

昭和47年から49年3月までに当科を受診した男子性機能障害(インポテンツ)患者118例について、原因分類、頻度、年齢、治療成績を検討した。

同期間における20歳以上の男子患者総数は3378例で、インポテンツ患者の頻度は3.5%。原因分類別には心因性インポテンツが118例中83例(70.3%)でもっとも多く、ついで神経因性14例、内分泌性11例である。年齢的には20歳代が50例(42.4%)、以後加齢とともに減少し、60歳以上の症例は少なく8例である。治療効果の確認は脱落例が多く困難であるが、追跡し得た心因性症例33例の効果は治療成功16例(48.5%)、改善10例(30.3%)、無効7例(21.2%)であつた。

質問 友吉唯夫(京大)

最近いわゆる“むち打ち症”のあとのインポテンスが增加しているが、これは分類上どのように位置づけられるか。

答 齊 藤 宗 吾(神戸大泌)

神経因性の検査としては排尿状態の観察、会陰部、生殖器系の神経学的検査、膀胱内圧を主としておこない、これらに変化があれば、神経因性と診断する。むち打ち症などの後に訴えられるインポテンツでも上述した検査所見がなければ外傷後心因性インポテンツと診断している。

追加 藤 森 速 水(大阪至誠会病院)

私はある社長から夫婦生活の時、早漏のため不成功に終る訴えを聞かされました。しかしよく事情を尋ねました処、海外旅行中会社の御得意先の婦人を招待した際婦人に対する接待がよかつたので、奥さんが嫉妬心を起こしたために Sexual Intercourse が不調症になつたとの事である、この訴えに対し、私は奥さんにボゼルモンの注射を行ない、主人に Sexual Intercourse の時、特殊器械を用いて Vorspielen する事を推奨しました、その後夫婦の訴えを持つて来ませんから恐らく調子はよくなっていると思います故、この症例の如きは奥さんの嫉妬心から発した psychersematic のものではなからうかと考えます。

特別講演

男子半陰陽と混合型性腺形成不全について

新 武 三(川崎医大泌尿)

質問 蘭 守 龍 雄(大阪府大農学部)

ウシの異性双子の場合、メスの90%は成長後 female function をもたない半陰陽(又は性腺形成不全)になるので、これを Free Martin と呼んでいます、ヒトの異性双子ではやはりそういう現象がありますか? 異性双子の場合ウシでは female の約10%のみが Adult になつても、female の function を維持できるのが常識になつています。

追加

アメリカのコネル大での獣医学教育方法によると生後5カ月以内で15cmの中試験管が8cm以上腔内に入るものは adult になつても fevrle function を維持するものと診断している。

それ以外のもの(約90%に当る)は腔の發育が悪く3cm~5cm ぐらいしか試験管の挿入ができない。このものは female function を将来持ち得ないとして診断しているわけである。ウシの Puberty (female) は約13~14カ月位であります。

答 新 武 三(川崎医大泌尿)

ヒトの場合、gonadal agenesis または gonadal dysgenesis という形でみられる以外である程度の性機能を保つているこれに類似の個体は見られないと考えます。calf などでの Freemartin のような性器奇形は経験しておりません。

質問 香 山 浩 二(兵庫医大産婦人科)

男性仮性半陰陽の患者が成長した場合に spermatogenesis はあるのですか?

答 新 武 三(川崎医大泌尿)

8例の16歳以上の思春期以降の症例および、15歳以下のものでもこの10年間 follow した症例も含めて、辜丸組織像から造精機能の障害は明らかで、何れも男子不妊であります。

4. 抗人乳抗体の精子不動化作用について

香山浩二・戸田一司・磯島晋三
(兵庫医科大学産科婦人科学教室)

原因不明不妊症婦人血中に検出される精子不動化抗体の分析の結果、大多数のものが精漿抗原に対する抗体である事が判明した。然るに、人精子の表現する抗原性はすべて精子表面に附着している精漿抗原によるものであり、この精子附着抗原の主成分となつているのは人乳中に多量に含まれている lactoferrin (LF) と抗原性を同じくする成分であると報告されて来た。今回人乳蛋白抗原に対する抗人乳血清を作成し、本抗血清のヒト精子不動化への関与について検討した。抗人乳血清を人血清、肝腎等の抽出抗原で十分に吸収した後もなお精漿蛋白抗原との間に2本の沈降線を示し、精漿人乳共通抗原として LF の他にさらに1つの共通抗原成分のある事が解つたが、この2つの共通抗原成分に対する抗体は共に強い精子不動化作用を有しており、またこれ等両者に対する抗体は特異的に洗浄精子細胞と結合を示し、LFと共に新たに見出した共通抗原成分も精子附着抗原を構成している事が解つた。

質問 都 竹 理(阪大産婦人科)

① 抗精子抗体が spermatozoa surface に附着した seminal plasma に対するものであれば、その抗体によつて sperm immobilization が起こるのをどうお考えですか。

② 抗精子抗体を seminal plasma で coating をうけない epididymis の sperm と作用させた事がありますか。

答 香 山 浩 二(兵庫医大産科婦人科)

① 不妊婦人に検出される精子不動化抗体の中には Lactoterin に対する抗体と思われるものは見い出してお

昭和 49 年 10 月 1 日

りません。しかし、hetroantiboclz を用いた実験では明らかに抗 lactoferin 抗体により人精子不動化が起こった。

② Epiclidymal sperm を用いての実験は行なつてない。

追加 磯 島 晋 三(兵庫医大)

Spermatozoa でなくても、通常の ascides cell でも coating antigen に対する抗体によって、補体存在下で cytolysis が起こることより、精子不動化も coating antigen に対する抗体で惹起されることは十分考えられる。

5. 抗ラット精子抗体とラット受精卵の in vitro incubation 実験

鎌田敏雄・香山浩二・磯島晋三
(兵庫医科大学産科婦人科学教室)

抗精子抗体の受精以後における reproduction への影響を見る為に、精製抗ラット精子抗体を用いてラット受精卵中の精子特異抗原の有無、並びに抗精子抗体処理受精卵の着床率および流早産率について検討した。

卵管並びに子宮角より採取した L₀~L₄ ラット受精卵と精製抗ラット精子抗体を反応させ、十分に洗浄後 Fluorescent isothiocyanate を標識した抗 γ -グロブリン抗体と反応させ、各受精卵中の蛍光の有無を見た。受精直後より L₄ Blastocyst に至る受精卵卵膜上に透明帯を透して著明な蛍光を認めた。受精卵中の精子特異抗原の存在が示唆されたので、次いで L₃ および L₄ 受精卵を抗精子抗体と in vitro で反応させ、反応後偽妊娠ラット子宮角に移植し、その後の着床、胎児発育状態について検討した。対照群は control 血清処理受精卵を実験群と反対側子宮角に移植し、同一実験条件下で両群の比較を行なつた。両群共ほぼ同じ着床率を示したが、実験群において流早産傾向が強かつた。

質問 都 竹 理(阪大産婦)

① 同実験を同種の抗血清についてされましたか。

② Implantation は起こるが、生長しないのをどうお考えですか。

答 香 山 浩 二(兵庫医大産婦人科)

① Isoantibody を用いての incubation 実験はまだしておりません。

② 抗精子抗体を作用させた受精卵も着床はするものの、着床後の胎児成長が見られず、早期に流産してしまつた。

6. ラット卵巣の I¹²⁵-LH 取込量変化による下垂体性 Gonadotrophin—卵巣系 Steroids の協調作用の観察

吉田 裕・細道太郎

(和歌山医科大学産科婦人科学教室)

経静脈投与した I¹²⁵-LH、FSH の成熟ラット臓器別分布を追求し、卵巣が LH、FSH を特異的に active に recept することを証明した。卵巣の LH 取込みは 5 IU の HCG の同時投与により約 80% まで、500 IU ではほぼ完全に抑制されることから LH と HCG との競合反応の存在が判明した。FSH と HMG にも近似の競合を認めた。

垂別ラット卵巣の I¹²⁵-LH 取込みは、estradiol 0.1 mg 7 日間処置により約 2 倍に増加した。FSH 20 IU 4 日間処置でも同様の増加を示した。FSH 4 日に続き estradiol 4 日処置した場合には実に約 12 倍もの著増を認めた。これら処置群の組織所見から estradiol は卵巣の顆粒膜細胞の形態学的活性を維持または増進させるらしく、progesterone は内巻膜と黄体細胞の活性を維持せしめ、FSH はこれら三者全ての細胞を賦活させるらしいことが判明した。

以上、卵胞の発育、排卵は下垂体 gonadotrophin と卵巣系 steroids が順序正しく協調して働く効率の高い作用系により支配される事が窺えた。

追加 磯 島 晋 三(兵庫医大産婦)

LH および FSH の ovary への取り込みは、その biological site と ovary の receptor との関係にあるのではないか、われわれの HCG の実験では、HCG の biological activity を除去すると、ovary への specific bound がほとんどなくなってしまう点よりみて、LH も FSH も同様ではないかと思われる。従つて、LH の取り込みを HCG で compete させる場合、HCG の biological activity を除去したものをを用いるとこの点が、間接的に解明されると思う。

質問 香 山 浩 二(兵庫医科大学産婦人科)

① 妊娠初期の切迫流産に progesterone therapy を行ないますか？、この場合も投与した progesterone と共に、内因性の progesterone 産生も増強させる治療効果を上げると考えて良いわけですか。

答 吉 田 裕

(和歌山医科大学産科婦人科学教室)

(1) 磯島教授の御質問に対して……

今回の実験に認められた LH と HCG の competition が、両者の交叉免疫性によるものか、biological activity

の近似性によるものかについての検討は行なっておりませんが、放射線(I^{125})の影響を受け biological activity がかなり damage を受けたであろう LH とも competition が存することから、交叉免疫性によるものではないかと推量しておりましたが今後その点に関する追求を試みます。

(2) 香山先生の御質問に対して……

progesterone については現在さらに詳細を追求中で現在極論は出来ませんが、投与した progesterone が卵巣に働き卵巣からの endogenous な hormone の分泌を促すであろうことは十分考えられます。

7. 受精能獲得精子による豚卵胞卵の体外受精

入谷 明・佐藤英明・西川義正
(京大・畜産)

卵胞卵は屠場で採取した卵巣から卵胞を針で破碎して採集し、卵核胞期の卵子を体外で修正 KRB 中で meta-phase-II まで成熟させた。精子は採取後直ちに KRB で洗浄し、1部はそのままに KRB 中に、1部は屠場で採取直後の発情豚の卵管と子宮に注入し、37°C で3時間培養した。回収後再洗浄して予め成熟させておいた卵子に精子を注入し、受精の有無は受精後12~48時間に検査された。

KRB に培養された精子を受精した場合、分割卵はえられなかつた (0/113, 0%)。卵管内培養精子で受精された127卵のうち8個は2細胞、1個は3細胞であつた (7.1%)。また子宮内培養精子で受精された191卵のうち17個は2細胞に、2個は4細胞に分割していた (11.1%)。

質問 佐 治 文 隆(阪大産婦人科)

1) 実験各群における卵子と精子の比率はおよそどの位か？。

2) われわれが mouse の uterus を用いて capacitation を行なつた時、sperm の recovery が非常に悪かつたのであるが、豚を用いて行なわれた先生の実験では sperm の recovery は如何でしたか？。

答 入 谷 明(京大・畜産)

1) Petri 皿中8~10個の卵子に対して100~200万精子が受精された。かなり多い数値と云えます。しかし現在までのところ polyspermy はみられていない。

2) 豚では、卵管、子宮ともにきわめて大きく、したがって incubate される精子数も $0.5 \sim 2.0 \times 10^8$ 程度になるので recovery も容易である。なお recover された精子活力もきわめて良好である。

質問 都 竹 理(阪大産)

① ejaculated sperm と epididynal sperm で capacitation の時間は違いますか。

② 何故自然界で ejaculation 直後は Euzyme は inhibitor によつてその Activity は抑えられてるのでしょうか。

答 入 谷 明(京大・畜産)

① 受精能破壊要因 (DF) は精漿中にあり、また DF の除去がすなわち capacitation を意味するものではないが、少なくとも、その第1段階であると考えられる。したがつて精漿にふれない epididymal spermの方が ejaculated よりも容易に capacitate されると考えられる。

② これについては J. M. Bedford が綜説しているが、射精後受精までは DF (=SCA) によつて cover し、外部環境から精子自体を保護していると考えている。TLE を inhibit しているというよりも SCA が acrosome もふくめて cover しているので capacitate されるまでは TLE の機能が mask されていると考えたい。

8. Role of spermatozoal enzymes in fertilization

Dr. A. K. Bhattacharyya

There are reports that the spermatozoa of rat, rabbit, mouse, dog, bull and human have very high levels of proteinase activity and that this enzyme is localized in the acrosomal part of the sperm. It is believed that the spermatozoal enzymes, present in the acrosomal part, are responsible for the fertilization by some unknown mechanism on the walls of the ovum to permit sperm penetration. Sperm acrosomal proteinase can dissolve the zona pellucida of ova and this process can be completely inhibited by natural as well as synthetic trypsin inhibitors. The resemblance of this spermatozoal proteinase to trypsin has been justified by the hydrolysis of benzoyl-arginine ethyl ester at pH 8.0 and inhibition by trypsin inhibitors. This enzyme has a molecular weight of 30,000, has a optimum pH of 8.0, and requires calcium for maximum activity.

It has been found that acrosomal extracts of epididymal and capacitated sperm have a high proteinase activity but this activity is virtually absent in freshly ejaculated semen. This indica-

tes a specific proteinase inhibitor from the seminal plasma is added to the enzyme at the time ejaculation. During capacitation the enzyme activity gradually increases indicating that the inhibitor is removed by some unknown mechanism. At pH 3.0, the inhibitor gets dissociated from the enzyme-inhibitor complex and forms the complex at pH 7.6.

But why the proteinases are present in the bound (inactive) form in the ejaculated semen and how the inhibitors are completely removed from the acrosomal of the sperm in the female genital tract, is not known. The regulatory role of these physiological inhibitors is still an open question and can be answered only after proper understand-

ning of the biochemical events occurring fertilization processes.

質問 藤 森 速 水(至誠会病院)

I thank you very much for your instructive lecture, I would like to ask your cysion about some clinical use of enzym, because I'm a clinicion.

答 A. K. Bhattacharyya(阪大産婦)

Q 1. Whether the innibitor is rewored in pr esace of any proteamase.

Ans. Mot proibly seminal plasma contain sonn-aced proteinase which is hydolyin the Inbutertor.


Q 2. How inbibuitor in sewored?

May be in presenae of uterine fluid or oviductal fluid.

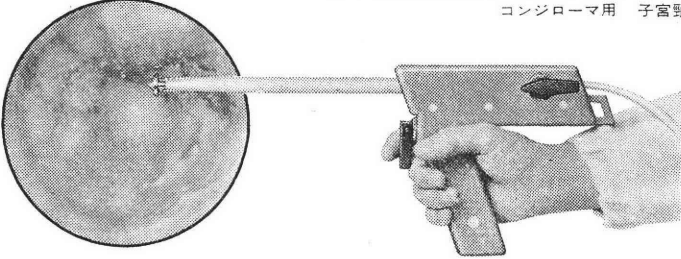
婦人科領域における冷凍手術

クライメデイ冷凍手術器

CRYOSURGICAL INSTRUMENT PAT. P



〈発売種類〉 FT-400型固定式 (子宮頸部用)
 MT-500型交換式 (5種類のチップ) 子宮頸部用・子宮頸管内外部用
 コンジローマ用 子宮頸管内部用・コンジローマミクロ用



〈特長〉

- 改良型、排出ガス口はポンベ近くにあり音やショックがなく把持部は冷えません
- チップ純銀製の冷凍作用効果が良好です
- ガス圧力メーター、過圧ガス放出自動安全弁を付属
実用的で完成された装置、安全に冷凍手術が実施できます
- 引金コックは指を使わなくても操作できます
指の疲労が無く連続使用に便利です

〈適応症〉

- 子宮腔部ビラン・慢性頸管炎
- 異所増殖・頸部裂傷
- 前癌性病変(異形成など)
- コンジローマ
- 外陰腔良性腫瘍

US. PAT. NO. 3696813

〈詳細カタログ送呈〉 **ATOM** ®

米国クライオメディック社日本総代理店
アトム株式会社

■本 社 東京都文京区本郷3-18-15 ☎東京(03)815-2311 大代表
 ■関西サービスステーション ☎大阪(06)943-5515代表 ■九州サービスステーション ☎福岡(092)431-2978

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カ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4号

昭和49年9月25日印刷

昭和49年10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